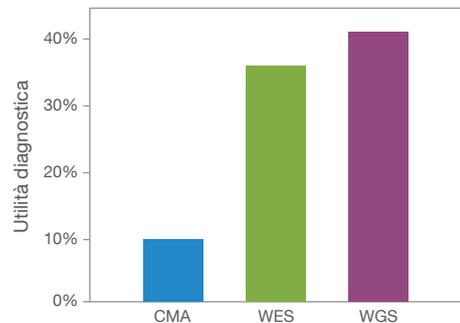


# TruSight™ Software Suite

Efficienza ed elevata affidabilità per la gestione dei casi, l'analisi delle varianti e l'interpretazione di malattie rare.

## Punti principali

- Valutazione genomica esaustiva**  
 Analisi, visualizzazione e interpretazione di varianti piccole, varianti strutturali, varianti mitocondriali, espansioni delle ripetizioni, corse di omozigotità e varianti *SMN1/SMN2*
- Flusso di lavoro integrato e pronto all'uso**  
 State al passo con la tecnologia in evoluzione grazie a un'infrastruttura pronta all'uso e alla semplice integrazione di diversi strumenti analitici per ottimizzare i vantaggi della tecnologia di nuova generazione



## Introduzione

Il sequenziamento dell'intero genoma (Whole-Genome Sequencing, WGS) e il sequenziamento dell'intero esoma (Whole-Exome Sequencing, WES) che utilizzano le tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) sono metodi efficaci per l'investigazione di varianti legate a malattie genetiche. In una meta-analisi pubblicata in letteratura tra gennaio 2011 e agosto 2017, 37 studi che comprendevano 20.068 bambini sono stati inclusi per la revisione al fine di valutare l'utilità diagnostica di tre approcci di analisi: microarray cromosomici (Chromosomal Microarray, CMA), WES e WGS. I risultati hanno mostrato una probabilità di più di 8,3 volte di diagnosi con i metodi NGS, rispetto a CMA (Figura 1).<sup>1</sup>

Il sequenziamento WGS e WES forniscono una visione oggettiva e a elevata risoluzione sull'intero genoma per scoprire varianti causative associate con patologie rare. Tuttavia, la grande quantità di dati generati da questi metodi rappresenta un importante ostacolo e richiede strumenti di analisi dei dati esaustivi in grado di tradurre in modo efficace i dati del sequenziamento non elaborati in risultati interpretabili e significativi. Per affrontare questa sfida, Illumina offre TruSight Software Suite. Questo software utilizzato come un servizio (Software As A Service, SaaS) si integra con BaseSpace™ Sequence Hub e i sistemi di sequenziamento Illumina per accedere al monitoraggio della corsa, alle metriche della corsa e al caricamento automatico dei dati del sequenziamento. Include l'accesso alla piattaforma DRAGEN™ Bio-IT sul cloud, consentendo flussi di lavoro di analisi secondari e terziari ottimizzati ed esaustivi per NGS (Figura 2).

**Figura 1: WGS e WES presentano un'utilità diagnostica superiore rispetto a CMA:** l'analisi quantitativa di 37 studi che comprendevano 20.068 bambini per valutare l'utilità diagnostica dei test genomici in prima linea hanno mostrato il 36% e il 41% di utilità per WES e WGS, rispettivamente, rispetto al 10% per CMA. 95% IC: 4,7-14,9, P < 0,0001.

## Analisi delle varianti in TruSight Software Suite

L'analisi secondaria include:

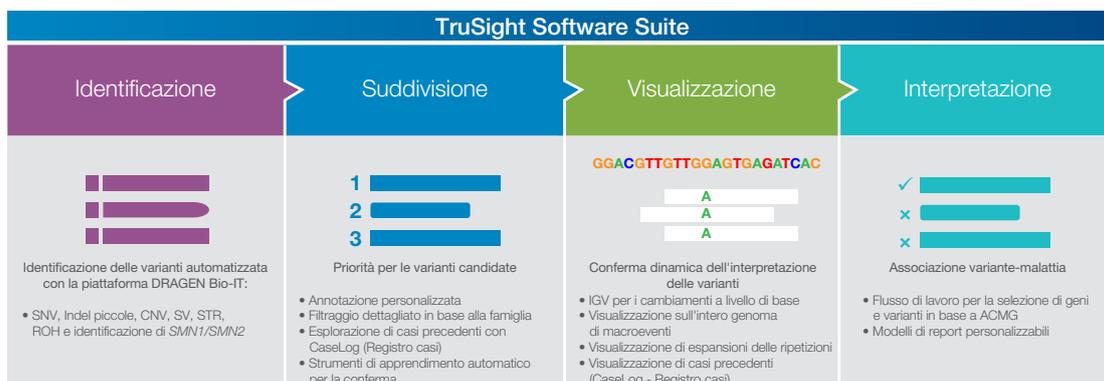
- Allineamento e identificazione delle varianti utilizzando la piattaforma DRAGEN

L'analisi terziaria include:

- Annotazione delle varianti
- Filtraggio e suddivisione delle varianti
- Visualizzazione delle varianti
- Selezione dei dati
- Interpretazione delle varianti e creazione di report personalizzati

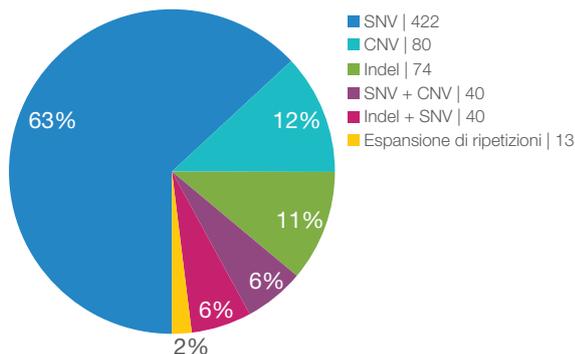
## Supportato dalla piattaforma DRAGEN

TruSight Software Suite è supportata dalla piattaforma DRAGEN (Dynamic Read Analysis for GENomics, analisi dinamica delle letture per genomica) Bio-IT che fornisce l'analisi secondaria dei dati genomici. Le caratteristiche principali della piattaforma DRAGEN consentono di affrontare le sfide comuni dell'analisi genomica, come i lunghi tempi di calcolo e gli enormi volumi di dati.



**Figura 2: Analisi delle varianti in TruSight Software Suite:** l'analisi delle varianti in TruSight Software Suite parte dall'allineamento automatico e dall'identificazione delle varianti utilizzando la piattaforma DRAGEN e richiede circa tre ore per un trio a 30x, seguita da suddivisione, visualizzazione e interpretazione delle varianti.

Senza compromissione dell'accuratezza, la piattaforma DRAGEN fornisce velocità, flessibilità ed efficacia in termini di costi che consentono ai laboratori di tutte le dimensioni e discipline di ottenere il massimo dai propri dati genomici. L'identificazione esaustiva delle varianti include varianti di singolo nucleotide (Single Nucleotide Variant, SNV), inserzioni/delezioni (Indel), varianti del numero di copie (Copy Number Variation, CNV), varianti strutturali (Structural Variant, SV), ripetizioni in tandem corte (Short Tandem Repeat, STR), espansioni delle ripetizioni, corse di omozigosità (Runs Of Homozygosity, ROH), identificazioni di *SMN1/SMN2* e altro (Figura 3). Sebbene TruSight Software Suite sia compatibile con gli output sia del sequenziamento WGS che del sequenziamento WES, la piattaforma DRAGEN supporta solo le identificazioni delle ripetizioni e l'identificazione di *SMN1/SMN2* con i campioni del genoma intero. Per ulteriori dettagli, fare riferimento alla guida per l'utente di TruSight Software Suite.



**Figura 3: Tipi di varianti identificate con TruSight Software Suite:** l'analisi dei dati WGS ha consentito l'identificazione di diversi tipi di varianti. Le percentuali indicano il numero di casi sul totale di 669 casi.

### Integrazione con altre piattaforme e sistemi

Molti laboratori faticano a stare al passo con l'integrazione di nuove tecnologie genomiche, strumenti e metodologie. TruSight Software Suite semplifica il processo, integrandosi in modo ottimale con i sistemi NovaSeq™ 6000, NextSeq™ 2000 e con altri sistemi mediante BaseSpace Sequence Hub per automatizzare l'analisi dei dati WGS e WES. Inoltre, TruSight Software Suite rappresenta l'ultimo tassello del flusso di lavoro per le malattie rare di una

soluzione WGS integrata dal DNA al report, inclusi DNA PCR-Free Prep Illumina, tagmentazione e il sistema NovaSeq 6000. La compatibilità con l'interfaccia di programmazione delle applicazioni (Application Programming Interface, API) consente l'integrazione con altri sistemi di gestione delle informazioni del laboratorio (Laboratory Information Management System, LIMS) istituzionali. Il software fornisce un'architettura completa per l'archiviazione dei dati per gestire l'archiviazione a breve e a lungo termine di file FASTQ, VCF, BAM, etc. in modo sicuro ed efficace in termini di costi.

### Gestione dei casi semplificata e personalizzabile

TruSight Software Suite offre un Case Management Portal (Portale per la gestione dei casi), che consente agli utenti di creare nuovi casi, importare i file dei dati e associare i file dei dati del sequenziamento con ogni caso. In alternativa, queste informazioni possono essere facilmente importate mediante un'interfaccia API. Per ogni caso gli utenti immettono informazioni sulle relazioni familiari (fino a cinque individui), inclusi struttura familiare, genere probando, caratteristiche fenotipiche del probando (facoltativo) e se i membri della famiglia sono affetti per migliorare il filtraggio e la priorità.

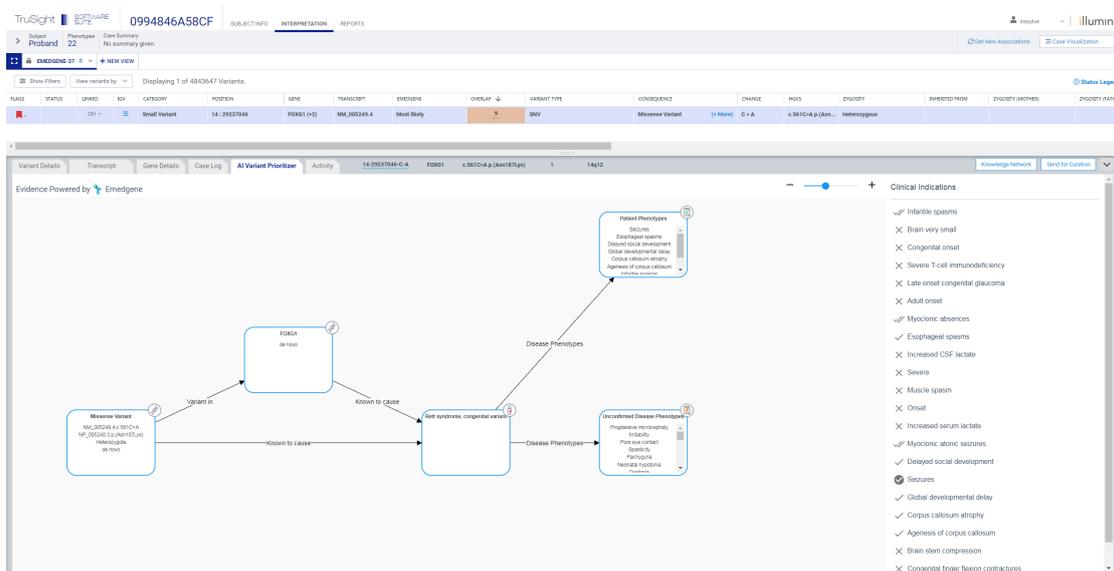
Per migliorare l'efficienza, i casi possono essere assegnati a ruoli o funzioni specifici all'interno di un laboratorio. Gli aggiornamenti in tempo reale dello stato dei casi viene visualizzato nel pannello di controllo di TruSight Software Suite, una singola visualizzazione per monitorare tutti i casi del laboratorio. Questo consente ai responsabili e ad altro personale di monitorare il progresso durante il flusso di lavoro di analisi.

### Interpretazione intuitiva e altamente efficace

TruSight Software Suite utilizza aggregazioni di dati critici, visualizzazione di varianti, selezione di varianti e strumenti di apprendimento automatico per promuovere l'interpretazione efficiente e consapevole.

### Suddivisione delle varianti

Utilizzando la scheda Interpretation (Interpretazione) in TruSight Software Suite, le varianti possono essere filtrate seguendo un piano personalizzato o un piano di filtraggio pre-progettato. Il filtraggio basato sulla famiglia in TruSight Software Suite consente il confronto del probando con altri membri della famiglia. Ulteriori opzioni includono il filtraggio delle frequenze delle popolazioni da fonti quali Genome Aggregation Database (*gnomAD*), conseguenze di varianti, metriche dei campioni, patogenicità *ClinVar* e altro.



**Figura 4: Filtraggio e priorità delle varianti:** il filtraggio delle varianti in base alla famiglia consente l'identificazione di varianti ereditarie e de novo. La griglia delle varianti è personalizzabile e mostra informazioni su categoria di variante, posizione cromosomica, gene affetto, sovrapposizione (numero di fenotipi sovrapposti per la variante), conseguenze della variante, frequenza della variante nella popolazione (se nota) e altro.

## Analisi delle varianti con strumenti di apprendimento automatico

TruSight Software Suite incorpora un motore di intelligenza artificiale (Artificial Intelligence, AI) per genomica, che utilizza **Emedgene**, per classificare le varianti ed evidenziare i candidati più probabili. Il motore genera un grafico, contenente le informazioni, che mostra le prove a supporto della priorità assegnata alla variante, come relazione malattia-gene, generata dall'applicazione dell'elaborazione del linguaggio naturale (Natural Language Processing, NLP) in diverse fonti di dati (Figura 4).

Illumina ha collaborato con Stanford University, University of California, San Francisco, University of Florida, University of Chicago e il Broad Institute per sviluppare gli strumenti di analisi SpliceAI e PrimateAI. Queste reti all'avanguardia per la profondità neurale sono supportate da strumenti di apprendimento automatico per individuare le mutazioni che causano la malattia. SpliceAI e PrimateAI forniscono la classificazione altamente accurata e imparziale dei siti di splicing dell'mRNA e delle varianti missenso, rispettivamente.<sup>1-3</sup> Grazie all'utilizzo di questi strumenti che consentono di assegnare la priorità in modo automatizzato, gli utenti possono aggiungere profondità alle proprie analisi e filtrare rapidamente milioni di varianti per concentrarsi sulle principali varianti di interesse candidate per la visualizzazione e l'interpretazione.

## Visualizzazioni delle varianti

TruSight Software Suite dispone di strumenti di visualizzazione integrati come Integrative Genomics Viewer (IGV), per un ulteriore controllo dei dati genomici, inclusi allineamenti di letture, varianti, frequenza dell'allele B e monitoraggio della copertura per tutti i soggetti in un caso. Oltre alle visualizzazioni a livello di variante, IGV offre visualizzazioni di un intero cromosoma o di un intero genoma per individuare ampie anomalie.

## Interpretazione e selezione di varianti

TruSight Software Suite offre diverse caratteristiche per contribuire alla determinazione delle varianti con priorità che sono rilevanti per il caso attuale, consentendo l'interrogazione delle associazioni alla malattia di gene e variante con caratteristiche fenotipiche sovrapposte simili a quelle presenti nel

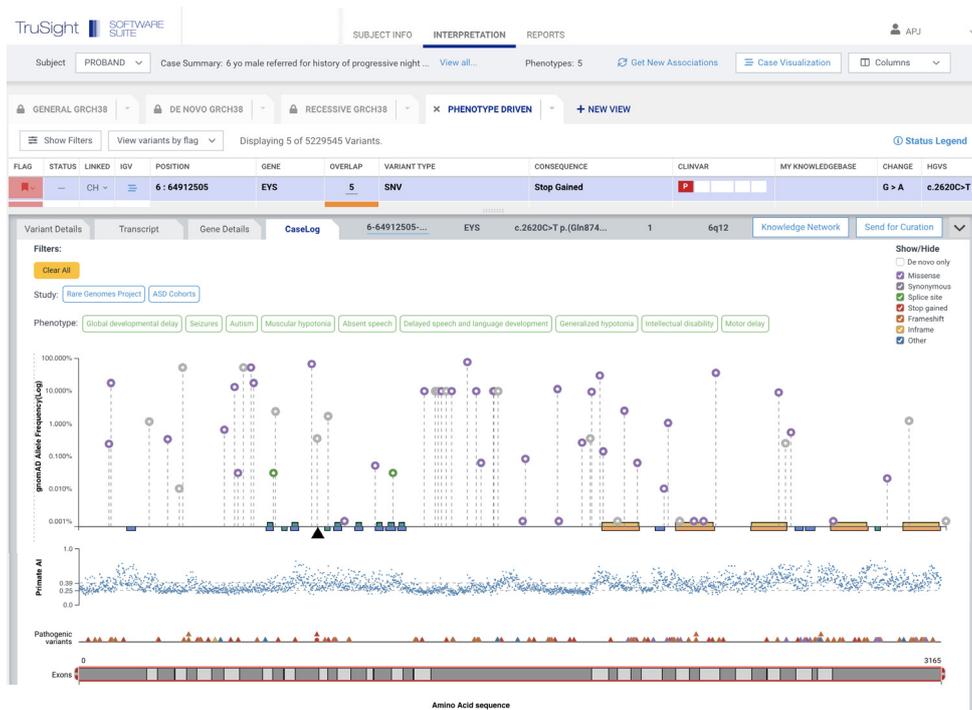
probando. Nella scheda Variant Details (Dettagli variante), TruSight Software Suite aggrega e integra i dati ottenuti dai database esterni prescelti, come il catalogo Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), ClinVar e altri. I dati aggregati possono essere visualizzati per ottenere preziosi dati approfonditi per una variante, eliminando la necessità di ripetere ricerche online in database separati. Inoltre, TruSight Software Suite integra la terminologia standard per la classificazione delle varianti sviluppata dall'American College of Medical Genetics (ACMG), che contribuisce alla registrazione dei dettagli e delle associazioni delle varianti. Questo consente l'accesso e l'archiviazione delle informazioni a livello di gene (ad es., tolleranza alla variazione di perdita di funzione, etc.) e delle caratteristiche delle relazioni gene-malattia (mediante database esterni scelti dall'utente). Anche le informazioni a livello di trascritto vengono visualizzate per ogni variante e sia i trascritti canonici che non canonici possono essere selezionati per l'interpretazione. Sono disponibili diverse funzioni, ad esempio il campo Note (Nota) può essere utilizzato per aggiungere note specifiche per il caso relative a una determinata variante. Il campo Comments (Commenti) può essere utilizzato per registrare informazioni sulla variante o sul gene indipendenti dal caso, che possono essere utili se osservate in casi futuri.

## CaseLog (Registro casi): un database specifico per il cliente

CaseLog (Registro casi) consente di visualizzare e aggregare le informazioni relative a gene, variante e fenotipo per ogni caso sia su set di dati privati che pubblici (Figura 5). Questo database interattivo archivia set di dati pubblici per malattie rare e casi precedentemente osservati da un laboratorio al fine di rendere disponibile la selezione, l'interpretazione e il report di geni o varianti di interesse in base a nuove scoperte nella comunità scientifica.

## Risultati e creazione di report personalizzati

L'interpretazione è completa quando le varianti sono state identificate e selezionate con associazioni note alla malattia. I clienti possono quindi utilizzare i modelli disponibili in TruSight Software Suite per personalizzare i report per le associazioni di geni e varianti rilevanti per i casi (Figura 6). Il report può essere inviato per ulteriore visualizzazione e approvazione mediante il software. Per semplificare la condivisione dei dati, i report possono essere scaricati in formato PDF o JSON.



**Figura 5: CaseLog (Registro casi):** la funzione CaseLog (Registro casi) di TruSight Software Suite consente la visualizzazione di dati aggregati sia per le varianti che per i geni di interesse.

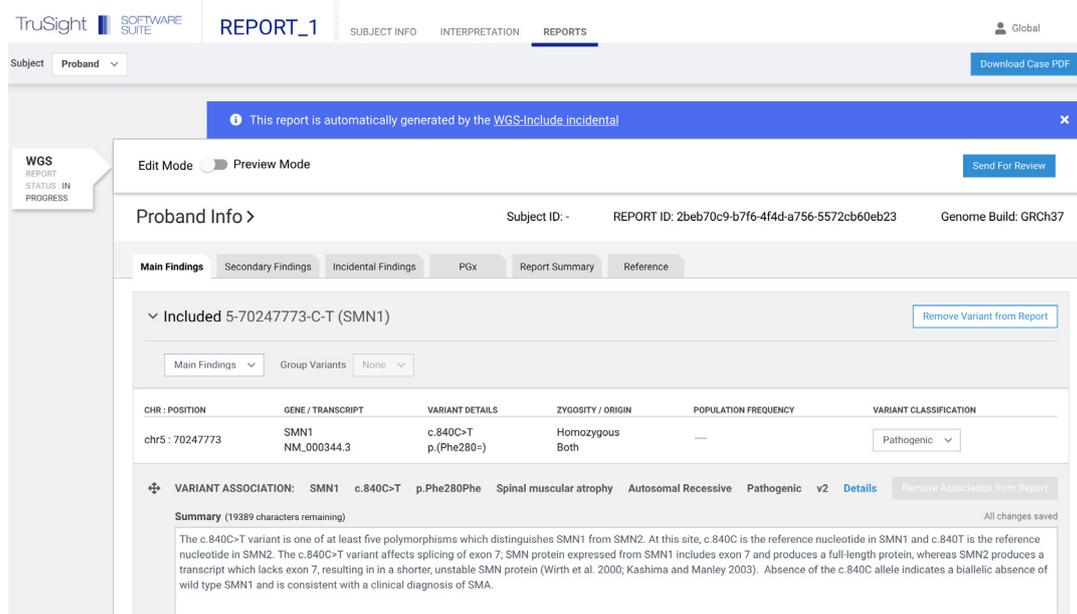


Figura 6: Creazione di report personalizzabile: TruSight Software Suite offre un modello per la personalizzazione di report sulle associazioni di geni e varianti rilevanti per il caso.

## Ambiente sicuro e conforme

TruSight Software Suite è certificato ISO-27001 e ISO-13485 ed è conforme a Health Insurance Portability and Accountability Act (HIPAA) (audit di terze parti) e ai principi di General Data Protection Regulation (GDPR). TruSight Software Suite offre inoltre opzioni per l'integrazione con la politica di identificazione unica (Single sign-on, SSO) e altre impostazioni di sicurezza del laboratorio.

## Riepilogo

TruSight Software Suite offre una soluzione di analisi e interpretazione di malattie rare in modo intuitivo e completo. Si integra con i sistemi di sequenziamento Illumina e include la piattaforma DRAGEN Bio-IT per l'identificazione ultra veloce delle varianti e dispone di strumenti per la visualizzazione, la suddivisione e l'interpretazione di varianti associate a malattie genetiche. I risultati possono essere forniti in modelli personalizzabili per generare report specifici per il cliente.

## Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni su TruSight Software Suite, visitate la pagina Web [www.illumina.com/trusight-software-suite](http://www.illumina.com/trusight-software-suite)

## Bibliografia

- Clark MM, Stark Z, Farnaes L, et al. *Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected diseases. NPJ Genom Med.* 2018;3:16.
- Jaganathan K, Kyriazopoulou Panagiotopoulou S, McRae JF, et al. *Predicting splicing from primary sequence with deep learning. Cell.* 2019;176(3):535–548.
- Sundaram L, Gao H, Padigepati SR, et al. *Predicting the clinical impact of human mutation with deep neural networks. Nat Genet.* 2018;50(8):1161–1170.

## Informazioni per gli ordini

Illumina offre una prova gratuita di 30 giorni per consentire ai clienti di lavorare con casi di esempio disponibili in TruSight Software Suite o caricare e valutare i propri casi sul software.

Prodotto	N. di campioni	N. di catalogo
TruSight Software Suite	48 WGS/96 WES	20041943
TruSight Software Suite	96 WGS/192 WES	20041944
TruSight Software Suite	288 WGS/576 WES	20041945
TruSight Software Suite	480 WGS/960 WES	20041946
TruSight Software Suite	960 WGS/1.920 WES	20041947
TruSight Software Suite	2.400 WGS/4.800 WES	20041948
TruSight Software Suite	4.800 WGS/9.600 WES	20041949
TruSight Software Suite	9.600 WGS/19.200 WES	20042010
Prova gratuita di 30 giorni di TruSight Software Suite con 15 campioni		20042019
Formazione su TruSight Software Suite presso la sede del cliente (un giorno)		20042020
Formazioni su TruSight Software Suite presso il Solutions Center Illumina (un giorno)		20042021