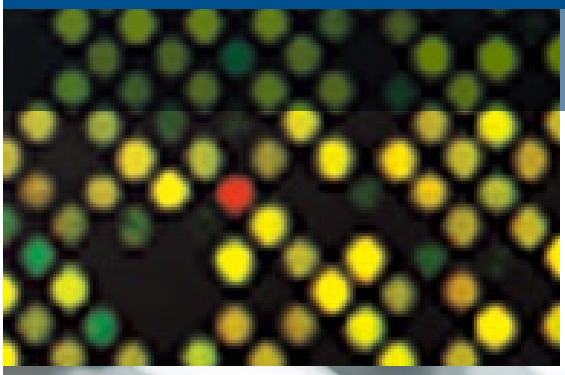
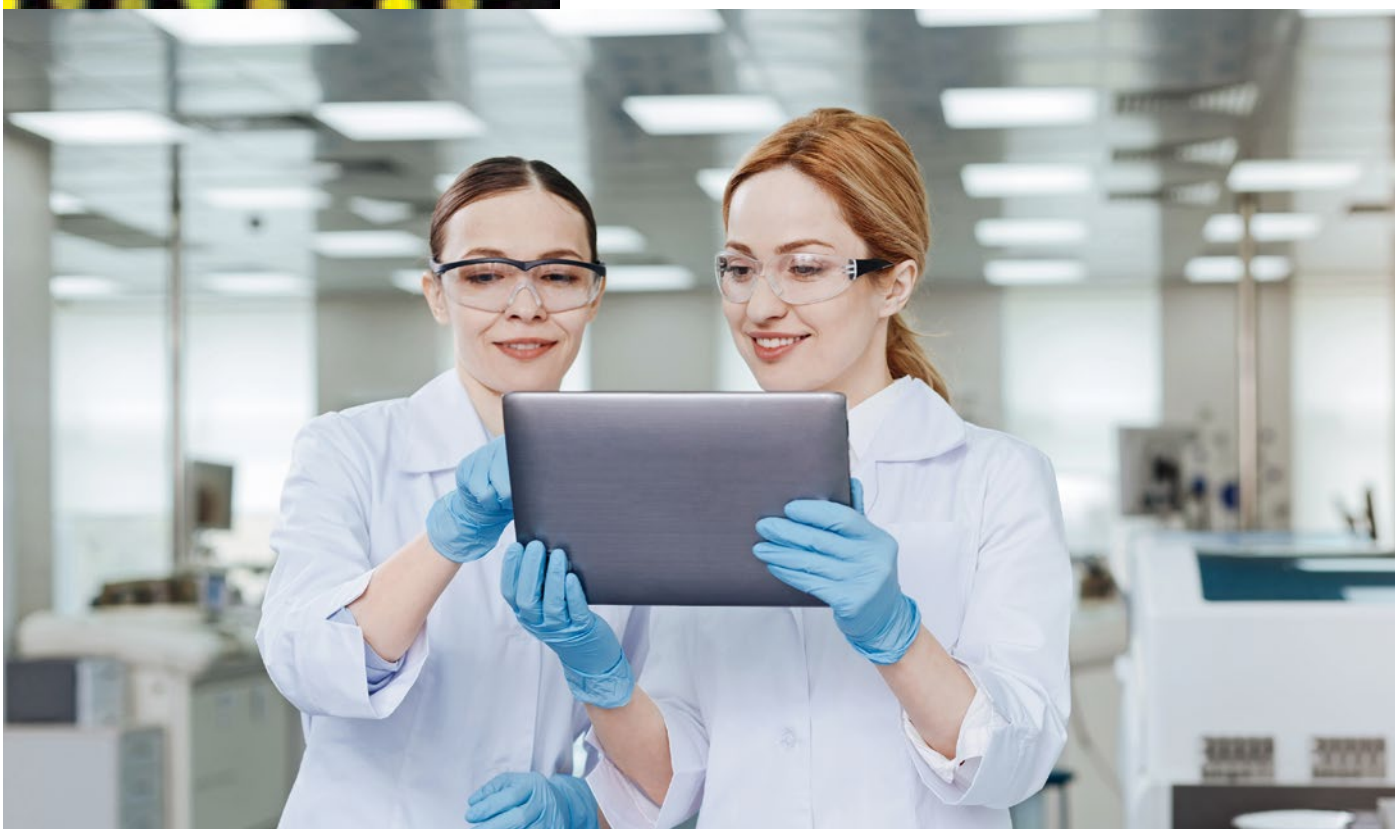
Agilent
Trusted Answers

GenetiSure Dx Postnatal Assay 「アジレント」

マイクロアレイ染色体検査
ゲノムのコピー数変化及びコピー数変化のないヘテロ接合喪失の検出用
体外診断用

製造販売承認番号：30200EZX00048000





使用目的

体外診断用
一般的名称：染色体構造変異解析キット

全血から抽出したゲノム DNA のコピー数変化（CNV）及びコピー数変化のないヘテロ接合性の喪失（cnLOH）の検出（先天性疾患疑いのある患者の染色体変異関連疾患の診断補助に用いる）

製品概要

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」は、臨床症状に基づき染色体検査を受検する患者の末梢全血から採取したゲノム DNA（gDNA）中のコピー数変化（CNV）およびコピー数変化のないヘテロ接合喪失（cnLOH）を出生後診断するための定性的アッセイです。SureScan Dx Scanner「アジレント」を用いて発育遅延、知的障害、先天異常、または外表形態異常等に関連する CNV および cnLOH の検出を目的としています [1]。一般に、染色体異常症は、知的障害から先天性の外表形態異常、神経筋障害、てんかんおよび自閉症に至るまで、広範な疾患の原因となり得ますが、適切な検査の受検、早期確定診断と遺伝カウンセリングが行われることで、患者様が適切な医療補助と症状に沿った教育体制を受けることが可能となります。更にサポートグループに参加する等で、ご家族を含めて心理的なサポートも得られ、Quality of Life 向上の手がかりとすることができます [2,3]。

染色体マイクロアレイ技術

染色体関連異常疾患の臨床診断を可能にする検査技術

染色体マイクロアレイは Comparative Genomic Hybridization（CGH）の原理をマイクロアレイに応用し、1 回のアッセイで 2 つのゲノム間のコピー数の異なる領域を検出します。ゲノムのいろいろな位置の配列を持つプローブからの蛍光強度によりコピー数変化（CNV）およびコピー数変化のないヘテロ接合性の喪失（cnLOH）が示唆される領域を検出します。

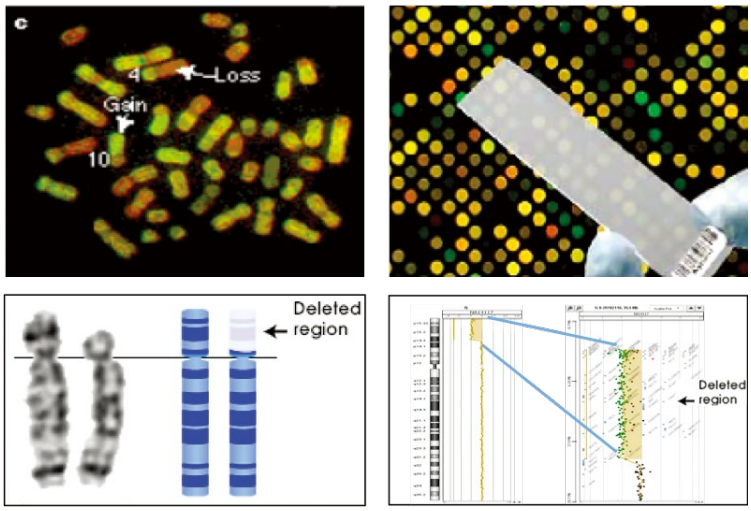


図 1. 従来法（FISH・左図）と新方式（アレイ CGH・右図）のイメージ。aCGH は、複数プローブの蛍光シグナルを用いて統計的に信頼度の高い変化領域を検出します [4, 5, 6, 7]。

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」では、コピー数および LOH 検出にアジレント社独自の aCGH を使用しており、発達遅滞、知的障害、先天異常および外表形態異常等の特徴に関連する染色体異常を検出できるようになっています。

本アッセイが検出するもの

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」は、ゲノム DNA のコピー数変化（CNV）及びコピー数変化のないヘテロ接合性の喪失（cnLOH）の検出を目的としたアッセイです。

各マイクロアレイは、コピー数（CN）分析のために最適化された約 107,000 のプローブならびに 59,647 の両アレル SNP プローブを含みます。CN プローブはゲノム全体に分布し、臨床的に関連のある領域に高い密度で分布しています。

高分析解像度

60-mer であるアジレントプローブは、わずか 5 つの連続したプローブで、確度の高い構造変化領域を検出します。CN プローブはゲノムの 94% を、400 Kb あたり少なくとも 5 プローブでカバーし、コピー数変化の解像度の中央値は約 150 Kb です。臨床的に関連があると同定された領域には、より高密度のプローブでカバーし、解像度の中間値は約 25 Kb です。

SNP プローブは、コピー数変化のないヘテロ接合性の喪失（cnLOH）の検出を可能にします。

SNP プローブはゲノムの 91% を、10 Mb あたり少なくとも 100 プローブでカバーします。LOH 検出の解像度の中間値は約 8 Mb です。

このアッセイは、100 以上のプローブが含まれるモザイク増幅および欠失の領域を検出することができます。

アッセイの品質確認

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」には、一連の工程内 QC チェック、外部コントロールおよびアレイ QC メトリクスが含まれており、ユーザーが結果の質を容易にモニタリングおよび評価できるようになっています。

簡便で合理的なアッセイワークフロー

このアッセイは包括的で、検査室で実施するのが容易です。

- 検査には、全血 200 µL から抽出した 500 ng のゲノム DNA を使用します。
- ワークフローは完全に最適化され、設定が容易です。PCR 増幅段階はないので、ラボ空間の分離は不要です。

既存手法との違い

一般に、染色体G分染法や FISH 法はコピー数変化のないヘテロ接合性の喪失（cnLOH）を決定することはできず、SNP ベースの染色体マイクロアレイ法の方が感度が高いことが知られています[8]。ただし各手法にはそれぞれの特徴が存在し、日本小児遺伝学会、日本先天異常学会、日本人類遺伝学会や難治性疾患政策研究事業らにより「診療において実施するマイクロアレイ染色体検査のガイダンス」[9]がまとめられ、2020 年 3 月 30 日に公開されました。それら注意事項の一部を下記に転載致します。

マイクロアレイ染色体検査の結果解釈と報告に必要な事項

- 基本原理や解析アルゴリズム（検出閾値設定など）に由来する限界を理解
- 表現型のない集団における CNV の範囲や頻度、欠失領域内に含まれる Loss-of-function intolerant genes（ハプロ不全により疾患発症が予測される遺伝子）の有無とヒト疾患関連遺伝子の情報を考慮
- CNV および隣接領域に含まれる遺伝子の量的効果と対象患者の臨床症状との相関を検討
- マイクロアレイ染色体検査の結果解釈の留意点（家系内の浸透率、表現度、追加検査の適応、臨床的意義のない良性の CNV 等）を理解
- 表現型の確実な評価が得られない状況下では、検査結果の解釈が困難
- 診療科担当医が臨床遺伝の専門家でない場合は、臨床遺伝の専門家を含むカンファレンス等で検査結果と臨床症状との合致を確認し、総合的に解釈

結果開示における留意点

- 検査後の結果の解釈は、診療科担当医と臨床遺伝専門医との連携のもとで行われることが望ましく、遺伝カウンセリングを通じて、疾患情報を整理し、患者、家族および血縁者に対する心理社会的支援を継続
- 患者家族および血縁者に対する追加の遺伝学的検査（染色体 G 分染法、FISH 法、マイクロアレイ染色体検査、リアルタイム PCR 法等）が必要と判断された場合、臨床遺伝専門医との診断連携を考慮
- 二次的所見の開示は、臨床的有用性や医療管理の実現性を考慮し、慎重に検討

分析バリデーション - 信頼できる結果

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」は妥当性が確認され、広範囲にわたって試験されています。以下に、アッセイで実施された様々な試験の要約を示します。

試験	説明
正確性	正確性試験では、ゲノム全体にわたってコピー数変化が存在する、異なるサンプルソースからの約 600 サンプルを用いて、GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」の正確性を実証しました。本アッセイで検出されたコピー数変化の他手法での平均確認率は、より大きな CNV（> 20 プローブ）で 93.5%、小さな CNV（5 ～ 20 プローブ）で 92.5% でした。cnLOH については、平均確認率は 90.1% でした。確認率（%）は、他手法を用いて確認されたコピー数変化の数を、本アッセイで検出されたコピー数変化の総数で除したものです。
臨床的妥当性	GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」は、いくつかの提携研究所を含む臨床研究で 900 サンプルを対象として検証されました。この研究では、この検査法が標準的な方法と比較して臨床的妥当性および診断的有用性を有することが実証されました。CNV のみを考慮した場合のアッセイの診断率は 15% であり、これは検体採取施設においてアジレントマイクロアレイと異なる方法を用いて同一検体について得られた診断率と同等でした。cnLOH も考慮した場合、この診断率は 20% に増加し、検体採取施設での診断率を上回りました。
検出感度	GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」の分析感度、すなわち Limit of Detection（LOD）を判断するために、アッセイインプットとして許容可能な DNA の最小量および最大量を検討する試験を実施しました。この試験の結果によって、推奨インプット量として 500 ng の使用が裏付けられています。この試験のデータでは、375 ng まで少なくしても性能が低下しないことが示されています。CNV のみとする場合は、LOD は 250 ng まで減らすことができます。
再現性	本試験の結果は、GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」は複数日にわたって異なる作業者が複数の検査施設で実施したときに再現性があり、臨床検査環境での実施に適していることを実証しました。
精度	正確性試験の結果は、同一の血液検体から複数回抽出した gDNA あるいは複数の試薬ロットまたはスキャナ装置でのアッセイで結果に差異がないことを実証しました。
クロスコンタミネーション	コンタミネーションにより、患者のデータが使用不能になったり、不正確になったりする恐れがあります。本評価試験は、ルーチンのアッセイワークフローにおいてクロスコンタミネーションが生じるか、もし生じた場合、データにどのような影響を及ぼすのかを明らかにするように計画されました。その結果、クロスコンタミネーションの疑いは検出されませんでした。
全血安定性	検体採取施設から採取した全血検体は、処理前に保存される場合もあれば、処理のために離れた検査施設に輸送される必要がある場合もあるため、全血安定性試験を実施しました。gDNA 単離前に 2°C～ 8°Cで最大 7 日間保存した全血検体を GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」で処理したところ、許容可能な結果が得られました。
妨害物質	GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」では、患者全血から単離した gDNA を使用します。検体は、溶血、ビリルビン血症または脂血症に至る内的病態にある患者から採取される可能性があります。そのため、これらの病態による検査結果への影響を検討するために、妨害試験を実施しました。本試験では、患者全血検体において、ヘモグロビン、トリグリセリド（トリオレイン）またはビリルビン（抱合型または非抱合型）が過剰に存在しても、アッセイ結果が変化しないことが示されました。 （ヘモグロビン 添加前の条件での濃度の約 2 倍、抱合型ビリルビン 20 mg/dL、非抱合型ビリルビン 20 mg/dL、トリグリセリド（トリオレイン）> 3000 mg/dL）

結果の検出と報告

検出のボトルネックを解決する

Agilent CytoDx ソフトウェアは、GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」用に特別に設計されています。CytoDx は、効率化され、検証されたワークフローを用いたデータ解析を行うお客様のニーズに対応しています。また、コピー数変化およびコピー数変化のないヘテロ接合性の喪失（cnLOH）の正確な検出のための最適化アルゴリズムを含んでいます。

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」で検出できる項目

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」は、臨床所見に基づき染色体検査の実施の対象となる患者の末梢血から得られたゲノム DNA 中の、CNV および cnLOH の出生後検出を目的とした定性的なアッセイです。GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」は、CNV および cnLOH の検出を目的としています。専門的な実践基準と一致する、他の臨床所見および診断所見と併せて使用されることを意図しています。

レポート内容

Agilent CytoDx ソフトウェアは、アッセイの結果報告書を PDF 形式で出力することが可能です。アルゴリズムにより検出されたコピー数変化（ゲイン・ロス）・ヘテロ接合性の喪失（LOH）領域の一覧表・図や付随するアッセイ情報など、レポートに含める内容は報告書の作成者が選択できます。

結果報告書コンテンツ例

- 検出されたコピー数変化（ゲイン・ロス）、ヘテロ接合性の喪失（LOH）の結果一覧

（図）結果報告書見本

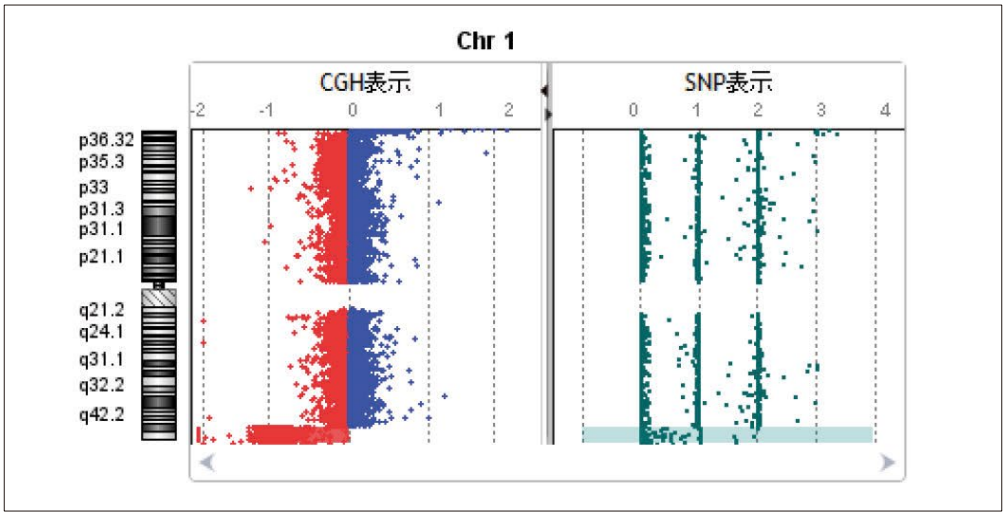
ゲイン/ロス領域表
Gain/Loss Intervals Table

染色体 Chr	始点-終点(bp) Start-Stop(bp)	サイズ(kb) Size(kb)	サイトバンド Cytoband	ゲイン/ロス Gain/Loss	アノテーション Annotations
chr15	25626923-25664417	37.495	q11.2	-0.771054	SNHG14, UBE3A
chr16	82184091-83663374	1,479.284	q23.3	0.623552	MPHOSPH6, CDH13, MIR8058, LOC101928446, LOC101928417, MIR3182
chrX	6488721-6896243	407.523	p22.31	0.609753	

LOH領域表
LOH Intervals Table

染色体 Chr	始点-終点(bp) Start-Stop(bp)	サイズ(kb) Size(kb)	サイトバンド Cytoband	アノテーション Annotations
chr5	81945674-108828810	26,883.137	q14.2 - q21.3	MIR3977, LINC01338, TMEM167A, SCARNA18, XRCC4, VCAN, VCAN-AS1, HAPLN1, EDIL3, NBPF22P...
chr11	219089-11760204	11,541.116	p15.5 - p15.3	SIRT3, PSMD13, NLRP6, PGGHG, IFITM5, IFITM2, IFITM1, IFITM3, B4GALNT4, PKP3...

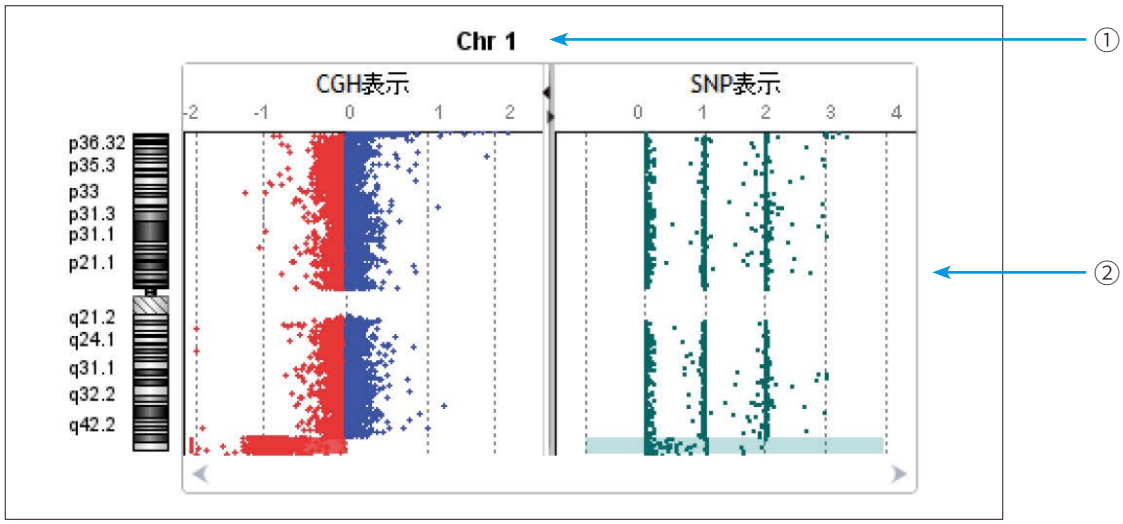
染色体（Chr）：領域の染色体番号
始点 - 終点 (bp)（Start-Stop（bp））：領域の始点と終点
サイズ（kb）（Size（kb））：領域の長さ
サイトバンド（Cytoband）：領域のサイトバンド
ゲイン / ロス（Gain/Loss）：青文字の数字はゲイン、赤文字の数字はロスを示します。
アノテーション（Annotation）：領域に重なる既知領域情報が記載されます。（例として遺伝子名を記載しております）



リファレンスに対し、ゲイン・ロス・LOH が検出された染色体の領域を図で確認できます。

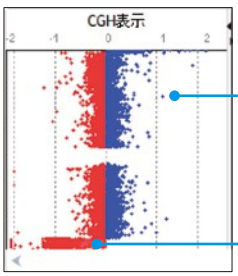
- 検出されたゲイン・ロス・LOH 領域の図
  ゲイン / ロス /LOH が検出された染色体について、CGH プローブと SNP プローブからのデータを、染色体ごとに表示しています。

（図）結果報告書見本



① 表示されている染色体の番号

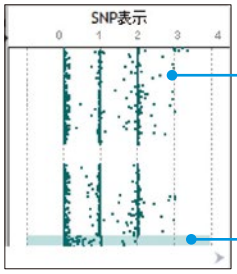
② 左：CGH プローブからのデータを表示しています。縦軸は染色体上の位置（上端は短腕末端、下端は長腕末端）を表します。



各 CGH プローブからのデータポイントを示しています。
横軸は、リファレンスサンプルに対する
テストサンプルのコピー数の比の Log2 値を示しています。
（Log2 値 <0：赤、Log2 値 >0：青で表示しています。）

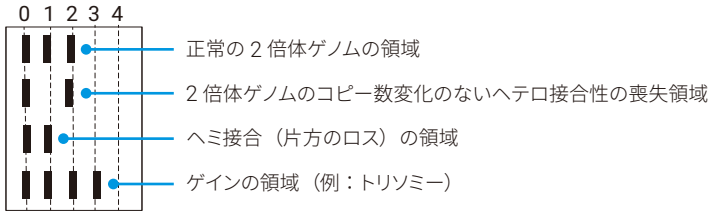
コピー数変化が検出された領域を
赤色（ロス）・青色（ゲイン）で表示しています。（左はロスの例）

② 右：SNP プローブからのデータを表示しています。縦軸は染色体上の位置（上端は短腕末端、下端は長腕末端）を表します。

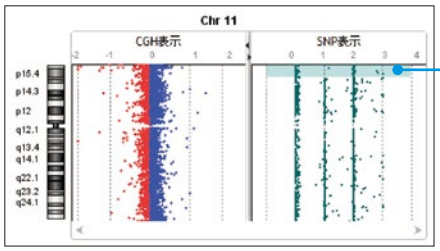


各 SNP 用プローブからのデータポイントを示しています。
横軸は各 SNP プローブが検出している SNP について、
1 つのアレルのコピー数を示しています。

データポイントの分布の例

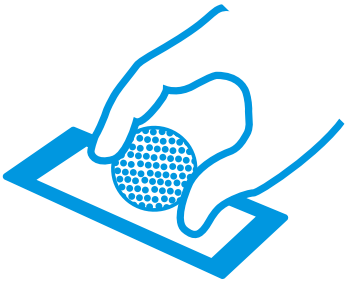


LOH が検出された領域を緑色で表示しています。



コピー数変化のないヘテロ接合性の喪失（cnLOH）の場合は、
CGH 表示でロスは検出されていません（左の例）。

DNA から結果への包括的なワークフロー



アッセイ選択

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」

- 染色体異常症検査用に設計・検証された CGH+SNP マイクロアレイ
- 既知のゲノムコピー数感受性および臨床的に関連のある標的ゲノム領域における解像度の増加
- ゲノム全体のコピー数変化および LOH 検出を 1 回のアッセイで実施

サンプル処理

GenetiSure Dx 試薬

- DNA の直接標識のための GenetiSure Dx DNA 標識キット
- すべての試薬は、サンプル処理を効率的に行うことができるように設計

データ取得・解析

SureScan Dx Scanner「アジレント」

- 優れた感度と広いダイナミックレンジ

感度
0.01 chromophores per square micron
ダイナミックレンジ
Single scan 16-bit dynamic range >10^4
Single scan 20-bit dynamic range >10^5
Dual scan extended dynamic range（XDR）>10^6

- 連続スライドローディングとランダムスキャニング機能により、使いやすく、フレキシブル
- データ解析ソフトウェアと統合することでシームレスなワークフローを実現

CytoDx

- GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」に最適化されたアルゴリズム

ワークフロー

GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」㊐

製品	型番	包装単位
GenetiSure Dx DNA Labeling Kit	K1201-64100	検体および参照それぞれの 24 反応分 • GenetiSure Dx DNA Labeling Kit（型番：K1201-64105） • GenetiSure Dx Labeling Kit Purification Columns（型番：K1201-64110）
GenetiSure Dx Hybridization Kit	K1201-64200	ハイブリダイゼーションスライド 24 枚分
GenetiSure Dx Wash Buffer 1 GenetiSure Dx Wash Buffer 2	K1201-64300	• GenetiSure Dx Wash Buffer 1（型番：K1201-64305）：4 L × 2 箱 • GenetiSure Dx Wash Buffer 2（型番：K1201-64310）：4 L × 1 箱
GenetiSure Dx Cot-1 Human DNA	K1201-64400	625 µL
GenetiSure Dx Postnatal Assay	K1201A	4 × 180 K マイクロアレイスライドおよびガスケットスライド　各 6 枚、スライドあたり 4 テスト • GenetiSure Dx Postnatal Array（型番：K1201-64500） • GenetiSure Dx Gasket（型番：K1201-64600）

製品	型番
SureScan Dx Scanner「アジレント」㊐	G5761A
ハイブリダイゼーションチャンバキット、ステンレス製	G2534A
マイクロアレイハイブリダイゼーションオーブン	G2545A
ハイブリダイゼーションオーブン回転ラック	G2530-60029

㊐：体外診断用医薬品 / 医療機器

SureScan Dx Scanner「アジレント」：
遺伝子解析装置［特定保守管理医療機器（設置）］
医療機器届出番号：13B3X10204000005

参考文献

1. GenetiSure Dx Postnatal Assay「アジレント」添付文書 2020 年 8 月
2. 加古結子　先天性疾患患児のケア　ダウン症候群を疑った場合　いつ、どのように両親へ伝えるか。小児看護　2010;33:16899-1694
3. 古庄知己　4p- 症候群、5p- 症候群　周産期医 2013;43:363-367
4. Satya-Murti, S., et al. Chromosomal Microarray Analysis for Intellectual Disabilities. American Academy of Neurology (2013). https://www.aan.com/uploadedFiles/Website_Library_Assets/Documents/3.Practice_Management/1.Reimbursement/1.Billing_and_Coding/5.Coverage_Policies/13%20ChromoMicroIntelDisabil.pdf
5. Miller, D.T., et al. Consensus statement: Chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet, 86(5), 749-764 (2010).
6. Kiang, J.U., and Koo, S.H. Evolving applications of microarray technology in postnatal diagnosis (Review). Int J Mol Med, 30, 223-228 (2012).
7. 山本俊至　アレイ CGH によるデジタル染色体解析の進歩と臨床応用　脳と発達 2010；42 : 138-143
8. Marisa.S., Nicole.D.(2017), European guidelines for constitutional cytogenomic analysis https://www.nature.com/articles/41431-018-0244-x.pdf
9. 「診療において実施するマイクロアレイ染色体検査のガイダンス」https://plaza.umin.ac.jp/p-genet/downloads/20200330_microarray_guidance.pdf

アジレント・テクノロジー株式会社
芝浦オフィス / 〒108-0023 東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号 住友芝浦ビル
●カスタマーサポート：03-5232-9968　フリーダイヤル 0800-800-8910
mail：email_japan@agilent.com

※掲載内容は予告なく変わる場合がございます。
※掲載している装置で使用する試薬については RUO、IVD の別をご確認ください。
　RUO は試験研究用です。そのほかの用途に使用することはできません。

http://www.agilent.co.jp/chem/genetisure-dx-jp

PR7000-7692/G210349-1
© Agilent Technologies, Inc. 2021
本書の一部または全部を書面による事前の許可なしに複製、
改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、
法律で禁止されています。
Printed in Japan, Sep. 2021
5991-8549JAJP

Agilent
Trusted Answers