

# TruSight™ Oncology 500 ctDNA v2

リキッドバイオプシーサンプルからの  
高感度かつ迅速な包括的  
ゲノムプロファイリングの取得

- 20 ng ctDNA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学腫瘍 (IO) ゲノムシグネチャー (MSI, TMB) を解析

---

\*自動化に適したキットとメソッドは2024年に利用可能になります。

illumina®

## CGPとリキッドバイオプシー

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異の特定に役立つ可能性があり、プレジジョンメディス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。CGPIは、次世代シーケンサー (NGS) を利用して単一のアッセイで幅広いバイオマーカーを評価する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> 発見されるバイオマーカー数が増加するにつれて、より多くのバリエーションを検出できるこの能力は、正確な識別に大きいNGSパネル (> 1 Mb) を必要とする腫瘍変異負荷 (TMB) などのIOゲノムシグネチャーに加え、重要性が増しています。<sup>7,8</sup>

CGPI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。ただし、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か、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があります。このような場合、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。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)
- 複数の腫瘍または同じ腫瘍からでもクローンを表す血中循環腫瘍DNA (ctDNA) へのアクセスが可能になり<sup>10</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します。<sup>10-13</sup>
- 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>14-16</sup>

リキッドバイオプシーを活用するには、cfDNA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ッセイを使用することが重要です。従来のTruSight Oncology 500 ctDNAアッセイ<sup>17</sup>は、実証済みのイルミナ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が実現できました (表1, 図2, 図3)。

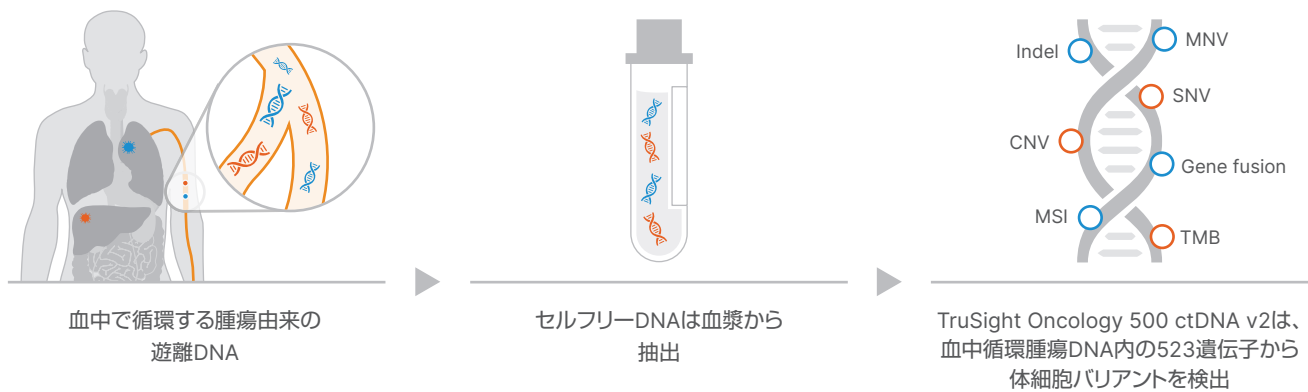


図1: リキッドバイオプシーにより、CGPIに対する非侵襲的アプローチが可能になります: 血漿中のセルフリーDNAに含まれるctDNAは簡単な採血から得られ、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析し、主要なガイドラインに記載されているがん関連バイオマーカーの存在を検出できます。

## CGPにおけるctDNA使用の価値

腫瘍はアポトーシスまたはネクローシスの際にDNAを末梢血中に放出し、末梢血中でDNAはセルフリーDNA (cfDNA) の一部として循環します。<sup>18</sup> ctDNAは、がんが進行するすべての段階、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検出されています。<sup>18</sup> 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>11,12,19</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>12</sup>

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>20</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>20</sup>
- 解析を繰り返してクローン選択を評価できる

表1: TruSight Oncology ctDNA v2の改良点

利点	TruSight Oncology 500 ctDNA v2	TruSight Oncology 500 ctDNA (オリジナル)
アクセシ感度の向上	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
スケーラビリティの高さ	192種類のインデックス	16種類のインデックス
UMI: 分子バーコード。		



UMIに関する詳細は[こちら](#)

表2: TruSight Oncology ctDNA v2の概要

パラメーター	仕様
システム	NovaSeq 6000 システム NextSeq 6000Dx システム (RUO モード) <sup>a</sup> NovaSeq X シーケンスシステム <sup>a</sup>
サンプルスループット	8、24、48
自動化性能	Hamilton Microlab STAR で利用可能なイリミナ認定メソッド <sup>a</sup>
自動化に適したキットが利用可能	48 サンプルキット
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 (> 2,300 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>
合計アクセシ時間	ライブラリー調製からバリエーションレポートまで 4 日未満
ハンズオンタイム	8 ~ 24 サンプル (手動) : 約 2.5 時間 48 サンプル (自動化) : TBD <sup>c</sup>
ライブラリー調製時間	8 ~ 24 サンプル (手動) : 8.5 時間以下 48 サンプル (自動化) : TBD <sup>c</sup>
シーケンスランタイム	8 サンプル: 36 時間 (S2 フローセル) 24 サンプル: 44 時間 (S4 フローセル 1 個) 48 サンプル: 44 時間 (S4 フローセル 2 個)
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: TBD <sup>c</sup>

a. 2024年に利用可能になります。

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。

c. 未定。2024年に利用可能になります。

表3:TruSight Oncology ctDNA v2の性能

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%

## 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提携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關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。パネルブローチは、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アン

ト (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, TMRSS2, BRAF
遺伝子再構成	ALK, ROS1, NTRK1, NTRK2, RET
CNV	HER2
MSI	MSIスコア
TMB	TMBスコア

4日未満



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日間未満で完了します。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 (RUOモード)。b. 2024年に利用可能になります。c. 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。d. Velsera社の旧称はPierian社です。他の商用オプションも利用できます。

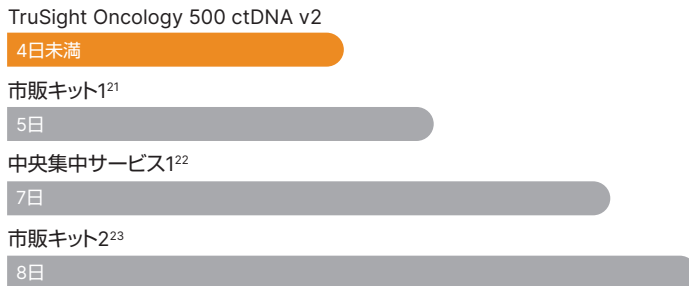


図3: TruSight Oncology 500 ctDNA v2を用いたレポートまでの時間短縮: bMSIおよびbTMBのIOバイオマーカーを含むリキッドバイオプシーのCGPアッセイに対するサンプルからレポートまでに必要な時間の比較。

## 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リキッドバイオプ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)。

### 最適化したライブラリー調製

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、実証済みのイルミナ 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。

### 自動化対応のワークフロー

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、手動と自動化<sup>\*</sup> 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。イルミナは、試薬の廃液を削減し、48個のライブラリーを調製し、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利用できるようにする、自動化に適したライブラリー調製キットを提供予定です。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短縮されるため、ラボは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シーケンスシステム、NovaSeq 6000Dx システム (RUOモード)、およびNovaSeq Xシーケンスシステムで感度を高めるために高深度 (約35,000 xでサンプルあたり4,000万リード) でシーケンスします。<sup>†</sup> 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5)。

\* イルミナ認定の自動化メソッドとキットは2024年に利用可能になります。

† NovaSeq 6000 Dx システムおよびNovaSeq Xシステムでのシーケンスは2024年に利用可能になります。

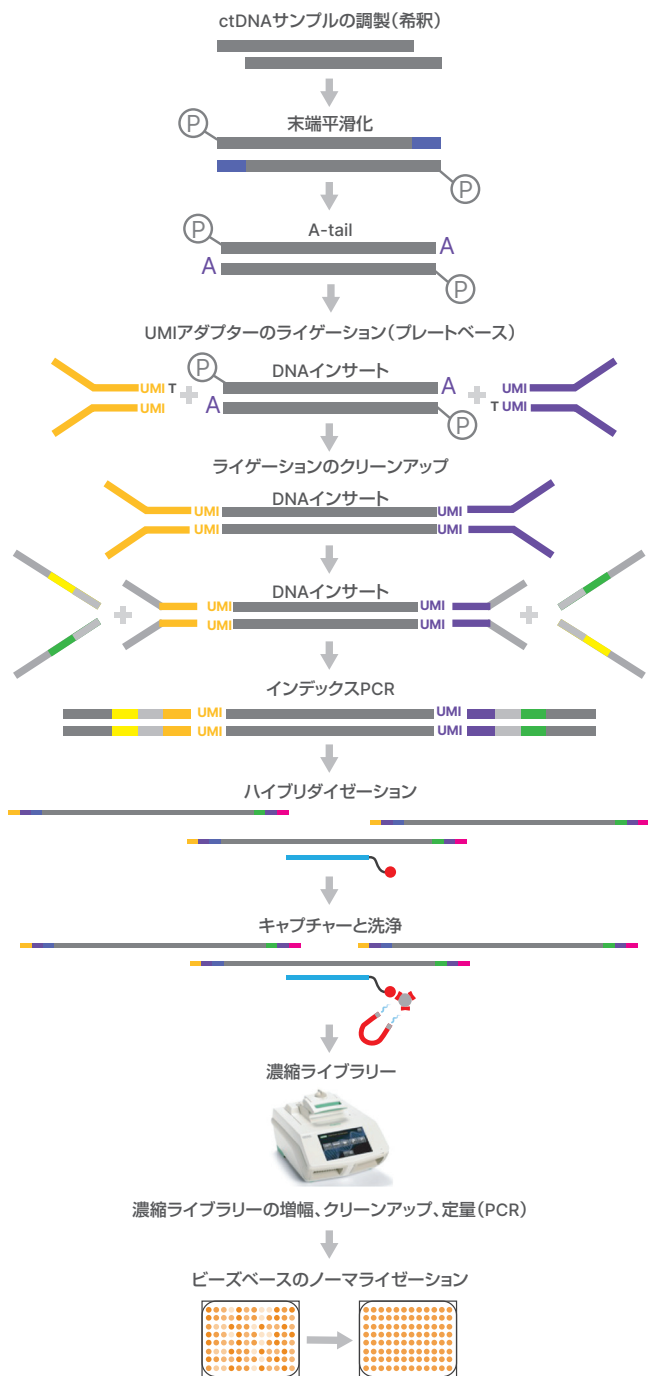


図4: UMIベースのハイブリダイズキャプチャーによるライブラリー調製: ターゲット濃縮では、高い結合特異性を与えるために十分に大きなプローブを使用できるだけでなく、変異を含むターゲットに対してもハイブリダイゼーションできます。UMI試薬はエラー率を低減し、分析特異度を高め、より高い信頼度を示すバリエーションを生成します。<sup>25</sup>

表5: 低アレル頻度のバイオマーカーの正確な検出

バリエーションタイプ	分析感度 <sup>a</sup>	分析特異度 <sup>b</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. 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。  
 b. 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。

### 正確かつ迅速な解析

#### 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、およびクローン性造血 (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、ローカルのインフラストラクチャーを取得し維持することなく二次解析を拡張できる、安全なクラウドベースのゲノミクスプラットフォームを提供します。<sup>27</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6)。

表 6 : 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>	TruSight Oncology 500 ctDNA DRAGEN 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日間	~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<sup>§</sup>、サードパーティーアプリを使用できます。

† 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。

§ Velsera社の旧称はPierian社です。

Velsera Clinical Genomics Workspaceを使用するには、直接バリエーションレポートファイルをローカルまたはICAベースの二次解析環境からClinical Genomics Workspaceクラウドにアップロードするだけです。Clinical Genomics Workspaceは、解釈とレポート作成がスムーズに行われるように、バリエーションアノテーションとフィルタリングを実施します。Clinical Genomics Workspaceは、ゲノム上の何千ものバリエーションから、生物学的に関連のあるバリエーションをフィルタリングし、優先順位を付けて、最終的にカスタマイズ可能なゲノムレポートを作成します。

## 信頼性の高い再現可能な結果

TruSight Oncology 500 ctDNA v2は、cfDNAサンプルから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、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。

### 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と関連しているため、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)。

### CNV

いくつかの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ます。<sup>27</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7)。



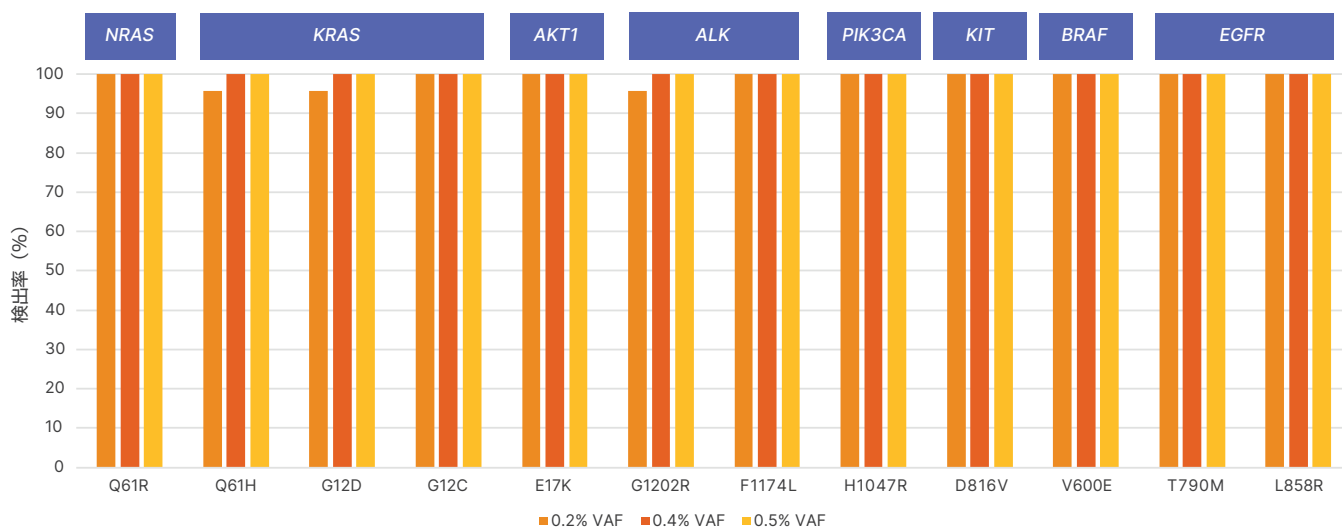


図5: LOD (0.2% VAF) での主要なSNVに対する高い分析性能特性: 各1塩基変異に対する既知のVAFを含む合成コントロールサンプルを、0.20%~0.50% VAFの範囲の値に希釈し、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析しました。わずか0.2%のレベルで存在するSNVを検出できました。

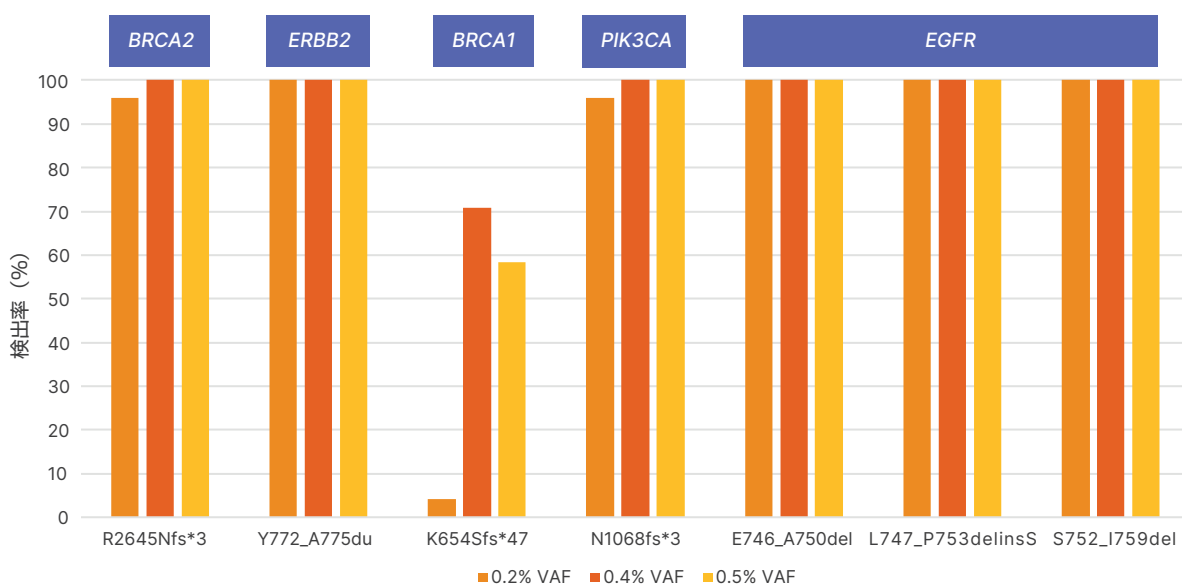


図6: LOD (0.5% VAF) でのIndelに対する高い分析性能特性: 各挿入または欠失に対する既知のVAFを含む合成コントロールサンプルを、0.20%~0.50% VAFの範囲の値に希釈し、TruSight Oncology 500 ctDNA v2を使用して解析しました。BRCA1ではバリエントが高度にホモポリマー化されている領域にあり、高レベルのバックグラウンドノイズが生じるため低い検出値を示しました。



表7：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。

### 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8)。

表8：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。VAF：バリエーション頻度

## IO遺伝子シグネチャー：MIS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）。

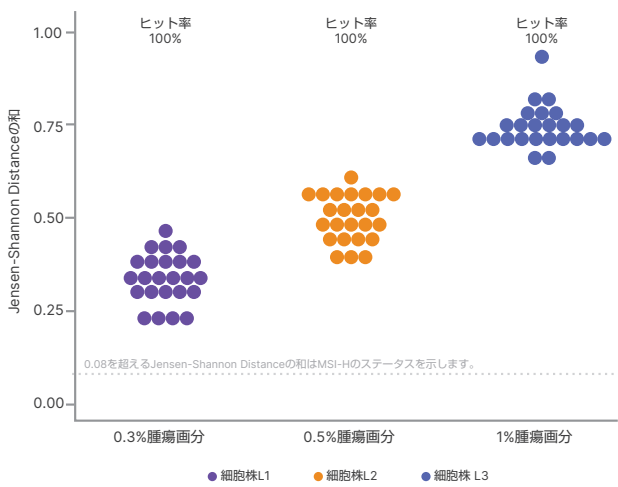


図7：IO研究に対応する高感度のMSI性能：ヌクレオソーム調製した細胞株を、野生型細胞のバックグラウンドに対して調整した既知のMSI-Hスコアで調整することによって生成した腫瘍画分。MSIの高い分析感度は、独自のDRAGEN TruSight Oncology 500 ctDNA v2.1 Analysis Softwareによって達成されます。2,300を超えるホモポリマー座位を評価しました。

変異レベルが低く、正確で再現性の高い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、正確な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、Tumor-Normalワークフローと高い一致を示すTumor-Onlyワークフローが実現します ( $R^2 = 0.992$ )（図8）。<sup>28</sup>

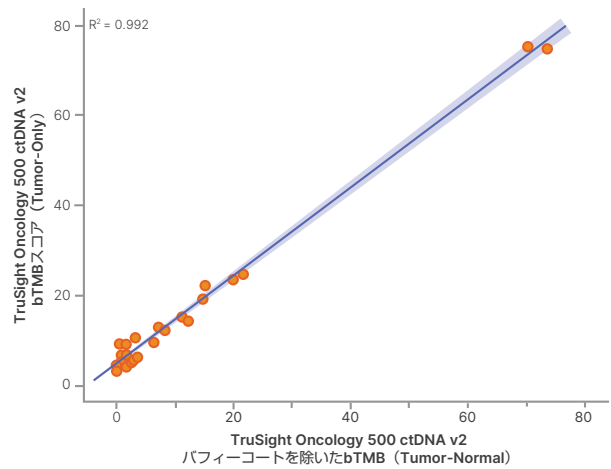


図8：Tumor-OnlyとTumor-Normalの解析ワークフローの高い一致を示すbTMBデータ：高度なバイオフィーマティクスを備えたTruSight Oncology 500 ctDNA v2とTMB (> 1 Mb)を検出するのに十分な大きさのパネルで生成されたbTMBスコアは、血漿とバフィーコートのcfDNAを使用したTumor-Normalのペア型ワークフローから生成されたbTMBスコアと高い一致を示します。

## 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：イルミナは、TruSight Oncology 500 ctDNA v2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。

<sup>¶</sup> CoAは2024年に利用可能になります。

## 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、NGSベースのマルチプレックス研究用アッセイであり、血漿検体から、現行のガイドラインや臨床試験の研究に沿った数百のがん関連バイオマーカーを同時に解析します。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により、全体のターンアラウンドタイムは4日未満に短縮され、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、合理化されたラボを作り出し効率を向上させることができます。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 6000システム](#)

[DRAGEN二次解析](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

[Illumina Connected Insights](#)

### 製品情報：ライブラリー調製キット (手作業)

製品	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

\*\* 自動化対応ワークフローは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（自動化）

製品	カタログ番号
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples)	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 for Automation (48 samples) plus Velsera Interpretation Report	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S2 (48 samples)	近日発売予定
TruSight Oncology 500 ctDNA v2 Automation Kit plus Velsera Interpretation Report, for use with NovaSeq 6000 S4 (48 samples)	近日発売予定
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	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	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

## 製品情報：解析

製品	カタログ番号
ローカルのバリエーションレポート作成	
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ーションレポート作成	
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
バリエーション解釈	
Illumina Connected Insights – Annual Subscription	20090137
Illumina Connected Insights - Oncology Genome Equivalent Samples (VCF)	20090138
Illumina Connected Insights – Training and Onboarding	20092376
インフォマティクスプロフェッショナルサービス	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 Cancer Res*. 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 2017 Apr 19. 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. 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

11. 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
12. Leighl 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 Cancer Res.* 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. Illumina. **TruSight Oncology 500 ctDNA data sheet.** <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.
18. Bettegowda 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
19. 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/cnrc.32876
20. Saarenheimo J, Eigeliene 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
21. Roche. **AVENIO ctDNA Analysis Kits. Sequencing.** <https://sequencing.roche.com/us/en/products/product-category/avenio-ctdna-analysis-kits.html>. Accessed September 20, 2023.
22. Tempus. **Tempus xF.** <https://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.** <https://www.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.** <https://www.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. Beroukhi 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
28. Illumina. **Analysis of TMB and MSI status with TruSight Oncology 500 application note.** <https://www.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

 [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

© 2023 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](https://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>