

TruSight^{MC} Oncology 500 ctDNA

Profilage génomique
complet à partir
d'échantillons de biopsie
liquide pour la recherche

- Tirez profit d'échantillons de sang, dont le prélèvement est non effractif, comme complément aux biopsies de tissus ou comme solution de rechange en cas de tissus difficiles à obtenir
- Testez les biomarqueurs d'ADN dans plus de 500 gènes et dans les signatures en immunoncologie comme la CMT et la MSI
- Réalisez les limites inférieures de détection avec la préparation de bibliothèques par hybridation basée sur les IMU et le séquençage en profondeur sur le système NovaSeq^{MC} 6000
- Passez de l'ADN à l'interprétation du rapport en cinq jours grâce à un pipeline DRAGEN^{MC} exclusif et à l'analyse intégrée de Pierian



Introduction

La biopsie liquide permet l'analyse complète de l'ADN acellulaire (ADNa) circulant dans le plasma, offrant une approche non effractive pour le profilage de tumeurs solides. Pour tirer profit de la biopsie liquide, il est essentiel d'utiliser une analyse très sensible et spécifique capable de détecter les mutations somatiques à de basse fréquence. TruSight Oncology 500 ctDNA exploite la puissance de la technologie avérée de séquençage de nouvelle génération (SNG) d'Illumina pour obtenir cette grande sensibilité analytique et permet un profilage génomique complet de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) que l'on retrouve dans l'ADNa (figure 1, tableau 1). En combinant cette solution de recherche de pointe avec la puissance bio-informatique du logiciel d'analyse DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA, les chercheurs cliniciens ont à leur disposition une solution « de l'ADN à la production du rapport » pour évaluer de multiples types de variants parmi des centaines de gènes en un seul test (figure 2).


TruSight Oncology 500 ctDNA est compatible avec les réactifs de séquençage NovaSeq 6000 v1.5. En plus des augmentations d'efficacité d'exploitation qui entraînent des réductions potentielles du prix par échantillon > 35 %, ces réactifs offrent une durée de conservation prolongée de six mois et des scores Q30 améliorés¹.

La puissance de la biopsie liquide

Contrairement à une biopsie de tissus qui fournit des renseignements à propos d'une partie seulement de la tumeur, la biopsie liquide fournit des informations à propos de l'hétérogénéité inter et intratumorale dans tout le corps. Des études montrent que les analyses d'ADNa ont détecté un nombre important de biomarqueurs et de modifications à l'ADN liées à la résistance au traitement soulignées dans les lignes directrices et qu'on ne retrouvait pas dans les biopsies de tissus correspondants². De plus, une étude portant sur le cancer du poumon non à petites cellules a révélé que les analyses d'ADNa concordaient fortement avec les analyses de tissus³.

Une base de contenu complet

Le contenu de TruSight Oncology 500 ctDNA a été conçu en collaboration avec les autorités reconnues de la communauté oncologique. Il comprend les biomarqueurs actuels et en émergence avec une couverture complète des gènes que l'on retrouve dans les principales lignes directrices et dans les principaux essais cliniques pour de multiples types de tumeurs. La conception de la sonde de panel permet de capturer les fusions de gènes connues et nouvelles, et comprend 523 gènes pour la détection des variants susceptibles de jouer un rôle dans l'oncogénèse. Les biomarqueurs comprennent des variants mononucléotidiques (SNV, single-nucleotide variants), des insertions et délétions (indel), des variants du nombre de copies (VNC), des fusions de gènes et des signatures génomiques complexes en immuno-oncologie, comme l'instabilité microsatellitaire (MSI, microsatellite instability) et la charge mutationnelle tumorale (CMT) (tableau 2).

 Pour voir la liste complète des gènes, consultez illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html.

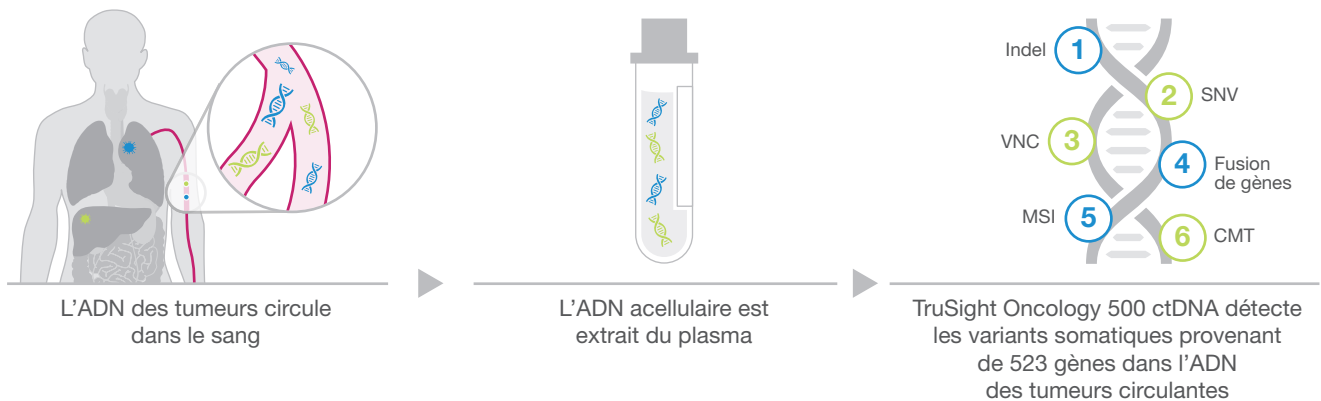


Figure 1 : La biopsie liquide permet le profilage de biomarqueurs pour de multiples types de variants et de cancers – Des algorithmes sophistiqués d'appel de variants et le séquençage en profondeur élevée permettent la détection de biomarqueurs importants dans l'ADNa avec 0,5 % de limite de détection (LDD).

Tableau 1 : TruSight Oncology 500 ctDNA en bref

Paramètre	TruSight Oncology 500 ctDNA
Système	Système NovaSeq 6000
Taille du panel	1,94 Mb d'ADN
Contenu du panel	523 gènes 59 gènes pour les VNC 23 gènes pour les fusions de gènes MSI (> 2 400 loci) CMT
Exigence d'entrée d'ADN	30 ng d'ADNa ^a
Type d'échantillon	ADNa dérivé du sang
Durée totale du test	5 jours de la préparation de librairie au rapport de variants
Durée de l'analyse de séquençage	36 h d'analyse globale, 10 h d'analyse (Flow Cell S2) 45 h d'analyse globale, 22 h d'analyse (Flow Cell S4)
Analyse de séquençage	2 × 151 pb
Débit d'échantillons	8 échantillons par analyse (Flow Cell S2) 24 échantillons par analyse (Flow Cell S4) 48 échantillons par trousse de préparation de bibliothèques
Limite de détection	FAV de 0,5 % pour les petits variants Modification de facteur ≥ 1,4 pour l'amplification des gènes Modification de facteur ≤ 0,6 pour la délétion des gènes ≥ 2 % de fraction tumorale pour MSI
Sensibilité analytique	≥ 95 % (à la LDD pour tous les types de variant)
Spécificité analytique	≥ 95 %

a. Quantification recommandée avec systèmes TapeStation ou Fragment Analyzer d'Agilent

Tableau 2 : Exemples de variants détectés à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA

Type de variant	Exemples pertinents
SNV et indel	<i>EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF</i>
Fusions de gènes	<i>ALK, ROS1, NTRK, RET</i>
VNC	<i>HER2</i>
MSI	Score MSI
CMT	Score CMT

Pour voir la liste complète des gènes, consultez illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-oncology-500-ctdna.html

Technologie éprouvée pour la détection des biomarqueurs de bas niveau

Basé sur les produits de traitement éprouvés de séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis) d'Illumina, TruSight Oncology 500 ctDNA permet le profilage génomique complet à partir de seulement 30 ng d'ADNa, en faisant une alternative idéale à utiliser lorsque le tissu n'est pas facile à obtenir ou en complément de l'analyse des tissus. La préparation de bibliothèques tire profit de l'enrichissement des cibles à l'aide de sondes biotinylées et de billes magnétiques enduites de streptavidine pour enrichir des cibles sélectionnées de bibliothèques basées sur l'ADN. L'enrichissement des cibles par capture hybride utilise des sondes qui sont suffisamment grandes pour conférer une spécificité de liaison élevée, mais aussi pour permettre l'hybridation de cibles contenant de petites mutations. Cette approche permet de réduire la perte d'échantillons en présence des variations naturelles d'allèles et des artefacts de séquençage.

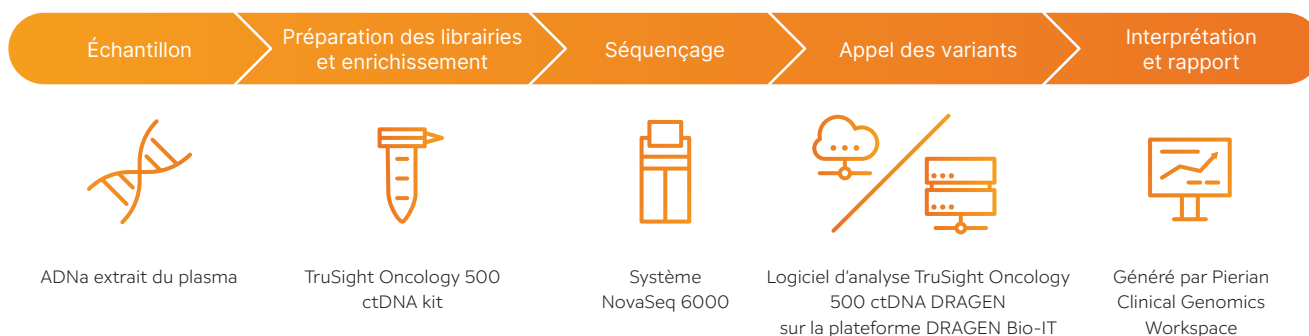


Figure 2 : Flux de travail du test TruSight Oncology 500 ctDNA – Le test TruSight Oncology 500 ctDNA s'intègre aux flux de travail des laboratoires actuels, passant de l'ADNa à un rapport de variants en cinq jours. Le logiciel d'analyse DRAGEN de TruSight Oncology 500 ctDNA peut fonctionner sur un serveur local DRAGEN ou dans le nuage via Illumina Connected Analytics.

Puisque l'ADNtc représente une petite fraction d'ADNa, des méthodes puissantes sont nécessaires pour séparer le signal du bruit. La préparation des bibliothèques intègre des identifiants moléculaires uniques (IMU) qui permettent l'identification de variants à des fréquences très basses⁴. Les bibliothèques TruSight Oncology 500 ctDNA sont séquencées sur le système NovaSeq 6000 à des profondeurs élevées (400 millions de lectures par échantillon à ~ 35 000x) pour améliorer la sensibilité. Le résultat est la capacité de détecter des mutations à une fréquence allélique des variants (FAV) de 0,5 % pour de petits variants, avec 95 % de sensibilité analytique et > 99,995 % de spécificité analytique (tableau 3).

Tableau 3 : Détection de variants de faible niveau avec un grand degré de précision

Type de variant	Sensibilité analytique ^a	Spécificité analytique ^b
Petits variants (≥ 0,5 % FAV)	≥ 95 %	≥ 99,995 %
Amplifications géniques (modification de facteur ≥ 1,4)	≥ 95 %	≥ 95 %
Délétions de gène (modification de facteur ≤ 0,6)	≥ 95 %	≥ 95 %
Fusions de gènes (0,5 %)	≥ 95 %	≥ 95 %
Détection élevée de MSI (≥ à 2 % de fraction tumorale)	≥ 95 %	≥ 95 %

a. La sensibilité analytique est définie comme étant le pourcentage de détection au niveau de variant énoncé
 b. La spécificité analytique est définie comme étant la capacité de détecter un négatif connu

Analyse précise et accélérée

Le logiciel d'analyse DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA utilise des algorithmes bio-informatiques accélérés entièrement intégrés pour assurer une performance optimale du test. Le logiciel effectue un alignement de la séquence, une correction des erreurs en combinant la séquence, puis un appel des variants en fonction des données brutes. Les lectures dupliquées et les erreurs de séquençage sont supprimées sans perdre le signal pour les variants basse fréquence tout en fournissant des résultats d'appels de variants de sensibilité élevée. Dans le but d'améliorer les performances et l'efficacité, tous les composants du pipeline sont intégrés à la plateforme DRAGEN.

Contrairement aux résultats qualitatifs tirés des tests basés sur la PCR, le logiciel d'analyse DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA fournit un score MSI quantitatif dérivé de plus de 2 400 sites de marqueurs MSI homopolymères.

Pour l'analyse de la CMT, le logiciel DRAGEN optimise la sensibilité en mesurant à la fois les SNV synonymes et non synonymes et les indels. Après l'appel de variants et la correction d'erreurs, la précision de la mesure de la CMT est davantage améliorée par la filtration des variants germinaux, des variants de fiabilité faible et des variants associés à l'hématopoïèse clonale à potentiel indéterminé.

Le logiciel d'analyse DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA fonctionne sur un serveur local DRAGEN v3 ou v4 d'Illumina ou dans le nuage via Illumina Connected Analytics (ICA). Les améliorations apportées au matériel et au logiciel de cette plateforme ultrarapide permettent de diminuer le temps d'analyse des données de ~ 85 % (ou de neuf jours à ~ 20 heures) (figure 3). ICA fournit aux laboratoires une plateforme infonuagique de génomique sécurisée leur permettant d'accroître leurs analyses secondaires sans devoir acquérir et entretenir une infrastructure locale supplémentaire⁵. En outre, le logiciel d'analyse DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA est compatible avec le logiciel DRAGEN v3.10, la même version utilisée avec le test TruSight Oncology 500 pour l'analyse de tissus tumoraux solides. Cette plateforme de partage offre une flexibilité supplémentaire aux laboratoires.

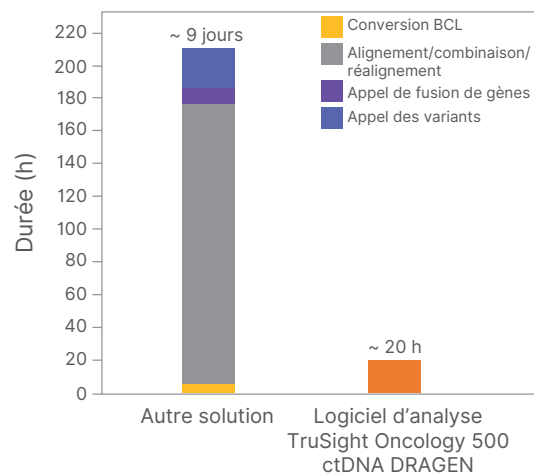


Figure 3 : Le serveur DRAGEN sur site v4 réduit la durée d'analyse des données – Le logiciel d'analyse DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA fusionne plusieurs étapes d'analyse des données en un seul processus nécessitant ~ 20 h, soit une réduction d'environ 85 % par rapport à une autre solution. Les durées d'analyse comparent le pipeline DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 sur un serveur DRAGEN v4 pour 24 échantillons à l'aide d'une Flow Cell S4 à une autre solution utilisant un pipeline non parallélisé à un seul nœud (mémoire de 128 Go, 24 cœurs) pour 24 échantillons à l'aide d'une Flow Cell S4.

Le Clinical Genomics Workspace de Pierian complète le flux de travail avec l'analyse tertiaire. Il suffit de téléverser les fichiers de rapport de variants directement dans le nuage du Clinical Genomics Workspace à partir d'un environnement d'analyse secondaire local ou basé sur ICA. Le Clinical Genomics Workspace effectue l'annotation et le filtrage des variants pour une interprétation et des rapports simplifiés. À partir de milliers de variants dans le génome, le Clinical Genomics Workspace filtre et priorise les variants biologiques pertinents pour la production automatique du rapport génomique personnalisable final. Le flux de travail complet, de l'ADNa à un rapport consolidé des variants, prend seulement cinq jours (figure 2).

Une validation étendue permet d'obtenir des résultats précis et hautement reproductibles

Pour démontrer les résultats de grande qualité atteints avec TruSight Oncology 500 ctDNA, Illumina a effectué différentes études portant sur l'évaluation de la capacité à appeler les SNV, les VNC, les fusions de gènes, la CMT et la MSI (figures 4 et 5, tableaux 5 et 6).

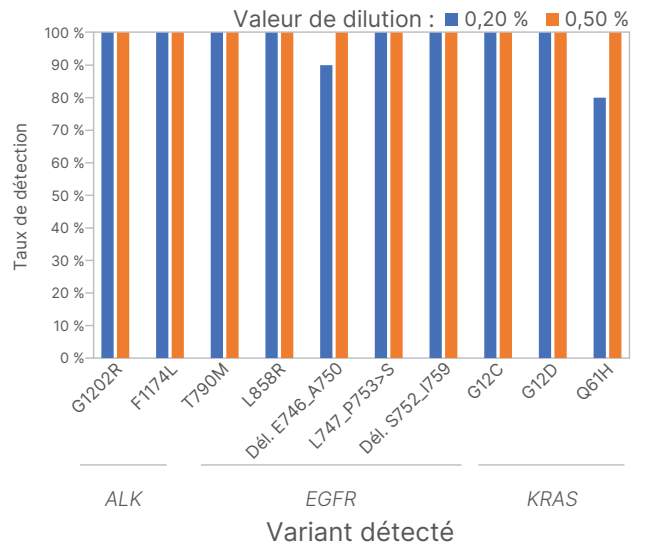


Figure 4 : Détection des petits variants à faible FAV – Des échantillons comportant une FAV connue pour chaque variant ont été dilués à des valeurs allant de 0,10 à 1,00 % de la FAV. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés avec TruSight Oncology 500 ctDNA en utilisant 30 ng d'ADN de contrôle de référence commercial.

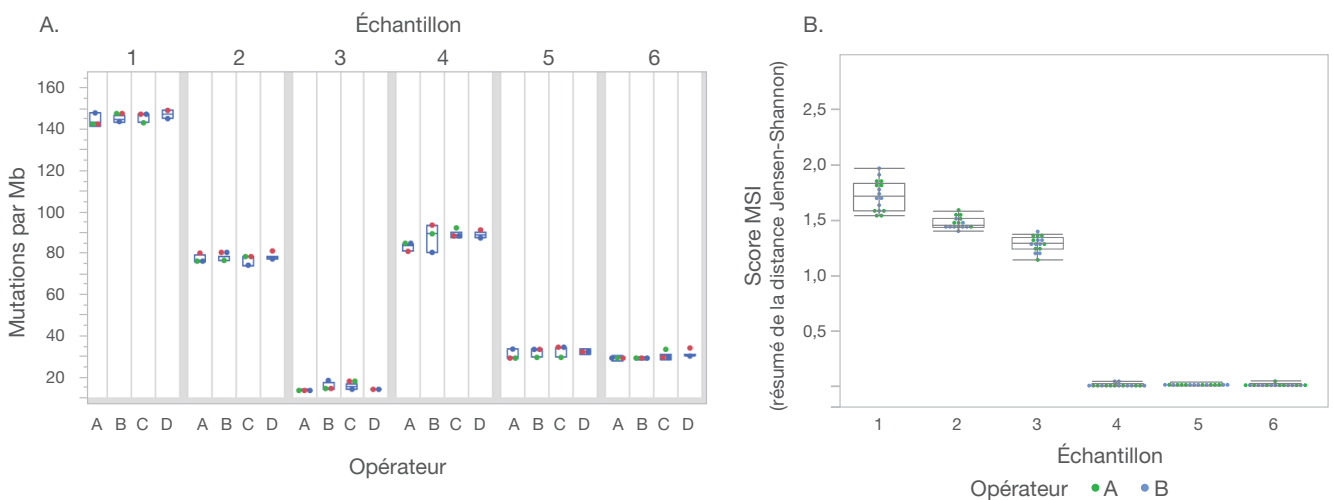


Figure 5 : Mesure de la CMT et de la MSI reproductible – (A) La CMT a été évaluée dans six échantillons (1 à 6) plasmatiques différents entre quatre opérateurs (A, B, C, D) en trois exemplaires (vert, bleu, points rouges). (B) La MSI a été évaluée dans trois lignées cellulaires nucléosomiques préparées avec un statut MSI-élevée connu (échantillons 1 à 3) et trois échantillons d'ADNa provenant de tumeurs MSI-élevée à faible prévalence (échantillons 4 à 6) entre deux opérateurs (A-vert, B-bleu).

Tableau 5 : Détection sensible des VNC

Gène	Facteur de modification attendu	Moyenne observée	Écart-type	Taux de détection
Amplifications				
<i>BRCA2</i>	1,8	1,4	0,01	100 %
<i>CCND3</i>	1,5	1,3	0,01	100 %
<i>FGF14</i>	1,3	1,5	0,01	100 %
<i>FGF3</i>	1,6	1,4	0,01	100 %
<i>FGF4</i>	1,7	1,4	0,01	100 %
<i>FGFR2</i>	1,6	1,4	0,01	100 %
<i>MET</i>	1,5	1,3	0,01	100 %
<i>MYC</i>	1,9	1,7	0,02	100 %
Délétions				
<i>BRCA1</i>	0,7	0,7	0	100 %
<i>BRCA2</i>	0,6	0,6	0,01	100 %

Les échantillons comportant des modifications de facteur connues pour les amplifications et délétions des gènes ont été évalués à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA avec 30 ng d'apport d'ADNa. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés.

Tableau 6 : Détection des fusions de gènes à faible FAV

Fusion de gènes	FAV attendue	FAV observée	Écart-type	Taux de détection
<i>FGFR2-COL14A1</i>	4,1 %	4,1 %	0,5 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	3,4 %	0,6 %	0,1 %	100 %
<i>FGFR3-BAIAP2L1</i>	3,4 %	0,8 %	0,2 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	2,4 %	0,6 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	1,7 %	0,5 %	0,1 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	1,0 %	0,7 %	0,1 %	100 %
<i>FGFR2-COL14A1</i>	0,9 %	0,4 %	0,2 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,7 %	0,2 %	0,1 %	100 %
<i>EML4-ALK</i>	0,5 %	0,5 %	0,3 %	100 %
<i>NPM1-ALK</i>	0,5 %	0,2 %	0,0 %	100 %
<i>NCOA4-RET</i>	0,5 %	0,2 %	0,0 %	100 %
<i>CCDC6-RET</i>	0,2 %	0,1 %	0,1 %	100 %

Des échantillons comportant des fréquences d'allèles avec fusion de gènes connues allant de ~ 0,5 à 4 % ont été évalués. Cinq réplicats de chaque échantillon ont été analysés avec TruSight Oncology 500 ctDNA en utilisant 30 ng d'apport d'ADNa. La directionnalité de la fusion des gènes est rapportée en fonction de l'expression connue. Consultez le [Guide de l'utilisateur de l'application locale TruSight Oncology 500 ctDNA](#) pour obtenir de plus amples renseignements sur la directionnalité de la fusion basée sur l'ADN.

Résumé

TruSight Oncology 500 ctDNA est un test de recherche multiplex basé sur le SNG qui analyse simultanément des centaines de biomarqueurs liés au cancer à partir de plasma. Le contenu du test est conforme aux recommandations et aux recherches des essais cliniques actuelles. Ce test unique et complet est capable de détecter de nombreux types de variants provenant de 523 gènes impliqués dans différents types de tumeur sans recourir aux multiples échantillons requis dans le cadre de tests itératifs. TruSight Oncology 500 ctDNA fournit également une évaluation immuno-oncologique et des biomarqueurs émergents (CMT, MSI, *NTRK* et *ROS1*). Tirant profit d'un contenu génomique étendu, d'une technologie de séquençage de pointe et d'un logiciel amélioré, TruSight Oncology 500 ctDNA propose une solution intégrée pour accélérer les projets de recherche clinique avec une complexité d'analyse et opérationnelle minimale.

En savoir plus

TruSight Oncology 500 ctDNA, illumina.com/tso500-ctDNA
Système NovaSeq 6000, illumina.com/systems/sequencing-platforms/novaseq.html

Plateforme DRAGEN Bio-IT, 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

Renseignements relatifs à la commande

Produit	N° de référence
TruSight Oncology 500 ctDNA Kit (48 échantillons, 16 index)	20039252
TruSight Oncology 500 ctDNA Kit et rapport d'interprétation Pierian (48 échantillons, 16 index)	20043410
Trousses de réactifs de séquençage	
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312
NovaSeq Xp 4-Lane Kit v1.5	20043131
Génération de rapports sur site sur les variants	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Advance Exchange Plan	20032797
Installation du serveur DRAGEN d'Illumina	20031995
Génération de rapports sur les variants dans le nuage	
Abonnement annuel à ICA Basic	20044874
Abonnement annuel à ICA Professional	20044876
Abonnement annuel à ICA Enterprise	20038994
Extension ICA Enterprise Compliance (version Basic uniquement)	20066830
Formation et intégration ICA	20049422
Stockage des données ICA : Illumina Analytics, 1 crédit	20042038
Stockage des données ICA : Illumina Analytics Starter Pack, 1 000 crédits	20042039
Stockage des données ICA : Illumina Analytics, 5 000 crédits	20042040
Stockage des données ICA : Illumina Analytics, 50 000 crédits	20042041
Stockage des données ICA : Illumina Analytics, 100 000 crédits	20042042

Références

1. Illumina. Enhanced sequencing capabilities with the NovaSeq 6000 v1.5 Reagent Kit. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/novaseq-v1-5-reagents-tech-note-770-2020-013/novaseq-v1.5-reagents-tech-note-770-2020-013.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/novaseq-v1-5-reagents-tech-note-770-2020-013/novaseq-v1.5-reagents-tech-note-770-2020-013.pdf). Published 2020. Accessed March 30, 2022.
2. Parikh AR, Leshchiner I, Elagina L, et al. Liquid versus tissue biopsy for detecting acquired resistance and tumor heterogeneity in gastrointestinal cancers. *Nat Med*. 2019;25(9):1415-1421. doi:10.1038/s41591-019-0561-9
3. Leigh NB, Page RD, Raymond VM, et al. Clinical Utility of Comprehensive Cell-free DNA Analysis to Identify Genomic Biomarkers in Patients with Newly Diagnosed Metastatic Non-small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
4. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf). Published 2017. Accessed March 15, 2022.
5. Illumina. Illumina Connected Analytics Security Brief. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ica-security-brief-m-gl-00683/ica-security-brief-m-gl-00683.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/ica-security-brief-m-gl-00683/ica-security-brief-m-gl-00683.pdf). Published 2022. Accessed March 16, 2022.



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-00843 FRA v4.0