TruSight[MC] Oncology 500 ctDNA v2 sur NextSeq[MC] 2000 System

Bénéficiez de performances inégalées avec les avantages d'un système de paillasse

Performances hautement sensibles

Détecte les biomarqueurs présents avec une fréquence allélique de variants (FAV) aussi basse que 0,2 % à partir de 20 ng d'ADNtc (5 à 30 ng possibles)

Résultats complets

Analyse plus de 500 gènes et signatures génomiques en immuno-oncologie (bMSI et bTMB) en un seul test

Flux de travail rationalisé

Fournit un flux de travail de trois jours de l'ADNa à la génération de rapports sur les variants avec une analyse des données entièrement automatisée

Débit rentable

Optimise le coût de séquençage par échantillon pour les petits lots

Introduction

La recherche basée sur le profilage génomique complet (PGC) évalue un large éventail de biomarqueurs dans un seul test, fournissant des résultats plus rapidement que les tests séquentiels. Cette approche est de plus en plus importante à mesure que de plus en plus de biomarqueurs émergent, notamment les signatures génomiques en immuno-oncologie (IO) telles que la charge mutationnelle tumorale (CMT) qui nécessite spécifiquement de grands panels de séquençage de nouvelle génération (SNG) (> 1 Mb) pour une évaluation précise[1].

Le PGC repose traditionnellement sur les tissus tumoraux solides; cependant, dans jusqu'à 25 % des cas, la quantité de tissus est insuffisante, les tumeurs sont inaccessibles ou aucun résultat ne peut être généré en temps opportun. Dans ces situations, la biopsie liquide analysant l'ADN tumoral circulant (ADNtc) offre une solution de PGC alternative[2–5].

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permet la réalisation de recherches basées sur le PGC à partir de l'ADNtc sanguin, offrant une vaste couverture des altérations dérivées de tumeurs et l'évaluation des signatures en IO telles que la CMT sanguine (bTMB, blood-based Tumor Mutational Burden) et l'IMS sanguine (bMSI, blood-based Microsatellite Instability). Le test est optimisé pour identifier les variants à basse fréquence avec une sensibilité analytique élevée et utilise une bioinformatique avancée pour filtrer l'hématopoïèse clonale et les variants germinaux[2].

Certains tests de biopsie liquide nécessitent un séquençage de l'ADNtc à une grande profondeur (20 000× ou plus) pour maximiser la sensibilité analytique et détecter les variants à basse fréquence[6]. Historiquement, cela a limité l'adoption du PGC à partir de biopsies liquides dans les petits laboratoires en raison des exigences des systèmes de séquençage à débit élevé, d'un investissement en capital initial important et de la nécessité de disposer de lots de grandes tailles pour maîtriser les coûts.

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 est le premier test de biopsie liquide à permettre la réalisation de recherches basées sur le PGC sur une plateforme de paillasse : le système NextSeq 2000 System[7]. Ce test offre de nouvelles capacités aux laboratoires qui n'utilisent pas de systèmes à débit élevé. Grâce à la chimie XLEAP-SBS[MC], une version améliorée du séquençage par synthèse (SBS, Sequencing by Synthesis), NextSeq 2000 System augmente le débit utile par Flow Cell et fournit un séquençage à fidélité élevée avec une meilleure rentabilité dans un format compact[8].

Les principaux avantages de l'exécution de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur NextSeq 2000 System sont la capacité à :

- obtenir une détection sensible des variants à basse fréquence (environ 0,2 % de FAV) à partir de 20 ng d'ADNa avec une spécificité élevée (tableau 1);
- effectuer un flux de travail rationalisé de trois jours, de l'ADNa à la génération de rapports sur les variants, avec une analyse des données entièrement automatisée (figure 1);
- améliorer la rentabilité grâce à un débit utile plus élevé fourni par la chimie XLEAP-SBS, permettant des tarifs par échantillon compétitifs avec des tailles de lots aussi petites que quatre échantillons (figure 2);
- exécuter TruSight Oncology 500 et d'autres tests de recherche en oncologie sur le même instrument pour répondre au large éventail de besoins du laboratoire[9*].

Cette note technique fournit une comparaison des performances de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur NextSeq 2000 System par rapport à celles sur NovaSeq 6000 System, la plateforme sur laquelle le test a été développé à l'origine. Les résultats montrent des performances équivalentes sur les deux systèmes, avec un investissement initial et un coût de séquençage par échantillon nettement inférieurs pour les petits lots d'échantillons lors de l'utilisation de NextSeq 2000 System.

* Les tests d'oncologie comprennent le profilage génomique avec TruSight Oncology 500 et les tests ciblés avec les panels Pillar[MD] oncoReveal[MC]. Consultez le document Unlock scalable oncology workflows with NextSeq 2000 System. (Déverrouillez les flux de travail d'oncologie évolutifs avec NextSeq 2000 System).

Tableau 1 : Performances du test TruSight Oncology 500 ctDNA v2[a]

Paramètre	Sensibilité analytique[b]	Spécificité analytique[c]
Petits variants d'ADN		≥ 99,999 %
• SNV : FAV ≥ 0,2 % (FAV ≥ 0,4 %)	≥ 90 % (≥ 95 %)	
• Points chauds de SNV : FAV ≥ 0,2 %	≥ 95 %	
• MNV : FAV ≥ 0,5 %	≥ 90 %	
• Indels : FAV ≥ 0,5 %	≥ 90 %	
Amplifications géniques : modification de facteur ≥ 1,3	≥ 95 %	≥ 95 %
Suppression des gènes : modification de facteur ≤ 0,6	≥ 95 %	≥ 95 %
Détection élevée d'IMS à une fraction tumorale de 0,3 %	≥ 95 %	≥ 95 %
Réarrangement de gènes : FAV ≥ 0,5 %	≥ 95 %	> 95 %

a. Les caractéristiques de performance ont été mesurées sur NovaSeq 6000 System en utilisant 20 ng d'ADNa et une couverture de 35 000×, comme recommandé. Des performances équivalentes ont été démontrées sur NextSeq 2000 System et la série NovaSeq X.
b. La sensibilité analytique est définie comme étant le pourcentage de détection au niveau de variant énoncé.
c. La spécificité analytique est définie comme étant la capacité de détecter un négatif connu.

MNV, variant polynucléotidique; SNV, variant mononucléotidique; FAV, fréquence allélique des variants.

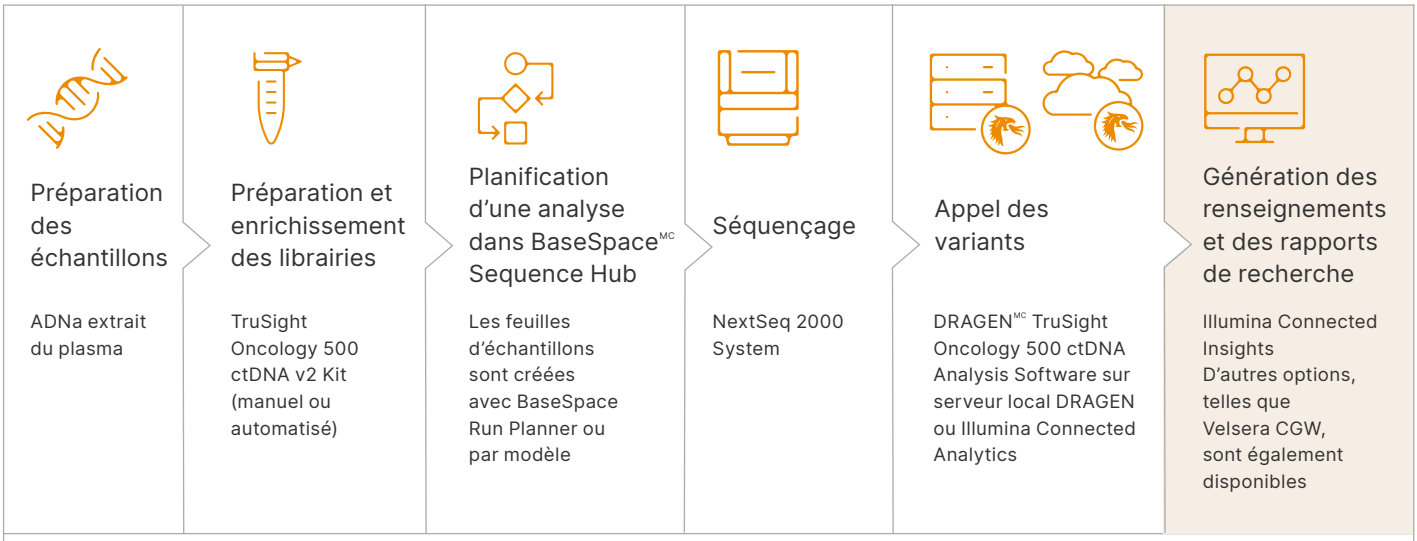


Figure 1 : Flux de travail de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur NextSeq 2000 System
La préparation manuelle des librairies prend jusqu'à 8,5 heures, dont une durée de manipulation d'environ 2,5 heures. BaseSpace Sequence Hub facilite la configuration de l'analyse, la génération de feuilles d'échantillons et la surveillance de l'état du séquençage. L'intégration avec Illumina Connected Analytics et Illumina Connected Insights permet le lancement automatisé de l'analyse secondaire et tertiaire pour un flux de travail entièrement autonome.
CGW, Clinical Genomics Workspace.

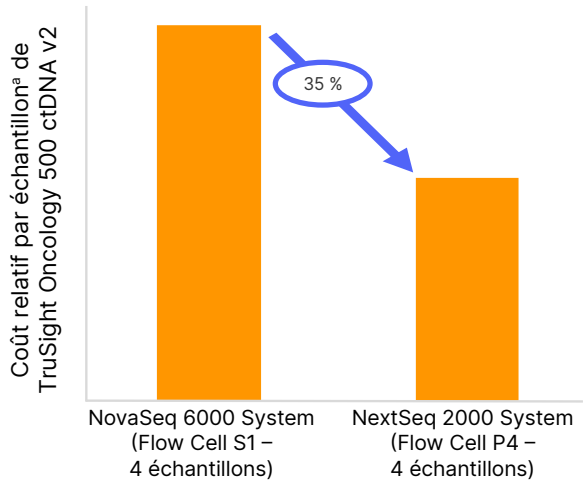


Figure 2 : Comparaison des coûts de séquençage sur NovaSeq 6000 System et NextSeq 2000 System
Le séquençage sur NextSeq 2000 System avec une Flow Cell P4 bénéficie de la rentabilité de la chimie XLEAP-SBS et offre un coût par échantillon environ 35 % inférieur par rapport au séquençage avec une Flow Cell S1 sur NovaSeq 6000 System.
a. Les estimations des coûts sont basées sur la tarification en dollars américains selon le numéro du catalogue des produits et reflètent la préparation des librairies, les index et les consommables de séquençage; les coûts associés au système ne sont pas inclus.

Méthodes

Flux de travail

Le flux de travail de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur NextSeq 2000 System suit dans l'ensemble le même processus que celui utilisé sur NovaSeq 6000 System et fournit un parcours rationalisé de l'entrée d'ADN acellulaire (ADNa) à la génération de rapports en seulement trois jours (figure 1 et tableau 2).

Les librairies sont préparées à partir d'ADNa dérivé du plasma à l'aide de protocoles manuels ou automatisés, garantissant une évolutivité et des performances constantes. La préparation manuelle des librairies nécessite environ 8,5 heures, dont une durée de manipulation d'environ 2,5 heures. La configuration du séquençage et la surveillance de l'analyse sont effectuées par l'entremise de l'interface conviviale de BaseSpace Sequence Hub.

NextSeq 2000 System s'intègre à Illumina Connected Analytics pour l'appel des variants et le stockage sécurisé des données, et à Illumina Connected Insights pour le contrôle de la qualité (CQ) des variants, la visualisation, l'interprétation et la génération de rapports. Ensemble, ces solutions fournissent un flux de travail entièrement automatisé qui supprime les transferts de données manuels grâce au lancement automatique de l'analyse secondaire et tertiaire pour réduire le temps de traitement, notamment lorsque le séquençage se termine en dehors des heures de travail normales.

Tableau 2 : Temps de traitement total

Configuration			Durée de l'analyse				
Système	Flow Cell	Nbre d'échantillons	Préparation de librairies (manuelle)	Séquençage	Analyse secondaire DRAGEN[a]	Rapports de cas Connected Insights	Total
NextSeq 2000 System	P4	4	8,5 h	44 h	1 h 45 min	20 min	~ 3 jours
Systèmes NovaSeq 6000 ou NovaSeq 6000Dx[b]	S1	4	8,5 h	25 h	1 h 45 min	20 min	~ 2,5 jours
	S2	8	8,5 h	36 h	2 h 15 min	50 min	~ 3 jours
	S4	24	8,5 h	44 h	3 h	2 h 30 min	~ 3,5 jours

a. Les durées indiquées correspondent à la durée d'analyse dans Illumina Connected Analytics (infonuagique) et comprennent un temps de file d'attente d'une demi-heure; les temps de file d'attente peuvent varier.
b. Instrument NovaSeq 6000Dx en mode recherche (RUO).

Échantillons

Les échantillons utilisés pour évaluer les performances du test comprenaient de l'ADN nucléosomique préparé (ADNnp) issu d'un mélange de lignées cellulaires disponibles sur le marché, de l'ADNa issu d'échantillons de plasma anonymisés provenant de personnes atteintes d'un cancer, de la norme de référence Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF 0.5% (SeraCare, référence n° 0710-0531) et de Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix WT (0%), (SeraCare, référence n°0710-0533) (tableau 3).

L'extraction d'ADNnp à partir de lignées cellulaires a été effectuée à l'aide de la trousse EZ Nucleosomal DNA Prep Kit (Zymo Research, référence n° D5220). L'ADNa plasmatique a été extrait à l'aide de la trousse QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit – cfDNA/cfRNA Isolation (QIAGEN, référence n° 55114). Le matériel de contrôle Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix est fourni sous forme d'acides nucléiques extraits.

Préparation des librairies

Les librairies ont été préparées à partir de 20 ng d'ADNnp extrait, d'ADNa ou de la norme de référence Seraseq à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (Illumina, référence n° 20105899) et d'IDT for Illumina UMI DNA/RNA Indexes Set A (Illumina, référence n° 20034701) et Set B (Illumina, référence n° 20034702). La préparation des librairies a été effectuée en suivant le protocole fourni dans les instructions de la trousse TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Kit.

Tableau 3 : Échantillons utilisés dans l'étude

Type d'échantillon	Nbre d'échantillons	Description	Détails
Mélange de lignées cellulaires	22	Mélanges de lignées cellulaires d'ADNnp à trois dilutions ciblant une FAV comprise entre 0,1 % et 0,5 %	Les lignées cellulaires comprenaient LoVo, A253, LC-2/ad, Hs 746.T et NA12877
Clinique	20	ADNa provenant de plasma de patients anonymisés	Échantillons obtenus auprès de fournisseurs d'échantillons biologiques
Seraseq	30	Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix (AF 0.5%), dilué avec Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix WT (0%)	Dilutions ciblant une FAV comprise entre 0,1 % et 0,5 %

ADNa, ADN acellulaire; ADNnp, ADN nucléosomique préparé; FAV, fréquence allélique des variants.

Séquençage

Les librairies ont été séquencées sur NovaSeq 6000 System à l'aide de Flow Cell S2 ou S4 (NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles), Illumina, référence n° 20028314) et NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles, Illumina, référence n° 20028312) et sur NextSeq 2000 System à l'aide de la trousse de réactifs NextSeq 2000 P4 XLEAP Reagent Kit (300 cycles, Illumina, référence n° 20100992). Le séquençage a été effectué sur les systèmes NovaSeq 6000 ou NextSeq 2000 à l'aide de lectures appariées à des profondeurs élevées pour assurer la sensibilité des variants à basse fréquence. Des paramètres d'analyse identiques ont été utilisés pour tous les systèmes et Flow Cell (tableau 4).

Tableau 4 : Détails de l'analyse de séquençage

Paramètre	Spécification
Longueur de lecture	2 × 151 pb
Nbre de cycles	300
Nbre de lectures	Environ 800 millions de lectures appariées par échantillon

Analyse

L'analyse secondaire a été effectuée localement à l'aide du pipeline DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.6. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de R 4.2.2. La concordance dans l'appel des variants entre les deux systèmes a été évaluée pour les petits variants, les variants du nombre de copies (VNC), la bMSI, la bTMB et les réarrangements de gènes de l'ADN.

Résultats

Performance du test

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 fournit des performances fiables sur NovaSeq 6000 System et sur NextSeq 2000 System. Le test a montré des performances reproductibles selon les indicateurs de contrôle de la qualité sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000 (figure 3). La couverture médiane des exons a démontré une représentation cohérente des cibles avec une profondeur de séquençage suffisante pour permettre une détection précise des variants. Les valeurs d'écart absolu médian (MAD, Median Absolute Deviation) à l'échelle génique indiquent une couverture cohérente et stable entre les cibles au sein de chaque gène et de chaque plateforme. Des valeurs plus faibles permettent une détection plus fiable des changements du nombre de copies. Les résultats des deux systèmes ont montré une forte concordance.

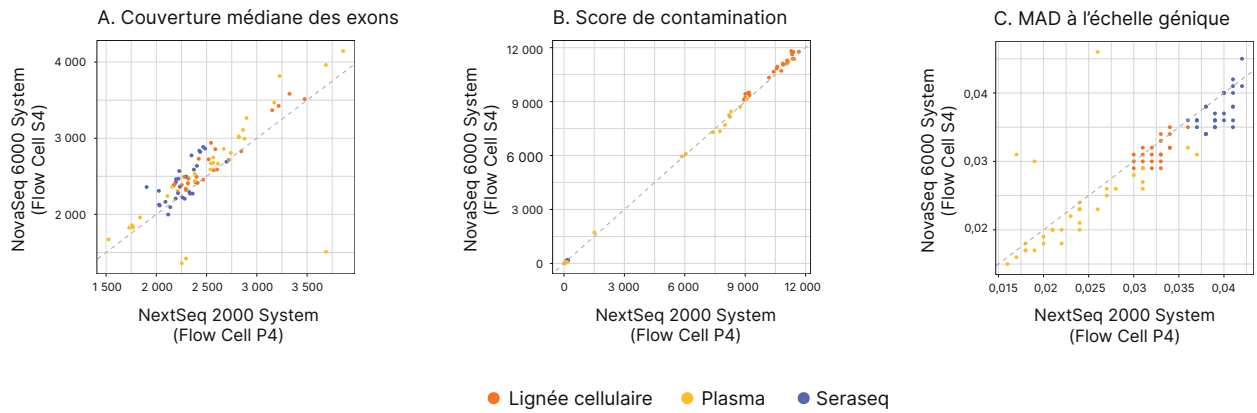


Figure 3 : Forte concordance du CQ entre les instruments
Les librairies TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mélange de lignées cellulaires, Seraseq et échantillons de patients cliniques) ont été séquencées sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000. (A) La couverture médiane des exons a démontré une représentation cohérente des cibles avec une profondeur de séquençage suffisante pour permettre une détection précise des variants. (B) Les scores de contamination étaient cohérents entre les systèmes. Veuillez noter que certains échantillons de plasma présentaient un score de contamination élevé en raison du mélange de deux échantillons uniques pour obtenir la quantité d'entrée correcte. (C) L'écart absolu médian (MAD) à l'échelle génique, utilisé pour évaluer la variabilité dans l'analyse du nombre de copies au niveau des gènes, a montré une concordance élevée entre les systèmes.

Détection des petits variants

Les petits variants sont la classe présentant le plus fréquemment des altérations somatiques dans les génomes tumoraux et représentent un composant essentiel du PGC[10]. Pour appeler les petits variants, le logiciel DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software utilise deux méthodes, l'analyse de l'empilement colonne par colonne et l'assemblage local *de novo* des haplotypes. Ce dernier élargit la détection des variants pour inclure des insertions et des suppressions plus importantes, ainsi que des variants amplifiés ensemble tels que les variants polynucléotidiques (MNV, Multinucleotide Variant) et les variants d'insertion/suppression (delins). Pour obtenir un appel des variants de haute précision, le logiciel utilise la suppression des erreurs basée sur l'identifiant moléculaire unique (IMU) et tient compte du bruit de fond en tirant parti d'un fichier de bruit systématique développé à partir d'une collection de librairies d'ADNa de référence.

Le logiciel DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software évalue chaque variant appelé pour déterminer s'il est somatique, germinal ou associé à une hématopoïèse clonale. Cette classification informe les calculs en aval, notamment la bTMB et la fréquence allélique somatique maximale (MSAF, Maximum Somatic Allele Frequency). La MSAF, définie comme la fréquence allélique la plus élevée parmi les variants somatiques détectés, est rapportée par le logiciel et peut être utilisée pour estimer la fraction tumorale.

L'évaluation de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000 comprenait la détection des variants mononucléotidiques (SNV, Single Nucleotide Variant), des suppressions et des insertions. La concordance entre les plateformes était élevée pour tous les types de variants, démontrant des performances de test constantes (figure 4 et figure 5).

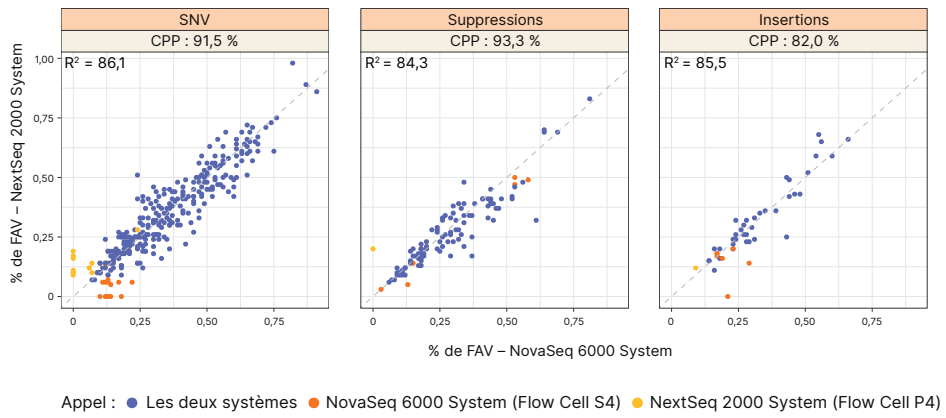


Figure 4 : Forte concordance entre plusieurs types de variants

Les librairies TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mélange de lignées cellulaires, SeraSeq et échantillons de plasma) ont été séquencées sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000. Les résultats ont démontré une concordance élevée de la fréquence allélique des variants (FAV) pour la détection des variants mononucléotidiques (SNV), des suppressions et des insertions.

CPP, concordance positive en pourcentage.

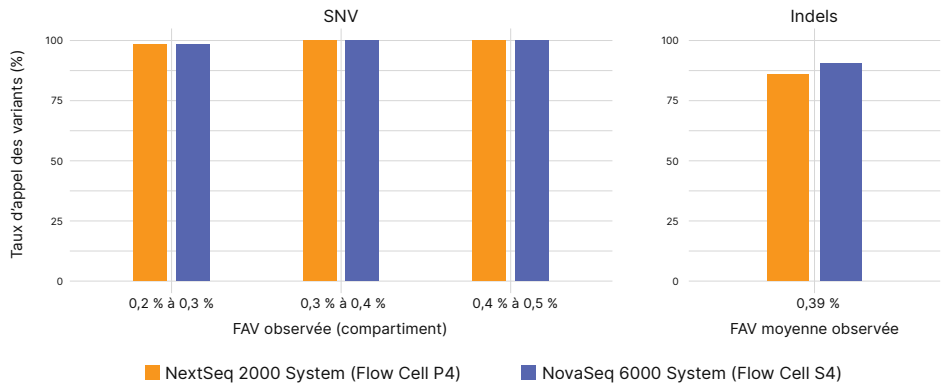


Figure 5 : Concordance élevée de l'appel des petits variants

La détection des petits variants a été évaluée dans des échantillons de contrôle Seraseq. Un taux d'appel de 100 % indique que tous les variants attendus ont été détectés. Pour tous les types de variants, les taux d'appel ont montré une concordance élevée entre les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000.

Indels, insertions et suppressions; SNV, variants mononucléotidiques, FAV, fréquence allélique des variants.

Détection de la VNC

Les changements du nombre de copies jouent un rôle essentiel dans l'apparition du cancer, dans sa progression et sa résistance thérapeutique[11]. Le logiciel DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software appelle les VNC à l'aide d'un panel de référence (un panel de référence issu d'échantillons sans altérations somatiques connues) et d'échantillons artificiels pour tenir compte des biais techniques et des artéfacts. Une étape supplémentaire de correction des biais GC est incluse pour atténuer la variabilité de couverture associée à la teneur en GC afin d'améliorer la précision de l'appel des VNC.

Les performances du test pour la détection des amplifications géniques et des suppressions ont été évaluées dans les mélanges de lignées cellulaires et un échantillon de contrôle Seraseq à l'aide de mesures de la modification de facteur. Les données des systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000 ont montré une concordance élevée pour les événements d'amplification et de suppression (figure 6 et tableau 5). L'utilisation de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur NextSeq 2000 System permet les appels à une limite de détection ≥ 1,3 fois pour les amplifications et ≤ 0,6 pour les suppressions (tableau 5).

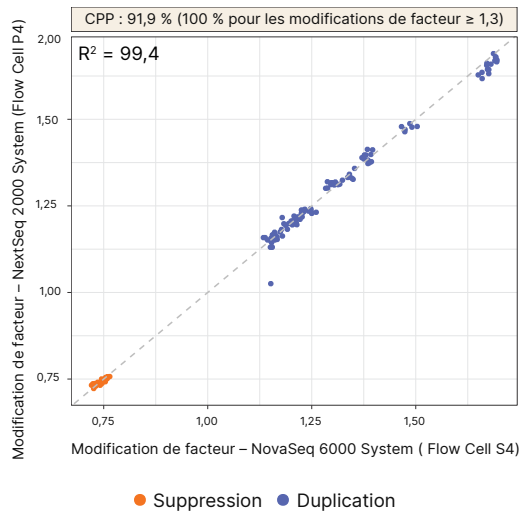


Figure 6 : Concordance des mesures de la modification de facteur pour l'analyse des VNC

Les librairies TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mélange de lignées cellulaires et Seraseq) ont été séquencées sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000. Les valeurs de modification de facteur, utilisées pour évaluer les variants du nombre de copies (VNC) des gènes, ont montré une forte concordance entre les plateformes, confirmant la détection fiable des VNC.

CPP, concordance positive en pourcentage.

Tableau 5 : Comparaison des performances analytiques de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 pour les VNC

Type d'échantillon	Modification de facteur	
	NovaSeq 6000 System (Flow Cell S4)	NextSeq 2000 System (Flow Cell P4)
Mélanges de lignées cellulaires à trois dilutions (tableau 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 : état pur (FAV à 0,5 %)		
ERBB2	1,300	1,312
MET	1,384	1,391
MYC	1,211	1,207

Les échantillons contenant des variants du nombre de copies ont été évalués à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000. Les amplifications ont été évaluées avec la norme de référence Seraseq ctDNA à une FAV de 0,5 % et des mélanges de lignées cellulaires à trois dilutions; les suppressions ont été évaluées avec des mélanges de lignées cellulaires. La limite de détection (LDD) était définie comme ≥ 1,3 pour les amplifications et ≤ 0,6 pour les suppressions. Les valeurs affichées sont des moyennes de la modification de facteur de six réplicats.

Détection du réarrangement des gènes

Les réarrangements de gènes sont des variants complexes qui nécessitent une détection fiable pour permettre le PGC[12]. Le logiciel DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software identifie les réarrangements de gènes à l'aide d'une analyse graphique des données probantes sur les variants structurels, y compris les lectures fractionnées et englobant une répétition. Les données sont ensuite traitées par une série d'étapes analytiques et de filtrage, notamment la déduplication basée sur l'IMU, pour affiner les appels de variants. Les lectures de support fournissent des données probantes directes sur les points de rupture du réarrangement et aident à distinguer les événements réels des artéfacts de séquençage.

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 a démontré une concordance élevée pour la détection de fusions sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000 (figure 7 et tableau 6).

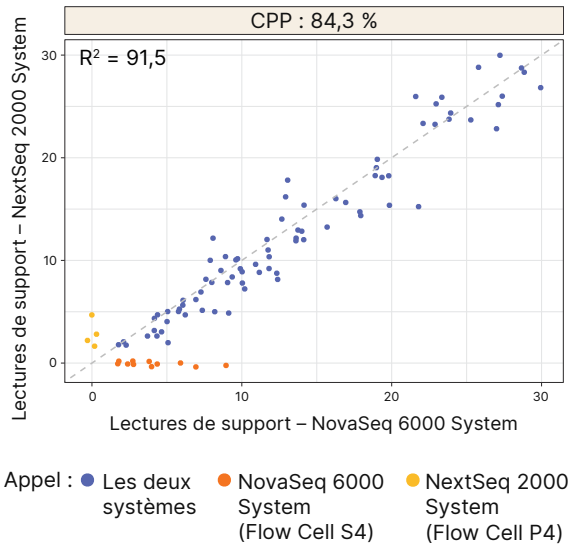


Figure 7 : Concordance élevée pour la détection des fusions d'ADN

Les librairies TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mélange de lignées cellulaires et Seraseq) séquencées sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000 ont montré une concordance élevée pour la détection des fusions d'ADN.

CPP, concordance positive en pourcentage.

Tableau 6 : Performances analytiques pour les réarrangements de gènes

Type d'échantillon	Gène	Niveau de dilution	Fréquence allélique moyenne des variants (FAV)	
			NovaSeq 6000 System	NextSeq 2000 System
Mélange de lignées cellulaires	*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*	Pur	0,35 %	0,33 %
	EML4-ALK	Pur	0,32 %	0,31 %
	NCOA4-RET	Pur	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 %

Les mélanges de lignées cellulaires ont été évalués à trois niveaux de dilution, et la norme de référence Seraseq cfDNA a été testée à l'état pur (FA à 0,5 %) et à deux niveaux de dilution (tableau 3), à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et séquencée sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000. Les valeurs représentent en moyenne six réplicats techniques d'un seul niveau de dilution.

Signatures en IO : détection de la bMSI et de la bTMB

L'évaluation des signatures en IO avec TruSight Oncology 500 ctDNA v2 comprend l'analyse de la bMSI et de la bTMB. La bMSI reflète les anomalies des voies de réparation des mésappariements de l'ADN et sert de marqueur de l'instabilité pangénomique[13]. La bTMB capture le nombre global de mutations somatiques dans les régions de codage et fournit une mesure quantitative de la charge mutationnelle[1].

Le statut de bMSI est déduit de la variabilité observée dans plusieurs locus génomiques, la distance de Jensen-Shannon (SumJSD) étant utilisée comme indicateur d'évaluation. L'analyse sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000 a montré une concordance élevée pour l'estimation du statut de bMSI (figure 8).

Une estimation fiable de la bTMB nécessite des panels de séquençage qui couvrent au moins 1,1 Mb de séquence de codage[14,15]. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 couvre environ 1,3 Mb, ce qui permet le calcul de la bTMB à partir d'ADNa. Des résultats concordants pour l'estimation de la bTMB ont été observés entre les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000 dans les échantillons artificiels et plasmatiques (figure 9).

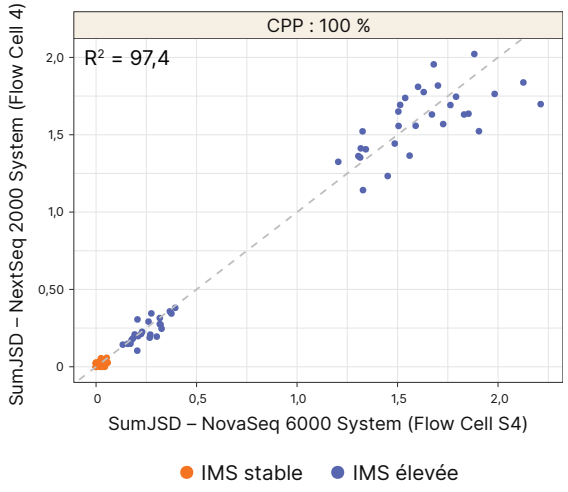


Figure 8 : Concordance du statut de bMSI
Les échantillons de contrôle Seraseq, les mélanges de lignées cellulaires et les échantillons de plasma ont été préparés à l'aide de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 et analysés sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000. La sensibilité analytique pour le statut d'instabilité microsatellitaire (IMS) a été mesurée avec le logiciel DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.6 Analysis Software. Les résultats indiquent une concordance élevée des résultats entre les deux systèmes.
IMS élevée, instabilité microsatellitaire élevée; CPP, concordance positive en pourcentage.

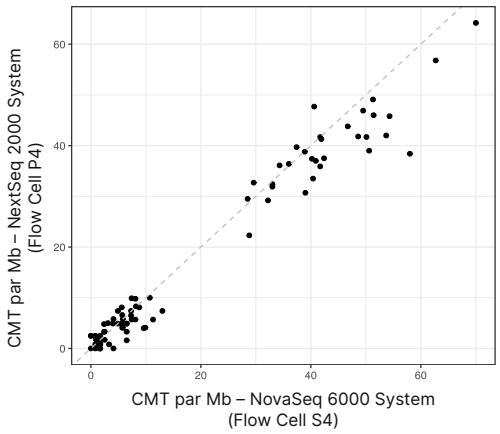


Figure 9 : Concordance élevée de l'analyse de la bTMB
Les librairies TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (mélange de lignées cellulaires, Seraseq et échantillons cliniques) ont été séquencées sur les systèmes NovaSeq 6000 et NextSeq 2000. La charge mutationnelle tumorale sanguine (bTMB) a été mesurée à l'aide du logiciel DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.6 Analysis Software.

Résumé

TruSight Oncology 500 ctDNA v2 permet la réalisation de recherches basées sur le PGC à partir de l'ADNtc, prenant en charge la détection de plusieurs classes de variants et signatures génomiques à partir d'un prélèvement sanguin non effractif. NextSeq 2000 System fournit une solution de séquençage de paillasse qui fournit des données de haute qualité à l'aide de la chimie XLEAP-SBS et d'une manipulation rationalisée des réactifs. La mise en œuvre de TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sur NextSeq 2000 System fournit un test rentable et hautement sensible, ainsi qu'un flux de travail rationalisé de trois jours avec une analyse entièrement automatisée[2].

La concordance des données avec NovaSeq 6000 System a été démontrée dans toutes les principales classes de variants, notamment les petits variants, les VNC, les réarrangements de gènes et les signatures en IO telles que la bMSI et la bTMB. En plus de sa compatibilité avec TruSight Oncology 500 ctDNA v2, NextSeq 2000 System l'est également avec TruSight Oncology 500, la solution d'Illumina pour les recherches par PGC basées sur les tissus, offrant ainsi une flexibilité pour divers flux de travail de laboratoire.

En savoir plus →

TruSight Oncology 500 ctDNA v2

NovaSeq 6000 System

NextSeq 2000 System

Références

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. TruSight Oncology 500 ctDNA v2 data sheet. 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. Publié en 2025. Consulté le 23 septembre 2025. Illumina.
3. Illumina. Liquid biopsy and NGS: Driving translational clinical research to the next level. illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appspotlights/ngs-liquid-biopsy-app-spotlight-1170-2019-007.pdf. Publié en 2022. Consulté le 23 septembre 2025.
4. Illumina. Next-generation sequencing and microarray methods for liquid biopsy in cancer research. illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/gated/cancer-research-liquid-biopsy-ebook-m-gl-00678.pdf. Publié en 2024. Consulté le 5 décembre 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. Données internes. Illumina, Inc. 2025.
8. NextSeq 1000 and NextSeq 2000 Sequencing Systems specification sheet. 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. Publié en 2025. Consulté le 23 septembre 2025.
9. Illumina. Unlock scalable oncology workflows with 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. Publié en 2025. Consulté le 12 décembre 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

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

© 2026 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-03798 FRA v1.0