Uso de cfDNA como entrada para o TruSight™ Oncology 500 v2

Possibilitar uma solução para amostras de FFPE (formalin-fixed, paraffin-embedded, fixado em formalina, incluído em parafina) e de cfDNA (cell-free DNA, DNA livre de células)

Um fluxo de trabalho

Integre o cfDNA a um fluxo de trabalho FFPE atual em vez de adotar uma solução de biópsia líquida separada

Maior eficiência

Simplifique as operações do laboratório para minimizar erros e melhorar os tempos de resposta

Escopo mais amplo

Expanda os aplicativos de pesquisa do CGP (comprehensive genomic profiling, perfil genômico abrangente) com cfDNA, permitindo projetos de estudo mais abrangentes e flexíveis

Introdução

A determinação do perfil genômico abrangente (CGP) usando sequenciamento de última geração direcionado pode ser aplicada em laboratórios de pesquisa oncológica para caracterizar variantes de DNA de amostras de tecido tumoral sólido e de biópsia líquida.[1-3] O TruSight Oncology 500 v2 é um ensaio baseado em captura híbrida projetado para CGP de entrada de DNA e RNA fixados em formalina, incluídos em parafina (FFPE) e permite a pesquisa de classes de variantes essenciais, incluindo pequenas variantes de DNA, alterações no número de cópias e fusões genéticas. O ensaio também permite a avaliação da instabilidade de microssatélites (MSI, microsatellite instability) das assinaturas imuno-oncológicas (IO) e da carga mutacional tumoral (TMB, tumor mutational burden), além da avaliação da deficiência de recombinação homóloga (HRD, homologous recombination deficiency).[4] O TruSight Oncology 500 ctDNA v2 é uma solução de fluxo de trabalho separada que permite a pesquisa de CGP do DNA tumoral circulante (ctDNA), fornecendo ampla cobertura de alterações derivadas do tumor e avaliação de TMB no sangue (bTMB, blood-based TMB) e MSI no sangue (bMSI, blood-based MSI).[5]

Os laboratórios que usam o TruSight Oncology 500 v2 para determinação do perfil tecidual podem procurar expandir seus recursos de pesquisa para incluir análise de ctDNA. No entanto, a implementação de um ensaio e um fluxo de trabalho separados para ctDNA pode aumentar os requisitos de treinamento, limitar a flexibilidade da criação de lotes e introduzir variabilidade de manuseio. Um fluxo de trabalho de preparação de bibliotecas que permite entradas de DNA/RNA FFPE e cfDNA pode simplificar as operações do laboratório, aumentar a produtividade e fornecer maior flexibilidade no processamento e sequenciamento de amostras. Embora o TruSight Oncology 500 v2 e o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 sejam ensaios distintos criados para diferentes tipos de entrada, seus fluxos de trabalho de preparação e enriquecimento de bibliotecas estão estreitamente alinhados,[4,5] fazendo a avaliação da entrada de DNA livre de células (cfDNA) no fluxo de trabalho de interesse do TruSight Oncology 500 v2 para laboratórios que buscam consistência no fluxo de trabalho.

Esta nota técnica avalia a viabilidade do uso de cfDNA como entrada no fluxo de trabalho do TruSight Oncology 500 v2 em um estudo limitado de prova de conceito, com desempenho avaliado em comparação com o fluxo de trabalho do TruSight Oncology 500 ctDNA v2. As principais métricas incluíram cobertura, sensibilidade analítica e especificidade analítica entre classes de variantes, bMSI e bTMB, usando cfDNA proveniente de plasma e um controle de referência com análise do DRAGEN™ TruSight Oncology 500 ctDNA.* Os resultados do estudo demonstram que o ensaio TruSight Oncology 500 v2 pode ser usado com entrada de cfDNA, permitindo que os laboratórios se expandam para aplicações de pesquisa de biópsia líquida, ao mesmo tempo mantendo um processo consistente de preparação da biblioteca.

* A análise da HRD não foi realizada, pois as assinaturas genômicas da cicatriz não são mensuráveis de forma confiável no cfDNA de baixa fração.[6]

Métodos

Amostras

As amostras de plasma não identificadas foram obtidas comercialmente e incluíram sete amostras de doadores normais (amostras 1 a 7) e quatro amostras de indivíduos com câncer (amostras 8 a 11). O cfDNA circulante foi extraído usando o QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (QIAGEN, n.º do catálogo 55114) de acordo com as instruções do fabricante. Além disso, uma amostra elaborada usando o padrão de referência Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix AF0,5% (SeraCare, n.º do catálogo 0710-0531) foi incluída no estudo (amostra 12).

As amostras de cfDNA extraídas foram quantificadas usando um 5300 Fragment Analyzer (Agilent, n.º do catálogo M5311AA) com o HS Large Fragment 50 kb Kit (Agilent, n.º do catálogo DNF-464-0500). O controle de referência Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix foi quantificado usando o sistema Agilent 4200 TapeStation (Agilent, n.º do catálogo G2991BA) com o Cell-free DNA ScreenTape (Agilent, n.º do catálogo 5067-5630) e DNA Cell-free Reagents (Agilent, n.º do catálogo 5067-5631). A otimização da quantificação de cfDNA é descrita em detalhes na nota técnica Quantificação precisa de cfDNA para uso no TruSight Oncology 500 ctDNA.

Preparação e sequenciamento da biblioteca

Para testar o desempenho do ensaio TruSight Oncology 500 v2 com cfDNA, as bibliotecas foram preparadas de acordo com a documentação do produto TruSight Oncology 500 v2 usando cfDNA diretamente como entrada. Todas as etapas de preparação, enriquecimento e indexação da biblioteca foram realizadas manualmente, com exceção da etapa de fragmentação, que foi omitida. Em vez disso, as amostras de cfDNA foram diluídas em níveis de entrada de 5 ng e 20 ng cada em um volume total de 50 µl, consistente com o protocolo TruSight Oncology 500 v2.

Para comparação, bibliotecas para as mesmas amostras foram preparadas usando TruSight Oncology 500 ctDNA v2 com entrada de cfDNA seguindo a documentação do produto TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Todas as etapas de preparação, enriquecimento e indexação da biblioteca foram realizadas manualmente de acordo com o protocolo.

As bibliotecas preparadas foram sequenciadas em um NovaSeq™ 6000Dx Sequencing System† usando leituras tipo paired-end de 151 bp com índices duplos de 10 bp em uma lâmina de fluxo S4.

† O NovaSeq 6000Dx Sequencing System foi usado no modo RUO (Research use only, Somente para pesquisa).

Análise de dados

Os dados de sequenciamento foram analisados usando o DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Software v2.1. As métricas de controle de qualidade e desempenho, incluindo métricas de cobertura e detecção de variantes, foram avaliadas usando resultados de análise padrão. Como nenhum pacote de recursos específico do TruSight Oncology 500 v2 está disponível para o fluxo de trabalho do ctDNA, a análise foi realizada usando arquivos de recursos do fluxo de trabalho do ctDNA (por exemplo, ruído sistêmico e painel de normais da CNV (Copy number variations, variações do número de cópias).

Resultados

Desempenho da métrica de CQ

As métricas de controle de qualidade (CQ) foram avaliadas em todas as doze amostras preparadas usando TruSight Oncology 500 v2 para avaliar a profundidade e a uniformidade da cobertura.

A cobertura mediana do éxon entre as doze amostras usando entrada de 20 ng demonstrou desempenho de sequenciamento consistente, com todas as amostras excedendo o limite de especificação inferior (LSL, lower specification limit) (Figura 1).

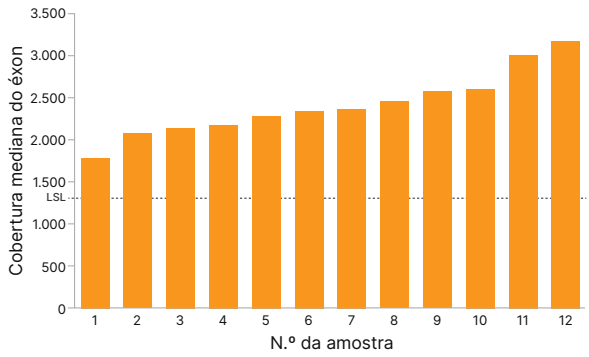


Figura 1: Cobertura mediana do éxon em amostras de cfDNA avaliadas com o TruSight Oncology 500 v2
A cobertura mediana do éxon é mostrada para 12 amostras exclusivas preparadas usando 20 ng de entrada e processadas com o TruSight Oncology 500 v2, incluindo cfDNA de plasma de doadores normais (amostras n.ºs 1 a 7) e de indivíduos com câncer (amostras n.ºs 8 a 11) e uma amostra de referência de ctDNA elaborada (amostra n.º 12). Todas as amostras excederam o limite de especificação inferior (LSL, lower specification limit) do ensaio, indicando o desempenho consistente do sequenciamento entre as amostras avaliadas.

A uniformidade da cobertura foi avaliada usando a porcentagem de éxons que atingiram cobertura ≥1.000×, com uma cobertura de alto nível de éxons observada entre as amostras, permitindo a profundidade adequada para análises posteriores de detecção de variantes (Figura 2).

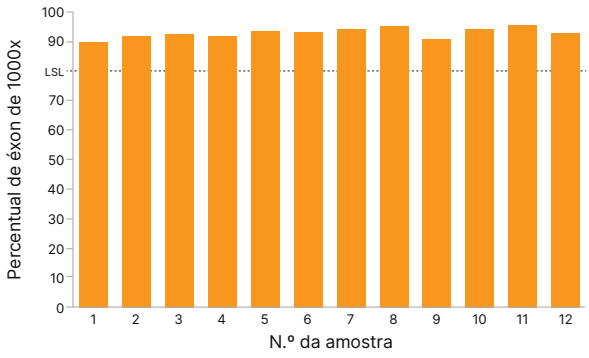


Figura 2: Cobertura do éxon ≥1.000× em amostras de cfDNA avaliadas com o TruSight Oncology 500 v2
A uniformidade da cobertura foi avaliada como a porcentagem de éxons que atingiram pelo menos 1.000× de cobertura em todas as 12 amostras preparadas com entrada de 20 ng e processadas com o TruSight Oncology 500 v2. Foi observada alta cobertura no nível do éxon entre as amostras excedendo o limite de especificação inferior (LSL, lower specification limit) do ensaio, possibilitando profundidade de sequenciamento suficiente para análises posteriores de detecção de variantes.

Especificidade analítica e sensibilidade analítica

Especificidade analítica em amostras normais de cfDNA

Foi observada alta especificidade analítica entre classes de variantes, ensaios e quantidades de entrada de DNA. No TruSight Oncology 500 v2 e no TruSight Oncology 500 ctDNA v2, a especificidade analítica para pequenas variantes de DNA, amplificações, deleções, rearranjos de genes e status da instabilidade de microssatélites foi de 100% ou >99,999% com entrada de 5 ng e de 20 ng (Tabela 1).

A especificidade analítica de variantes pequenas de DNA em amostras normais de cfDNA permaneceu alta em amostras individuais, com a especificidade analítica geral excedendo 99,99% para todas as combinações de ensaios e entradas (Tabela 2). A especificidade analítica da amplificação de genes foi de 100% em todas as amostras, entradas e ensaios avaliados, sem falsos positivos observados (Tabela 3). Da mesma forma, a detecção de fusão demonstrou especificidade analítica de 100% em todas as amostras normais de cfDNA para ambos os ensaios em ambos os níveis de entrada (Tabela 4).

Tabela 1: Especificidade analítica, sensibilidade analítica e desempenho basal de assinaturas gênicas de IO para o TruSight Oncology 500 v2 e o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 em um estudo limitado

Entrada de cfDNA	Classe da variante	TruSight Oncology 500 v2		TruSight Oncology 500 ctDNA v2	
		5 ng	20 ng	5 ng	20 ng
Especificidade analítica (n = 7)[a]	SNV (Single nucleotide variants, Variantes de nucleotídeo único)	>99,999%	>99,999%	>99,992%	>99,999%
	Amplificações de genes	100%	100%	100%	100%
	Deleções de genes	100%	100%	100%	100%
	Rearranjos de genes	100%	100%	100%	100%
	Status da bMSI	100%	100%	100%	100%
Sensibilidade analítica (n = 1)[b]	SNVs a 0,5%	89,5%	100%	57,9%	95%
	Amplificações de genes	100%	66,7%	100%	66,7%
	Rearranjos de genes	66,7%	100%	33%	100%
Desempenho basal de assinaturas gênicas de IO (n = 7)[c]	SumJSD (Jensen–Shannon distance, distância de Jensen-Shannon) média da bMSI	0,003	0,012	0,002	0,019
	Média da pontuação de bTMBMB	1,79	1,91	0,68	2,12

a. Os resultados da análise de especificidade analítica são de sete amostras normais de cfDNA.
b. Os resultados da análise de sensibilidade analítica são de uma amostra de controle elaborada (mistura completa de mutação Seraseq cfDNA com AF0,5%).
c. Os resultados do desempenho basal das assinaturas gênicas de IO são de sete amostras normais de cfDNA.
bMSI, instabilidade de microssatélites do sangue; bTMB, carga mutacional tumoral do sangue; IO, imuno-oncologia; SNV, variante de nucleotídeo único; VAF, frequência alélica da variante.

Tabela 2: Especificidade analítica de pequenas variantes de DNA em amostras normais de cfDNA

N.º da amostra	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
	5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica
1	0	100%	4	99,9998%	2	99,998%	4	99,9998%
2	não disponível	não disponível	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%
Especificidade analítica geral	14	>99,9996%	43	>99,9997%	28	>99,9928%	25	>99,9998%

FP, falso positivo.

Tabela 3: Especificidade analítica da amplificação de genes em amostras normais de cfDNA

N.º da amostra	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
	5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica
1	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
2	não disponível	não disponível	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%
Especificidade analítica geral	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%

FP, falso positivo; N/A, não aplicável.

Tabela 4: Especificidade analítica da fusão em amostras normais de cfDNA

N.º da amostra	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
	5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica	Total de FPs	Especificidade analítica
1	0	100%	0	100%	0	100%	0	100%
2	não disponível	não disponível	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%
Especificidade analítica geral	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%	N/A	100%

FP, falso positivo; N/A, não aplicável.

Sensibilidade analítica na amostra de referência elaborada

A sensibilidade analítica dos ensaios TruSight Oncology 500 v2 e TruSight Oncology 500 ctDNA v2, ambos usando entrada de cfDNA, foi avaliada em um estudo limitado usando uma única réplica do padrão de referência Seraseq ctDNA Complete Mutation Mix.

A sensibilidade analítica para detecção de pequenas variantes de DNA foi avaliada em 19 variantes conhecidas presentes em VAF de aproximadamente 0,5%. A sensibilidade analítica aumentou com a entrada de DNA, atingindo 100% para o TruSight Oncology 500 v2 com 20 ng (Tabela 1 e Tabela 5).

A sensibilidade analítica da detecção de amplificação de genes foi avaliada usando uma amostra de referência elaborada contendo três amplificações esperadas. Todas as amplificações foram detectadas com uma entrada de 5 ng, enquanto duas de três foram detectadas com 20 ng de entrada para ambos os ensaios (Tabela 6).

A sensibilidade analítica da detecção de fusão foi avaliada em três fusões esperadas na amostra de referência elaborada. Todas as fusões foram detectadas com entrada de 20 ng, com menor sensibilidade analítica observada com entrada de 5 ng (Tabela 7).

Tabela 5: Sensibilidade analítica de pequena variante de DNA em um estudo limitado usando uma amostra de referência (n = 1)

Gene	Variante	TruSight Oncology 500 v2		TruSight Oncology 500 ctDNA v2	
		Taxa de detecção		Taxa de detecção	
		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)
Sensibilidade analítica geral		89,5% (17/19)	100% (19/19)	57,9% (11/19)	95% (18/19)

Tabela 6: Sensibilidade analítica de amplificação de genes em um estudo limitado usando uma amostra de referência (n = 1)

Gene	Fold change esperado	TruSight Oncology 500 v2				TruSight Oncology 500 ctDNA v2			
		5 ng		20 ng		5 ng		20 ng	
		Fold change observado	Taxa de detecção	Fold change observado	Taxa de detecção	Fold change observado	Taxa de detecção	Fold change observado	Taxa de detecção
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)	não detectada	0% (0/1)	1,21	100% (1/1)	não detectada	0% (0/1)
Sensibilidade analítica geral	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, não aplicável.

Tabela 7: Sensibilidade analítica de fusão de DNA em um estudo limitado usando uma amostra de referência (n = 1)

Fusão	VAF esperada[a]	TruSight Oncology 500 v2						TruSight Oncology 500 ctDNA v2					
		5 ng			20 ng			5 ng			20 ng		
		Observada		Taxa de detecção	Observada		Taxa de detecção	Observada		Taxa de detecção	Observada		Taxa de detecção
		VAF	Profundidade		VAF	Profundidade		VAF	Profundidade		VAF	Profundidade	
ALK-EML4	0,49	0,55%	1.266	100% (1/1)	0,32%	3.789	100% (1/1)	não detectada	não detectada	0% (0/1)	0,28%	2.859	100% (1/1)
RET-NCOA4	0,56	não detectada	não detectada	0% (0/1)	0,26%	3.119	100% (1/1)	não detectada	não detectada	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)
Sensibilidade analítica geral	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 esperada disponível como AF média da PCR digital relatada pela SeraCare.
VAF, frequência alélica da variante; N/A, não aplicável.

Desempenho básico de assinaturas gênicas de IO

A avaliação de assinaturas de imuno-oncologia (IO) usando o TruSight Oncology 500 ctDNA v2 inclui a avaliação de bMSI e bTMB. A bMSI reflete defeitos nas vias de reparo de incompatibilidade de DNA e é inferida com base na variabilidade em vários locais genômicos, com a distância de Jensen–Shannon (SumJSD, Jensen–Shannon distance) usada como métrica de avaliação.[7] A pontuação de bTMB representa o número de mutações somáticas dentro das regiões de codificação e fornece uma medida quantitativa da carga mutacional.[8]

O desempenho da bMSI foi avaliado para amostras normais de cfDNA com entradas de 5 ng e 20 ng processadas com o TruSight Oncology 500 v2 e o TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Todas as amostras exibiram valores baixos de SumJSD abaixo do limite bMSI alta, consistente com a estabilidade de microssatélites esperada em amostras normais (Figura 3 e Tabela 1).

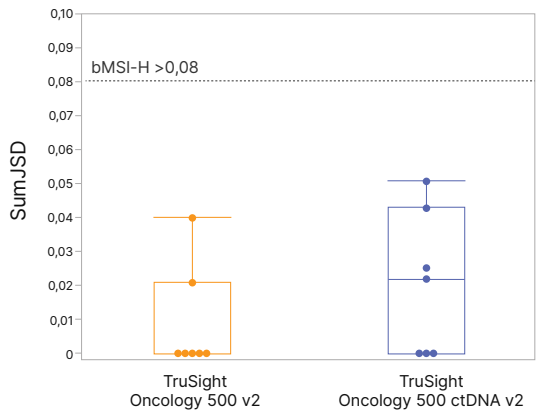


Figura 3: Comparação da avaliação de bMSI usando SumJSD
A bMSI foi avaliada usando a métrica de SumJSD em sete amostras normais de cfDNA processadas com os fluxos de trabalho do TruSight Oncology 500 v2 e do TruSight Oncology 500 ctDNA v2. As barras representam valores de SumJSD agregados para cada fluxo de trabalho. Todas as amostras exibiram valores de SumJSD abaixo do limite de bMSI alta.

O desempenho da bTMB foi avaliado em amostras processadas com o TruSight Oncology 500 v2 e o TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Baixas pontuações de bTMB foram observadas em amostras normais de cfDNA com entradas de 5 ng e 20 ng, com valores consistentes nos fluxos de trabalho e níveis de entrada (Figura 4 e Tabela 1). Esses resultados indicam uma estimativa estável das métricas de bMSI e bTMB quando o cfDNA é usado como entrada no fluxo de trabalho do TruSight Oncology 500 v2.

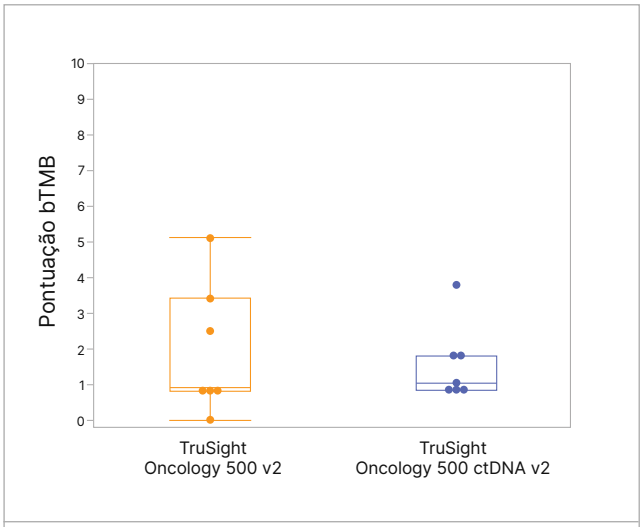


Figura 4: Comparação da avaliação de bTMB
A bTMB foi avaliada usando a pontuação de bTMB em sete amostras normais de cfDNA processadas com os fluxos de trabalho do TruSight Oncology 500 v2 e do TruSight Oncology 500 ctDNA v2. As barras representam pontuações de bTMB agregadas para cada fluxo de trabalho. Baixas pontuações de bTMB foram observadas em ambos os fluxos de trabalho.

Resumo

Este estudo limitado de prova de conceito avaliou a viabilidade do uso do cfDNA como entrada no fluxo de trabalho do TruSight Oncology 500 v2 em quantidades de entrada de 5 ng e 20 ng e avaliou o desempenho em relação ao TruSight Oncology 500 ctDNA v2. Com entrada de 20 ng, o TruSight Oncology 500 v2 atendeu às especificações de controle de qualidade do ensaio com profundidade e uniformidade de cobertura consistentes em amostras de cfDNA. A especificidade analítica no cfDNA normal excedeu 99,99% para pequenas variantes de DNA. A sensibilidade analítica para variantes de baixa frequência no material de referência do Seraseq ctDNA variou por classe de variante e quantidade de entrada, com detecção mais alta geralmente observada em entradas de 20 ng para ambos os ensaios. Entre as métricas avaliadas, o desempenho do TruSight Oncology 500 v2 usando entrada de cfDNA foi comparável ao do TruSight Oncology 500 ctDNA v2, possibilitando o uso do fluxo de trabalho do TruSight Oncology 500 v2 para aplicações de pesquisa de biópsia líquida.

Saiba mais →

TruSight Oncology 500 v2

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA analysis

Referências

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. Publicado em 2024. Acessado em 5 de dezembro de 2025.
4. Illumina. TruSight Oncology 500 v2 data sheet. 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. Publicado em 2025. Acessado em 12 de fevereiro de 2026.
5. 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. Publicado em 2025. Acessado em 23 de setembro de 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

+1 (800) 809-4566, ligação gratuita (EUA) | tel. +1 (858) 202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2026 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-04095 PTB v1.0