

# TruSight™ Oncology 500 ctDNA

Creación de perfiles  
genómicos completos  
a partir de muestras  
de biopsia líquida para  
investigación

- Aproveche las muestras de sangre mínimamente invasivas como complemento a la biopsia de tejidos o como alternativa cuando los tejidos no están fácilmente disponibles
- Analice biomarcadores de ADN en más de 500 genes y firmas de inmunooncología, como TMB y MSI
- Consiga bajos límites de detección con la preparación de librerías de captura híbrida basada en UMI (Unique Molecular Identifiers) y la secuenciación profunda en NovaSeq™ 6000 System
- Pase de la interpretación del ADNec al informe en cinco días con un proceso exclusivo de DRAGEN™ y un análisis integrado de Pierian



## Introducción

La biopsia líquida permite el análisis completo del ADN extracelular circulante (ADNec) en el plasma, proporcionando una estrategia no invasiva para la creación de perfiles de tumores sólidos. A fin de aprovechar las ventajas de la biopsia líquida, es fundamental usar un ensayo analítico que sea muy sensible y específico y pueda detectar mutaciones somáticas de baja frecuencia. TruSight Oncology 500 ctDNA aprovecha la potencia de la tecnología de secuenciación de nueva generación (NGS, Next-Generation Sequencing) de Illumina, de eficacia probada, para lograr esta alta sensibilidad analítica y permite la creación de perfiles genómicos completos del ADN tumoral circulante (ADNtc) que se encuentra en el ADNec (Figura 1, Tabla 1). La combinación de esta avanzada solución de investigación con la potencia bioinformática de DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software proporciona a los investigadores clínicos una solución del ADN al informe para evaluar varios tipos de variantes de cientos de genes en un único ensayo (Figura 2).

TruSight Oncology 500 ctDNA es compatible con los reactivos de secuenciación de NovaSeq 6000 v1.5. Además de los aumentos en la eficiencia operativa que dan como resultado reducciones potenciales del precio por muestra superior al 35 %, estos reactivos ofrecen una vida útil prolongada de seis meses y mejores puntuaciones Q30.<sup>1</sup>

## La potencia de la biopsia líquida

A diferencia de la biopsia de tejido, que proporciona información de solo una parte del tumor, la biopsia líquida proporciona información acerca de la heterogeneidad intra e intertumoral en todo el organismo. Los estudios demuestran que el análisis de ADNec detectó un número significativo de biomarcadores recomendados por las guías y alteraciones de resistencia que no se encontraron en biopsias de tejido compatibles.<sup>2</sup> Además, un estudio sobre carcinomas broncopulmonares no microcíticos reveló que los análisis de ADNec presentan una concordancia alta con los análisis basados en tejidos.<sup>3</sup>

## Bases para un contenido integral

El contenido de TruSight Oncology 500 ctDNA se diseñó con la colaboración de autoridades reconocidas en la comunidad oncológica. Incluye biomarcadores actuales y emergentes con una cobertura exhaustiva de genes implicados en guías clave y ensayos clínicos para varios tipos de tumores. El diseño de las sondas del panel captura fusiones génicas tanto conocidas como novedosas e incluye 523 genes para detectar variantes con probabilidad de desempeñar una función en la carcinogénesis. Los biomarcadores incluyen variantes de nucleótido único (SNV, Single-Nucleotide Variants), inserciones/delecciones (indels), variantes en el número de copias (CNV, Copy-Number Variants), fusiones génicas y firmas genómicas complejas de inmunooncología, como la inestabilidad de microsatélites (MSI, MicroSatellite Instability) y la carga mutacional del tumor (TMB, Tumor Mutational Burden) (Tabla 2).

Para obtener una lista completa de genes, visite [illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html](https://illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html).



Figura 1: La biopsia líquida permite la creación de perfiles de biomarcadores para varios tipos de variantes y tipos de cáncer. Los sofisticados algoritmos de llamada de variantes y la gran profundidad de secuenciación permiten la detección de biomarcadores clave en el ADNec con un límite de detección (LOD, Limit Of Detection) del 0,5 %.

Tabla 1: Información básica de TruSight Oncology 500 ctDNA

Parámetro	TruSight Oncology 500 ctDNA
Sistema	NovaSeq 6000 System
Tamaño del panel	1,94 Mb para ADN
Contenido del panel	523 genes 59 genes para CNV 23 genes para fusiones génicas MSI (>2400 locus) TMB
Cantidad necesaria de aporte de ADN	30 ng de ADNec <sup>a</sup>
Tipo de muestra	ADNec obtenido de la sangre
Duración total del ensayo	5 días desde la preparación de librerías hasta el informe de variantes
Duración del experimento de secuenciación	Experimento de 36 h, análisis de 10 h (celda de flujo S2) Experimento de 45 h, análisis de 22 h (celda de flujo S4)
Experimento de secuenciación	2 × 151 pb
Productividad de muestras	8 muestras por experimento (celda de flujo S2) 24 muestras por experimento (celda de flujo S4) 48 muestras por kit de preparación de librerías
Límite de detección	VAF del 0,5 % en el caso de las variantes pequeñas Múltiplo del cambio ≥1,4 en el caso de las amplificaciones génicas Múltiplo de cambio ≤0,6 en el caso de las deleciones génicas ≥2 % de fracción tumoral para MSI
Sensibilidad del análisis	≥95 % (con el LoD de todos los tipos de variantes)
Especificidad del análisis	≥95 %
a. Se recomienda la cuantificación con los sistemas Agilent TapeStation o Fragment Analyzer	

Tabla 2: Ejemplos de variantes detectadas con TruSight Oncology 500 ctDNA

Tipo de variante	Ejemplos relevantes
SNV e indels	<i>EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF</i>
Fusiones génicas	<i>ALK, ROS1, NTRK, RET</i>
CNV	<i>HER2</i>
MSI	Puntuación de MSI
TMB	Puntuación de TMB
Para obtener una lista completa de genes, visite <a href="https://illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html">illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html</a>	

### Tecnología de eficacia probada para detectar biomarcadores de bajo nivel

Con el uso de la química de secuenciación por síntesis (SBS, Sequencing By Synthesis) de Illumina, de eficacia probada, TruSight Oncology 500 ctDNA permite la creación de perfiles genómicos completos a partir de un aporte de tan solo 30 ng de ADNec, lo que lo convierte en una alternativa ideal para su uso cuando el tejido no está fácilmente disponible o como complemento al análisis de tejidos. La preparación de librerías aprovecha el enriquecimiento de objetivos, usando sondas con biotina y bolas magnéticas recubiertas con estreptavidina para enriquecer los objetivos seleccionados de las librerías basadas en ADN. El enriquecimiento selectivo por hibridación-captura usa sondas que son lo suficientemente grandes como para conferir una alta especificidad de unión, pero que aún permiten la hibridación con objetivos que contienen pequeñas mutaciones. Este enfoque reduce la pérdida de muestras en presencia tanto de variaciones alélicas naturales como de artefactos de secuenciación.



Figura 2: Flujo de trabajo del ensayo TruSight Oncology 500 ctDNA. El ensayo TruSight Oncology 500 ctDNA se integra en los flujos de trabajo actuales del laboratorio, permitiendo pasar del ADNec al informe de variantes en cinco días. DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software se puede ejecutar localmente en DRAGEN Server o en la nube mediante Illumina Connected Analytics.

Dado que el ADNtc representa una pequeña fracción del ADNec, se requieren métodos potentes para separar la señal del ruido. La preparación de librerías incorpora identificadores moleculares únicos (UMI) que permiten la identificación de variantes de frecuencia ultrabaja.<sup>4</sup> Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA se secuencian en NovaSeq 6000 System a alta profundidad (400 millones de lecturas por muestra a aproximadamente 35 000x) para aumentar la sensibilidad. Como resultado, se pueden detectar mutaciones a una frecuencia alélica de variantes (VAF, Variant Allele Frequency) del 0,5 %, en el caso de las variantes pequeñas, con una sensibilidad analítica del 95 % y una especificidad analítica de más del 99,995 % (Tabla 3).

Tabla 3: Detección de variantes de bajo nivel de gran precisión

Tipo de variante	Sensibilidad del análisis <sup>a</sup>	Especificidad del análisis <sup>b</sup>
Variantes pequeñas (VAF de $\geq 0,5$ %)	$\geq 95$ %	$\geq 99,995$ %
Amplificaciones génicas (múltiplo de cambio $\geq 1,4$ )	$\geq 95$ %	$\geq 95$ %
Deleciones génicas (múltiplo de cambio $\leq 0,6$ )	$\geq 95$ %	$\geq 95$ %
Fusiones génicas (0,5 %)	$\geq 95$ %	$\geq 95$ %
Alta detección para MSI (con una fracción tumoral $\geq 2$ %)	$\geq 95$ %	$\geq 95$ %

a. La sensibilidad del análisis se define como el porcentaje de detección en el nivel de variante indicado  
 b. La especificidad del análisis se define como la capacidad de detectar un negativo conocido

## Análisis preciso y rápido

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software usa algoritmos bioinformáticos rápidos y totalmente integrados para garantizar un rendimiento óptimo de los ensayos. El software realiza la alineación de secuencias, la corrección de errores mediante el colapso de la secuencia y, a continuación, la llamada de variantes, basándose en los datos sin procesar. Se eliminan las lecturas duplicadas y los errores de secuenciación sin perder la señal de las variantes de baja frecuencia y se obtienen resultados de llamada de variantes de alta sensibilidad. Todos los componentes del proceso se encuentran dentro de la plataforma de DRAGEN, para lograr mejoras adicionales de rendimiento y eficiencia.

A diferencia de los resultados cualitativos de ensayos basados en PCR, DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software ofrece una puntuación de MSI cuantitativa obtenida de más de 2400 centros de marcadores de MSI de homopolímeros.

En el caso de los análisis de TMB, el software de DRAGEN optimiza la sensibilidad mediante la medición de SNV sinónimas y no sinónimas, así como de indels. Después de la llamada de variantes y la corrección de errores, la precisión de la medición de la TMB se mejora aún más filtrando las variantes germinales, las variantes de baja confianza y las variantes asociadas a la hematopoyesis clonal de potencial indeterminado.

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software se ejecuta localmente en Illumina DRAGEN Server v3 o v4 o en la nube mediante Illumina Connected Analytics (ICA). Esta plataforma ultrarrápida proporciona un hardware y un software mejorados que reducen la duración del análisis de datos en aproximadamente el 85 % o de nueve días a aproximadamente 20 horas (Figura 3). ICA ofrece a los laboratorios una plataforma genómica segura y basada en la nube para ampliar los análisis secundarios sin necesidad de adquirir y mantener más infraestructura local.<sup>5</sup> Además, DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software es compatible con el software DRAGEN v3.10, la misma versión que se usa con el ensayo TruSight Oncology 500 para el análisis de tejido de tumores sólidos. Este uso compartido de plataformas ofrece mayor flexibilidad a los laboratorios.

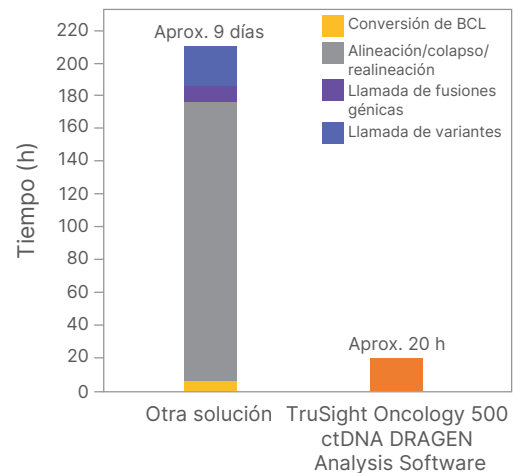


Figura 3: Onsite DRAGEN Server v4 reduce el tiempo de análisis de datos. TruSight Oncology 500 ctDNA DRAGEN Analysis Software consolida varios pasos de análisis de datos en un único proceso que requiere aproximadamente 20 horas, una reducción de aproximadamente el 85 % en comparación con otra solución. Comparación de los tiempos de análisis del proceso de DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 en un servidor DRAGEN v4 para 24 muestras usando una celda de flujo S4 con otra solución que usa el proceso de un único nodo (128 Gb de memoria, CPU de 24 núcleos) y no paralelizado para 24 muestras usando una celda de flujo S4.

Pierian Clinical Genomics Workspace completa el flujo de trabajo con un análisis terciario. Simplemente, cargue los archivos de informes de variantes directamente en la nube de Clinical Genomics Workspace desde un entorno de análisis secundario local o basado en ICA. Clinical Genomics Workspace realiza la anotación y el filtrado de las variantes para una interpretación y generación de informes fluida. A partir de miles de variantes del genoma, Clinical Genomics Workspace filtra y da prioridad a las variantes biológicamente pertinentes para el informe genómico final, que es automatizado y personalizable. El flujo de trabajo completo, desde el ADNec hasta la generación de informes consolidada de variantes, tarda solo cinco días (Figura 2).

### Una amplia validación proporciona resultados precisos y altamente reproducibles

A fin de demostrar los resultados de alta calidad que se logran con TruSight Oncology 500 ctDNA, Illumina realizó varios estudios que evaluaban la capacidad de llamada de SNV, CNV, fusiones génicas, TMB y MSI (Figuras 4 y 5, Tablas 5 y 6).

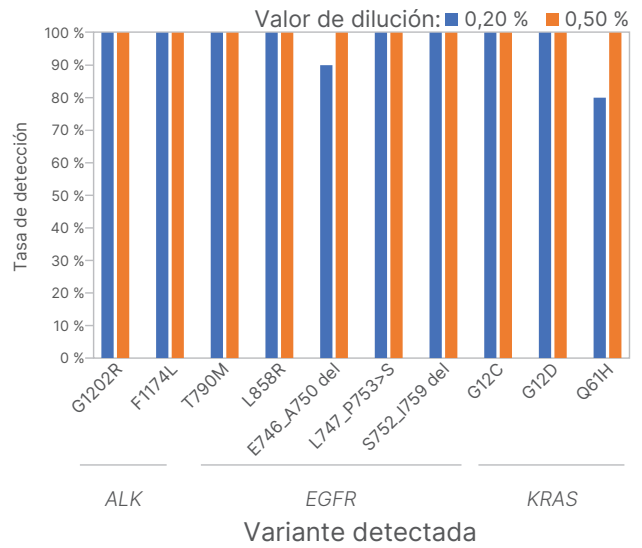


Figura 4: Detección de variantes pequeñas con una baja VAF. Las muestras con una VAF conocida para cada variante se diluyeron a valores de VAF en el intervalo del 0,10 % al 1,00 %. Se analizaron cinco duplicados de cada muestra con TruSight Oncology 500 ctDNA usando un aporte de ADN comercial de control de referencia de 30 ng.

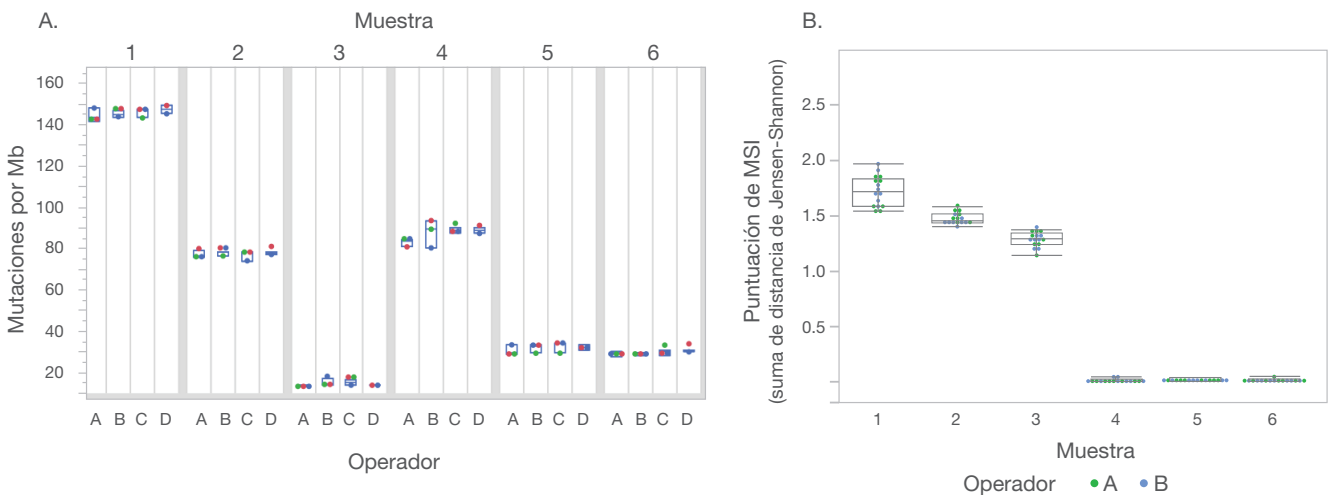


Figura 5: Medición reproducible de TMB y MSI. (A) Se evaluó la TMB en seis muestras de plasma diferentes (1–6) gracias al trabajo de cuatro operadores (A, B, C, D) por triplicado (puntos de color verde, azul y rojo). (B) Se evaluó la MSI en tres líneas celulares preparadas nucleosómicamente con estado conocido de MSI elevada (muestras 1–3) y tres muestras de ADNec de tumores de baja prevalencia de MSI elevada (muestras 4–6) gracias al trabajo de dos operadores diferentes (A: verde, B: azul).

Tabla 5: Detección sensible de CNV

Gen	Múltiplo de cambio previsto	Media observada	Desviación estándar	Tasa de detección
<b>Amplificaciones</b>				
<i>BRCA2</i>	1,8	1,4	0,01	100 %
<i>CCND3</i>	1,5	1,3	0,01	100 %
<i>FGF14</i>	1,3	1,5	0,01	100 %
<i>FGF3</i>	1,6	1,4	0,01	100 %
<i>FGF4</i>	1,7	1,4	0,01	100 %
<i>FGFR2</i>	1,6	1,4	0,01	100 %
<i>MET</i>	1,5	1,3	0,01	100 %
<i>MYC</i>	1,9	1,7	0,02	100 %
<b>Deleciones</b>				
<i>BRCA1</i>	0,7	0,7	0	100 %
<i>BRCA2</i>	0,6	0,6	0,01	100 %

Las muestras con múltiplos de cambio conocidos para amplificaciones y deleciones de genes se evaluaron usando TruSight Oncology 500 ctDNA con 30 ng de aporte de ADNec. Se analizaron cinco duplicados de cada muestra.

Tabla 6: Detección de fusión génica con una VAF baja

Fusión génica	VAF prevista	VAF observada	Desviación estándar	Tasa de detección
<i>FGFR2-COL14A1</i>	4,1 %	4,1 %	0,5 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	3,4 %	0,6 %	0,1 %	100 %
<i>FGFR3-BAIAP2L1</i>	3,4 %	0,8 %	0,2 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	2,4 %	0,6 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	1,7 %	0,5 %	0,1 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	1,0 %	0,7 %	0,1 %	100 %
<i>FGFR2-COL14A1</i>	0,9 %	0,4 %	0,2 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,7 %	0,2 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,5 %	0,5 %	0,3 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	0,5 %	0,2 %	0,0 %	100 %
<i>NCOA4-RET</i>	0,5 %	0,2 %	0,0 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	0,2 %	0,1 %	0,1 %	100 %

Se evaluaron muestras con frecuencias alélicas de fusiones génicas conocidas que oscilaban entre aproximadamente el 0,5 % y el 4 %. Se analizaron cinco duplicados de cada muestra usando TruSight Oncology 500 ctDNA con un aporte de ADNec de 30 ng. La direccionalidad de las fusiones génicas se basa en la expresión conocida. Consulte [TruSight Oncology 500 ctDNA Local App User Guide](#) para obtener más información sobre la direccionalidad de la fusión basada en el ADN.

## Resumen

TruSight Oncology 500 ctDNA es un ensayo de investigación multiplexado basado en NGS que analiza simultáneamente cientos de biomarcadores del plasma relacionados con el cáncer. El contenido del ensayo se ajusta a las guías actuales y a la investigación de las pruebas clínicas. El ensayo único y completo puede detectar varios tipos de variantes a partir de 523 genes implicados en diversos tipos de tumores, sin necesidad de utilizar varias muestras para repetir las pruebas. Además, TruSight Oncology 500 ctDNA permite evaluar biomarcadores de inmunooncología y emergentes (TMB, MSI, *NTRK* y *ROS1*). Gracias al aprovechamiento del amplio contenido genómico, de la tecnología de secuenciación líder en el sector y del software mejorado, TruSight Oncology 500 ctDNA proporciona una solución integrada con la que se aceleran los proyectos de investigación clínica con una complejidad operativa y de análisis mínima.

## Información adicional

TruSight Oncology 500 ctDNA, [illumina.com/tso500-ctDNA](https://illumina.com/tso500-ctDNA)  
 NovaSeq 6000 System, [illumina.com/systems/sequencing-platforms/novaseq.html](https://illumina.com/systems/sequencing-platforms/novaseq.html)

DRAGEN Bio-IT Platform, [illumina.com/products/by-type/informatics-products/dragen-bio-it-platform.html](https://illumina.com/products/by-type/informatics-products/dragen-bio-it-platform.html)

Illumina Connected Analytics, [illumina.com/products/by-type/informatics-products/connected-analytics.html](https://illumina.com/products/by-type/informatics-products/connected-analytics.html)

## Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de catálogo
TruSight Oncology 500 ctDNA Kit (48 samples, 16 indexes)	20039252
TruSight Oncology 500 ctDNA Kit plus Pierian Interpretation Report (48 samples, 16 indexes)	20043410
<b>Kits de reactivos de secuenciación</b>	
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312
NovaSeq Xp 4-Lane Kit v1.5	20043131
<b>Generación de informes de variantes en las instalaciones</b>	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Advance Exchange Plan	20032797
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
<b>Generación de informes de variantes basada en la nube</b>	
ICA Basic Annual Subscription	20044874
ICA Professional Annual Subscription	20044876
ICA Enterprise Annual Subscription	20038994
ICA Enterprise Compliance Add-on (applies to Basic only)	20066830
ICA Training and Onboarding	20049422
ICA Data Storage: Illumina Analytics, 1 credit	20042038
ICA Data Storage: Illumina Analytics Starter Pack, 1000 credits	20042039
ICA Data Storage: Illumina Analytics, 5000 credits	20042040
ICA Data Storage: Illumina Analytics, 50 000 credits	20042041
ICA Data Storage: Illumina Analytics, 100 000 credits	20042042



## Bibliografía

1. Illumina. Enhanced sequencing capabilities with the NovaSeq 6000 v1.5 Reagent Kit. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/novaseq-v1-5-reagents-tech-note-770-2020-013/novaseq-v1.5-reagents-tech-note-770-2020-013.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/novaseq-v1-5-reagents-tech-note-770-2020-013/novaseq-v1.5-reagents-tech-note-770-2020-013.pdf). Año de publicación: 2020. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2022.
2. Parikh AR, Leshchiner I, Elagina L, et al. [Liquid versus tissue biopsy for detecting acquired resistance and tumor heterogeneity in gastrointestinal cancers](#). *Nat Med*. 2019; 25(9): 1415-1421. doi:10.1038/s41591-019-0561-9
3. Leigh NB, Page RD, Raymond VM, et al. [Clinical Utility of Comprehensive Cell-free DNA Analysis to Identify Genomic Biomarkers in Patients with Newly Diagnosed Metastatic Non-small Cell Lung Cancer](#). *Clin Cancer Res*. 2019; 25(15): 4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
4. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf). Año de publicación: 2017. Fecha de consulta: 15 de marzo de 2022.
5. Illumina. Illumina Connected Analytics Security Brief. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ica-security-brief-m-gl-00683/ica-security-brief-m-gl-00683.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ica-security-brief-m-gl-00683/ica-security-brief-m-gl-00683.pdf). Año de publicación: 2022. Fecha de consulta: 16 de marzo de 2022.



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-GL-00843 ESP v4.0