

AmpliSeq™ for Illumina Cancer Hotspot Panel v2

既知がん関連50遺伝子のホットスポット領域を迅速かつ高精度に探索

特長

- 関連遺伝子のコンテンツ
50個のがん遺伝子とがん抑制遺伝子のCOSMIC変異約2800個をターゲット
- 迅速かつ効率的なワークフロー
わずか1 ngの高品質DNAまたはFFPE組織からの10 ng DNAから1日でシーケンス可能なライブラリーを調製
- 高精度なデータ
ローカル解析またはクラウド解析によってアリル頻度5%までの体細胞変異を検出

はじめに

AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2は既知がん関連50遺伝子のホットスポット領域の体細胞変異を調べるためのターゲットリシーケンスアッセイです（表 1）。このパネルでは、最少1 ngの高品質DNA（FFPE組織からは10 ng DNAを推奨）から始められ、肺、腸、乳房、卵巣、メラノーマおよび前立腺などのさまざまながん種に関連する遺伝子研究を可能にします。必要なインプット量が少なく、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織など、さまざまなサンプルタイプの解析も可能です。

関連遺伝子のコンテンツ

AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2は、Catalogue of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)¹ データベースで同定された50個のがん遺伝子とがん抑制遺伝子のホットスポット領域における約2800個の変異をターゲットにしています（表 2）。このパネルを使用することにより、ターゲットの同定、アンブリコンの設計とパフォーマンスの最適化に掛ける時間と労力を減らすことができます。

シンプルかつ効率的なワークフロー

AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2 は効率的なコンテンツ、簡単なライブラリー調製、タッチパネル操作のシーケンサー、および簡便なデータ解析を備えたDNAからバリエーション解析を行うためのソリューションの一部です。ライブラリー調製は1.5時間以下のハンズオン時間と、わずか5時間で完了する分かりやすいPCRベースのプロトコールに従って行います。出来上がったライブラリーをノーマライズし、プールしてから、シーケンス用フローセルにロードします。調製したライブラリーは、すべてのイルミナシーケンサーで、実証済みの1塩基合成反応（SBS）ケミストリーを用いてシーケンスします（表 3）。得られたデータはLocal Run Managerでローカル解析するか、クラウド環境である BaseSpace™ Sequence Hubで解析することができます。Local Run ManagerとBaseSpace Sequence Hubは、アライメントおよびバリエーションコールを行う解析ワークフローDNA Amplicon解析アプリにアクセスできます。BaseSpace Sequence HubからBaseSpace Variant Interpreterにアクセスでき、これによりバリエーションコールデータを注釈付きの結果に変換することができます。

表 1: AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2

パラメーター	仕様
遺伝子数	50
ターゲット	がん遺伝子およびがん抑制遺伝子内のホットスポット領域
累積ターゲットサイズ	22 kb
バリエーションタイプ	SNV、Indel ^a
アンブリコンサイズ	平均106 bp
アンブリコン数	207
必要なDNAインプット量	1~100 ng（10 ngを推奨）
パネル当たりのプール数	1
対応サンプル	FFPE 組織、血液
推奨スループットにより最小500×でカバーされるターゲット率	> 95%
カバレッジ均一性（> 0.2×の平均カバレッジをもつターゲット率）	> 95%
オンターゲットアライメントリード率	> 80%
合計アッセイ時間	5時間 ^b
ハンズオン時間	< 1.5時間
DNAからデータ取得にかかる時間	2.5日

a. SNV：1塩基多型、Indel：挿入欠失多型

b. 時間はライブラリー調製のみを表しており、ライブラリー定量、ノーマライゼーション、プーリングは含まれません。

2017年、社内資料

表 2: AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2に含まれる遺伝子

ABL1	EGFR	GNAS	KRAS	PTPN11
AKT1	ERBB2	GNAQ	MET	RB1
ALK	ERBB4	HNF1A	MLH1	RET
APC	EZH2	HRAS	MPL	SMAD4
ATM	FBXW7	IDH1	NOTCH1	SMARCB1
BRAF	FGFR1	JAK2	NPM1	SMO
CDH1	FGFR2	JAK3	NRAS	SRC
CDKN2A	FGFR3	IDH2	PDGFRA	STK11
CSF1R	FLT3	KDR	PIK3CA	TP53
CTNNB1	GNA11	KIT	PTEN	VHL



イルミナシーケンサーの詳細はこちら
jp.illumina.com/systems



イルミナのインフォマティクスの詳細はこちら
jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/informatics.html

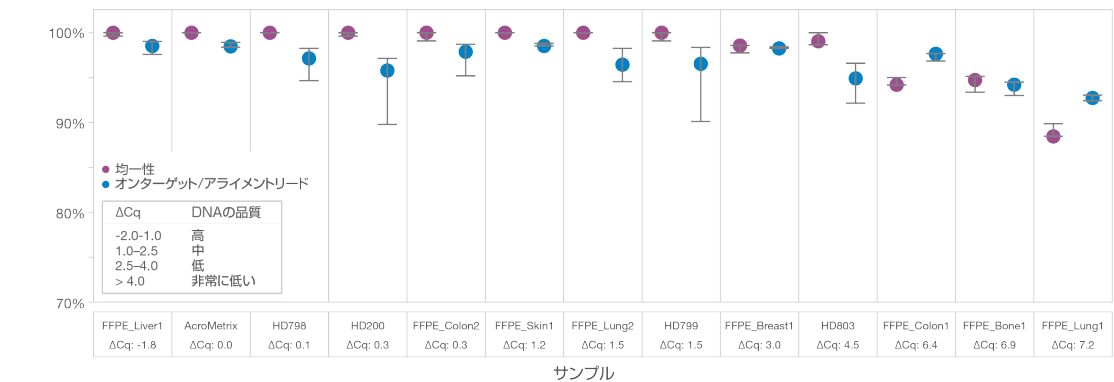


図 1: カバレッジの高い均一性と高いオンターゲットアライメント率—品質の異なるFFPEサンプルおよびHDサンプルから抽出したDNAをAmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2を用いて解析し、MiniSeqおよびMiSeqシステムでシーケンスを行いました。エラーバーは技術的反复のばらつきを示します。ΔCqは、FFPE組織から単離されたDNAの品質を示します。

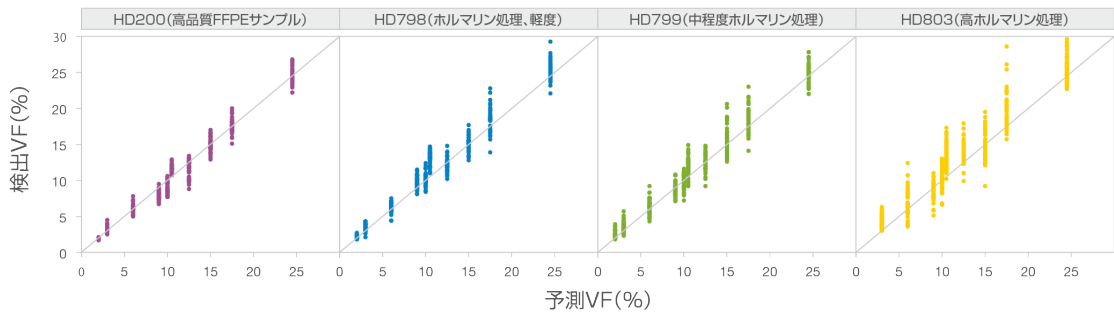


図 2: 予測バリエント頻度および検出バリエント頻度間の高い一致—HDサンプルのDNAはAmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2を用いて調製し、MiniSeqおよびMiSeqシステムでシーケンスを行いました。結果より、予測SNVの100%を検出したことが示されています。ΔCq値は図 1 に示しています。

高精度なデータ

テッセイの性能と感度を示すために、AcroMetrixコントロールアンプル、Horizon Discovery (HD) サンプルおよびFFPEサンプルをAmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2で調製し、MiniSeq™およびMiSeq™システムでシーケンスを行いました。結果より、サンプルの質と種類が異なっても、高いキバレッジ均一性とアライメントリードのオンターゲット率が示されました (図 1)。さらに、バリエントコールの精確さを確認するために、品質にばらつきのあるHDサンプルを評価しました。データより、予測SNVと検出SNV間での高い一致が見られました (図 2)。

表 3: AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2に推奨されるイルミナシーケンサー

装置	ラン当たりのサンプル数	ラン時間
iSeq™ 100システム	16	17時間
MiniSeqシステム (中出力)	32	17時間
MiniSeqシステム (高出力)	96	24時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー-Nano)	4	17時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー-Micro)	16	19時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー)	60	24時間
MiSeqシステム (v3ケミストリー)	96	32時間

製品情報

AmpliSeq for Illumina製品のオンライン注文はこちら
jp.illumina.com

製品名	カタログ番号
AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2	20019161
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (24 reactions)	20019101
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (96 reactions)	20019102
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (384 reactions)	20019103
AmpliSeq for Illumina CD Indexes Set A (96 indexes, 96 samples)	20019105

詳細はこちら

AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panelに関する詳細はこちら
jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-cancer-hotspot-panel.html

AmpliSeq for Illuminaターゲットリシーケンスソリューションを詳しく知るために、こちらの概要をご覧ください
jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/ampliseq-for-illumina-targeted-resequencing-solution-data-sheet-770-2017-022.pdf

参考文献

- Catalogue of Somatic Mutations in Cancer – Home Page.
<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>. Accessed October 25, 2017.

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝5-36-7 三田ベルジュビル22 階

Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810

jp.illumina.com

www.facebook.com/illuminakk

代理店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件：jp.illumina.com/tc

© 2017 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSeq, DASL, Design Studio, GAllx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Innium, iSelect, MiSeq, Nextera, NextSeq, NovaSeq, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruSeq, TruSight, VeraCode, the pumpkin orange color, the Genetic Energy streaming bases design は、Illumina, Inc. の商標または登録商標です。

その他の会社名や商品名は、各社の商標または登録商標です。予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

Pub.No. 770-2017-026-A-JPN

illumina[®]