

# TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

リキッドバイオプシーサンプルからの  
高感度かつ迅速なCGPの取得



20 ngのctDNA (5~30 ng  
で可能) からわずか0.2%  
VAFのバイオマーカーを検出



手動または自動化オプションで  
包括的な結果を4日以内に取得



1回のアッセイで500以上の遺  
伝子および免疫腫瘍学 (IO) ゲ  
ノムシグネチャー (MSI、TMB)  
を解析



NovaSeq™ Xシリーズによ  
る経済性の革新と、4サンプ  
ルの小さいバッチサイズを  
活用

## ctDNAとリキッドバイオプシーがCGPにもたらす価値

がんのゲノム構造の理解は、病気の原因となる変化の特定を通して、バイオマーカーの発見やプレジジョンメディシンの発展に貢献することができます。腫瘍学研究で使用されるツールの1つに、包括的ゲノムプロファイリング (CGP) があります。次世代シーケンサー (NGS) は、1回のアッセイで幅広いバイオマーカーを容易に評価できるようにすることで、CGPを向上します。一連の関連検査を複数実施するよりも使用するサンプル量も少なく、早く結果が得られます。<sup>1,2</sup> さらに、CGP検査は、単一遺伝子検査やホットスポットNGSパネルなどの従来の検査アプローチよりも、目的のバリエーションをより多く同定できます。<sup>3-6</sup> 腫瘍変異負荷 (TMB) のような免疫腫瘍学 (IO) ゲノムシグネチャーなど、正確な同定に大きなNGSパネル (> 1 Mb) を必要とするバイオマーカーが発見されるにつれ、より多くのバリエーションを検出するこの能力の重要性が増しています。<sup>7,8</sup>

CGPは、一般的にホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 検体などの固形腫瘍組織検体を用いて行われます。しかし、症例の最大25%では、組織が検査に不適正であったり、腫瘍へアクセスできなかったり、あるいはその処理によって有用な期間内に結果を得ることができないことがあります。このような場合、血液を用いたリキッドバイオプシーからの血中循環腫瘍DNA (ctDNA) を使用してCGPを実施することにより、腫瘍のゲノム状況についての洞察を得ることができます。がんすべてのステージ、および肺がん、乳がん、結腸がん、卵巣がんなどの複数種類の固形腫瘍にわたって、ctDNAの検出が報告されています。<sup>10</sup>

CGPでctDNAを使用する利点：

- 侵襲性が最小限である採血で、簡単にサンプル取得<sup>11</sup>
- 複数の腫瘍または同じ腫瘍からでもクローンをキャプチャーでき<sup>12</sup>、固形腫瘍生検に伴う従来のサンプリングバイアスを克服し、より多くの変異を同定する能力を拡大<sup>12-15</sup>
- 腫瘍内および腫瘍間の不均一性に関する時間的および空間的情報を取得<sup>11</sup>
- 解析を繰り返してクローン選択を評価

リキッドバイオプシーは、腫瘍プロファイリングのために血漿からctDNAを含むセルフリーDNA (cfDNA) を得るための非侵襲的アプローチです (図1)。非小細胞肺がん (NSCLC) などの特定のがん種では、組織検査にリキッドバイオプシー由来のCGPを追加することで、バリエーションの同定が15~48%増加します。<sup>13,14,16</sup> さらに、NSCLCの研究では、cfDNA解析が組織由来の解析と高い一致を示すことがわかっています。<sup>14</sup> リキッドバイオプシーは、組織サンプルが限られている場合や入手できない場合の代替手段の必要性から、活発に研究が進められている分野です。<sup>17-19</sup>

ロバストなリキッドバイオプシーアッセイには、ctDNA中の低頻度体細胞変異を検出できる、高感度かつ特異的なアッセイが必要です。従来のTruSight Oncology 500 ctDNAアッセイは、実績のあるIllumina NGSテクノロジーを活用し、高い分析感度を達成することで、このニーズを満たしました。<sup>20</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (表1、表2) は、ケミストリーとワークフローの効率を改善したことで、感度の向上とより迅速な結果の取得を実現しました (表3)。

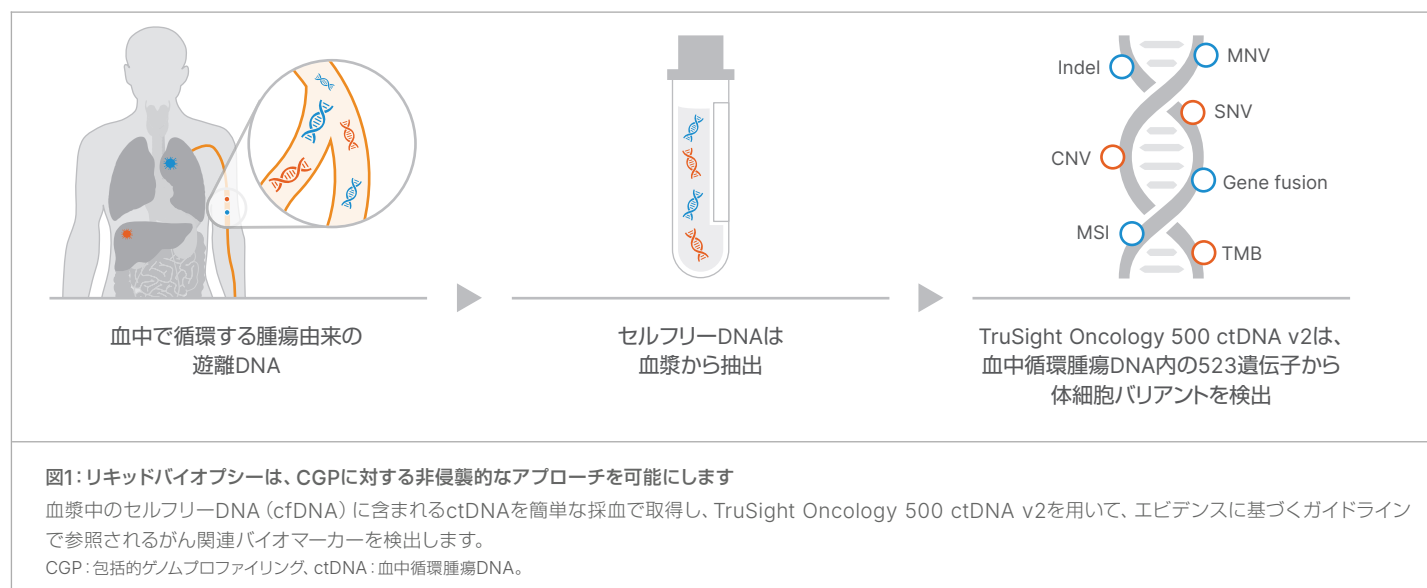


表1:TruSight Oncology 500 ctDNA v2の概要

パラメーター	仕様
システム	NovaSeq Xシリーズ NovaSeq 6000システム NextSeq 6000Dx システム (RUOモード)
サンプルスループット	1回のランにつき4~48サンプル
ライブラリー調製 キットサイズ	24サンプル (手動) 48サンプル (自動化)
フローセルあたりの サンプル数	1.5Bフローセルあたり4サンプル S2フローセルあたり8サンプル 10Bフローセルあたり24サンプル S4フローセルあたり24サンプル
自動化性能	Hamilton NGS STAR MOAおよび Beckman Coulter Life Sciences Biomek i7
パネルサイズ	1.94 Mb DNA
パネルコンテンツ	スモールバリエーションには523遺伝子 CNVには59遺伝子 遺伝子再構成には23遺伝子 MSI (> 2300座位) TMB (> 1 Mb)
サンプルの種類	血漿由来cfDNA
DNAインプット必要量	20 ng cfDNA (5~30 ngも可能) <sup>a</sup>
合計アッセイ時間	ライブラリー調製からバリエーションレポートまで: <ul style="list-style-type: none"> <li>NovaSeq Xシリーズでは3日</li> <li>NovaSeq 6000システムでは4日</li> </ul>
ハンズオンタイム	8~24サンプル (手動): 約2.5時間 8~24サンプル (自動化): 約1.5時間 48サンプル (手動): 約4.5時間 48サンプル (自動化): 約1.5時間
ライブラリー調製 時間 <sup>b</sup>	8~24サンプル (手動): 約8.5時間 8~24サンプル (自動化): 約9.5時間 48サンプル (手動): 約10時間 48サンプル (自動化): 約11時間
シーケンスランタイム	22~44時間 (表5)
シーケンスランの リード長	151 bp × 2
シーケンスカバレッジ	35,000 ×
バリエーション解析時間	8サンプル: 9~12時間 24サンプル: 20~24時間 48サンプル: 40~48時間

a. Agilent TapeStationまたはFragment Analyzerシステムを使用した定量化が推奨されます。インプット量の詳細については、テクニカルノート「[Using lower input amounts with TruSight Oncology ctDNA v2](#)」をお読みください。

b. ライブラリー調製、濃縮、ビーズベースのノーマライゼーションが含まれます。

表2:TruSight Oncology ctDNA v2の性能特性<sup>a</sup>

パラメーター	仕様
LOD	SNVでは0.2% VAF MNVおよびIndelでは0.5% VAF 遺伝子再構成では0.5% VAF 遺伝子増幅では1.3倍以上の変化 遺伝子欠失では0.6倍以下の変化 MSIでは0.3%以上の腫瘍画分
LODでの分析感度	≥ 90% (SNVではLOD 0.2% VAF) ≥ 95% (SNVホットスポットではLOD 0.2% VAF) ≥ 95% (その他すべての種類のバリエーションではLOD 0.5% VAF)
分析特異度	≥ 99.999%

NovaSeq 6000システムおよびNovaSeq Xシリーズで検証済み。  
LOD: 検出限界、MSI: マイクロサテライト不安定性、VAF: バリエーションアリル頻度。

表3:TruSight Oncology 500 ctDNA v2の向上

利点	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA (オリジナル)
アッセイ感度の向上	個別の末端平滑化 ステップとA-tailing ステップによる、より クリーンで効率的な ライブラリー調製	末端平滑化と A-tailingの統合
より効率化された ワークフローと 改善されたユーザー エクスペリエンス	プレートのインデック ス/UMIに より、操作ステップが 削減	チューブのインデック ス/UMI
より迅速な 1日ワークフロー	ハイブリダイゼー ション/キャプチャー が1ステップ	ハイブリダイゼー ションとキャプチャー が2ステップ
スケラビリティの高さ	192種類の インデックス	16種類の インデックス
より幅広いバッチ サイズ	4~48サンプル <sup>a</sup>	8~48サンプル
自動化が有効	有効	無効

a. NovaSeq Xシリーズでは4サンプルずつのバッチを利用できます。  
UMI: 分子バーコード。

## 包括的なコンテンツ

TruSight Oncology 500 ctDNA v2のコンテンツは、権威ある腫瘍学コミュニティと協力して設計されました。このコンテンツには、複数のがん種のエビデンスに基づくガイドラインと臨床試験で参照されている遺伝子を包括的にカバーする、既存および新しいバイオマーカーが含まれています。パネルプローブは、既知および新規の遺伝子再構成の両方を捕捉するように設計されています。パネルに含まれる523個の遺伝子は、現在および将来の腫瘍形成に役割を果たす可能性のあるバリエーションを検出するために選ばれました。バイオマーカーには、1塩基変異 (SNV)、マルチヌクレオチドバリエーション (MNV)、挿入/欠失 (Indel)、コピー数バリエーション (CNV)、遺伝子再構成、および血液ベースのマイクロサテライト不安定性 (bMSI) および血液ベースのTMB (bTMB) などの複雑なIOゲノムシグネチャーが含まれます (表4)。


 全遺伝子リストについては、[TruSight Oncology 500 ctDNA v2製品ページ](#)をご覧ください。

表4: TruSight Oncology 500 ctDNA v2によって検出されるバリエーションタイプの例


バリエーションタイプ	例
SNVとIndel	EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF
遺伝子再構成	ALK, ROS1, NTRK1, NTRK2, RET
CNV	HER2
MSI	MSIスコア
TMB	TMBスコア
CNV: コピー数バリエーション、SNV: 1塩基変異、MSI: マイクロサテライト不安定性、TMB: 腫瘍変異負荷。	

## 迅速かつ統合されたワークフロー

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、サンプルインプットから結果レポートまでの統合型ワークフローの一部です (図2)。自動化対応のライブラリー調製キットとメソッド、バリエーションコールツール、解釈およびレポート作成ソフトウェアの使用によりスムーズなワークフローを実現し、他のリキッドバイオプシーアッセイの半分以上の4日未満で完了できるようになりました (図3)。

### 最適化されたライブラリー調製

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、実績あるIllumina Sequence by Synthesis (SBS) ケミストリーを使用して、わずか20 ngのcfDNAからCGPを可能にし、組織が簡単に入手できない場合や組織解析の補完として使用するのに理想的な代替手段となります。ctDNAはcfDNA全体のごく一部に相当し (多くの場合、5%未満)、シグナルとノイズを分離するには強力な方法が必要となります。超低頻度のバリエーションを同定できるようにするために、ライブラリー調製ではビオチン化プローブとストレプトアビジンでコーティングされた磁気ビーズを用いたターゲット濃縮を使用して、DNAベースのライブラリーから選択されたターゲットを濃縮します (図4)。エラー率を低減させるために、分子バーコード (UMI) も取り込みます。<sup>21</sup>ケミストリーの進歩により、ハイブリダイゼーションの回数が2回から1回に減り、ライブラリー調製のターンアラウンドタイムが1日になり、結果取得までの時間が短縮されました。また、分析感度も0.2%バリエーションアليل頻度 (VAF) まで向上しました。このターゲットハイブリダイゼーションキャプチャーアプローチにより、天然のアليلバリエーションと配列アーティファクトの両方が存在する場合でも、サンプルのドロップアウトが減少します。

 TruSight Oncology ctDNA v2でのわずか5 ngのインプット量の使用について知る。

 UMIについて知る。

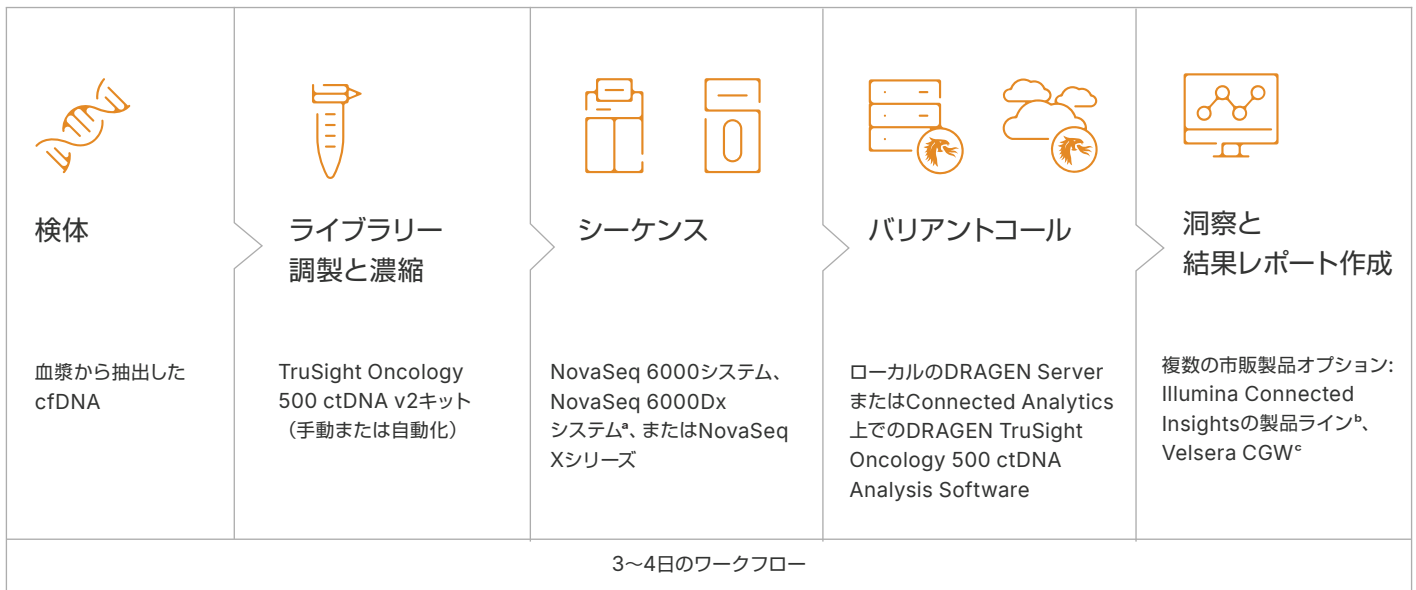


図2: TruSight Oncology 500 ctDNA v2のワークフロー

TruSight Oncology 500 ctDNA v2はラボの既存のワークフローに統合でき、cfDNAからバリエントレポート作成まで4日未満で完了します。DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Softwareは、ローカルのDRAGEN Server上で実行するか、Illumina Connected Analyticsを介してクラウドで実行します。

a. NovaSeq 6000Dx システム (RUOモード)。

b. 一部の国でご利用いただけます。Illumina Connected Insights製品ラインは、サードパーティーのナレッジソースへのAPIコールを通じてユーザー定義の三次解析に対応します。

c. 他のサードパーティーのオプションも利用できます。

CGW: Clinical Genomic Workspace。

### TruSight Oncology 500 ctDNA v2

3～4日

### 市販キット<sup>122</sup>

5日

### 市販キット<sup>223</sup>

8日

図3: TruSight Oncology 500 ctDNA v2を用いたレポートまでの時間短縮

bMSIおよびbTMBのIOバイオマーカーを含むリキッドバイオプシーのCGPアッセイに対するサンプルから結果レポートまでのターンアラウンドタイムの比較。

bMSI: 血液ベースのマイクロサテライト不安定性、bTMB: 血液ベースの腫瘍変異負荷、CGP: 包括的ゲノムプロファイリング、IO: 免疫腫瘍学。

## 自動化対応のワークフロー

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、手動と自動化の両方のライブラリー調製に対応しており、スケーラブルなワークフローを実現しています。イルミナは、共に自動化リキッドハンドラー業界のリーディングカンパニーであるHamilton社およびBeckman Coulter Life Sciences社と提携し、Hamilton NGS STAR MOAおよびBeckman Coulter Biomek i7プラットフォーム上で本アッセイ用の完全自動化ワークフローを開発しました。自動化対応ライブラリー調製キットには、48ライブラリーの調製に十分な試薬が含まれており、自動化システムに要するデッドボリウムを考慮して、試薬のムダを最小限に抑えています。これらの自動化ワークフローによって、手動と同品質の結果が得られる一方で、ハンズオンタイムが約40%短縮されました。さらに、自動化によってラボの人的コストを削減し、業務効率を向上できます。<sup>25</sup>

## パワフルなシーケンス

TruSight Oncology 500 ctDNA v2ライブラリーは、NovaSeq 6000システム、NovaSeq 6000Dx システム (RUOモード)、またはNovaSeq Xシリーズでシーケンスします。NovaSeq Xシリーズは、より高速なワークフローを提供し、NovaSeq 6000システムと比較してシーケンス時間を約40%短縮します (表5)。使用するプラットフォームに関係なく、感度を高めるために、高深度 (最高35,000倍でサンプルあたり400Mリード) でシーケンスが行われます。その結果、SNVについては0.2% VAFで、90%以上の分析感度と99%以上の分析特異度でバリエーションを検出できるようになりました (表6)。さらに、NovaSeq Xシリーズは、サンプルあたりのシーケンスコストを削減することで、経済性を革新します。<sup>26</sup>

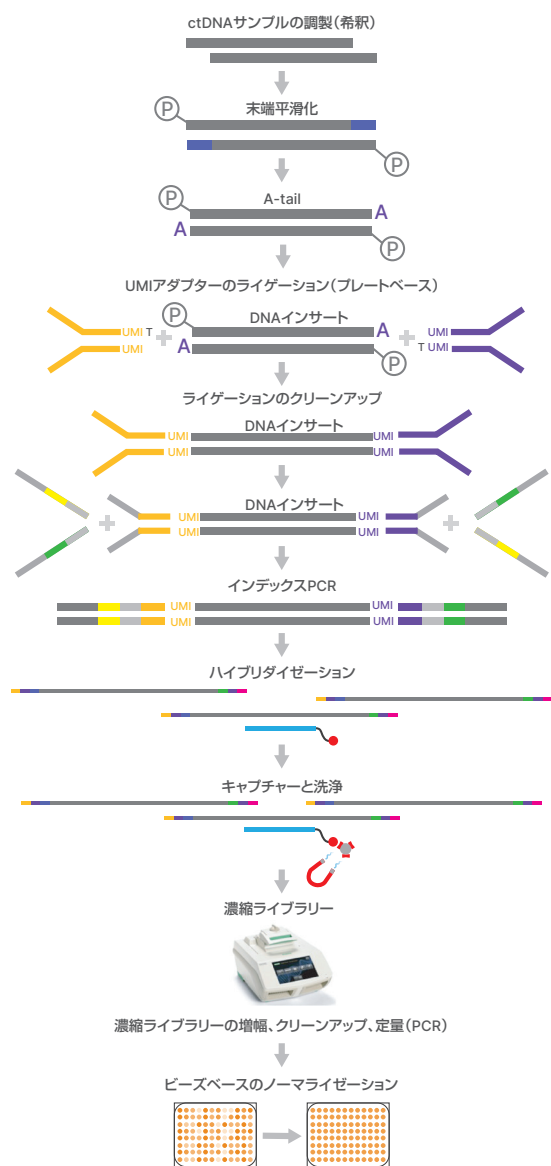


図4: UMIベースのハイブリダイズキャプチャーによるライブラリー調製  
ターゲット濃縮では、高い結合特異性を与えるだけでなく、バリエーションを含む配列をターゲットとする場合でもハイブリダイゼーションできるようにデザインされたプローブを使用できます。UMIの付加によりエラー率を低減して分析特異度を高め、より高い信頼度を示すバリエーションコールを生成します。<sup>24</sup>  
UMI: 分子バーコード。



表5：シーケンスラン時間の見積もり

システム	NovaSeq 6000システム <sup>a</sup>		NovaSeq Xシリーズ	
フローセル	S2	S4	1.5B	10B
サンプル数	シーケンスランタイム（フローセル数）			
4	-	-	22時間 (1)	-
8	36時間 (1)	-	22時間 (2)	-
24	-	44時間 (1)	-	25時間 (1)
48	-	44時間 (2)	-	25時間 (2)

a. シーケンスラン時間は、RUOモードのNovaSeq 6000Dx システムに適用されます。

表6：低アレル頻度のバイオマーカーの正確な検出<sup>a</sup>

バリエーションタイプ	分析感度 <sup>b</sup>	分析特異度 <sup>c</sup>
スモールヌクレオチド ( $\geq 0.2\%$ VAF)	$\geq 90\%$	$\geq 99.9994\%$
マルチヌクレオチド バリエーション ( $\geq 0.5\%$ VAF)	$\geq 90\%$	$\geq 95\%$
挿入/欠失 ( $\geq 0.5\%$ VAF)	$\geq 90\%$	$\geq 95\%$
遺伝子増幅 (1.3倍以上の変化)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
遺伝子欠失 (0.6倍以下の変化)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
遺伝子再構成 ( $\geq 0.5\%$ )	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
MSI Highの検出 (0.3%以上の腫瘍画分)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$

a. NovaSeq 6000システムおよびNovaSeq Xシリーズでの性能特性検証済み。  
b. 分析感度は、指定されたバリエーションレベルでの検出割合 (%) として定義されます。  
c. 分析特異度は、既知の陰性を検出する能力として定義されます。

## 正確かつ迅速な解析

### 包括的で効率的なバリエーションコール

DRAGEN<sup>TM</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Softwareは、統合された高速アルゴリズムを使用して、配列のアライメント、リード統合によるエラー補正を行い、生データに基づくバリエーションコールを実施します。重複リードとシーケンスエラーは、低頻度バリエーションのシグナルを失うことなく除去され、高感度のバリエーションコール結果が得られます。

PCRベースのアッセイからの定性的結果とは異なり、DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA解析パイプラインは、2,300を超えるホモポリマーMSIマーカー座位に由来する定量的bMSIスコアを提供します。bTMB解析の場合、DRAGENパイプラインは、非同義および同義のSNVとIndelの両方を測定することで感度を最適化します。バリエーションコールとエラー補正の後、生殖細胞系列バリエーション、低信頼度バリエーション、およびクローン性造血に関連するバリエーションをフィルタリングすることにより、bTMB測定の精度をさらに向上させます。

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Softwareは、ローカルのIllumina DRAGEN Server v4上で実行するか、データ転送と解析の起動を自動で行うIllumina Connected Analytics (ICA) を介してクラウドで実行します。この安全でスケーラブルなクラウドベースのソリューションは、ローカルのインフラ取得と維持の必要がなく、二次解析に対応しています。<sup>27</sup> DRAGENパイプラインにより、データ解析時間が約85%短縮します (表7)。

表7：S4フローセルを使用した24サンプルのデータ解析の短縮時間

データ解析ステップ	ソリューション <sup>a</sup>	DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software
Bcl変換	6時間	1時間
アライメント + collapsing + 再アライメント	170時間	11時間
遺伝子再構成コール	10時間	2時間
バリエーションコール	24時間	8時間
合計時間	~9日	~20時間 (~85%短縮)

a. シングルノード (128Gメモリー、24コアCPU)、非並列パイプライン。

### 効率的なデータ解釈

二次解析を介してバリアントのクラスとバイオマーカーのタイプを同定した後の次のステップでは、生物学的に意義のある洞察を抽出します。データ解釈にはIllumina Connected Insights\*、Velsera Clinical Genomics Workspace (CGW)、サードパーティーアプリなどのツールを使用できます。

Illumina Connected Analyticsによりローカルまたはクラウドで生成されたバリアントコーリングファイルは、Illumina Connected Insightsに自動的に取り込むことができます。シーケンスシステム統合やIllumina Connected Analyticsの自動起動機能を用いることで、解析ワークフロー全体が完全に自動化され、手作業によるデータ転送を行わず、最終的な、カスタマイズ可能な結果レポートを生成できます。

## 信頼性の高い再現可能な結果

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、cfDNAサンプル中に低アレル頻度のゲノムバリアントとバイオマーカーが存在する場合でも、高い感度で検出します。TruSight Oncology 500 ctDNA v2で達成された高品質な結果を実証するために、スモールDNAバリアント、CNV、遺伝子再構成、TMB、およびMSIをコールする能力を評価するさまざまな試験を実施しました。性能特性結果はNovaSeq 6000システムおよびNovaSeq Xシリーズで検証されました。

---

\*すべての国で利用可能とは限りません。Illumina Connected Insightsは、サードパーティーのナレッジソースへのAPIコールを通じてユーザー定義の三次解析に対応します。

## SNVとIndel

ターゲット濃縮ケミストリーの利点の1つは、高い結合特異性を与えるのに十分な大きさでありながら、小さな変異を含むターゲットに対してもハイブリダイゼーションできるようにデザインされたプローブを使用できることです。SNVは複数のがん種にわたるがん感受性と関連しているため、CGP法でこれらのバリアントを微量でも確実に検出する必要があります。TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、VAFがそれぞれ0.2%または0.5%で存在するSNVとIndelを高い再現性で検出します (図5および図6)。

## CNV

遺伝子およびがん種におけるコピー数の変化は、腫瘍形成に関連しています。<sup>27</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、59のCNV関連遺伝子の解析を含み、増幅に対しては1.3倍以上の増幅を、欠失に対しては0.6倍以下での検出限界からコールできます (表8)。

## 遺伝子再構成

遺伝子再構成はがんの主要なゲノムドライバーであるため、疾患メカニズムを調べる研究には、高感度な検出能力が不可欠です。TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、低濃度で存在する場合でも、融合パートナーに依存しない遺伝子再構成の検出と同定を実現します (表9)。



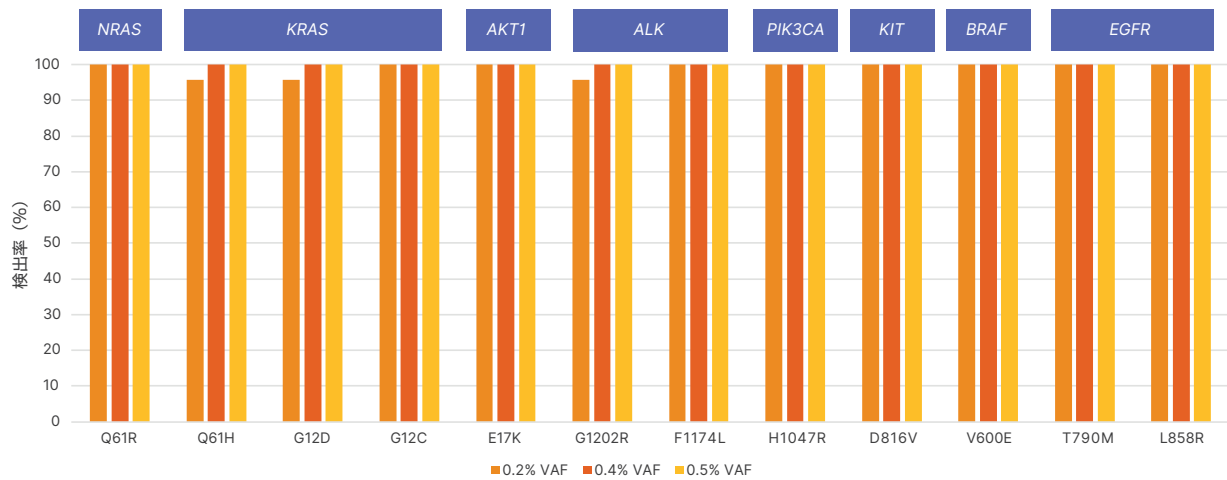


図5: LOD (0.2% VAF) での主要なSNVに対する高い解析性能

既知のSNVを含む合成コントロールサンプルを、0.20%~0.50% VAFの範囲の値に希釈し、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析しました。SNVは、わずか0.2% VAFという低いレベルでも確実に検出できました。表示の結果はNovaSeq 6000システムで生成されたものであり、NovaSeq Xシリーズでも同等の性能が確認されました。

SNV: 1塩基変異、VAF: バリエーションアリル頻度。

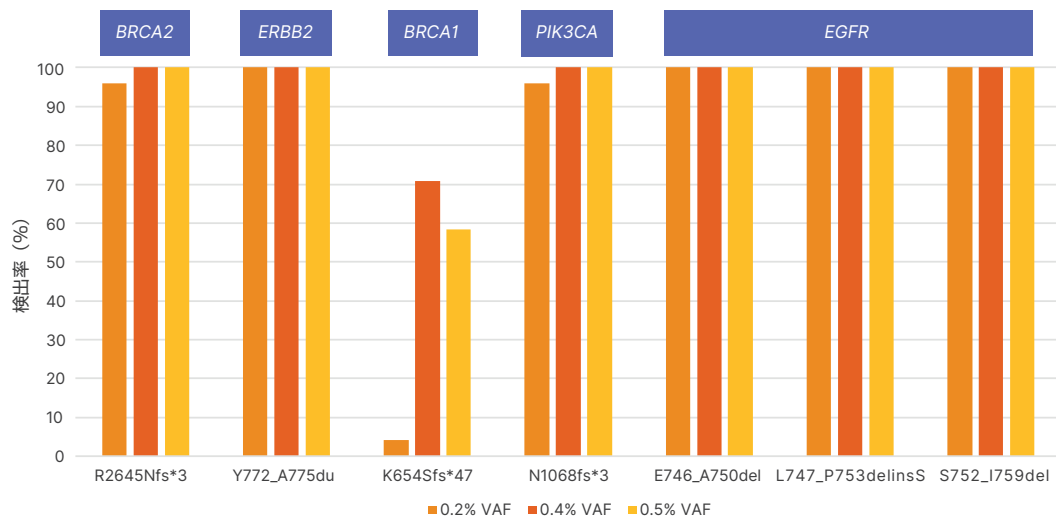


図6: LOD (0.5% VAF) でのIndelに対する高い解析性能

既知の挿入欠失 (Indel) を含む合成コントロールサンプルを、0.20%~0.50% VAFの範囲の値に希釈し、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析しました。Indelは0.2% VAFまで確実に検出できましたが、BRCA1では、バリエーションが高度にホモポリマー化されている領域内にあり、高レベルのバックグラウンドノイズが生じるため低い検出値を示しました。表示の結果はNovaSeq 6000システムで生成されたものであり、NovaSeq Xシリーズでも同等の性能が確認されました。

VAF: バリエーションアリル頻度。

表8：CNVに対するTruSight Oncology 500 ctDNA v2の分析性能特性

遺伝子	期待される倍率変化	観察された倍率変化	検出率
増幅			
ERBB2	1.5	1.50	100%
MET	1.5	1.55	100%
MYC	1.5	1.27	100%
ERBB2	1.4	1.73	100%
MET	1.4	1.46	100%
MYC	1.4	1.22	100%
ERBB2	1.3	1.35	100%
MET	1.3	1.38	100%
MYC	1.3	1.19	8%
ERBB2	1.2	1.19	100%
MET	1.2	1.22	100%
MYC	1.2	N/A	0
欠失			
BRCA1	0.85	0.86	16%
BRCA2	0.85	N/A	0
BRCA1	0.80	0.79	100%
BRCA2	0.80	0.80	100%
BRCA1	0.70	0.69	100%
BRCA2	0.70	0.69	100%
既知の遺伝子増幅を含む合成コントロールから生成したサンプル、および既知の欠失を含む十分に特性が明らかにされた細胞株由来のサンプルについて、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用し、3つのVAFレベルにわたって評価しました。本アッセイにより、増幅では1.3倍以上の変化、欠失では0.6倍以上の変化のLODが実証され、期待される結果と観察結果との間で高い一致が確認されました。シーケンスデータはNovaSeq 6000システムで得られたものであり、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。 CNV：コピー数バリエーション、LOD：検出限界、N/A：該当なし。			

表9：遺伝子再構成に対するTruSight Oncology 500 ctDNA v2の分析性能特性

融合遺伝子	期待されるVAF	観察されたVAF	検出率
ALK:EML4	0.60%	0.48%	100%
GOPC;ROS1:CD74	0.60%	0.39%	100%
RET:NCOA4	0.60%	0.31%	100%
ALK:EML4	0.50%	0.43%	100%
GOPC;ROS1:CD74	0.50%	0.33%	100%
RET:NCOA4	0.50%	0.27%	100%
ALK:EML4	0.40%	0.36%	100%
GOPC;ROS1:CD74	0.40%	0.24%	100%
RET:NCOA4	0.40%	0.19%	100%
ALK:EML4	0.20%	0.18%	88%
GOPC;ROS1:CD74	0.20%	0.11%	100%
RET:NCOA4	0.20%	0.12%	83%
TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、3つの既知のDNA融合遺伝子をわずか0.2% VAFまで希釈した状態でも確実に検出し、遺伝子再構成に対するLODは0.5%を示しました。シーケンスデータはNovaSeq 6000システムで得られたものであり、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。 LOD：検出限界、VAF：バリエーションアリル頻度。			

## IO遺伝子シグネチャー：MISおよびTMB

MSIおよびTMBの検出には、多数のゲノム座位にわたる解析が必要です。TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、2,300を超えるホモポリマー部位（長さ6～7 bp）についてNGSベースの評価を可能にし、エラー率を低減し、ホモポリマーシーケンスで一般的に見られる偽陽性を最小限に抑えます。<sup>27</sup> 高感度なライブラリー調製ケミストリーと高度なバイオインフォマティクスを備えたTruSight Oncology 500 ctDNA v2は、0.3%までの腫瘍画分からMSI検出を実現します（図7）。

低い変異レベルにおける精確で再現性の高いbTMB値を得ることは、小さなパネルでは困難な場合もあります。<sup>7</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、1.94 Mb/パネルによる広範なゲノムカバレッジと高度なバイオインフォマティクスを組み合わせることで、この課題を克服します。独自のDRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNAパイプラインは、生殖系列とクローン性造血関連バリエーションに最適化されたフィルタリングを適用して除外し、高い一致を示すTumor-onlyワークフローとTumor-Normalワークフローを実現します（ $R^2 = 0.992$ ）（図8）。<sup>28</sup>

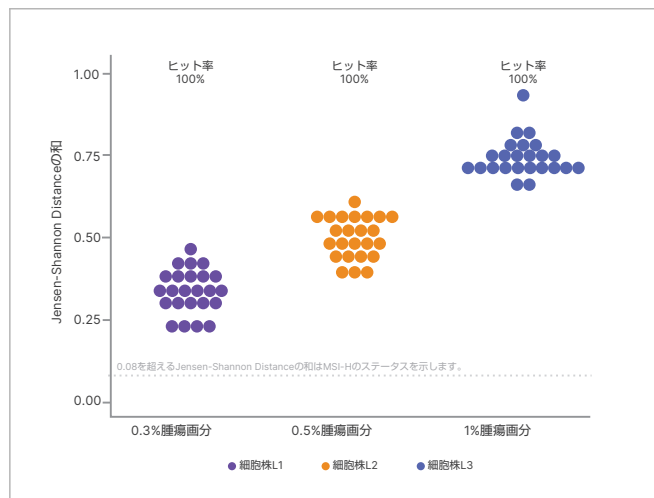


図7：リキッドバイオシーは、CGP向けの非侵襲的なアプローチを可能にします

腫瘍画分は、既知のMSI-Hステータスを持つヌクレオソーム調製細胞株を野生型細胞のバックグラウンドに希釈して生成しました。MSIの高い分析感度は、独自のDRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Softwareによって達成されました。2,300を超えるホモポリマー座位を評価しました。シーケンスデータはNovaSeq 6000システムで得られたものであり、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。CGP：包括的ゲノムプロファイリング、MSI：マイクロサテライト不安定性、MSI-H：マイクロサテライト不安定性高

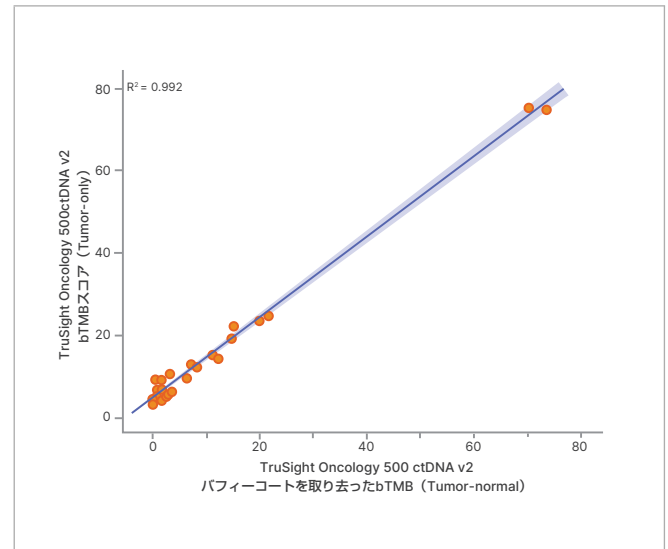


図8：Tumor-onlyワークフローとTumor-Normalワークフロー間のbTMBデータの高い一致

TruSight Oncology 500 ctDNA v2を用いて作成された腫瘍のみのbTMBスコアは、血漿およびパフィーコートcfDNAを用いた腫瘍と正常のペアワークフローから作成されたbTMBスコアと高い一致を示しました。シーケンスデータはNovaSeq 6000システムで得られたものであり、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。bTMB：血液ベースの腫瘍変異負荷。

## 製品特性のさらなる向上

イルミナはラボの運用が円滑に行われるよう、高いレベルのサービスとサポートを提供します。より高い効率を実現するために、TruSight Oncology 500 ctDNA v2は以下の機能を備えています：

- 事前変更通知：TruSight Oncology 500 ctDNA v2に重大な変更が加えられる6カ月前に通知します。
- 分析証明書：TruSight Oncology 500 ctDNA v2には、所定の製品リリース仕様と品質スタンダードを満たしていることを確認する、分析証明書（CoA）が含まれています。
- 有効期間の延長：TruSight Oncology 500 ctDNA v2試薬の品質保持期限は3カ月以上であり、製品の有効期限切れのリスクを軽減し、柔軟な検査スケジュールに対応します。
- シングルロット出荷：TruSight Oncology 500 ctDNA v2の手動キットは、ロットの適格性検査と受入QCテストの負担を軽減するために、シングルロット出荷が可能です。自動化キットのご要望については、カスタマーケアを通じて個別に対応する場合があります。

## リキッドバイオブシーからCGPを可能にする統合ソリューション

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、現行のガイドラインと臨床試験からのエビデンスに沿って、血漿サンプルから数百のがん関連バイオマーカーを同時に解析できる、NGSベースのマルチプレックスアッセイです。この包括的なアッセイは、さまざまながん種に関連する523遺伝子にわたり、血液中の複数のバリエーションタイプを検出します。また、bTMB、bMSI、*NTRK*、*ROS1*を含むIOおよび新たなバイオマーカーを単一サンプルから評価でき、反復検査の必要を削減します。

アッセイケミストリーの改良と対応シーケンスシステムの拡大により、全体のターンアラウンドタイムは3日～4日に短縮され、インプットの必要量は20 ng cfDNAに減少し、検出限界は0.2% VAF (SNVの場合) に低下しました。自動化対応ワークフローにより、ハンズオンタイムがさらに短縮され、ラボ人員の負担が最小限に抑えられ、全体的な効率が向上します。TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、広範なゲノムコンテンツ、実績のあるシーケンス技術、強化されたソフトウェアを組み合わせることでCGPベースの研究を簡素化するとともに、リキッドバイオブシー研究において優れた性能を提供します。

詳細はこちら →

[TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#)

[NovaSeq Xシリーズ](#)

[NovaSeq 6000システム](#)

[NovaSeq 6000Dx システム](#)

[DRAGEN二次解析](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

[イルミナの自動化ソリューション](#)

## 製品情報：ライブラリー調製キット（手動）

製品	カタログ番号
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples)	20105899
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105901
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105902
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105905
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105907
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105908
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	20105911
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105913
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105914

## 製品情報：ライブラリー調製キット（自動化）

製品	カタログ番号
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples)	20105900
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105903
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105904
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105906
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105909
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105910
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	20105912
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105915
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105916

## 製品情報：インデックスアダプター

製品	カタログ番号
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034701
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034702
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set A for Automation	20066404
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set B for Automation	20063213

## 製品情報：シーケンス試薬

製品	カタログ番号
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312
NovaSeq X Series 1.5B Reagent Kit (300 cycles)	20104705
NovaSeq X Series 10B Reagent Kit (300 cycles)	20085594

## 製品情報：解析

製品	カタログ番号
ローカルのバリエーションレポート作成	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
クラウドベースのバリエーションレポート作成	
ICA Basic Annual Subscription	20044874
ICA Professional Annual Subscription	20044876
ICA Enterprise Annual Subscription	20038994
ICA Enterprise Compliance Add-on	20066830
Subscription ICA Training and Onboarding	20049422
バリエーション解釈	
Illumina Connected Insights – Annual Subscription	20090137
Illumina Connected Insights-Research – Annual Subscription	20112516
Illumina Connected Insights – Oncology Genome Equivalent Samples (VCF)	20090138
Illumina Connected Insights Training – Remote	20092376
インフォマティクスプロフェッショナルサービス	20071787
クラウドストレージ	
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package – 1000 iCredits	20042039
Illumina Analytics – 5000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100,000 iCredits	20042042



## 参考文献

1. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. [Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer](#). *Ann Oncol*. 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208
2. Yu TM, Morrison C, Gold EJ, Tradonsky A, Layton AJ. [Multiple biomarker testing tissue consumption and completion rates with single-gene tests and investigational use of OncoPrint Dx Target Test for advanced non-small-cell lung cancer: a single-center analysis](#). *Clin Lung Cancer*. 2019;20(1):20-29.e8. doi:10.1016/j.clcc.2018.08.010
3. Reitsma M, Fox J, Borre PV, et al. [Effect of a collaboration between a health plan, oncology practice, and comprehensive genomic profiling company from the payer perspective](#). *J Manag Care Spec Pharm*. 2019;25(5):601-611. doi:10.18553/jmcp.2019.18309
4. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. [Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients](#) [published correction appears in *Nat Med*. 2017 Aug 4;23 (8):1004]. *Nat Med*. 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333
5. Kopetz S, Mills Shaw KR, Lee JJ, et al. [Use of a targeted exome next-generation sequencing panel offers therapeutic opportunity and clinical benefit in a subset of patients with advanced cancers](#). *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00213. doi:10.1200/PO.18.00213
6. Drilon A, Wang L, Arcila ME, et al. [Broad, hybrid capture-based next-generation sequencing identifies actionable genomic alterations in lung adenocarcinomas otherwise negative for such alterations by other genomic testing approaches](#). *Clin Cancer Res*. 2015;21(16):3631-3639. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2683
7. Buchhalter I, Rempel E, Endris V, et al. [Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis](#). *Int J Cancer*. 2019;144(4):848-858. doi:10.1002/ijc.31878
8. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, et al. [Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden](#). *Genome Med*. 2017;9(1):34. doi:10.1186/s13073-017-0424-2
9. Hagemann IS, Devarakonda S, Lockwood CM, et al. [Clinical next-generation sequencing in patients with non-small cell lung cancer](#). *Cancer*. 2015;121(4):631-639. doi:10.1002/cncr.29089
10. Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. [Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies](#). *Sci Transl Med*. 2014;6(224):224ra24. doi:10.1126/scitranslmed.3007094
11. Saarenheimo J, Eigeliene N, Andersen H, Tirola M, Jekunen A. [The value of liquid biopsies for guiding therapy decisions in non-small cell lung cancer](#). *Front Oncol*. 2019;9:129. doi:10.3389/fonc.2019.00129
12. Rapisuwon S, Vietsch EE, Wellstein A. [Circulating biomarkers to monitor cancer progression and treatment](#). *Comput Struct Biotechnol J*. 2016;14:211-222. doi:10.1016/j.csbj.2016.05.004
13. Aggarwal C, Thompson JC, Black TA, et al. [Clinical implications of plasma-based genotyping with the delivery of personalized therapy in metastatic non-small cell lung cancer](#). *JAMA Oncol*. 2019;5(2):173-180. doi:10.1001/jamaoncol.2018.4305
14. Leighl NB, Page RD, Raymond VM, et al. [Clinical utility of comprehensive cell-free DNA analysis to identify genomic biomarkers in patients with newly diagnosed metastatic non-small cell lung cancer](#). *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
15. Palmero R, Taus A, Viteri S, et al. [Biomarker discovery and outcomes for comprehensive cell-free circulating tumor DNA versus standard-of-care tissue testing in advanced non-small cell lung cancer](#). *JCO Precision Oncology*. 2021;5:93-102. doi:10.1200/PO.20.00241
16. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. [Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: Analysis of over 8000 cases](#). *Cancer*. 2020;126(14):3219-3228. doi:10.1002/cncr.32876
17. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. [Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the International Association for the Study of Lung Cancer](#). *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662. doi:10.1016/j.jtho.2021.06.017
18. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. [Recommendations for the use of next-generation sequencing \(NGS\) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group](#). *Ann Oncol*. 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014
19. Pascual J, Attard G, Bidard FC, et al. [ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group](#). *Ann Oncol*. 2022;33(8):750-768. doi:10.1016/j.annonc.2022.05.520
20. Illumina. TruSight Oncology 500 ctDNA data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf). Accessed September 20, 2023.

21. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf). Published 2018. Accessed September 20, 2023.
22. Roche. AVENIO ctDNA Analysis Kits. [Sequencing. sequencing. roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html](https://roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html). Accessed September 20, 2023.
23. Personal Genome Diagnostics. PGDx elio plasma complete. [personalgenome.com/products/elio-plasma-complete](https://personalgenome.com/products/elio-plasma-complete). Accessed September 20, 2023.
24. Illumina. Sequencing accuracy with Unique Molecular Identifiers. [illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html](https://illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html). Accessed September 20, 2023.
25. Socea JN, Stone VN, Qian X, Gibbs PL, Levinson KJ. [Implementing laboratory automation for next-generation sequencing: benefits and challenges for library preparation](https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1195581). *Front Public Health*. 2023;11:1195581. doi:10.3389/fpubh.2023.1195581
26. Data on file. Illumina, Inc. 2024.
27. Beroukhi R, Mermel CH, Porter D, et al. [The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers](https://doi.org/10.1038/nature08822). *Nature*. 2010;463(7283):899-905. doi:10.1038/nature08822
28. Illumina. Analysis of TMB and MSI status with TruSight Oncology 500 application note. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf). Published 2018. Accessed September 20, 2023.

## イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階  
Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810  
[jp.illumina.com](http://jp.illumina.com)

 [www.facebook.com/illuminakk](https://www.facebook.com/illuminakk)

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : [jp.illumina.com/tc](https://jp.illumina.com/tc)

© 2025 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc. または各所有者に帰属します。  
商標および登録商標の詳細は [jp.illumina.com/company/legal.html](https://jp.illumina.com/company/legal.html) をご覧ください。  
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

**illumina**<sup>®</sup>