

RAS遺伝子変異検出キット

OncoBEAM™ RAS CRCキット

A background image featuring a DNA double helix structure in shades of purple and blue, with a glowing orange segment. Below the DNA, a series of water droplets are shown falling and creating ripples on a surface, also in purple and blue tones.

Go Beyond Biopsy
with Blood

大腸がん患者の血漿に含まれる RAS (KRAS及びNRAS) 遺伝子変異を検出する OncoBEAM™ RAS CRCキット

使用目的

血漿から抽出したゲノムDNA中のRAS (KRAS及びNRAS) 遺伝子変異の検出 (セツキシマブ (遺伝子組換え) 又はパニツムマブ (遺伝子組換え) の結腸・直腸癌患者への適応を判定するための補助に用いる)

測定原理

本品は、BEAMing (Beads, Emulsions, Amplification and Magnetics) 法を測定原理とする高感度デジタルPCRにより、血漿から抽出したcfDNA (血中循環DNA: cell free DNA) 中のRAS遺伝子変異 (KRAS及びNRAS遺伝子のエクソン2、3、4領域の変異) を検出するキットです。

検出対象変異

遺伝子	エクソン	コドン	遺伝子変異個所アミノ酸 (塩基)
KRAS	エクソン2 (KR2)	コドン12	G12S(g34a), G12R(g34c), G12C(g34t), G12D(g35a), G12A(g35c), G12V(g35t)
		コドン13	G13D(g38a)
	エクソン3 (KR3)	コドン59	A59T(g175a)
		コドン61	Q61L(a182t), Q61R(a182g), Q61H(a183c), Q61H(a183t)
	エクソン4A (KR4A)	コドン117	K117N(a351c), K117N(a351t)
	エクソン4B (KR4B)	コドン146	A146T(g436a), A146V(c437t)
NRAS	エクソン2 (NR2)	コドン12	G12S(g34a), G12R(g34c), G12C(g34t), G12D(g35a), G12A(g35c), G12V(g35t)
		コドン13	G13R(g37c), G13D(g38a), G13V(g38t)
	エクソン3 (NR3)	コドン59	A59T(g175a)
		コドン61	Q61K(c181a), Q61R(a182g), Q61L(a182t), Q61H(a183c), Q61H(a183t)
	エクソン4 (NR4)	コドン117	K117N(g351c), K117N(g351t)
		コドン146	A146T(g436a)

検体条件

検体量: 血漿3mL (推奨)

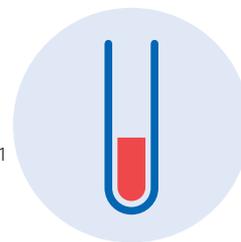
採血管: Streck 採血管 (Cell-Free DNA BCT® CE)

医療機器製造販売認証番号: 301AFBZI00047000

外国特例認証取得者及び製造業者: Streck, Inc. (アメリカ)

選任製造販売業者: マイクレン・ヘルスケア株式会社 住所/東京都新宿区払方町19番地1 電話番号/03-3513-6641

保 管: 常温 (15°C以上25°Cまで)



重要な基本的注意 詳細は添付文書をご参照ください。

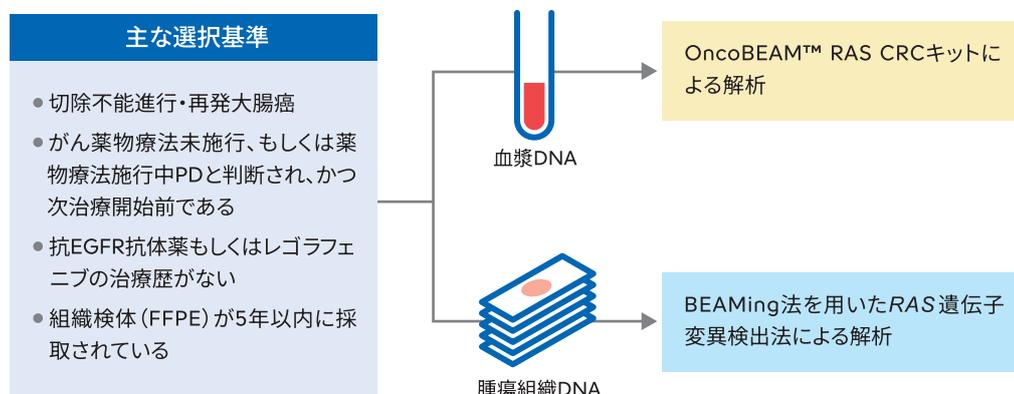
1. 腫瘍由来DNAが血漿中にじゅうぶんに漏出していない患者では、腫瘍組織にRAS遺伝子変異が存在しても、本検査で野生型と判定される可能性があります。特に肺転移のみを有する患者では、可能な限り腫瘍組織を用いた検査の実施を考慮してください。
2. 本検査でカットオフ値近傍において変異型と判定された患者では、腫瘍組織にRAS遺伝子変異が存在しない可能性を否定できません。このような患者では、腫瘍組織を用いた検査の実施についても考慮してください。
3. 上記を踏まえ、本検査は腫瘍組織を用いる検査と完全に置き換わらないことをじゅうぶんに理解した上で、本検査を実施してください。

全般的な注意

1. 本キットは体外診断用医薬品です。これ以外の目的には使用しないでください。
2. 本キットの検査の対象患者に対し、検査の目的・方法及び精度、特に不可避な偽陽性・偽陰性を含む性能限界などについて正確な情報を伝えてください。
3. 診断の際には、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
4. 本キットをセツキシマブ (遺伝子組換え) 又はパニツムマブ (遺伝子組換え) の適応を判定するための補助として用いる場合には、当該薬剤の本邦における最新の添付文書を参照のうえ使用してください。
5. 野生型と判定された場合でも、偽陰性の可能性を考慮し、セツキシマブ (遺伝子組換え) 又はパニツムマブ (遺伝子組換え) 投与に際し、考えられる不利益についてじゅうぶんに説明してください。また、投与後はじゅうぶんな経過観察を行ってください。
6. 本検査の選択とその結果の解釈の際には、日本臨床腫瘍学会が発出している大腸がん患者におけるRAS遺伝子変異の測定に関するガイダンス等の最新の情報を参考にしてください。

臨床性能試験成績 詳細は添付文書をご参照ください。

進行・再発大腸癌の患者を対象として、国内8施設において臨床性能試験を実施しました。



■ 本品と比較対照法の判定一致率

有効解析対象の288例のうち、「RAS 不明」8例を除いた280例において本品と比較対象法との一致率は86.4%でした。

		比較対照法 (組織検体)		計
		RAS変異型	RAS野生型	
本品 (血漿検体)	RAS変異型	110	14 ^{*1}	124
	RAS野生型	24 ^{*2}	132	156
計		134	146	280

	症例数	推定値	95%信頼区間	
			下限	上限
判定一致率	242/280	86.4%	81.9%	90.2%
陽性一致率	110/134	82.1%	74.5%	88.2%
陰性一致率	132/146	90.4%	84.4%	94.7%
陽性的中率	110/124	88.7%	81.8%	93.7%
陰性的中率	132/156	84.6%	78.0%	89.9%

^{*1}本品で変異型であり比較対照法で野生型であった14例について、血漿を用いて別法(次世代シーケンズ法)による測定結果及び患者背景から考察を行いました。その結果、6例については、別法の結果でも変異型と判定されており、血漿検体と組織検体の検体種間の乖離と考えられました。残りの8例については、いずれも試験法のカットオフ値付近の検体でしたが、不一致の原因は特定できませんでした。

^{*2}本品で野生型であり比較対照法で変異型となった24例のうち、血漿が利用可能な18例について、別法(次世代シーケンズ法)による測定結果及び患者背景から考察を行いました。その結果、15例については、別法においても野生型と判定され、試験法の結果と一致しました。なお、別法で変異型と判定されたものが3例あり、この3例を除いた21例では、血漿検体と組織検体の検体種間の乖離又は腫瘍由来DNAが血漿中にじゅうぶん漏出していない可能性が考えられました。

■ 肺のみ転移の症例における本品と比較対照法の判定一致率

有効性解析対象の288例から「RAS 不明」の8例を除いた280例のうち、肺のみに転移を有していた31例における、本品と比較対照法との判定一致率は64.5%でした。

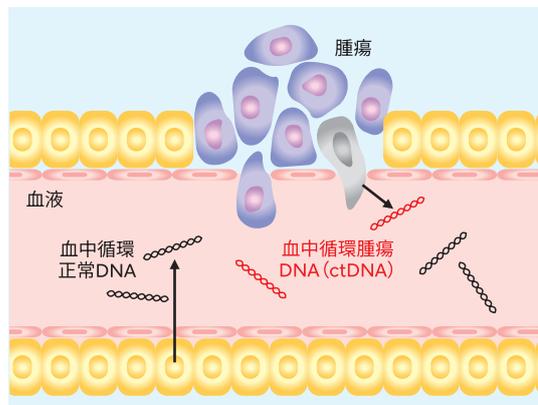
		比較対照法 (組織検体)		計
		RAS変異型	RAS野生型	
本品 (血漿検体)	RAS変異型	7	1	8
	RAS野生型	10	13	23
計		17	14	31

	症例数	推定値	95%信頼区間	
			下限	上限
判定一致率	20/31	64.5%	45.4%	80.8%
陽性一致率	7/17	41.2%	18.4%	67.1%
陰性一致率	13/14	92.9%	66.1%	99.8%
陽性的中率	7/8	87.5%	47.3%	99.7%
陰性的中率	13/23	56.5%	34.5%	76.8%

測定技術

■ 血漿を用いたctDNAアッセイ

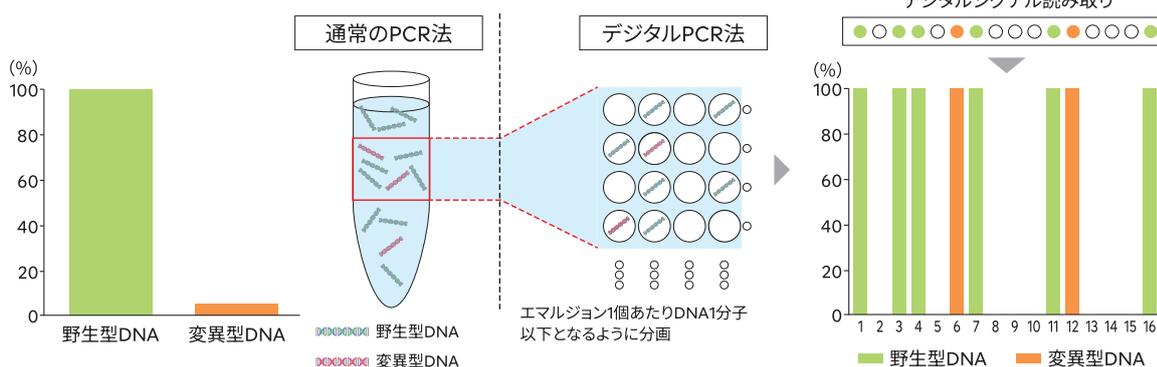
腫瘍形成の過程において、腫瘍細胞に遺伝子変異が生じることがあります。このような腫瘍細胞が死滅すると変異遺伝子の断片 (Circulating tumor DNA: ctDNA) が血中に放出されます¹⁻⁹⁾。これらのctDNAを特異性の高いマーカーとして利用することにより、腫瘍の特性を調べることができます^{10,11)}。ctDNAアッセイでは、腫瘍に生じた遺伝子変異がどのような状態であるかをリアルタイムで知ることができます。また、Liquid biopsyは組織生検と比較して低侵襲であり、腫瘍組織の採取が困難な状況においても比較的簡便に実施できます。組織検体の採取には選択バイアスが伴いますが、Liquid biopsyは全身的なアプローチであるため、バイアスを気にすることなく腫瘍の遺伝子変異を把握することが可能です。



■ 高感度測定が可能なデジタルPCR法

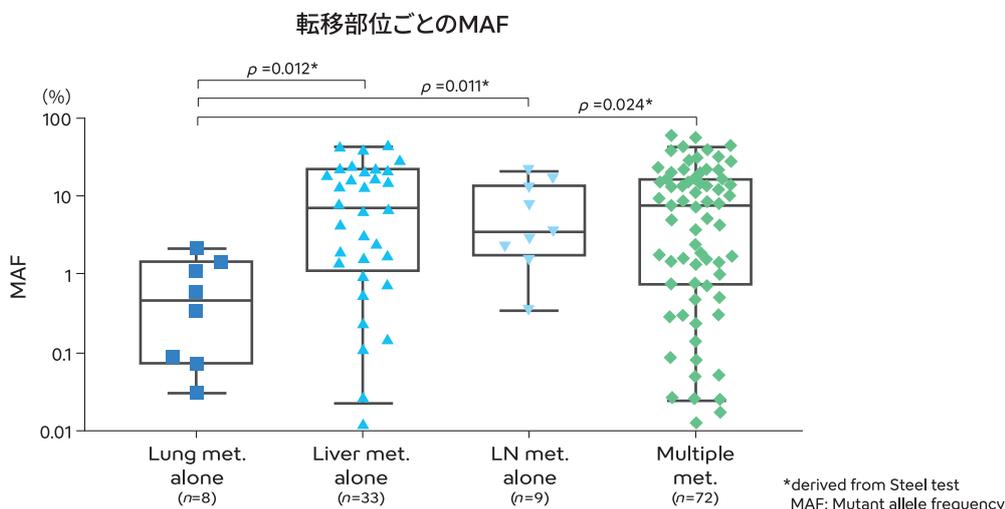
デジタルPCR法は、各DNA分子を液滴中に分画して増幅することで分画ごとに十分なS/N比を確保でき、かつ1分子ずつカウントするため、微量な変異型でも正確に計数することが可能な技術です¹²⁾。

相対的シグナルの読み取り



■ 臨床性能試験における有効性解析対象の288例のうち、本品を用いてRAS変異型と判定された124例におけるMAF (Mutant allele frequency)

血漿検体を測定すると検出された変異のうち約30%がMAF1%未満であった¹³⁾。

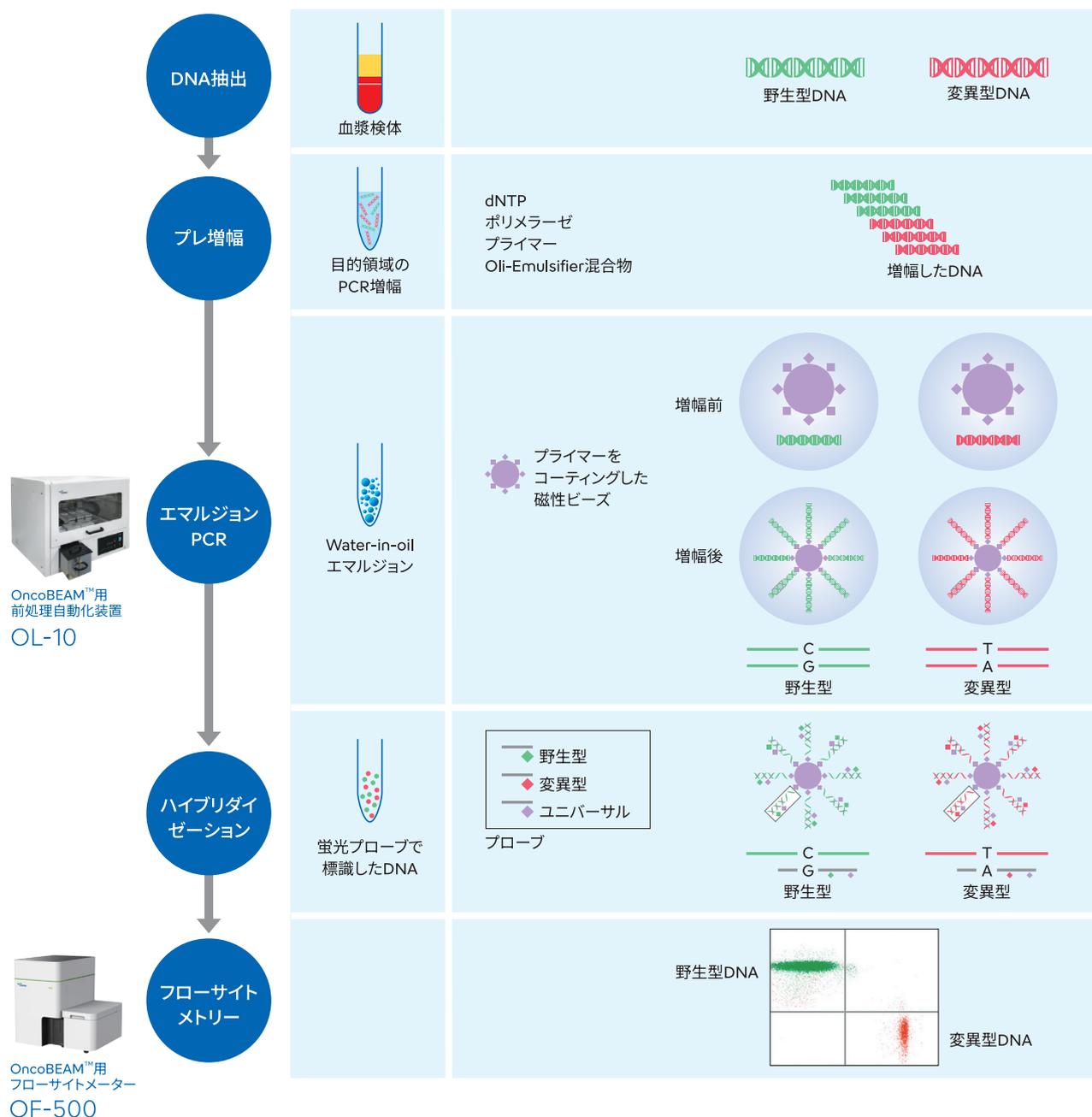


*derived from Steel test
MAF: Mutant allele frequency
Bando H, Kagawa Y, et al. Br J Cancer. 2019; 120(10): 982-986

シスメックス独自の測定技術BEAMing法

本品で使用されているBEAMing法は、磁気ビーズ上でDNAを増幅し、フローサイトメトリーにて検出することにより、変異型DNAを高感度に確認する、デジタルPCR法をベースに開発された弊社独自の技術です。

BEAMingとは、Beads (ビーズ)、Emulsion (エマルジョン)、Amplification (増幅)、Magnetics (磁気) を意味します。



測定原理

- 血漿から抽出したDNAを検体として、全てのターゲット領域を正確性の高いDNA合成酵素でプレ増幅を行います。
- Water in Oil エマルジョンを作成します。プライマーがコーティングされた磁性ビーズ上で検出対象領域のDNA増幅を行います。
- エマルジョンを破壊し、磁性ビーズ上で増幅されたDNAと野生型検出用、変異型検出用、及びエマルジョンPCRによる磁性ビーズ上での増幅確認用に、それぞれ異なる蛍光色素で標識されたコドン毎の蛍光プローブとハイブリダイゼーションさせます。
- 蛍光標識された磁性ビーズをフローサイトメトリーにより蛍光分離解析を行います。

製品概要

RAS遺伝子変異検出キット

OncoBEAM™ RAS CRCキット

体外診断用医薬品製造販売承認番号:30100EZ00010000



使用目的	血漿から抽出したゲノムDNA中のRAS (KRAS 及び NRAS) 遺伝子変異の検出 (セツキシマブ (遺伝子組換え) 又はパニツムマブ (遺伝子組換え) の結腸・直腸癌患者への適応を判定するための補助に用いる)	
貯蔵方法	Box1 -30~-15°C / Box2 2~8°C / Box3 15~25°C 指定された温度で保存してください。	
有効期間	20カ月 (使用期限は外箱の天面に表示しています。) 下記構成試薬の有効期間 20カ月 : EmulsiFIRE 21カ月 : Multiplex PCR Master Mix、Breaking Buffer 1 without Alcohols、Breaking Buffer 2 without Alcohols、Hybridization Buffer	
包装単位	30 テスト用	
構成品	Box1 Positive Control Amplicon KRAS Exon 2 Positive Control Amplicon KRAS Exon 3 Positive Control Amplicon KRAS Exon 4A Positive Control Amplicon KRAS Exon 4B Positive Control Amplicon NRAS Exon 2 Positive Control Amplicon NRAS Exon 3 Positive Control Amplicon NRAS Exon 4 No Template Control (NTC) Multiplex PCR Master Mix Multiplex PCR Primer Mix Multiplex PCR DNA Polymerase Emulsion PCR Master Mix KRAS Exon 2 Emulsion PCR Master Mix KRAS Exon 3 Emulsion PCR Master Mix KRAS Exon 4A Emulsion PCR Master Mix KRAS Exon 4B Emulsion PCR Master Mix NRAS Exon 2 Emulsion PCR Master Mix NRAS Exon 3 Emulsion PCR Master Mix NRAS Exon 4 Emulsion PCR DNA Polymerase	Box2 Hybridization Probe Mix 1 Hybridization Probe Mix 2 Hybridization Probe Mix 3 Hybridization Probe Mix 4 Hybridization Probe Mix 5 Hybridization Probe Mix 6 Hybridization Probe Mix 7 Hybridization Probe Mix 8 Hybridization Probe Mix 9 Hybridization Probe Mix 10 Hybridization Probe Mix 11 Hybridization Probe Mix 12 Emulsion PCR Beads Box3 Breaking Buffer 1 without Alcohols Breaking Buffer 2 without Alcohols Hybridization Buffer EmulsiFIRE

OncoBEAM™ 用フローサイトメーター
OF-500

医療機器製造販売届出番号:28B1X10014000004



使用目的	OncoBEAM™ アッセイ用の検体測定をおこなう医療機器
電源/消費電力	AC100~240V (50/60Hz) / 350VA以下
寸法	約590mm (W) ×約540mm (D) ×約585mm (H) ※本体のみ
重量	約55kg ※本体のみ

OncoBEAM™ 用前処理自動化装置
OL-10

医療機器製造販売届出番号:28B1X100140000045



使用目的	OncoBEAM™ アッセイ用の検体前処理をおこなう医療機器
電源/消費電力	AC100~240V (50/60Hz) / 450VA以下
寸法	約860mm (W) ×約670mm (D) ×約610mm (H) ※本体のみ
重量	約87kg ※本体のみ

非体外診断用医薬品

OncoBEAM™ 用フローサイトメーターの
精度管理用物質

OF Check



使用目的	OncoBEAM™ 用フローサイトメーターの精度管理用物質
貯蔵方法	-15°C以下、融解後は2~8°C (再凍結禁止)
有効期間	12カ月 開封後3カ月 (但し開封前使用期限を超えない)
包装単位	OF Check High 1.3mL × 1本 (10テスト分) OF Check Low 1.3mL × 1本 (10テスト分)

非体外診断用医薬品

CyFlow™ SHEATH

使用目的	フローサイトメーターに使用するシース液
貯蔵方法	2~35°C
有効期間	18カ月、開封後2カ月
包装単位	10L

非体外診断用医薬品

CyFlow™ CLEAN

使用目的	フローサイトメーターに使用する洗浄液
貯蔵方法	1~30°C
有効期間	12カ月、開封後2カ月
包装単位	50mL

引用文献

- 1) Delgado et al. Tumour Biol. 2013; 34: 983-986
- 2) Hashad et al. J Clin Lab Anal. 2012; 26: 467-472
- 3) No et al. Anticancer Res. 2012; 32: 3467-3471
- 4) Park et al. Oncol Lett. 2012; 3: 921-926
- 5) Salvianti et al. PLoS One. 2012; 7: e49843
- 6) Schwarzenbach et al. Clin Cancer Res. 2009; 15: 1032-1038
- 7) Schwarzenbach et al. Mol Biosyst. 2011; 7: 2848-2854
- 8) Schwarzenbach et al. Ann N Y Acad Sci. 2008; 1137: 190-196
- 9) Fleischhacker et al. Biochim Biophys Acta. 2007; 1775:181-232
- 10) Diaz et al. Nature. 2012; 486: 537-540
- 11) Misale et al. Nature. 2012; 486: 532-536
- 12) 中村健一 臨床病理. 2016; 64 (4) : 400-406
- 13) Bando H, Kagawa Y, et al. Br J Cancer. 2019; 120 (10) : 982-986

製造販売元

シスメックス株式会社

(お問い合わせ先)

支店 仙台 022-722-1710 北関東 048-600-3888 東京 03-5434-8550 名古屋 052-957-3821
大阪 06-6341-6601 広島 082-248-9070 福岡 092-687-5380

営業所 札幌 011-700-1090 盛岡 019-654-3331 長野 0263-31-8180 新潟 025-243-6266
千葉 043-297-2701 横浜 045-640-5710 静岡 054-287-1707 金沢 076-221-9363
京都 075-255-1871 神戸 078-251-5331 高松 087-823-5801 岡山 086-224-2605
鹿児島 099-222-2788

www.sysmex.co.jp



注：活動及びサイトの適用範囲は規格により異なります。
詳細は www.tuv.com の ID 0910589004 を参照。

Note: Scopes of sites and activities vary depending on the standard.
For details, refer to the ID 0910589004 at www.tuv.com

2504SV

*外観、仕様については改良のため予告なしに変更することがあります。 LSONcoRCSOE