

# TruSight™ Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput

Una mappatura genomica completa, flessibile e scalabile a partire da campioni FFPE

- Un unico saggio per analizzare più tipi di varianti e biomarcatori chiave in oltre 500 geni sul DNA e sull'RNA
- Dal campione ai risultati in 4-5 giorni utilizzando flussi di lavoro manuali o automatizzati che integrano la preparazione delle librerie, il sequenziamento e l'analisi dei dati con la piattaforma DRAGEN™ Bio-IT
- Generazione di dati accurati e di risultati affidabili in grado di soddisfare le stringenti specifiche delle prestazioni
- Conservazione dei campioni in sede e generazione di dati pertinenti per le istituzioni e per la comunità locali

**illumina**®

## Introduzione

Gli studi su grandi coorti dimostrano che una mappatura genomica completa può potenzialmente identificare alterazioni genetiche rilevanti sul 90% dei campioni.<sup>1-6</sup> Un singolo saggio completo per valutare una vasta gamma di biomarcatori utilizza una quantità di campione inferiore e genera risultati in minor tempo rispetto a test multipli e iterativi. TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput di Illumina consentono ai ricercatori di lavorare con quantità di tessuto e tempo limitati (Tabella 1).

## Analisi di diversi tipi di tumore e biomarcatori in un singolo flusso di lavoro

TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput sono saggi di sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) che analizzano contemporaneamente il DNA e l'RNA (Figura 1) in un singolo flusso di lavoro (Figura 2). Il contenuto del pannello include diversi tipi di variante e biomarcatori chiave (Figura 3) su 523 geni rilevanti per il cancro dal DNA e 55 geni dall'RNA (Tabella 2, Tabella 3 e Tabella 4), eliminando così la necessità di sprecare tempo e campioni preziosi, come i blocchi di tessuto fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE, Formalin Fixed, Paraffin Embedded), in test iterativi.

Tabella 1: TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput

Parametro	TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput
Sistema	NextSeq 550 System o NextSeq 550Dx System (modalità di ricerca)	NovaSeq 6000 System
Processività campioni	8 campioni per corsa	16-192 campioni per corsa
Dimensione del pannello	1,94 Mb di DNA, 358 kb di RNA	1,94 Mb di DNA, 358 kb di RNA
Requisito di input di DNA	40 ng	40 ng
Requisito di input di RNA	40 ng	40-80 ng
Requisito di input FFPE	Sono raccomandati un minimo di 2 mm <sup>3</sup> da campioni di tessuto FFPE	Sono raccomandati un minimo di 2 mm <sup>3</sup> da campioni di tessuto FFPE
Durata totale del saggio	4-5 giorni dall'acido nucleico al report sulle varianti	4-5 giorni dall'acido nucleico al report sulle varianti
Durata della corsa di sequenziamento	24 ore	19 ore (SP e S1), 25 ore (S2) o 36 ore (S4)
Corsa di sequenziamento	2 × 101 cicli	2 × 101 cicli
Versione del software	DRAGEN TruSight Oncology v2.1	DRAGEN TruSight Oncology v2.1
Limite di rilevamento	5% di VAF per varianti piccole, 5 copie per ng di input di RNA per fusioni, 2,2× di variazione per CNV	5% di VAF per varianti piccole, 5 copie per ng di input di RNA per fusioni (input da 80 ng), 2,2× di variazione per CNV
Sensibilità analitica	> 96% (per tutti i tipi di variante a 5% di VAF)	> 96% (per tutti i tipi di variante a 5% di VAF)
Specificità analitica	> 99,9995%	> 99,9995%

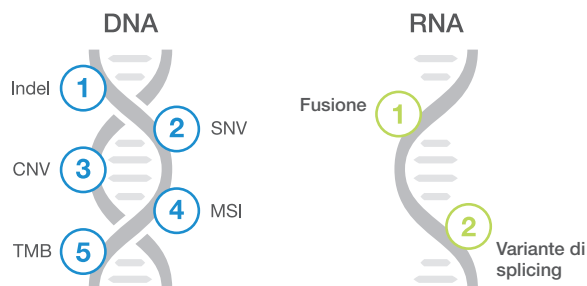


Figura 1: Tipi di variante rilevati dai saggi TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput.

## Progettazione del contenuto completa

Per progettare il contenuto di TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput, Illumina ha stabilito partnership con autorità riconosciute nella comunità oncologica. I pannelli ottenuti forniscono una copertura completa dei biomarcatori comunemente mutati in numerosi tipi di cancro (Figura 3), compresi 523 geni per le varianti di singolo nucleotide (SNV, Single Nucleotide Variant), inserzioni/delezioni (indel), variazioni del numero di copie (CNV, Copy Number Variation) e 55 geni per le varianti di fusione e per le varianti di splicing note e nuove (Tabella 2, Tabella 3).

Il contenuto comprende i geni elencati nelle attuali linee guida con copertura significativa delle linee guida chiave per più tipi di tumore (Figura 4) e geni coinvolti in più di 1.000 trial clinici. Inoltre, i pannelli TruSight Oncology 500 includono il biomarcatore di instabilità microsatellitare (MSI, Microsatellite Instability), con correlazioni note alle risposte<sup>7-9</sup> e il biomarcatore di carico mutazionale del tumore (TMB, Tumor Mutational Burden) (Tabella 4).<sup>10</sup>

## Flusso di lavoro integrato

L'implementazione della CGP in sede è semplificata grazie a un flusso di lavoro completo e ottimizzato a partire dall'input del campione fino al report finale (Figura 2). L'utilizzo di kit e metodi automatizzati per la preparazione delle librerie, di strumenti per l'identificazione di varianti e di software di interpretazione e creazione di report consente di ottenere un flusso di lavoro senza intoppi, che può essere completato in soli quattro giorni.

### A partire dal DNA o dall'RNA

I saggi TruSight Oncology 500 utilizzano l'RNA o il DNA estratto dallo stesso campione utilizzato come materiale di input. Quando si utilizza il DNA, la preparazione dei campioni inizia con la frammentazione del DNA genomico (gDNA, genomic DNA). Quando si inizia dall'RNA, il primo passo è la trascrizione inversa del campione in cDNA. Le librerie pronte per il sequenziamento sono preparate a partire da gDNA e cDNA preparati simultaneamente.



Figura 2: Flusso di lavoro TruSight Oncology 500: TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput si integrano negli attuali flussi di lavoro dei laboratori, a partire dagli acidi nucleici fino alle identificazioni delle varianti in quattro giorni.

a. I kit TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput sono disponibili in versioni compatibili con l'automazione.  
 b. Local Run Manager è disponibile solo con il NextSeq 550 System per l'utilizzo con TruSight Oncology 500.  
 c. TruSight Oncology 500 Local App è disponibile solo con il NextSeq 550 System e il NovaSeq 6000 System.

Tabella 2: Contenuto di DNA incluso in TruSight Oncology 500 e 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 <sup>a</sup>	CRLF2	ERCC1	FGF7	HIST1H1C	INSR	MAPK3	NOTCH1	PIK3R2	RARA	SMC3	TOP1
AKT3	BRCA2 <sup>a</sup>	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	INHBA	LYN	MYO10	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. Grandi riarrangiamenti (CNV a livello di esone) rilevati per i geni BRCA1 e BRCA2. Il contenuto in grigio viene analizzato per il rilevamento CNV.

Tabella 3: Contenuto di RNA incluso nei pannelli TruSight Oncology 500 e 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>MLL2</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>

Per tutti i geni elencati vengono valutate le fusioni note e quelle nuove; per il contenuto in grigio vengono analizzate le varianti di splicing.

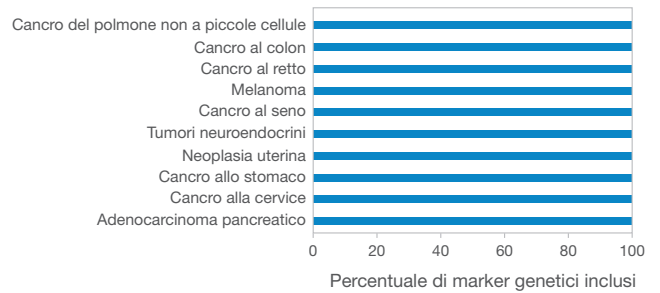


Figura 4: Allineamento del contenuto di TruSight Oncology 500 alle linee guida chiave per tipo di cancro: il grafico fornisce esempi di allineamento del contenuto (il grafico non è esaustivo).

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

Polmone	Melanoma	Colon-retto	Ovaie	Seno	Stomaco	Prostata	CNS
<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>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: Sottogruppo di biomarcatori per la mappatura genomica dei tumori per diversi tipi di cancro: TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput includono i biomarcatori delle linee guida chiave, biomarcatori emergenti e biomarcatori pan-cancer come MSI, NTRK1-3 e TMB. L'analisi del contenuto è fornita da Pierian, in base alla Knowledge Base v6.10 (1 febbraio 2022).

Tabella 4: Analisi simultanea di più biomarcatori del cancro del polmone utilizzando DNA e RNA nello stesso campione

Biomarcatore	Contenuto di DNA	Contenuto di RNA
MSI	✓	
TMB	✓	
Geni biomarcatori	Varianti piccole	Fusioni
<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>	✓	

### Automatizzazione per l'efficienza

TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput offrono opzioni manuali e automatizzate a supporto della preparazione scalabile delle librerie. Illumina ha collaborato con Hamiton e Beckman Coulter Life Sciences, produttori leader nella gestione dei liquidi, per produrre flussi di lavoro completamente automatizzati per i saggi TruSight Oncology 500 in grado di adattarsi a una vasta gamma di esigenze di processività. Questi flussi di lavoro automatizzati raggiungono gli stessi risultati di alta qualità ottenibili con protocolli manuali, riducendo gli interventi manuali di circa il 50%; questo permette ai laboratori di risparmiare sui costi di manodopera e migliorare l'efficienza.

### Aggiunta di tag per ottenere specificità analitica

Durante la preparazione delle librerie, gli identificatori molecolari univoci (UMI, Unique Molecular Identifier)<sup>11</sup> vengono aggiunti ai frammenti di gDNA o cDNA.

Questi identificatori UMI consentono il rilevamento delle varianti a bassa frequenza allelica delle varianti (VAF, Variant Allele Frequency) ed eliminano simultaneamente gli errori, fornendo elevata specificità analitica.

### Arricchimento delle librerie per focalizzare gli sforzi

La preparazione delle librerie si basa sulla comprovata chimica di cattura mediante ibridazione per purificare i target selezionati da librerie basate su DNA e RNA. Le sonde biotinilate vengono ibridate sulle regioni di interesse, che vengono raccolte tramite microsferi magnetiche rivestite di streptavidina e quindi eluite per arricchire il pool della libreria. L'arricchimento basato sull'ibridazione è una strategia utile per l'analisi di specifiche varianti genetiche in un dato campione e consente di sequenziare in modo affidabile gli esomi o un ampio numero di geni (ad es., più di 50 geni). Genera risultati affidabili su un'ampia gamma di tipi e quantità di input. La chimica di cattura mediante ibridazione offre diversi vantaggi rispetto al sequenziamento degli ampliconi, inclusa la resa di dati con meno artefatti e dropout. Inoltre, la chimica di cattura mediante ibridazione non si basa sulla fusione e consente così il rilevamento e la caratterizzazione di fusioni sia note che nuove. A differenza degli approcci a base di ampliconi, che richiedono test di conferma in quanto possono generare falsi positivi, il metodo di cattura mediante ibridazione è altamente sensibile e può caratterizzare accuratamente le fusioni geniche con partner di fusioni geniche note e nuove.

### Sequenziamento di 8-192 campioni

TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput si attengono allo stesso flusso di lavoro per la preparazione dei campioni e delle librerie. La differenza principale tra i saggi è la scala. TruSight Oncology 500 viene eseguito sul NextSeq™ 550 System o NextSeq 550Dx System\*. Tali sistemi sono in grado di raggruppare fino a otto campioni alla volta. TruSight Oncology 500 High-Throughput offre scalabilità per una maggiore processività dei campioni. Quando eseguito sul NovaSeq™ 6000 System, i clienti possono raggruppare in batch da 16 a 192 campioni. Questa flessibilità è resa possibile dalla disponibilità di 192 indici univoci per le celle a flusso TruSight Oncology 500 High-Throughput e NovaSeq che si adattano a diversi livelli di processività (Tabella 5). Ogni indice campione funziona in modo coerente per produrre metriche di sequenziamento al di sopra delle aspettative del controllo di qualità (QC).

\* NextSeq 550Dx Instrument in modalità di ricerca.



Tabella 5: Soluzione scalabile

Saggio	TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput			
Strumento	NextSeq 550 System o NextSeq 550Dx System <sup>a</sup>	NovaSeq 6000 System			
Cella a flusso	Output elevato	SP	S1	S2	S4
N. di campioni	8	16	32	72	192

a. NextSeq 550Dx Instrument in modalità di ricerca.

## Analisi dei dati

L'identificazione di varianti per TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput è disponibile sulla piattaforma DRAGEN sia in sede utilizzando il DRAGEN Server locale che sul cloud utilizzando Illumina Connected Analytics (ICA). Le due versioni sfruttano sofisticati algoritmi proprietari che rimuovono errori, artefatti e varianti della linea germinale. In questo modo si ottengono prestazioni altamente accurate nell'identificazione di varianti con una specificità analitica di più del 99,9995%. Questo livello di specificità è particolarmente vantaggioso quando è fondamentale conoscere l'esatto numero di mutazioni per Mb, come nella valutazione di TMB in un flusso di lavoro di solo tumore. I dati delle varianti di DNA analizzati con la TruSight Oncology 500 Local App e la pipeline TruSight Oncology 500 DRAGEN mostrano risultati concordanti (Figura 5C, Figura 6C); tuttavia, la velocità di analisi della pipeline DRAGEN è da 2 a 4 volte maggiore rispetto all'app locale (Tabella 6), così da ridurre i tempi necessari per i risultati finali.



Per maggiori informazioni su ICA, leggere la nota tecnica [Security, privacy, and compliance with Illumina Connected Analytics technical note](#) (Sicurezza, privacy e conformità con Illumina Connected Analytics).

Per l'interpretazione e la creazione di report, è possibile caricare i file dei report delle varianti nel cloud di Pierian Clinical Genomics Workspace. Pierian Clinical Genomics Workspace è supportato da una Knowledge Base genomica completa, continuamente aggiornata e curata da esperti<sup>12</sup> ed esegue l'annotazione e il filtraggio delle varianti per un'interpretazione e una creazione di report ottimizzate. Partendo da migliaia di varianti nel genoma, Pierian Clinical Genomics Workspace filtra e dà la priorità alle varianti biologicamente rilevanti per creare un report genomico finale automatizzato e personalizzabile.

Tabella 6: Analisi più veloce con DRAGEN TruSight Oncology 500 Analysis Software

N. campioni di biopsia tissutale	Durata media per il completamento dell'analisi <sup>a</sup>	
	Local App <sup>b</sup>	Pipeline DRAGEN <sup>c</sup>
8	5,5 ore	2 ore
16	12 ore	3 ore
32	18 ore	5 ore
72	24 ore	10 ore

- a. La durata dell'analisi si basa sulle corse effettive e varia da corsa a corsa.  
 b. Specifiche del server locale: Amazon EC2, istanza c5.9xlarge (36 vCPU, 72 GiB di memoria); la durata dell'analisi varia a seconda delle specifiche del server.  
 c. DRAGEN App eseguita sul DRAGEN Server v3.

## Risultati comprovati e affidabili

Sebbene TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput siano stati progettati per essere eseguiti su piattaforme di sequenziamento separate con diverse opzioni di processività, i saggi hanno lo stesso contenuto genomico e le stesse aspettative prestazionali in termini di identificazione delle varianti. Entrambi i saggi dimostrano elevata concordanza quando rilevano MSI, TMB, CNV, varianti piccole e fusioni.

## Valutazione accurata di TMB e MSI

TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput sono adatti per l'interrogazione di MSI e TMB e si affidano all'analisi di più loci genomici. Tradizionalmente, lo stato di MSI viene analizzato con PCR (MSI-PCR) e immunocistochemica. Sebbene altri metodi forniscano un risultato qualitativo che descrive i campioni come MSI-stabile o MSI-alto, la valutazione basata su NGS con i saggi TruSight Oncology 500 interroga 130 siti di marcatori MSI omopolimerici per calcolare un punteggio quantitativo accurato per lo stato MSI (Figura 5).<sup>13</sup>

La possibilità di ottenere un valore TMB preciso e riproducibile a bassi livelli di mutazione può essere difficile con pannelli più piccoli. I pannelli TruSight Oncology 500 uniscono contenuto genomico completo e algoritmi informatici sofisticati per fornire una stima di TMB altamente concordante con gli studi dell'intero genoma (Figura 6, Tabella 7).<sup>13</sup> L'aggiunta di identificatori UMI durante la preparazione delle librerie assieme ad informatica proprietaria di Illumina riduce i tassi di errore del sequenziamento di 10-20 volte.<sup>11</sup> La rimozione degli artefatti causati da FFPE (come deaminazione, ossidazione) consente di ottenere una sensibilità analitica di appena il 5% di VAF a partire da campioni di DNA di scarsa qualità.

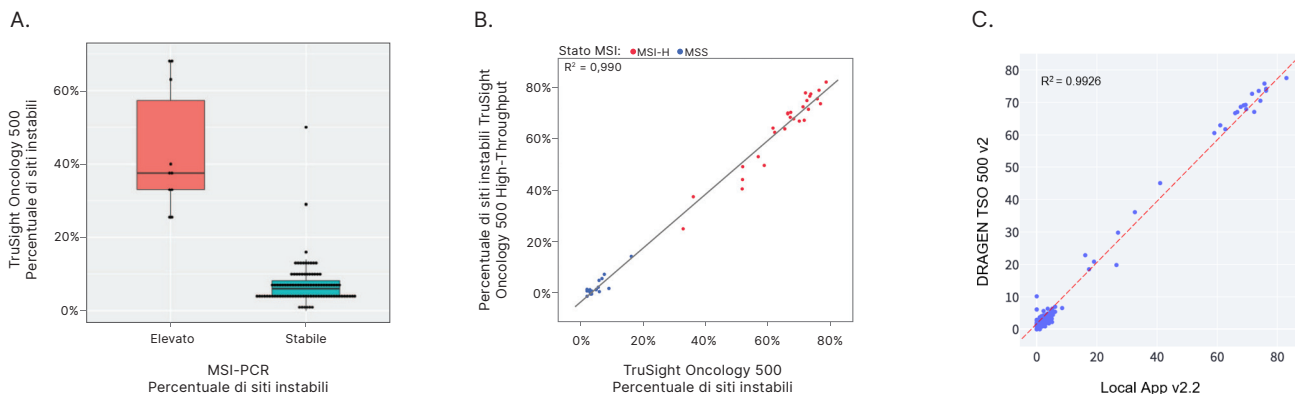


Figura 5: Valutazione accurata dello stato di MSI: (A) i campioni di tessuto FFPE analizzati utilizzando TruSight Oncology 500 generano un punteggio quantitativo (asse Y) confrontato con il punteggio qualitativo utilizzando MSI-PCR (asse X). (B) Elevata concordanza dell'analisi di MSI tra TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput. (C) Elevata concordanza tra i dati TruSight Oncology 500 analizzati con il DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 Software e la TruSight Oncology 500 Local App v2.2.

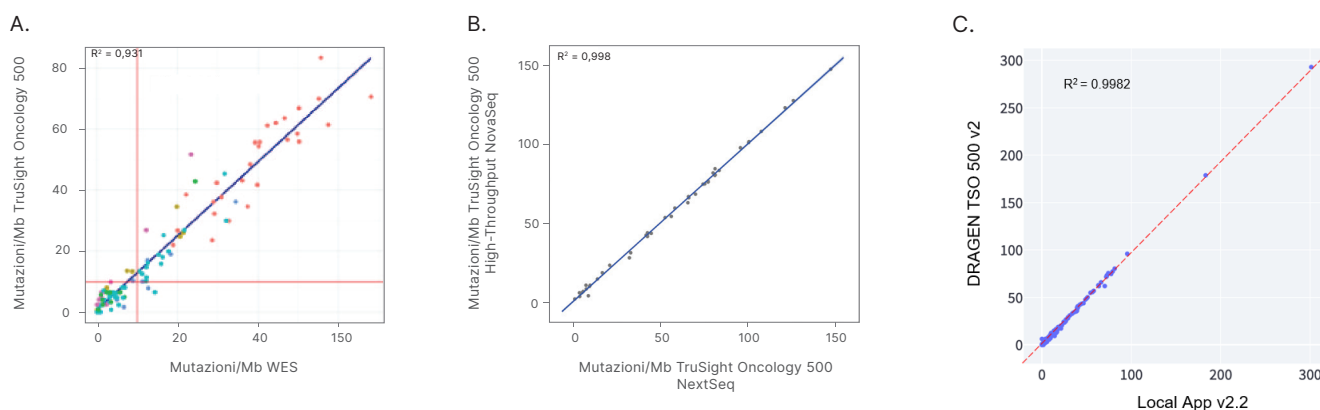


Figura 6: Valutazione accurata dello stato TMB: (A) l'analisi di 108 campioni di tessuto FFPE mostra un'elevata concordanza tra le misurazioni TMB utilizzando WES e TruSight Oncology 500. La linea rossa indica il valore di soglia (10 mutazioni/Mb). (B) Elevata concordanza dell'analisi di TMB tra TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput. (C) Elevata concordanza tra i dati TruSight Oncology 500 analizzati con il DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 Software e la TruSight Oncology 500 Local App v2.2.

Tabella 7: Elevata concordanza tra sequenziamento dell'intero esoma (WES, Whole-Exome Sequencing) e TruSight Oncology 500 per la classificazione di TMB a 10 mutazioni/Mb

Metrica	Valore
Percentuale di concordanza positiva	94,7%
Percentuale di concordanza negativa	96,1%
Percentuale di concordanza complessiva	95,4%

Sulla base dei valori TMB da 108 campioni di tessuto FFPE: viene mostrata la percentuale di concordanza per le classificazioni TMB-elevato o TMB-basso, con 10 mutazioni/Mb come valore di soglia.

### Rilevamento sensibile di CNV

I cambiamenti nel numero di copie in diversi geni e i tipi di tumore sono stati associati alla tumorigenesi.<sup>14</sup> Entrambi i saggi TruSight Oncology 500 includono l'analisi di 59 geni associati alle CNV e sono in grado di rilevare le amplificazioni con un limite di rilevamento a 2,2× di variazione (Figura 7, Tabella 8).



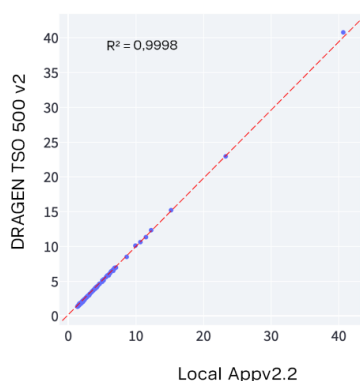


Figura 7: Elevata concordanza del rilevamento di CNV tra i dati di TruSight Oncology 500 analizzati con il DRAGEN TruSight Oncology v2 Software e la TruSight Oncology 500 Local App v2.2.

Tabella 8: Rilevamento sensibile di CNV

Gene	Variazione media	
	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
MET	1,70	1,69
MYC	1,97	1,98
MYCN	1,45	1,46

Le informazioni contenute in questa tabella mostrano esempi di elevata concordanza dei dati analizzati con il DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 Software e la TruSight Oncology 500 Local App v2.2 e non rappresentano un elenco completo delle CNV rilevate.

## Rilevamento di grandi riarrangiamenti del gene BRCA

Una fase di grande riarrangiamento (LR, Large Rearrangement) del gene *BRCA* nel flusso di lavoro di analisi DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 consente il rilevamento di CNV a livello di esone per i geni *BRCA* 1 e 2. Per tre o più esoni, la sensibilità è del 43% mentre per tre esoni è del 50% sul NextSeq 550 System (Tabella 9).

Tabella 9: Rilevamento sensibile di LR del gene BRCA

LR del gene BRCA 1/2 rilevato	VAF LR stimata
Perdita dell'esone 8 del gene <i>BRCA1</i>	0,26
Perdita dell'esone 21-24 del gene <i>BRCA2</i>	0,44
Perdita dell'esone 14-24 del gene <i>BRCA1</i>	0,51
Perdita dell'esone 21-24 del gene <i>BRCA1</i>	0,85
Perdita dell'esone 1-3 del gene <i>BRCA1</i>	0,48
Perdita dell'esone 1-23 del gene <i>BRCA1</i>	0,70
Guadagno dell'esone 25-27 del gene <i>BRCA2</i>	0,37
Perdita dell'esone 1-3 del gene <i>BRCA1</i>	0,86
Guadagno dell'esone 5-16 del gene <i>BRCA1</i>	0,83
Guadagno dell'esone 17-18 del gene <i>BRCA1</i>	0,51
Guadagno dell'esone 1-16 del gene <i>BRCA1</i>	0,61
Guadagno dell'esone 13 del gene <i>BRCA1</i>	0,69
Guadagno dell'esone 25 del gene <i>BRCA2</i>	0,40
Guadagno dell'esone 11-27 del gene <i>BRCA2</i>	0,54
Guadagno dell'esone 12-13 del gene <i>BRCA2</i>	0,35
Perdita dell'esone 22 del gene <i>BRCA1</i>	0,92

a. Corse TruSight Oncology 500 HRD sul NextSeq 550 System. Questi dati sono stati generati con il DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 Software.

## Rilevamento di varianti altamente sensibile da campioni FFPE

Un vantaggio della chimica di arricchimento dei target è l'utilizzo di sonde progettate sufficientemente grandi da impartire un'elevata specificità di legame, ma consente anche l'ibridazione di target contenenti piccole mutazioni. Questo meccanismo riduce i dropout dei campioni in presenza di variazioni alleliche naturali e artefatti della sequenza introdotti da campioni di tessuto FFPE. Questo saggio può rilevare in modo riproducibile le varianti in campioni FFPE ad appena il 5% di VAF (Figura 8, Tabella 10).

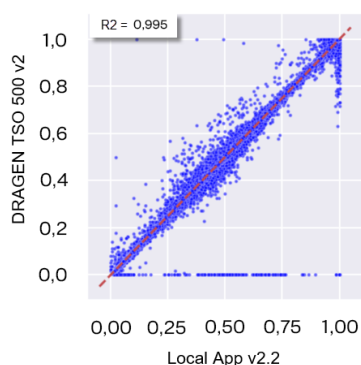


Figura 8: Elevata concordanza di VAF tra i dati TruSight Oncology 500 analizzati con il DRAGEN TruSight Oncology v2 Software e la TruSight Oncology 500 Local App v2.2.

### Rilevamento efficace delle fusioni

Il cancro può essere causato da modifiche epigenetiche, modifiche nel livello dell'espressione e fusioni geniche non rilevabili dal sequenziamento standard.<sup>15,16</sup> I saggi TruSight Oncology 500 rilevano e caratterizzano le fusioni indipendentemente dal partner. Per ottenere risultati confrontabili con l'analisi dell'RNA, si raccomanda di utilizzare 40 ng di RNA con TruSight Oncology 500 e un intervallo di 40-80 ng di RNA con TruSight Oncology 500 High-Throughput. Nei casi in cui le rese dell'RNA FFPE ottenuto da tessuti FFPE siano basse, è comunque possibile utilizzare input di 40 ng di RNA per rilevare le varianti espresse a livelli da medio ad alto con TruSight Oncology 500 High-Throughput. Tuttavia, in caso di maggiore disponibilità, input di 80 ng di RNA contribuiscono a massimizzare la sensibilità per fusioni presenti a concentrazioni basse (Tabella 11).

### Pianificazione per il futuro

TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput si integrano facilmente nei laboratori che utilizzano attualmente NGS, consentendo loro di offrire funzionalità CGP senza la necessità di passare a una tecnologia completamente nuova. Consolidando diversi saggi di biomarcatori indipendenti e singoli in un unico saggio, i laboratori possono risparmiare campione, tempo e denaro e al contempo aumentare le possibilità di identificare un biomarcatore positivo. Oltre a portare i saggi per il tumore in sede i laboratori possono conservare i campioni e i dati non elaborati.

Tabella 10: Rilevamento altamente sensibile di varianti piccole del DNA

Gene	Mutazione	DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 (VAF media)
Tipo di variante: variante di singolo nucleotide (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 di variante: variante complessa		
<i>EGFR</i>	L747_P753>Q	3%
Tipo di variante: inserzione		
<i>APC</i>	T1556Nfs*3	7%
<i>ERBB2</i>	A775-G776insYVMA	7%
Tipo di variante: delezione		
<i>FBXW7</i>	FBXW7:G667fs	5%
<i>PTEN</i>	PTEN:K267fs*9	7%
<i>TP53</i>	TP53:C242fs*5	6%

Le informazioni contenute in questa tabella mostrano esempi di concordanza tra i dati analizzati con il DRAGEN TruSight Oncology 500 v2 Software e la TruSight Oncology 500 Local App v2.2 e non rappresentano un elenco completo delle SNV e indel rilevate.

Tabella 11: Rilevamento efficace delle fusioni e delle varianti di splicing

Fusione dell'RNA	Quantità di input di RNA			Tessuto
	40 ng	60 ng	80 ng	
<i>ALK-EML4</i>	15	21	40	Polmone
<i>EGFR-RAB3IP</i>	5	9	19	Tessuto cerebrale
<i>EGFR-METTL1</i>	25	84	71	Tessuto cerebrale
<i>BRCA1-MPP2</i>	25	28	29	Sconosciuto
<i>ALK-BRE</i>	75	112	128	Sarcoma
<i>CCDC170-ESR1</i>	122	59	168	Rene
<i>MYC-MRPL13</i>	27	35	52	Seno
<i>MYC-STK3</i>	11	39	28	Seno
<i>ROS1;GOPC-ENC1</i>	32	53	93	Polmone
<i>ROS1;GOPC-CD74</i>	104	92	141	Polmone
<i>ANKUB1; RNF13-ETV5;DGKG</i>	29	45	72	Utero
<i>NTRK3-SEMA6A</i>	7	16	25	Pelle
<i>RET-NCOA4</i>	74	78	154	Tiroide
<i>EWSR1-ATF1</i>	19	30	32	Sarcoma
<i>EWSR1-CBY1</i>	44	30	97	Sarcoma
<i>BRCA2-NRXN3</i>	33	60	84	Ossa
<i>FLT3-SMOX</i>	50	72	54	Ossa
<i>FLT3-VWA8</i>	29	51	69	Ossa
<i>FLT3-LCP1</i>	12	32	47	Ossa
<b>Variante di splicing</b>				
<i>ARV7</i>	26	38	46	Seno
<i>EGFR v3</i>	567	884	937	Tessuto cerebrale
<i>EGFR v3</i>	1249	1614	2049	Tessuto cerebrale

Le informazioni contenute in questa tabella mostrano esempi di concordanza tra TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput e non rappresentano un elenco completo delle SNV e Indel rilevate. Questi dati sono stati generati con una pipeline Local App (non con il software DRAGEN).

## Riepilogo

TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput sono saggi di cattura mediante ibridazione basati su NGS che consentono la CGP attraverso l'analisi di biomarcatori chiave presenti nelle linee guida e nei trial clinici, in un singolo saggio utilizzando una piccola quantità di campione. La combinazione della cattura mediante ibridazione di DNA e RNA con procedure informatiche avanzate riduce gli errori e produce dati di alta qualità, anche da campioni FFPE. Con TruSight Oncology 500 High-Throughput, i laboratori possono aumentare le dimensioni dei batch ed elaborare più campioni la settimana. Sfruttando l'efficacia della piattaforma DRAGEN, TruSight Oncology 500 migliora l'efficienza del laboratorio e genera risultati eccellenti.

## Maggiori informazioni

TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput, [illumina.com/tso500](https://illumina.com/tso500).

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

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

Informazioni per l'ordine di TruSight Oncology 500

Tipo di campione	Preparazione delle librerie			Creazione di report sulle varianti in sede		
	Prodotto	N. di catalogo	Pierian incluso	Prodotto	N. di catalogo	
Manuale	DNA	TruSight Oncology 500 DNA Kit <sup>a</sup> (16 indexes, 48 samples)	20028213		Illumina DRAGEN Server v3	20040619
		TruSight Oncology 500 DNA Kit, plus Pierian <sup>a</sup> (16 indexes, 48 samples)	20032624	✓	Illumina DRAGEN Server v4	20051343
		TruSight Oncology 500 DNA Kit, for Use with NextSeq <sup>b</sup> (16 indexes, 48 samples)	20028214		DRAGEN Server Advance Exchange Plan di Illumina	20032797
		TruSight Oncology 500 DNA Kit, for Use with NextSeq, plus Pierian <sup>b</sup> (16 indexes, 48 samples)	20032625	✓	Creazione di report sulle varianti basato su cloud	
	DNA/RNA	TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle <sup>a</sup> (16 indexes, 24 samples)	20028215		ICA Basic Annual Subscription	20044874
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, plus Pierian <sup>a</sup> (16 indexes, 24 samples)	20032626	✓	ICA Professional Annual Subscription	20044876
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, for Use with NextSeq <sup>b</sup> (16 indexes, 24 samples)	20028216		ICA Enterprise Annual Subscription	20038994
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, for Use with NextSeq, plus Pierian <sup>b</sup> (16 indexes, 24 samples)	20032627	✓	ICA Enterprise Compliance Add-on (si applica solo alla versione Basic)	20066830
Automatizzato	DNA	TruSight Oncology 500 DNA Automation <sup>a</sup> Kit (16 indexes, 64 samples)	20045504		ICA Training and Onboarding	20049422
		TruSight Oncology 500 DNA Automation Kit, plus Pierian <sup>a</sup> (16 indexes, 64 samples)	20045506	✓	ICA Data Storage: Illumina Analytics, 1 credit	20042038
		TruSight Oncology 500 DNA Automation Kit, for Use with NextSeq <sup>b</sup> (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 <sup>b</sup> (16 indexes, 64 samples)	20045507	✓	ICA Data Storage: Illumina Analytics, 5000 credits	20042040
	DNA/RNA	TruSight Oncology 500 DNA/RNA <sup>a</sup> Automation Kit (16 indexes, 32 samples)	20045508		ICA Data Storage: Illumina Analytics, 50,000 credits	20042041
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Automation Kit, plus Pierian <sup>a</sup> (16 indexes, 32 samples)	20045509	✓	ICA Data Storage: Illumina Analytics, 100,000 credits	20042042
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA Automation Kit, for Use with NextSeq <sup>b</sup> (16 indexes, 32 samples)	20045990			
	TruSight Oncology 500 DNA/RNA Automation Kit, for Use with NextSeq, plus Pierian <sup>b</sup> (16 indexes, 32 samples)	20045991	✓			

a. Include i reagenti per la preparazione delle librerie e i reagenti di arricchimento; non include i reagenti per il sequenziamento per il NextSeq 550 System.  
 b. Include i reagenti per la preparazione delle librerie, i reagenti di arricchimento e il reagente per il sequenziamento per il NextSeq 550 System.

Informazioni per gli ordini: TruSight Oncology 500 e TruSight Oncology 500 High-Throughput

Tipo di campione	Preparazione delle librerie			Automazione		
	Prodotto	N. di catalogo	Pierian incluso	Prodotto	N. di catalogo	
Manuale	DNA	TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Kit <sup>a</sup> (48 samples)	20040765		Beckman Coulter i-Series	Contattare un addetto alle vendite Illumina
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Kit, with Pierian <sup>a</sup> (48 samples)	20040769	✓	Hamilton Microlab STAR	Contattare un addetto alle vendite Illumina
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Kit <sup>a</sup> (144 samples)	20040767			
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput, with Pierian <sup>a</sup> (144 samples)	20040771	✓		
	DNA/RNA	TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit <sup>a</sup> (24 samples)	20040764			
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit, with Pierian <sup>a</sup> (24 samples)	20040768	✓		
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit <sup>a</sup> (72 samples)	20040766			
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Kit, with Pierian <sup>a</sup> (72 samples)	20040770	✓		
Automatizzato	DNA	TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (64 samples)	20049283			
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (64 samples) plus Pierian	20049277	✓		
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (144 samples)	20049285			
		TruSight Oncology 500 DNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (144 samples) plus Pierian	20049279	✓		
	DNA/RNA	TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (32 samples)	20049282			
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (32 samples) plus Pierian	20049276	✓		
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (72 samples)	20049284			
		TruSight Oncology 500 DNA/RNA High-Throughput Automation Kit <sup>a</sup> (72 samples) plus Pierian	20049278	✓		

a. Include i reagenti per la preparazione delle librerie e i reagenti di arricchimento; non include IDT per gli indici Illumina, né i reagenti per il sequenziamento per NovaSeq 6000 System.

Informazioni per gli ordini: TruSight Oncology 500 High-Throughput

Materiali di consumo		Creazione di report sulle varianti in sede	
Prodotto		Prodotto	
N. di catalogo		N. di catalogo	
Kit di indicizzazione		ILLUMINA DRAGEN SERVER v3	20040619
Manuale	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)	DRAGEN SERVER ADVANCE EXCHANGE PLAN di ILLUMINA	20032797
Automatizzato	IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes for Automation Set A, Ligation (96 indexes, 96 samples)	Creazione di report sulle varianti basato su cloud	
	IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes for Automation Set B, Ligation (96 indexes, 96 samples)	ICA Basic Annual Subscription	20044874
Kit di reagenti per il sequenziamento		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 (si applica solo alla versione Basic)	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, 50,000 credits	20042041
		ICA Data Storage: Illumina Analytics, 100,000 credits	20042042

## Bibliografia

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, Féré 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](#). Pubblicato nel 2020. Consultato il 30 marzo 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](#). Pubblicato nel 2020. Consultato il 30 marzo 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](#). Pubblicato nel 2018. Consultato il 30 marzo 2022.
12. Pierian. Genomic Knowledgebase. [pierian.com/genomic-knowledgebase](#). Consultato il 30 marzo 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](#). Pubblicato nel 2018. Consultato il 30 marzo 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®

Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitate la pagina Web [www.illumina.com/company/legal.html](#).  
M-GL-00173-ITA v4.0