

TruSight™ Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput

Creación de perfiles
genómicos completos
flexibles y ampliables a
partir de muestras FFPE

- Analice múltiples tipos de variantes y biomarcadores clave en más de 500 genes, tanto en ADN como en ARN, en un único ensayo
- Pase de la muestra a los resultados en 4-5 días con el uso de flujos de trabajo manuales o automatizados que integran la preparación de librerías, la secuenciación y el análisis de datos con DRAGEN™ Bio-IT Platform
- Genere datos precisos y resultados fiables que cumplan con las exigentes especificaciones de rendimiento
- Conserve las muestras en el centro y obtenga datos que sean relevantes para la institución local y la comunidad

illumina®

Introducción

Los estudios realizados con grandes cohortes muestran que la creación de perfiles genómicos completos tiene el potencial de identificar alteraciones genéticas relevantes en hasta el 90 % de las muestras.¹⁻⁶ Un ensayo único y completo para evaluar una amplia gama de biomarcadores permite usar menos muestras y devuelve resultados más rápidamente, en comparación con varias pruebas iterativas. Para ayudar a los investigadores que trabajan con un suministro de tejido y tiempo limitados, Illumina ofrece TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput (Tabla 1).

Análisis de varios tipos de tumores y biomarcadores mediante un único flujo de trabajo

TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput son ensayos de secuenciación de nueva generación (NGS, Next-Generation Sequencing) que analizan simultáneamente tanto el ADN como el ARN (Figura 1) en un flujo de trabajo integrado (Figura 2). El contenido del panel incluye varios tipos de variantes y biomarcadores clave (Figura 3) que abarcan 523 genes ligados al cáncer en el ADN y 55 genes en el ARN (Tabla 2, Tabla 3 y Tabla 4), lo que elimina la necesidad de invertir tiempo y valiosas muestras, como bloques de tejido fijado en formol y embebido en parafina (FFPE, Formalin Fixed, Paraffin Embedded), en pruebas iterativas.

Tabla 1: TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput

Parámetro	TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput
Sistema	NextSeq 550 System o NextSeq 550Dx System (modo de investigación)	NovaSeq 6000 System
Productividad de muestras	8 muestras por experimento	16-192 muestras por experimento
Tamaño del panel	ADN de 1,94 Mb y ARN de 358 kb	ADN de 1,94 Mb y ARN de 358 kb
Cantidad necesaria de aporte de muestra DNA	40 ng	40 ng
Cantidad necesaria de aporte de muestra RNA	40 ng	40-80 ng
Cantidad necesaria de aporte de muestra FFPE	Recomendación de al menos 2 mm ³ de muestras de tejido FFPE	Recomendación de al menos 2 mm ³ de muestras de tejido FFPE
Duración total del ensayo	4-5 días desde el ácido nucleico hasta el informe de variantes	4-5 días desde el ácido nucleico hasta el informe de variantes
Duración del experimento de secuenciación	24 h	19 h (SP y S1), 25 h (S2) o 36 h (S4)
Experimento de secuenciación	2 × 101 ciclos	2 × 101 ciclos
Versión del software	DRAGEN TruSight Oncology v2.1	DRAGEN TruSight Oncology v2.1
Límite de detección	VAF del 5 % para las variantes pequeñas 5 copias por ng de aporte de ARN para fusiones Múltiplo de cambio de 2,2 para CNV	VAF del 5 % para las variantes pequeñas 5 copias por ng de aporte de ARN para fusiones (aporte de 80 ng) Múltiplo de cambio de 2,2 para CNV
Sensibilidad del análisis	>96 % (para todos los tipos de variante con una VAF del 5 %)	>96 % (para todos los tipos de variante con una VAF del 5 %)
Especificidad del análisis	>99,9995 %	>99,9995 %

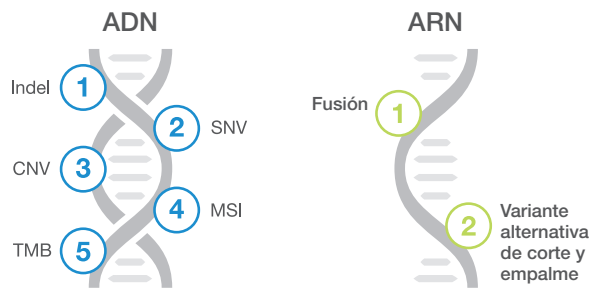


Figura 1: tipos de variantes detectados en TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput

Diseño de contenido exhaustivo

Illumina se ha asociado con autoridades reconocidas en la comunidad oncológica para diseñar el contenido de TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput. Los paneles obtenidos como resultado de esta alianza ofrecen una cobertura exhaustiva de los biomarcadores que normalmente mutan en numerosos tipos de cáncer (Figura 3), lo que incluye 523 genes para las variantes de nucleótido único (SNV, Single Nucleotide Variant), inserciones/delecciones (indel), variantes en el número de copias (CNV, Copy Number Variations); y 55 genes de fusiones nuevas y conocidas y variantes alternativas de corte y empalme (Tabla 2, Tabla 3).

El contenido se compone de genes enumerados en las guías actuales con una cobertura importante de las guías fundamentales relativas a varios tipos de tumores (Figura 4) y genes estudiados en más de

1000 ensayos clínicos. Asimismo, los paneles de TruSight Oncology 500 incluyen el biomarcador de inestabilidad de microsatélites (MSI, MicroSatellite Instability), con correlaciones conocidas con las respuestas,⁷⁻⁹ y el biomarcador de carga mutacional del tumor (TMB, Tumor Mutational Burden) (Tabla 4).¹⁰

Flujo de trabajo integrado

Con la disponibilidad de un flujo de trabajo optimizado y exhaustivo que abarca desde la entrada de muestras hasta el informe final, se simplifica la implementación de la creación interna de perfiles genómicos completos (CGP, Comprehensive Genomic Profiling) (Figura 2). El uso de kits y métodos automáticos de preparación de librerías, herramientas de llamada de variantes y software de interpretación y generación de informes posibilita un flujo de trabajo fluido que se puede completar en tan solo cuatro días.

Inicio con ADN o ARN

En los ensayos de TruSight Oncology 500 se puede utilizar ADN o ARN extraído de la misma muestra como material de aporte. Si se utiliza ADN, la preparación de muestras empieza por recortar el ADN genómico (ADNg). Si se empieza con ARN, el primer paso será la transcripción inversa de la muestra para obtener el ADN complementario (ADNc). Las librerías listas para la secuenciación se preparan a partir de ADNg y ADNc simultáneamente.



Figura 2: flujo de trabajo de TruSight Oncology 500. TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput se integran en los flujos de trabajo de laboratorio actuales, desde los ácidos nucleicos hasta las llamadas de variantes en cuatro días.

- a. Los kits de TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput están disponibles en versiones compatibles con la automatización.
- b. Local Run Manager está disponible en NextSeq 550 System solo para su uso con TruSight Oncology 500.
- c. TruSight Oncology 500 Local App está disponible en NextSeq 550 System y NovaSeq 6000 System.

Tabla 2: contenido de ADN incluido en TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput

ABL1	BCR	CHEK1	EPHA7	FGF23	GSK3B	IDH2	MAP3K1	NF2	PIK3CA	RAD51D	SMAD4	TGFBR2
ABL2	BIRC3	CHEK2	EPHB1	FGF3	H3F3A	IFNGR1	MAP3K13	NFE2L2	PIK3CB	RAD52	SMARCA4	TMEM127
ACVR1	BLM	CIC	ERBB2	FGF4	H3F3B	INHBA	MAP3K14	NFKBIA	PIK3CD	RAD54L	SMARCB1	TMPRSS2
ACVR1B	BMPR1A	CREBBP	ERBB3	FGF5	H3F3C	INPP4A	MAP3K4	NKX2-1	PIK3CG	RAF1	SMARCD1	TNFAIP3
AKT1	BRAF	CRKL	ERBB4	FGF6	HGF	INPP4B	MAPK1	NKX3-1	PIK3R1	RANBP2	SMC1A	TNFRSF14
AKT2	BRCA1 ^a	CRLF2	ERCC1	FGF7	HIST1H1C	INSR	MAPK3	NOTCH1	PIK3R2	RARA	SMC3	TOP1
AKT3	BRCA2 ^a	CSF1R	ERCC2	FGFR1	HIST1H2BD	IRF2	MAX	NOTCH2	PIK3R3	RASA1	SMO	TOP2A
ALK	BRD4	CSF3R	ERCC3	FGFR2	HIST1H3A	IRF4	MCL1	NOTCH3	PIM1	RB1	SNCAIP	TP53
ALOX12B	BRIP1	CSNK1A1	ERCC4	FGFR3	HIST1H3B	IRS1	MDC1	NOTCH4	PLCG2	RBM10	SOCS1	TP63
ANKRD11	BTG1	CTCF	ERCC5	FGFR4	HIST1H3C	IRS2	MDM2	NPM1	PLK2	RECQL4	SOX10	TRAF2
ANKRD26	BTK	CTLA4	ERG	FH	HIST1H3D	JAK1	MDM4	NRAS	PMAIP1	REL	SOX17	TRAF7
APC	C11orf30	CTNNA1	ERRF1	FLCN	HIST1H3E	JAK2	MED12	NRG1	PMS1	RET	SOX2	TSC1
AR	CALR	CTNNB1	ESR1	FLI1	HIST1H3F	JAK3	MEF2B	NSD1	PMS2	RWD2	SOX9	TSC2
ARAF	CARD11	CUL3	ETS1	FLT1	HIST1H3G	JUN	MEN1	NTRK1	PNRC1	RHEB	SPEN	TSHR
ARFRP1	CASP8	CUX1	ETV1	FLT3	HIST1H3H	KAT6A	MET	NTRK2	POLD1	RHOA	SPOP	U2AF1
ARID1A	CBFB	CXCR4	ETV4	FLT4	HIST1H3I	KDM5A	MGA	NTRK3	POLE	RICTOR	SPTA1	VEGFA
ARID1B	CBL	CYLD	ETV5	FOXA1	HIST1H3J	KDM5C	MITF	NUP93	PPARG	RIT1	SRC	VHL
ARID2	CCND1	DAXX	ETV6	FOXL2	HIST2H3A	KDM6A	MLH1	NUTM1	PPM1D	RNF43	SRSF2	VTCN1
ARID5B	CCND2	DCUN1D1	EWSR1	FOXO1	HIST2H3C	KDR	MLL	PAK1	PPP2R1A	ROS1	STAG1	WISP3
ASXL1	CCND3	DDR2	EZH2	FOXP1	HIST2H3D	KEAP1	MLL2	PAK3	PPP2R2A	RPS6KA4	STAG2	WT1
ASXL2	CCNE1	DDX41	FAM123B	FRS2	HIST3H3	KEL	MPL	PAK7	PPP6C	RPS6KB1	STAT3	XIAP
ATM	CD274	DHX15	FAM175A	FUBP1	HLA-A	KIF5B	MRE11A	PALB2	PRDM1	RPS6KB2	STAT4	XPO1
ATR	CD276	DICER1	FAM46C	FYN	HLA-B	KIT	MSH2	PARK2	PREX2	RPTOR	STAT5A	XRCC2
ATRX	CD74	DIS3	FANCA	GABRA6	HLA-C	KLF4	MSH3	PARP1	PRKAR1A	RUNX1	STAT5B	YAP1
AURKA	CD79A	DNAJB1	FANCC	GATA1	HNF1A	KLHL6	MSH6	PAX3	PRKCI	RUNX1T1	STK11	YES1
AURKB	CD79B	DNMT1	FANCD2	GATA2	HNRNPK	KMT2B	MST1	PAX5	PRKDC	RYBP	STK40	ZBTB2
AXIN1	CDC73	DNMT3A	FANCE	GATA3	HOXB13	KMT2C	MST1R	PAX7	PRSS8	SDHA	SUFU	ZBTB7A
AXIN2	CDH1	DNMT3B	FANCF	GATA4	IGF1	KMT2D	MTOR	PAX8	PTCH1	SDHAF2	SUZ12	ZFXH3
AXL	CDK12	DOT1L	FANCG	GATA6	IGF1R	KRAS	MUTYH	PBRM1	PTEN	SDHB	SYK	ZNF217
B2M	CDK4	E2F3	FANCI	GEN1	IGF2	LAMP1	MYB	PDCD1	PTPN11	SDHC	TAF1	ZNF703
BAP1	CDK6	EED	FANCL	GID4	IKBKE	LATS1	MYC	PDCD1LG2	PTPRD	SDHD	TBX3	ZRSR2
BARD1	CDK8	EGFL7	FAS	GLI1	IKZF1	LATS2	MYCL1	PDGFRA	PTPRS	SETBP1	TCEB1	
BBC3	CDKN1A	EGFR	FAT1	GNA11	IL10	LMO1	MYCN	PDGFRB	PTPRT	SETD2	TCF3	
BCL10	CDKN1B	EIF1AX	FBXW7	GNA13	IL7R	LRP1B	MYD88	PDK1	QKI	SF3B1	TCF7L2	
BCL2	CDKN2A	EIF4A2	FGF1	GNAQ	INHA	LYN	MYOD1	PDPK1	RAB35	SH2B3	TERC	
BCL2L1	CDKN2B	EIF4E	FGF8	GNAS	HRAS	LZTR1	NAB2	PGR	RAC1	SH2D1A	TERT	
BCL2L11	CDKN2C	EML4	FGF9	GPR124	HSD3B1	MAGI2	NBN	PHF6	RAD21	SHQ1	TET1	
BCL2L2	CEBPA	EP300	FGF10	GPS2	HSP90AA1	MALT1	NCOA3	PHOX2B	RAD50	SLIT2	TET2	
BCL6	CENPA	EPCAM	FGF14	GREM1	ICOSLG	MAP2K1	NCOR1	PIK3C2B	RAD51	SLX4	TFE3	
BCOR	CHD2	EPHA3	FGF19	GRIN2A	ID3	MAP2K2	NEGR1	PIK3C2G	RAD51B	SMAD2	TFRC	
BCORL1	CHD4	EPHA5	FGF2	GRM3	IDH1	MAP2K4	NF1	PIK3C3	RAD51C	SMAD3	TGFBR1	

a. Detección de grandes reordenamientos (CNV a nivel de exón) de BRCA1 y BRCA2. El contenido sombreado en gris se analiza para la detección de CNV

Tabla 3: contenido de ARN en los paneles de TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput

<i>ABL1</i>	<i>EGFR</i>	<i>FGFR2</i>	<i>MLL</i>	<i>PAX3</i>
<i>AKT3</i>	<i>EML4</i>	<i>FGFR3</i>	<i>MLLT3</i>	<i>PAX7</i>
<i>ALK</i>	<i>ERBB2</i>	<i>FGFR4</i>	<i>MSH2</i>	<i>PDGFRA</i>
<i>AR</i>	<i>ERG</i>	<i>FLI1</i>	<i>MYC</i>	<i>PDGFRB</i>
<i>AXL</i>	<i>ESR1</i>	<i>FLT1</i>	<i>NOTCH1</i>	<i>PIK3CA</i>
<i>BCL2</i>	<i>ETS1</i>	<i>FLT3</i>	<i>NOTCH2</i>	<i>PPARG</i>
<i>BRAF</i>	<i>ETV1</i>	<i>JAK2</i>	<i>NOTCH3</i>	<i>RAF1</i>
<i>BRCA1</i>	<i>ETV4</i>	<i>KDR</i>	<i>NRG1</i>	<i>RET</i>
<i>BRCA2</i>	<i>ETV5</i>	<i>KIF5B</i>	<i>NTRK1</i>	<i>ROS1</i>
<i>CDK4</i>	<i>EWSR1</i>	<i>KIT</i>	<i>NTRK2</i>	<i>RPS6KB1</i>
<i>CSF1R</i>	<i>FGFR1</i>	<i>MET</i>	<i>NTRK3</i>	<i>TMPRSS2</i>

Todos los genes enumerados se evalúan con relación a las fusiones conocidas y nuevas; el contenido sombreado en gris se analiza con relación a las variantes alternativas de corte y empalme

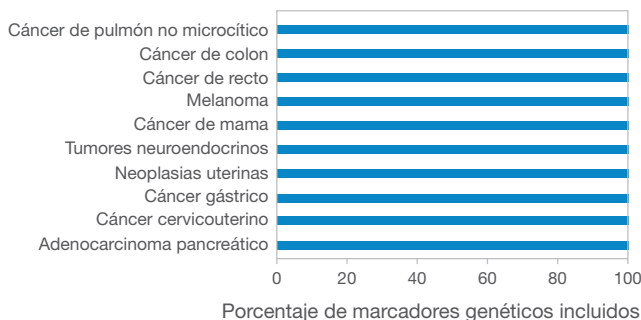


Figura 4: adecuación del contenido de TruSight Oncology 500 con respecto a las guías fundamentales por tipo de c ncer. El gr fico ofrece ejemplos de adecuación del contenido; no pretende ser exhaustivo.

NTRK1, NTRK2, NTRK3 (pan-cancer) | MSI (pan-cancer) | TMB (pan-cancer)









 Pulmón	 Melanoma	 Colorrectal	 Ov�rico	 Mama	 G�strico	 Pr�stata	 SNC
<i>AKT1</i> <i>ALK</i> <i>ATM</i> <i>BRAF</i> <i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i> <i>EGFR</i> <i>ERBB2</i> <i>FGFR1</i> <i>FGFR3</i> <i>KRAS</i> <i>MAP2K1</i> <i>MET</i> <i>NRAS</i> <i>NRG1</i> <i>NUTM1</i> <i>PIK3CA</i> <i>PTEN</i> <i>RET</i> <i>ROS1</i> <i>TP53</i>	<i>ALK</i> <i>BRAF</i> <i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i> <i>EGFR</i> <i>ERBB2</i> <i>FGFR1</i> <i>FGFR4</i> <i>HRAS</i> <i>KIT</i> <i>KRAS</i> <i>MAP2K1</i> <i>NRAS</i> <i>NRG1</i> <i>PTEN</i> <i>ROS1</i> <i>TP53</i>	<i>ALK</i> <i>BRAF</i> <i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i> <i>EGFR</i> <i>ERBB2</i> <i>FGFR1</i> <i>KRAS</i> <i>MET</i> <i>MLH1</i> <i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>NRAS</i> <i>NRG1</i> <i>PIK3CA</i> <i>PMS2</i> <i>POLE</i> <i>PTEN</i> <i>RET</i> <i>ROS1</i>	<i>ALK</i> <i>BRAF</i> <i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i> <i>EGFR</i> <i>ERBB2</i> <i>FOXL2</i> <i>KRAS</i> <i>MET</i> <i>NRG1</i> <i>PDGFRA</i> <i>ROS1</i> <i>TP53</i> <i>HRD</i>	<i>AKT1</i> <i>ALK</i> <i>BRAF</i> <i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i> <i>ERBB2</i> <i>ESR1</i> <i>FGFR1</i> <i>FGFR2</i> <i>NRG1</i> <i>PALB2</i> <i>PIK3CA</i> <i>PTEN</i> <i>ROS1</i> <i>TP53</i> <i>HRD</i>	<i>BRAF</i> <i>EGFR</i> <i>ERBB2</i> <i>FGFR2</i> <i>KIT</i> <i>KRAS</i> <i>MET</i> <i>NRG1</i> <i>PIK3CA</i> <i>PDGFRA</i> <i>TP53</i>	<i>AR</i> <i>ATM</i> <i>BARD1</i> <i>BRAF</i> <i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i> <i>BRIP1</i> <i>CDK12</i> <i>CHEK1</i> <i>CHEK2</i> <i>FANCL</i> <i>FGFR2</i> <i>FGFR3</i> <i>NBN</i> <i>NRG1</i> <i>PALB2</i> <i>PPP2R2A</i> <i>PTEN</i> <i>RAD51B</i> <i>RAD51C</i> <i>RAD51D</i> <i>RAD54L</i> <i>RB1</i> <i>ROS1</i> <i>TP53</i>	<i>ATRX</i> <i>BRAF</i> <i>BRIP1</i> <i>EGFR</i> <i>H3F3A</i> <i>HIST1H3B</i> <i>IDH1</i> <i>IDH2</i> <i>MYCN</i> <i>PTCH1</i> <i>RELA</i> <i>TERT</i> <i>TP53</i>

Figura 3: subconjunto de biomarcadores de creación de perfiles genómicos tumorales para varios tipos de cáncer. TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput incluyen biomarcadores de las guías fundamentales, biomarcadores emergentes y biomarcadores de todos los cánceres, como MSI, NTRK1-3 y TMB. Análisis de contenido proporcionado por Pierian, basado en la Knowledge Base v6.10 (1 de febrero de 2022).

Tabla 4: análisis simultáneo de varios biomarcadores de cáncer pulmonar con el uso de ADN y ARN en la misma muestra

Biomarcador	Contenido de ADN	Contenido de ARN
MSI	✓	
TMB	✓	
Genes biomarcadores	Variantes pequeñas	Fusiones
<i>AKT1</i>	✓	
<i>ALK</i>	✓	✓
<i>BRAF</i>	✓	✓
<i>DDR2</i>	✓	
<i>EGFR</i>	✓	✓
<i>ERBB2</i>	✓	✓
<i>FGFR1</i>	✓	✓
<i>FGFR3</i>	✓	✓
<i>KRAS</i>	✓	
<i>MAP2K1</i>	✓	
<i>MET</i>	✓	✓
<i>NRAS</i>	✓	
<i>NTRK1</i>	✓	✓
<i>NTRK2</i>	✓	✓
<i>NTRK3</i>	✓	✓
<i>PIK3CA</i>	✓	✓
<i>PTEN</i>	✓	
<i>RET</i>	✓	✓
<i>TP53</i>	✓	

Automatización para conseguir eficiencia

TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput ofrecen opciones manuales y automatizadas para respaldar una preparación de librerías flexible. Illumina se ha aliado con Hamilton y Beckman Coulter Life Sciences, principales fabricantes de sistemas de manipulación de líquidos, para producir flujos de trabajo totalmente automatizados para los ensayos de TruSight Oncology 500, que admiten diversos niveles de necesidad de productividad. Con estos flujos de trabajo automatizados se consiguen resultados de una calidad tan alta como los obtenidos con los protocolos manuales, a la vez que se reduce el tiempo de participación activa en cerca del 50 %, con el consiguiente ahorro en el coste laboral de laboratorio y el aumento de la eficiencia.

Adición de etiquetas para la especificidad analítica

Durante la preparación de librerías, se añaden identificadores moleculares únicos (UMI, Unique Molecular Identifiers)¹¹ a los fragmentos de ADN_g o ADN_c. Estos UMI permiten la detección de variantes con una baja frecuencia alélica de variantes (VAF, Variant Allele Frequency) a la vez que suprimen errores, lo que proporciona una alta especificidad analítica.

Enriquecimiento de librerías para centrar los esfuerzos

La preparación de librerías se basa en un reconocido proceso químico de captura híbrida para purificar objetivos seleccionados de las librerías de ADN y de ARN. Las sondas con biotina se hibridan con regiones de interés, que se extraen usando bolas magnéticas recubiertas con estreptavidina y, a continuación, se eluyen para enriquecer la agrupación de librerías. El enriquecimiento basado en hibridación es una estrategia útil para analizar variantes genéticas específicas en una muestra determinada y permite realizar una secuenciación fiable de exomas o de un gran número de genes (p. ej., >50 genes). Esto proporciona resultados fiables para un amplio abanico de tipos y cantidades de entradas. El proceso químico de captura híbrida ofrece varias ventajas respecto a la secuenciación de amplicones, entre las que se incluyen la obtención de datos con menos artefactos y una menor pérdida de muestra. Además, el proceso químico de captura híbrida es independiente de la fusión, lo que permite detectar y caracterizar fusiones conocidas y nuevas. A diferencia de las técnicas basadas en amplicones, que requieren pruebas de confirmación porque pueden darse falsos positivos, el método de captura híbrida es muy sensible y puede caracterizar con precisión fusiones génicas tanto conocidas como nuevas.

Secuenciación de 8–192 muestras

TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput siguen el mismo flujo de trabajo de preparación de muestras y librerías. La diferencia principal entre los ensayos es la escala. TruSight Oncology 500 se ejecuta en NextSeq™ 550 System o NextSeq 550Dx* System, en los que se pueden agrupar hasta ocho muestras a la vez. TruSight Oncology 500 High-Throughput proporciona flexibilidad para una mayor productividad de muestras. Cuando se ejecuta en NovaSeq™ 6000 System, los clientes pueden agrupar de 16 a 192 muestras.

* Instrumento NextSeq 550Dx en el modo de investigación

Esta flexibilidad es posible gracias a la disponibilidad de 192 índices únicos para TruSight Oncology 500 High-Throughput y a las celdas de flujo de NovaSeq, que admiten diferentes niveles de productividad (Tabla 5). Todos y cada uno de los índices de muestra presentan un rendimiento coherente para generar criterios de medición de la secuenciación que superan las expectativas de control de calidad.

Tabla 5: solución flexible

Ensayo	TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput			
Instrumento	NextSeq 550 o NextSeq 550Dx ^a System	NovaSeq 6000 System			
Celda de flujo	Alto rendimiento	SP	S1	S2	S4
N.º de muestras	8	16	32	72	192

a. Instrumento NextSeq 550Dx en el modo de investigación

Análisis de datos

La llamada de variantes de TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput está disponible con la plataforma DRAGEN, ya sea en las instalaciones con DRAGEN Server local o en la nube con Illumina Connected Analytics (ICA). Ambas versiones aprovechan algoritmos sofisticados y exclusivos que eliminan los errores, los artefactos y las variantes germinales. El resultado es un rendimiento de llamada de variantes muy preciso con una especificidad analítica de >99,9995 %. Este nivel de especificidad resulta particularmente beneficioso cuando es fundamental conocer el número exacto de mutaciones por Mb, como en la evaluación de la TMB con un flujo de trabajo solo para tumores. Los datos de variantes del ADN analizados con TruSight Oncology 500 Local App y el proceso de TruSight Oncology 500 DRAGEN muestran resultados concordantes (Figura 5C, Figura 6C); sin embargo, el análisis con el proceso de DRAGEN se completa de 2 a 4 veces más rápido que con Local App (Tabla 6), lo que reduce el tiempo hasta la obtención de los resultados finales.



Para obtener más información sobre ICA, lea la ficha técnica sobre [seguridad, privacidad y cumplimiento en la nota técnica de Illumina Connected Analytics](#).

Para la interpretación y la generación de informes, los archivos de informes de variantes se pueden cargar en la nube de Clinical Genomics Workspace de Pierian.

Clinical Genomics Workspace de Pierian, respaldado por una exhaustiva base de conocimientos genómicos que se actualiza continuamente y que contiene datos cuidadosamente seleccionados por expertos,¹² realiza la anotación y el filtrado de las variantes para una interpretación y generación de informes fluidas. A partir de miles de variantes del genoma, Clinical Genomics Workspace de Pierian filtra y da prioridad a las variantes biológicamente pertinentes para el informe genómico final, que es automatizado y personalizable.

Tabla 6: análisis más rápido con DRAGEN TruSight Oncology 500 Analysis Software

N.º de muestras de biopsias de tejido	Tiempo promedio hasta completar el análisis ^a	
	Local App ^b	Proceso de DRAGEN ^c
8	5,5 h	2 h
16	12 h	3 h
32	18 h	5 h
72	24 h	10 h

- a. Los tiempos de análisis se basan en experimentos reales y variarán entre experimentos
- b. Especificaciones del servidor local: Amazon EC2, c5.9xlarge instance (36 vCPU, memoria de 72 GiB); el tiempo de análisis variará según las especificaciones del servidor
- c. DRAGEN App se ejecuta en DRAGEN Server v3

Resultados demostrados y fiables

Aunque TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput se diseñaron para ejecutarse en plataformas de secuenciación independientes con diferentes opciones de productividad, los ensayos tienen el mismo contenido genómico y expectativas de rendimiento para la llamada de variantes. Ambos ensayos demuestran una alta concordancia cuando detectan MSI, TMB, CNV, variantes pequeñas y fusiones.

Evaluación precisa de TMB y MSI

TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput son ideales para analizar MSI y TMB, que dependen del análisis de varios locus genómicos. El estado de la MSI se ha analizado tradicionalmente mediante PCR (MSI-PCR) e inmunohistoquímica. Mientras que otros métodos ofrecen un resultado cualitativo que describe las muestras como MSI estable o MSI elevada, la evaluación basada en NGS con los ensayos de TruSight Oncology 500 analiza 130 sitios de marcadores de MSI de homopolímeros para calcular una puntuación cuantitativa precisa del estado de MSI (Figura 5).¹³

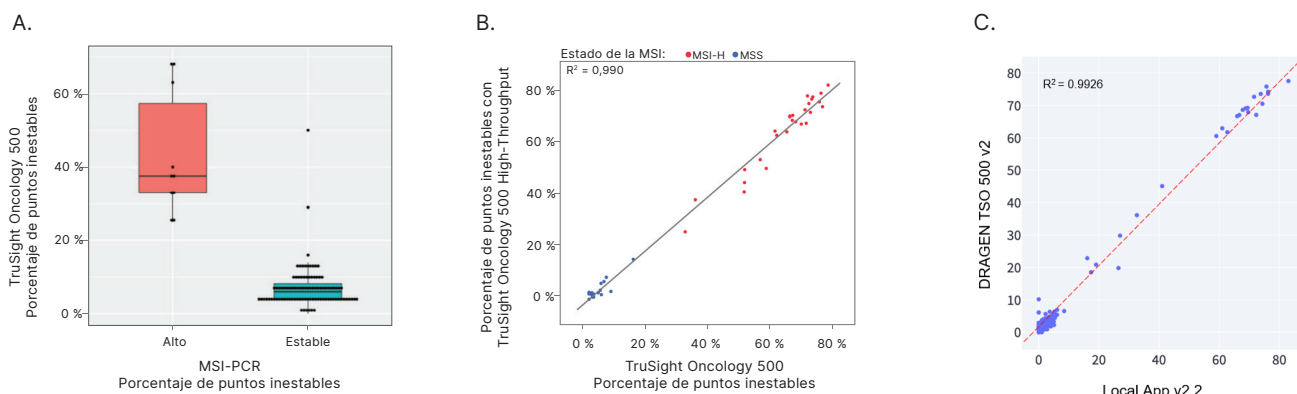


Figura 5: evaluación precisa del estado de MSI. (A) Las muestras de tejido FFPE analizadas con TruSight Oncology 500 producen una puntuación cuantitativa (eje Y) en comparación con una puntuación cualitativa con MSI-PCR (eje X). (B) Alta concordancia en el análisis de MSI mediante TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput. (C) Alta concordancia entre los datos de TruSight Oncology 500 analizados con el software DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 y TruSight Oncology 500 Local App v2.2.

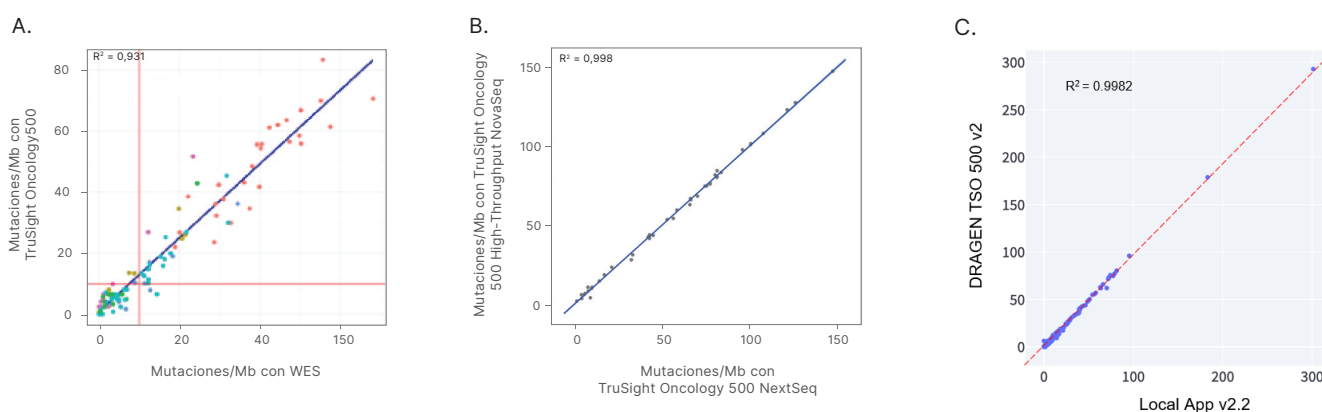


Figura 6: evaluación precisa del estado de TMB. (A) El análisis de 108 muestras de tejido FFPE muestra una alta concordancia entre las mediciones de la TMB mediante WES y TruSight Oncology 500. La línea roja indica el valor umbral (10 mutaciones/Mb). (B) Alta concordancia en el análisis de TMB mediante TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput. (C) Alta concordancia entre los datos de TruSight Oncology 500 analizados con el software DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 y TruSight Oncology 500 Local App v2.2.

Obtener un valor de TMB preciso y reproducible con niveles de mutación bajos puede ser todo un reto con paneles más pequeños. Los paneles de TruSight Oncology 500 combinan un contenido genómico exhaustivo con sofisticados algoritmos informáticos para proporcionar una estimación precisa de la TMB que es altamente concordante con los estudios del exoma completo (Figura 6, Tabla 7).¹³ La adición de UMI durante la preparación de librerías, junto con la informática exclusiva de Illumina, reduce las tasas de error de secuenciación entre 10 y 20 veces.¹¹ La eliminación de los artefactos de FFPE (como la desaminación y la oxidación) permite una sensibilidad analítica de hasta el 5% de VAF a partir de muestras de ADN de baja calidad.

Tabla 7: alta concordancia entre la secuenciación del exoma completo (WES, Whole-Exome Sequencing) y TruSight Oncology 500 para la clasificación de TMB a 10 mutaciones/Mb

Criterio de medición	Valor
Concordancia porcentual positiva	94,7 %
Concordancia porcentual negativa	96,1 %
Concordancia porcentual general	95,4 %

En función de los valores de TMB de 108 muestras de tejidos FFPE. Se muestra la concordancia porcentual de las clasificaciones con una TMB elevada o reducida, con 10 mutaciones/Mb como valor umbral.

Detección sensible de CNV

Los cambios en el número de copias de varios genes y tipos de tumores se han asociado a la oncogénesis.¹⁴ Los dos ensayos de TruSight Oncology 500 incluyen el análisis de 59 genes asociados a VNC y pueden detectar amplificaciones con un límite de detección con un múltiplo de cambio de 2,2 (Figura 7, Tabla 8).

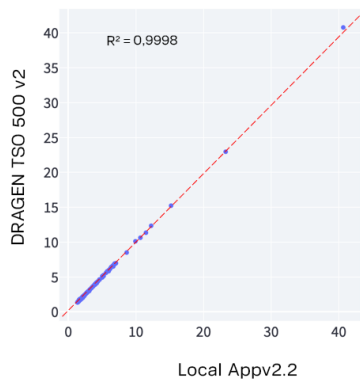


Figura 7: alta concordancia en la detección de CNV entre los datos de TruSight Oncology 500 analizados con el software DRAGEN TruSight Oncology v2 y TruSight Oncology 500 Local App v2.2

Tabla 8: detección de CNV sensible

Gen	Múltiplo de cambio medio	
	DRAGEN TruSight Oncology 500 v2	TruSight Oncology 500 Local App v2.2
AR	2,03	2,17
BRAF	2,09	2,09
BRCA1	1,42	1,42
BRCA2	1,92	1,93
CCND1	4,15	4,14
CCNE1	1,62	1,63
CDK4	3,23	3,24
CDK6	1,85	1,84
CHEK2	1,65	1,68
EGFR	3,55	3,53
ERBB2	8,63	8,66
FGF10	1,60	1,59
FGF19	3,28	3,30
FGFR1	3,57	3,57
KRAS	2,19	2,19
MDM2	2,46	2,47
MDM4	1,65	1,64

Tabla 8: detección de CNV sensible

Gen	Múltiplo de cambio medio	
	DRAGEN TruSight Oncology 500 v2	TruSight Oncology 500 Local App v2.2
MET	1,70	1,69
MYC	1,97	1,98
MYCN	1,45	1,46

La información de esta tabla muestra ejemplos de alta concordancia de los datos analizados con el software DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 y TruSight Oncology 500 Local App v2.2 y no es una lista exhaustiva de las CNV detectadas.

Detección de grandes reordenamientos de BRCA

El paso de un gran reordenamiento (LR, Large Rearrangement) de BRCA en el flujo de trabajo de análisis de DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 permite la detección de CNV a nivel de exón para los genes BRCA 1 y 2. Para tres o más exones, la sensibilidad es del 43 %, mientras que para menos de tres exones es del 50 % en NextSeq 550 System (Tabla 9).

Tabla 9: detección sensible de LR de BRCA

Detección de LR de BRCA 1/2	Estimación de VAF de LR
Pérdida del exón 8 de BRCA1	0,26
Pérdida del exón 21-24 de BRCA2	0,44
Pérdida del exón 14-24 de BRCA1	0,51
Pérdida del exón 21-24 de BRCA1	0,85
Pérdida del exón 1-3 de BRCA1	0,48
Pérdida del exón 1-23 de BRCA1	0,70
Ganancia del exón 25-27 de BRCA2	0,37
Pérdida del exón 1-3 de BRCA1	0,86
Ganancia del exón 5-16 de BRCA1	0,83
Ganancia del exón 17-18 de BRCA1	0,51
Ganancia del exón 1-16 de BRCA1	0,61
Ganancia del exón 13 de BRCA1	0,69
Ganancia del exón 25 de BRCA2	0,40
Ganancia del exón 11-27 de BRCA2	0,54
Ganancia del exón 12-13 de BRCA2	0,35
Pérdida del exón 22 de BRCA1	0,92

a. TruSight Oncology 500 HRD se ejecuta en NextSeq 550 System. Estos datos se generaron con el software DRAGEN TruSight Oncology 500 v2.

Detección de variantes muy sensible a partir de muestras FFPE

Una de las ventajas de la química de enriquecimiento de objetivos es el uso de sondas diseñadas con un tamaño lo suficientemente grande para proporcionar una elevada especificidad en la unión, pero que también permiten la hibridación con objetivos que contienen pequeñas mutaciones. Este mecanismo reduce la retirada de muestras cuando hay tanto variaciones alélicas naturales como artefactos de secuenciación introducidos a partir de muestras de tejidos FFPE. El ensayo puede detectar de forma reproducible variantes en muestras FFPE con una VAF de tan solo el 5 % (Figura 8, Tabla 10).

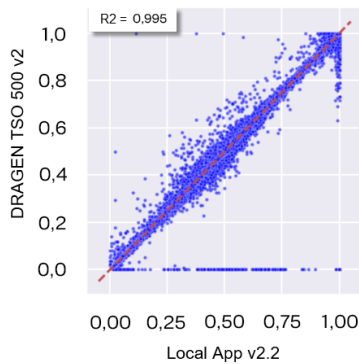


Figura 8: alta concordancia de VAF entre los datos de TruSight Oncology 500 analizados con el software DRAGEN TruSight Oncology v2 y TruSight Oncology 500 Local App v2.2

Detección sólida de fusiones

El cáncer puede surgir a partir de cambios epigenéticos, cambios en el nivel de expresión y fusiones de genes que no se pueden detectar mediante una secuenciación estándar.^{15,16} Los ensayos de TruSight Oncology 500 permiten detectar y caracterizar fusiones que son independientes del otro gen. Para lograr resultados semejantes en el análisis de ARN, en TruSight Oncology 500 se recomienda usar 40 ng de ARN, mientras que, en TruSight Oncology 500 High-Throughput, la cantidad recomendada oscila entre 40 y 80 ng de ARN. En los casos en que la cantidad de ARN obtenida de tejidos FFPE sea baja, se podrá usar también un aporte de ARN inicial de 40 ng para detectar variantes expresadas en niveles entre medios y altos con TruSight Oncology 500 High-Throughput. No obstante, si se dispone de suficiente ARN, un aporte de 80 ng contribuye a aumentar al máximo la sensibilidad para detectar las fusiones presentes en concentraciones muy bajas (Tabla 11).

Tabla 10: detección muy sensible de variantes pequeñas de ADN

Gen	Mutación	DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 (VAF media)
Tipo de variante: variante de nucleótido único (SNV)		
<i>AKT1</i>	E17K	5 %
<i>APC</i>	R1450*	8 %
<i>BRAF</i>	V600E	13 %
<i>CTNNB1</i>	T41A	8 %
<i>EGFR</i>	L858R	7 %
<i>EGFR</i>	T790M	7 %
<i>FGFR3</i>	S249C	6 %
<i>FOXL2</i>	C134W	7 %
<i>GNAS</i>	R201C	7 %
<i>IDH1</i>	R132C	7 %
<i>KIT</i>	D816V	8 %
<i>KRAS</i>	G12D	7 %
<i>NOTCH1</i>	P668S	5 %
<i>NRAS</i>	Q61R	7 %
<i>PIK3CA</i>	E545G	5 %
<i>RET</i>	M918T	8 %
<i>TP53</i>	R248Q	7 %
Tipo de variante: variante compleja		
<i>EGFR</i>	L747_P753>Q	3 %
Tipo de variante: inserción		
<i>APC</i>	T1556Nfs*3	7 %
<i>ERBB2</i>	A775-G776insYVMA	7 %
Tipo de variante: delección		
<i>FBXW7</i>	FBXW7:G667fs	5 %
<i>PTEN</i>	PTEN:K267fs*9	7 %
<i>TP53</i>	TP53:C242fs*5	6 %

La información de esta tabla muestra ejemplos de concordancia entre los datos analizados con el software DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 y TruSight Oncology 500 Local App v2.2 y no es una lista completa de las SNV y los indel detectados.

Tabla 11: detección sólida de fusiones y variantes alternativas de corte y empalme

Fusión de ARN	Cantidad de aporte de ARN			Tejido
	40 ng	60 ng	80 ng	
<i>ALK-EML4</i>	15	21	40	Pulmón
<i>EGFR-RAB3IP</i>	5	9	19	Cerebro
<i>EGFR-METTL1</i>	25	84	71	Cerebro
<i>BRCA1-MPP2</i>	25	28	29	Desconocido
<i>ALK-BRE</i>	75	112	128	Sarcoma
<i>CCDC170-ESR1</i>	122	59	168	Riñón
<i>MYC-MRPL13</i>	27	35	52	Mama
<i>MYC-STK3</i>	11	39	28	Mama
<i>ROS1;GOPC-ENC1</i>	32	53	93	Pulmón
<i>ROS1;GOPC-CD74</i>	104	92	141	Pulmón
<i>ANKUB1; RNF13-ETV5;DGKG</i>	29	45	72	Útero
<i>NTRK3-SEMA6A</i>	7	16	25	Piel
<i>RET-NCOA4</i>	74	78	154	Tiroides
<i>EWSR1-ATF1</i>	19	30	32	Sarcoma
<i>EWSR1-CBY1</i>	44	30	97	Sarcoma
<i>BRCA2-NRXN3</i>	33	60	84	Hueso
<i>FLT3-SMOX</i>	50	72	54	Hueso
<i>FLT3-VWA8</i>	29	51	69	Hueso
<i>FLT3-LCP1</i>	12	32	47	Hueso
Variante alternativa de corte y empalme				
<i>ARV7</i>	26	38	46	Mama
<i>EGFR v3</i>	567	884	937	Cerebro
<i>EGFR v3</i>	1249	1614	2049	Cerebro

La información de esta tabla muestra ejemplos de concordancia entre TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput y no es una lista completa de las SNV y los indel detectados. Estos datos se generaron con un proceso de Local App (no el software de DRAGEN).

Planificación para el futuro

TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput se integran fácilmente en los laboratorios que ya usan NGS, lo que les permite ofrecer capacidades de generación de CGP sin necesidad de explorar una tecnología completamente nueva. Al consolidar varios ensayos de biomarcadores independientes y únicos en un ensayo, los laboratorios pueden ahorrar muestra, tiempo y dinero, al tiempo que aumentan las probabilidades de identificar un biomarcador positivo. Además, la incorporación de los ensayos tumorales en el centro permite a los laboratorios conservar las muestras y los datos sin procesar.

Resumen

TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput son ensayos de captura híbrida basados en NGS que permiten una generación de perfiles genómicos completos mediante el análisis de los biomarcadores esenciales presentes en las directrices y los ensayos clínicos, en un único ensayo con una pequeña cantidad de muestra. Al combinar la captura híbrida de ADN y ARN con soluciones informáticas sofisticadas, se reducen los errores y se obtienen datos de alta calidad, incluso de muestras FFPE. Gracias a TruSight Oncology 500 High-Throughput, los laboratorios pueden aumentar sus tamaños de lote y procesar más muestras a la semana. Aprovechar la potencia de la plataforma DRAGEN permite a TruSight Oncology 500 mejorar la eficiencia del laboratorio y producir resultados significativos.

Información adicional

TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput, illumina.com/tso500

DRAGEN Bio-IT Platform, 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

Datos para realizar pedidos TruSight Oncology 500

Tipo de muestra	Preparación de librerías			Generación de informes de variantes en las instalaciones			
	Producto	N.º de catálogo	Pierian incluido	Producto	N.º de catálogo		
Manual	ADN	TruSight Oncology 500 DNA Kit ^a (16 indexes, 48 samples)	20028213		Illumina DRAGEN Server v3	20040619	
		TruSight Oncology 500 DNA Kit, plus Pierian ^a (16 indexes, 48 samples)	20032624	✓	Illumina DRAGEN Server v4	20051343	
		TruSight Oncology 500 DNA Kit, for Use with NextSeq ^b (16 indexes, 48 samples)	20028214		Illumina DRAGEN Server Advance Exchange Plan	20032797	
		TruSight Oncology 500 DNA Kit, for Use with NextSeq, plus Pierian ^b (16 indexes, 48 samples)	20032625	✓	Generación de informes de variantes basada en la nube		
	ADN/ARN	TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle ^a (16 indexes, 24 samples)	20028215		ICA Basic Annual Subscription	20044874	
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, plus Pierian ^a (16 indexes, 24 samples)	20032626	✓	ICA Professional Annual Subscription	20044876	
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, for Use with NextSeq ^b (16 indexes, 24 samples)	20028216		ICA Enterprise Annual Subscription	20038994	
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, for Use with NextSeq, plus Pierian ^b (16 indexes, 24 samples)	20032627	✓	ICA Enterprise Compliance Add-on (applies to Basic only)	20066830	
	Automatizado	ADN	TruSight Oncology 500 DNA Automation ^a Kit (16 indexes, 64 samples)	20045504		ICA Training and Onboarding	20049422
			TruSight Oncology 500 DNA Automation Kit, plus Pierian ^a (16 indexes, 64 samples)	20045506	✓	ICA Data Storage: Illumina Analytics, 1 credit	20042038
TruSight Oncology 500 DNA Automation Kit, for Use with NextSeq ^b (16 indexes, 64 samples)			20045505		ICA Data Storage: Illumina Analytics Starter Pack, 1000 credits	20042039	
TruSight Oncology 500 DNA Automation Kit, for Use with NextSeq, plus Pierian ^b (16 indexes, 64 samples)			20045507	✓	ICA Data Storage: Illumina Analytics, 5000 credits	20042040	
ADN/ARN		TruSight Oncology 500 DNA/RNA ^a Automation Kit (16 indexes, 32 samples)	20045508		ICA Data Storage: Illumina Analytics, 50000 credits	20042041	
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Automation Kit, plus Pierian ^a (16 indexes, 32 samples)	20045509	✓	ICA Data Storage: Illumina Analytics, 100000 credits	20042042	
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Automation Kit, for Use with NextSeq ^b (16 indexes, 32 samples)	20045990				
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Automation Kit, for Use with NextSeq, plus Pierian ^b (16 indexes, 32 samples)	20045991	✓			

a. Incluye reactivos de enriquecimiento y para la preparación de librerías; no incluye los reactivos de secuenciación de NextSeq 550 System

b. Incluye reactivos de enriquecimiento y preparación de librerías y el reactivo de secuenciación de NextSeq 550 System

Datos para realizar pedidos: TruSight Oncology 500 y TruSight Oncology 500 High-Throughput

Tipo de muestra	Preparación de librerías			Automatización				
	Producto	N.º de catálogo	Pierian incluido	Producto	N.º de catálogo			
Manual	ADN	TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Kit ^a (48 samples)	20040765		Beckman Coulter i-Series	Contacte con el representante de ventas de Illumina		
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Kit, with Pierian ^a (48 samples)	20040769	✓	Hamilton Microlab STAR	Contacte con el representante de ventas de Illumina		
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Kit ^a (144 samples)	20040767					
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput, with Pierian ^a (144 samples)	20040771	✓				
	ADN/ARN	TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit ^a (24 samples)	20040764					
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit, with Pierian ^a (24 samples)	20040768	✓				
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit ^a (72 samples)	20040766					
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit, with Pierian ^a (72 samples)	20040770	✓				
		Automatizado	ADN	TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit ^a (64 samples)	20049283			
				TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit ^a (64 samples) plus Pierian	20049277	✓		
TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit ^a (144 samples)	20049285							
TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit ^a (144 samples) plus Pierian	20049279			✓				
ADN/ARN	TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit ^a (32 samples)		20049282					
	TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit ^a (32 samples) plus Pierian		20049276	✓				
	TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit ^a (72 samples)		20049284					
	TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit ^a (72 samples) plus Pierian		20049278	✓				

a. Incluye reactivos de enriquecimiento y preparación de librerías; no incluye IDT para índices de Illumina ni reactivos de secuenciación del NovaSeq 6000 System

Datos para realizar pedidos: TruSight Oncology 500 High-Throughput

Consumibles		Generación de informes de variantes en las instalaciones	
Producto		Producto	N.º de catálogo
Kits de índices		Illumina DRAGEN Server v3	20040619
Manual	IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples)	Illumina DRAGEN Server v4	20051343
	IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples)	Illumina DRAGEN Server Advance Exchange Plan	20032797
Automatizado	IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes for Automation Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples)	Generación de informes de variantes basada en la nube	
	IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes for Automation Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples)	ICA Basic Annual Subscription	20044874
Kits de reactivos de secuenciación		ICA Professional Annual Subscription	20044876
NovaSeq 6000 SP Reagent Kit v1.5 (200 cycles)		ICA Enterprise Annual Subscription	20038994
NovaSeq 6000 S1 Reagent Kit v1.5 (200 cycles)		ICA Enterprise Compliance Add-on (applies to Basic only)	20066830
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (200 cycles)		ICA Training and Onboarding	20049422
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (200 cycles)		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, 50000 credits	20042041
		ICA Data Storage: Illumina Analytics, 100000 credits	20042042

Bibliografía

1. Stransky N, Cerami E, Schalm S, Kim JL, Lengauer C. [The landscape of kinase fusions in cancer](#). *Nat Commun*. 2014;5:4846. doi:10.1038/ncomms5846.
2. Boland GM, Piha-Paul SA, Subbiah V, et al. [Clinical next generation sequencing to identify actionable aberrations in a phase I program](#). *Oncotarget*. 2015;6(24):20099-20110. doi:10.18632/oncotarget.4040
3. Massard C, Michiels S, Ferté C, et al. [High-Throughput Genomics and Clinical Outcome in Hard-to-Treat Advanced Cancers: Results of the MOSCATO 01 Trial](#). *Cancer Discov*. 2017;7(6):586-595. doi:10.1158/2159-8290.CD-16-1396.
4. Harris MH, DuBois SG, Glade Bender JL, et al. [Multicenter Feasibility Study of Tumor Molecular Profiling to Inform Therapeutic Decisions in Advanced Pediatric Solid Tumors: The Individualized Cancer Therapy \(iCat\) Study](#). *JAMA Oncol*. 2016;2(5):608-615. doi:10.1001/jamaoncol.2015.5689
5. Parsons DW, Roy A, Yang Y, et al. [Diagnostic Yield of Clinical Tumor and Germline Whole-Exome Sequencing for Children With Solid Tumors](#). *JAMA Oncol*. 2016;2(5):616-624. doi:10.1001/jamaoncol.2015.5699
6. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. [Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients](#). *Nat Med*. 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333
7. Tray N, Weber JS, Adams S. [Predictive Biomarkers for Checkpoint Immunotherapy: Current Status and Challenges for Clinical Application](#). *Cancer Immunol Res*. 2018;6(10):1122-1128. doi:10.1158/2326-6066.CIR-18-0214
8. Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. [Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types](#). *Nat Genet*. 2019;51(2):202-206. doi:10.1038/s41588-018-0312-8
9. U.S. Food & Drug Administration. FDA Approves First-Line Immunotherapy for Patients with MSI-H/dMMR Metastatic Colorectal Cancer. [fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-line-immunotherapy-patients-msi-hdmmr-metastatic-colorectal-cancer](#). Año de publicación: 2020. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2022.
10. U.S. Food & Drug Administration. FDA approves pembrolizumab for adults and children with TMB-H solid tumors. [fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-pembrolizumab-adults-and-children-tmb-h-solid-tumors](#). Año de publicación: 2020. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2022.
11. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents technical note. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf](#). Año de publicación: 2018. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2022.
12. Pierian. Genomic Knowledgebase. [pierian.com/genomic-knowledgebase](#). Fecha de consulta: 30 de marzo de 2022.
13. Illumina. Analysis of TMB and MSI Status with TruSight Oncology 500. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf](#). Año de publicación: 2018. Fecha de consulta: 30 de marzo de 2022.
14. 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
15. Green MR, Vicente-Dueñas C, Romero-Camarero I, et al. [Transient expression of Bcl6 is sufficient for oncogenic function and induction of mature B-cell lymphoma](#). *Nat Commun*. 2014;5:3904. doi:10.1038/ncomms4904
16. Piskol R, Ramaswami G, Li JB. [Reliable identification of genomic variants from RNA-seq data](#). *Am J Hum Genet*. 2013;93(4):641-651. doi:10.1016/j.ajhg.2013.08.008

illumina®

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

© 2022 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](#).

M-GL-00173 ESP v4.0