

# TruSight™ Hereditary Cancer Panel

Pannello NGS per la ricerca  
sul cancro con 113 geni  
associati al rischio genetico

- Valutazione delle mutazioni della linea germinale associate al rischio di cancro utilizzando un contenuto completo del pannello selezionato da esperti
- Arricchimento e preparazione di librerie pronte per il sequenziamento in 6,5 ore, con solo 2 ore di interventi manuali
- Raggiungimento di un'eccellente uniformità di copertura per un rilevamento altamente accurato di SNV, indel e CNV
- Regolazione della produttività e sequenziamento di 2-256 campioni per corsa sui sistemi di sequenziamento da banco Illumina

**illumina**®

## Introduzione

Le varianti genetiche svolgono un ruolo importante nella determinazione della predisposizione a sviluppare il cancro. TruSight Hereditary Cancer Panel consente ai ricercatori di eseguire una valutazione completa dei geni in cui si trovano queste varianti. Sviluppato in collaborazione con esperti nella genomica del cancro, il TruSight Hereditary Cancer Panel è un pannello di sequenziamento mirato e progettato per valutare le mutazioni della linea germinale su 113 geni e 125 polimorfismi di singolo nucleotide (SNP, Single Nucleotide Polymorphisms) a scopi di identificazione di varianti e per ottenere i punteggi di rischio poligenico.

Il saggio utilizza sonde oligonucleotidiche pre-progettate e pronte all'uso che coprono tutte le regioni esoniche e 20 bp di regioni introniche fiancheggianti per ogni gene target. Le librerie vengono preparate utilizzando la chimica a cattura ibrida integrata con Illumina DNA Prep with Enrichment.\* Illumina DNA Prep with Enrichment utilizza un'innovativa chimica basata su microsfere con una singola fase di ibridazione semplificata per una preparazione rapida ed efficiente delle librerie. Illumina DNA Prep with Enrichment è compatibile con tutti i sistemi di sequenziamento da banco Illumina, offrendo flessibilità nella progettazione sperimentale su un'ampia gamma di produttività in termini di campioni (Tabella 1).<sup>1</sup> Combinando la velocità di Illumina DNA Prep with Enrichment con il MiSeq™ System, l'intero flusso di lavoro (Figura 1), dal campione ai dati, può essere completato in 48 ore.

\* Illumina DNA Prep era precedentemente conosciuto con il nome di Nextera™ DNA Flex Library Prep Kit. I due kit utilizzano la stessa chimica di tagmentazione e hanno specifiche delle prestazioni del prodotto e configurazioni dei kit identiche.

Tabella 1. Specifiche del TruSight Hereditary Cancer Panel

Parametro	Dettagli
Sistemi di sequenziamento supportati	iSeq™ 100 System, MiniSeq™ System, MiSeq System, MiSeqDx System (in modalità di ricerca), NextSeq™ 550 System, NextSeq 550Dx System (in modalità di ricerca)
Dimensione del pannello	403 kb, 113 geni (che coprono tutti gli esoni), 125 SNP (48 SNP ID e 77 SNP per il punteggio di rischio poligenico)
N. di sonde	10.341 sonde oligonucleotidiche
Tipo di campione	DNA genomico, sangue <sup>a</sup> o saliva <sup>a</sup>
Input di DNA	50-1.000 ng di DNA
Durata totale del saggio	48 ore dal DNA ai dati
Durata della preparazione delle librerie	Tempo totale di 6,5 ore, 2 ore di interventi manuali
Processività campioni	384 indici disponibili per una processività variabile compresa tra 2 e 256 campioni per corsa a una copertura media di 300x (copertura minima 100x)
Campioni per provetta	8 arricchimenti (fino a 12 campioni per arricchimento)

a. L'estrazione direttamente da sangue o saliva richiede l'utilizzo di Flex Lysis Reagent Kit (Illumina, n. di catalogo 20018706).

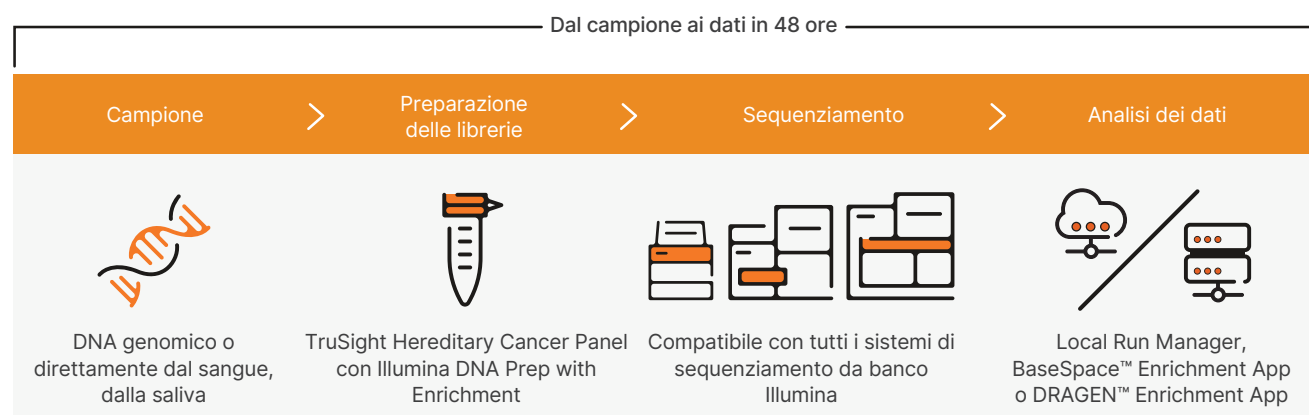


Figura 1. Flusso di lavoro NGS veloce e flessibile: il TruSight Hereditary Cancer Panel utilizza la chimica di preparazione delle librerie Illumina DNA Prep with Enrichment che integra le fasi di preparazione e arricchimento delle librerie. Un flusso di lavoro ottimizzato, semplice e veloce consente di ottenere librerie completamente arricchite in appena 6,5 ore. TruSight Hereditary Cancer è compatibile con iSeq 100 System, MiniSeq System, MiSeq Series System e NextSeq System.

## Processività flessibile con i sistemi di sequenziamento Illumina

Il TruSight Hereditary Cancer Panel è compatibile con diversi sistemi di sequenziamento Illumina, offrendo flessibilità e controllo sulla progettazione sperimentale. Gli utenti possono selezionare gli strumenti o i kit di reagenti in base alle esigenze del laboratorio. La processività dei campioni è di 2-256 campioni per corsa (Tabella 2).

## Progettazione del contenuto completa

Il TruSight Hereditary Cancer Panel include un ampio elenco di geni comunemente associati alla predisposizione ereditaria di cancro al seno, al colon, alle ovaie e allo stomaco (Figura 2). Il contenuto è stato sviluppato con input e feedback da parte di opinion leader chiave sulla valutazione del rischio genetico provenienti da Germania, Francia e Regno Unito. Il pannello include 10.341 sonde che mirano a 113 geni correlati alla predisposizione al cancro (Tabella 3) e valutati in studi di popolazione di casi rispetto ai controlli. Sono inclusi anche 48 SNP allo scopo di determinare l'identità e il sesso e 77 SNP per il punteggio di rischio poligenico di BOADICEA.<sup>2,3</sup> L'analisi consente il rilevamento di varianti di singolo nucleotide (SNV), inserzioni/delezioni (indel) e varianti del numero di copie (CNV, copy-number variant) in un singolo saggio (Tabella 4, Tabella 5).

Tabella 3. Contenuto genico del TruSight Hereditary Cancer Panel

<i>ACD</i>	<i>DIS3L2</i>	<i>GREM1</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>SDHD</i>
<i>AIP</i>	<i>EPCAM</i>	<i>HOXB13</i>	<i>PMS2</i>	<i>SLX4</i>
<i>AKT1</i>	<i>ERCC1</i>	<i>KIF1B</i>	<i>POLD1</i>	<i>SMAD4</i>
<i>APC</i>	<i>ERCC2</i>	<i>KIT</i>	<i>POLE</i>	<i>SMARCA4</i>
<i>ATM</i>	<i>ERCC3</i>	<i>LZTR1</i>	<i>POT1</i>	<i>SMARCB1</i>
<i>BAP1</i>	<i>ERCC4</i>	<i>MAX</i>	<i>PRKAR1A</i>	<i>SMARCE1</i>
<i>BARD1</i>	<i>ERCC5</i>	<i>MEN1</i>	<i>PTCH1</i>	<i>SPINK1</i>
<i>BLM</i>	<i>FAM175A</i>	<i>MET</i>	<i>PTEN</i>	<i>SPRED1</i>
<i>BMPR1A</i>	<i>FANCA</i>	<i>MITF</i>	<i>RAD50</i>	<i>STK11</i>
<i>BRCA1</i>	<i>FANCB</i>	<i>MLH1</i>	<i>RAD51</i>	<i>SUFU</i>
<i>BRCA2</i>	<i>FANCC</i>	<i>MRE11A</i>	<i>RAD51B</i>	<i>TERF2IP</i>
<i>BRIP1</i>	<i>FANCD2</i>	<i>MSH2</i>	<i>RAD51C</i>	<i>TERT</i>
<i>CASR</i>	<i>FANCE</i>	<i>MSH3</i>	<i>RAD51D</i>	<i>TMEM127</i>
<i>CDC73</i>	<i>FANCF</i>	<i>MSH6</i>	<i>RB1</i>	<i>TP53</i>
<i>CDH1</i>	<i>FANCG</i>	<i>MUTYH</i>	<i>RECQL4</i>	<i>TSC1</i>
<i>CDK4</i>	<i>FANCI</i>	<i>NBN</i>	<i>RET</i>	<i>TSC2</i>
<i>CDKN1B</i>	<i>FANCL</i>	<i>NF1</i>	<i>RHBDF2</i>	<i>VHL</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>FANCM</i>	<i>NF2</i>	<i>RINT1</i>	<i>WT1</i>
<i>CEBPA</i>	<i>FH</i>	<i>NSD1</i>	<i>RUNX1</i>	<i>XPA</i>
<i>CHEK2</i>	<i>FLCN</i>	<i>NTHL1</i>	<i>SDHA</i>	<i>XPC</i>
<i>CTRC</i>	<i>GALNT12</i>	<i>PALB2</i>	<i>SDHAF2</i>	<i>XRCC2</i>
<i>DDB2</i>	<i>GATA2</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>SDHB</i>	
<i>DICER1</i>	<i>GPC3</i>	<i>PHOX2B</i>	<i>SDHC</i>	

a. Per l'elenco completo degli SNP inclusi nel pannello, visitare la pagina web [www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer](http://www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer).

Tabella 2. Batch di campioni e variazione di output tra gli strumenti e i kit di reagenti

Sistema di sequenziamento <sup>a</sup>	Kit di reagenti	Lecture unidirezionali	Output	Durata corsa	Plex campioni <sup>b</sup>
iSeq 100 System	100 i1	4 milioni	1,2 Gb	19 ore	2
	v2 Micro	4 milioni	1,2 Gb	19 ore	2
MiSeq System e MiSeqDx System	v2 Standard	15 milioni	4,5 Gb	24 ore	9
	v3 Standard	25 milioni	7,5 Gb	28 ore	16
MiniSeq System	Output medio	8 milioni	2,4 Gb	17 ore	5
	Output elevato	25 milioni	7,5 Gb	24 ore	16
NextSeq 550 System e NextSeq 550Dx System	Output medio	130 milioni	39 Gb	26 ore	80
	Output elevato	400 milioni	120 Gb	39 ore	256

a. Gli output e le durate teorici per iSeq 100 System e MiniSeq System si basano sulle specifiche dello strumento. Per il TruSight Hereditary Cancer Panel è stata eseguita una verifica interna solo su MiSeq System e NextSeq 550 System.

b. La processività dei campioni si basa su una copertura media del campione di 300x.

Tabella 4. Rilevamento delle varianti in campioni Horizon Discovery utilizzando TruSight Hereditary Cancer Panel<sup>a,b</sup>

Campione	Gene	Variante	Tipo di variante	Conseguenza	MAF prevista	MAF osservata a diversi input di DNA <sup>c</sup>		
						50 ng	25 ng	10 ng
HD793	<i>BRCA1</i>	P871L	SNV	mutazione missenso	100%	100%	100%	99,8%
	<i>BRCA1</i>	S1613G	SNV	mutazione missenso	50%	49,8%	47,7%	45,8%
	<i>BRCA1</i>	K1183R	SNV	mutazione missenso	50%	45,0%	43,9%	44,9%
	<i>BRCA1</i>	K820E	SNV	mutazione missenso	50%	48,1%	43,6%	45,6%
	<i>BRCA1</i>	D435Y	SNV	mutazione missenso	50%	42,8%	46,3%	44,6%
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	mutazione missenso	100%	99,9%	100%	100%
	<i>BRCA2</i>	N289H	SNV	mutazione missenso	50%	39,2%	40,5%	40,5%
	<i>BRCA2</i>	N991D	SNV	mutazione missenso	50%	48,6%	48,1%	48,0%
	<i>BRCA2</i>	N1784fs	Delezione	mutazione frameshift	50%	42,2%	35,7%	38,9%
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	mutazione missenso	100%	99,7%	99,9%	100%
	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	mutazione missenso	50%	41,1%	35,1%	38,5%
HD794	<i>BARD1</i>	R378S	SNV	mutazione missenso	50%	50,5%	49,9%	48,0%
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	mutazione missenso	100%	99,9%	99,9%	99,8%
	<i>BRCA2</i>	I2675fs	Inserzione	mutazione frameshift	50%	41,0%	40,9%	40,3%
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	mutazione missenso	100%	99,9%	100%	100%
	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	mutazione missenso	100%	100%	100%	100%

a. Il sequenziamento è stato eseguito sul MiSeq System.

b. L'allineamento e l'identificazione delle varianti sono stati eseguiti con la DRAGEN Enrichment App. Allele minore osservato.

c. I valori di frequenza dell'allele minore (MAF, Minor Allele Frequency) osservati sono valori medi ottenuti da quattro replicati tecnici.

Tabella 5. Rilevamento delle varianti in campioni di collaborazione utilizzando TruSight Hereditary Cancer Panel<sup>a,b</sup>

Campione	Gene	Allele di riferimento	Allele variante	Tipo di variante	Conseguenza	Rip 1 MAF <sup>c</sup>	Rip 2 MAF <sup>c</sup>
1	<i>Sovrapposizione PALB2</i>			CNV	Modifica del numero di copie	Rilevata	Rilevata
2	<i>RB1</i>	T	TTCAAAA	Inserzione	Inserzione in-frame	54,1%	53,6%
	<i>TSC2</i>	C	T	SNV	Ottenuto arresto	49,8%	47,5%
3	<i>POLE</i>	C	T	SNV	Variante missenso	44,1%	47,0%
4	<i>CHEK2</i>	A	G	SNV	Variante missenso	40,8%	44,9%
5	<i>MSH6</i>	GA	G	Delezione	Variante frameshift	50,9%	45,0%
6	<i>BRCA2</i>	CG	C	Delezione	Variante frameshift	29,9%	36,3%
7	<i>MLH1</i>	C	T	SNV	Ottenuto arresto	31,0%	31,9%
8	<i>BRCA1</i>	T	C	SNV	Variante missenso	39,6%	35,1%

a. Il sequenziamento è stato eseguito sul MiSeq System.

b. Allineamento e identificazione di varianti con la DRAGEN Enrichment App.

c. Le identificazioni di varianti osservate sono correlate con i genotipi precedentemente riportati dai nostri collaboratori (dati non mostrati).






Tipo di cancro	Geni raccomandati per lo screening
 Seno	<i>ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53</i>
 Colon	<i>APC, AXIN2, BMPR1A, CHEK2, EPCAM, GREM1, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, MSH3, MUTYH, NTLH1, POLD1, POLE, PTEN, SMAD4, STK11, TP53</i>
 Ovaie	<i>ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53</i>
 Stomaco	<i>CDH1</i>
 Altro	<i>MEN1, NF2, RB1, RET, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, TSC1/2, VHL, TP53, WT1</i>

Figura 2. Sono stati inclusi geni che hanno associazioni note con la predisposizione genetica a specifici tipi di cancro.

## Veloce flusso di lavoro per la preparazione delle librerie e l'arricchimento

Il TruSight Hereditary Cancer Panel utilizza Illumina DNA Prep with Enrichment, consentendo una rapida preparazione delle librerie, con librerie pronte per il sequenziamento in sole 6,5 ore, incluse solo 2 ore di interventi manuali. Una componente chiave della soluzione Illumina DNA Prep with Enrichment è la tagmentazione su microsfere, che utilizza i trasposoni legati alle microsfere per mediare una reazione di tagmentazione uniforme (Figura 3). Questa strategia elimina la necessità di eseguire fasi separate per la frammentazione del DNA. Per input di DNA genomico (gDNA, genomic DNA) tra 10 e 50 ng, la normalizzazione del DNA basata sulla saturazione elimina anche la necessità di singole fasi di quantificazione e normalizzazione delle librerie prima dell'arricchimento. L'arricchimento mirato avviene con la comprovata chimica mediante ibridazione-cattura, consentendo il rilevamento affidabile di varianti rilevanti per SNV, indel e CNV. Le librerie vengono ibridate su sonde marcate con biotina specifiche per le regioni target di DNA. I target vengono catturati mediante microsfere magnetiche coniugate con la streptavidina che si legano alle sonde biotinilate e i frammenti legati vengono sottoposti a pull-down dalla soluzione. Dopo che i frammenti catturati vengono eluiti dalle microsfere, la libreria mirata è pronta per il sequenziamento.

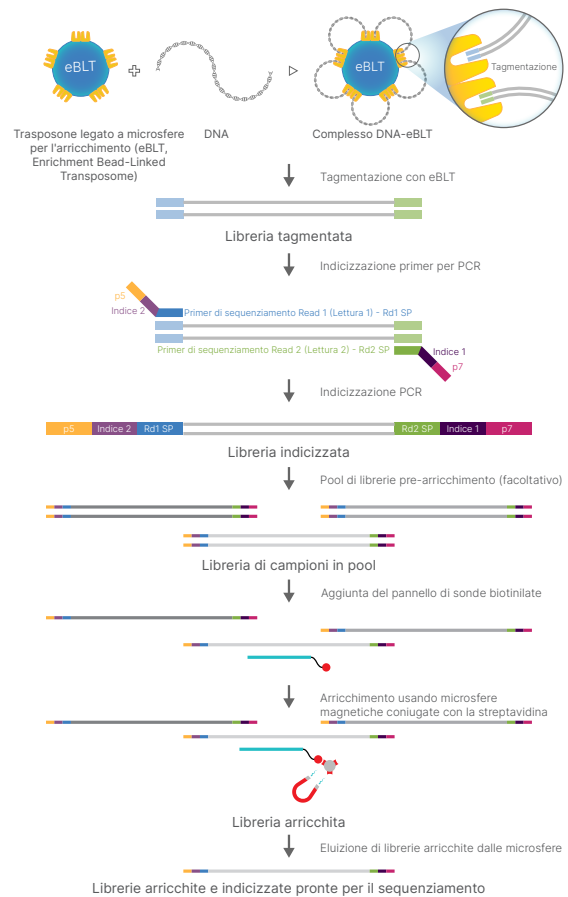


Figura 3. Flusso di lavoro Illumina DAN Prep with Enrichment: una reazione di tagmentazione uniforme mediata da eBLT seguita da una singola reazione di ibridazione consente un flusso di lavoro veloce e flessibile.

## Dati accurati

Il TruSight Hereditary Cancer Panel è in grado di valutare 113 geni per campione e fornisce un'elevata processività di campioni, mantenendo al contempo eccellente specificità e uniformità. Per dimostrare le prestazioni del saggio, le metriche di sequenziamento di due sistemi di sequenziamento sono state analizzate utilizzando campioni di collaboratori di ricerca. Otto campioni (in duplicato) con 50 ng di input di DNA sono stati preparati utilizzando Illumina DNA Prep with Enrichment con arricchimenti a otto plex e sequenziati sul MiSeq System e sul NextSeq System e i dati sono stati valutati utilizzando BaseSpace Enrichment App v3.1.0. I risultati hanno mostrato un'elevata percentuale di uniformità della copertura (Figura 4).

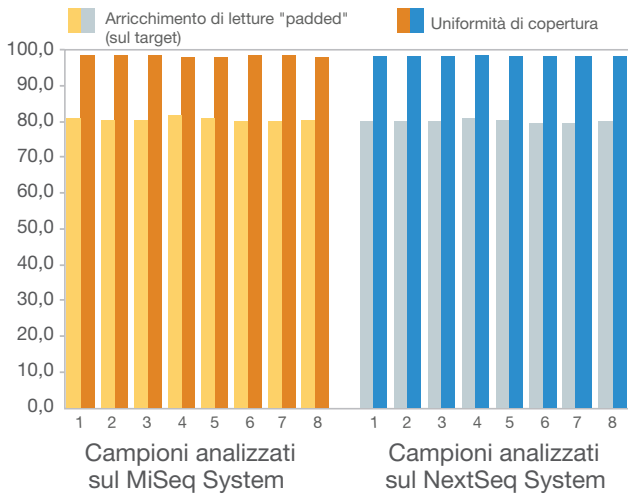


Figura 4. Allineamento sul target e uniformità di copertura: il DNA estratto da campioni suggeriti da collaboratori è stato preparato con il TruSight Hereditary Cancer Panel e sequenziato sul MiSeq System (sinistra) e sul NextSeq 550 System (destra). Per ogni campione sono mostrati i valori medi ottenuti da due replicati tecnici.

## Identificazione di varianti

Per dimostrare le prestazioni nell'identificazione di varianti a diversi livelli di input, sono stati preparati 16 campioni con input di DNA di 10 ng, 25 ng e 50 ng. I set di campioni comprendevano quattro replicati ciascuno di campioni Horizon Discovery (HD) BRCA Germline I standard di riferimento gDNA HD793 e standard di riferimento BRCA Germline II gDNA HD794. Dopo la preparazione con Illumina DNA Prep with Enrichment con arricchimenti di 8 plex, ciascun livello di input è stato sequenziato in 16 plex. Il sequenziamento è stato eseguito sul MiSeq System e i dati ottenuti valutati sulla DRAGEN Enrichment App. I risultati concordavano con l'elenco pubblicato per Horizon Discovery per i campioni HD793 e HD794, dimostrando risultati riproducibili su tutti i livelli di input analizzati. È stata eseguita un'ulteriore analisi sui campioni dei collaboratori di ricerca contenenti varianti sconosciute (Tabella 4). Sono stati preparati 50 ng di input di DNA di otto campioni in duplicati con Illumina DNA Prep with Enrichment con arricchimenti di otto plex e sequenziati sul MiSeq System. L'analisi dei dati è stata eseguita con la DRAGEN Enrichment App e sono state rilevate varianti da diverse classi (SNV, CNV e indel) (Tabella 5), che erano correlate con i genotipi precedentemente riportati dal nostro collaboratore.

La DRAGEN Enrichment App o la BaseSpace Enrichment App può essere utilizzata per l'identificazione di varianti e fornisce risultati in formato VCF. I clienti possono selezionare qualsiasi piattaforma di analisi terziaria di terzi per annotare e interpretare le varianti.

Per maggiori informazioni, inclusi i parametri del saggio regolabili per il flusso di lavoro di Illumina DNA Prep with Enrichment e l'impatto sull'identificazione di varianti, leggere la nota tecnica [Parametri definibili dall'utente nel flusso di lavoro di Illumina DNA Prep with Enrichment](#) e la nota tecnica [Analisi di CNV germinali con TruSight Hereditary Cancer Panel](#).

## Riepilogo

Il TruSight Hereditary Cancer Panel consente ai ricercatori di accedere a un set di contenuti definiti da esperti per l'analisi della variazione nei geni in precedenza legati a una predisposizione al cancro. Il set di sonde ottimizzate fornisce copertura completa di regioni target con elevata uniformità di copertura per identificare diverse varianti. Unendo questo contenuto con il metodo Illumina DNA Prep with Enrichment si ottiene un flusso di lavoro semplice e veloce con un basso requisito di input di campione e la flessibilità offerta da qualsiasi sistema di sequenziamento da banco Illumina. Il TruSight Hereditary Cancer Panel è una soluzione di sequenziamento mirato altamente efficiente che consente di accelerare il rilevamento di varianti associate alla predisposizione al cancro.

## Maggiori informazioni

[TruSight Hereditary Cancer Panel](#)

## Bibliografia

1. Illumina. [Scheda tecnica di Illumina DNA Prep with Enrichment](#). Pubblicato nel 2020. Consultato il 5 settembre 2023.
2. Mavaddat N, Pharoah PD, Michailidou K, et al. [Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants](#). *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(5):djv036. Pubblicato l'8 aprile 2015. doi:10.1093/jnci/djv036.
3. University of Cambridge, Centre for Cancer Genetic Epidemiology. Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm (BOADICEA) [ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/](http://ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/). Consultato il 5 settembre 2023.

## Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 Indexes, 96 Samples)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 Indexes, 96 Samples)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 Indexes, 96 Samples)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 Indexes, 96 Samples)	20091660
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (96 Samples)	20025524
Illumina DNA Prep with Enrichment, (S) Tagmentation (16 Samples)	20025523
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (96 Samples)	20025520
Illumina DNA Prep, (S) Tagmentation (16 Samples)	20025519
iSeq 100 i1 Reagent	20021533
iSeq 100 i1 Reagent	20021534
MiSeq Reagent Micro Kit v2	MS-103-1002
MiSeq Reagent Kit v2	MS-102-2002
MiSeq Reagent Kit v3	MS-102-3003
MiniSeq Mid Output Kit	FC-420-1004
MiniSeq High Output Kit	FC-420-1003
NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2.5	20024905
NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5	20024908
Flex Lysis Reagent Kit	20018706



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

© 2023 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](http://www.illumina.com/company/legal.html).

M-GL-02150 ITA v1.0