

TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

액체 생검 샘플을 활용한
신속하고 높은 민감도의 CGP



20 ng의 ctDNA
(5~30 ng 사용 가능)를
사용해 최저 0.2%의
낮은 VAF로 존재하는
바이오마커 검출 가능



수동 또는 자동 옵션을 통해
4일 안에 포괄적인 결과 획득



하나의 assay로 500개
이상의 유전자와 MSI,
TMB 등의 IO genomic
signature 분석 가능



NovaSeq™ X 시리즈
사용 시 획기적인 경제성
실현 및 최소 4개의 샘플로
구성된 배치 크기 선택 가능

CGP 연구 시 ctDNA와 액체 생검의 가치

암의 유전체학적 근거를 이해하면 암을 유발하는 변이를 더 쉽게 찾아내고 바이오마커(biomarker)의 발견 및 정밀의료(precision medicine)의 발전에도 기여할 수 있습니다. 종양학 연구에 활용해 볼 수 있는 대표적인 도구로는 포괄적인 유전체 프로파일링(comprehensive genomic profiling, CGP)이 있습니다. 차세대 시퀀싱(Next-generation sequencing, NGS)은 연구자가 하나의 assay로 더 적은 수의 샘플을 사용해 다양한 바이오마커를 연구하고 반복적인 실험을 요구하는 전략에 비해 더 신속하게 결과를 얻게 해 주어 CGP의 성능을 한층 더 향상시켜 줍니다.^{1,2} 연구자는 CGP를 통해 단일 유전자(single gene) 검사나 핫스팟 NGS 패널(hotspot NGS panel)과 같은 기존의 방법보다 더 많은 관심 변이를 탐구해 볼 수 있습니다.³⁻⁶ 특히 대형 NGS 패널(> 1 Mb)이 있어야 정확한 식별이 가능한 종양 변이 부담(tumor mutational burden, TMB)과 같은 면역항암제(immuno-oncology, IO) genomic signature를 비롯해 발견되는 바이오마커의 수가 계속해서 증가하고 있는 지금, 더 많은 변이를 검출할 수 있는 능력에 대한 중요성이 더욱더 대두되고 있습니다.^{7,8}

일반적인 CGP 연구 방법에는 포르말린 고정, 파라핀 포매(formalin-fixed, paraffin-embedded, FFPE) 샘플과 같은 고형 종양 조직 샘플이 주로 사용됩니다. 그러나 실제 많게는 25%의 케이스에서는 조직이 실험에 부적합하거나, 종양에 접근하기 어렵거나, 프로세스가 적절한 기간 내에 결과를 도출하지 못합니다. 이러한 경우 혈액 기반 액체 생검(liquid biopsy)을 통해 얻은 순환 종양 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)로 CGP 연구를 수행하면 종양의 유전체학적 배경을 살펴볼 수 있습니다. ctDNA는 모든 암 병기에 걸쳐 폐암, 유방암, 대장암, 난소암 등 다양한 고형암에서 검출되는 것으로 보고되었습니다.¹⁰

ctDNA는 CGP 연구 시 많은 장점을 제공합니다.

- 최소 침습 채혈을 통해 손쉽게 샘플 수집¹¹
- 여러 종양 또는 동일한 종양에서 클론(clone)을 포함하여¹² 고형 종양 조직 생검 시 발생하는 샘플링 편향(sampling bias)을 피하고 더 많은 변이를 검출할 수 있음¹²⁻¹⁵
- 종양 내 및 종양 간 이질성(heterogeneity)에 대한 시공간적 정보 획득¹¹
- 클론 선별 확인을 위한 반복 분석 가능

액체 생검을 활용하면 종양 프로파일링 시 비침습적인 접근 방식을 통해 혈장에서 ctDNA를 포함하는 세포유리 DNA(cell-free DNA, cfDNA)를 얻을 수 있습니다(그림 1). 비소세포폐암(Non-small cell lung cancer, NSCLC)과 같은 일부 암종의 경우, 조직 분석 시 액체 생검을 활용한 CGP 연구를 추가로 실시하면 임상적 관련이 있는 변이의 검출력을 15~48% 높일 수 있습니다.^{13,14,16} 또한 몇 건의 NSCLC 연구를 통해 cfDNA 분석과 조직 기반의 분석 간 높은 일치율이 확인되었습니다.¹⁴ 액체 생검은 조직 샘플이 충분하지 않거나 없는 상황에서 조직 생검의 대안으로 활발하게 연구되고 있는 분야입니다.¹⁷⁻¹⁹

강력한 액체 생검 assay란 ctDNA에 낮은 빈도로 존재하는 체세포(somatic) 변이를 검출할 수 있는 매우 높은 민감도(sensitivity)와 특이도(specifity)를 제공하는 assay입니다. 기존의 TruSight Oncology 500 ctDNA assay는 입증된 Illumina의 NGS 기술을 활용하여 이러한 요구 사항을 충족하는 분석 민감도를 제공했습니다.²⁰ TruSight Oncology 500 ctDNA v2(표 1 및 표 2)는 그보다 더 향상된 chemistry와 워크플로우 효율성을 바탕으로 분석 민감도는 높이고 결과 보고까지 소요되는 시간을 단축해 줍니다(표 3).

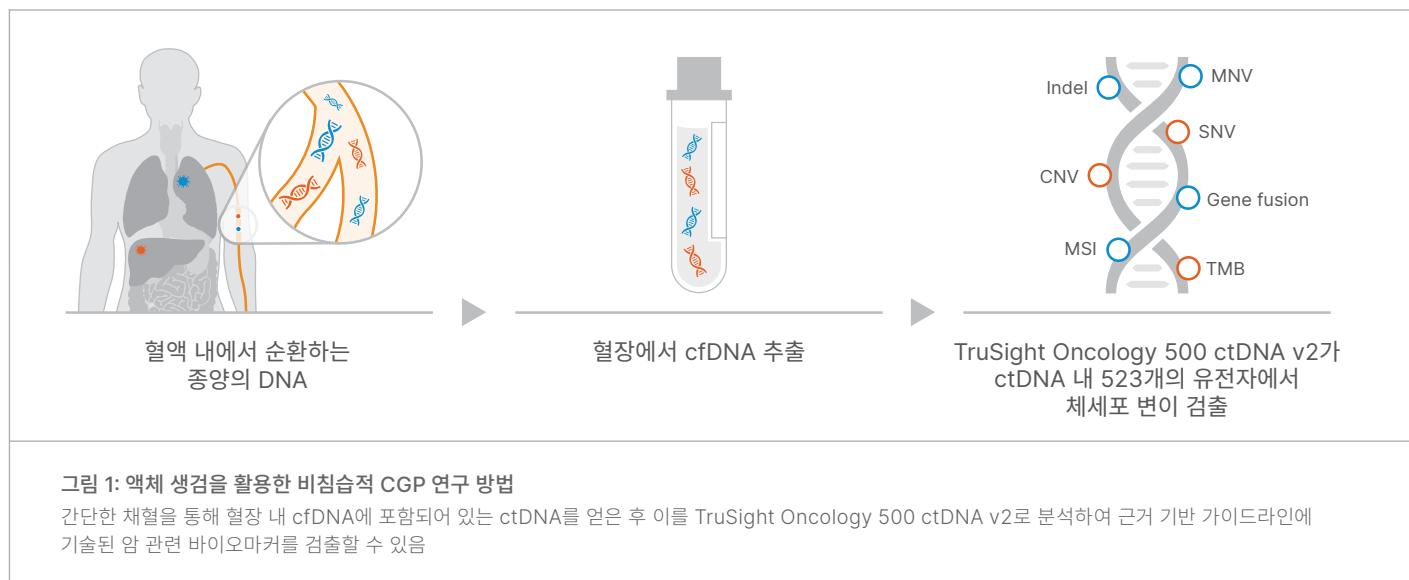


표 1: TruSight Oncology 500 ctDNA v2의 사양

파라미터	사양
시퀀싱 시스템	NovaSeq X 시리즈 NovaSeq 6000 시스템 NovaSeq 6000Dx 시스템(RUO Mode)
샘플 처리량	런(Run)당 4~48개의 샘플
라이브러리 프렙 키트 크기	24-sample(수동) 48-sample(자동)
플로우 셀당 처리 가능한 샘플 수	1.5B 플로우 셀당 샘플 4개 S2 플로우 셀당 샘플 8개 10B 플로우 셀당 샘플 24개 S4 플로우 셀당 샘플 24개
자동화 지원	Hamilton NGS STAR MOA 및 Beckman Coulter Life Sciences Biomek i7
패널 크기	1.94 Mb DNA
패널 콘텐츠	SNV & Indel: 523 genes CNV: 59 genes Gene rearrangement: 23 genes MSI(> 2300 loci) TMB(> 1 Mb)
샘플 유형	혈장에서 유래된 cfDNA
DNA 사용량	cfDNA 20 ng(5~30 ng 사용 가능) ^a
Assay 소요 시간	라이브러리 준비부터 변이 보고까지 소요 시간 <ul style="list-style-type: none"> NovaSeq X 시리즈: 3일 NovaSeq 6000 시스템: 4일
수작업 시간	샘플 8~24개(수동): 약 2.5시간 샘플 8~24개(자동): 약 1.5시간 샘플 48개(수동): 약 4.5시간 샘플 48개(자동): 약 1.5시간
라이브러리 준비 시간 ^b	샘플 8~24개(수동): 약 8.5시간 샘플 8~24개(자동): 약 9.5시간 샘플 48개(수동): 약 10시간 샘플 48개(자동): 약 11시간
런 타임(Run Time)	22~44시간(표 5)
리드 길이 (Read Length)	2 × 151 bp
시퀀싱 커버리지 (Coverage)	35,000×
변이 분석 시간	샘플 8개: 9~12시간 샘플 24개: 20~24시간 샘플 48개: 40~48시간

- a. Agilent사의 TapeStation 시스템 또는 Fragment Analyzer 시스템으로 정량 권장.
사용량에 대한 자세한 정보는 [Using lower input amounts with TruSight Oncology ctDNA v2 Technical Note](#) 참조
b. 라이브러리 준비, 인리치먼트(enrichment), 비드(bead) 기반 정규화(normalization) 단계 포함

표 2: TruSight Oncology ctDNA v2의 성능^{a,b}

파라미터	사양
검출 한계(Limit of Detection, LOD)	SNV: 0.2% VAF MNV & Indel: 0.5% VAF Gene rearrangement: 0.5% VAF Gene amplification: ≥ 1.3-fold change Gene deletion: ≤ 0.6-fold change MSI: ≥ 0.3% tumor fraction
분석 민감도 (LOD 측정 시)	≥ 90%(0.2% VAF의 SNV에 대한 LOD 측정 시) ≥ 95%(0.2% VAF의 SNV 핫스팟에 대한 LOD 측정 시) ≥ 95%(0.5% VAF의 기타 모든 변이 타입에 대한 LOD 측정 시)
분석 특이도	≥ 99.999%

a. NovaSeq 6000 시스템 및 NovaSeq X 시리즈를 사용해 검증된 결과
b. Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음
LOD = limit of detection(검출 한계), MSI = microsatellite instability(현미부수체 불안정성), VAF = variant allele frequency(대립유전자 빈도)

표 3: TruSight Oncology 500 ctDNA v2의 향상된 기능

장점	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA(기존)
향상된 Assay 민감도	말단 복구(End repair) 단계와 A-테일링(A-tailing) 단계의 분리로 더 명확하고 효율적인 라이브러리 준비 단계 제공	말단 복구 단계와 A-테일링 단계 통합
간소해진 워크플로우와 향상된 사용자 경험	플레이트 기반 인덱스/UMI로 작업 단계 감소	튜브 기반 인덱스/UMI
하루 안에 완료되는 신속한 워크플로우	한 번의 하이브리드화(hybridization)/캡처 단계	두 번의 하이브리드화 및 캡처 단계
강화된 확장성	인덱스 192개	인덱스 16개
증가된 배치 크기	샘플 4~48개 ^a	샘플 8~48개
자동화 지원 여부	O	X

a. NovaSeq X 시리즈 사용 시 4개의 샘플로 구성된 배치 선택 가능
UMI = unique molecular identifier(고유한 분자 식별자)

포괄적인 연구용 콘텐츠

종양학 분야의 유수한 기관들과 공동 설계한 TruSight Oncology 500 ctDNA v2의 콘텐츠는 기존의 바이오마커와 새로운 바이오마커를 포함할 뿐만 아니라 근거 기반 가이드라인 및 다양한 종류의 암 임상 연구에서 언급된 유전자에 대한 포괄적인 커버리지도 제공합니다. 패널 프로브는 알려진 gene rearrangement(유전자 재배열)과 새로운 gene rearrangement를 모두 고려하여 설계되었으며, 현재 그리고 향후 종양 형성(tumorigenesis)에 관여할 가능성이 있는 변이의 검출을 위한 523개의 유전자를 포함하고 있습니다. 바이오마커는 단일 염기서열 변이(single-nucleotide variant, SNV), 다중 염기서열 변이(multi-nucleotide variant, MNV), 삽입/결실(insertion/deletion, Indel), 유전자 복제수 변이(copy number variation, CNV), gene rearrangement, 그리고 혈액 기반 현미부수체 불안정성(blood-based microsatellite instability, bMSI)과 bTMB와 같은 복잡한 IO genomic signature를 포함합니다([표 4](#)).

표 4: TruSight Oncology 500 ctDNA v2로 검출한 변이 타입의 예시

변이 타입	예시
SNV 및 Indel	EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF
Gene rearrangement	ALK, ROS1, NTRK1, NTRK2, RET
CNV	HER2
MSI	MSI score
TMB	TMB score

CNV = copy number variation(유전자 복제수 변이), SNV = single nucleotide variant(단일 염기서열 변이), MSI = microsatellite instability(현미부수체 불안정성), TMB = tumor mutational burden(종양 변이 부담)

신속한 통합 워크플로우

TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 샘플 준비부터 결과 보고까지 전 단계를 아우르는 통합 워크플로우의 한 구성 요소입니다([그림 2](#)). 자동화된 라이브러리 프렙 키트(library prep kit) 및 방법, 변이 검출(variant calling) 도구 그리고 데이터 해석 및 보고 소프트웨어를 활용하여 단 4일 안에 완료되는 원활한 워크플로우를 실현할 수 있습니다.

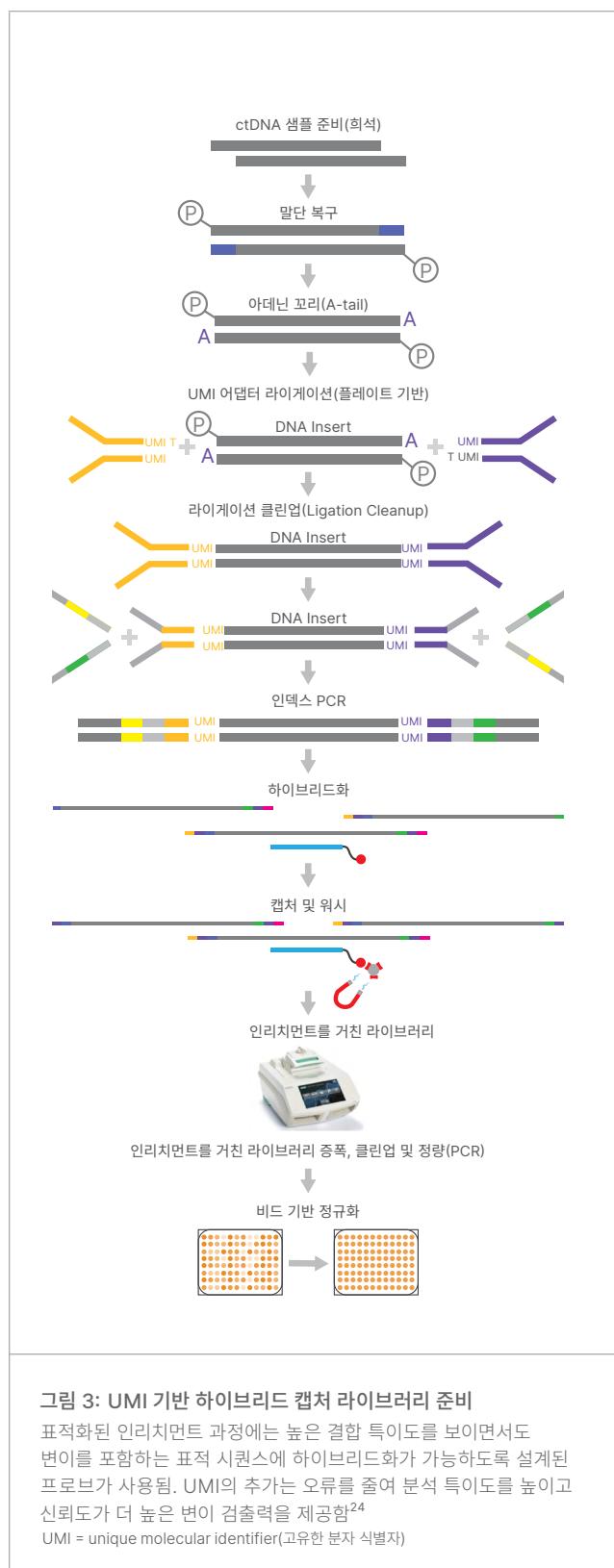
최적화된 라이브러리 준비 절차

TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 Illumina의 입증된 sequencing by synthesis(SBS) chemistry를 적용하여 20 ng의 cfDNA만으로도 CGP 연구를 가능하게 해 주어 조직 이용이 쉽지 않은 상황에서 대안을 제시하거나 조직 분석을 보완해 줍니다. ctDNA는 극소량의 total cfDNA(일반적으로 5% 미만)를 나타내기 때문에 시그널(signal)과 노이즈(noise)를 분리할 수 있는 강력한 방법이 필요합니다. 초저빈도로 존재하는 변이의 식별을 위해 라이브러리 준비 단계에서 바이오틴화된 프로브(biotinylated probe)와 스트렙타비дин 코팅된 마그네틱 비드(streptavidin-coated magnetic bead)를 사용하여 DNA 기반의 라이브러리에서 선택한 표적에 대한 표적 인리치먼트(target enrichment)를 진행합니다([그림 3](#)). 또 오류율을 낮추기 위해 UMI가 사용됩니다.²¹ TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 향상된 제품 chemistry를 토대로 하이브리드화 횟수를 2회에서 1회로 줄여 라이브러리 준비 단계를 하루 안에 완료하고 더 신속하게 결과를 제공할 수 있습니다. 또한 SNV의 분석 민감도도 0.2% 대립유전자 빈도(low variant allele frequency, VAF)로 한층 더 향상되었습니다.* 이러한 표적화된 하이브리드 캡처(hybrid-capture) 접근 방식은 자연적으로 발생한 대립유전자 변이와 시퀀싱 artifact가 존재할 때 샘플 dropout을 줄여 줍니다.

 [UMI에 대해 더 알아보기](#)

* Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음





자동화 지원 워크플로우

TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 연구자가 원하는 대로 워크플로우를 축소/확장할 수 있도록 수동 및 자동 라이브러리 준비 옵션을 모두 지원합니다. Illumina는 업계 선두의 자동화된 리퀴드 핸들링(liquid handling) 로봇 제조업체인 Hamilton 및 Beckman Coulter Life Sciences와 협력 관계를 맺고 Hamilton NGS STAR MOA 및 Beckman Coulter Biomek i7 플랫폼에 적용 가능한 완전히 자동화된 TruSight Oncology 500 ctDNA v2 assay 워크플로우를 개발했습니다. 이 자동화 지원 라이브러리 프렙 키트는 48개의 라이브러리를 준비하기에 충분한 양의 시약을 포함하고 자동화 시스템 사용 시 필요한 데드 볼륨(dead volume)을 반영함으로써 시약의 낭비를 최소화합니다. 이렇게 자동화된 워크플로우는 수동 프로토콜과 동일한 고품질의 결과를 제공할 뿐만 아니라 작업자의 수작업 시간을 40% 정도 단축해 줍니다. 또한 랩은 자동화를 통해 인건비를 절감하고 운영 효율성도 향상할 수 있습니다.²⁵

강력한 시퀀싱 성능

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 라이브러리는 NovaSeq 6000 시퀀싱 시스템, NovaSeq 6000Dx 기기(RUO Mode), 또는 NovaSeq X 시리즈를 사용해 시퀀싱을 수행합니다. NovaSeq X 시리즈는 NovaSeq 6000 시스템보다 빠른 워크플로우를 제공하며 시퀀싱 시간은 약 40% 단축시켜 줍니다(**표 5**). 어떤 플랫폼을 선택하든 민감도 향상을 위해 높은 덥스(depth)에서 시퀀싱이 수행(즉, 약 35,000×로 샘플당 400M 개의 리드 분석)됩니다. 따라서 0.2% VAF에서 확인된 SNV의 경우 ≥ 90%의 분석 민감도와 ≥ 99%의 분석 특이도로 변이를 검출할 수 있습니다(**표 6**).[†] 또한 NovaSeq X 시리즈는 샘플당 시퀀싱 비용을 절감해 주어 획기적인 경제성도 제공합니다.²⁶

[†] Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

표 5: 추정 시퀀싱 런 타임

시퀀싱 시스템	NovaSeq 6000 시스템 ^a		NovaSeq X 시리즈	
플로우 셀	S2	S4	1.5B	10B
샘플 수	런 타임(플로우 셀 수)			
4개	-	-	22시간 (1개)	-
8개	36시간 (1개)	-	22시간 (2개)	-
24개	-	44시간 (1개)	-	25시간 (1개)
48개	-	44시간 (2개)	-	25시간 (2개)

a. NovaSeq 6000Dx 기기(RUO Mode) 기준으로 추정한 시퀀싱 런 타임

표 6: 낮은 레벨 바이오마커의 정확한 검출^{a,d}

변이 타입	분석 민감도 ^{b,d}	분석 특이도 ^{c,d}
SNV ($\geq 0.2\%$ VAF)	$\geq 90\%$	$\geq 99.9994\%$
MNV($\geq 0.5\%$ VAF)	$\geq 90\%$	$\geq 95\%$
Indel($\geq 0.5\%$ VAF)	$\geq 90\%$	$\geq 95\%$
Gene amplification (≥ 1.3 -fold change)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
Gene deletion (≤ 0.6 -fold change)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
Gene rearrangement ($\geq 0.5\%$)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$
MSI-high 검출 ($\geq 0.3\%$ tumor fraction)	$\geq 95\%$	$\geq 95\%$

a. NovaSeq 6000 시스템 및 NovaSeq X 시리즈로 검증된 성능
b. 분석 민감도는 명시된 변이 레벨에서의 검출률(%)을 의미함
c. 분석 특이도는 알려진 음성 변이를 검출하는 능력을 의미함
d. Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

정확하고 빠른 분석

포괄적이고 효율적인 변이 검출

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software는 가속화되고 완전히 통합된 알고리즘을 사용하여 시퀀스 정렬(sequence alignment) 및 시퀀스 중합(sequence collapsing)을 통한 오류 수정 작업을 거친 후 원시 데이터(raw data)를 바탕으로 변이를 검출합니다. 또한 저빈도 변이에 대한 시그널의 손실 없이 중복 리드 및 시퀀싱 오류를 제거하며 민감도가 높은 변이 검출 결과를 제공합니다.

PCR 기반 assay의 정성 분석 결과와 달리, DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA 분석 파이프라인은 2,300곳이 넘는 동종중합체(homopolymer) MSI 마커 부위에서 얻은 정량적인 bMSI Score를 제공합니다. bTMB 분석의 경우 DRAGEN 파이프라인은 비동의(nonsynonymous) 및 동의(synonymous) SNV와 Indel을 모두 측정하여 민감도를 최적화합니다. 이 파이프라인은 변이를 검출하고 오류를 수정한 후에 생식세포(germline) 변이, 신뢰도가 낮은(low-confidence) 변이 및 클론성 조혈증(clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP)과 관련된 변이를 필터링하여 bTMB 측정 정확도를 한층 더 높여줍니다.

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software는 로컬 Illumina DRAGEN Server v4에서 실행되거나 자동 데이터 전송 및 분석 실행 옵션을 제공하는 Illumina Connected Analytics를 통해 클라우드에서 실행됩니다. 이 안전하고 확장 가능한 클라우드 기반의 솔루션은 랩에서 로컬 인프라를 확충하거나 유지할 필요 없이 2차 분석을 실행할 수 있도록 해 줍니다.²⁷ DRAGEN 파이프라인은 데이터 분석 시간을 약 85% 단축시켜 줍니다([표 7](#)).

표 7: S4 플로우 셀 사용 시 단축되는 24개 샘플의 데이터 분석 시간

데이터 분석 단계	DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software
BCL conversion	1시간
Alignment + collapsing + realignment	11시간
Gene rearrangement calling	2시간
Variant calling	8시간
총 소요 시간	약 20시간 (약 85% 단축)

간소화된 데이터 해석 절차

2차 분석을 통해 변이 클래스와 바이오마커 유형을 확인한 후에는 생물학적으로 의미 있는 정보를 찾아야 합니다. 데이터 해석에는 Illumina Connected Insights,[‡] Velsera Clinical Genomics Workspace(CGW), 또는 서드 파티 앱을 사용해 볼 수 있습니다.

로컬에서나 Illumina Connected Analytics를 통해 클라우드에서 생성한 variant calling 파일은 자동으로 Illumina Connected Insights로 불러올 수 있습니다. 또 시퀀싱 시스템 통합과 Illumina Connected Analytics의 자동 실행 기능으로 전체 분석 워크플로우를 완전히 자동화할 수 있으므로 데이터를 수동으로 전송할 필요 없이 맞춤화된 최종 결과 보고서를 생성할 수 있습니다.

신뢰할 수 있고 재현 가능한 결과

TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 cfDNA 샘플에 존재하는 낮은 레벨의 유전체 변이와 바이오마커도 높은 민감도로 검출합니다. Illumina는 TruSight Oncology 500 ctDNA v2로 얻은 분석 결과의 높은 품질을 입증하기 위해 TruSight Oncology 500 ctDNA v2의 SNV 및 Indel, CNV, gene rearrangement, TMB 및 MSI 검출력을 측정하는 다양한 연구를 실시했습니다. 성능 결과는 NovaSeq 6000 시스템과 NovaSeq X 시리즈를 사용해 검증했습니다.

SNV 및 Indel

표적 인리치먼트 chemistry의 한 가지 장점은 높은 결합 특이도를 보이면서도 SNV 및 Indel을 포함하는 표적에 하이브리드화가 가능할 정도로 크게 설계된 프로브를 사용한다는 것입니다. SNV는 다양한 종류의 암에서 암 감수성(cancer susceptibility)과 연관성을 보였으므로 반드시 낮은 레벨의 변이를 확실하게 검출할 수 있는 CGP 연구 방법을 사용해야 합니다. TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 샘플에서 각각 최저 0.2% 또는 0.5% VAF 레벨에 존재하는 SNV 및 Indel을 높은 재현성으로 검출합니다([그림 4](#) 및 [그림 5](#)).

CNV

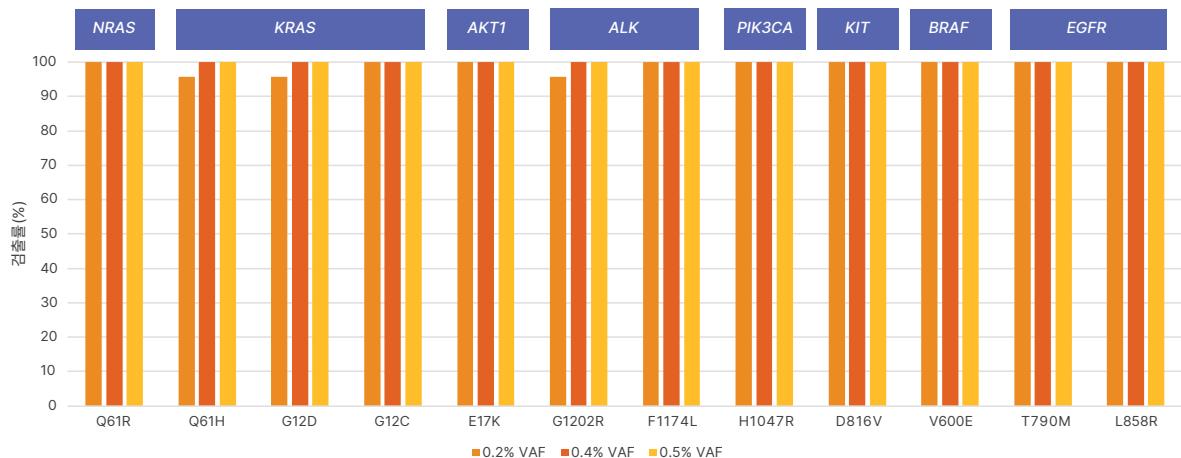
유전자와 종양 유형에서 관찰된 복제수 변화는 종양 형성과 연관성을 보여왔습니다.²⁷ TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 59개의 CNV 연관 유전자에 대한 연구가 가능하며, ≥ 1.3 배 변화를 LOD로 한 gene amplification(유전자 증폭) 검출과 ≤ 0.6 배 변화를 LOD로 한 deletion 검출이 가능합니다([표 8](#)).[§]

Gene rearrangement

Gene rearrangement은 암의 핵심적인 유전체학적 드라이버(driver)이기 때문에 질병 기전 연구 시 민감도 높은 검출이 매우 중요합니다. TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 fusion partner와 무관한 낮은 농도로 존재하는 gene rearrangement의 검출 및 특성 파악이 가능합니다([표 9](#)).

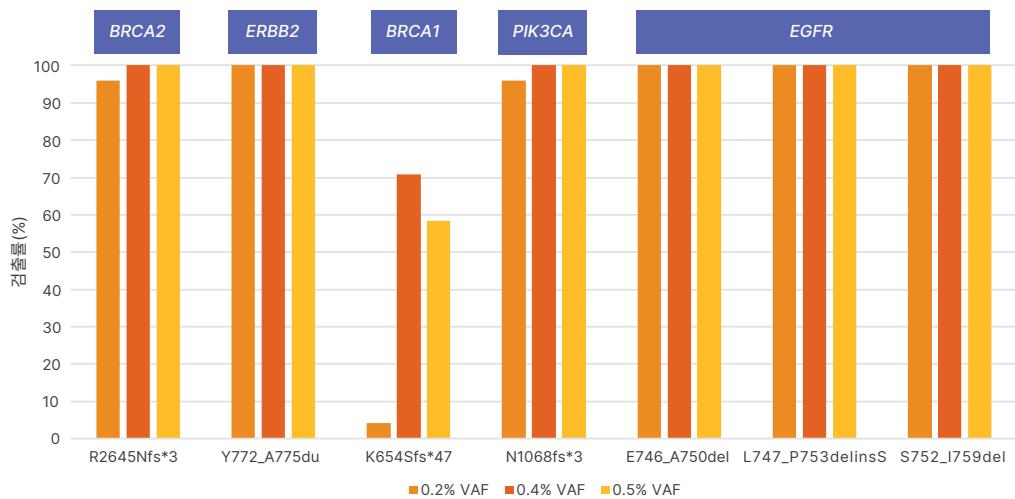
[‡] 일부 국가에서는 지원되지 않음. Illumina Connected Insights는 서드 파티 지식 소스의 API 호출을 통해 사용자 정의 3차 분석 지원

[§] Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

그림 4: LOD(0.2% VAF)에서 확인된 높은 주요 SNV 분석 성능[¶]

알려진 SNV를 포함하는 합성 대조군(synthetic control) 샘플을 0.20~0.50% VAF 레벨로 희석한 후 TruSight Oncology 500 ctDNA v2로 분석한 결과, SNV가 최저 0.2% VAF 레벨에서 안정적으로 검출됨. 상기 데이터는 NovaSeq 6000 시스템으로 얻은 결과이며, NovaSeq X 시리즈 사용 시 비슷한 수준의 성능이 관찰됨

SNV = single nucleotide variants(단일 염기서열 변이), VAF = variant allele frequency(대립유전자 빈도)

그림 5: LOD(0.5% VAF)에서 확인된 높은 Indel 분석 성능[¶]

알려진 Indel을 포함하는 합성 대조군 샘플을 0.20~0.50% VAF 레벨로 희석한 후 TruSight Oncology 500 ctDNA v2로 분석한 결과, BRCA1은 변이가 homopolymer가 풍부한 영역에 존재하므로 검출률이 낮아 백그라운드 노이즈 레벨이 더 높았음에도 불구하고 Indel이 최저 0.2% VAF에서 안정적으로 검출됨. 상기 데이터는 NovaSeq 6000 시스템으로 얻은 결과이며, NovaSeq X 시리즈 사용 시 비슷한 수준의 성능이 관찰됨

VAF = variant allele frequency(대립유전자 빈도)

[¶] Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

표 8: TruSight Oncology 500 ctDNA v2의 CNV 분석 성능**

유전자	예상된 배수 변화	관찰된 배수 변화	검출률
Amplification			
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

Deletion

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%

알려진 gene amplification을 포함하는 합성 대조군으로 생성한 샘플과 특성이 명확히 규명된 세포주(cell line)로부터 도출한 알려진 결실을 포함하는 샘플을 세 가지 VAF 레벨에서 TruSight Oncology 500 ctDNA v2로 측정한 결과, gene amplification은 $LOD \geq 1.3\text{-fold change}$, deletion은 $LOD \leq 0.6\text{-fold change}$ 를 보여 예상된 배수 변화와 관찰된 배수 변화 간 높은 일치율을 확인할 수 있음. 상기 시퀀싱 데이터는 NovaSeq 6000 시스템으로 얻은 결과이며, NovaSeq X 시리즈 사용 시 비슷한 수준의 성능이 관찰됨
 CNV = copy number variant(유전자 복제수 변이), LOD = limit of detection(검출 한계), N/A = not applicable(해당 없음)

표 9: TruSight Oncology 500 ctDNA v2의 gene rearrangement 분석 성능††

Fusion (유전자 융합)	예상된 VAF	관찰된 VAF	검출률
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 v2는 최저 0.2~0.6% VAF 레벨로 희석된 세 가지 알려진 DNA fusion을 안정적으로 검출했으며, gene rearrangement의 경우 0.5%의 LOD가 확인됨. 상기 시퀀싱 데이터는 NovaSeq 6000 시스템으로 얻은 결과이며, NovaSeq X 시리즈 사용 시 비슷한 수준의 성능이 관찰됨
 LOD = limit of detection(검출 한계), VAF = variant allele frequency(대립유전자 빈도)

** Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

†† Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

IO gene signature: MSI 및 TMB

MSI 및 TMB를 검출하려면 수많은 유전체 좌위(genomic locus)의 분석이 필요합니다. TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 2,300곳이 넘는 homopolymer 영역(6~7 bp 길이)에 대한 NGS 기반의 연구를 지원하며 오류율을 낮출 뿐만 아니라 보통 homopolymer 시퀀싱과 연관성을 보이는 위양성(false positive)의 발생 가능성도 최소화할 수 있습니다.²⁷ 또한 TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 높은 민감도의 라이브러리 프렙 chemistry와 고급 바이오인포매틱스(bioinformatics, 생명정보학) 도구를 기반으로 최저 0.3% tumor fraction에서도 MSI를 검출할 수 있습니다(그림 6).²⁸

소형 패널로는 낮은 변이 레벨에서 정확하고 재현 가능한 bTMB 측정이 어려울 수 있습니다.⁷ 이러한 문제를 해결하기 위해 TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 1.94 Mb 패널에 광범위한 유전체 커버리지를 통합하고 고급 바이오인포매틱스 도구를 적용했습니다. Illumina의 사유 DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA 파이프라인은 생식세포 변이 및 클론성 조혈증 관련 변이의 배제에 최적화된 필터링을 적용하여 일치율이 매우 높은 Tumor-Only(종양 단독) 워크플로우와 Tumor-Normal(종양-정상) 워크플로우를 제공합니다($R^2 = 0.992$) (그림 7).²⁸

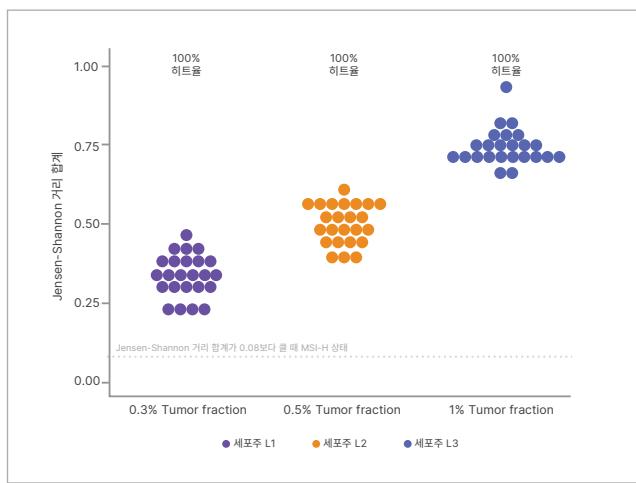


그림 6: IO 연구에 적합한 민감도 높은 MSI 검출력²⁸

알려진 MSI-H 상태가 있는 세포주로 준비한 뉴클레오솜(nucleosome)을 야생형(wildtype) 세포 주변에 적정(titration)하여 tumor fraction을 얻음. Illumina의 DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Software를 사용하여 높은 MSI 분석 민감도를 달성함. 2,300곳이 넘는 homopolymer 영역이 측정됨. 상기 시퀀싱 데이터는 NovaSeq 6000 시스템으로 얻은 결과이며, NovaSeq X 시리즈 사용 시 비슷한 수준의 성능이 관찰됨
CGP = comprehensive genomic profiling(포괄적인 유전체 프로파일링),
MSI = microsatellite instability(현미부수체 불안정성),
MSI-H = microsatellite instability-high(현미부수체 불안정성-높음)

²⁸ Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

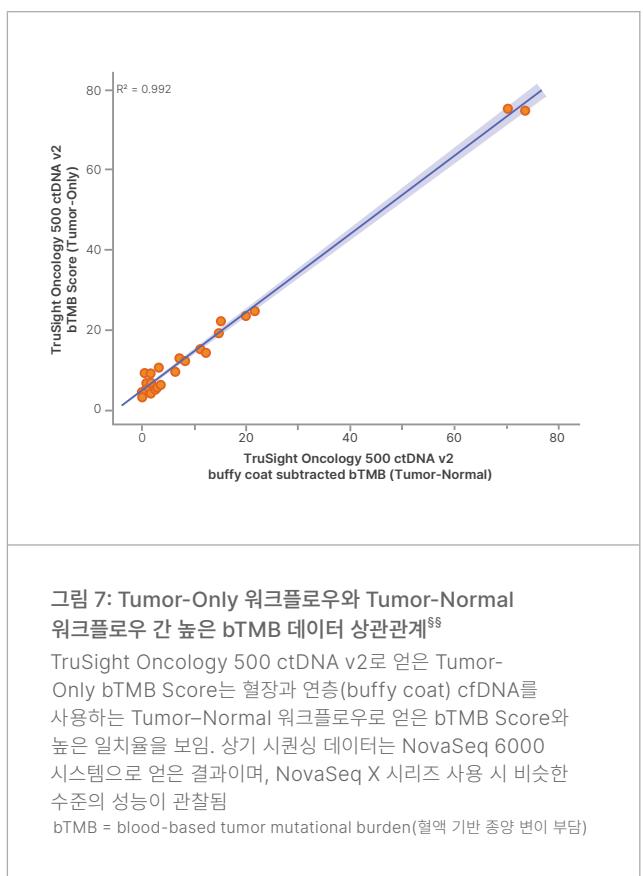


그림 7: Tumor-Only 워크플로우와 Tumor-Normal 워크플로우 간 높은 bTMB 데이터 상관관계²⁸

TruSight Oncology 500 ctDNA v2로 얻은 Tumor-Only bTMB Score는 혈장과 연층(buffy coat) cfDNA를 사용하는 Tumor-Normal 워크플로우로 얻은 bTMB Score와 높은 일치율을 보임. 상기 시퀀싱 데이터는 NovaSeq 6000 시스템으로 얻은 결과이며, NovaSeq X 시리즈 사용 시 비슷한 수준의 성능이 관찰됨

bTMB = blood-based tumor mutational burden(혈액 기반 종양 변이 부담)

강화된 제품 특성

Illumina는 랩의 원활한 운영을 돋기 위해 높은 수준의 서비스와 지원을 제공하고 있습니다. TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 다음과 같이 효율성을 한층 더 높여 줄 수 있는 기능을 제공합니다.

- 사전 제품 변경 고지 — TruSight Oncology 500 ctDNA v2에 중요한 변경 사항이 있을 경우, Illumina에서 변경 6개월 전에 미리 랩에 알립니다.
- Certificate of Analysis — TruSight Oncology 500 ctDNA v2에는 제품이 사전 설정된 출시 사양과 품질을 충족했음을 알리는 certificate of analysis(CoA)가 포함되어 있습니다.
- 길어진 유통 기한 — TruSight Oncology 500 ctDNA v2 시약의 최소한 보장되는 유통 기한은 3개월로, 제품의 유통 기한 만료 위험을 줄이고 유연한 검사 일정을 지원합니다.
- 단일 로트(Single-lot) 배송 — TruSight Oncology 500 ctDNA v2 수동 키트는 로트 적격성 평가(lot qualification) 및 수입 검사(incoming quality control, IQC)의 부담을 줄이기 위해 단일 로트의 제품이 배송됩니다. 자동 키트 요청은 고객지원팀을 통해 개별적으로 지원될 수 있습니다.

액체 생검을 활용한 CGP 연구를 지원하는 통합 솔루션

TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 임상 연구를 통해 제시된 근거 및 현재 가이드라인과 관련이 있는 수백 개의 암 관련 바이오마커를 혈장 샘플에서 동시에 분석하는 NGS 기반의 연구를 위한 멀티플렉스(multiplex) assay 제품입니다. 이 포괄적인 assay는 혈액 내 523개의 유전자에서 다양한 종류의 종양과 관련이 있는 여러 가지 변이 타입을 검출하며, 반복적인 실험 없이 하나의 샘플만으로도 IO 바이오마커뿐만 아니라 bTMB, bMSI, NTRK, ROS1과 같은 새로운 바이오마커도 연구할 수 있도록 해 줍니다.

업데이트된 assay chemistry^{¶¶}와 확장된 시퀀싱 시스템 호환성으로 전반적인 워크플로우 시간이 3~4일 이내로 단축되었고, 요구되는 cfDNA 사용량이 20 ng으로 줄었으며, SNV의 경우 LOD가 0.2% VAF까지 낮아졌습니다. 자동화 지원 워크플로우는 수작업 시간을 더욱 줄이고 랩 관계자의 부담을 최소화하여 랩의 운영 효율성을 높여 줍니다. 광범위한 유전체 콘텐츠, 입증된 시퀀싱 기술, 그리고 향상된 소프트웨어를 통합한 TruSight Oncology 500 ctDNA v2는 CGP 기반 연구를 간소화하면서 액체 생검 연구에 필요한 우수한 성능을 제공합니다.

상세 정보

[NovaSeq X 시리즈](#)

[NovaSeq 6000 시스템](#)

[NovaSeq 6000Dx 기기](#)

[DRAGEN Secondary Analysis](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

[Illumina 자동화 솔루션](#)

^{¶¶} Illumina 내부 데이터에 근거한 수치. 연구 전용이며, 본 사양은 임상/진단 용도로 승인되지 않음

제품 목록 – 라이브러리 프렙 키트(수동)

제품	카탈로그 번호
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

제품 목록 – 라이브러리 프렙 키트(자동)

제품	카탈로그 번호
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

제품 목록-인덱스 어댑터

제품	카탈로그 번호
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

제품 목록-시퀀싱 시약

제품	카탈로그 번호
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

제품 목록-데이터 분석

제품	카탈로그 번호
로컬 변이 보고	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
클라우드 기반 변이 보고	
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
변이 해석	
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
Informatics Professional Services	20071787
클라우드 스토리지	
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package – 1,000 iCredits	20042039
Illumina Analytics – 5,000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100,000 iCredits	20042042

참고 문헌

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 Oncomine 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.cllc.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. Bettegowda 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, Tiirola 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. 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. Published 2018. Accessed September 20, 2023.
22. Roche. AVENIO ctDNA Analysis Kits. sequencing.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. Accessed September 20, 2023.
24. Illumina. Sequencing accuracy with Unique Molecular Identifiers. 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.](#) *Front Public Health.* 2023;11:1195581. doi:10.3389/fpubh.2023.1195581
26. Data on file. Illumina, Inc. 2024.
27. Beroukhim 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
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://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf). Published 2018. Accessed September 20, 2023.



무료 전화(한국) 080-234-5300
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2025 Illumina, Inc. All rights reserved.
모든 상표는 Illumina, Inc. 또는 각 소유주의 자산입니다.
특정 상표 정보는 www.illumina.com/company/legal.html을 참조하십시오.
M-KR-00212 v2.0 KOR