

TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

Determinação rápida e sensível
do CGP de amostras de
biópsia líquida

- Detecte biomarcadores presentes com frequência alélica da variante (VAF) de 0,2% em 20 ng de ctDNA (5 a 30 ng possíveis)
- Obtenha resultados abrangentes em menos de quatro dias com opções manuais ou automatizadas
- Analise mais de 500 genes e assinaturas genômicas de imuno-oncologia (IO) (MSI, TMB) em um ensaio
- Aproveite a economia revolucionária e os tamanhos de lote a partir de quatro amostras com o NovaSeq™ X Series



O valor que o ctDNA e a biópsia líquida trazem para o CGP

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). O CGP é uma aplicação de medicina de precisão que aproveita o sequenciamento de última geração (NGS) 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 imunooncologia (IO), como carga mutacional tumoral (TMB), que exigem grandes painéis de NGS (mais de 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). Ocasionalmente, pode não haver disponibilidade suficiente de uma amostra de tecido (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) de uma biópsia líquida baseada em sangue pode fornecer informações sobre o cenário genômico do tumor. O ctDNA foi detectado em todos os estágios da progressão do câncer e em vários tipos de tumor sólido,¹⁰ incluindo cânceres de pulmão, mama, colorretal e ovário. O uso do ctDNA para CGP tem várias vantagens:

- Acessar a amostra facilmente por meio de um procedimento de punção venosa minimamente invasivo.¹¹
- Capturar clones de vários tumores ou até do mesmo tumor,¹² superando o viés de amostragem inerente presente na biópsia do tumor sólido e expandindo a capacidade de identificar mais alterações.¹²⁻¹⁵
- Obter informações temporais e espaciais sobre a heterogeneidade intra e intertumoral.¹¹
- Repetir a análise para avaliar a seleção clonal.

A biópsia líquida fornece uma abordagem não invasiva para obter DNA livre de células (cfDNA), que inclui ctDNA do plasma sanguíneo para determinação do perfil tumoral (Figura 1). Para certas doenças, como carcinoma pulmonar de células não pequenas (NSCLC), a inclusão da análise de CGP da biópsia líquida à análise de tecido pode aumentar a identificação de mutações clinicamente relevantes em 15 a 48%.^{13,14,16} Além disso, estudos de câncer de pulmão de células não pequenas revelaram que as análises de cfDNA estão em grande concordância com as análises baseadas em tecido.¹⁴ Atualmente, a biópsia líquida está sendo cada vez mais incluída em diretrizes profissionais (mais de 12 doenças) como um método para obter amostra para determinação do perfil molecular.¹⁷⁻¹⁹

Para obter benefícios através da biópsia líquida, é essencial usar um ensaio analítico altamente sensível e específico capaz de detectar mutações somáticas presentes em baixas frequências no ctDNA. O ensaio original TruSight Oncology 500 ctDNA²⁰ 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 (Tabela 1, Tabela 2) oferece melhorias químicas e no fluxo de trabalho que levam a uma maior sensibilidade e a um tempo mais rápido de resposta (Tabela 3).

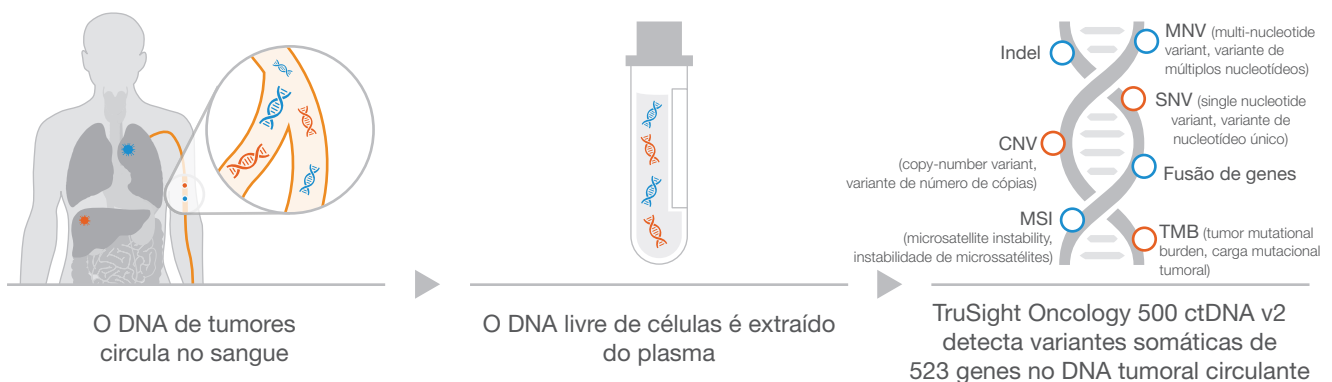


Figura 1: a biópsia líquida permite uma abordagem não invasiva para a CGP; o ctDNA, encontrado no DNA livre de células no plasma, pode ser obtido por meio de uma punção venosa simples analisada pelo TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para detectar a presença de biomarcadores relevantes para câncer nas principais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

Tabela 1: Visão geral do TruSight Oncology ctDNA v2.

Parâmetro	Especificação
Sistema	NovaSeq X Series NovaSeq 6000 System NovaSeq 6000Dx Instrument (modo de uso somente em pesquisa [RUO]) ^a
Rendimento da amostra	4 a 48 amostras por sequenciamento
Tamanhos dos kits de preparação de biblioteca	24 amostras (manual) 48 amostras (automatizadas)
Amostras por lâmina de fluxo	4 amostras por lâmina de fluxo 1.5B 8 amostras por lâmina de fluxo S2 24 amostras por lâmina de fluxo 10B 24 amostras por lâmina de fluxo S4
Capacidade de automação	Métodos qualificados da Illumina disponíveis para o Hamilton Microlab STAR
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	Da preparação da biblioteca até o relatório de variantes: • 3 dias no NovaSeq X Series • 4 dias no NovaSeq 6000 System
Tempo de trabalho	8 a 24 amostras (manuais): aprox. 2,5 h 8 a 24 amostras (automatizadas): aprox. 1,5 h 48 amostras (manuais): aprox. 4,5 h 48 amostras (automatizadas): aprox. 1,5 h
Tempo de preparação da biblioteca ^c	8 a 24 amostras (manuais): aprox. 8,5 h 8 a 24 amostras (automatizadas): aprox. 9,5 h 48 amostras (manuais): aprox. 10 h 48 amostras (automatizadas): aprox. 11 h
Tempo da corrida do sequenciamento	22 a 44 h (consulte a Tabela 5)
Comprimento da leitura 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: 40 a 48 h

- a. Compatibilidade do servidor integrado com o NovaSeq 6000Dx Instrument disponível na segunda metade de 2024.
- b. É recomendada a quantificação com os sistemas Agilent TapeStation ou Fragment Analyzer. Para saber mais sobre quantidades de entrada, leia a [nota técnica Uso de quantidades de entrada mais baixas com TruSight Oncology ctDNA v2](#).
- c. Inclui a preparação, o enriquecimento e a normalização com base em beads da biblioteca.

Tabela 2: Desempenho do TruSight Oncology ctDNA v2.^a

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 Alteração de dobra ≥1,3 para ampliações de genes Alteração de dobra ≤0,6 para deleções de genes Fração tumoral ≥0,3% para MSI
Sensibilidade analítica (no LOD)	≥90% (no LOD de VAF de 0,2% para SNVs) ≥95% (no LOD de VAF de 0,2% para hotspots de SNV) ≥95% (no LOD de VAF de 0,5% para todos os outros tipos de variantes)
Especificidade analítica	≥ 99,999%

a. Verificado no NovaSeq 6000 System e no NovaSeq X Series.

Tabela 3: 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
Tamanhos de lote mais amplos	4 a 48 amostras ^a	8 a 48 amostras
Automação ativada	Sim	Não

a. Lotes de quatro amostras disponíveis no NovaSeq X Series. UMI, identificador molecular exclusivo.

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. 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-oncology, 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

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).

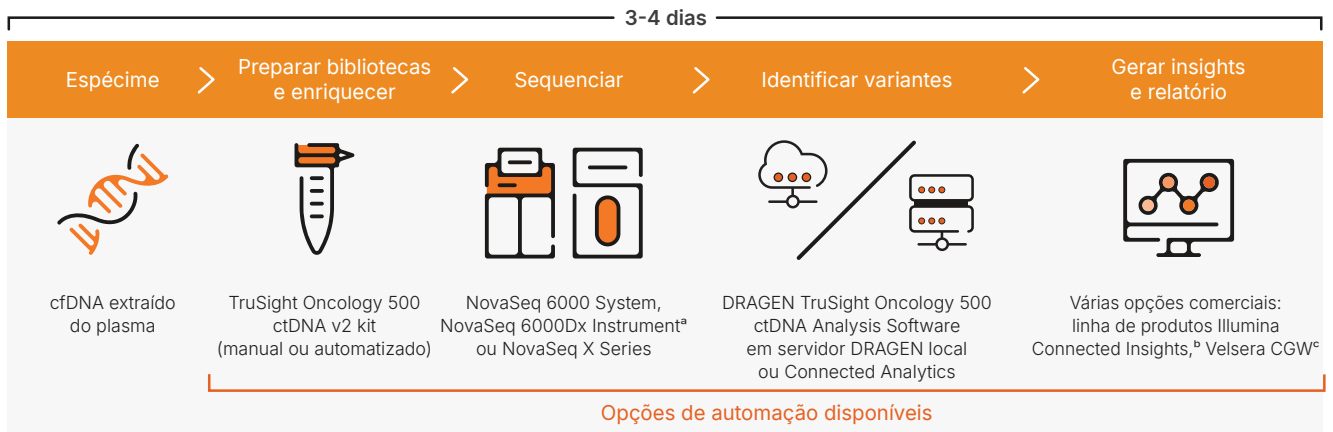


Figura 2: fluxo de trabalho do TruSight Oncology 500 ctDNA v2; o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 se integra aos fluxos de trabalho atuais do laboratório, indo do cfDNA para um relatório de variante em menos de quatro dias. O DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software é executado localmente em um servidor DRAGEN ou na versão em nuvem, por meio do Illumina Connected Analytics. a. NovaSeq 6000Dx Instrument em modo RUO. b. Disponível em países específicos. 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. c. Outras opções de terceiros estão disponíveis.

TruSight Oncology 500 ctDNA v2

<4 dias

Kit distribuído 1²¹

5 dias

Serviço centralizado 1²²

7 dias

Kit distribuído 2²³

8 dias

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.

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 (unique molecular identifiers, UMIs)²⁴ para reduzir as taxas de erro (Figura 4). Os avanços na química do produto diminuíram 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 falhas em amostras na presença de variações alélicas naturais e artefatos de sequência.



Saiba mais sobre o [uso de quantidades de entrada com apenas 5 ng através do TruSight Oncology ctDNA v2](#).



Saiba mais sobre [UMIs](#).

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, a fim de produzir um fluxo de trabalho totalmente automatizado para ensaios do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 no Hamilton Star. Os kits de preparação de bibliotecas compatíveis com automação fornecem reagentes suficientes para a preparação de 48 bibliotecas e acomodação do volume morto necessário para o robô, com geração mínima de resíduos do reagente. Os fluxos de trabalho automatizados obtêm os mesmos resultados de alta qualidade produzidos por protocolos manuais, reduzindo o tempo de trabalho em 40% e liberando aproximadamente oito horas para outras atividades laboratoriais. Em geral, a automação permite que os laboratórios economizem com custos de mão de obra e melhorem a eficiência.²⁶

Sequenciamento eficaz

As bibliotecas TruSight Oncology 500 ctDNA v2 são sequenciadas no NovaSeq 6000 Sequencing System, no NovaSeq 6000Dx Instrument (modo RUO)* ou no NovaSeq X Series. O NovaSeq X Series oferece um fluxo de trabalho mais rápido, reduzindo o tempo de sequenciamento em cerca de 40% em comparação com o NovaSeq 6000 System (Tabela 5). Independentemente da plataforma usada, o sequenciamento ocorre em alta profundidade (400 milhões de leituras por amostra a aproximadamente 35.000x) para aumentar a sensibilidade. O resultado é a capacidade de detecção de mutações na frequência alélica da variante (VAF) de 0,2% para SNVs, com 90% de sensibilidade analítica ou mais e 95% de especificidade analítica ou mais (Tabela 6). Além disso, o NovaSeq X Series oferece uma economia transformadora ao reduzir o custo de sequenciamento por amostra.²⁷

* Sequenciamento no NovaSeq 6000Dx Instrument disponível na segunda metade de 2024.

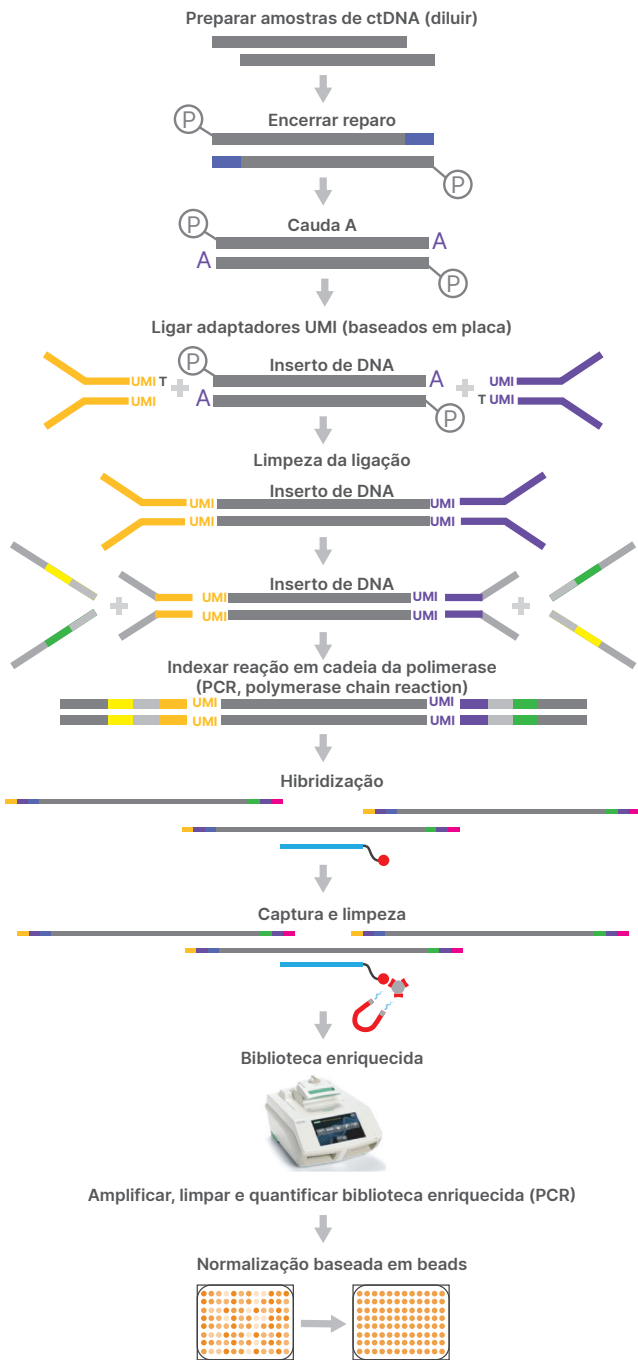


Figura 4: preparação de bibliotecas de captura híbrida com base no UMI; o enriquecimento direcionado usa sondas suficientemente grandes para transmitir alta especificidade de ligação, mas que ainda permitem a hibridização para alvos que contêm mutações. Os reagentes do UMI reduzem as taxas de erro, aumentando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

Tabela 5: Tempos estimados para o sequenciamento

Sistema	NovaSeq 6000 System ^a		NovaSeq X Series	
Lâmina de fluxo	S2	S4	1.5B	10 bilhões
N.º de amostras	Tempo da corrida do sequenciamento (n.º de lâminas de fluxo)			
4	–	–	22 h (1)	–
8	36 h (1)	–	22 h (2)	–
24	–	44 h (1)	–	25 h (1)
48	–	44 h (2)	–	25 h (2)

a. Os tempos de sequenciamento se aplicam ao NovaSeq 6000Dx Instrument no modo RUO.

Tabela 6: Detecção precisa de biomarcadores de baixo nível.^a

Tipo de variante	Sensibilidade analítica ^b	Especificidade analítica ^c
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 (alteração de dobra ≥1,3)	≥95%	≥95%
Deleções de genes (alteração de dobra ≤0,6)	≥95%	≥95%
Rearranjos de genes (≥0,5%)	≥95%	≥95%
Alta detecção de MSI (≥ a 0,3% de fração tumoral)	≥95%	≥95%

a. Desempenho verificado no NovaSeq 6000 System e no NovaSeq X Series.

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

c. 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 opções para transferência automatizada de dados e inicialização de análise, bem como uma plataforma genômica segura e baseada na nuvem para dimensionar a análise secundária sem a necessidade de adquirir e manter a infraestrutura local.²⁸ Hardware e software DRAGEN aprimorados que reduzem o tempo de análise de dados em cerca de 85% (Tabela 7).

Tabela 7: Tempo reduzido da 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	Aprox. 20 h (aprox. 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,[†] Velsora Clinical Genomics Workspace e aplicações de terceiros podem ser usadas.

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. Os resultados de desempenho foram verificados no NovaSeq 6000 System e no NovaSeq X Series.

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 em níveis de VAF de 0,2% ou 0,5%, respectivamente (Figura 5 e Figura 6).

[†] 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.

CNVs

Alterações no número de cópias em genes e tipos de tumor podem ser associadas à tumorigênese.²⁸ O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 inclui a análise de 59 genes associados à CNV e pode identificar amplificações com um limite de detecção em alteração de dobra $\geq 1,3$ para amplificações e $\leq 0,6$ para deleções (Tabela 8).

Tabela 8: Desempenho analítico do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para CNVs.

Gene	Alteração de dobra esperada	Alteração de dobra 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 alterações de dobra 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 alteração de dobra 1,3 para amplificações de genes e \leq alteração de dobra 0,6 para deleções. Observe a forte correlação entre as alterações de dobra esperadas e observadas. Os dados mostrados estão relacionados ao sequenciamento no NovaSeq 6000 System; desempenho semelhante foi observado no NovaSeq X Series.

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 gene parceiro, mesmo quando presentes em baixas concentrações (Tabela 9).

Tabela 9: 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 com uso do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 investiga mais de 2.300 locais de homopolímeros com tamanho de 6 a 7 bp, o que ajuda a reduzir as taxas de erro e a diminuir possíveis falsos positivos comumente encontrados no sequenciamento de homopolímeros. Os dados mostrados estão relacionados ao sequenciamento no NovaSeq 6000 System; desempenho semelhante foi observado no NovaSeq X Series. VAF, frequência alélica da variante.

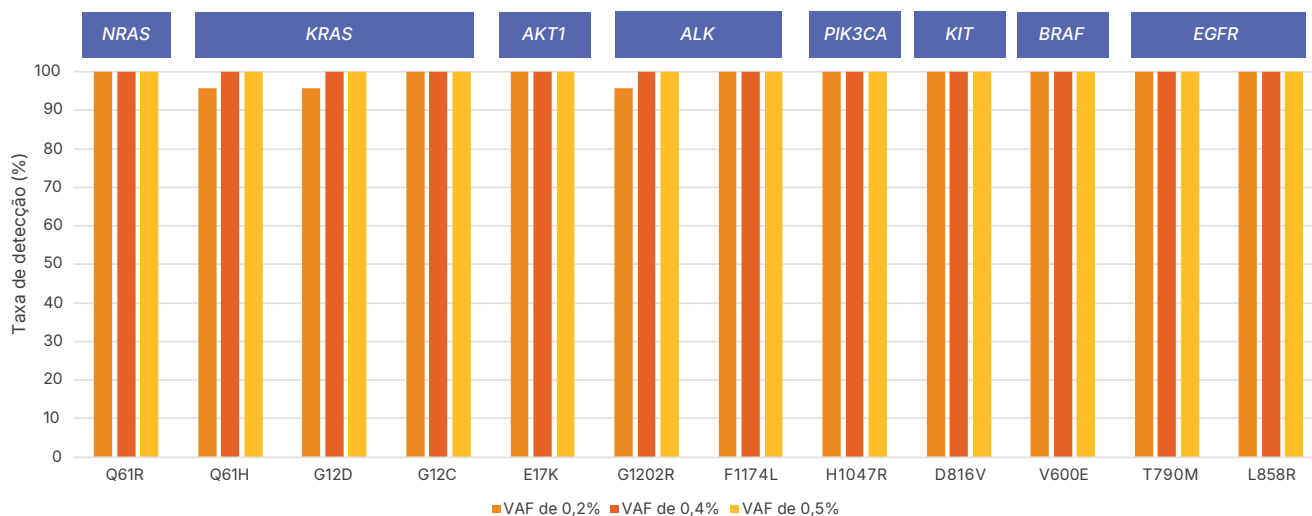


Figura 5: alto desempenho analítico para indels no LOD (VAF de 0,2%); as amostras de controle sintético com VAF conhecida para cada variante de nucleotídeo foram diluídas em valores cuja VAF variou de 0,20% a 0,50% e analisadas pelo TruSight Oncology 500 ctDNA v2. As SNVs presentes em níveis inferiores a 0,2% eram detectáveis. Os dados mostrados estão relacionados ao sequenciamento no NovaSeq 6000 System; desempenho semelhante foi observado no NovaSeq X Series.

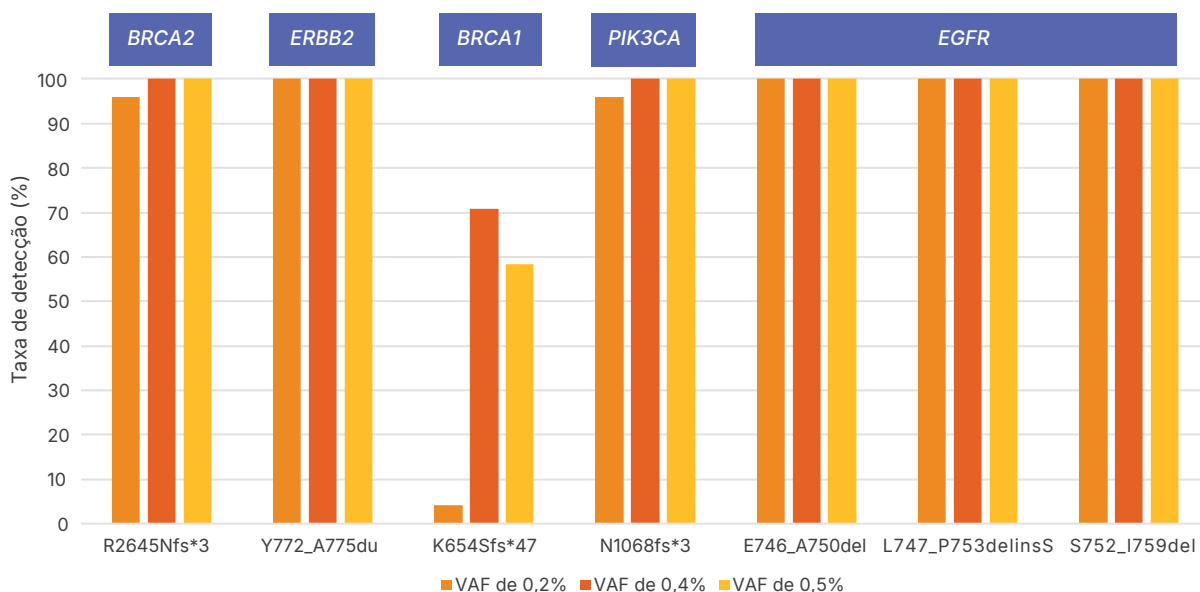


Figura 6: alto desempenho analítico para indels no LOD (VAF de 0,5%); as amostras de controle sintético com VAF conhecida para cada inserção ou deleção foram diluídas em valores que variaram de VAF de 0,20% a 0,50% e analisadas pelo TruSight Oncology 500 ctDNA v2. A detecção de BRCA1 foi inferior, pois a variante estava situada em uma região repleta de homopolímeros, resultando em um alto nível de ruído de fundo. Os dados mostrados estão relacionados ao sequenciamento no NovaSeq 6000 System; desempenho semelhante foi observado no NovaSeq X Series.

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 com uso do TruSight Oncology 500 ctDNA v2 investiga mais de 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).

A obtenção de um valor preciso e reproduzível de bTMB em baixos níveis de mutação pode ser um desafio em 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 de tumor-normal altamente concordantes ($R^2 = 0,992$) (Figura 8).²⁹

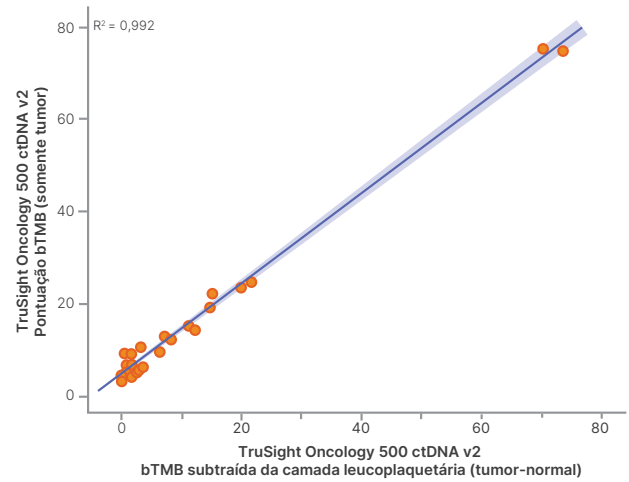


Figura 8: alta correlação de dados de bTMB entre fluxos de trabalho de análise de apenas tumor e tumor-normal: pontuações de bTMB de apenas tumor produzidas com o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 com bioinformática avançada e um painel grande o suficiente para detectar TMB (maior que 1 Mb) mostram alta concordância em pontuações de bTMB produzidas com base em um fluxo de trabalho de tumor-normal emparelhado através de plasma e cfDNA da camada leucoplaquetária. Os dados mostrados estão relacionados ao sequenciamento no NovaSeq 6000 System; desempenho semelhante foi observado no NovaSeq X Series.

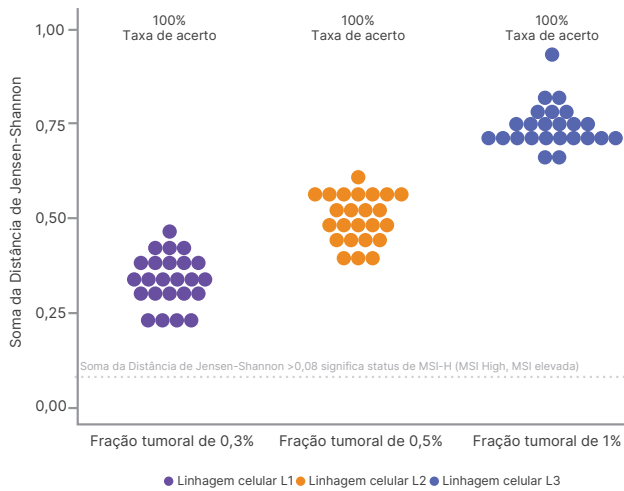


Figura 7: desempenho de MSI sensível para pesquisa de IO: frações tumorais produzidas pela titulação de linhagens celulares preparadas nucleossômicas, com pontuações de MSI-H previamente conhecidas tituladas em uma base celular do tipo selvagem. A alta sensibilidade analítica da MSI é obtida com o DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Software patenteado. Mais de 2.300 locais de homopolímeros foram avaliados. Os dados mostrados estão relacionados ao sequenciamento no NovaSeq 6000 System. Foi observado desempenho semelhante no NovaSeq X Series.

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
- Remessas de lote único: disponíveis para kits manuais na segunda metade de 2024 para kits de automação, as remessas de lote único reduzem a carga de qualificação de lote e testes de CQ recebidos

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 os biomarcadores emergentes (bTMB, bMSI, *NTRK* e *ROS1*), sem exigir várias amostras para testes iterativos.

[‡] CoA disponível em 2024.

As melhorias químicas e a compatibilidade expandida do sistema de sequenciamento diminuiram o tempo de resposta geral para o intervalo de 3 a 4 dias, reduziram a exigência de entrada para 20 ng de cfDNA e reduziram o limite de detecção para VAF de 0,2% (em relação a 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 que proporciona mais eficiência. Com extenso conteúdo genômico, tecnologia de sequenciamento líder de mercado e software aprimorado, o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 fornece uma solução integrada que viabiliza projetos de pesquisa clínica com base no CGP com mínima complexidade operacional e analítica.

Saiba mais

[TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#)

[NovaSeq X Series](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[NovaSeq 6000Dx Instrument](#)

[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 para uso com NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105901
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para uso com NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105902
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) com Velsera Interpretation Report	20105905
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 com Velsera Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105907
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 com Velsera Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105908
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) com Connected Insights Interpretation Report	20105911
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 com Connected Insights Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105913
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 com Connected Insights Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105914

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, para uso com NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105903
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, para uso com NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105904
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) com Velsera Interpretation Report	20105906
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit com Velsera Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105909
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit com Velsera Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105910
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) com Connected Insights Interpretation Report	20105912
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit com Connected Insights Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105915
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit com Connected Insights Interpretation Report, para uso com NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105916

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
NovaSeq™ X Series 1.5B Reagent Kit (300 cycles)	20104705
NovaSeq X Series 10B Reagent Kit (300 cycles)	20085594

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. Bettgowda 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
11. 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
12. 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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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
19. 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
20. 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.
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. 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. 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. Dados em arquivo. Illumina, Inc. 2024.
28. Beroukhi R, Mermel CH, Porter D, et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature*. 2010;463(7.283):899-905. doi:10.1038/nature08822
29. 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. 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 v4.0