

TruSight^{MC} Hereditary Cancer Panel

Un panel de séquençage nouvelle génération pour la recherche sur le cancer comprenant 113 gènes associés au risque génétique

- Évaluez les mutations germinales associées au risque de cancer à l'aide d'un contenu de panel complet basé sur des données avérées.
- Enrichissez et préparez des bibliothèques prêtes pour le séquençage en 6,5 heures, avec une durée de manipulation de 2 heures seulement.
- Obtenez une excellente uniformité de couverture pour une détection très précise des variants mononucléotidiques, des indels et des variants du nombre de copies.
- Ajustez le débit et effectuez le séquençage de 2 à 256 échantillons par analyse sur les systèmes de séquençage de paillasse d'Illumina.



Introduction

Les variants génétiques jouent un rôle important dans la détermination de la prédisposition au cancer. TruSight Hereditary Cancer Panel permet aux chercheurs d'effectuer une évaluation complète des gènes dans lesquels se trouvent ces variants. Mis au point en collaboration avec des experts dans le domaine de la génomique du cancer, TruSight Hereditary Cancer Panel est un panel de séquençage ciblé conçu pour évaluer les mutations germinales dans 113 gènes et 125 polymorphismes mononucléotidiques (SNP, Single Nucleotide Polymorphisms) à des fins d'identification des variants et d'évaluation des risques polygéniques.

Le test se fait par l'entremise d'oligo-sondes préconçues et prêtes à être utilisées qui couvrent toutes les régions exoniques et 20 pb de régions introniques adjacentes pour chaque gène ciblé. Les librairies sont préparées à l'aide d'une chimie de capture hybride intégrée à Illumina DNA Prep with Enrichment*. Illumina DNA Prep with Enrichment utilise une chimie innovante basée sur des billes incorporant une seule étape d'hybridation simplifiée pour une préparation de librairies rapide et efficace. Illumina DNA Prep with Enrichment est compatible avec tous les systèmes de séquençage de paillasse d'Illumina, offrant de la flexibilité dans la conception expérimentale et comportant une vaste gamme de débits d'échantillons (tableau 1)¹. Combinant la vitesse d'Illumina DNA Prep with Enrichment avec MiSeq^{MC} System, l'ensemble du flux de travail (figure 1), de l'échantillon aux données, peut être complété en 48 heures.

* Illumina DNA Prep était auparavant connu sous le nom de Nextera^{MC} DNA Flex Library Prep Kit. Les deux trousseuses utilisent la même chimie de tagmentation et ont des caractéristiques de performance de produit et des configurations de trousse identiques.

Tableau 1 : Caractéristiques de TruSight Hereditary Cancer Panel

Paramètre	Détails
Systèmes de séquençage pris en charge	iSeq ^{MC} 100 System, MiniSeq ^{MC} System, MiSeq System, MiSeqDx System (en mode recherche), NextSeq ^{MC} 550 System, NextSeq 550Dx System (en mode recherche)
Taille du panel	403 kb, 113 gènes (couvrant tous les exons), 125 SNP (48 SNP ID et 77 SNP pour le score de risque polygénique)
Nbre de sondes	10 341 oligo-sondes
Type d'échantillon	ADN génomique, sang ^a ou salive ^a
Entrée d'ADN	50 à 1 000 ng d'ADN
Durée totale du test	48 heures de l'ADN aux données
Temps de préparation des librairies	Durée totale de 6,5 heures, durée de manipulation de 2 heures
Débit d'échantillons	384 index disponibles pour le débit variable de 2 à 256 échantillons par analyse, avec une couverture moyenne de 300× (couverture minimale de 100×)
Échantillons par tube	8 enrichissements (jusqu'à 12 échantillons par enrichissement)

a. L'extraction directe à partir du sang ou de la salive nécessite l'utilisation de Flex Lysis Reagent Kit (Illumina, référence n° 20018706).

De l'échantillon aux données en 48 heures

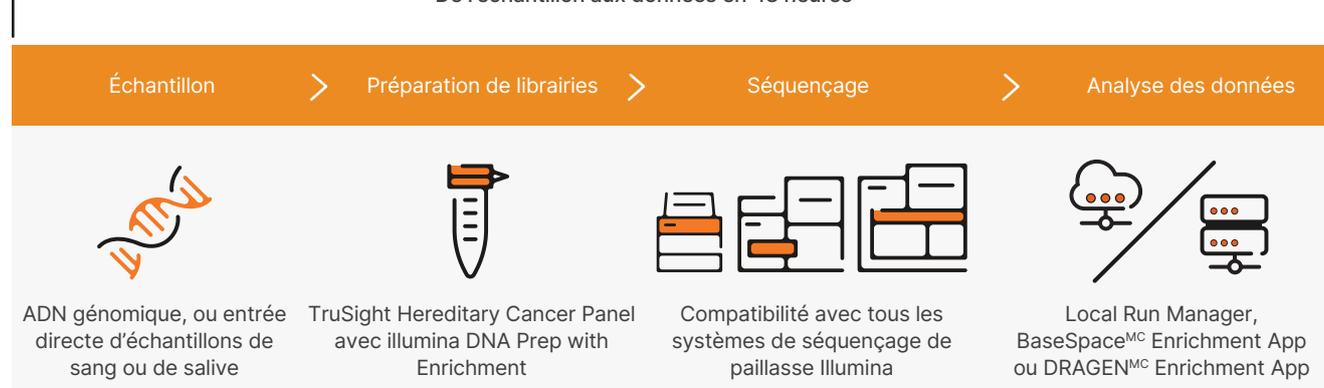


Figure 1 : Flux de travail de séquençage nouvelle génération (SNG) flexible et rapide – TruSight Hereditary Cancer Panel a été mis au point avec la chimie de préparation des librairies Illumina DNA Prep with Enrichment qui intègre les étapes de préparation et d'enrichissement des librairies. Un flux de travail rapide, continu et optimisé des opérations permettant d'obtenir des librairies entièrement enrichies en seulement 6,5 heures. TruSight Hereditary Cancer est aussi compatible avec les systèmes iSeq 100, MiniSeq, MiSeq et NextSeq.

La flexibilité du débit avec les systèmes de séquençage Illumina

TruSight Hereditary Cancer Panel est compatible avec plusieurs systèmes de séquençage Illumina, offrant de la flexibilité et du contrôle sur la conception expérimentale. Les utilisateurs peuvent sélectionner les instruments ou les trousse de réactifs en fonction de leurs besoins en laboratoire. Le débit des échantillons peut varier de 2 à 256 échantillons par analyse (tableau 2).

Conception de contenu complète

TruSight Hereditary Cancer Panel comprend une liste étendue de gènes couramment associés à une prédisposition génétique aux cancers du sein, du côlon, des ovaires et gastriques (figure 2). Le contenu a été élaboré avec les commentaires et la rétroaction de grands leaders d'opinion sur l'évaluation des risques génétiques d'Allemagne, de France et du Royaume-Uni. Le panel comprend 10 341 sondes qui ciblent 113 gènes liés à la prédisposition au cancer (tableau 3) et évalués dans le cadre d'études populationnelles comparant les cas cliniques à des groupes témoins. Il comprend aussi 48 SNP à des fins de détermination du sexe et de l'identité et 77 SNP pour le score de risque polygénique BOADICEA^{2,3}. L'analyse permet la détection de variants mononucléotidiques (SNV, Single-Nucleotide Variant), d'insertions/de suppressions (indels) et de variants du nombre de copies (VNC) à partir d'un seul test (tableau 4, tableau 5).

Tableau 3 : Contenu génique de TruSight Hereditary Cancer Panel

<i>ACD</i>	<i>DIS3L2</i>	<i>GREM1</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>SDHD</i>
<i>AIP</i>	<i>EPCAM</i>	<i>HOXB13</i>	<i>PMS2</i>	<i>SLX4</i>
<i>AKT1</i>	<i>ERCC1</i>	<i>KIF1B</i>	<i>POLD1</i>	<i>SMAD4</i>
<i>APC</i>	<i>ERCC2</i>	<i>KIT</i>	<i>POLE</i>	<i>SMARCA4</i>
<i>ATM</i>	<i>ERCC3</i>	<i>LZTR1</i>	<i>POT1</i>	<i>SMARCB1</i>
<i>BAP1</i>	<i>ERCC4</i>	<i>MAX</i>	<i>PRKAR1A</i>	<i>SMARCE1</i>
<i>BARD1</i>	<i>ERCC5</i>	<i>MEN1</i>	<i>PTCH1</i>	<i>SPINK1</i>
<i>BLM</i>	<i>FAM175A</i>	<i>MET</i>	<i>PTEN</i>	<i>SPRED1</i>
<i>BMPR1A</i>	<i>FANCA</i>	<i>MITF</i>	<i>RAD50</i>	<i>STK11</i>
<i>BRCA1</i>	<i>FANCB</i>	<i>MLH1</i>	<i>RAD51</i>	<i>SUFU</i>
<i>BRCA2</i>	<i>FANCC</i>	<i>MRE11A</i>	<i>RAD51B</i>	<i>TERF2IP</i>
<i>BRIP1</i>	<i>FANCD2</i>	<i>MSH2</i>	<i>RAD51C</i>	<i>TERT</i>
<i>CASR</i>	<i>FANCE</i>	<i>MSH3</i>	<i>RAD51D</i>	<i>TMEM127</i>
<i>CDC73</i>	<i>FANCF</i>	<i>MSH6</i>	<i>RB1</i>	<i>TP53</i>
<i>CDH1</i>	<i>FANCG</i>	<i>MUTYH</i>	<i>RECQL4</i>	<i>TSC1</i>
<i>CDK4</i>	<i>FANCI</i>	<i>NBN</i>	<i>RET</i>	<i>TSC2</i>
<i>CDKN1B</i>	<i>FANCL</i>	<i>NF1</i>	<i>RHBDF2</i>	<i>VHL</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>FANCM</i>	<i>NF2</i>	<i>RINT1</i>	<i>WT1</i>
<i>CEBPA</i>	<i>FH</i>	<i>NSD1</i>	<i>RUNX1</i>	<i>XPA</i>
<i>CHEK2</i>	<i>FLCN</i>	<i>NTHL1</i>	<i>SDHA</i>	<i>XPC</i>
<i>CTRC</i>	<i>GALNT12</i>	<i>PALB2</i>	<i>SDHAF2</i>	<i>XRCC2</i>
<i>DDB2</i>	<i>GATA2</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>SDHB</i>	
<i>DICER1</i>	<i>GPC3</i>	<i>PHOX2B</i>	<i>SDHC</i>	

a. Pour la liste complète des SNP compris dans le panel, rendez-vous au www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer.

Tableau 2 : Variation dans le traitement et le débit des échantillons entre les instruments et les trousse de réactifs

Système de séquençage ^a	Trousse de réactifs	Lectures uniques	Débit	Durée de l'analyse	Plexité de l'échantillon ^b
iSeq 100 System	100 i1	4 millions	1,2 Gb	19 h	2
	v2 Micro	4 millions	1,2 Gb	19 h	2
Systèmes MiSeq et MiSeqDx	v2 Standard	15 millions	4,5 Gb	24 h	9
	v3 Standard	25 millions	7,5 Gb	28 h	16
MiniSeq System	Débit moyen	8 millions	2,4 Gb	17 h	5
	Débit élevé	25 millions	7,5 Gb	24 h	16
Systèmes NextSeq 550 et NextSeq 550Dx	Débit moyen	130 millions	39 Gb	26 h	80
	Débit élevé	400 millions	120 Gb	39 h	256

a. Les débits et les durées théoriques des systèmes iSeq 100 et MiniSeq sont basés sur les caractéristiques de l'instrument. Une vérification interne de TruSight Hereditary Cancer Panel a été effectuée uniquement sur les systèmes MiSeq et NextSeq 550.

b. Le débit des échantillons est basé sur une couverture moyenne de 300x par échantillon.

Tableau 4 : Détection des variants dans les échantillons Horizon Discovery en collaboration avec TruSight Hereditary Cancer Panel^{a,b}

Échantillon	Gène	Variant	Type de variant	Conséquence	FAM attendue	FAM observée avec différentes entrées d'ADN ^c		
						50 ng	25 ng	10 ng
HD793	<i>BRCA1</i>	P871L	SNV	mutation faux-sens	100 %	100 %	100 %	99,8 %
	<i>BRCA1</i>	S1613G	SNV	mutation faux-sens	50 %	49,8 %	47,7 %	45,8 %
	<i>BRCA1</i>	K1183R	SNV	mutation faux-sens	50 %	45,0 %	43,9 %	44,9 %
	<i>BRCA1</i>	K820E	SNV	mutation faux-sens	50 %	48,1 %	43,6 %	45,6 %
	<i>BRCA1</i>	D435Y	SNV	mutation faux-sens	50 %	42,8 %	46,3 %	44,6 %
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,9 %	100 %	100 %
	<i>BRCA2</i>	N289H	SNV	mutation faux-sens	50 %	39,2 %	40,5 %	40,5 %
	<i>BRCA2</i>	N991D	SNV	mutation faux-sens	50 %	48,6 %	48,1 %	48,0 %
	<i>BRCA2</i>	N1784fs	Suppression	mutation de changement de phase	50 %	42,2 %	35,7 %	38,9 %
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,7 %	99,9 %	100 %
	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	mutation faux-sens	50 %	41,1 %	35,1 %	38,5 %
HD794	<i>BARD1</i>	R378S	SNV	mutation faux-sens	50 %	50,5 %	49,9 %	48,0 %
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,9 %	99,9 %	99,8 %
	<i>BRCA2</i>	I2675fs	Insertion	mutation de changement de phase	50 %	41,0 %	40,9 %	40,3 %
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,9 %	100 %	100 %
	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	mutation faux-sens	100 %	100 %	100 %	100 %

a. Le séquençage a été effectué avec MiSeq System.

b. L'alignement et l'appel de variants ont été effectués à l'aide de DRAGEN Enrichment App.

c. Les valeurs de fréquence d'allèle mineur (FAM) observées sont des valeurs moyennes provenant de quatre réplicats techniques.

Tableau 5 : Détection des variants dans les échantillons en collaboration avec TruSight Hereditary Cancer Panel^{a,b}

Échantillon	Gène	Allèle de référence	Allèle des variants	Type de variant	Conséquence	FAM rép. 1 ^c	FAM rép. 2 ^c
1	<i>Chevauchement PALB2</i>			VNC	variation du nombre de copies	Détectée	Détectée
2	<i>RB1</i>	T	TTCAAAA	Insertion	Insertion interchromosomique	54,1 %	53,6 %
	<i>TSC2</i>	C	T	SNV	Non-sens	49,8 %	47,5 %
3	<i>POLE</i>	C	T	SNV	Variant faux-sens	44,1 %	47,0 %
4	<i>CHEK2</i>	A	G	SNV	Variant faux-sens	40,8 %	44,9 %
5	<i>MSH6</i>	GA	G	Suppression	Variant de changement de phase	50,9 %	45,0 %
6	<i>BRCA2</i>	CG	C	Suppression	Variant de changement de phase	29,9 %	36,3 %
7	<i>MLH1</i>	C	T	SNV	Non-sens	31,0 %	31,9 %
8	<i>BRCA1</i>	T	C	SNV	Variant faux-sens	39,6 %	35,1 %

a. Le séquençage a été effectué avec MiSeq System.

b. L'alignement et l'appel de variants avec DRAGEN Enrichment App.

c. Les appels de variants observés sont en corrélation avec les génotypes décrits précédemment par notre collaborateur (données non présentées).

Type de cancer	Gènes recommandés pour le criblage
 Sein	<i>ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53</i>
 Côlon	<i>APC, AXIN2, BMPR1A, CHEK2, EPCAM, GREM1, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, MSH3, MUTYH, NTLH1, POLD1, POLE, PTEN, SMAD4, STK11, TP53</i>
 Ovaires	<i>ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53</i>
 Gastrique	<i>CDH1</i>
 Autre	<i>MEN1, NF2, RB1, RET, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, TSC1/2, VHL, TP53, WT1</i>

Figure 2 : Gènes inclus qui ont des associations connues avec une prédisposition génétique à des types spécifiques de cancers.

Flux de travail rapide de préparation et d'enrichissement de bibliothèques

TruSight Hereditary Cancer Panel utilise Illumina DNA Prep with Enrichment, ce qui permet une préparation rapide des bibliothèques, avec des bibliothèques prêtes pour le séquençage en 6,5 heures dont une durée de manipulation de 2 heures seulement. L'un des plus importants composants de la solution Illumina DNA Prep with Enrichment est la tagmentation sur billes, qui utilise des transposomes liés aux billes comme agents médiateurs pour produire une réaction de tagmentation plus uniforme (figure 3). Cette stratégie permet d'éliminer la nécessité des étapes de fragmentation de l'ADN. Pour les entrées d'ADN de 10 à 50 ng, la normalisation de l'ADN basée sur la saturation permet aussi d'éliminer la nécessité des étapes de normalisation et de quantification de chaque bibliothèque avant leur enrichissement. Un enrichissement ciblé se produit par l'entremise d'une chimie de capture hybride qui a fait ses preuves, permettant ainsi la détection de variants pertinents pour les SNV, les indels et les VNC. Les bibliothèques sont hybridées à des sondes marquées à la biotine spécialement utilisées pour des régions ciblées d'ADN. Les cibles sont capturées par des billes magnétiques de streptavidine qui se lient aux sondes biotinylées, en retirant les fragments liés de la solution. Une fois que les fragments capturés sont élués des billes, la bibliothèque ciblée est prête pour le séquençage.

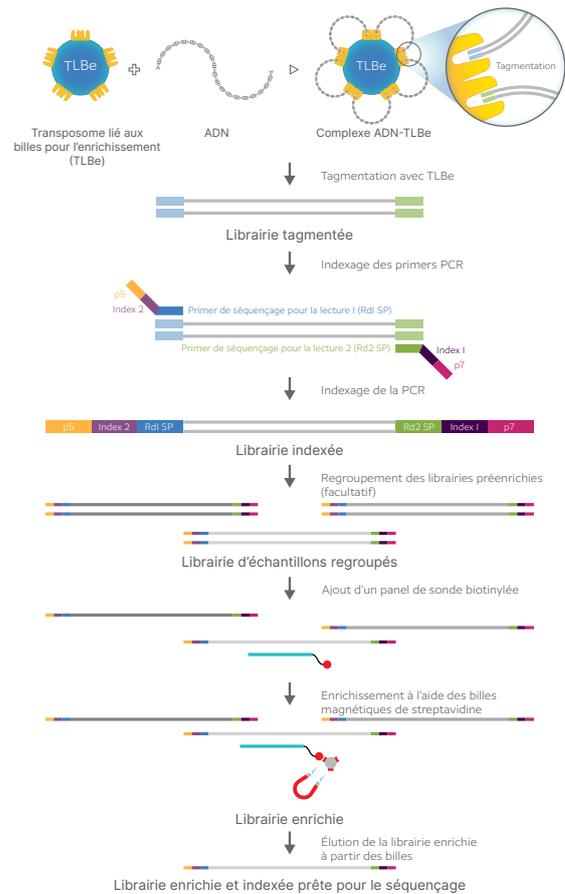


Figure 3 : Flux de travail d'Illumina DNA Prep with Enrichment – Une réaction de tagmentation uniforme induite par les TLBe suivie par une réaction d'hybridation unique permet un flux de travail rapide et flexible.

Données exactes

En sus de la capacité d'évaluer 113 gènes par échantillon, TruSight Hereditary Cancer Panel offre un niveau élevé de débit des échantillons, tout en maintenant un excellent degré de spécificité et d'uniformité. Pour démontrer la performance du test, des mesures de séquençage provenant de deux systèmes de séquençage ont été analysées à l'aide d'échantillons provenant de collaborateurs de recherche. Huit échantillons (en double) avec une entrée d'ADN de 50 ng ont été préparés à l'aide d'Illumina DNA Prep with Enrichment avec des enrichissements de 8 plex et séquencés avec MiSeq System et NextSeq System. Les données ont été évaluées à l'aide de l'application BaseSpace Enrichment App v3.1.0. Les résultats ont démontré un fort pourcentage d'uniformité de couverture (figure 4).

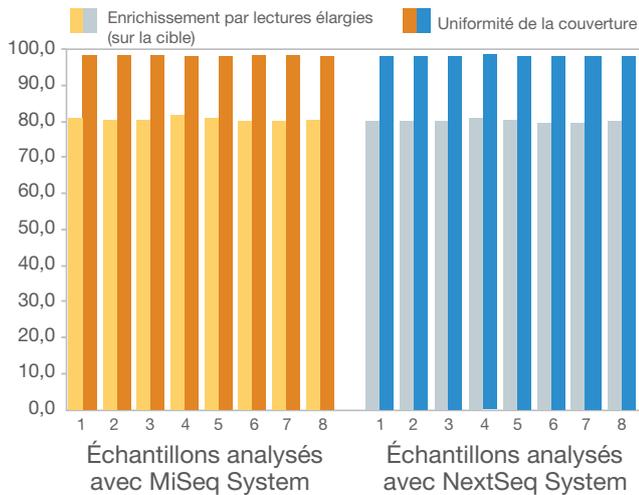


Figure 4 : Alignement sur la cible et couverture uniforme – De l'ADN extrait à partir d'échantillons de collaborateurs a été préparé à l'aide de TruSight Hereditary Cancer Panel et séquencé dans MiSeq System (gauche) et NextSeq 550 System (droite). Les valeurs moyennes provenant de deux répliquats techniques sont présentées pour chaque échantillon.

Appel des variants

Pour démontrer la performance de l'appel de variants à différents niveaux d'entrée, des ensembles de 16 échantillons ont été préparés avec des entrées d'ADN de 10 ng, 25 ng et 50 ng. Les ensembles d'échantillons comprenaient quatre répliquats chacun d'échantillons Horizon Discovery (HD) de la norme de référence ADN_g HD793 pour les cellules germinales BRCA I et de la norme de référence ADN_g HD794 pour les cellules germinales BRCA II. Chaque niveau d'entrée était séquencé en 16 plex après avoir été préparé à l'aide d'Illumina DNA Prep with Enrichment avec enrichissement en 8 plex. Le séquençage a été effectué sur le MiSeq System et les données ont été analysées à l'aide de DRAGEN Enrichment App. Les résultats étaient concordants avec la liste publiée pour Horizon Discovery pour les échantillons HD793 et HD794, ce qui démontraient des résultats reproductibles à tous les niveaux d'entrée évalués. Une autre analyse a été effectuée sur des échantillons contenant des variants inconnus provenant de collaborateurs de recherche (tableau 4). Cinquante nanogrammes (50 ng) d'entrée d'ADN provenant de huit échantillons en double ont été préparés à l'aide d'Illumina DNA Prep with Enrichment avec des enrichissements en 8 plex et séquencés avec le MiSeq System. En utilisant l'application DRAGEN Enrichment App pour l'analyse des données, les variants de différentes catégories (SNV, VNC et indel) ont été détectés (tableau 5), ce qui est en corrélation avec les génotypes décrits précédemment par notre collaborateur.

L'application DRAGEN Enrichment App ou l'application BaseSpace Enrichment App peuvent être utilisées pour l'appel de variants pour fournir des résultats au format VCF. Les clients peuvent choisir toute plateforme d'analyse tertiaire tierce pour annoter et interpréter les variants.

Pour plus de renseignements, notamment les paramètres de test ajustables pour le flux de travail d'Illumina DNA Prep with Enrichment et l'impact sur l'appel des variants, lisez les [paramètres définissables par l'utilisateur dans la note technique du flux de travail d'Illumina DNA Prep with Enrichment](#) et la [note technique de l'analyse des VNC germinaux avec TruSight Hereditary Cancer Panel](#).

Résumé

TruSight Hereditary Cancer Panel permet aux chercheurs d'avoir accès à un ensemble de contenu défini par des experts pour l'analyse des variations à l'intérieur de gènes liés auparavant à une prédisposition au cancer. L'ensemble de sondes optimisé offre une couverture exhaustive à uniformité élevée des régions ciblées afin de définir de nombreux variants. La combinaison de ce contenu avec la méthode d'Illumina DNA Prep with Enrichment permet un flux de travail rapide et simple avec un faible besoin d'entrée d'échantillons et la flexibilité d'utiliser tout système de séquençage de paillasse Illumina. TruSight Hereditary Cancer Panel est une solution de séquençage ciblé hautement efficace pour accélérer la détection de variants associés à une prédisposition au cancer.

En savoir plus

[TruSight Hereditary Cancer Panel](#)

Références

1. Illumina. [Illumina DNA Prep with Enrichment data sheet](#). Published 2020. Accessed September 5, 2023.
2. Mavaddat N, Pharoah PD, Michailidou K, et al. [Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants](#). *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(5):djv036. Published 2015 Apr 8. doi:10.1093/jnci/djv036
3. University of Cambridge, Centre for Cancer Genetic Epidemiology. Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm (BOADICEA) ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/. Accessed September 5, 2023.

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 index, 96 échantillons)	20091660
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 échantillons)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 échantillons)	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 échantillons)	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 échantillons)	20025519
Réactif i1 iSeq 100	20021533
Réactif i1 iSeq 100	20021534
MiSeq Reagent Micro Kit v2	MS-103-1002
MiSeq Reagent Kit v2	MS-102-2002
MiSeq Reagent Kit v3	MS-102-3003
MiniSeq Mid Output Kit	FC-420-1004
MiniSeq High Output Kit	FC-420-1003
NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2.5	20024905
NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5	20024908
Flex Lysis Reagent Kit	20018706



Numéro sans frais aux États-Unis : + (1) 800 809-4566 | Téléphone : + (1) 858 202-4566
 techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.
 M-GL-02150 FRA v1.0