

# Panel TruSight™ Hereditary Cancer

Gènes ciblant le contenu définis par des experts associés à une prédisposition à différents cancers offerts sur la prochaine génération de technologies de séquençage ayant fait leurs preuves.

## Points forts

- **Contenu complet pour l'évaluation des mutations germinales**

Le panel comprend 113 gènes sélectionnés par des experts associés à une prédisposition à un cancer héréditaire.

- **Flux de travail très rapide avec Nextera™ Flex for Enrichment.**

Un protocole facile à suivre qui permet la préparation et l'enrichissement de la librairie en 6,5 heures, dont une durée de manipulation de 2 heures.

- **Des options flexibles avec les systèmes Illumina.**

Compatibilité avec tous les séquenceurs de paillasse qui permet un débit des échantillons variant de 2 à 256 échantillons par cycle.

- **Données séquentielles de haute qualité**

L'enrichissement avec captation hybride permet une bonne uniformité de la couverture pour une détection précise des SNV, des indels et des CNV.

régions introniques adjacentes pour chaque gène ciblé. Le test utilise la chimie de captation hybride avec le Nextera Flex for Enrichment, la chimie de préparation de librairies la plus récente d'Illumina<sup>1</sup>. Nextera Flex for Enrichment est 85 % plus rapide que la préparation et l'enrichissement de la librairie standard d'Illumina, utilisant une chimie novatrice reposant sur les billes et comportant une étape d'hybridation unique simplifiée. Nextera Flex for Enrichment est aussi compatible avec tous les séquenceurs de paillasse Illumina offrant de la flexibilité dans la conception expérimentale et comportant une vaste gamme de débits d'échantillons (Tableau 1). Combinant la vitesse de Nextera avec le système MiSeq™, le flux de travail en entier (Figure 1) peut être complété en 48 heures, de l'échantillon aux données.

Tableau 1 : Caractéristiques du panel TruSight Hereditary Cancer

Paramètre	Détails
Système	Système iSeq™ 100, système MiniSeq™, système MiSeq, système NextSeq™ 550, système NextSeq 550Dx (en mode recherche)
Taille du panel	403 Kb, 113 gènes (couvrant tous les exons), 125 SNP (48 SNP ID et 77 SNP pour un indice de risque polygénique)
Nbre de sondes	10 341 oligosondes
Type d'échantillon	ADN génomique, sang <sup>a</sup> ou salive <sup>a</sup>
Entrée d'ADN	50 à 1000 ng d'ADN
Durée totale du test	48 heures de l'ADN aux données
Temps de préparation des librairies	6,5 heures au total, dont une durée de manipulation de 2 heures
Débit d'échantillons	384 index disponible pour le débit variable de 2 à 256 échantillons par cycle, avec une couverture moyenne de 300x (couverture minimale de 100x)
Échantillons par tube	8 enrichissements (jusqu'à 12 échantillons par enrichissement)

a. L'extraction directe à partir du sang ou de la salive nécessite l'utilisation de la trousse de réactifs Flex Lysis (produit accessoire).

## Introduction

À mesure que nous en saurons plus au sujet du rôle des variants génétiques dans la prédisposition au cancer, les chercheurs auront la capacité d'effectuer une évaluation complète des gènes où se trouvent ces variants. Le panel TruSight Hereditary Cancer offre cette possibilité aux laboratoires. Mis au point en collaboration avec des experts dans le domaine de la génomique du cancer, le panel TruSight Hereditary Cancer est un panel de séquençage ciblé conçu pour évaluer les mutations germinales dans les 113 gènes et les 125 polymorphismes de nucléotides simples (SNP) à des fins d'identification et d'évaluation des risques polygéniques.

Le test se fait par l'entremise de sondes oligo préconçues et prêtes à être utilisées qui couvrent toutes les régions exoniques et 20 bp de

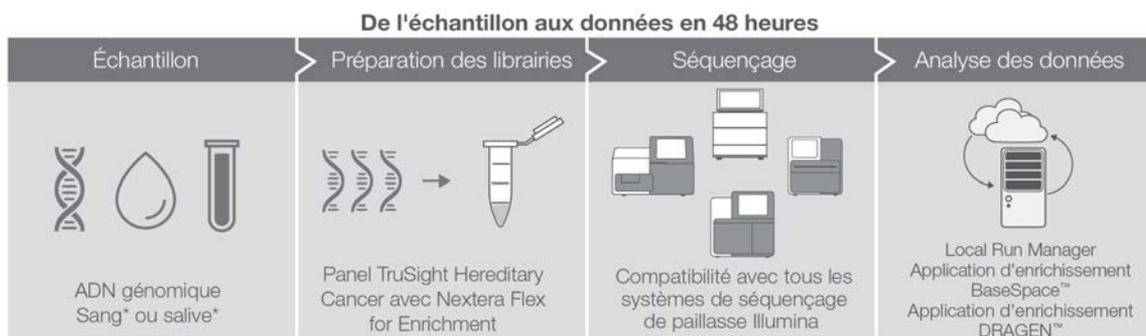


Figure 1 : Flux de travail NGS flexible et rapide – Le panel TruSight Hereditary Cancer a été mis au point avec la chimie de préparation de la librairie Nextera Flex qui intègre les étapes de préparation et d'enrichissement de la librairie. Un flux de travail rapide, continu et optimisé des opérations permettant d'obtenir des librairies entièrement enrichies en seulement 6,5 heures. TruSight Hereditary Cancer est aussi compatible avec les systèmes de la gamme iSeq 100, MiniSeq, MiSeq et NextSeq.

\*L'extraction directe à partir du sang ou de la salive nécessite l'utilisation de la trousse de réactifs Flex Lysis (produit accessoire).



Figure 2 : Gamme de débits disponibles avec le panel TruSight Hereditary Cancer pour quatre systèmes de séquençage Illumina.

Tableau 2 : Variation dans le traitement et le rendement des échantillons entre les instruments et les trousse de réactifs.

Système de séquençage <sup>a</sup>	Trousse	Lectures uniques	Rendement	Durée d'analyse	Plexité de l'échantillon <sup>b</sup>
Système iSeq 100	100 i1	4 M	1,2 Gb	19 heures	2
	Micro v2	4 M	1,2 Gb	19 heures	2
Gamme MiSeq	Norme v2	15 M	4,5 Gb	24 heures	9
	Norme v3	25 M	7,5 Gb	28 heures	16
Système MiniSeq	Rendement moyen	8 M	2,4 Gb	17 heures	5
	Rendement élevé	25 M	7,5 Gb	24 heures	16
Gamme NextSeq	Rendement moyen	130 M	39 Gb	26 heures	80
	Rendement élevé	400 M	120 Gb	39 heures	256

a. Les débits et les durées théoriques des systèmes iSeq 100 et MiniSeq sont basés sur les caractéristiques de l'instrument. Une vérification interne du panel TruSight Hereditary Cancer a été effectuée sur les systèmes MiSeq et NextSeq seulement.

b. Le débit des échantillons est basé sur une couverture moyenne de 300x par échantillon.

## La flexibilité du débit avec les systèmes de séquençage Illumina

Le panel TruSight Hereditary Cancer est compatible avec plusieurs systèmes de séquençage Illumina, offrant de la flexibilité et du contrôle sur la conception expérimentale. Les utilisateurs peuvent sélectionner les instruments ou les trousse de réactifs en fonction de leurs besoins en laboratoire. Le débit des échantillons peut varier de 2 à 256 échantillons par cycle (Figure 2, Tableau 2).

## Conception de contenu complète

Le panel TruSight Hereditary Cancer comprend une liste étendue de gènes couramment associés à une prédisposition génétique aux cancers du sein, du côlon, des ovaires et gastriques. Le contenu a été élaboré avec les commentaires et la rétroaction de grands leaders d'opinion sur l'évaluation des risques génétiques. La panel comprend 10 341 sondes qui ciblent 113 gènes (Tableau 3) liés à la prédisposition au cancer, recommandés dans les principales lignes directrices (Figure 3) et évalués dans le cadre d'études populationnelles comparant les cas à des groupes témoins. Il comprend aussi 48 SNP à des fins de détermination du sexe et de l'identité et 77 SNP pour l'indice de risque polygénique BOADICEA<sup>2,3</sup>. L'analyse permet la détection de variantes de nucléotides simples (SNV), d'insertions/délétions (indels) et de variants de numéros de copies (CNV) à partir d'un seul test.

Type de cancer	Gènes recommandés pour le criblage
Sein	ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53
Côlon	APC, AXIN2, BMPR1A, CHEK2, EPCAM, GREM1, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, MSH3, MUTYH, NTLH1, POLD1, POLE, PTEN, SMAD4, STK11, TP53
Ovaires	ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53
Gastrique	CDH1
Autre	MEN1, NF2, RB1, RET, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, TSC1/2, VHL, TP53, WT1

Figure 3 : Gènes compris dans les lignes directrices principales associées à une diminution du risque.

Tableau 3 : Contenu génique du panel TruSight Hereditary Cancer.

<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>	

Pour la liste complète des SNP compris dans le panel, rendez-vous au [www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer](http://www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer).

## Flux de travail rapide de préparation et d'enrichissement de librairies

Le panel TruSight Hereditary Cancer utilise le Nextera Flex for Enrichment, ce qui permet au flux de travail de préparation de librairies d'être complété en 6,5 heures dont une durée de manipulation de 2 heures seulement. Une composante essentielle de la solution Nextera Flex for Enrichment est la tagmentation sur les billes qui utilise des transposomes liés aux billes pour médier une réaction de tagmentation uniforme (Figure 4). Cette stratégie permet d'éliminer la nécessité des étapes de fragmentation de l'ADN. Pour les entrées d'ADNg de 10 à 50 ng, la normalisation de l'ADN basée sur la saturation permet aussi d'éliminer la nécessité des étapes de normalisation et de quantification de chaque librairie avant leur enrichissement. Un enrichissement ciblé se produit par l'entremise d'une chimie de captation hybride qui a fait ses preuves, ce qui permet la détection de variants pertinents pour les SNV, les indels et les CNV. Les librairies sont hybridées à des sondes marquées à la biotine spécialement utilisées pour des régions ciblées d'ADN. Les cibles sont saisies en ajoutant les billes magnétiques de streptavidine qui se lient aux sondes biotinylées, puis en retirant les fragments liés de la solution. Une fois que les fragments saisis sont élués des billes, la librairie ciblée est prête pour le séquençage.

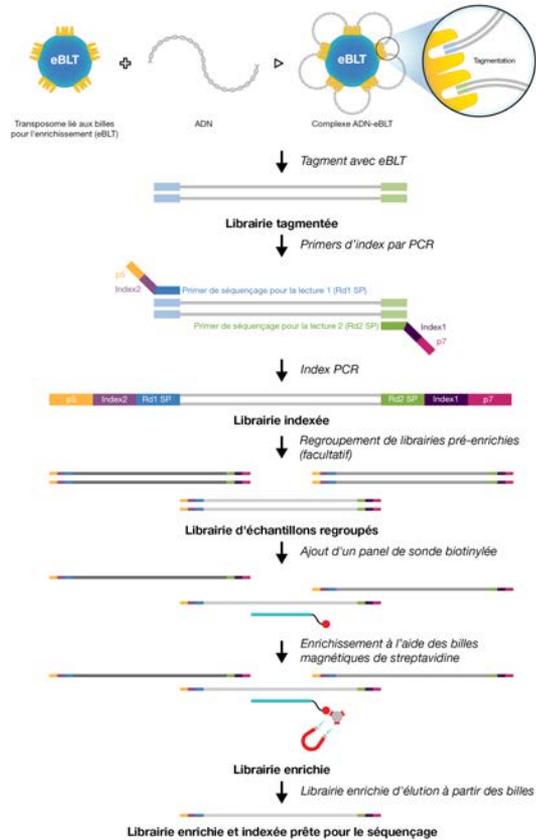
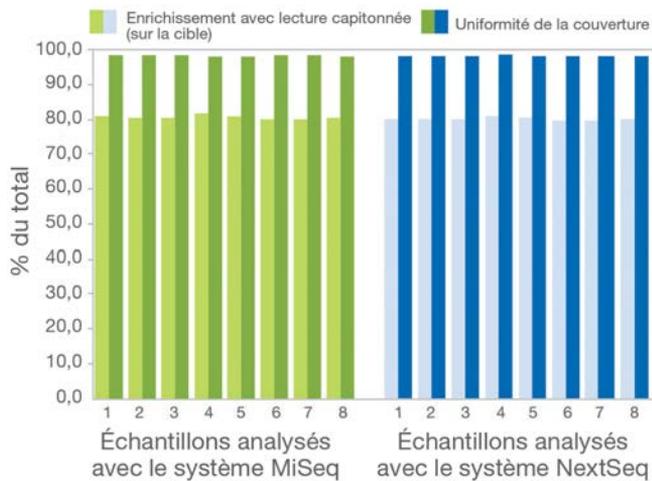


Figure 4 : Flux de travail de Nextera Flex for Enrichment – Une réaction de tagmentation uniforme médiée par les eBLT suivie d'une réaction d'hybridation simple permet un flux de travail rapide et flexible.

## Données exactes

En sus de la capacité d'évaluer 113 gènes par échantillon, le panel TruSight Hereditary Cancer offre un niveau élevé de débit des échantillons, tout en maintenant un excellent degré de spécificité et d'uniformité. Pour démontrer la performance du test, des mesures de séquençage provenant de deux systèmes de séquençage ont été analysées à l'aide d'échantillons provenant de collaborateurs de recherche. Cinquante nanogrammes (50 ng) d'entrée d'ADN provenant de huit échantillons en double ont été préparés à l'aide de Nextera Flex for Enrichment avec des enrichissements de 8 plex et séquençés avec le système MiSeq et le système NextSeq. Les données ont été évaluées à l'aide de l'application d'enrichissement BaseSpace, version 3.1.0. Les résultats ont démontré un fort pourcentage d'uniformité de couverture (Figure 5).



**Figure 5 : Alignement sur la cible et couverture uniforme** – De l'ADN extrait à partir d'échantillons de collaborateurs a été préparé à l'aide du panel TruSight Hereditary Cancer et séquençé dans le système MiSeq (gauche) et le système NextSeq (droite). Les valeurs moyennes provenant de deux répliquats techniques sont présentées pour chaque échantillon.

## Appel des variants

Pour démontrer la performance de l'appel de variants à différents niveaux d'entrée, des ensembles de 16 échantillons ont été préparés avec des entrées d'ADN de 10 ng, 25 ng et 50 ng. Les ensembles d'échantillons comprenaient quatre répliquats chacun d'échantillons Horizon Discovery (HD) de la norme de référence ADNg HD793 pour les cellules germinales BRCA I et de la norme de référence ADNg HD794 pour les cellules germinales BRCA II. Chaque niveau d'entrée était séquençé en 16 plex après avoir été préparé à l'aide de Nextera Flex for Enrichment avec enrichissement en 8 plex. Le séquençage a été effectué sur le système MiSeq et les données ont été analysées à l'aide de l'application d'enrichissement DRAGEN. Les résultats étaient concordants avec la liste publiée pour Horizon Discovery pour les échantillons HD793 et HD794, ce qui démontraient des résultats reproductibles à tous les niveaux d'entrée évalués (Tableau 4).

Une autre analyse a été effectuée sur des échantillons contenant des variants inconnus provenant de collaborateurs de recherche. Cinquante nanogrammes (50 ng) d'entrée d'ADN provenant de huit échantillons en double ont été préparés à l'aide de Nextera Flex for Enrichment avec des enrichissements en 8 plex et séquençés avec le système MiSeq. En utilisant l'application d'enrichissement DRAGEN pour l'analyse des données, les variants de différentes catégories (SNV, indel et CNV) ont été détectés (Tableau 5), ce qui est en corrélation avec les génotypes décrits précédemment par notre collaborateur. L'application d'enrichissement DRAGEN ou l'application d'enrichissement BaseSpace peuvent être utilisées pour l'appel de variants pour fournir des résultats en format VCF. Les clients peuvent choisir toute plateforme d'analyse tertiaire tierce pour annoter et interpréter les variants.

## Résumé

Le panel TruSight Hereditary Cancer permet aux chercheurs d'avoir accès à un ensemble de contenu défini par des experts pour l'analyse des variations à l'intérieur de gènes liés auparavant à une prédisposition au cancer. L'ensemble de sondes optimisé offre une couverture exhaustive à uniformité élevée des régions ciblées afin de définir de nombreux variants. La combinaison de ce contenu avec la méthode de Nextera Flex for Enrichment permet un flux de travail rapide et simple avec un faible besoin d'entrée d'échantillons et la flexibilité d'utiliser tout système de séquençage de paillasse Illumina. Le panel TruSight Hereditary Cancer est une solution de séquençage ciblé hautement efficace pour accélérer la détection de variants associés à une prédisposition au cancer.

## En savoir plus

Pour plus de renseignements sur le panel TruSight Hereditary Cancer, rendez-vous sur [www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer](http://www.illumina.com/TruSightHereditaryCancer).

## Références

1. Illumina (2018). [Fiche technique Nextera Flex for Enrichment](#).
2. Mavaddat N., Pharoah P. D., Michailidou K. et coll. [Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants](#). *J Natl Cancer Inst.* 2015; 107 (5). PII : djv036. DOI : 10.1093/nci/djv036.
3. BOADICEA-Centre for Cancer Genetic Epidemiology. ([ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/](http://ccge.medschl.cam.ac.uk/boadicea/)). Consulté le 17 novembre 2019.

Tableau 4 : Détection des variants dans les échantillons Horizon Discovery avec le panel TruSight Hereditary Cancer et l'application d'enrichissement DRAGEN.

Échantillon	Gène	Variant	Type de variant	Conséquence	MAF attendue	MAF observée avec différentes entrées d'ADN		
						50 ng	25 ng	10 ng
HD793	<i>BRCA1</i>	P871L	SNV	mutation faux-sens	100 %	100 %	100 %	99,8 %
	<i>BRCA1</i>	S1613G	SNV	mutation faux-sens	50 %	49,8 %	47,7 %	45,8 %
	<i>BRCA1</i>	K1183R	SNV	mutation faux-sens	50 %	45,0 %	43,9 %	44,9 %
	<i>BRCA1</i>	K820E	SNV	mutation faux-sens	50 %	48,1 %	43,6 %	45,6 %
	<i>BRCA1</i>	D435Y	SNV	mutation faux-sens	50 %	42,8 %	46,3 %	44,6 %
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,9 %	100 %	100 %
	<i>BRCA2</i>	N289H	SNV	mutation faux-sens	50 %	39,2 %	40,5 %	40,5 %
	<i>BRCA2</i>	N991D	SNV	mutation faux-sens	50 %	48,6 %	48,1 %	48,0 %
	<i>BRCA2</i>	N1784fs	Délétion	mutation de changement de phase	50 %	42,2 %	35,7 %	38,9 %
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,7 %	99,9 %	100 %
	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	mutation faux-sens	50 %	41,1 %	35,1 %	38,5 %
HD794	<i>BARD1</i>	R378S	SNV	mutation faux-sens	50 %	50,5 %	49,9 %	48,0 %
	<i>BRCA2</i>	V2466A	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,9 %	99,9 %	99,8 %
	<i>BRCA2</i>	I2675fs	Insertion	mutation de changement de phase	50 %	41,0 %	40,9 %	40,3 %
	<i>BRIP1</i>	S919P	SNV	mutation faux-sens	100 %	99,9 %	100 %	100 %
	<i>NBN</i>	E185Q	SNV	mutation faux-sens	100 %	100 %	100 %	100 %

Le séquençage a été effectué avec le système MiSeq. L'alignement et l'appel de variants ont été effectués à l'aide de l'application d'enrichissement DRAGEN. Les valeurs de fréquence des allèles mineurs (MAF) observées sont des valeurs moyennes provenant de quatre réplicats techniques.

Tableau 5 : Détection des variants dans les échantillons en collaboration avec le panel TruSight Hereditary Cancer et l'application d'enrichissement DRAGEN.

Échantillon	Gène	Allèle de référence	Allèle des variants	Type de variant	Conséquence	Rép. 1 MAF	Rép. 2 MAF
1	Chevauchement <i>PALB2</i>			CNV	changement de numéro de copie (perte des exons 7 à 13)	DéTECTÉ	DéTECTÉ
2	<i>RB1</i>	T	TTCAAAA	Insertion	Insertion interchromosomique	54,1 %	53,6 %
	<i>TSC2</i>	C	T	SNV	Non-sens	49,8 %	47,5 %
3	<i>POLE</i>	C	T	SNV	Variant faux-sens	44,1 %	47,0 %
4	<i>CHEK2</i>	A	G	SNV	Variant faux-sens	40,8 %	44,9 %
5	<i>MSH6</i>	GA	G	Délétion	Variant de changement de phase	50,9 %	45,0 %
6	<i>BRCA2</i>	CG	C	Délétion	Variant de changement de phase	29,9 %	36,3 %
7	<i>MLH1</i>	C	T	SNV	Non-sens	31,0 %	31,9 %
PR - 8	<i>BRCA1</i>	T	C	SNV	Variant faux-sens	39,6 %	35,1 %

Le séquençage a été effectué avec le système MiSeq. L'alignement et l'appel de variants ont été effectués à l'aide de l'application d'enrichissement DRAGEN. Les appels de variants observés sont en corrélation avec les génotypes décrits précédemment par notre collaborateur (données non présentées).

## Renseignements relatifs à la commande

Produit	Catégorie	N° de référence
TruSight Hereditary Cancer – Oligos d'enrichissement seulement	Oligos d'enrichissement (8 réactions d'enrichissement, jusqu'à 12 échantillons par enrichissement)	20029551
Réactifs de préparation et d'enrichissement de la librairie de pré-enrichissement Nextera DNA Flex	Réactifs de préparation et d'enrichissement des librairies (96 échantillons, 8 x réactions d'enrichissement en 12 plex)	20025524
Réactifs de préparation et d'enrichissement de la librairie de pré-enrichissement Nextera DNA Flex	Réactifs de préparation et d'enrichissement des librairies (16 échantillons, 16 x réactions d'enrichissement en 1 plex)	20025523
Réactifs de préparation de la librairie de pré-enrichissement Nextera DNA Flex	Réactifs de préparation et d'enrichissement des librairies (96 échantillons)	20025520
Réactifs de préparation de la librairie de pré-enrichissement Nextera DNA Flex	Réactifs de préparation et d'enrichissement des librairies (16 échantillons)	20025519
IDT pour le Nextera DNA Unique Dual Indexes d'Illumina – ensemble A	Adaptateurs d'indexation (96 index, 96 échantillons)	20027213
IDT pour le Nextera DNA Unique Dual Indexes d'Illumina – ensemble B	Adaptateurs d'indexation (96 index, 96 échantillons)	20027214
IDT pour le Nextera DNA Unique Dual Indexes d'Illumina – ensemble C	Adaptateurs d'indexation (96 index, 96 échantillons)	20027215
IDT pour le Nextera DNA Unique Dual Indexes d'Illumina – ensemble D	Adaptateurs d'indexation (96 index, 96 échantillons)	20027216
Réactif i1 iSeq 100	Trousse simple de 300 cycles	20021533
Réactif i1 iSeq 100 en paquet de 4	Trousse quad de 300 cycles	20021534
Micro-trousses de réactifs MiSeq v2	Trousse de 300 cycles	MS-103-1002
Trousse de réactifs MiSeq v2	Trousse de 300 cycles	MS-102-2002
Trousse de réactifs MiSeq v3	Trousse de 600 cycles	MS-102-3003
Trousse de rendement moyen MiniSeq	Trousse de 300 cycles	FC-420-1004
Trousse de rendement élevé MiniSeq	Trousse de 300 cycles	FC-420-1003
Trousse de rendement moyen NextSeq 500/550 v2.5	Trousse de 300 cycles	20024905
Trousse de rendement élevé NextSeq 500/550 v2.5	Trousse de 300 cycles	20024908
Trousse de réactif Flex Lysis	96 réactions	20018706

Illumina, Inc. • 1-800-809-4566 sans frais (États-Unis) • Tél. : 1-858-202-4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2019 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html). Pub. No. 1170-2019-012-A FRA QB9117

