

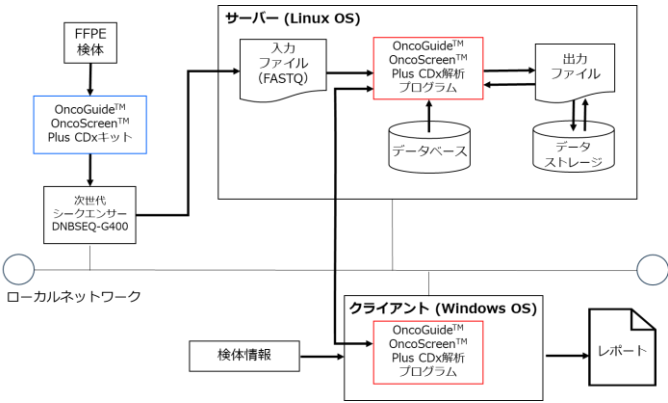
機械器具 17 血液検査用器具 その他の医用検体検査装置 高度管理医療機器

体細胞遺伝子変異解析セット（抗悪性腫瘍薬適応判定用）（71059023）

OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx システム

【形状・構造及び原理等】

本品は、テンプレート DNA 調製試薬のキットである「OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx キット」、及び解析プログラムである「OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx 解析プログラム」より構成されるコンビネーション医療機器である。



OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx システムの構成品

販売名
OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx キット
OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx 解析プログラム

1. 形状・構造等

(1) OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx キット

本キットは次の試薬より構成され、次世代シーケンサー解析用のライブラリー調製のために使用する。

Package Box	構成試薬
Box 1	Negative Control BNC
	Positive Control BPC
	End Repair Buffer
	End Repair Enzyme
	Ligation Buffer
	DNA Ligase
	Adapter ACA-A
	Adapter ACA-B
	Pre PCR Buffer
	dNTPs Mix
	Pre PCR Enzyme
	Pre PCR Primers Plus
	B blocker Mix
	Hybridization Buffer
	RNase Inhibitor Buffer
	Amplification Mix
Box 2	Index Primer Set A
	Index Primer Set B
	Index Primer Set C
	Index Primer Set D
Box 3	Probe BC002
	Sample Dilution Buffer
	Purification Beads
	Elution Buffer
Box 4	Streptavidin Beads
	Beads Wash Buffer
	Wash Buffer 1
	Wash Buffer 2

(2) OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx 解析プログラム

本解析プログラムは USB フラッシュメモリ により提供され、ユーザーが操作するクライアントと解析プログラムが動作するサーバーで構成され、外部ネットワークと独立した汎用コンピュータにインストールして使用する。データ転送はローカルネットワーク経由で行われ、遺伝子解析装置 DNBSEQ-G400 及びクライアントとサーバー間でファイルの受け渡しを行う。

2. 原理

本品の設計は RNA プローブキャプチャー技術に基づいている。本品はがん患者由来のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）腫瘍組織検体から抽出したゲノム DNA を検体として用いる。OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx キットを用いて、ゲノム DNA を超音波により断片化し、断片化されたゲノム DNA からアダプターライゲーション、PCR による増幅を経て、全ゲノムのプレライブラリーを調製する。その後、プレライブラリーを標的領域特異的な RNA プローブ（Probe BC002）によるハイブリダイゼーションと、Streptavidin Beads を用いたキャプチャーにより濃縮する。濃縮した DNA を PCR により増幅し、ポストライブラリーを得る。ポストライブラリーの品質評価に合格すると、次世代シーケンサー（遺伝子解析装置 DNBSEQ-G400、医療機器製造販売届出番号：11B1X10017000063）を使用して塩基配列を決定する。その後 OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx 解析プログラムにより、腫瘍組織由来の塩基配列情報をヒトゲノム参照配列にアライメントし、腫瘍組織由来の塩基配列とヒトゲノム参照配列の間に見られる差異を遺伝子変異として検出する。検出された各遺伝子変異について、遺伝子変異データベースから対応する情報を検索し、アノテーション情報を付与する。

【使用目的又は効果】

本品は、下表の医薬品の適応判定の補助を目的として、対応する遺伝子変異等を検出する。

遺伝子変異等	がん種	関連する医薬品
AKT1 遺伝子変異	乳癌	カビバセルチブ
PIK3CA 遺伝子変異		
PTEN 遺伝子変異		

【使用方法等】

1. 使用方法の概略

詳細については取扱説明書を参照すること。

(1) OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx キット

本品には推奨 DNA 抽出キットを用いて FFPE 検体から抽出したゲノム DNA を用いる。

1) DNA 断片化

Negative Control BNC (BNC)（4 μL）、Positive Control BPC (BPC)（4 μL）及び DNA 検体（100～200 ng）をそれぞれ 1.5 mL チューブに分注し、液量が 50 μL になるように Sample Dilution Buffer (SDB) を加え、よく混和した後、断片化処理用チューブに全量を移し、超音波断片化装置を用いて DNA を断片化処理する。

2) エンドリペアと 3' A テーリング

① 下表に従いエンドリペアと 3' A テーリング反応ミックスを調製する。

試薬	1 反応あたり
End Repair Buffer (ERB)	7 μL
End Repair Enzyme (ERA)	3 μL
合計	10 μL

② エンドリペアと 3' A テーリング反応ミックス 10 μL を断片化した DNA 50 μL に混合し、下記反応プログラムの条件で反応させる。

ステップ	温度	時間
1	20℃	30 分
2	65℃	30 分
3	4℃	Hold

3) アダプターライゲーションとアダプターライゲーション産物の精製

① アダプターライゲーションミックスを下表に従い調製する。

試薬	1 反応あたり
Ligation Buffer (LIB)	30 μL
DNA Ligase (LIG)	10 μL
合計	40 μL

取扱説明書を必ずご参照ください

- ② エンドリペアと 3'A テーリングを行った後の反応ウェルに、下の試薬を表に示す順番で加え混合する。

試薬	1 反応あたり
エンドリペアと 3'A テーリング後の反応液	60 μ L
アダプターライゲーションミックス	40 μ L
Adapter ACA-A (ACA-A) / Adapter ACA-B (ACA-B)	10 μ L
合計	110 μ L

- ③ 下記反応プログラムの条件で反応させる。

ステップ	温度	時間
1	20°C	15 分
2	70°C	10 分
3	4°C	Hold

- ④ Purification Beads (SPB2) 88 μ L を用いてアダプターライゲーション産物を精製し、Elution Buffer (EB) 28 μ L を用いて溶出する。

4) プレライブラリーの増幅と精製

- ① プレライブラリー増幅反応ミックスを下表に従い調製する。

試薬	1反応あたり
Pre-PCR Buffer (PPB)	10 μ L
dNTPs Mix (dNTP)	1.5 μ L
Pre-PCR Primers Plus (PPS)	10 μ L
Pre-PCR Enzyme (PPE)	1 μ L
合計	22.5 μ L

- ② 精製済みアダプターライゲーション産物 27.5 μ L にプレライブラリー増幅反応ミックス 22.5 μ L を混合し、下記反応プログラムの条件で反応させる。

ステップ	サイクル	温度	時間
1	1	98°C	45秒
2	10	98°C	15秒
		60°C	30秒
		72°C	30秒
3	1	72°C	2分
4	1	4°C	Hold

- ③ Purification Beads (SPB2) 60 μ L を用いてプレライブラリー増幅産物を精製し、Elution Buffer (EB) 18 μ L を用いて溶出する。

5) プレライブラリー品質評価

蛍光ベースの DNA 定量法を用いてプレライブラリーDNA が 300 ng 以上であることを確認する。

6) ハイブリダイゼーション反応

- ① プレライブラリー収量に基づき、以下のように準備する。プレライブラリー液量が 15 μ L 未満の場合は Elution Buffer (EB) を用いて液量を調整する。
- プレライブラリー収量 ≥ 1500 ng の場合：ハイブリダイゼーションに液量の半分を使用する。
 - 750 ng \leq プレライブラリー収量 < 1500 ng の場合：ハイブリダイゼーションにプレライブラリー750 ng を使用する。
 - 300 ng \leq プレライブラリー収量 < 750 ng の場合：ハイブリダイゼーションにプレライブラリー15 μ L を使用する。

- ② Blocker Mix (BLM) 4 μ L を下表に従いプレライブラリーに加え混合し、これをコンポーネント A とする。

試薬	1反応あたり
プレライブラリー	15 μ L
Blocker Mix (BLM)	4 μ L
合計	19 μ L

- ③ 下表に従いコンポーネント B を調製し、65°C で 5 分間インキュベートする。

試薬	1反応あたり
Hybridization Buffer (HYB)	10 μ L
RNase Inhibitor Buffer (RIB)	0.5 μ L
Probe BC002 (BC002)	1 μ L
合計	11.5 μ L

- ④ コンポーネント A を下表に従いハイブリダイゼーションプログラムを実行する。

ステップ	温度	時間
1	95°C	5分
2	65°C	Hold

- ⑤ ハイブリダイゼーションプログラムが 65°C に下がったら、6) ③で 65°C に加温したコンポーネント B 11.5 μ L をコンポーネント A の対応するウェルに素早く移す。65°C で 16~24 時間インキュベートする。

7) キャプチャー

- ① Wash Buffer 2 (WB2) を 65°C で加温する。
- ② Streptavidin Beads (SCB) 25 μ L を使用し、Beads Wash Buffer (BWS) 150 μ L を用いて合計 3 回の洗浄を行う。
- ③ 150 μ L の BWS に SCB を再懸濁する。
- ④ 30 μ L のハイブリダイゼーション検体を再懸濁した SCB に素早く移し混合し、サーモミキサーで 600 rpm、30 分間インキュベートする。
- ⑤ 150 μ L の Wash Buffer 1 (WB1) で 1 回、その後 150 μ L の Wash Buffer 2 (WB2) で 4 回洗浄する。
- ⑥ 各ウェルに 20 μ L の Elution Buffer (EB) を加え、ビーズを再懸濁する。

8) ポストライブラリーの増幅と精製

- ① 下表で示す試薬を、7) で得られた産物 (SCB を含むライブラリー) に加え混合する。

試薬	1反応あたり
Amplification Mixture (AMB)	25 μ L
Index Primer Set A/ Index Primer Set B/ Index Primer Set C/ Index Primer Set D	5 μ L
SCB を含むライブラリー	20 μ L
合計	50 μ L

- ② 下記反応プログラムの条件で反応させる。

ステップ	サイクル	温度	時間
1	1	98°C	45秒
2	12	98°C	15秒
		60°C	30秒
		72°C	30秒
3	1	72°C	10秒
4	1	4°C	Hold

- ③ ポストライブラリーの精製

Purification Beads (SPB2) 50 μ L を用いてポストライブラリーを精製し、Elution Buffer (EB) 20 μ L を用いて溶出する。

9) ポストライブラリーQC

蛍光ベースの DNA 定量法を用いてポストライブラリーの濃度を測定し、0.5 ng/ μ L 以上であることを確認する。

10) シークエンシング

- ① 同じシークエンシングレーンに同じインデックスプライマーが使用されないように、各 DNA ライブラリーを混合する。
- ② 遺伝子解析装置 DNBSEQ-G400 の添付文書、取扱説明書に従ってライブラリーを調製し、シークエンシングを行う。

11) データ解析と結果報告

シークエンシング終了後、塩基配列情報は指定のディレクトリに自動的に保存される。その後、塩基配列情報を解析プログラムにより解析し、遺伝子変異の解析結果レポートを出力する。

(2) OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx 解析プログラム < 設置方法 >

サーバーは以下の仕様を満たすものを使用する。

構成	仕様
CPU	Intel(R) Xeon(R) Gold 6230 CPU 64 ビット、2 CPU、20 コア/CPU、2.1GHz 以上
メモリー	512GB 以上
ディスク	12TB 以上
OS	CentOS 7.9 または Rocky Linux 9.4
サポーター・ソフトウェア	OpenSSL 3.0、tar 1.26

クライアント端末 (PC) は以下の仕様を満たすものを使用する。

構成	仕様
CPU	Intel(R) Core (TM) i5-5200U CPU 64 ビット、1CPU、4 コア/CPU、2.19GHz 以上
メモリー	8GB 以上
ディスク	256GB 以上
OS	Windows 10
サポート・ソフトウェア	Office 2010、Adobe Reader 11、Windows Defender 4.18

2. 組み合わせて使用する医療機器

遺伝子解析装置 DNBSEQ-G400

一般の名称：遺伝子解析装置

医療機器製造販売届出番号：11B1X10017000063

製造販売元：株式会社 I C S T

3. 使用方法等に関連する使用上の注意

- (1) ロットの異なるキットの構成試薬を掛け合わせないこと。
- (2) 1 つのシークエンスパッチレーンで同じインデックスを避けること。
- (3) 同じパッチでシークエンスされたライブラリーのアダプター (ACA1、ACA2、ACA3、ACA4) は、可能な限りバランスをとる必要がある。

【使用上の注意】

1. 重要な基本的注意

- (1) 測定検体の性質、採取法
 - 1) がん患者由来の FFPE 腫瘍組織検体、または FFPE 腫瘍組織から抽出したゲノム DNA を検体として用いること。
 - 2) FFPE 検体から DNA を抽出する場合は、日本病理学会のゲノム診療用病理組織検体採取規程に従い、以下の点に留意すること。
 - ・採取した組織は速やかに固定を行うこと。
 - ・10%中性緩衝ホルマリン溶液で 6～48 時間の固定を行うこと。
 - ・FFPE 検体が過固定等による核酸の品質低下が懸念される場合、核酸品質の確認を行うこと。
 - ・抽出した DNA は、蛍光法による dsDNA 濃度の測定等を行い、純度や収量を確認すること。
 - ・その他詳細は本取扱規程に従うこと。
 - 3) 推奨の DNA 抽出試薬を使用して DNA を抽出し、蛍光法で定量すること。本品に必要な DNA 量は最低 100 ng とする。
 - 4) 組織検体は検査前に適切な病理学的評価が必要であり、腫瘍純度は 20%以上でなければならない。
 - 5) 組織検体は、検体の質を保証するため、標準的な病理学的方法に従い、各種組織検体採取ガイドライン（例：日本病理学会のゲノム診療用病理組織検体採取規程、等）に記載の条件に基づいて、取り扱うこと。
 - 6) DNA 抽出後はできるだけ早くライブラリーを構築することを推奨するが、すぐに検査を行わない場合は、凍結保存すること。ただし、凍結融解の繰り返しは避けること。各種の検体採取ガイドラインに記載の条件に基づいて、適切に取り扱うこと。
 - 7) 実験中は検体と試薬を厳密に区別し、検体間の交差汚染や試薬の汚染を防ぐこと。
 - 8) 不適切な検体の採取、輸送、取り扱い、不適切な実験室業務や実験環境は、誤った結果につながる可能性がある。

(2) 妨害物質、反応特異性

1) 妨害物質

本品の測定に影響する可能性のある妨害物質（ヘモグロビン 50 μmol/L、トリグリセリド 4 mmol/L、エタノール 5% v/v、10% ホルマリン 1% v/v、パラフィン 1% v/v、キシレン 1% v/v）について結果判定への影響は認められなかった。

2) 反応特異性（プローブ特異性）

本品のキャプチャー用のプローブの特異性について、ヒトゲノム参照配列 hg19 と比較し、解析に必要な最低限のユニークなリードの深度を満たしているかどうかを臨床検体を用いて評価した。その結果、全体的なユニークなリードの深度は解析要件を満たしていることが示された。

2. その他の注意

- (1) カピバセルチブに関する本邦における最新の添付文書を参照の上、使用すること。
- (2) 検査結果が陰性であっても、標的遺伝子変異の存在を完全に否定するものではない。偽陰性の結果は、検体中の腫瘍 DNA 含有

量が少ない、過剰な分解、または変異頻度がキットの最小検出感度以下であることが原因である可能性がある。

- (3) 本品の最小検出感度は以下に示すとおり。本品の性能には限界がある。

遺伝子	変異タイプ	最小検出感度
AKT1	SNV	2% VAF ⁺
PIK3CA	SNV	2% VAF
PTEN	SNV	2%/5% VAF ⁺⁺
	Indel	2%/5% VAF ⁺⁺
	CNV Homozygous deletion	40% tumor purity

⁺ VAF：変異アレル頻度

⁺⁺ 2% VAF：特異的 SNV/Indel, 5% VAF：非特異的 SNV/Indel

(4) 全般的な注意

- 1) 本品使用前に本電子化された添付文書及び取扱説明書をよく読むこと。
- 2) すべての化学試薬は潜在的に危険であり、対応する実験技術の訓練を受けた担当者のみがこのキットを使用すること。使用中は適切な白衣を着用し、使い捨て手袋を着用すること。使用済みのキットは臨床廃棄物として、適切に廃棄すること。

(5) 性能

相関性試験

カピバセルチブの CAPItello-291 試験にて乳癌被験者から収集された検体のうち、既承認品 A (NGS) にて遺伝子検査が行われ PIK3CA/AKT1/PTEN 遺伝子変異の有無が判明している陽性検体 157 例及び陰性検体 170 例の検体を用いて、既承認品 A を対照として一致率を評価した。結果は以下のとおり。

本 品	対照品（既承認品 A (NGS 検査)）		
	陽性	陰性	合 計
陽性	149	6	155
陰性	8	164	172
合 計	157	170	327

陽性一致率：94.9% (149/157), 95%CI [90.3% - 97.4%]

陰性一致率：96.5% (164/170), 95%CI [92.5% - 98.4%]

全体一致率：95.7% (313/327), 95%CI [92.9% - 97.4%]

【臨床成績】

カピバセルチブの有効性は、アロマターゼ阻害剤を含む内分泌療法後に増悪した、エストロゲン受容体陽性かつ HER2 陰性の手術不能又は再発乳癌患者 708 例（カピバセルチブ+フルベストラント併用投与群 355 例 [日本人 37 例]、プラセボ+フルベストラント併用投与群 353 例 [日本人 41 例]）を対象に、カピバセルチブ+フルベストラント併用投与とプラセボ+フルベストラント併用投与の有効性及び安全性を比較する無作為化二重盲検国際共同第 III 相試験（CAPItello-291 試験）にて示された。当該試験において、主要評価項目の一つである PIK3CA/AKT1/PTEN 遺伝子変異陽性集団（289 例）における治験責任（分担）医師評価による無増悪生存期間（PFS）について、カピバセルチブ+フルベストラントの併用投与（155 例）により、プラセボ+フルベストラントの併用投与（134 例）と比較して統計学的に有意な延長が認められた。PFS [中央値 (95%CI)] は カピバセルチブ+フルベストラント併用投与群で 7.3 ヶ月 (5.5～9.0 ヶ月) 及びプラセボ+フルベストラント群で 3.1 ヶ月 (2.0～3.7 ヶ月) であった [ハザード比：0.50、95%CI：0.38～0.65、p<0.001 (層別ログランク検定)]。

本品により陽性と判定された 156 例の無増悪生存期間（PFS）が解析された。PFS 中央値はカピバセルチブ+フルベストラント群で 5.6 ヶ月、プラセボ+フルベストラント群で 3.7 ヶ月であった（増悪または死亡のハザード比 0.64、95%信頼区間 (CI) 0.44-0.92、名目上の p-value = 0.013)。

【保管方法及び有効期間等】

OncoGuide™ OncoScreen™ Plus CDx キット

1. 保管方法

- ・Box 1 -25 ～ -15℃
- ・Box 2 -85 ～ -70℃
- ・Box 3 2 ～ 8℃
- ・Box 4 10 ～ 30℃

2. 有効期間

- ・Box 1 6 ヶ月
- ・Box 2 6 ヶ月
- ・Box 3 6 ヶ月
- ・Box 4 6 ヶ月

取扱説明書を必ずご参照ください

【主要文献】

- (1) Ferlay J. et al. Int J Cancer. 2021 Apr 5.
- (2) World Health Organization (WHO). GLOBOCAN Japan Fact Sheet 2022 (ver.1.1).
- (3) Waks AG. et al. JAMA. 2019 Jan 22;321(3):288-300.
- (4) China CSCO Guidelines for Breast cancer, Version 2022
- (5) Millis SZ. et al. JAMA Oncol. 2016 Dec 1;2(12):1565-1573.
- (6) National Comprehensive Cancer Network. (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology. Breast Cancer, Version 4.2022.
- (7) Howell SJ. et al. Lancet Oncol. 2022 Jul;23(7):851-864.
- (8) Turner NC. et al. N Engl J Med. 2023;388(22):2058-2070.
- (9) Schmid P. et al. J Clin Oncol. 2020 Feb 10;38(5):423-433.

【問い合わせ先】

株式会社理研ジェネシス

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号
アートヴィレッジ大崎セントラルタワー

電話番号： 03-5759-6041

FAX 番号： 03-5759-6043

【製造販売業者及び製造業者の氏名又は名称等】

製造販売業者：

株式会社理研ジェネシス

〒141-0032 東京都品川区大崎一丁目2番2号
アートヴィレッジ大崎セントラルタワー

電話番号： 03-5759-6041

FAX 番号： 03-5759-6043

製造業者（国名）：

グアンジョウ バーニング ロック ディーエックス

Guangzhou Burning Rock Dx Co., Ltd.（中国）