illumina®

NOTA TECNICA

Uso del cfDNA come input per TruSight™ Oncology 500 v2

Un'unica soluzione per i campioni FFPE e di cfDNA

Un solo flusso di lavoro

Integrazione del cfDNA in un flusso di lavoro FFPE esistente invece di adottare una soluzione di biopsia liquida separata

Maggiore efficienza

Semplificazione delle operazioni di laboratorio per ridurre al minimo gli errori e migliorare i tempi di risposta

Ambito più ampio

Ampliamento delle applicazioni di ricerca CGP con il cfDNA per progetti di studio più completi e flessibili

Introduzione

La mappatura genomica completa (CGP, Comprehensive Genomic Profiling) basata sul sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) mirato può essere applicata nei laboratori di ricerca oncologica per caratterizzare le varianti di DNA sia in campioni di tessuto tumorale solido sia in campioni di biopsia liquida.[1-3] TruSight Oncology 500 v2 è un saggio basato su cattura ibrida e progettato per la CGP con input di DNA ed RNA fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE, Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded), il quale consente la ricerca di classi di varianti chiave, tra cui piccole varianti del DNA, alterazioni del numero di copie e fusioni geniche. Il saggio consente inoltre la valutazione delle firme immuno-oncologiche (IO, Immuno-Oncology) di instabilità microsatellitare (MSI, Microsatellite Instability) e carico mutazionale del tumore (TMB, Tumor Mutational Burden), nonché la valutazione del deficit di ricombinazione omologa (HRD, Homologous Recombination Deficit).[4] TruSight Oncology 500 ctDNA v2 è una soluzione con flusso di lavoro separato che permette la ricerca CGP a partire dal DNA tumorale circolante (ctDNA, circulating tumor DNA), offrendo ampia copertura delle alterazioni derivate dal tumore nonché capacità di valutazione del TMB basato sul sangue (bTMB, blood-based TMB) e dell'MSI basata sul sangue (bMSI, blood-based MSI).[5]

I laboratori che utilizzano TruSight Oncology 500 v2 per la mappatura basata su tessuto potrebbero essere interessati ad ampliare le proprie capacità di ricerca includendo l'analisi del ctDNA; tuttavia, l'implementazione di un saggio e di un flusso di lavoro separati per il ctDNA può richiedere formazione aggiuntiva del personale, limitare la flessibilità a livello di organizzazione dei batch e introdurre variabilità nelle procedure di gestione. Un flusso di lavoro per la preparazione delle librerie compatibile sia con input di DNA/RNA FFPE sia con input di cfDNA può semplificare le operazioni di laboratorio, aumentare la processività e offrire maggiore flessibilità nell'elaborazione e nel sequenziamento dei campioni. Sebbene TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2 siano saggi distinti, progettati per diversi tipi di input, i rispettivi flussi di lavoro di preparazione e arricchimento delle librerie sono strettamente allineati.[4,5] Di conseguenza, per i laboratori che puntano all'uniformità dei processi, potrebbe essere interessante valutare l'impiego di campioni di DNA libero circolante (cfDNA, cell-free DNA) nell'ambito del flusso di lavoro di TruSight Oncology 500 v2.

Questa nota tecnica valuta la fattibilità dell'utilizzo del cfDNA come input nel flusso di lavoro di TruSight Oncology 500 v2 nell'ambito di uno studio proof-of-concept di portata limitata, confrontandone le prestazioni con quelle del flusso di lavoro di TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Sono state valutate metriche chiave quali copertura, sensibilità analitica e specificità analitica per diverse classi di varianti, bMSI e bTMB, utilizzando cfDNA derivato dal plasma e un controllo di riferimento analizzato con DRAGEN™ TruSight Oncology 500 ctDNA.* I risultati dello studio dimostrano che il saggio TruSight Oncology 500 v2 può essere utilizzato con il cfDNA come input e che, di conseguenza, i laboratori possono estendere le proprie attività alle applicazioni di ricerca basate su biopsia liquida senza rinunciare all'uniformità dei processi di preparazione delle librerie.

* Non è stata eseguita l'analisi dell'HRD poiché le firme di cicatrici genomiche non sono misurabili in modo affidabile nel cfDNA a bassa frazione tumorale.[6]

Metodi

Campioni

Sono stati utilizzati campioni di plasma deidentificati disponibili in commercio, tra cui sette campioni da donatori normali (campioni 1-7) e quattro campioni da individui affetti da cancro (campioni 8-11). Il cfDNA circolante è stato estratto mediante QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (QIAGEN, n. di catalogo 55114) in base alle istruzioni del produttore. È stato incluso nello studio anche un campione artificiale, preparato utilizzando lo standard di riferimento Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF0.5% (SeraCare, n. di catalogo 0710-0531) (campione 12).

I campioni di cfDNA estratti sono stati quantificati utilizzando 5300 Fragment Analyzer (Agilent, n. di catalogo M5311AA) con HS Large Fragment 50 kb Kit (Agilent, n. di catalogo DNF-464-0500). Il controllo di riferimento Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix è stato quantificato utilizzando il sistema Agilent 4200 TapeStation (Agilent, n. di catalogo. G2991BA) con Cell-free DNA ScreenTape (Agilent, n. di catalogo 5067-5630) e Cell-free DNA Reagents (Agilent, n. di catalogo 5067-5631). L'ottimizzazione della quantificazione del cfDNA è descritta dettagliatamente nella nota tecnica Accurate quantification of cfDNA for use in TruSight Oncology 500 ctDNA (Quantificazione accurata del cfDNA da utilizzare con TruSight Oncology 500 ctDNA).

Preparazione delle librerie e sequenziamento

Per testare le prestazioni del saggio TruSight Oncology 500 v2 con il cfDNA, le librerie sono state preparate in conformità alla documentazione del prodotto TruSight Oncology 500 v2 utilizzando direttamente il cfDNA come input. Tutte le fasi di preparazione, arricchimento e indicizzazione delle librerie sono state condotte manualmente, a eccezione della fase di frammentazione, che è stata omessa. I campioni di cfDNA, invece, sono stati diluiti a livelli di input di 5 ng e 20 ng ciascuno in un volume totale di 50 µl, come previsto dal protocollo di TruSight Oncology 500 v2.

Ai fini del confronto, le librerie degli stessi campioni sono state preparate utilizzando TruSight Oncology 500 ctDNA v2 con input di cfDNA come indicato nella documentazione del prodotto TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Tutte le fasi di preparazione, arricchimento e indicizzazione delle librerie sono state eseguite manualmente in base al protocollo.

Le librerie preparate sono state sequenziate su NovaSeq™ 6000Dx Sequencing System† utilizzando letture paired-end a 151 bp con doppi indici a 10 bp su una cella a flusso S4.

† NovaSeq 6000Dx Sequencing System è stato utilizzato in modalità RUO.

Analisi dei dati

I dati di sequenziamento sono stati analizzati con DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software v2.1. Le metriche di controllo qualità e prestazioni, incluse quelle relative alla copertura e al rilevamento delle varianti, sono state valutate sulla base dei risultati di analisi standard. Poiché per il flusso di lavoro del ctDNA non è disponibile alcun pacchetto di risorse specifico per TruSight Oncology 500 v2, l'analisi è stata eseguita utilizzando i file delle risorse del flusso di lavoro del ctDNA (ad es., rumore sistemico e pannello CNV dei parametri normali).

Risultati

Prestazioni in base alle metriche QC

Le metriche del controllo qualità (QC, Quality Control) sono state valutate per tutti i 12 campioni preparati con TruSight Oncology 500 v2 al fine di analizzare la profondità e l'uniformità della copertura.

La copertura esonica mediana per i 12 campioni con input di 20 ng ha dimostrato prestazioni di sequenziamento coerenti: il limite inferiore delle specifiche (LSL, Lower Specification Limit) è stato superato in tutti i campioni (Figura 1).

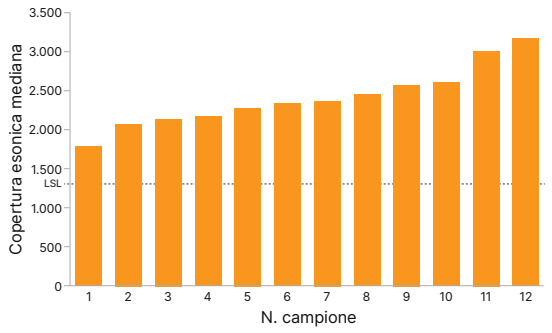


Figura 1: copertura esonica mediana nei campioni di cfDNA valutati con TruSight Oncology 500 v2
È mostrata la copertura esonica mediana per 12 campioni unici preparati con input di 20 ng ed elaborati con TruSight Oncology 500 v2, tra cui cfDNA derivato dal plasma di donatori normali (campioni n. 1-7) e di individui affetti da cancro (campioni n. 8-11) e un campione di riferimento di ctDNA artificiale (campione n. 12). Tutti i campioni hanno superato il limite inferiore delle specifiche (LSL, Lower Specific Specificing Limit) del saggio, indicando prestazioni di sequenziamento coerenti nei diversi campioni valutati.

L'uniformità della copertura, valutata in base alla percentuale di esoni con copertura di almeno 1.000×, ha evidenziato elevata copertura esonica nei vari campioni, tale da consentire la profondità necessaria per le analisi di rilevamento delle varianti a valle (Figura 2).

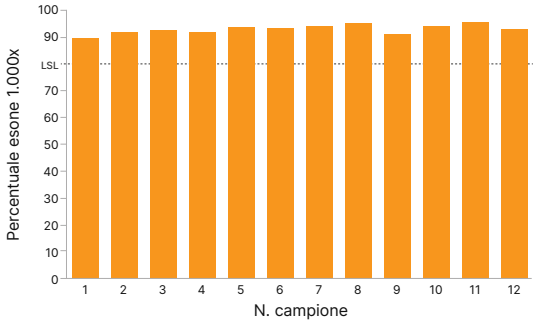


Figura 2: copertura esonica di almeno 1.000× nei campioni di cfDNA valutati con TruSight Oncology 500 v2
L'uniformità della copertura è stata valutata in base alla percentuale di esoni con copertura di almeno 1.000× in tutti i 12 campioni preparati con input di 20 ng ed elaborati con TruSight Oncology 500 v2. Nei vari campioni è stata osservata elevata copertura esonica, superiore al limite inferiore delle specifiche (LSL, Lower Specific Specificing Limit) del saggio e tale da consentire la profondità di sequenziamento necessaria per le analisi di rilevamento delle varianti a valle.

Specificità analitica e sensibilità analitica

Specificità analitica nei campioni normali di cfDNA

È stata osservata elevata specificità analitica per tutte le classi di varianti, i saggi e le quantità di DNA di input. Sia con TruSight Oncology 500 v2 sia con TruSight Oncology 500 ctDNA v2, la specificità analitica nel rilevamento di piccole varianti del DNA, amplificazioni geniche, delezioni geniche, riarrangiamenti genici e stato di instabilità microsatellitare è risultata del 100% o superiore al 99,999% sia con input di 5 ng sia con input di 20 ng (Tabella 1).

La specificità analitica nel rilevamento delle piccole varianti del DNA nei campioni normali di cfDNA è rimasta elevata nei singoli campioni, con specificità analitica complessiva superiore al 99,99% per tutte le combinazioni di saggi e input (Tabella 2). La specificità analitica nel rilevamento delle amplificazioni geniche è risultata del 100% per tutti i campioni, gli input e i saggi valutati, senza falsi positivi osservati (Tabella 3). Analogamente, la specificità analitica nel rilevamento delle fusioni è risultata del 100% in tutti i campioni normali di cfDNA con entrambi i saggi ed entrambi i livelli di input (Tabella 4).

Tabella 1: specificità analitica, sensibilità analitica e prestazioni al basale per le firme geniche IO con TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2 in uno studio di portata limitata

Input di cfDNA	Classe di varianti	TruSight Oncology 500 v2		TruSight Oncology 500 ctDNA v2	
		5 ng	20 ng	5 ng	20 ng
Specificità analitica (n = 7)[a]	SNV	> 99,999%	> 99,999%	> 99,992%	> 99,999%
	Amplificazioni geniche	100%	100%	100%	100%
	Delezioni geniche	100%	100%	100%	100%
	Riarrangiamenti genici	100%	100%	100%	100%
	Stato bMSI	100%	100%	100%	100%
Sensibilità analitica (n = 1)[b]	SNV allo 0,5%	89,5%	100%	57,9%	95%
	Amplificazioni geniche	100%	66,7%	100%	66,7%
	Riarrangiamenti genici	66,7%	100%	33%	100%
Prestazioni al basale per le firme geniche IO (n = 7)[c]	Media SumJSD bMSI	0,003	0,012	0,002	0,019
	Media punteggio bTMB	1,79	1,91	0,68	2,12

a. I risultati dell'analisi della specificità analitica sono relativi a sette campioni normali di cfDNA.
b. I risultati dell'analisi della sensibilità analitica sono relativi a un campione di controllo artificiale (Seraseq cfDNA Complete Mutation Mix AF0.5%).
c. I risultati delle prestazioni al basale per le firme geniche IO sono relativi a sette campioni normali di cfDNA.
bMSI (blood-based Microsatellite Instability), instabilità microsatellitare basata sul sangue; bTMB (blood-based Tumor Mutational Burden), carico mutazionale del tumore basato sul sangue; IO, immuno-oncologico; SNV (Small Nucleotide Variant), variante a singolo nucleotide; VAF (Variant Allele Frequency), frequenza allelica delle varianti.

Tabella 2: specificità analitica nel rilevamento di piccole varianti del DNA nei campioni normali di cfDNA

N. campione	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
	5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica
1	0	100%	4	99,9998%	2	99,998%	4	99,9998%
2	non disponibile	non disponibile	15	99,9992%	6	98,4887%	10	99,9992%
3	0	100%	2	99,9999%	4	99,9053%	1	99,9999%
4	9	99,9982%	12	99,9993%	8	99,9972%	5	99,9997%
5	0	100%	0	100%	1	99,505%	1	99,9999%
6	3	99,9996%	5	99,9997%	3	98,3607%	2	99,9998%
7	2	99,9997%	5	99,9997%	4	99,1323%	2	99,9998%
Specificità analitica complessiva	14	> 99,9996%	43	> 99,9997%	28	> 99,9928%	25	> 99,9998%

FP, falso positivo.

Tabella 3: specificità analitica nel rilevamento delle amplificazioni geniche in campioni normali di cfDNA

N. campione	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
	5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica
1	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
2	non disponibile	non disponibile	0	100%	0	100%	0	100%
3	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
4	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
5	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
6	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
7	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
Specificità analitica complessiva	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%

FP, falso positivo; N/A, non applicabile.

Tabella 4: specificità analitica nel rilevamento di fusioni in campioni normali di cfDNA

N. campione	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
	5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica	FP totali	Specificità analitica
1	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
2	non disponibile	non disponibile	0	100%	0	100%	0	100%
3	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
4	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
5	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
6	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
7	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
Specificità analitica complessiva	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%

FP, falso positivo; N/A, non applicabile.

Sensibilità analitica nel campione di riferimento artificiale

La sensibilità analitica dei saggi TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2, in entrambi i casi con input di cfDNA, è stata valutata in uno studio di portata limitata utilizzando un singolo replicato dello standard di riferimento Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix.

La sensibilità analitica nel rilevamento di piccole varianti del DNA è stata valutata per 19 varianti note presenti a circa lo 0,5% di VAF. La sensibilità analitica è aumentata con l'input di DNA, raggiungendo il 100% per TruSight Oncology 500 v2 con 20 ng (Tabella 1 e Tabella 5).

La sensibilità analitica nel rilevamento delle amplificazioni geniche è stata valutata utilizzando un campione di riferimento artificiale contenente tre amplificazioni previste. In entrambi i saggi, sono state rilevate tutte le amplificazioni con l'input di 5 ng, mentre con l'input di 20 ng ne sono state rilevate due su tre (Tabella 6).

La sensibilità analitica nel rilevamento delle fusioni è stata valutata per tre fusioni previste nel campione di riferimento artificiale. Tutte le fusioni sono state rilevate con l'input di 20 ng, mentre con l'input di 5 ng la sensibilità analitica è risultata inferiore (Tabella 7).

Tabella 5: sensibilità analitica nel rilevamento di varianti piccole del DNA in uno studio di portata limitata con un campione di riferimento (n = 1)

Gene	Variante	TruSight Oncology 500 v2		TruSight Oncology 500 ctDNA v2	
		Tasso di rilevamento		Tasso di rilevamento	
		5 ng	20 ng	5 ng	20 ng
AKT1	E17K	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
ALK	F1174L	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
ALK	G120R	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
BRAF	V600E	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
BRCA1	K65FS*47	0% (0/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	0% (0/1)
BRCA2	R2645FS*3	0% (0/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
EGFR	E746_A750del ELREA	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
EGFR	L747	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
EGFR	L858R	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
EGFR	S752_I759 del SPKANKEI	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
EGFR	T790M	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
ERBB2	A775_G776 ins YVMA	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
KIT	D816V	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
KRAS	G12C	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
KRAS	G12D	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
KRAS	Q61H	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
NRAS	Q61R	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
PIK3CA	H1047R	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
PIK3CA	N1068fs*4	100% (1/1)	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
Sensibilità analitica complessiva		89,5% (17/19)	100% (19/19)	57,9% (11/19)	95% (18/19)

Tabella 6: sensibilità analitica nel rilevamento di amplificazioni geniche in uno studio di portata limitata con un campione di riferimento (n = 1)

Gene	Variazione prevista	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
		5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
		Variazione osservata	Tasso di rilevamento	Variazione osservata	Tasso di rilevamento	Variazione osservata	Tasso di rilevamento	Variazione osservata	Tasso di rilevamento
ERBB2	1,28	1,31	100% (1/1)	1,32	100% (1/1)	1,32	100% (1/1)	1,31	100% (1/1)
MET	1,20	1,38	100% (1/1)	1,44	100% (1/1)	1,40	100% (1/1)	1,42	100% (1/1)
MYC	1,18	1,19	100% (1/1)	Non rilevata	0% (0/1)	1,21	100% (1/1)	Non rilevata	0% (0/1)
Sensibilità analitica complessiva	N/A	N/A	100% (3/3)	N/A	66,7% (2/3)	N/A	100% (3/3)	N/A	66,7% (2/3)

N/A, non applicabile.

Tabella 7: sensibilità analitica nel rilevamento di fusioni del DNA in uno studio di portata limitata con un campione di riferimento (n = 1)

Fusione	VAF prevista[a]	TruSight Oncology 500 v2						TruSight Oncology 500 ctDNA v2					
		5 ng			20 ng			5 ng			20 ng		
		Osservata		Tasso di rilevamento	Osservata		Tasso di rilevamento	Osservata		Tasso di rilevamento	Osservata		Tasso di rilevamento
		VAF	Profondità		VAF	Profondità		VAF	Profondità		VAF	Profondità	
ALK-EML4	0,49	0,55%	1.266	100% (1/1)	0,32%	3.789	100% (1/1)	Non rilevata	Non rilevata	0% (0/1)	0,28%	2.859	100% (1/1)
RET-NCOA4	0,56	Non rilevata	Non rilevata	0% (0/1)	0,26%	3.119	100% (1/1)	Non rilevata	Non rilevata	0% (0/1)	0,13%	2.363	100% (1/1)
ROS1-CD74	0,53	0,23%	1.281	100% (1/1)	0,30%	3.617	100% (1/1)	0,45%	892	100% (1/1)	0,33%	3.617	100% (1/1)
Sensibilità analitica complessiva	N/A	N/A	N/A	66,7% (2/3)	N/A	N/A	100% (3/3)	N/A	N/A	33,3% (1/3)	N/A	N/A	100% (3/3)

a. VAF prevista disponibile come AF media dalla PCR digitale riportata da SeraCare.
VAF (Variant Allele Frequency), frequenza allelica delle varianti; N/A, non applicabile.

Prestazioni al basale per le firme geniche IO

La valutazione delle firme immuno-oncologiche (IO, Immuno-Oncology) con TruSight Oncology 500 ctDNA v2 include la valutazione di bMSI e bTMB. La bMSI riflette i difetti nei percorsi di riparazione dei mismatch del DNA e viene dedotta dalla variabilità su più loci genomici utilizzando la divergenza di Jensen-Shannon (SumJSD) come metrica di valutazione.[7] Il punteggio bTMB rappresenta il numero di mutazioni somatiche all'interno delle regioni codificanti e fornisce una misura quantitativa del carico mutazionale.[8]

Le prestazioni relative alla bMSI sono state valutate per gli input di 5 ng e 20 ng di campioni normali di cfDNA elaborati con TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Tutti i campioni presentavano bassi valori di SumJSD al di sotto della soglia bMSI-high, coerenti con la stabilità microsatellitare prevista nei campioni normali (Figura 3 e Tabella 1).

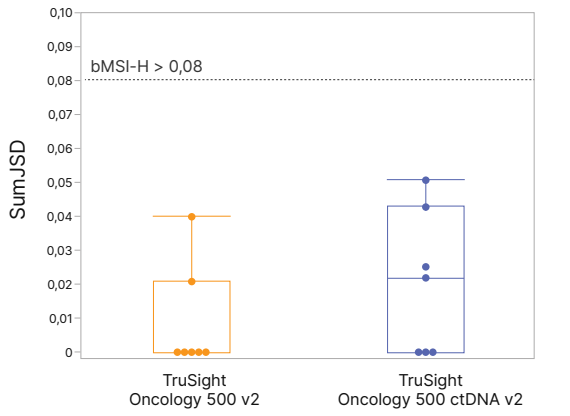


Figura 3: confronto della valutazione della bMSI utilizzando la metrica SumJSD
La bMSI è stata valutata utilizzando la metrica SumJSD per sette campioni normali di cfDNA elaborati con i flussi di lavoro di TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Le barre rappresentano i valori SumJSD aggregati per ciascun flusso di lavoro. Tutti i campioni presentavano valori SumJSD al di sotto della soglia di bMSI-high.

Le prestazioni relative al bTMB sono state valutate per i campioni elaborati con TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Sono stati osservati bassi punteggi di bTMB nei campioni normali di cfDNA sia di 5 ng sia di 20 ng, con valori coerenti per diversi flussi di lavoro e livelli di input (Figura 4 e Tabella 1). Questi risultati indicano una stima stabile delle metriche di bMSI e bTMB quando il cfDNA viene utilizzato come input nel flusso di lavoro di TruSight Oncology 500 v2.

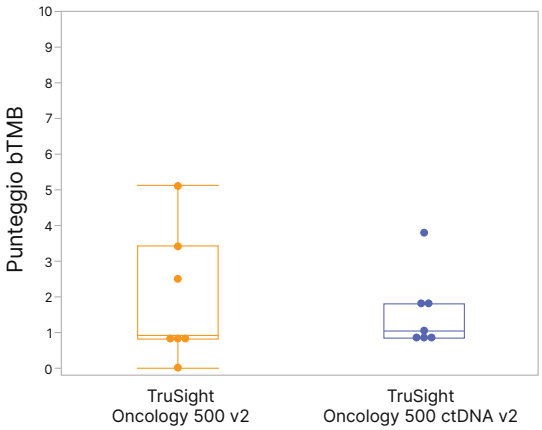


Figura 4: confronto della valutazione del bTMB
Il bTMB è stato valutato utilizzando il punteggio bTMB per sette campioni normali di cfDNA elaborati con i flussi di lavoro di TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Le barre rappresentano i punteggi di bTMB aggregati per ciascun flusso di lavoro. Bassi punteggi di bTMB sono stati osservati con entrambi i flussi di lavoro.

Riepilogo

Questo studio proof-of-concept di portata limitata ha valutato la fattibilità dell'utilizzo del cfDNA come input nel flusso di lavoro di TruSight Oncology 500 v2 con quantità di input di 5 ng e 20 ng, confrontandone le prestazioni con quelle di TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Con l'input di 20 ng, TruSight Oncology 500 v2 ha soddisfatto le specifiche di controllo qualità del saggio mostrando profondità di copertura e uniformità coerenti con i vari campioni di cfDNA. La specificità analitica nel rilevamento di piccole varianti del DNA nel cfDNA normale ha superato il 99,99%. La sensibilità analitica nel rilevamento delle varianti a bassa frequenza nel materiale di riferimento Seraseq ctDNA è risultata variabile a seconda della classe di varianti e della quantità di input e generalmente migliore con input di 20 ng per entrambi i saggi. Le prestazioni di TruSight Oncology 500 v2 con input di cfDNA sono risultate paragonabili a quelle di TruSight Oncology 500 ctDNA v2 per le varie metriche valutate, confermando l'idoneità del flusso di lavoro di TruSight Oncology 500 v2 all'uso nelle applicazioni di ricerca basate su biopsia liquida.

Maggiori informazioni →

TruSight Oncology 500 v2

Analisi DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA

Bibliografia

1. Wallen ZD, Nesline MK, Tierno M, et al. Genomic profiling of NSCLC tumors with the TruSight Oncology 500 assay provides broad coverage of clinically actionable genomic alterations and detection of known and novel associations between genomic alterations, TMB, and PD-L1. *Front Oncol.* 2024;14. doi:10.3389/fonc.2024.1473327
2. 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.
3. 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. Pubblicato nel 2024. Consultato il 5 dicembre 2025.
4. Illumina. Scheda tecnica di TruSight Oncology 500 v2. illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-v2-datasheet-m-gl-03460/tso500-v2-datasheet-m-gl-03460.pdf. Pubblicata nel 2025. Consultata il 12 febbraio 2026.
5. Illumina. Scheda tecnica di 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. Pubblicata nel 2025. Consultata il 23 settembre 2025.
6. Liu R, Roberts E, Parsons HA, et al. DirectHRD enables sensitive scar-based classification of homologous recombination deficiency. *Nucleic Acids Res.* 2025;53(8):gkaf313. doi:10.1093/nar/gkaf313
7. 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
8. 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

Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2026 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-04095 ITA v1.0