

# TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

リキッドバイオプシーサンプルからの  
高感度かつ迅速なCGPの取得

- 20 ng ctDNA (5~30 ngで可能) からわずか0.2% VAFのバイオマーカーを検出
- 手動または自動化オプションで包括的な結果を4日以内に取得
- 1回のアッセイで500以上の遺伝子および免疫腫瘍学 (IO) ゲノムシグネチャー (MSI, TMB) を解析
- NovaSeq™ Xシリーズによる経済性の革新と、最小4サンプルのバッチサイズを活用

illumina®

## ctDNAとリキッドバイオプシーがCGPにもたらす価値

がんのゲノム構造を理解することは、病気の原因となる変化の特定に役立つ可能性があり、プレジジョンメディシンの実現に貢献することができます。これらの腫瘍学研究にアプローチするための1つの方法が、包括的ゲノムプロファイリング (CGP) です。CGPは、次世代シーケンサー (NGS) を利用して単一のアクセシビリティで幅広いバイオマーカーを評価するプレジジョンメディシンアプリケーションであり、使用するサンプル量が少なく、一連の関連検査を複数実施するよりも早く結果が得られます。<sup>1,2</sup> さらに、CGP検査は、単一遺伝子検査やホットスポットNGSパネルなどの従来の検査アプローチよりも臨床的に関連性の高いバリエーションを同定できます。<sup>3-6</sup> 腫瘍変異負荷 (TMB) のような免疫腫瘍学 (IO) ゲノムシグネチャーなど、高精度な同定のために大規模なNGSパネル (> 1 Mb) を必要とするバイオマーカーが発見されるにつれ、より多くのバリエーションを検出するこの能力の重要性が増しています。<sup>7,8</sup>

CGPは、一般的にホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルなどの固形腫瘍組織検体を使用します。時には、十分な組織検体が入手できない場合 (これは最大25%の確率で発生する可能性があります)<sup>9</sup>、腫瘍にアクセスできない場合、または組織バイオプシーの結果を得るまでにあまりにも遅くなる場合もあります。このような場合、血液ベースのリキッドバイオプシーからの血中循環腫瘍DNA (ctDNA) を使用してCGPを実施することにより、腫瘍のゲノム状況についての洞察を得ることができます。がんが進行するすべての段階<sup>10</sup>、および肺がん、乳がん、結腸がん、卵巣がんなどの複数種類の固形腫瘍にわたって、ctDNAが検出されています。CGPでctDNAを使用する利点:

- 侵襲性が最小限の採血からサンプルに簡単にアクセスできる<sup>11</sup>
- 複数の腫瘍または同じ腫瘍からでもクローンをキャプチャーし<sup>12</sup>、生検に伴う従来のサンプリングバイアスを克服し、より多くの変異を同定する能力を拡大できる<sup>12-15</sup>
- 腫瘍内および腫瘍間の不均一性に関する時間的および空間的情報を取得できる<sup>11</sup>
- 解析を繰り返してクローン選択を評価できる

リキッドバイオプシーは腫瘍プロファイリングのために血漿からctDNAを含むセルフリーDNA (cfDNA) を得るための非侵襲的アプローチを提供します (図1)。非小細胞性肺がん (NSCLC) などの特定の疾患では、リキッドバイオプシーからのCGP解析を組織解析に追加することで、臨床的に関連する変異の同定が15~48%増加します。<sup>13,14,16</sup> さらに、非小細胞性肺がんの研究では、cfDNA解析が組織ベースの解析と高い一致を示すことが明らかになりました。<sup>14</sup> 今日、リキッドバイオプシーは分子プロファイリング用のサンプルを入手する方法として専門的なガイドラインでの記載が増加しています (12疾患以上)。<sup>17-19</sup>

リキッドバイオプシーを活用するには、ctDNA中に低頻度で存在する体細胞変異を検出できる、高感度で特異的な解析アクセシビリティを使用することが重要です。従来のTruSight Oncology 500 ctDNA アクセシビリティ<sup>20</sup> は、実証済みのIllumina NGSテクノロジーの力を活用し、CGPを可能にするために必要となる高い分析感度を達成することで、この課題に対処しました。この成功に基づいて、TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (表1、表2) はケミストリーとワークフローを改善したことで、感度の向上と結果を得るまでの時間短縮を実現しました (表3)。



図1:リキッドバイオプシーにより、CGPに対する非侵襲的アプローチが可能になります:血漿中のセルフリーDNAに含まれるctDNAは簡単な採血から得られ、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析し、主要なガイドラインに記載されているがん関連バイオマーカーの存在を検出できます。

表1: TruSight Oncology ctDNA v2の概要

パラメーター	仕様
システム	NovaSeq Xシリーズ NovaSeq 6000システム NextSeq 6000Dx システム (RUOモード) <sup>a</sup>
サンプルスルーブック	1回のランにつき4~48サンプル
ライブラリー調製 キットサイズ	24サンプル (手動) 48サンプル (自動化)
フローセルあたりの サンプル数	1.5Bフローセルあたり4サンプル S2フローセルあたり8サンプル 10Bフローセルあたり24サンプル S4フローセルあたり24サンプル
自動化性能	Hamilton Microlab STARで利用可能な Illumina認定メソッド
パネルサイズ	1.94 Mb DNA
パネルコンテンツ	スモールバリエーションには523遺伝子 CNVには59遺伝子 遺伝子再構成には23遺伝子 MSI (> 2300座位) TMB (> 1 Mb)
サンプルの種類	血漿由来cfDNA
DNAインプット必要量	20 ng cfDNA (5~30 ngも可能) <sup>b</sup>
合計アッセイ時間	ライブラリー調製からバリエーションレポートまで: • NovaSeq Xシリーズでは3日 • NovaSeq 6000システムでは4日
ハンズオンタイム	8~24サンプル (手動): 約2.5時間 8~24サンプル (自動): 約1.5時間 48サンプル (手動): 約4.5時間 48サンプル (自動): 約1.5時間
ライブラリー調製時間 <sup>c</sup>	8~24サンプル (手動): 約8.5時間 8~24サンプル (自動): 約9.5時間 48サンプル (手動): 約10時間 48サンプル (自動): 約11時間
シーケンスランタイム	22~44時間 (表5を参照)
シーケンスランの リード長	151 bp x 2
シーケンスカバレッジ	35,000 x
バリエーション解析時間	8サンプル: 9~12時間 24サンプル: 20~24時間 48サンプル: 40~48時間

a. NovaSeq 6000Dx システムのオンボードサーバー互換性は2024年下半期に実現します。  
b. Agilent TapeStationまたはFragment Analyzerシステムを使用した定量化が推奨されます。インプット量の詳細については、テクニカルノート「[低インプット量でのTruSight Oncology ctDNA v2の使用](#)」をお読みください。  
c. ライブラリー調製、濃縮、ビーズベースのノーマライゼーションが含まれます。

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。

表2: TruSight Oncology ctDNA v2の性能特性<sup>a</sup>

パラメーター	仕様
検出下限 (LOD)	SNVでは0.2% VAF MNVおよびIndelでは0.5% VAF 遺伝子再構成では0.5% VAF 遺伝子増幅では1.3倍以上の変化 遺伝子欠失では0.6倍以下の変化 MSIでは0.3%以上の腫瘍画分
LODでの分析感度	≥ 90% (SNVではLOD 0.2% VAF) ≥ 95% (SNVホットスポットではLOD 0.2% VAF) ≥ 95% (その他すべての種類のバリエーションではLOD 0.5% VAF)
分析特異度	≥ 99.999%

a. NovaSeq 6000システムおよびNovaSeq Xシリーズで検証済み。

表3: TruSight Oncology ctDNA v2の進歩

利点	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA (オリジナル)
アッセイ感度の向上	個別の末端平滑化ステップとA-tailingステップ	末端平滑化とA-tailingの統合
より効率化されたワークフローとユーザーエクスペリエンスの向上	プレートベースインデックス/UMI	チューブベースインデックス/UMI
より迅速な1日ワークフロー	ハイブリダイゼーション/キャプチャーの1ステップ	ハイブリダイゼーションとキャプチャーの2ステップ
スケラビリティの高さ	192種類のインデックス	16種類のインデックス
より広いバッチサイズ	4~48サンプル <sup>a</sup>	8~48サンプル
自動化が有効	有効	無効

a. NovaSeq Xシリーズでは4つのサンプルのバッチを利用できます。UMI: 分子バーコード。

## 包括的なコンテンツ

TruSight Oncology 500 ctDNA v2のコンテンツは、権威ある腫瘍学コミュニティと協力して設計されており、複数の腫瘍タイプの主要なガイドラインと臨床試験に関与する遺伝子を包括的にカバーする、現在および新しいバイオマーカーが含まれています。パネルブロープは、既知および新規の遺伝子再構成の両方を捕捉するように設計されており、現在および将来の腫瘍形成に役割を果たす可能性のあるバリエーションを検出するために523個の遺伝子を含んでいます。バイオマーカーには、1塩基変異 (SNV)、マルチヌクレオチドバリエーション (MNV)、挿入/欠失 (Indel)、コピー数バリエーション (CNV)、遺伝子再構成、および血液ベースのマイクロサテライト不安定性 (bMSI) および血液ベースのTMB (bTMB) などの複雑なIOゲノムシグネチャーが含まれます (表4)。


 遺伝子の完全なリストについては、[TruSight Oncology 500 ctDNA v2製品ページ](#)をご覧ください。

表4: TruSight Oncology 500 ctDNA v2によって検出されるバリエーションタイプの例

バリエーションタイプ	例
SNVとIndel	EGFR, POLE, TMPRSS2, BRAF
遺伝子再構成	ALK, ROS1, NTRK1, NTRK2, RET
CNV	HER2
MSI	MSIスコア
TMB	TMBスコア

## 迅速かつ統合されたワークフロー

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、サンプルインプットから最終レポートまでの統合型のCGPワークフローの一部です (図2)。ライブラリー調製の自動化キットとメソッド、バリエーションコールツール、解釈およびレポート作成ソフトウェアを使用するとスムーズなワークフローが可能になり、他のCGPリキッドバイオシーアッセイの半分以下の時間である4日未満で完了することができます (図3)。

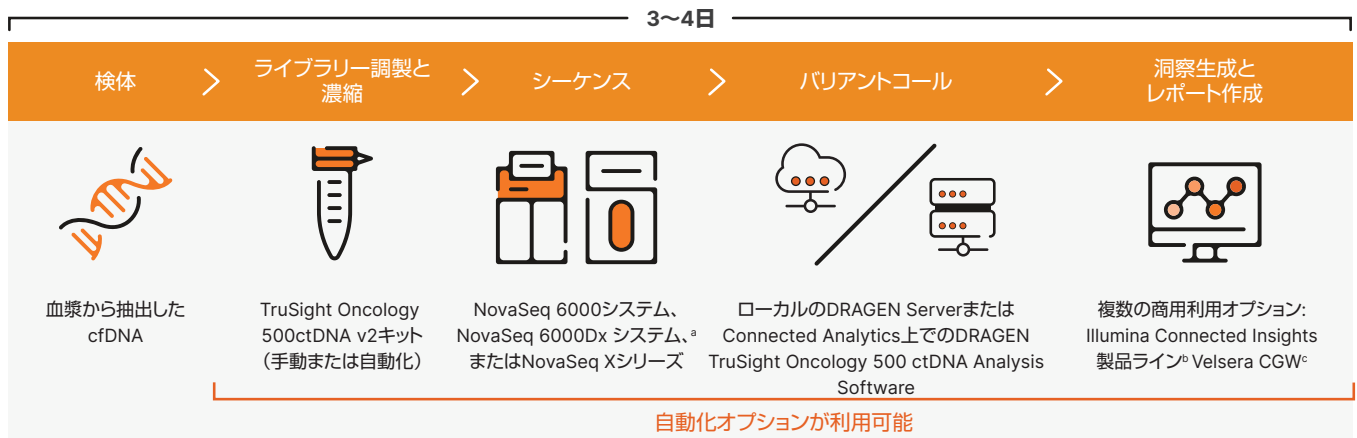


図2: TruSight Oncology 500 ctDNA v2のワークフロー: TruSight Oncology 500 ctDNA v2はラボの既存のワークフローに統合でき、cfDNAからバリエーションレポート作成まで4日未満で完了します。DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis Softwareは、DRAGEN Server上でローカルで実行するか、Illumina Connected Analyticsを介してクラウドで実行します。a. NovaSeq 6000Dx システム (RUOモード)。b. 一部の国でご利用いただけます。Illumina Connected Insights製品ラインは、サードパーティーのナレッジソースへのAPIコールを通じてユーザー定義の三次解析に対応します。他のサードパーティーのオプションも利用できます。

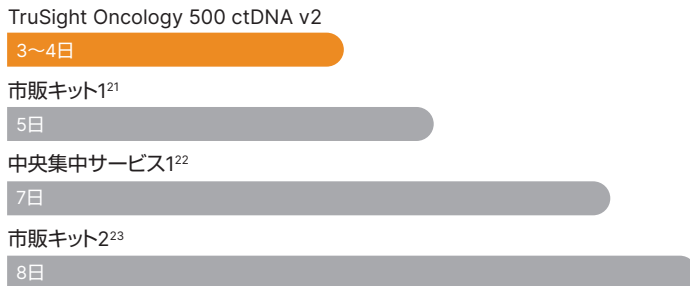


図3: TruSight Oncology 500 ctDNA v2を用いたレポートまでの時間短縮: bMSIおよびbTMBのIOバイオマーカーを含むリキッドバイオプシーのCGPアッセイに対するサンプルからレポートまでに必要な時間の比較。

### 最適化したライブラリー調製

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、実証済みのIllumina Sequencing by Synthesis (SBS) ケミストリーを使用して、わずか20 ngのcfDNAから包括的なゲノムプロファイリングを可能にし、組織が簡単に入手できない場合や組織解析の補完として使用するのに理想的な代替方法となります。ctDNAはcfDNAのごく一部に相当し（多くの場合、総cfDNAの5%未満）、シグナルとノイズを分離するために強力な方法が必要となります。超低頻度のバリエーションを同定できるようにするために、ライブラリー調製ではビオチン化プローブとストレプトアビジンのコーティングされた磁気ビーズを用いたターゲット濃縮を利用して、エラー率を低減するためにDNAベースのライブラリーと分子バーコード (UMI) <sup>24</sup> から選択されたターゲットを濃縮します (図4)。製品ケミストリーの進歩により、TruSight Oncology 500 ctDNA v2ではハイブリダイゼーションの回数が2回から1回に減り、ライブラリー調製のターンアラウンタイムが1日になり、結果が得られるまでの時間が短縮されました。また、SNVの分析感度も0.2% VAFまで向上しました。このターゲット化ハイブリダイゼーションキャプチャーアプローチにより、天然のアレルバリエーションと配列アーティファクトの両方が存在する場合でもサンプルのドロップアウトが減少します。

 TruSight Oncology ctDNA v2でのわずか5 ngのインプット量の使用について知る。

 UMIについて知る。

### 自動化対応のワークフロー

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、手動と自動化のオプションがあり、拡張性のあるライブラリー調製に対応します。イルミナは、リキッドハンドラー業界のリーディングカンパニーであるHamilton社と提携し、Hamilton Starに対応するTruSight Oncology 500 ctDNA v2アッセイ用の完全自動化ワークフローを用意します。自動化に適したライブラリー調製キットには、48のライブラリーを調製し、試薬の無駄を最小限に抑えながら、ロボットに必要なデッドボリュームに対応するのに十分な試薬が含まれます。自動化ワークフローによって、手動と同品質の結果が得られる一方で、ハンズオンタイムが40%短縮されるため、約8時間をラボでの他の活動に充てることができます。最終的に、自動化によってラボの人件費削減と効率の改善が可能になります。<sup>26</sup>

### 強力なシーケンス

TruSight Oncology 500 ctDNA v2ライブラリーは、NovaSeq 6000システム、NovaSeq 6000Dx システム (RUOモード) \*、またはNovaSeq Xシリーズでシーケンスします。NovaSeq Xシリーズは、より高速なワークフローを提供し、NovaSeq 6000システムと比較してシーケンス時間を約40%短縮します (表5)。使用するプラットフォームに関係なく、感度を高めるために、高深度 (最高35,000倍でサンプルあたり400Mリード) でシーケンスが行われます。その結果、SNVについては0.2%のバリエーションアレル頻度 (VAF) で、90%以上の分析感度と95%以上の分析特異度で変異を検出できるようになりました (表6)。さらに、NovaSeq Xシリーズは、サンプルあたりのシーケンスコストを削減することで、経済性を革新します。<sup>27</sup>

\* NovaSeq 6000Dx システムによるシーケンスは2024年下半期に利用可能になります。

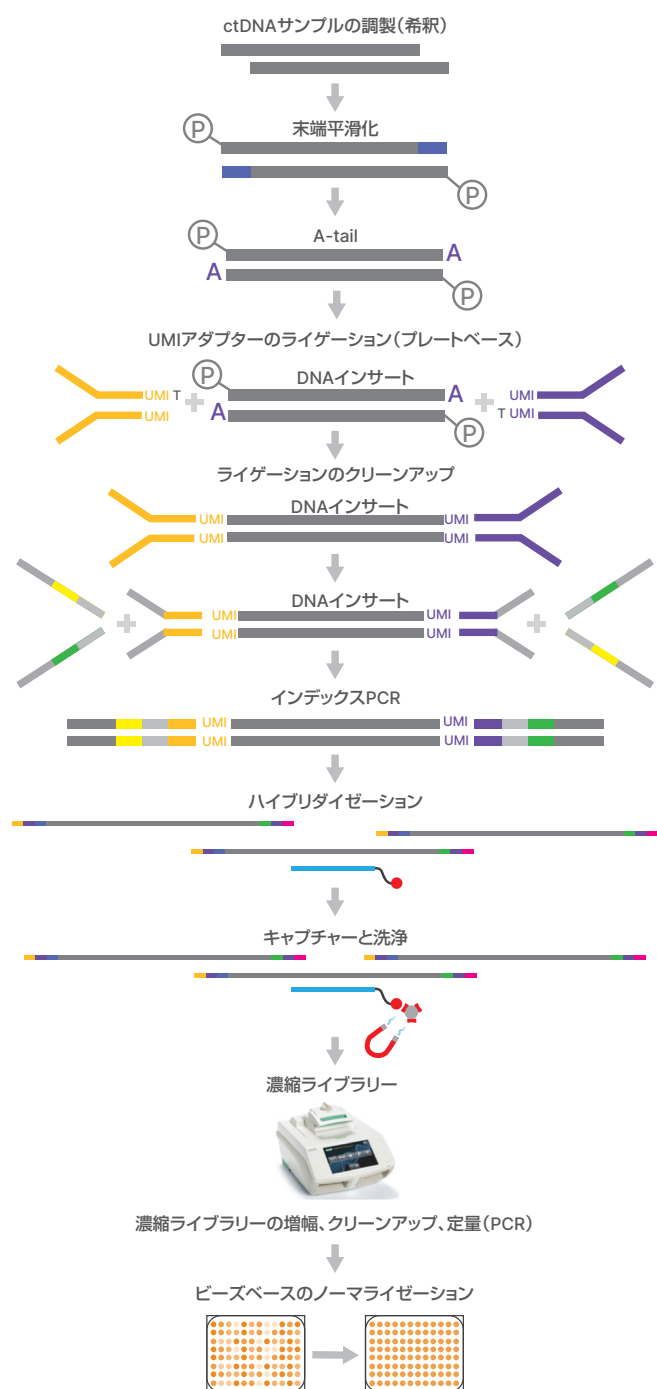


図4: UMIベースのハイブリダイズキャプチャーによるライブラリー調製: ターゲット濃縮では、高い結合特異性を与えるために十分に大きなプローブを使用できるだけでなく、変異を含むターゲットに対してもハイブリダイゼーションできます。UMI試薬はエラー率を低減し、分析特異度を高め、より高い信頼度を示すバリエーションコールを生成します。<sup>25</sup>

表5: 推定シーケンスランタイム

システム	NovaSeq 6000システム <sup>a</sup>		NovaSeq Xシリーズ	
	S2	S4	1.5B	10B
サンプル数	シーケンスランタイム (フローセル数)			
4	-	-	22時間 (1)	-
8	36時間 (1)	-	22時間 (2)	-
24	-	44時間 (1)	-	25時間 (1)
48	-	44時間 (2)	-	25時間 (2)

a. シーケンスランタイムは、RUOモードのNovaSeq 6000Dx システムに適用されません。

表6: 低アレル頻度のバイオマーカーの精確な検出<sup>a</sup>

バリエーションタイプ	分析感度 <sup>b</sup>	分析特異度 <sup>c</sup>
スモールヌクレオチドバリエーション (≥ 0.2% VAF)	≥ 90%	≥ 99.9994%
マルチヌクレオチドバリエーション (≥ 0.5% VAF)	≥ 90%	≥ 95%
挿入/欠失 (≥ 0.5% VAF)	≥ 90%	≥ 95%
遺伝子増幅 (1.3倍以上の変化)	≥ 95%	≥ 95%
遺伝子欠失 (0.6倍以下の変化)	≥ 95%	≥ 95%
遺伝子再構成 (≥ 0.5%)	≥ 95%	≥ 95%
MSI Highの検出 (0.3%以上の腫瘍画分)	≥ 95%	≥ 95%

a. NovaSeq 6000システムおよびNovaSeq Xシリーズでの性能特性検証済み。  
 b. 分析感度は、指定されたバリエーションレベルでの検出割合 (%) として定義されます。  
 c. 分析特異度は、既知の陰性を検出する能力として定義されます。

### 精確かつ迅速な解析

#### 包括的で効率的なバリエーションコール

DRAGEN™ TruSight Oncology 500 ctDNA Analysisパイプラインは、高速で完全に統合されたバイオインフォマティクスアルゴリズムを使用して、切断した配列のアライメント、エラー補正を行い、生データに基づくバリエーションコールを実施します。重複したリードとシーケンスエラーは、低頻度バリエーションのシグナルを失うことなく除去され、高感度のバリエーションコール結果が得られます。



PCRベースのアッセイからの定性的結果とは異なり、DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysisパイプラインは、2,300を超えるホモポリマーMSIマーカース座位に由来する定量的bMSIスコアを提供します。bTMB解析の場合、DRAGENパイプラインは、非同義および同義のSNVとIndelの両方を測定することで感度を最適化します。バリエーションコールとエラー補正の後、生殖細胞系列バリエーション、低信頼度バリエーション、およびクロン性造血（CHIP）に関連するバリエーションをフィルタリングすることにより、bTMB測定の精度をさらに向上させます。

DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysisパイプラインは、Illumina DRAGEN Server v4上でローカルに実行するか、Illumina Connected Analytics (ICA) を介してクラウドで実行します。ICAは、自動化されたデータ転送と解析開始のためのオプション、およびローカルのインフラストラクチャーを取得し維持する必要なしに二次解析を拡張できる、安全なクラウドベースのゲノムプラットフォームを提供します。<sup>28</sup> DRAGENハードウェアとソフトウェアの強化によりデータ解析時間が最大85%短縮します（表7）。

表7：S4フローセルを使用した24サンプルのデータ解析の短縮時間

データ解析ステップ	ソリューション A <sup>a</sup>	DRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA Analysis パイプライン
Bcl変換	6時間	1時間
アライメント + collapsing + 再アライメント	170時間	11時間
遺伝子再構成コール	10時間	2時間
バリエーションコール	24時間	8時間
合計時間	~9日	~20時間 (~85%短縮)

a. シングルノード (128Gメモリー、24コアCPU)、非並列パイプライン。

### 効率的なデータ解釈

二次解析からバリエーションのクラスとバイオマーカーのタイプを特定した後の次のステップでは、データを解釈して生物学的に関連する意味を抽出します。Illumina Connected Insights<sup>†</sup>、Velsera Clinical Genomics Workspace、サードパーティーアプリを使用できます。

Illumina Connected Analyticsによりローカルまたはクラウド経由で作成したバリエーションコーリングファイルは、Illumina Connected Insightsに自動的に取り込むことができます。シーケンスシステム統合やConnected Analyticsの自動起動機能と組み合わせると、解析ワークフローがConnected Insightsによって完全に自動化され、手作業によるデータ転送の必要はなくなります。

## 信頼性の高い再現可能な結果

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、cfDNAサンプル中に低アレル頻度のゲノムバリエーションとバイオマーカーが存在する場合でも、高い感度で検出します。TruSight Oncology 500 ctDNA v2で達成された高品質な結果を実証するために、IlluminaはスモールDNAバリエーション、CNV、遺伝子再構成、TMB、およびMSIをコールする能力を評価するさまざまな試験を実施しました。性能特性結果はNovaSeq 6000システムおよびNovaSeq Xシリーズで検証されました。

### SNVとIndel

ターゲット濃縮ケミストリーの利点の1つとして、高い結合特異性を与えるためにデザインされた十分に大きなプローブを使用できるだけでなく、小さな変異を含むターゲットに対してもハイブリダイゼーションできます。SNVはさまざまな種類のがんにおけるがん感受性に関連しているため、CGP法でこれらのバリエーションを低いレベルで検出できることが重要です。TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、VAFがそれぞれ0.2%または0.5%で存在するSNVとIndelを再現性よく検出します（図5および図6）。

† すべての国で利用可能とは限りません。Illumina Connected Insightsは、サードパーティーのナレッジソースへのAPIコールを通じてユーザー定義の三次解析に対応します。

### CNV

遺伝子および腫瘍タイプにおけるコピー数の変化は、腫瘍形成と関連している場合があります。<sup>28</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、59のCNV関連遺伝子の解析が含まれ、増幅に対しては1.3倍以上、欠失に対しては0.6倍以下での検出限界から増幅してコールすることができます (表8)。

表8：CNVに対するTruSight Oncology 500 ctDNA v2の分析性能特性

遺伝子	期待される倍率変化	観察された倍率変化	検出率
<b>増幅</b>			
<i>ERBB2</i>	1.5	1.50	100%
<i>MET</i>	1.5	1.55	100%
<i>MYC</i>	1.5	1.27	100%
<i>ERBB2</i>	1.4	1.73	100%
<i>MET</i>	1.4	1.46	100%
<i>MYC</i>	1.4	1.22	100%
<i>ERBB2</i>	1.3	1.35	100%
<i>MET</i>	1.3	1.38	100%
<i>MYC</i>	1.3	1.19	8%
<i>ERBB2</i>	1.2	1.19	100%
<i>MET</i>	1.2	1.22	100%
<i>MYC</i>	1.2	N/A	0
<b>欠失</b>			
<i>BRCA1</i>	0.85	0.86	16%
<i>BRCA2</i>	0.85	N/A	0
<i>BRCA1</i>	0.80	0.79	100%
<i>BRCA2</i>	0.80	0.80	100%
<i>BRCA1</i>	0.70	0.69	100%
<i>BRCA2</i>	0.70	0.69	100%

TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用し、遺伝子増幅については合成コントロールを使用して倍率変化が既知のサンプルを、欠失については細胞株を評価しました。CNVは3つのVAFレベルに希釈しました。LODは遺伝子増幅では1.3倍以上の変化、欠失では0.6倍以下の変化です。期待される倍率変化と観察された倍率変化の間には強い相関関係があることに注目してください。表示のデータはNovaSeq 6000システムでのシーケンシングのもので、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。

### 遺伝子再構成

遺伝子再構成はがんのゲノムドライバーとして機能する可能性があるため、がんの基礎を理解することに重点を置いた研究には、遺伝子再構成を検出する能力が不可欠です。TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、低濃度で存在する場合でも、パートナーに依存しない遺伝子再構成を検出して特徴付けます。(表9)。

表9：遺伝子再構成に対するTruSight Oncology 500 ctDNA v2の分析性能特性

融合遺伝子	期待されるVAF	観察されたVAF	検出率
<i>ALK:EML4</i>	0.60%	0.48%	100%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0.60%	0.39%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0.60%	0.31%	100%
<i>ALK:EML4</i>	0.50%	0.43%	100%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0.50%	0.33%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0.50%	0.27%	100%
<i>ALK:EML4</i>	0.40%	0.36%	100%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0.40%	0.24%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0.40%	0.19%	100%
<i>ALK:EML4</i>	0.20%	0.18%	88%
<i>GOPC;ROS1:CD74</i>	0.20%	0.11%	100%
<i>RET:NCOA4</i>	0.20%	0.12%	83%

VAFレベルを0.2%~0.6%の範囲に希釈した3つの既知のDNA融合遺伝子を含むサンプルを、TruSight Oncology 500 ctDNA v2で評価しました。遺伝子再構成に対するLODは0.5%です。TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用するNGSベースの評価では、6~7 bpの大きさの2,300以上のホモポリマー部位を調べます。これにより、エラー率を減らし、ホモポリマーシーケンスで一般的に見られる潜在的な偽陽性の低減に役立ちます。表示のデータはNovaSeq 6000システムでのシーケンシングのもので、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。VAF：バリエーションアリル頻度



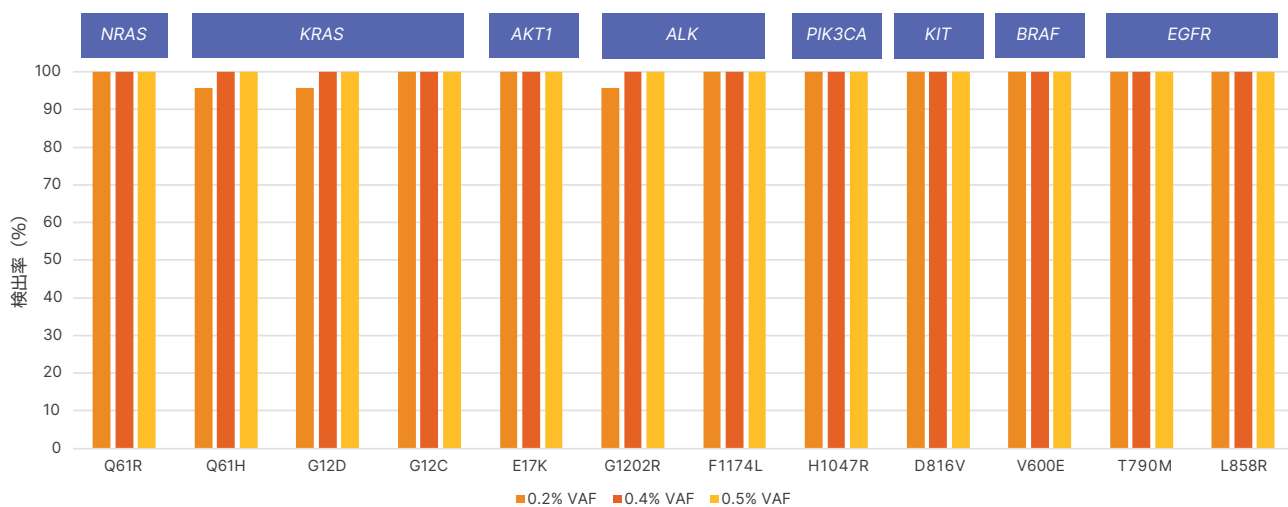


図5: LOD (0.2% VAF) での主要なSNVに対する高い分析性能特性: 各1塩基変異に対する既知のVAFを含む合成コントロールサンプルを、0.20%~0.50% VAFの範囲の値に希釈し、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析しました。わずか0.2%のレベルで存在するSNVを検出できました。表示のデータはNovaSeq 6000システムでのシーケンシングのもので、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。

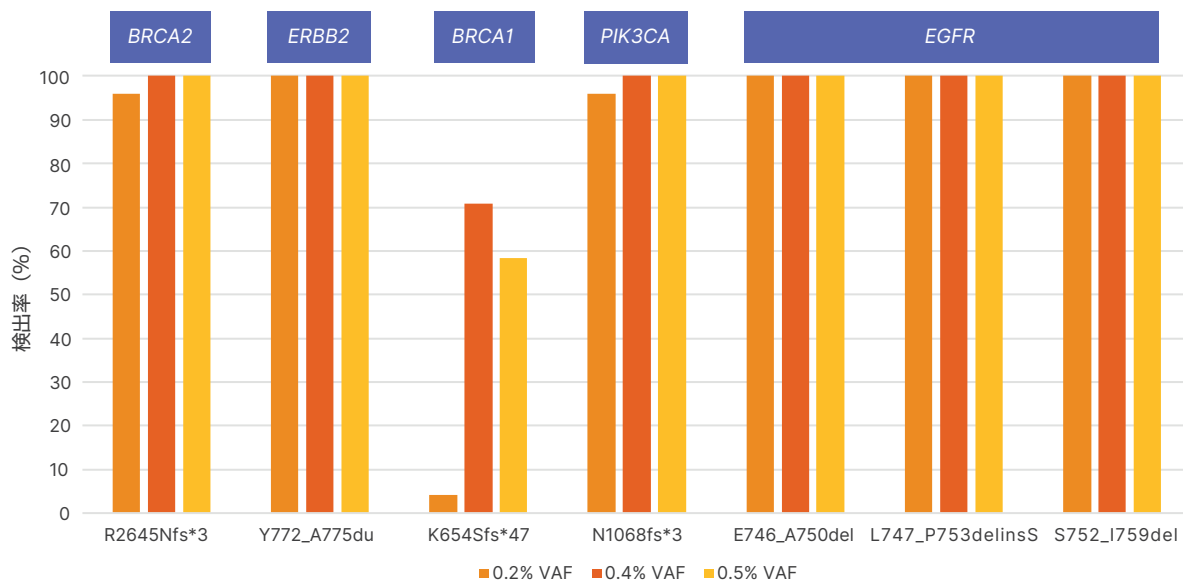


図6: LOD (0.5% VAF) でのIndelに対する高い分析性能特性: 各挿入または欠失に対する既知のVAFを含む合成コントロールサンプルを、0.20%~0.50% VAFの範囲の値に希釈し、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析しました。BRCA1ではバリエントが高度にホモポリマー化されている領域にあり、高レベルのバックグラウンドノイズが生じるため低い検出値を示しました。表示のデータはNovaSeq 6000システムでのシーケンシングのもので、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。

### IO遺伝子シグネチャー：MSIおよびTMB

MSIおよびTMBの検出は、複数のゲノム座位の解析に依存しています。TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用するNGSベースの評価では、6~7 bpの大きさの2,300以上のホモポリマー部位を調べます。これにより、エラー率を減らし、ホモポリマーシーケンスで一般的に見られる潜在的な偽陽性の低減に役立ちます。<sup>28</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、高感度のライブラリー調製ケミストリーと高度なバイオフィーマティクスを組み合わせた機能を備えており、0.3%までの腫瘍画分からMSI検出を実現します (図7)。

変異レベルが低く、精確で再現性の高いbTMB値を得ることは、小さいパネルでは困難な場合もあります。<sup>7</sup> TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、包括的なゲノムコンテンツを1.94 Mb/パネルと高度なインフォマティクスアルゴリズムとを組み合わせ、精確なbTMB評価を実現します。独自のDRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA バイオフィーマティクスパイプラインは、生殖系列とクローン造血バリエーションの両方に高度なフィルタリングを適用し、その結果、高い一致を示すTumor-onlyワークフローとTumor-Normalワークフローが実現します ( $R^2 = 0.992$ ) (図8)。<sup>29</sup>

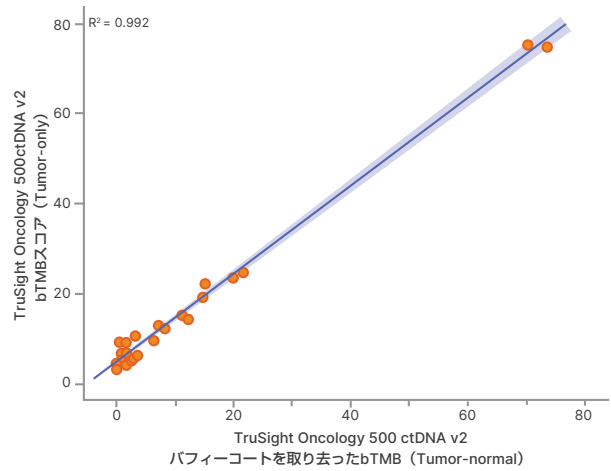


図8：Tumor-onlyワークフローとTumor-normal解析ワークフロー間のbTMBデータの高い一致：TruSight Oncology 500 ctDNA v2を用いて作成された腫瘍のみのbTMBスコアは、高度なバイオフィーマティクスとTMBを検出するのに十分な大きさのパネル (> 1 Mb) を備え、血漿およびパフィーコートcfDNAを用いた腫瘍と正常のペアワークフローから作成されたbTMBスコアと高い一致を示しました。表示のデータはNovaSeq 6000システムでのシーケンシングのもので、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。

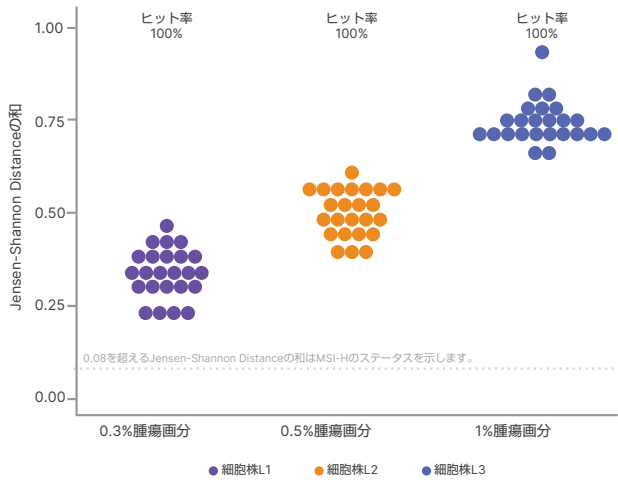


図7：IO研究に対応する高感度のMSI性能：既知のMSI-Hスコアをもつヌクレオソーム調製した細胞株を、野生型細胞のバックグラウンドに対して滴定して得られた腫瘍画分。MSIの高い分析感度は、独自のDRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Softwareによって達成されます。2,300を超えるホモポリマー座位を評価しました。表示のデータはNovaSeq 6000システムでのシーケンシングのもので、NovaSeq Xシリーズでも類似の性能特性が確認されました。

## 強化された製品の特性

イルミナはラボの運用が円滑に行われるよう、高いレベルのサービスとサポートを提供します。より高い効率を実現するために、TruSight Oncology 500 ctDNA v2は以下のような特徴があります：

- 高度な変更通知：TruSight Oncology 500 ctDNAに重大な変更が加えられる6カ月前にラボに通知します。
- 分析証明書<sup>†</sup>：すべてのTruSight Oncology 500 ctDNA v2には所定の製品リリース仕様と品質を満たしていることを確認する、イルミナ品質保証部門による分析証明書（CoA）が発行されます。
- 有効期間の延長：TruSight Oncology 500 ctDNA v2試薬の最低品質保持期限が6カ月に延長され、製品の有効期限切れのリスクが軽減され、ラボが現在の検査ニーズに応じて試薬を使用できるようになります。
- シングルロット出荷～現在は手動キットで、また自動キットでは2024年下半年に利用可能となるシングルロット出荷により、ロットの適格性検査と受入QCテストの負担が軽減されます。

## リキッドバイオプシーからCGPを可能にする統合ソリューション

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、現在のガイドラインに沿った数百のがん関連バイオマーカーと血漿サンプルからの臨床試験の研究を同時に解析する、NGSベースのマルチプレックスアッセイです。この包括的なアッセイは、さまざまな腫瘍タイプに関与する523遺伝子から血液中の複数のバリエーションタイプを検出し、一連の関連検査実施に必要な複数のサンプルを用意することなく、IOおよび新たなバイオマーカー（bTMB、bMSI、NTRK、ROS1）を評価します。

ケミストリーの改良とシーケンスシステム互換性の拡大により、全体のターンアラウンドタイムは3日～4日に短縮され、インプットの必要量は20 ng cfDNAに減少し、検出限界は0.2% VAF（SNVの場合）に低下しました。さらに、自動化対応ワークフローによりハンズオンタイムが短縮され、ラボ人員の負担が最小限に抑えられ、より効率的な合理化されたラボを実現します。TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、広範なゲノムコンテンツ、業界をリードするシーケンス技術、強化されたソフトウェアを活用して、操作と解析の複雑さを最小限に抑えながらCGPベースの臨床研究プロジェクトを可能にする統合ソリューションを提供します。

## 詳細はこちら

[TruSight Oncology 500 ctDNA v2](#)

[NovaSeq Xシリーズ](#)

[NovaSeq 6000システム](#)

[NovaSeq 6000Dx システム](#)

[DRAGEN二次解析](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

<sup>†</sup> CoAは2024年に利用可能になります。

製品情報：ライブラリー調製キット（手作業）

製品名	カタログ番号
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples)	20105899
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105901
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105902
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105905
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	20105907
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	20105908
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 (24 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (24 samples)	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (24 samples)	近日発売予定

製品情報：ライブラリー調製キット（自動化）

製品名	カタログ番号
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples)	20105900
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105903
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105904
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Velsera Interpretation Report	20105906
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	20105909
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	20105910
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Connected Insights Interpretation Report	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Connected Insights Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	近日発売予定

## 製品情報：インデックスアダプター

製品名	カタログ番号
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set A, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034701
IDT for Illumina UMI DNA/RNA UD Indexes Set B, Ligation (96 Indexes, 96 Samples)	20034702
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set A for Automation	20066404
IDT for Illumina UMI DNA/DNA Index Anchors Set B for Automation	20063213

## 製品情報：シーケンス試薬

製品名	カタログ番号
NovaSeq 6000 S2 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028314
NovaSeq 6000 S4 Reagent Kit v1.5 (300 cycles)	20028312
NovaSeq™ X Series 1.5B Reagent Kit (300 cycles)	20104705
NovaSeq X Series 10B Reagent Kit (300 cycles)	20085594

## 製品情報：解析

製品名	カタログ番号
ローカルのバリエントレポート作成	
Illumina DRAGEN Server v4	20051343
Illumina DRAGEN Server Installation	20031995
Illumina DRAGEN Server v4 Support Plan	20085832
Field Delivered Applications Training	15032919
クラウドベースのバリエントレポート作成	
ICA Basic Annual Subscription	20044874
ICA Professional Annual Subscription	20044876
ICA Enterprise Annual Subscription	20038994
ICA Enterprise Compliance Add-on	20066830
Subscription ICA Training and Onboarding	20049422
バリエント解釈	
Illumina Connected Insights – Annual Subscription	20090137
Illumina Connected Insights-Research – Annual Subscription	20112516
Illumina Connected Insights – Oncology Genome Equivalent Samples (VCF)	20090138
Illumina Connected Insights Training – Remote	20092376
Informatics Professional Services	20071787
クラウドストレージ	
Illumina Analytics – 1 iCredit	20042038
Illumina Analytics Starter Package – 1,000 iCredits	20042039
Illumina Analytics – 5,000 iCredits	20042040
Illumina Analytics – 50,000 iCredits	20042041
Illumina Analytics – 100,000 iCredits	20042042

## 参考文献

1. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208
2. Yu TM, Morrison C, Gold EJ, Tradonsky A, Layton AJ. Multiple Biomarker Testing Tissue Consumption and Completion Rates With Single-gene Tests and Investigational Use of OncoPrint Dx Target Test for Advanced Non-Small-cell Lung Cancer: A Single-center Analysis. *Clin Lung Cancer*. 2019;20(1):20-29.e8. doi:10.1016/j.clcc.2018.08.010
3. Reitsma M, Fox J, Borre PV, et al. Effect of a Collaboration Between a Health Plan, Oncology Practice, and Comprehensive Genomic Profiling Company from the Payer Perspective. *J Manag Care Spec Pharm*. 2019;25(5):601-611. doi:10.18553/jmcp.2019.18309
4. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients [published correction appears in Nat Med. 2017 Aug 4;23(8):1004]. *Nat Med*. 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333
5. Kopetz S, Mills Shaw KR, Lee JJ, et al. Use of a Targeted Exome Next-Generation Sequencing Panel Offers Therapeutic Opportunity and Clinical Benefit in a Subset of Patients With Advanced Cancers. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00213. Published 2019 Mar 8. doi:10.1200/PO.18.00213
6. Drilon A, Wang L, Arcila ME, et al. Broad, Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing Identifies Actionable Genomic Alterations in Lung Adenocarcinomas Otherwise Negative for Such Alterations by Other Genomic Testing Approaches. *Clin Lung Cancer*. 2015;21(16):3631-3639. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2683
7. Buchhalter I, Rempel E, Endris V, et al. Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis. *Int J Cancer*. 2019;144(4):848-858. doi:10.1002/ijc.31878
8. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med*. 2017;9(1):34. Published 2019 Mar 8. doi:10.1186/s13073-017-0424-2
9. Hagemann IS, Devarakonda S, Lockwood CM, et al. Clinical next-generation sequencing in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer*. 2015;121(4):631-639. doi:10.1002/cncr.29089
10. Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014;6(224):224ra24. doi:10.1126/scitranslmed.3007094
11. Saarenheimo J, Eigelienė N, Andersen H, Tirola M, Jekunen A. The Value of Liquid Biopsies for Guiding Therapy Decisions in Non-small Cell Lung Cancer. *Front Oncol*. 2019;9:129. doi:10.3389/fonc.2019.00129
12. Rapisuwon S, Vietsch EE, Wellstein A. Circulating biomarkers to monitor cancer progression and treatment. *Comput Struct Biotechnol J*. 2016;14:211-222. Published 2016 Jun 1. doi:10.1016/j.csbj.2016.05.004
13. Aggarwal C, Thompson JC, Black TA, et al. Clinical Implications of Plasma-Based Genotyping With the Delivery of Personalized Therapy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2019;5(2):173-180. doi:10.1001/jamaoncol.2018.4305
14. Leigh NB, Page RD, Raymond VM, et al. Clinical Utility of Comprehensive Cell-free DNA Analysis to Identify Genomic Biomarkers in Patients with Newly Diagnosed Metastatic Non-small Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
15. Palmero R, Taus A, Viteri S, et al. Biomarker Discovery and Outcomes for Comprehensive Cell-Free Circulating Tumor DNA Versus Standard-of-Care Tissue Testing in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JCO Precision Oncology*. 2021;5:93-102. doi:10.1200/PO.20.00241
16. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: Analysis of over 8000 cases. *Cancer*. 2020;126(14):3219-3228. doi:10.1002/cncr.32876
17. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid Biopsy for Advanced NSCLC: A Consensus Statement From the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662. doi:10.1016/j.jtho.2021.06.017
18. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014
19. Pascual J, Attard G, Bidard FC, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2022;33(8):750-768. doi:10.1016/j.annonc.2022.05.520
20. Illumina. TruSight Oncology 500 ctDNA data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843/trusight-oncology-500-ctdna-data-sheet-m-gl-00843.pdf). Accessed September 20, 2023.



21. Roche. AVENIO ctDNA Analysis Kits. Sequencing. [sequencing.roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html](https://sequencing.roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html). Accessed September 20, 2023.
22. Tempus. Tempus xF. [www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xf/](http://www.tempus.com/oncology/genomic-profiling/xf/). Accessed September 20, 2023.
23. Personal Genome Diagnostics. PGDx elio plasma complete. <https://www.personalgenome.com/products/elio-plasma-complete>. Accessed September 20, 2023.
24. Illumina. TruSight Oncology UMI Reagents data sheet. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf). Accessed September 20, 2023.
25. Illumina. Sequencing accuracy with Unique Molecular Identifiers. [illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html](https://illumina.com/techniques/sequencing/ngs-library-prep/multiplexing/unique-molecular-identifiers.html). Accessed September 20, 2023.
26. Socea JN, Stone VN, Qian X, Gibbs PL, Levinson KJ. Implementing laboratory automation for next-generation sequencing: benefits and challenges for library preparation. *Front Public Health*. 2023;11:1195581. doi:10.3389/fpubh.2023.1195581
27. Data on file. Illumina, Inc. 2024.
28. 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
29. Illumina. Analysis of TMB and MSI status with TruSight Oncology 500 application note. [illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf](https://illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf). Accessed September 20, 2023.

## イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22階  
 Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810  
[jp.illumina.com](http://jp.illumina.com)

 [www.facebook.com/illuminakk](https://www.facebook.com/illuminakk)

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : [jp.illumina.com/tc](http://jp.illumina.com/tc)

© 2024 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc. または各所有者に帰属します。  
 商標および登録商標の詳細は [jp.illumina.com/company/legal.html](http://jp.illumina.com/company/legal.html) をご覧ください。  
 予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

**illumina**<sup>®</sup>