

SureSelect Cancer CGP 检测

肿瘤全景变异分析 (CGP) 可充分获得肿瘤的关键信息

主要优势

- 全球精选具有临床意义的生物标志物内容
- 广泛的样品起始量范围可分析更多样品
- 可在快速周转时间内获得测序结果
- 自动化选项可提高分析效率和重现性
- 酶切片段化选项无需使用物理剪切设备

前言

Agilent SureSelect Cancer CGP 检测通过二代测序 (NGS) 基因 Panel 对癌症样品进行基因组分析, 该基因 Panel 涵盖来自癌症数据库和前沿临床癌症研究人员的全球精选基因资源。该检测方法能够检测体细胞变异的主要类型, 包括单核苷酸变异 (SNVs)、拷贝数变异 (CNVs)、插入/缺失 (indels)、易位 (TLs) 和基因融合, 以及肿瘤免疫生物标志物肿瘤突变负荷 (TMB) 和微卫星不稳定性 (MSI)。该基因 Panel 由包含 679 个基因的 DNA 模块和包含 80 个基因的 RNA 模块组成。设计时考虑了灵活性, 每个模块都可以单独或并行检测。可以在同一次运行中将由每个模块生成的文库进行合并和测序。

SureSelect Cancer CGP 检测使用简化的高性能 Agilent SureSelect XT HS2 文库制备和靶向序列捕获技术开发而成。该检测方法支持快速的 90 分钟杂交步骤, 兼容低至 10 ng 的起始量, 以及用于生成待测序文库的单日工作流程。为方便起见, 该检测还包括酶切片段化, 无需物理剪切设备。使用 Agilent Magnis NGS 文库制备系统大大提高工作效率并大幅缩短实验室研究时间, 该系统是一种全自动、无人值守的平台, 只需 15 分钟的手动操作时间即可生成待测序文库。

可满足您实验室需求的灵活工作流程

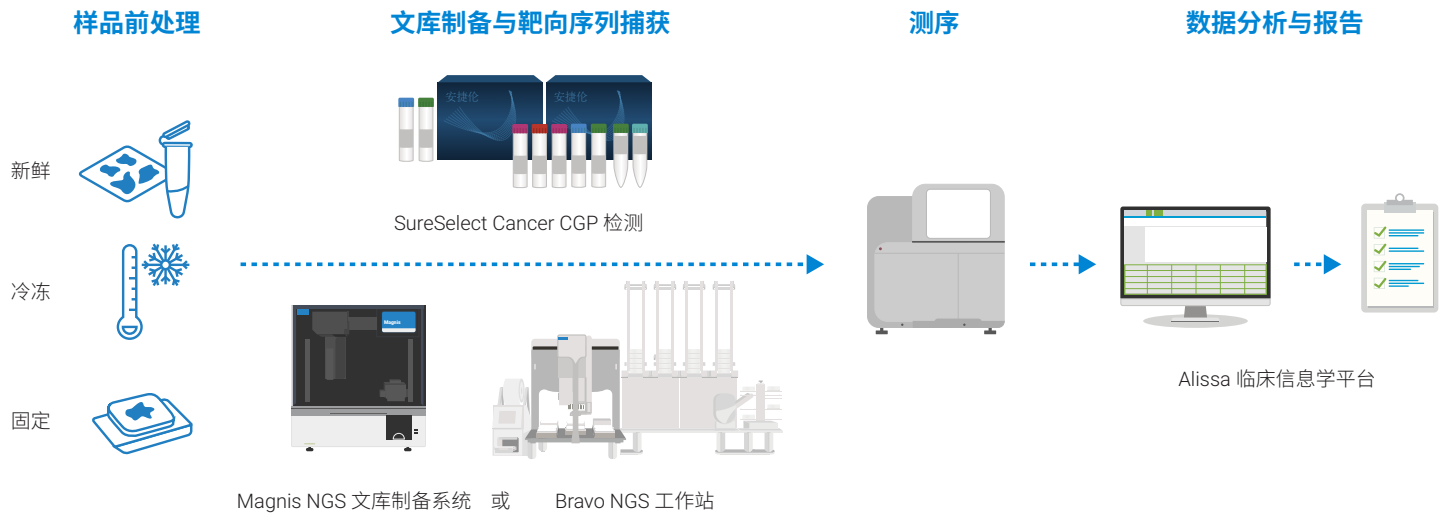


图 1. SureSelect Cancer CGP 检测工作流程使实验室科学家能够在不到四天内将组织标本用于临床研究。使用安捷伦自动化平台（例如用于获得待测序文库的无人值守 Magnis NGS 文库制备系统或高通量 Bravo NGS 工作站）可以极大简化这种用于肿瘤全景变异分析的 NGS 检测

出色的靶标覆盖率和均一性，确保获得可靠结果

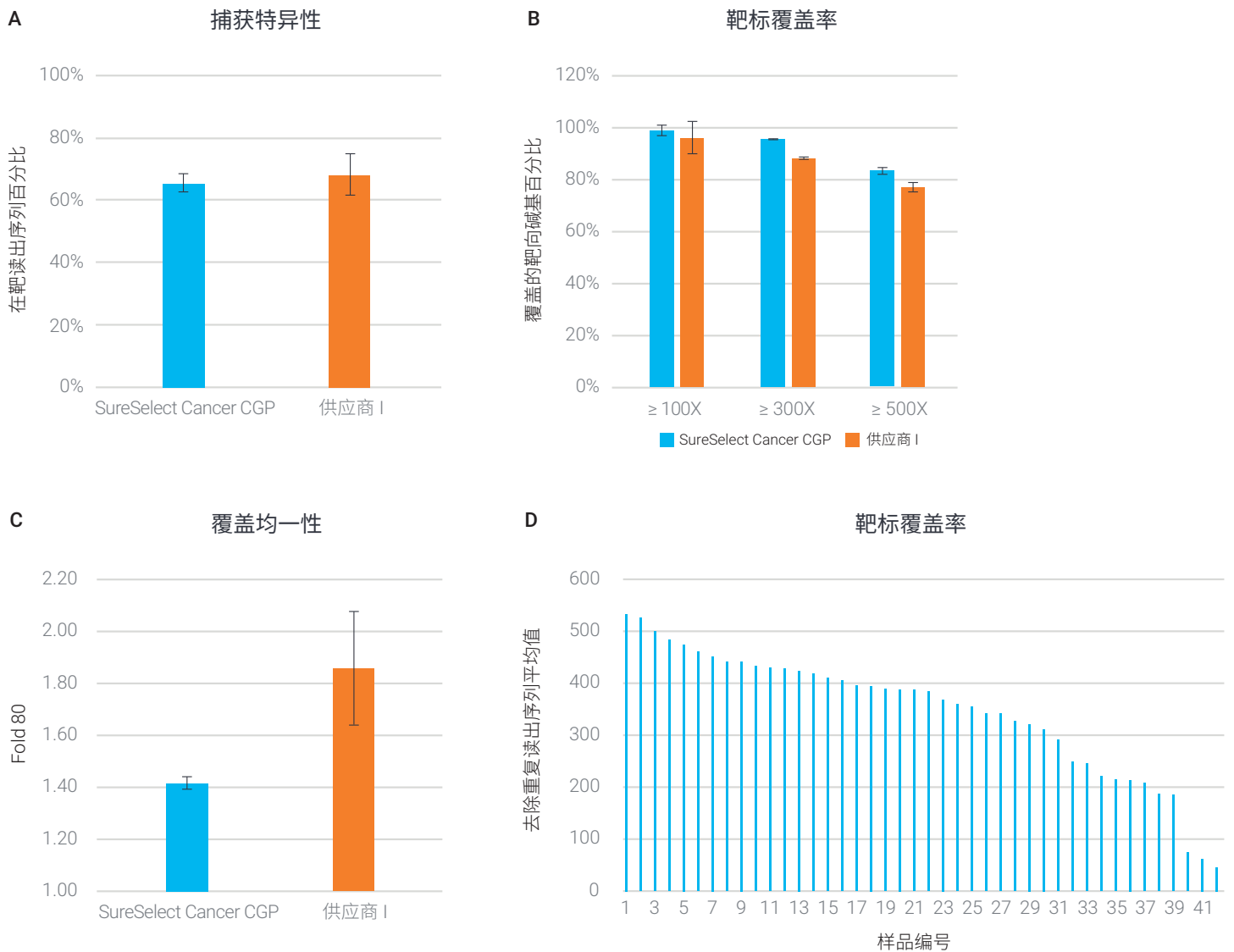


图 2. SureSelect Cancer CGP 检测的出色序列捕获效率可实现深度靶标覆盖

A. SureSelect Cancer CGP 检测与其他供应商检测之间重叠靶标区域的读出序列百分比相似。**B.** 对于 SureSelect Cancer CGP 检测，具有大于或等于 100X、300X 和 500X 覆盖率的靶标碱基比例更高。**C.** Fold-80 碱基罚分，一种覆盖均一性的衡量标准，更适合 SureSelect Cancer CGP 检测。较低的 Fold-80 值表示靶标区域的覆盖更均匀。**D.** 使用 Agilent 4200 TapeStation 系统测量 42 个 DNA 完整值 (DIN) 为 3-7 的 FFPE 样品，分析去除重复后靶标区域的平均覆盖率。93% 的样品的平均覆盖率大于或等于 100X，88% 的平均覆盖率大于或等于 200X，表明具有优异的覆盖率。从正常细胞系、Agilent OneSeq 参比 DNA、女性（货号 5190-8850）(A、B 和 C) 或存档的 FFPE 样品 (D) 中提取的 50 ng DNA 按照制造商的建议进行了处理，并在 Illumina HiSeq4000 或 NextSeq500 仪器上进行测序。将数据向下采样至 6 Gb (40 M 2 × 150 bp 读出序列) 以用于分析。使用基因 Panel 靶标文件确定测序指标，涵盖 SureSelect Cancer CGP 检测的 679 个基因和供应商 I 的 523 个基因

关键体细胞变异类别的一致性检测

表 1. SureSelect Cancer CGP 检测可重复检测单核苷酸变异 (SNVs)、插入 (ins.)、缺失 (del.) 和低至 5% 变异等位基因频率 (VAF) 的拷贝数变异 (CNV)。在 Illumina HiSeq4000 测序仪上对 50 ng Horizon Discovery 结构多重参比标样 gDNA (HD753) 进行分析和测序。将所得的测序读出序列向下采样至 6 Gb (40 M 2 × 150 bp 读出序列)，并使用内部开发的 SNP 识别工具分析变异。实测等位基因频率代表三次重复检测的平均值。在所有三次重复检测中检测到所有变异

基因	变异	变异类型	预测等位基因频率	实测等位基因频率
AKT1	E17K	SNV	5.0%	5.5%
BRAF	V600E	SNV	18.2%	15.8%
BRCA2	K1691Nfs*15	1 bp del.	5.6%	4.5%
EGFR	G719S	SNV	5.3%	4.3%
EGFR	V769_D770insASV	9 bp ins.	5.6%	4.0%
EGFR	ΔE746-A750	15 bp del.	5.3%	1.8%
FBXW7	S668Vfs*39	1 bp del.	5.6%	4.7%
FLT3	P986Afs*27	2 bp del.	5.6%	6.6%
GNA11	Q209L	SNV	5.6%	5.5%
KRAS	G13D	SNV	5.6%	4.9%
MET	L238Yfs*25	1 bp del.	2.5%	2.9%
MET	扩增	CNV	5 拷贝	5 拷贝
N-MYC	扩增	CNV	10 拷贝	10 拷贝
NOTCH1	P668S	SNV	5.0%	4.0%
PIK3CA	E545K	SNV	5.6%	4.6%
PIK3CA	H1047R	SNV	16.7%	14.7%

表 2. SureSelect Cancer CGP 检测能够可靠地检测肿瘤免疫生物标志物 TMB 和 MSI 肿瘤样品，MSI 和 TMB 状态较高的样品对免疫疗法具有更出色的响应^[1]。通过免疫组织化学 (IHC) 确定为微卫星稳定 (MSS) 的样品显示出较低的 TMB 和 MSI 得分，而高 MSI 样品显示出较高的 TMB 和 MSI 得分。通过安捷伦内部分析确定得分。错配修复 (MMR) 基因 (MLH1-MutL 同源体 1、PMS2-PMS1 同源体 2、错配修复系统成分、MSH2-MutS 同源体 2、MSH6-MutS 同源体 6) 的 IHC 染色模式显示了这些基因染色的完整 (I) 或缺失 (L) 情况。结果表明在 SureSelect Cancer CGP 检测和 IHC 染色之间，MSI 状态具有良好的相关性

样品编号	通过 SureSelect Cancer CGP 检测计算 TMB 和 MSI				IHC 染色状态, MMR 基因			
	TMB 得分	TMB 状态	MSI 得分	MSI 状态	MLH1	PMS2	MSH2	MSH6
Colon_1	9.5	低	15.6	MSS	I	I	I	I
Colon_2	8.0	低	13.6	MSS	I	I	I	I
Colon_3	6.0	低	12.0	MSS	I	I	I	I
Colon_4	12.5	低	14.9	MSS	I	I	I	I
Colon_5	10.0	低	15.3	MSS	I	I	I	I
Colon_6	9.0	低	13.4	MSS	I	I	I	I
Colon_7	53.0	高	57.5	MSI-H	I	I	L	L
Colon_8	59.0	高	64.5	MSI-H	L	L	I	I
Cecum_9	69.0	高	57.0	MSI-H	L	L	I	I
Colon_10	59.5	高	44.8	MSI-H	I	I	L	L

对于挑战性样品和靶标具有优异的性能

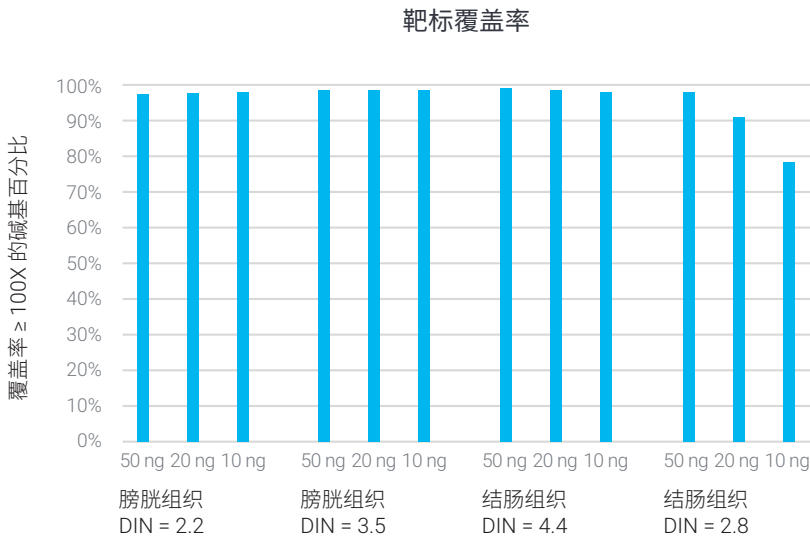
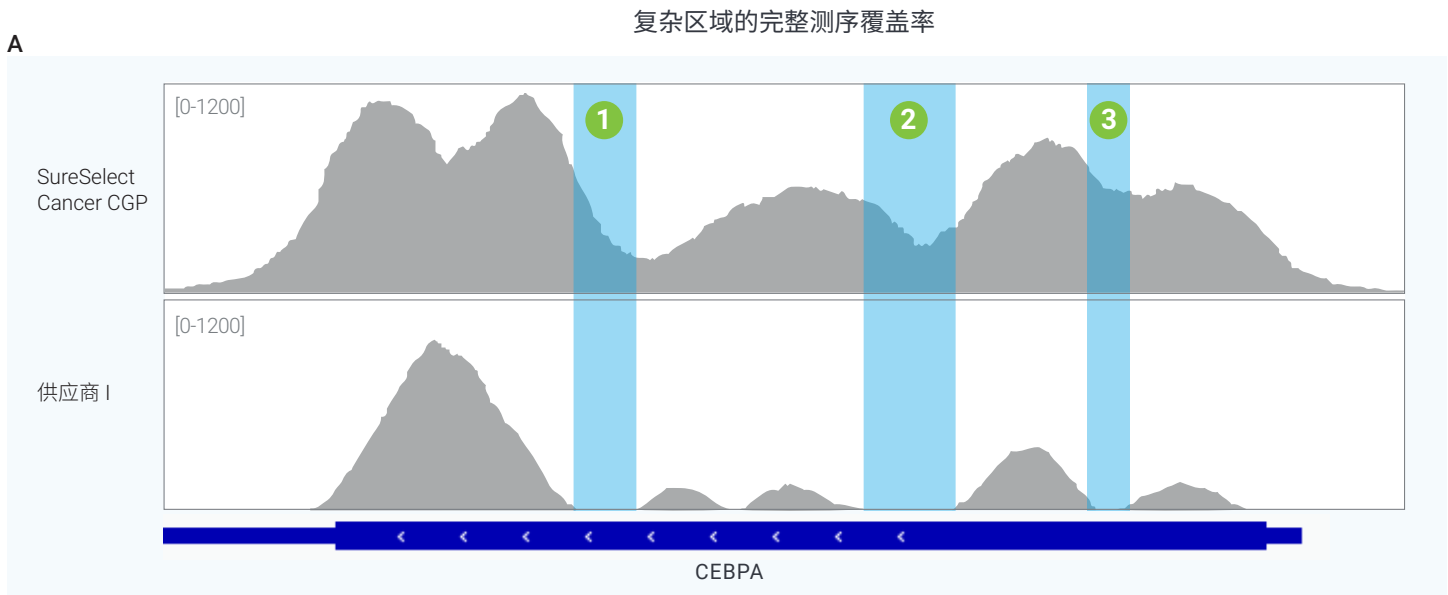


图 3. SureSelect Cancer CGP 检测在低起始量下具有稳定的性能。虽然为了获得理想性能，建议使用 50 ng 起始 DNA，但只需 10 ng 即可实现良好的靶标覆盖率。柱状图显示了覆盖率大于或等于 100X 的靶标碱基的比例。从四个 FFPE 样品（两个膀胱和两个结肠组织样品）中提取通过 TapeStation 系统的 DNA 完整值 (DIN) 测量的不同质量的 DNA，并将其用作 SureSelect Cancer CGP 检测的起始样品



B

区域#	SureSelect Cancer CGP 最低覆盖率	供应商 I 覆盖率
1	200	0
2	275	0
3	600	0

图 4. SureSelect Cancer CGP 检测的优化设计为具有挑战性的靶标基因 *CEBPA* 提供了稳定的性能，该基因包含高 GC 含量的区域 **A**。SureSelect Cancer CGP 基因 Panel 和市场上基因 Panel 的去重读出序列覆盖率。三处颜色突出区域显示了 SureSelect Cancer CGP 覆盖的区域，这些区域在其他检测方法中是缺失的。**B**。SureSelect Cancer CGP 检测的至少 200 个独特读出序列的读取深度。使用参比细胞系按照推荐方案生成数据，并使用 40 M 读出序列进行测序

只需一个基因伙伴即可实现从头基因融合检测

表 3. SureSelect Cancer CGP 检测可检测来自 DNA 和 RNA 起始样品的易位。使用 SureSelect Cancer CGP DNA 和 RNA 检测对四个具有因 ALK 基因易位引起的非小细胞肺癌 (NSCLC) 样品进行分析。等位基因数量表示在使用 DNA 检测时映射到断点的基因组位置的读出序列数量。融合读出序列的数量是同时映射到 ALK 和 EML4 转录本的读出序列数量。使用内部开发的算法对 DNA 中的易位事件进行检测。使用 STAR-Fusion 检测 RNA 融合读出序列^[2]。将从 FFPE 样品中提取的 50 ng DNA 或 RNA 用作起始样品。在 Illumina HiSeq4000 上进行测序，将所得数据向下采样至 40 M 2 × 150 bp 读出序列 (DNA 检测) 或 10 M 2 × 150 bp 读出序列 (RNA 检测)

样品编号	ALK/EML4 断点	SureSelect Cancer CGP 检测: DNA Panel		SureSelect Cancer CGP 检测: RNA Panel	
		读取深度	等位基因数量	ALK/EML4 融合	融合读出序列
NSCLC-1	chr2:29224722/42275660	256	18	检出	8
NSCLC-2	chr2:29223615/42297197	152	9	检出	23
NSCLC-3	chr2:29224445/42276523	154	14	检出	15
NSCLC-4	chr2:29223466/42317566	291	61	检出	96

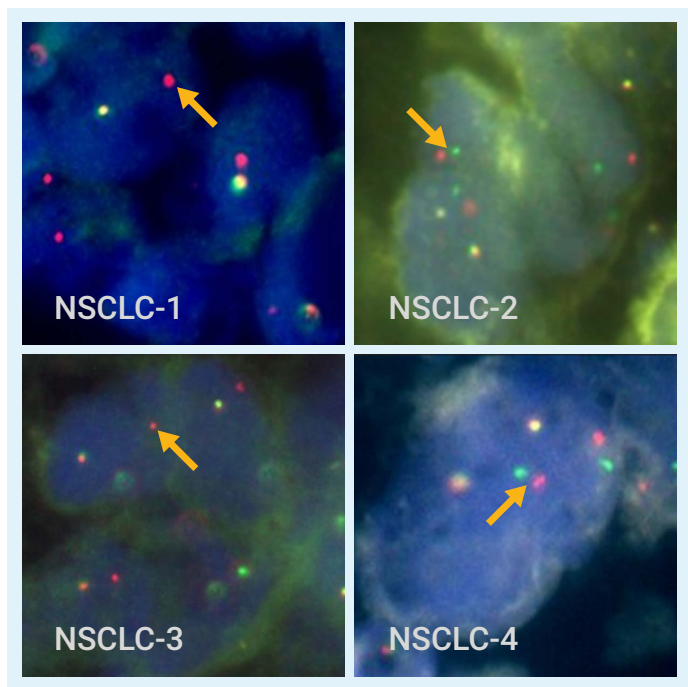


图 5. 四个 ALK 阳性样品的荧光原位杂交 (FISH) 分析的代表性图像显示，其结果与表 3 中的 NGS 结果一致。使用 Agilent SureFISH ALK Break-Apart 探针进行 FISH。涉及 ALK 的易位证据以单独的红色信号 (箭头) 或红色和绿色信号分离 (箭头) 来表示

手动和自动化工作流程的性能相当

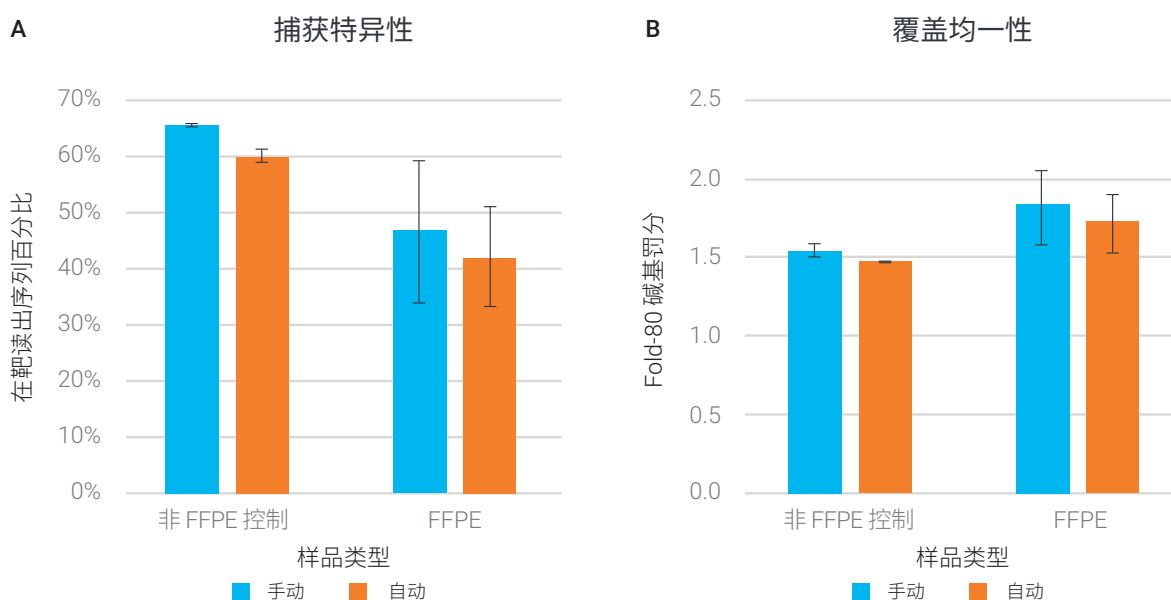


图 6. 在 Agilent Magnis NGS 文库制备系统上手动或自动生成的 SureSelect Cancer CGP 文库稳定性相当且可重现检测性能。在 Magnis 上三次重复运行 DNA 完整值 (DIN) 为 2-4 的 9 个 FFPE 样品，DNA 起始样品量为 50 ng。将非 FFPE 参比细胞系对照，包括结构多重参比标样 (gDNA) 细胞系 (Horizon Discovery, 货号 HD753) 和定量多重参比标样 fcDNA (中等) 细胞系 (Horizon Discovery, 货号 HD799) 三次重复运行以进行比较。**A.** 与靶标区域重叠的读出序列百分比在手动和自动化工作流程中相当。**B.** Fold-80 碱基罚分比较显示，手动和自动化工作流程之间均一覆盖。较低的 Fold-80 值表示靶标区域的覆盖更均匀

表 4. 在自动化 Magnis NGS 文库制备系统生成的 SureSelect Cancer CGP 文库中，对低至 5% 变异等位基因频率 (VAF) 的变异 (SNVs、插入缺失、CNVs) 的检测相当且可重现。对 50 ng Horizon 参比标样、结构多重参比标样 gDNA (Horizon Discovery, 货号 HD753) 和定量多重参比标样福尔马林处理 DNA (Horizon Discovery, 货号 HD799) 进行三次重复检测，并在 Illumina NovaSeq 6000 仪器上进行测序。将所得的测序读出序列向下采样至 6 Gb (40 M 2 × 150 bp 读出序列)，并使用内部开发的 SNP 识别工具分析变异。实测等位基因频率代表三次重复检测的平均值。在所有三次重复检测中检测到所有变异

样品	基因	变异	变异类型	预测等位基因频率	实测等位基因频率
HD753	AKT1	E17K	SNV	5.0%	7%
	BRAF	V600E	SNV	18.2%	18%
	BRCA2	K1691Nfs*15	1 bp del.	5.6%	7%
	EGFR	V769_D770insASV	9 bp ins.	5.6%	3%
	EGFR	ΔE746-A750	15 bp del.	5.3%	2%
	EGFR	G719S	SNV	5.3%	6%
	FBXW7	S668Vfs*39	1 bp del.	5.6%	5%
	FLT3	P986Afs*27	2 bp del.	5.6%	5%
	KRAS	G13D	SNV	5.6%	4%
	MET	L238Yfs*25	1 bp del.	2.5%	3%
	MET	扩增	CNV	5 拷贝	5 拷贝
	N-MYC	扩增	CNV	10 拷贝	9 拷贝
	NOTCH1	P668S	SNV	5.0%	5%
	PIK3CA	E545K	SNV	5.6%	3%
	PIK3CA	H1047R	SNV	16.7%	13%
HD799	BRAF	V600E	SNV	10.5%	14%
	cKIT	D816V	SNV	10.0%	10%
	EGFR	G719S	SNV	24.5%	22%
	KRAS	G13D	SNV	15.0%	15%
	KRAS	G13D	SNV	6.0%	5%
	NRAS	Q61K	SNV	12.5%	11%
	PIK3CA	H1047R	SNV	17.5%	18%
	PIK3CA	E545K	SNV	9.0%	9%

使用临床信息学软件

A

Agilent Technologies Alissa Interpret

Files | Patients | Analyses | Gene Profiles | MVL | Configuration | Search | Help | Administration

Molecular Variants

- Gene: KRAS
- Variant: c.1832C>A p.Ser611*
- Variant: c.4111C>T p.Gln1371*
- Variant: c.7397T>C p.Val2466Ala
- Variant: c.7738C>T p.Gln2580*
- Gene: FLT3
- Variant: c.680C>T p.Thr227Met
- Gene: KMT2C
- Variant: c.2447dupA p.Tyr816*
- Gene: KRAS
- Variant: c.34G>T p.Gly12Cys
- Gene: MET
- Variant: c.3029C>T p.Thr1010Ile

Annotations

External databases	HGVS nomenclature	Quality
ClinVar clinical significance	untested, pathogenic, pathogenic, pathogenic, pathogenic, probable-pathogenic, pathogenic, unknown	HGVS cDNA-level nomenclature NM_033360.4:c.34G>T
ClinVar disease	Endometrial carcinoma, Non-small cell lung carcinoma, Lung carcinoma,	HGVS genomic-level nomenclature NC_000012.12:g.25245351C>A
		HGVS protein-level nomenclature NP_203524.1:p.Gly12Cys
		Allele frequency A = 0.34732825
		Call quality 255
		Filter status PASS
		Genotype quality 8
		Mapping quality 41
		Observed allele 2 0.347

B

Gene information | **Variant information** | **Managed variant lists** | **Annotations** | **Links** | **Previous occurrences** | **JAX - CKB**

Molecular Profiles (154)

- KRAS G12C
- KRAS A146X
- KRAS A59X
- KRAS E76fs
- KRAS G12X
- KRAS G12fs
- KRAS G13X
- KRAS G15X
- KRAS K117X

Variant level evidence (240) | **Variant associated clinical trials (52)**

Indication / Tumor Type	Response Type	Treatment options	Therapy name	Approval status	Evidence type	AMP/CAP/ASCO Evidence Level	AMP/CAP/ASCO Inferred Tier	Efficacy evidence
Lung non-small cell carcinoma	sensitive	KRAS G12C inhibitor	Sotorasib	FDA approved - On...	Actionable	A	I	In a Phase I trial (CodeBreak 100) that supported FDA approval, Lumakras (sotorasib) treatment was well tolerated and resulted in an objective response rate of 32.2% (19/59, all partial responses), a disease control rate of 88.1% (52/59), and...
Lung non-small cell carcinoma	sensitive	KRAS G12C inhibitor	Sotorasib	Guideline	Actionable	A	I	In a Phase I trial (CodeBreak 100) that supported FDA approval, Lumakras (sotorasib) treatment was well tolerated and resulted in an objective response rate of 32.2% (19/59, all partial responses), a disease control rate of 88.1% (52/59), and median progression-free survival of 6.3 months in patients with non-small cell lung cancer harboring KRAS G12C who have received one or more prior therapy (PMID: 32955176; NCT03600883).
Lung non-small cell carcinoma	sensitive		Sorafenib	Phase II	Actionable	B	I	subsequent therapy for patients with non-small cell lung cancer harboring KRAS G12C (25/57) of patients with KRAS G12C (849) treatment was well-tolerated and resulted in a partial response rate of 10/45, including 1... (10/45, including 1...)
Colorectal cancer	sensitive	KRAS G12C inhibitor	Adagrasib	Phase Ib/II	Actionable	C	II	Analysis assessment change history
Advanced Solid	predicted -	KRAS G12C	Sotorasib	Phase I	Actionable	C	II	

图 7. 可以使用 Alissa Interpret 进一步研究采用 SureSelect Cancer CGP 检测识别的变异。A. 在使用 SureSelect Cancer CGP 检测和 Alissa Interpret 进行分析后，发现非小细胞肺癌样品含有 KRAS G12C 突变。B. 使用 Alissa Interpret 中的 Jackson 实验室临床知识库 (JAX-CKBTM) 信息可以获得有关变异影响和临床意义的更多信息[†]

[†]体细胞基因变异注释和相关内容由 Jackson 实验室临床知识库 (JAX-CKB™) 提供支持

实现游离 DNA 样品的变异检测

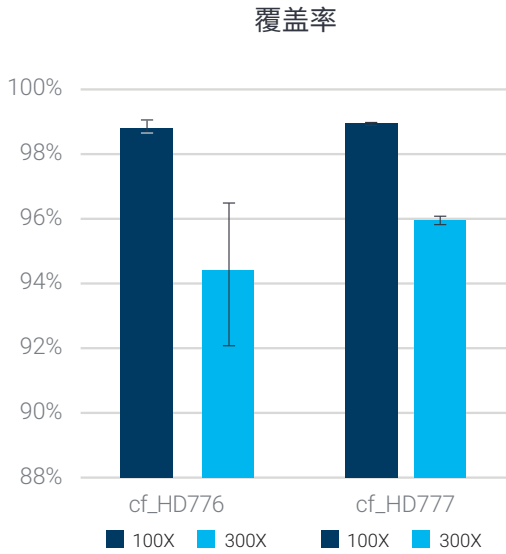


图 8. SureSelect Cancer CGP 检测可为游离 DNA (cfDNA) 参比样品提供高覆盖率。超过 98% 的靶标区域的测序深度至少为 100X，超过 92% 的靶标区域深度为 300X。对 50 ng cfDNA 参比标样 (Horizon Discovery, 货号 HD780) 进行三次重复检测，并在 Illumina HiSeq4000 上测序。将测序数据向下采样至 6 Gb (40 M × 150 bp 读出序列)。删除重复读出序列，并确定靶标区域的覆盖率

表 5. 可以在 cfDNA 参比样品中可靠地检测单核苷酸变异 (SNV) 和插入/缺失。Horizon Discovery 多重 cfDNA 参比标样组合涵盖具有八个突变的多个工程化 SNVs。该表显示了具有 5% 变异等位基因频率 (VAF) 的样品的数据 (cf_HD777-5%)。对于野生型样品 (cfDNA_HD776-WT)，预测和观察到的等位基因频率均为 0% (数据未列出)

基因	变异	变异类型	预测等位基因频率	实测等位基因频率
EGFR	L858R	SNV	5%	3%
EGFR	T790M	SNV	5%	5%
KRAS	G12D	SNV	5%	6%
NRAS	Q61K	SNV	5%	7%
PIK3CA	E545K	SNV	5%	4%
EGFR	ΔE746-A750	15 bp 缺失	5%	3%
EGFR	V769-D770insASV	9 bp 插入	5%	3%

参考文献

- Palmeri, M.; Mehnert, J.; Silk, A. W.; Jabbour, S. K.; Ganesan, S.; Popli, P.; Riedlinger, G.; Stephenson, R.; de Meritens, A. B.; Leiser, A.; Mayer, T.; Chan, N.; Spencer, K.; Girda, E.; Malhotra, J.; Chan, T.; Subbiah, V.; Groisberg, R. Real-World Application of Tumor Mutational Burden-High (TMB-High) and Microsatellite Instability (MSI) Confirms Their Utility as Immunotherapy Biomarkers. *ESMO Open* **2022**, 7 (1), 100336. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2021.100336>
- Haas, B. J.; Dobin, A.; Li, B.; Stransky, N.; Pochet, N.; Regev, A. Accuracy Assessment of Fusion Transcript Detection via Read-Mapping and de Novo Fusion Transcript Assembly-Based Methods. *Genome Biol.* **2019**, 20 (1), 213. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1842-9>

订购信息

完整试剂盒*			
产品描述	16 次反应	96 次反应	96 次反应, 自动**
SureSelect Cancer CGP 检测起始试剂盒	G9965A		
SureSelect Cancer CGP 检测 DNA + RNA 试剂盒		G9966A	G9966B
SureSelect Cancer CGP 检测 DNA 试剂盒	G9967A	G9967B	G9967C
SureSelect Cancer CGP 检测 RNA 试剂盒	G9968A	G9968B	G9968C
仅探针			
产品描述	16 次反应	96 次反应	96 次反应, 自动**
SureSelect Cancer CGP 检测探针, DNA + RNA	5191-6990	5191-6991	5191-6992
SureSelect Cancer CGP 检测探针, DNA	5280-0035	5280-0036	5280-0037
SureSelect Cancer CGP 检测探针, RNA	5191-6996	5191-6997	5191-6998
与自动化 Magnis NGS 文库制备系统兼容的试剂盒***			
产品描述	32 次反应	96 次反应	
Magnis SureSelect Cancer CGP, XT HS2 DNA 试剂盒	G9777A	G9777B	
Magnis SureSelect Cancer CGP, XT HS2 RNA 试剂盒	G9777C	G9777D	
兼容软件			
产品描述			
Alissa Interpret	联系销售		

* 不包括酶切片段化试剂

** 与自动化 Agilent Bravo NGS 工作站兼容

*** 包括酶切片段化试剂

www.agilent.com/

仅供科研使用。不用于临床诊断用途。

Alissa Interpret 是美国的 I 类豁免医疗器械、欧洲的 CE IVD 以及加拿大和澳大利亚的 I 类 IVD 器械。

PR7001-0506

本文中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2023
2023 年 3 月 1 日, 中国出版
5994-5796ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

