TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2 en NextSeq™ 2000 System

Rendimiento inigualable con las ventajas de un sistema de sobremesa

Rendimiento con alta sensibilidad

Detecte biomarcadores presentes con una VAF de hasta el 0,2 % a partir de 20 ng de ADNtc (posible con 5-30 ng).

Resultados exhaustivos

Analice más de 500 genes y firmas genómicas de inmunooncología (bMSI, bTMB) en un ensayo.

Flujo de trabajo optimizado

Consiga un flujo de trabajo de tres días del ADNec a la generación de informes de variantes con un análisis de datos totalmente automatizado.

Productividad rentable

Optimice el coste de secuenciación por muestra para lotes de pequeño tamaño.

Introducción

La investigación en creación de perfiles genómicos complejos (CGP, comprehensive genomic profiling) evalúa una amplia gama de biomarcadores en un único ensayo, lo que proporciona resultados más rápidos que las pruebas secuenciales. Este enfoque es cada vez más importante a medida que surgen más biomarcadores, incluidas las firmas genómicas de inmunooncología (IO, immuno-oncology) como la carga mutacional del tumor (TMB, tumor mutational burden), que requiere específicamente grandes paneles de secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) (>1 Mb) para una evaluación precisa.[1]

Tradicionalmente, para la CGP se utiliza tejido tumoral sólido; sin embargo, hasta el 25 % de los casos carecen de tejido suficiente, tienen tumores inaccesibles o no pueden generar resultados a tiempo. En estas situaciones, la biopsia líquida que analiza el ADN tumoral circulante (ADNtc) ofrece una solución alternativa para la CGP.[2-5]

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permite la investigación de CGP a partir de ADNtc en sangre, lo que proporciona una amplia cobertura de las alteraciones derivadas del tumor y la evaluación de las firmas de IO, como la TMB en sangre (bTMB, blood-based TMB) y la inestabilidad de microsatélites en sangre (bMSI, blood-based microsatellite instability). El ensayo se ha mejorado para identificar variantes de baja frecuencia con una alta sensibilidad analítica y utiliza bioinformática avanzada para filtrar variantes de hematopoyesis clonal y de estirpe germinal.[2]

Algunos ensayos de biopsia líquida requieren una secuenciación ultraprofunda del ADNtc (20 000× o más) para maximizar la sensibilidad analítica y detectar variantes de baja frecuencia.[6] Históricamente, esto ha limitado la adopción de la CGP de la biopsia líquida en laboratorios más pequeños debido a los requisitos del sistema de secuenciación de alta productividad, una inversión de capital inicial sustancial y la necesidad de grandes tamaños de lotes para controlar los costes.

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 es el primer ensayo de biopsia líquida que permite la investigación de CGP en una plataforma de sobremesa: NextSeq 2000 System.[7] Esto amplía aún más el acceso a los laboratorios que no utilizan sistemas de alta productividad. Mediante el uso de la química XLEAP-SBS™, una forma mejorada de secuenciación por síntesis (SBS, sequencing by synthesis), NextSeq 2000 System aumenta el rendimiento utilizable por celda de flujo y ofrece secuenciación de alta fidelidad con una mejor rentabilidad en un tamaño compacto.[8]

Las principales ventajas de ejecutar TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NextSeq 2000 System son la capacidad de:

- Lograr una detección sensible de variantes de baja frecuencia (aproximadamente un 0,2 % de frecuencia alélica de variantes [VAF, variant allele frequency]) a partir de 20 ng de ADNec con alta especificidad (tabla 1).
- Completar un flujo de trabajo optimizado de tres días del ADNec a la generación de informes de variantes con un análisis de datos totalmente automatizado (figura 1).
- Mejorar la rentabilidad gracias al mayor rendimiento utilizable proporcionado por la química de XLEAP-SBS, lo que permite precios competitivos por muestra con tamaños de lote tan pequeños como cuatro muestras (figura 2).
- Ejecutar TruSight Oncology 500 y otros ensayos de investigación oncológica en el mismo instrumento para satisfacer una amplia gama de necesidades de laboratorio.[9*]

En esta nota técnica se proporciona una comparación del rendimiento de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NextSeq 2000 System con el rendimiento en NovaSeq 6000 System, la plataforma en la que se desarrolló originalmente el ensayo. Los resultados muestran un rendimiento equivalente en ambos sistemas, con una inversión inicial y un coste de secuenciación por muestra significativamente menores para lotes de muestras pequeños cuando se utiliza NextSeq 2000 System.

* Los ensayos de oncología incluyen la creación de perfiles genómicos con TruSight Oncology 500 y pruebas selectivas con paneles Pillar® oncoReveal™. Consulte Descubra flujos de trabajo flexibles en oncología con NextSeq 2000 System.

Tabla 1: Rendimiento del ensayo TruSight Oncology 500 ctDNA v2[a]

Parámetro	Sensibilidad del análisis[b]	Especificidad del análisis[c]
Variantes pequeñas de ADN • SNV ≥0,2 % de VAF (≥0,4 % de VAF) • Puntos de interés de SNV ≥0,2 % de VAF • MNV ≥0,5 % de VAF • Indels ≥0,5 % de VAF	≥90 % (≥95 %) ≥95 % ≥90 % ≥90 %	≥99,999 %
Amplificaciones génicas con múltiplo de cambio ≥1,3	≥95 %	≥95 %
Deleciones de genes con múltiplo de cambio ≤0,6	≥95 %	≥95 %
Detección de MSI alta al 0,3 % de fracción tumoral	≥95 %	≥95 %
Reordenaciones de genes ≥0,5 % de VAF	≥95 %	>95 %

a. Las características de rendimiento se midieron en NovaSeq 6000 System utilizando 20 ng de ADNec y una cobertura de 35 000×, según se recomienda. Se mostró un rendimiento equivalente en NextSeq 2000 System y NovaSeq X Series.
b. La sensibilidad del análisis se define como el porcentaje de detección en el nivel de variante indicado.
c. La especificidad del análisis se define como la capacidad de detectar un negativo conocido.

MNV: variante multinucleotídica; SNV: variante de nucleótido único; VAF: frecuencia alélica de variantes.



Figura 1: Flujo de trabajo de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NextSeq 2000 System
La preparación manual de librerías requiere aproximadamente 8,5 horas, incluidas aproximadamente 2,5 horas de tiempo de participación activa. BaseSpace Sequence Hub facilita la configuración del experimento, la generación de hojas de muestras y la supervisión del estado de secuenciación. La integración con Illumina Connected Analytics e Illumina Connected Insights permite el inicio automatizado de análisis secundarios y terciarios para un flujo de trabajo totalmente sin intervención.
CGW: espacio de trabajo de genómica clínica.

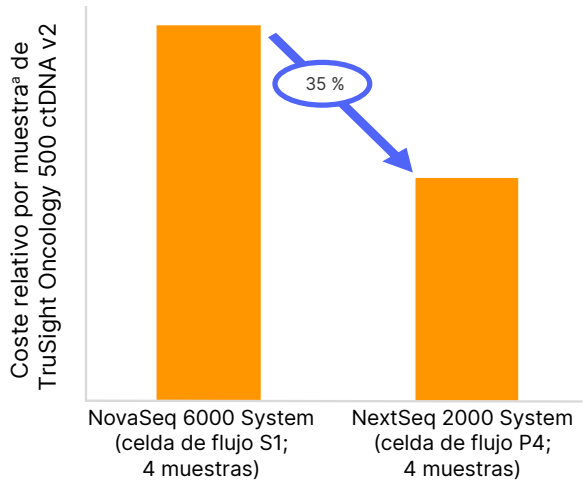


Figura 2: Comparación de costes de secuenciación en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System
La secuenciación en NextSeq 2000 System con una celda de flujo P4 se beneficia de la economía del experimento químico de XLEAP-SBS y proporciona aproximadamente un 35 % menos de coste por muestra en comparación con la secuenciación con una celda de flujo S1 en NovaSeq 6000 System.
a. Las estimaciones de costes se basan en el precio del número de catálogo en USD y reflejan la preparación de librerías, los índices y los consumibles de secuenciación; los costes del sistema no se incluyen.

Métodos

Flujo de trabajo

El flujo de trabajo de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NextSeq 2000 System sigue el mismo proceso general utilizado en NovaSeq 6000 System y proporciona una ruta optimizada desde el aporte de ADN extracelular circulante (ADNec) hasta la generación de informes en solo tres días (figura 1 y tabla 2).

Las librerías se preparan a partir de ADNec obtenido del plasma utilizando protocolos manuales o automatizados, lo que garantiza la flexibilidad y un rendimiento uniforme. La preparación manual de librerías requiere aproximadamente 8,5 horas, incluidas aproximadamente 2,5 horas de tiempo de participación activa. La configuración de la secuenciación y la supervisión de los experimentos se completan a través de la interfaz fácil de usar en BaseSpace Sequence Hub.

NextSeq 2000 System se integra con Illumina Connected Analytics para la llamada de variantes y el almacenamiento seguro de datos, y con Illumina Connected Insights para el CC, la visualización, la interpretación y la generación de informes de variantes. Combinadas, estas soluciones proporcionan un flujo de trabajo totalmente automatizado que evita las transferencias de datos manuales, con inicio automático de análisis secundarios y terciarios para reducir el tiempo de respuesta, incluso cuando la secuenciación finaliza fuera del horario de trabajo habitual.

Tabla 2: Tiempos de respuesta de principio a fin

Configuración			Duración del experimento				
Sistema	Celda de flujo	N.º de muestras	Preparación de librerías (manual)	Secuenciación	Análisis secundario de DRAGEN[a]	Informes de casos de Connected Insights	Total
NextSeq 2000 System	P4	4	8,5 h	44 h	1 h 45 min	20 min	Aprox. 3 días
NovaSeq 6000 o NovaSeq 6000Dx System[b]	S1	4	8,5 h	25 h	1 h 45 min	20 min	Aprox. 2,5 días
	S2	8	8,5 h	36 h	2 h 15 min	50 min	Aprox. 3 días
	S4	24	8,5 h	44 h	3 h	2 h 30 min	Aprox. 3,5 días

a. Los tiempos proporcionados corresponden a la duración del análisis en Illumina Connected Analytics (en la nube) e incluyen un tiempo de espera en cola de 0,5 h; los tiempos en cola pueden variar.
b. NovaSeq 6000Dx Instrument en modo RUO.

Muestras

Las muestras utilizadas para evaluar el rendimiento del ensayo incluyeron ADN de preparación de nucleosomas (ADNpn) obtenido de una mezcla de líneas celulares disponibles comercialmente, ADNec de muestras de plasma anonimizadas de personas con cáncer, el patrón de referencia Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF 0.5% (SeraCare, n.º de catálogo 0710-0531) y Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix WT (0%), (SeraCare, n.º de catálogo 0710-0533) (tabla 3).

La extracción de ADNpn de líneas celulares se realizó con EZ Nucleosomal DNA Prep Kit (Zymo Research, n.º de catálogo D5220). El ADNec de plasma se extrajo con QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit – cfDNA/cfRNA Isolation (QIAGEN, n.º de catálogo 55114). El material de control Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix se suministra como ácidos nucleicos extraídos.

Preparación de librerías

Las librerías se prepararon a partir de 20 ng de ADNpn o ADNec extraído, o el patrón de referencia de Seraseq, utilizando TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (Illumina, n.º de catálogo 20105899) e IDT for Illumina UMI DNA/RNA Indexes Set A (Illumina, n.º de catálogo 20034701) y Set B (Illumina, n.º de catálogo 20034702). La preparación de librerías siguió el protocolo proporcionado en las instrucciones de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Kit.

Tabla 3: Muestras utilizadas en el estudio

Tipo de muestra	N.º de muestras	Descripción	Datos
Mezcla de líneas celulares	22	ADNpn de mezclas de líneas celulares en tres diluciones con un objetivo de VAF que oscila entre el 0,1 % y el 0,5 %	Las líneas celulares incluían LoVo, A253, LC-2/ad, Hs 746.T y NA12877
Clínica	20	ADNec de plasma de paciente sin identificar	Obtenido de proveedores de muestras biológicas
Seraseq	30	Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix (AF 0,5 %), diluido con Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix WT (0 %)	Diluciones con un objetivo de VAF que oscila entre el 0,1 % y el 0,5 %

ADNec: ADN extracelular circulante; ADNpn; ADN de preparación de nucleosomas; VAF: frecuencia alélica de variantes.

Secuenciación

Las librerías se secuenciaron en NovaSeq 6000 System con celdas de flujo S2 o S4 (NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 ciclos), Illumina, n.º de catálogo 20028314 y NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 ciclos, Illumina, n.º de catálogo 20028312) y NextSeq 2000 System con NextSeq 2000 P4 XLEAP Reagent Kit (300 ciclos, Illumina, n.º de catálogo 20100992). La secuenciación se llevó a cabo en NovaSeq 6000 System o NextSeq 2000 System utilizando lecturas "paired-end" a gran profundidad para garantizar la sensibilidad para variantes de baja frecuencia. Se utilizaron parámetros de experimento idénticos para todos los sistemas y celdas de flujo (tabla 4).

Tabla 4: Detalles del experimento de secuenciación

Parámetro	Especificación
Longitud de lectura	2 × 151 pb
N.º de ciclos	300
N.º de lecturas	Aprox. 800 millones de lecturas "paired-end" por muestra

Análisis

El análisis secundario se realizó localmente utilizando el proceso DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.6. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando R 4.2.2. Se evaluó la concordancia en la llamada de variantes entre los dos sistemas para detectar variantes pequeñas, variantes en el número de copias (CNV, copy number variants), bMSI, bTMB y reordenaciones génicas del ADN.

Resultados

Rendimiento del ensayo

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 proporciona un rendimiento fiable tanto en NovaSeq 6000 System como en NextSeq 2000 System. El ensayo mostró un rendimiento reproducible de acuerdo con las métricas de control de calidad tanto en NovaSeq 6000 System como en NextSeq 2000 System (figura 3). La mediana de la cobertura de exones demostró una representación uniforme del objetivo con suficiente profundidad de secuenciación para respaldar una detección de variantes precisa. Los valores de la mediana de la desviación absoluta (MAD, median absolute deviation) a escala genética indican una cobertura constante y estable entre los objetivos dentro de cada gen y entre plataformas. Los valores más bajos permiten una detección más fiable de los cambios en el número de copias. Los resultados en ambos sistemas mostraron una gran concordancia.

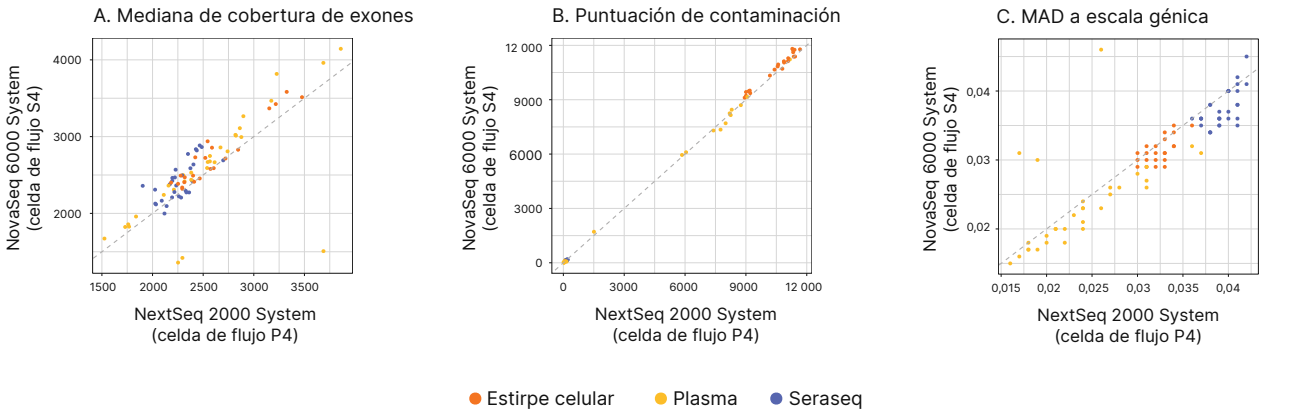


Figura 3: Fuerte concordancia de CC entre instrumentos

Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mezcla de líneas celulares, Seraseq y muestras de pacientes) se secuenciaron en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System. (A) La mediana de la cobertura del exón demostró una representación uniforme del objetivo con suficiente profundidad de secuenciación para respaldar una detección de variantes precisa. (B) Las puntuaciones de contaminación fueron coherentes en todos los sistemas. Hay que tener en cuenta que algunas muestras de plasma tenían una puntuación de contaminación elevada debido a la mezcla de dos muestras únicas para obtener la cantidad de aporte correcta. (C) La mediana de la desviación absoluta (MAD) a escala génica, utilizada para evaluar la variabilidad en el análisis del número de copias a nivel génico, mostró una alta concordancia entre sistemas.

Detección de variantes pequeñas

Las variantes pequeñas son la clase más frecuente de alteraciones somáticas en los genomas tumorales y son un componente crítico de la CGP.[10] Para la llamada de variantes pequeñas, DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software utiliza dos métodos, el análisis de acumulación por columnas y el ensamblaje local *de novo* de haplotipos. Este último amplía la detección de variantes para incluir inserciones y deleciones más grandes, así como variantes en la misma hebra, como variantes multinucleotídicas (MNV, multinucleotide variants) y variantes de inserción-deleción (indel). Para lograr una llamada de variantes de alta precisión, el software utiliza una supresión de errores basada en un identificador molecular único (UMI, unique molecular identifier) y tiene en cuenta el ruido de fondo aprovechando un archivo de ruido sistemático construido a partir de una colección de librerías de ADNec normal.

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software evalúa cada variante llamada para determinar si es somática, germinal o asociada a hematopoyesis clonal. Esta clasificación fundamenta los cálculos posteriores, incluida la bTMB y la frecuencia máxima de alelos somáticos (MSAF, maximum somatic allele frequency). El software informa de la MSAF, definida como la mayor frecuencia de alelos entre las variantes somáticas detectadas, y se puede utilizar para calcular la fracción tumoral.

La evaluación de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System incluyó la detección de variantes de nucleótido único (SNV, single-nucleotide variants), deleciones e inserciones. La concordancia entre plataformas fue alta en todos los tipos de variantes, lo que demuestra un rendimiento uniforme del ensayo (figura 4 y figura 5).

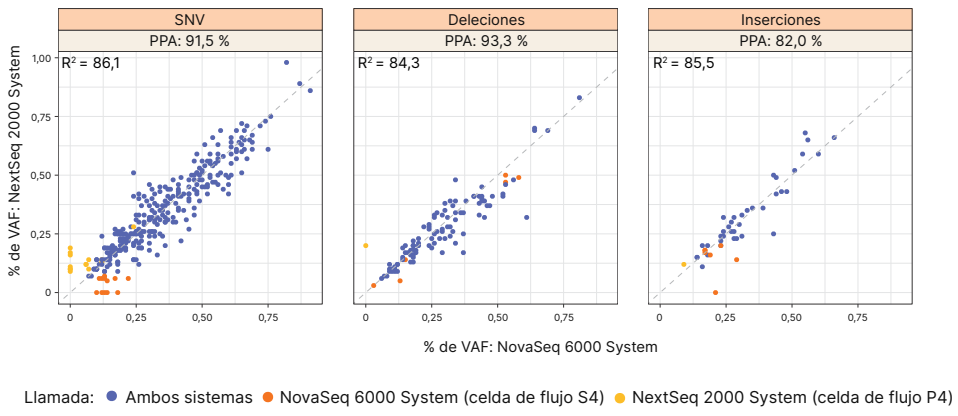


Figura 4: Fuerte concordancia entre varios tipos de variantes

Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mezcla de líneas celulares, Seraseq y muestras de plasma) se secuenciaron en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System. Los resultados demostraron una alta concordancia de la frecuencia alélica de variantes (VAF) para la detección de variantes de un solo nucleótido (SNV), deleciones e inserciones.

PPA: concordancia porcentual positiva.

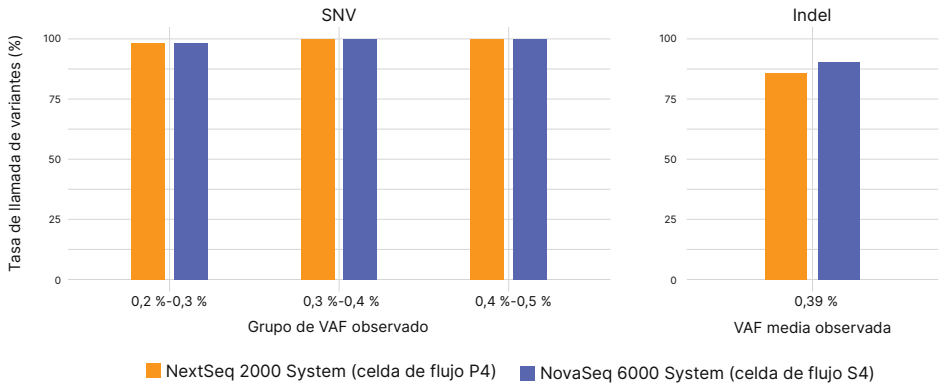


Figura 5: Alta concordancia de la llamada de variantes pequeñas

La detección de variantes pequeñas se evaluó en muestras de control Seraseq. Una tasa de llamadas del 100 % indica que se detectaron todas las variantes esperadas. En todos los tipos de variantes, las tasas de llamada mostraron una alta concordancia entre NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System.

Indels: inserciones y deleciones; SNV: variantes de nucleótidos pequeños, VAF: frecuencia alélica de variantes.

Detección de CNV

Los cambios en el número de copias desempeñan un papel fundamental en el inicio, la progresión y la resistencia terapéutica del cáncer.[11] DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software llama las CNV utilizando un panel de muestras normales (panel de control obtenido de muestras sin alternancias somáticas conocidas) y muestras artificiales para tener en cuenta los sesgos y artefactos técnicos. Se incluye un paso adicional de corrección del sesgo de GC para mitigar la variabilidad de cobertura asociada al contenido de GC y mejorar así la precisión de las llamadas de CNV.

El rendimiento del ensayo para detectar amplificaciones génicas y deleciones se evaluó en mezclas de líneas celulares y una muestra de control Seraseq mediante mediciones con múltiplo de cambio. Los datos de NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System mostraron una alta concordancia tanto para los eventos de amplificación como de deleción (figura 6 y tabla 5). El uso de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NextSeq 2000 System permite llamadas hasta un límite de detección un múltiplo de ≥1,3 para amplificaciones y de ≤0,6 para deleciones (tabla 5).

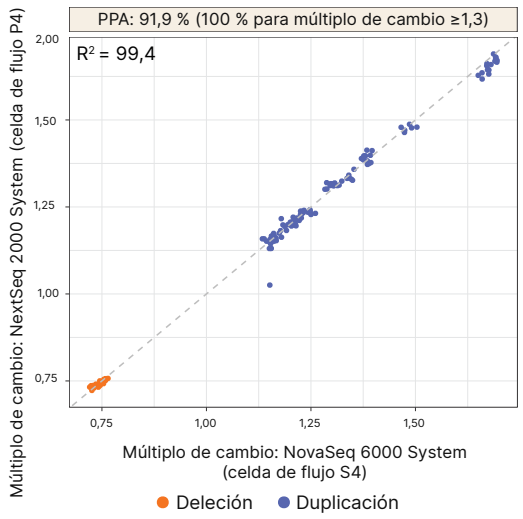


Figura 6: Concordancia de las mediciones del múltiplo de cambio para el análisis de CNV

Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mezcla de líneas celulares y Seraseq) se secuenciaron en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System. Los valores de múltiplo de cambio, utilizados para evaluar las variantes de número de copias (CNV) entre genes, mostraron una fuerte concordancia entre plataformas, lo que confirma una detección fiable de CNV.

PPA: concordancia porcentual positiva.

Tabla 5: Comparación del rendimiento analítico de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 para CNV

Tipo de muestra	Múltiplo de cambio	
	NovaSeq 6000 System (celda de flujo S4)	NextSeq 2000 System (celda de flujo P4)
Mezclas de líneas celulares en tres diluciones (tabla 3)		
AR	0,745	0,746
AR	0,753	0,748
AR	0,732	0,734
CDK4	1,180	1,163
MET	1,340	1,331
MET	1,241	1,232
MET	1,161	1,158
MYC	1,689	1,675
MYC	1,671	1,643
MYC	1,482	1,476
Seraseq sin diluir (0,5 % de VAF)		
ERBB2	1,300	1,312
MET	1,384	1,391
MYC	1,211	1,207

Las muestras con variantes en el número de copias se evaluaron con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System. Las amplificaciones se evaluaron con el patrón de referencia de ADNec Seraseq al 0,5 % de VAF y mezclas de líneas celulares en tres diluciones; las deleciones se evaluaron con mezclas de líneas celulares. El límite de detección (LOD) se definió como ≥1,3 para las amplificaciones y ≤0,6 para las deleciones. Los valores mostrados son promedios del múltiplo de cambio en seis réplicas.

Detección de reordenaciones génicas

Las reordenaciones génicas son variantes complejas que requieren una detección fiable para que la CGP sea posible.[12] DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software identifica las reordenaciones génicas mediante el análisis basado en gráficos de la evidencia de variantes estructurales, incluidas las lecturas divididas y de expansión. A continuación, los datos se procesan mediante una serie de pasos analíticos y de filtrado, incluida la desduplicación basada en UMI, para refinar las llamadas de variantes. Las lecturas de apoyo proporcionan pruebas directas de los puntos de corte de reordenación y ayudan a distinguir los eventos verdaderos de los artefactos de secuenciación.

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 demostró una alta concordancia para la detección de fusiones en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System (figura 7 y tabla 6).

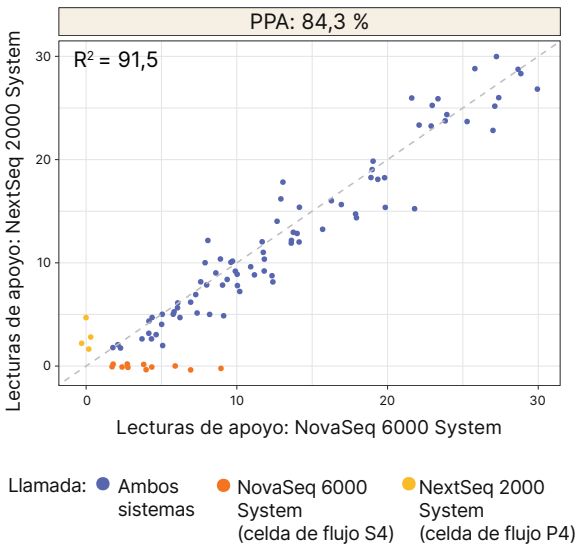


Figura 7: Alta concordancia para la detección de fusiones de ADN

Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mezcla de líneas celulares y Seraseq) que se secuenciaron en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System mostraron una alta concordancia para la detección de fusiones de ADN.

PPA: concordancia porcentual positiva.

Tabla 6: Rendimiento analítico para reordenaciones de genes

Tipo de muestra	Gen	Nivel de dilución	Frecuencia alélica de variantes (VAF) promedio	
			NovaSeq 6000 System	NextSeq 2000 System
Mezcla de líneas celulares	*CCDC6-RET*	1	0,52 %	0,56 %
	CCDC6-RET	2	0,43 %	0,44 %
	CCDC6-RET	3	0,48 %	0,47 %
Seraseq	*CD74-GOPC;ROS1*	Sin diluir	0,35 %	0,33 %
	EML4-ALK	Sin diluir	0,32 %	0,31 %
	NCOA4-RET	Sin diluir	0,13 %	0,15 %
	CD74-GOPC;ROS1	1	0,12 %	0,15 %
	EML4-ALK	1	0,20 %	0,16 %
	CD74-GOPC;ROS1	2	0,15 %	0,13 %
	EML4-ALK	2	0,12 %	0,17 %

Las mezclas de líneas celulares se evaluaron a tres niveles de dilución y el patrón de referencia de ADNec Seraseq se analizó sin diluir (AF al 0,5 %) y a dos niveles de dilución (tabla 3), utilizando TruSight Oncology 500 ctDNA v2 y se secuenciaron en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System. Los valores representan un promedio de seis réplicas técnicas de un único nivel de dilución.

Firmas de IO: detección de bMSI y bTMB

La evaluación de las firmas de IO con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 incluye la evaluación de bMSI y bTMB. La bMSI refleja defectos en las vías de reparación de errores de emparejamiento del ADN y sirve como marcador de inestabilidad del genoma completo.[13] La bTMB captura el número general de mutaciones somáticas en regiones codificantes y proporciona una medida cuantitativa de la carga mutacional.[1]

El estado de bMSI se deduce de la variabilidad entre múltiples locus genómicos, y se utiliza la distancia de Jensen-Shannon (sumJSD) como criterio de medición de evaluación. El análisis en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System mostró una alta concordancia para la estimación del estado de bMSI (figura 8).

Una estimación fiable de la bTMB requiere paneles de secuenciación que abarquen al menos 1,1 Mb de secuencia codificante.[14,15] TruSight Oncology 500 ctDNA v2 cubre aproximadamente 1,3 Mb, lo que permite el cálculo de la bTMB a partir de ADNec. Se observaron resultados concordantes para la estimación de la bTMB entre NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System en muestras artificiales y de plasma (figura 9).

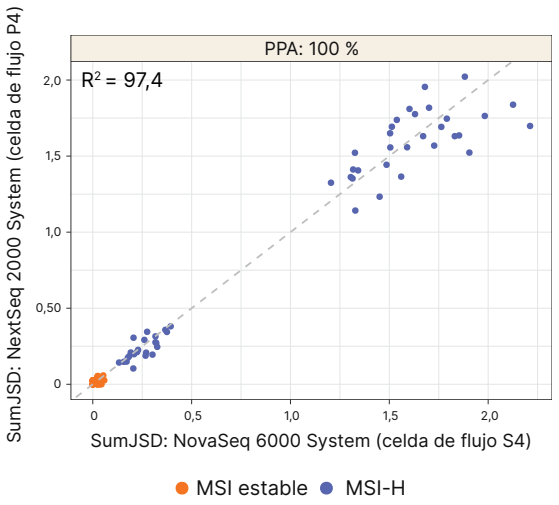


Figura 8: Concordancia del estado de bMSI
Las muestras de control Seraseq, las mezclas de líneas celulares y las muestras de plasma se prepararon con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 y se procesaron en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System. La sensibilidad analítica para el estado de inestabilidad de microsatélites (MSI) se midió con DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.6 Analysis Software. Los resultados indican una alta concordancia de resultados entre ambos sistemas.
MSI-H: inestabilidad de microsatélites elevada; PPA: porcentaje de coincidencia positiva.

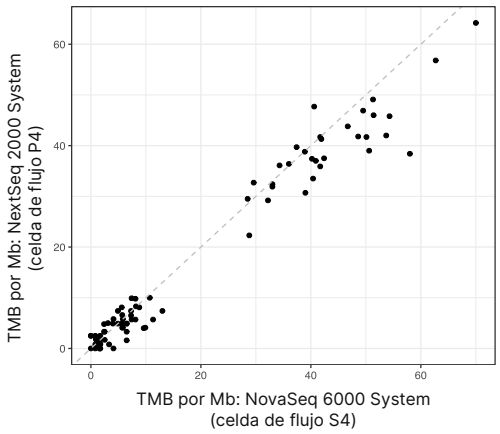


Figura 9: Alta concordancia del análisis de bTMB
Las librerías de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mezcla de líneas celulares, Seraseq y muestras clínicas) se secuenciaron en NovaSeq 6000 System y NextSeq 2000 System. Se midió la carga mutacional del tumor de una muestra de sangre (bTMB) con DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.6 Analysis Software.

Resumen

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permite la investigación de CGP a partir de ADNtc, lo que respalda la detección de múltiples clases de variantes y firmas genómicas a partir de una extracción de sangre mínimamente invasiva. NextSeq 2000 System brinda una solución de secuenciación de sobremesa que proporciona datos de alta calidad utilizando la química XLEAP-SBS y una manipulación optimizada de reactivos. La implementación de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 en NextSeq 2000 System ofrece un ensayo rentable y altamente sensible, además de un flujo de trabajo optimizado de tres días con análisis totalmente automatizado.[2]

Se ha demostrado la concordancia de los datos con NovaSeq 6000 System en todas las clases de variantes principales, incluidas las variantes pequeñas, las CNV, las reordenaciones génicas, y las firmas de IO bMSI y bTMB. Además de TruSight Oncology 500 ctDNA v2, NextSeq 2000 System es compatible con TruSight Oncology 500, la solución de Illumina para la investigación de CGP basada en tejidos, lo que proporciona flexibilidad para diversos flujos de trabajo de laboratorio.

Más información →

TruSight Oncology 500 ctDNA v2

NovaSeq 6000 System

NextSeq 2000 System

Bibliografía

1. Sha D, Jin Z, Budczies J, Kluck K, Stenzinger A, Sinicrope FA. Tumor mutational burden as a predictive biomarker in solid tumors. *Cancer Discov.* 2020;10(12):1808-1825. doi:10.1158/2159-8290.CD-20-0522
2. Illumina. Hoja de datos de TruSight Oncology 500 ctDNA v2. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-v2-m-gl-02196/tso500-ctdna-v2-data-sheet-m-gl-02196.pdf. Año de publicación: 2025. Fecha de consulta: 23 de septiembre de 2025. Illumina.
3. Illumina. Biopsia líquida y NGS: investigación clínica de transferencia al siguiente nivel. illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appspotlights/ngs-liquid-biopsy-app-spotlight-1170-2019-007.pdf. Año de publicación: 2022. Fecha de consulta: 23 de septiembre de 2025.
4. Illumina. Secuenciación de nueva generación y métodos de microarray para biopsia líquida en la investigación oncológica. illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/gated/cancer-research-liquid-biopsy-ebook-m-gl-00678.pdf. Año de publicación: 2024. Fecha de consulta: 5 de diciembre de 2025.
5. 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
6. Lockwood CM, Borsu L, Cankovic M, et al. Recommendations for cell-free DNA assay validations: A joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2023;25(12):876-897. doi:10.1016/j.jmoldx.2023.09.004e
7. Datos recopilados. Illumina, Inc. 2025.
8. Hoja de especificaciones de NextSeq 1000 System y NextSeq 2000 Sequencing. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008/nextseq-1000-2000-spec-sheet-m-na-00008.pdf. Año de publicación: 2025. Fecha de consulta: 23 de septiembre de 2025.
9. Illumina. Descubra flujos de trabajo flexibles en oncología con NextSeq 2000 System. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/oncology-workflows-flyer-m-gl-03764/oncology-workflows-flyer-m-gl-03764.pdf. Año de publicación: 2025. Fecha de consulta: 12 de diciembre de 2025.
10. Kandoth C, McLellan MD, Vandin F, et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature.* 2013;502(7471):333-339. doi:10.1038/nature12634
11. 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
12. Gao Q, Liang WW, Foltz SM, et al. Driver fusions and their implications in the development and treatment of human cancers. *Cell Rep.* 2018;23(1):227-238.e3. doi:10.1016/j.celrep.2018.03.050
13. Kavun A, Veselovsky E, Lebedeva A, et al. Microsatellite instability: A review of molecular epidemiology and implications for immune checkpoint inhibitor therapy. *Cancers.* 2023;15(8):2288. doi:10.3390/cancers15082288
14. 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
15. 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

illumina®

1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | tel.: +1 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2026 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-03798 ESP v1.0