

TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

Possibilitar a determinação sensível e rápida do perfil genômico abrangente em amostras de biópsias líquidas

- Detecte biomarcadores presentes com VAF (variant allele frequency, frequência alélica da variante) de 0,2% em 20 ng de ctDNA.
- Obtenha resultados abrangentes em <4 dias com opções manuais ou automatizadas.*
- Analise >500 genes e assinaturas genômicas de imuno-oncologia (IO, immuno-oncology) (MSI [microsatellite instability, instabilidade de microssatélites], TMB [tumor mutational burden, carga mutacional tumoral]) em um ensaio.

* Kits e métodos compatíveis com automação disponíveis em 2024.

CGP e biópsia líquida

Compreender a base genômica do câncer pode ajudar a identificar alterações que alimentam a doença e permitir avanços na medicina de precisão. Um método para abordar esses estudos oncológicos é a determinação do perfil genômico abrangente (CGP, comprehensive genomic profiling). O CGP é um aplicativo de medicina de precisão que aproveita o sequenciamento de última geração (NGS, next-generation sequencing) para avaliar uma ampla variedade de biomarcadores em um único ensaio, usando menos amostras e retornando resultados mais rapidamente do que várias estratégias de testes iterativos.^{1,2} Além disso, os testes de CGP podem identificar variantes mais clinicamente relevantes do que as abordagens de testes convencionais, como testes de gene único e painéis de hotspot de sequenciamento de última geração.³⁻⁶ Essa capacidade de detectar mais variantes aumenta em importância à medida que um número crescente de biomarcadores é descoberto, incluindo assinaturas genômicas de IO, como carga mutacional tumoral (TMB, tumor mutational burden), que exigem grandes painéis de NGS (>1 Mb) para uma identificação precisa.^{7,8}

A abordagem padrão para CGP envolve o uso de amostras de tecido tumoral sólido, incluindo amostras fixadas em formalina e embebidas em parafina (FFPE, formalin-fixed paraffin-embedded). Em alguns casos, no entanto, pode não estar disponível uma amostra de tecido suficiente (isso pode ocorrer até 25% do tempo⁹), o tumor pode estar inacessível ou os resultados da biópsia de tecido podem estar muito atrasados.

Nesses casos, a realização de CGP com DNA tumoral circulante (ctDNA, circulating tumor DNA) de uma biópsia líquida pode fornecer insights sobre o cenário genômico do tumor. A biópsia líquida:

- Fornece uma abordagem não invasiva para obter DNA livre de células (cfDNA, cell-free DNA), que inclui ctDNA do plasma sanguíneo para determinação do perfil tumoral (Figura 1).
- Permite o acesso ao ctDNA que pode representar clones de vários tumores ou até do mesmo tumor,¹⁰ superando o viés de amostragem inerente presente na biópsia tumoral e expandindo a capacidade de identificar mais alterações.¹⁰⁻¹³
- Está sendo cada vez mais incluída nas diretrizes profissionais (>12 doenças) como um método para a obtenção de amostras para determinação do perfil molecular.¹⁴⁻¹⁶

Para aproveitar a biópsia líquida, é essencial usar um ensaio analítico altamente sensível e específico capaz de detectar mutações somáticas presentes em baixas frequências no cfDNA. O ensaio original TruSight Oncology 500 ctDNA¹⁷ atendeu a esse desafio, aproveitando o poder da comprovada tecnologia NGS da Illumina e atingindo a alta sensibilidade analítica necessária para permitir o CGP. Com base nesse sucesso, o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 oferece melhorias químicas e no fluxo de trabalho que levam a uma maior sensibilidade e a um tempo mais rápido de resposta (Tabela 1, Tabela 2, Tabela 3).

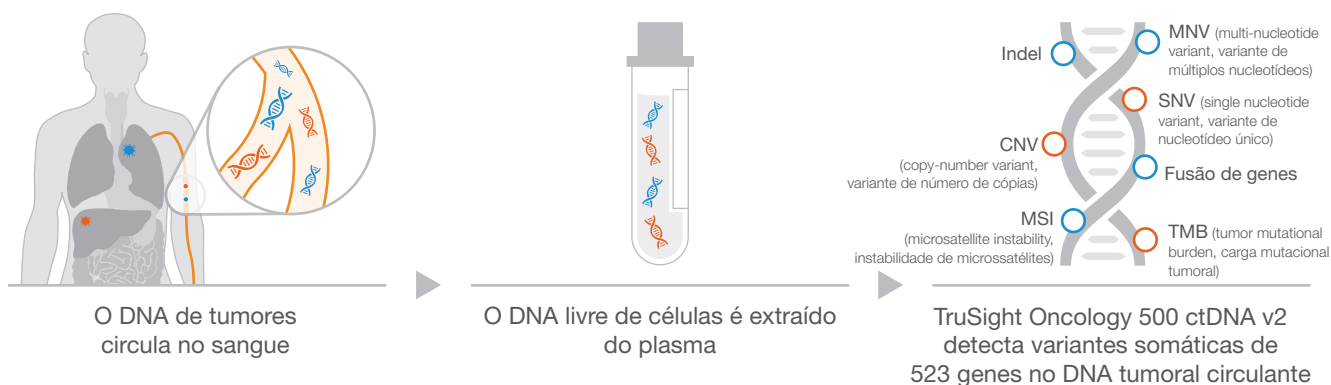


Figura 1: a biópsia líquida permite uma abordagem não invasiva para a CGP; o ctDNA, encontrado no DNA livre de células no plasma, pode ser obtido por meio de uma punção venosa simples analisada pelo TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para detectar a presença de biomarcadores relevantes para câncer nas principais diretrizes.

Valor do ctDNA para CGP

Os tumores liberam DNA no sangue periférico após apoptose ou necrose, onde ele circula como uma fração do DNA livre de células (cfDNA) total.¹⁸ O ctDNA foi detectado em todos os estágios de progressão do câncer e em vários tipos de tumores sólidos,¹⁸ incluindo cânceres de pulmão, mama, colorretal e ovário. Para certas doenças, como câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP), a adição da análise do CGP da biópsia líquida à análise do tecido pode aumentar a identificação de mutações clinicamente relevantes em 15 A 48%.^{11,12,19} Além disso, estudos sobre o câncer de pulmão de células não pequenas revelaram que as análises de cfDNA são altamente concordantes com as análises baseadas em tecido.¹²

O uso do ctDNA para CGP tem várias vantagens:

- Acessar a amostra facilmente por meio de um procedimento de punção venosa minimamente invasivo.²⁰
- Obter informações temporais e espaciais sobre a heterogeneidade intra e intertumoral.²⁰
- Repetir a análise para avaliar a seleção clonal.

Tabela 1: Avanços com o TruSight Oncology ctDNA v2

Benefício	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA (original)
Maior sensibilidade do ensaio	Etapas separadas de reparo de extremidades e poliadenilação	Reparo de extremidades e poliadenilação combinados
Fluxo de trabalho mais simplificado e melhor experiência do usuário	Índices baseados em placas/UMI	Índices baseados em tubos/UMI
Fluxo de trabalho mais rápido em um único dia	Etapa única de hibridização/captura	Duas etapas de hibridização e captura
Mais escalabilidade	192 índices	16 índices

UMI, identificador molecular exclusivo.


 Saiba mais sobre [UMIs](#).

Tabela 2: Visão geral do TruSight Oncology ctDNA v2

Parâmetro	Especificação
Sistema	NovaSeq 6000 System NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO [research use only, uso somente em pesquisa]) ^a NovaSeq X Sequencing System ^a
Rendimento da amostra	8, 24 ou 48
Tamanhos dos kits de preparação de biblioteca	24 amostras (manual) 48 amostras (automatizadas)
Tamanhos dos lotes de sequenciamento	8, 24 ou 48 amostras
Capacidade de automação	Métodos qualificados da Illumina disponíveis para o Hamilton Microlab STAR ^a
Tamanho do painel	1,94 Mb para DNA
Conteúdo do painel	523 genes para pequenas variantes 59 genes para CNVs 23 genes para rearranjos de genes MSI (>2.300 locais) TMB (>1 Mb)
Tipo de amostra	cfDNA obtido de plasma sanguíneo
Requisito de dados de DNA	20 ng de cfDNA (5 a 30 ng possíveis) ^b
Tempo total do ensaio	<4 dias desde a preparação da biblioteca até o relatório de variantes
Tempo de trabalho	8 a 24 amostras (manuais): ~2,5 h 48 amostras (automatizadas): a ser determinado ^c
Tempo de preparação da biblioteca	8 a 24 amostras (manuais): <8,5 h 48 amostras (automatizadas): a ser determinado ^c
Tempo de corrida do sequenciamento	8 amostras: 36 h (lâmina de fluxo S2) 24 amostras: 44 h (1 × lâmina de fluxo S4) 48 amostras: 44 h (2 × lâmina de fluxo S4)
Duração da leitura da corrida do sequenciamento	2 × 151 bp
Cobertura de sequenciamento	35.000×
Tempo de análise da variante	8 amostras: 9 a 12 h 24 amostras: 20 a 24 h 48 amostras: a ser determinado ^c

a. Disponível em 2024.
b. É recomendada a quantificação com os sistemas Agilent TapeStation ou Fragment Analyzer.
c. A ser determinado. Disponível em 2024.

Tabela 3: Desempenho do TruSight Oncology ctDNA v2

Parâmetro	Especificação
Limite de detecção (LOD, limit of detection)	VAF de 0,2% para SNVs VAF de 0,5% para MNVs e indels VAF de 0,5% para rearranjos de genes Fold-change $\geq 1,3$ para ampliações de genes Fold-change $\leq 0,6$ para deleções de genes Fração tumoral $\geq 0,3\%$ para MSI
Sensibilidade analítica (no LOD)	$\geq 90\%$ (no LOD de VAF de 0,2% para SNVs) $\geq 95\%$ (no LOD de VAF de 0,2% para hotspots de SNV) $\geq 95\%$ (no LOD de VAF de 0,5% para todos os outros tipos de variantes)
Especificidade analítica	$\geq 99,999\%$

Os biomarcadores abrangem variantes de nucleotídeo único (SNVs), variantes de múltiplos nucleotídeos (MNVs), inserções/deleções (indels), variantes de número de cópias (CNVs), rearranjos de genes e assinaturas genômicas complexas de IO (imuno-oncologia, imuno-oncologia), como instabilidade de microssatélites no sangue (bMSI, blood-based microsatellite instability) e TMB no sangue (bTMB) (Tabela 4).



Para obter uma lista completa de genes, visite a [página do produto TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#).

Tabela 4: Exemplos de tipos de variantes detectadas pelo TruSight Oncology 500 ctDNA v2

Tipo de variante	Exemplo
SNVs e indels	<i>EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF</i>
Rearranjos de genes	<i>ALK, ROS1, NTRK1, NTRK2, RET</i>
CNVs	<i>HER2</i>
MSI	Pontuação da MSI
TMB	Pontuação da TMB

Conteúdo abrangente

O conteúdo do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 foi criado com autoridades reconhecidas na comunidade oncológica e inclui biomarcadores atuais e emergentes com cobertura abrangente dos genes envolvidos nas principais diretrizes e em estudos clínicos para vários tipos de tumor. O design da sonda do painel captura rearranjos de genes conhecidos e novos e inclui 523 genes para a detecção de variantes que provavelmente desempenham uma função na tumorigênese agora e no futuro.



Figura 2: fluxo de trabalho do TruSight Oncology 500 ctDNA v2; o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se integra aos fluxos de trabalho atuais do laboratório, indo do cfDNA para um relatório de variante em menos de quatro dias. O DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software é executado localmente em um servidor DRAGEN ou na versão da nuvem, por meio do Illumina Connected Analytics. a. NovaSeq 6000Dx no modo RUO. b. Disponível em 2024 c. Disponível em países selecionados. A linha de produtos Illumina Connected Insights é compatível com a análise terciária definida pelo usuário por meio de chamadas de API para fontes de conhecimento de terceiros. d. O Velsera era conhecido anteriormente como Pierian. Outras opções comerciais estão disponíveis.

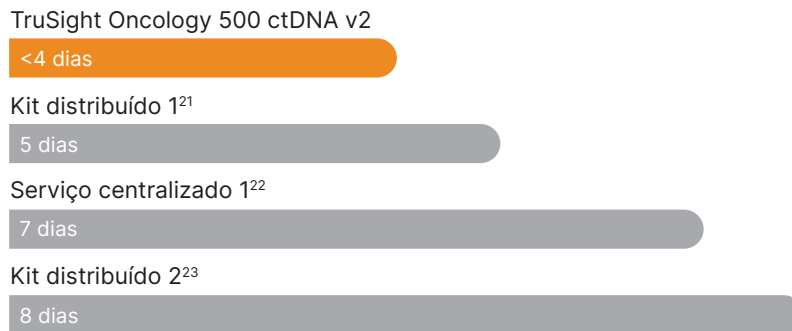


Figura 3: tempo mais rápido para o relatório com o TruSight Oncology 500 ctDNA v2; uma comparação do tempo necessário para ir da amostra ao relatório para ensaios de CGP em biópsia líquida que incluem biomarcadores de IO de bMSI e bTMB.

Fluxo de trabalho rápido e integrado

O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 faz parte de um fluxo de trabalho integrado do CGP que abrange desde a entrada da amostra até o relatório final (Figura 2). O uso de kits e métodos automatizados de preparação de bibliotecas, ferramentas de identificação de variantes e software de interpretação e geração de relatórios permite um fluxo de trabalho tranquilo que pode ser concluído em menos de quatro dias, menos da metade do tempo de outros ensaios de biópsia líquida de CGP (Figura 3).

Preparação otimizada da biblioteca

Ao usar a química comprovada do sequenciamento por síntese (SBS, sequencing by synthesis) da Illumina, o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permite a determinação do perfil genômico abrangente com apenas 20 ng de cfDNA, tornando-a uma alternativa ideal para uso quando o tecido não está prontamente disponível ou como complemento à análise do tecido. O ctDNA representa uma pequena fração do cfDNA (muitas vezes <5% do cfDNA total), exigindo métodos eficazes para separar o sinal do ruído. Para permitir a identificação de variantes de frequência ultrabaixa, a preparação da biblioteca aproveita o enriquecimento do alvo com sondas biotinizadas e beads magnéticos revestidos com estreptavidina para enriquecer alvos selecionados de bibliotecas baseadas em DNA e identificadores moleculares exclusivos (UMIs)²⁴ para reduzir as taxas de erro (Figura 4). Os avanços na química do produto diminuiram o número de hibridizações de duas para uma no TruSight Oncology 500 ctDNA v2, permitindo um tempo de resposta de um dia para a preparação da biblioteca e um tempo mais curto para os resultados. Também foi melhorada a sensibilidade analítica para VAF de 0,2% para SNVs. Essa abordagem de captura por hibridização direcionada reduz dropouts de amostras na presença de variações alélicas naturais e artefatos de sequência.

Fluxo de trabalho habilitado para automação

O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 oferece opções manuais e automatizadas* para dar suporte à preparação de bibliotecas escaláveis. A Illumina fez uma parceria com a Hamilton, fabricante líder de manuseio de líquidos, para produzir um fluxo de trabalho totalmente automatizado para ensaios do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 no Hamilton Star. A Illumina oferecerá kits de preparação de bibliotecas compatíveis com automação que reduzem resíduos do reagente, garantindo que haja reagente suficiente para preparar 48 bibliotecas e acomodar o volume morto necessário para o robô. Os fluxos de trabalho automatizados obtêm os mesmos resultados de alta qualidade produzidos por protocolos manuais, enquanto reduzem o tempo de trabalho, permitindo que os laboratórios economizem nos custos de mão de obra e melhorem a eficiência.²⁶

Sequenciamento eficaz

As bibliotecas do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 são sequenciadas no NovaSeq 6000 Sequencing System, no NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO) e no NovaSeq X Sequencing System[†] em alta profundidade (400 milhões de leituras por amostra a ~35.000×) para aumentar a sensibilidade. O resultado é a capacidade de detectar mutações na frequência alélica da variante (VAF) de 0,2% para SNVs, com ≥90% de sensibilidade analítica e ≥95% de especificidade analítica (Tabela 5).

* Método de automação qualificado da Illumina disponível em 2024.

† Sequenciamento nos sistemas NovaSeq 6000 Dx e NovaSeq X disponíveis em 2024.

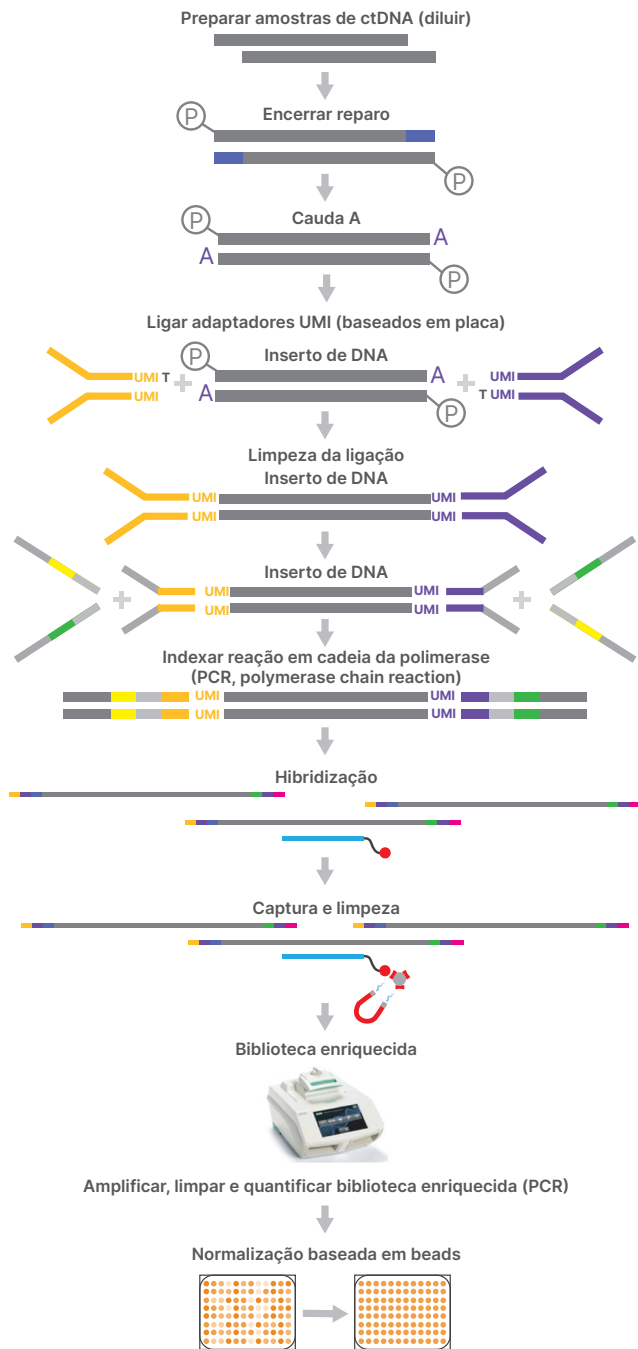


Figura 4: preparação de bibliotecas de captura híbrida com base no UMI; o enriquecimento direcionado usa sondas suficientemente grandes para transmitir alta especificidade de ligação, mas que ainda permitem a hibridização para alvos que contêm mutações. Os reagentes do UMI reduzem as taxas de erro, aumentando a especificidade analítica e gerando identificações de variantes de maior confiança.²⁵

Tabela 5: Detecção precisa de biomarcadores de baixo nível

Tipo de variante	Sensibilidade analítica ^a	Especificidade analítica ^b
Variantes de nucleotídeos pequenos (VAF ≥0,2%)	≥90%	≥99,9994%
Variantes de múltiplos nucleotídeos (VAF ≥0,5%)	≥90%	≥95%
Inserções/deleções (VAF ≥0,5%)	≥90%	≥95%
Amplificações de genes (fold-change ≥1,3)	≥95%	≥95%
Deleções de genes (fold-change ≤0,6)	≥95%	≥95%
Rearranjos de genes (≥0,5%)	≥95%	≥95%
Alta detecção de MSI (≥ a 0,3% de fração tumoral)	≥95%	≥95%

a. A sensibilidade analítica é definida como detecção percentual no nível de variante declarado.

b. A especificidade analítica é definida como a capacidade de detectar um resultado negativo conhecido.

Análise precisa e acelerada

Identificação de variantes abrangente e eficiente

O pipeline de análise do DRAGEN™ TruSight Oncology 500 ctDNA usa algoritmos de bioinformática acelerados e totalmente integrados para realizar o alinhamento da sequência, a correção do erro ao recolher a sequência e, em seguida, a identificação da variante com base nos dados brutos. As leituras duplicadas e os erros de sequenciamento são removidos sem perda de sinal para variantes de baixa frequência, ao mesmo tempo em que produzem resultados de identificação de variantes de alta sensibilidade.

Ao contrário dos resultados qualitativos de ensaios baseados em PCR, o pipeline de análise do DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA fornece uma pontuação quantitativa de bMSI derivada de >2.300 locais de marcadores de MSI em homopolímeros. Para análise da bTMB, o pipeline do DRAGEN otimiza a sensibilidade ao medir SNVs sinônimos e não sinônimos e indels. Após a identificação da variante e a correção dos erros, a precisão da medição da bTMB é ainda mais aprimorada pela filtragem das variantes da linha genética, das variantes de baixa confiança e das variantes associadas à hematopoese clonal de potencial indeterminado.

O pipeline de análise do DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA é executado localmente em um Illumina DRAGEN Server v4 ou na nuvem, por meio do Illumina Connected Analytics (ICA). O ICA oferece uma plataforma genômica segura e baseada na nuvem para dimensionar a análise secundária sem a necessidade de adquirir e manter a infraestrutura local.²⁷ Hardware e software DRAGEN aprimorados que reduzem o tempo de análise de dados em até ~85% (Tabela 6).

Tabela 6: Tempo reduzido para análise de dados para 24 amostras usando uma lâmina de fluxo S4

Etapa da análise de dados	Solução A ^a	Pipeline de análise do DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA
Conversão de BCL	6 h	1 h
Alinhamento + recolhimento + realinhamento	170 h	11 h
Identificação de rearranjo de genes	10 h	2 h
Identificação da variante	24 h	8 h
Tempo total	~9 dias	~20 h (~85% de redução)

a. Nó único (memória de 128 G, CPU de 24 núcleos), pipeline não paralelizado.

Interpretação de dados simplificada

Após a identificação da classe da variante e do tipo de biomarcador por meio da análise secundária, a próxima etapa é interpretar os dados para extrair o significado biologicamente relevante. Illumina Connected Insights,[‡] Velsera Clinical Genomics Workspace[§] e aplicativos de terceiros podem ser usados.

‡ Não disponível em todos os países. A plataforma Illumina Connected Insights oferece suporte para análises terciárias definidas pelo usuário por meio de chamadas de API para fontes de conhecimento de terceiros.

§ O Velsera era conhecido anteriormente como Pierian.

Arquivos de identificação de variantes produzidos localmente ou na nuvem com o Illumina Connected Analytics podem ser automaticamente ingeridos no Illumina Connected Insights. Quando combinado com a integração do sistema de sequenciamento e com os recursos de inicialização automática do Connected Analytics, o fluxo de trabalho de análise pode ser totalmente automatizado com o Connected Insights, eliminando a necessidade de transferências manuais de dados e resultando em um relatório final personalizável.

Resultados confiáveis e reprodutíveis

O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 fornece detecção sensível de variantes genômicas e biomarcadores em uma amostra de cfDNA, mesmo quando presentes em níveis baixos. Para demonstrar os resultados de alta qualidade obtidos com o TruSight Oncology 500 ctDNA v2, a Illumina realizou vários estudos avaliando a capacidade de identificação de pequenas variantes de DNA, CNVs, rearranjos de genes, TMB e MSI.

SNVs e indels

Um benefício da química de enriquecimento de alvos é o uso de sondas com design grande o suficiente para transmitir alta especificidade de ligação, mas que ainda permitem a hibridização para alvos que contêm pequenas mutações. Como as SNVs foram associadas à suscetibilidade a vários tipos de câncer, é essencial que qualquer método de CGP possa detectar essas variantes em níveis baixos. O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 detecta de forma reprodutível SNVs e indels presentes com níveis de VAF de 0,2% ou 0,5%, respectivamente (Figura 5 e Figura 6).

CNVs

Alterações no número de cópias em vários genes e tipos de tumor foram associadas à tumorigênese.²⁷ O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 inclui a análise de 59 genes associados à CNV e pode identificar ampliações com um limite de detecção em fold-change $\geq 1,3$ para ampliações e em $\leq 0,6$ para deleções (Tabela 7).

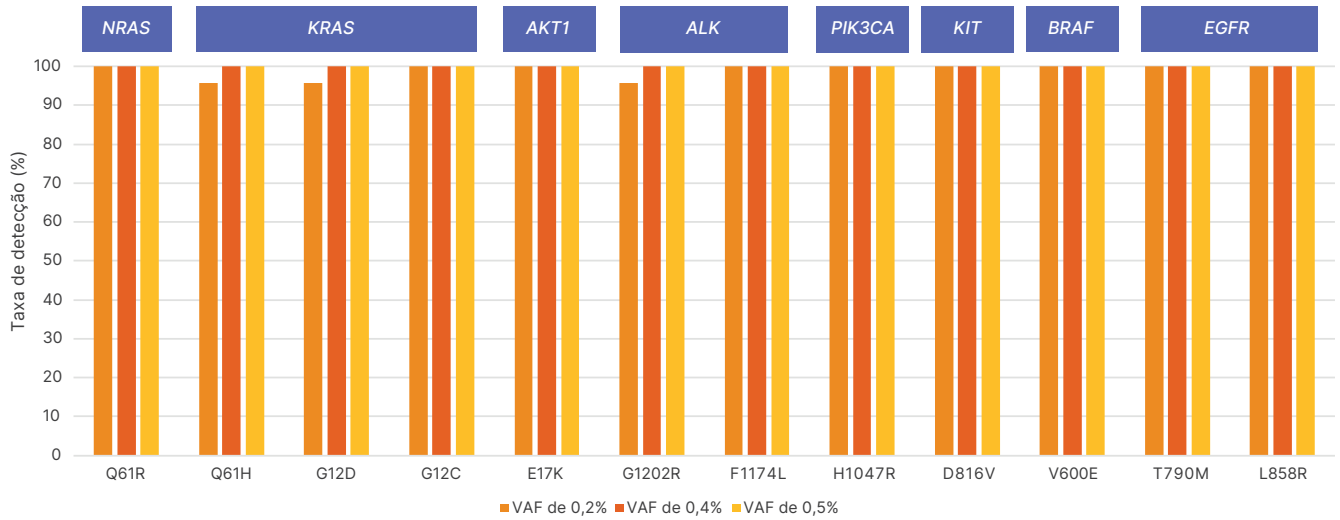


Figura 5: alto desempenho analítico para indels no LOD (VAF de 0,2%); as amostras de controle sintético com VAF conhecida para cada inserção ou deleção foram diluídas em valores cuja VAF variou de 0,20% a 0,50% e analisadas pelo TruSight Oncology 500 ctDNA v2. As SNVs presentes em níveis inferiores a 0,2% foram detectáveis.

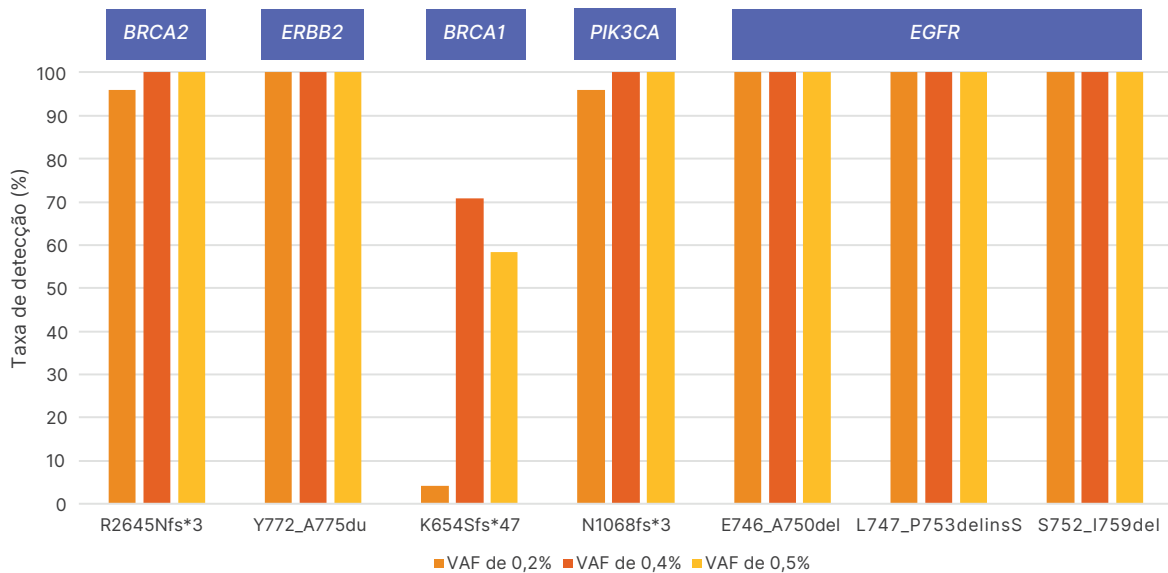


Figura 6: alto desempenho analítico para indels no LOD (VAF de 0,5%); as amostras de controle sintético com VAF conhecida para cada inserção ou deleção foram diluídas em valores que variaram de VAF de 0,20% a 0,50% e analisadas pelo TruSight Oncology 500 ctDNA v2. A detecção de BRCA1 foi menor devido ao fato de a variante estar em uma região repleta de homopolímeros, resultando em um alto nível de ruído de fundo.

Tabela 7: Desempenho analítico do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para CNVs

Gene	Fold-change esperada	Fold-change observada	Taxa de detecção
Amplificações			
<i>ERBB2</i>	1,5	1,50	100%
<i>MET</i>	1,5	1,55	100%
<i>MYC</i>	1,5	1,27	100%
<i>ERBB2</i>	1,4	1,73	100%
<i>MET</i>	1,4	1,46	100%
<i>MYC</i>	1,4	1,22	100%
<i>ERBB2</i>	1,3	1,35	100%
<i>MET</i>	1,3	1,38	100%
<i>MYC</i>	1,3	1,19	8%
<i>ERBB2</i>	1,2	1,19	100%
<i>MET</i>	1,2	1,22	100%
<i>MYC</i>	1,2	N/A	0
Deleções			
<i>BRCA1</i>	0,85	0,86	16%
<i>BRCA2</i>	0,85	N/A	0
<i>BRCA1</i>	0,80	0,79	100%
<i>BRCA2</i>	0,80	0,80	100%
<i>BRCA1</i>	0,70	0,69	100%
<i>BRCA2</i>	0,70	0,69	100%

As amostras com fold-changes conhecidas para amplificações de genes usando controles sintéticos e linhagens celulares para deleções foram avaliadas usando o TruSight Oncology 500 ctDNA v2. As CNVs foram diluídas em três níveis de VAF. LOD \geq fold-change 1,3 para amplificações de genes e \leq fold-change 0,6 para deleções. Observe a forte correlação entre as fold-changes esperadas e observadas.

Rearranjos de genes

Os rearranjos de genes podem atuar como condutores genômicos para o câncer, tornando a capacidade de detectá-los essencial para estudos com foco na compreensão da base da doença. O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 detecta e caracteriza rearranjos de genes agnósticos do parceiro, mesmo quando presentes em baixas concentrações (Tabela 8).

Tabela 8: Desempenho analítico do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para rearranjos de genes

Fusão	VAF esperada	VAF observada	Taxa de detecção
<i>ALK:EML4</i>	0,60%	0,48%	100%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,60%	0,39%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0,60%	0,31%	100%
<i>ALK:EML4</i>	0,50%	0,43%	100%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,50%	0,33%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0,50%	0,27%	100%
<i>ALK:EML4</i>	0,40%	0,36%	100%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,40%	0,24%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0,40%	0,19%	100%
<i>ALK:EML4</i>	0,20%	0,18%	88%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0,20%	0,11%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0,20%	0,12%	83%

Amostras com três fusões de DNA conhecidas diluídas em níveis de VAF variando de 0,2% a 0,6% foram avaliadas com o TruSight Oncology 500 ctDNA v2. LOD para rearranjos de genes = 0,5%. A avaliação baseada em NGS usando o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 investiga >2.300 locais de homopolímeros com tamanho de 6 a 7 bp, o que ajuda a reduzir as taxas de erro e diminuir possíveis falsos positivos comumente encontrados no sequenciamento de homopolímeros. VAF, frequência alélica da variante

Assinaturas genômicas de IO: MSI e TMB

A detecção de MSI e TMB depende da análise de vários locais genômicos. A avaliação baseada em NGS usando o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 investiga >2.300 locais de homopolímeros com tamanho de 6 a 7 bp, o que ajuda a reduzir as taxas de erro e diminuir possíveis falsos positivos comumente encontrados no sequenciamento de homopolímeros.²⁸ Ao apresentar uma química de preparação de bibliotecas sensível combinada com bioinformática avançada, o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 fornece detecção de MSI obtida em uma fração tumoral de 0,3% (Figura 7).

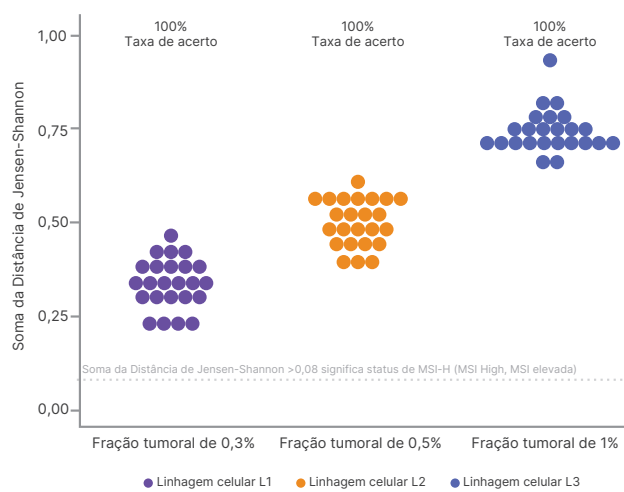


Figura 7: desempenho de MSI sensível para pesquisa de IO; frações tumorais produzidas pela titulação de linhagens celulares preparadas nucleossômicas, com pontuações de MSI-H previamente conhecidas tituladas em uma base celular do tipo selvagem. A alta sensibilidade analítica da MSI é obtida com o DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Software patenteado. Mais de 2.300 locais de homopolímeros foram avaliados.

Obter um valor preciso e reprodutível de bTMB em baixos níveis de mutação pode ser um desafio com painéis menores.⁷ O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 combina conteúdo genômico abrangente com um painel de 1,94 Mb e algoritmos de informática sofisticados para fornecer estimativas precisas de bTMB. O pipeline de bioinformática patenteado DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA aplica filtragem avançada para variantes de hematopoese de linha genética e clonais, resultando em fluxos de trabalho de apenas tumor e tumor-normal altamente concordantes ($R^2 = 0,992$) (Figura 8).²⁸

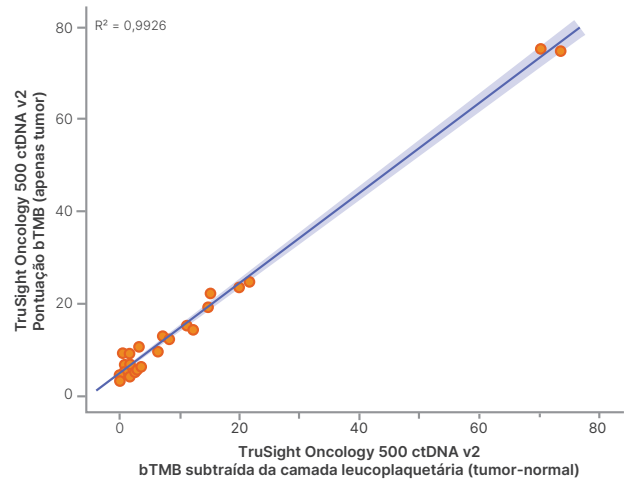


Figura 8: alta correlação de dados de bTMB entre fluxos de trabalho de análise de apenas tumor e tumor-normal; pontuações de bTMB de apenas tumor produzidas com o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 com bioinformática avançada e um painel grande o suficiente para detectar TMB (>1 Mb) mostram alta concordância com pontuações de bTMB produzidas com base em um fluxo de trabalho de tumor-normal pareado usando plasma e cfDNA de camada leucoplaquetária.

Atributos aprimorados de produtos

A Illumina oferece níveis elevados de serviço e suporte para garantir o sucesso operacional dos laboratórios. Para permitir maior eficiência, o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 apresenta:

- Notificação avançada de mudanças; a Illumina notifica os laboratórios seis meses antes de quaisquer mudanças significativas feitas no TruSight Oncology 500 ctDNA.
- Certificado de análise[¶]; cada TruSight Oncology 500 ctDNA v2 contém um certificado de análise (CoA) do Departamento de Garantia de Qualidade da Illumina, atestando que o produto está de acordo com as especificações e com a qualidade predeterminadas da versão.
- Prazo de validade estendido; o prazo de validade mínimo garantido para reagentes TruSight Oncology 500 ctDNA v2 foi estendido para seis meses, reduzindo o risco de expiração do produto e possibilitando que os laboratórios utilizem os reagentes de acordo com as necessidades de teste atuais.

¶ CoA disponível em 2024.

Solução integrada que permite CGP com base em biópsia líquida

O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 é um ensaio de pesquisa multiplex baseado em sequenciamento de última geração que analisa simultaneamente centenas de biomarcadores relacionados ao câncer alinhado com as diretrizes atuais e com pesquisas de estudos clínicos de amostras de plasma. O ensaio abrangente detecta vários tipos de variantes no sangue de 523 genes implicados em diversos tipos de tumor e avalia a IO e biomarcadores emergentes (bTMB, bMSI, *NTRK* e *ROS1*), sem exigir várias amostras para testes iterativos.

As melhorias químicas diminuiram o tempo de resposta geral para <4 dias, reduziram a exigência de entrada para 20 ng de cfDNA e reduziram o limite de detecção para VAF de 0,2% (para SNVs). Além disso, o fluxo de trabalho habilitado por automação** reduz o tempo de trabalho e minimiza a carga da equipe do laboratório, criando um laboratório simplificado para maior eficiência. Ao aproveitar o extenso conteúdo genômico, a tecnologia de sequenciamento líder do setor e software aprimorado, o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 fornece uma solução integrada que possibilita projetos de pesquisa clínica com base na CGP com mínima complexidade operacional e analítica.

Saiba mais

[TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[DRAGEN secondary analysis](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

Informações para pedido – Kits de preparação da biblioteca (manuais)

Produto	N.º do catálogo
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples)	20105899
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105901
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105902
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105905
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105907
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105908
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	Em breve
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	Em breve
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	Em breve

**Fluxo de trabalho habilitado para automação disponível em 2024.

Informações para pedido – Kits de preparação da biblioteca (automatizados)

Produto	N.º do catálogo
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples)	20105900
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105903
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105904
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105906
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105909
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105910
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	Em breve
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	Em breve
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	Em breve

Informações para pedido – Adaptadores de índice

Produto	N.º do catálogo
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034701
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034702
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set A for Automation	20066404
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set B for Automation	20063213

Informações para pedido – Reagentes de sequenciamento

Produto	N.º do catálogo
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312

Informações para pedido – Análise

Produto	N.º do catálogo
Relatório de variante local	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
Relatório de variante na nuvem	
ICA Basic Annual Subscription	20044874
ICA Professional Annual Subscription	20044876
ICA Enterprise Annual Subscription	20038994
ICA Enterprise Compliance Add-on	20066830
Subscription ICA Training and Onboarding	20049422
Interpretação da variante	
Illumina Connected Insights – Annual Subscription	20090137
Illumina Connected Insights-Research – Annual Subscription	20112516
Illumina Connected Insights – Oncology Genome Equivalent Samples (VCF)	20090138
Illumina Connected Insights Training – Remote	20092376
Informatics Professional Services	20071787
Armazenamento na nuvem	
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package – 1,000 iCredits	20042039
Illumina Analytics – 5,000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100,000 iCredits	20042042

Referências

1. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208
2. Yu TM, Morrison C, Gold EJ, Tradonsky A, Layton AJ. Multiple Biomarker Testing Tissue Consumption and Completion Rates With Single-gene Tests and Investigational Use of OncoPrint Dx Target Test for Advanced Non-Small-cell Lung Cancer: A Single-center Analysis. *Clin Lung Cancer*. 2019;20(1):20-29.e8. doi:10.1016/j.clcc.2018.08.010
3. Reitsma M, Fox J, Borre PV, et al. Effect of a Collaboration Between a Health Plan, Oncology Practice, and Comprehensive Genomic Profiling Company from the Payer Perspective. *J Manag Care Spec Pharm*. 2019;25(5):601-611. doi:10.18553/jmcp.2019.18309
4. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients [published correction appears in *Nat Med*. 04 de agosto de 2017;23 (8):1004]. *Nat Med*. 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333
5. Kopetz S, Mills Shaw KR, Lee JJ, et al. Use of a Targeted Exome Next-Generation Sequencing Panel Offers Therapeutic Opportunity and Clinical Benefit in a Subset of Patients With Advanced Cancers. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00213. Publicado em 08 de março de 2019. doi:10.1200/PO.18.00213
6. Drilon A, Wang L, Arcila ME, et al. Broad, Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing Identifies Actionable Genomic Alterations in Lung Adenocarcinomas Otherwise Negative for Such Alterations by Other Genomic Testing Approaches. *Clin Cancer Res*. 2015;21(16):3631-3639. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2683
7. Buchhalter I, Rempel E, Endris V, et al. Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis. *Int J Cancer*. 2019;144(4):848-858. doi:10.1002/ijc.31878
8. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med*. 2017;9(1):34. Publicado em 19 de abril de 2017. doi:10.1186/s13073-017-0424-2
9. Hagemann IS, Devarakonda S, Lockwood CM, et al. Clinical next-generation sequencing in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer*. 2015;121(4):631-639. doi:10.1002/cncr.29089
10. Rapisuwon S, Vietsch EE, Wellstein A. Circulating biomarkers to monitor cancer progression and treatment. *Comput Struct Biotechnol J*. 2016;14:211-222. Publicado em 1.º de junho de 2016. doi:10.1016/j.csbj.2016.05.004

11. Aggarwal C, Thompson JC, Black TA, et al. [Clinical Implications of Plasma-Based Genotyping With the Delivery of Personalized Therapy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer](#). *JAMA Oncol*. 2019;5(2):173-180. doi:10.1001/jamaoncol.2018.4305
12. Leighl 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
13. Palmero R, Taus A, Viteri S, et al. [Biomarker Discovery and Outcomes for Comprehensive Cell-Free Circulating Tumor DNA Versus Standard-of-Care Tissue Testing in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer](#). *JCO Precision Oncology*. 2021;5:93-102. doi:10.1200/PO.20.00241
14. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. [Liquid Biopsy for Advanced NSCLC: A Consensus Statement From the International Association for the Study of Lung Cancer](#). *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662. doi:10.1016/j.jtho.2021.06.017
15. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. [Recommendations for the use of next-generation sequencing \(NGS\) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group](#). *Ann Oncol*. 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014
16. Pascual J, Attard G, Bidard FC, et al. [ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group](#). *Ann Oncol*. 2022;33(8):750-768. doi:10.1016/j.annonc.2022.05.520
17. Illumina. [TruSight Oncology 500 ctDNA data sheet](#). [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf). Acessado em 20 de setembro de 2023.
18. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. [Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies](#). *Sci Transl Med*. 2014;6(224):224ra24. doi:10.1126/scitranslmed.3007094
19. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. [Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: Analysis of over 8000 cases](#). *Cancer*. 2020;126(14):3219-3228. doi:10.1002/cncr.32876
20. Saarenheimo J, Eigeliene N, Andersen H, Tiirola M, Jekunen A. [The Value of Liquid Biopsies for Guiding Therapy Decisions in Non-small Cell Lung Cancer](#). *Front Oncol*. 2019;9:129. doi:10.3389/fonc.2019.00129
21. Roche. [AVENIO ctDNA Analysis Kits](#). Sequencing. [sequencing.roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html](https://www.sequencing.roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html). Acessado em 20 de setembro de 2023.
22. Tempus. [Tempus xF](#). www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xf/. Acessado em 20 de setembro de 2023.
23. Personal Genome Diagnostics. [PGDx elio plasma complete](#). <https://www.personalgenome.com/products/elio-plasma-complete>. Acessado em 20 de setembro de 2023.
24. Illumina. [TruSight Oncology UMI Reagents data sheet](#). [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). Acessado em 20 de setembro de 2023.
25. Illumina. [Sequencing accuracy with Unique Molecular Identifiers](#). [illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html](https://www.illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html). Acessado em 20 de setembro de 2023.
26. Socea JN, Stone VN, Qian X, Gibbs PL, Levinson KJ. [Implementing laboratory automation for next-generation sequencing: benefits and challenges for library preparation](#). *Front Public Health*. 2023;11:1195581. doi:10.3389/fpubh.2023.1195581
27. Beroukhi R, Mermel CH, Porter D, et al. [The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers](#). *Nature*. 2010;463(7283):899-905. doi:10.1038/nature08822
28. Illumina. [Analysis of TMB and MSI status with TruSight Oncology 500 application note](#). [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf). Acessado em 20 de setembro de 2023.



1 800-809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-02196 PTB v2.0