

# Panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq™ for Illumina

Panel de ARN para el estudio de 395 genes implicados en interacciones entre los tumores y el sistema inmunitario.

## Puntos destacados

- **Contenido genético significativo**

Centre los estudios en 395 genes que portan biomarcadores de cáncer indicativos de respuesta de inmunoterapia.

- **Flujo de trabajo rápido y optimizado**

Preparación de bibliotecas listas para la secuenciación en un único día a partir de tan solo 1 ng de ARN de alta calidad o 10 ng de ARN extraído de tejido FFPE.

- **Datos precisos**

Detecte la expresión de genes implicados en interacciones de respuesta entre los tumores y el sistema inmunitario.

## Introducción

Entender la expresión de biomarcadores de cáncer puede resultar útil para la predicción del éxito de algunos tratamientos de inmunoterapia.<sup>1</sup> Para ayudar en esta tarea, Illumina ofrece a los investigadores el panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina, un ensayo de resecuenciación selectiva para la cuantificación de la expresión de biomarcadores de cáncer en 395 genes implicados en interacciones entre los tumores y el sistema inmunitario (Tabla 1).

El panel de respuesta inmunitaria forma parte de un flujo de trabajo integrado que incluye la preparación de bibliotecas basada en PCR AmpliSeq for Illumina, los procesos químicos de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina, así como la tecnología de secuenciación de próxima generación (NGS) y los análisis automatizados. A partir de tan solo 10 ng de ARN de entrada, el panel permite a los investigadores detectar biomarcadores asociados a diferentes subconjuntos de leucocitos, a la presentación del antígeno, a las vías de señalización de punto de control y a la evolución del tumor. La poca cantidad necesaria de entrada posibilita su uso con distintas calidades de muestras, como las de tejidos fijados en formol y embebidos en parafina (FFPE). Como parte de la solución de resecuenciación selectiva AmpliSeq for Illumina, el panel de respuesta inmunitaria permite una evaluación rápida y precisa de la expresión genética para estudios de investigación clínica y traslacionales.

## Contenido genético significativo

El contenido del panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina se ha seleccionado en función de la información de varias fuentes, como los artículos revisados por expertos que señalan marcadores potencialmente predictivos de respuesta a fármacos; los expertos del centro oncológico nacional de Japón (Japan National Cancer Center); las empresas farmacéuticas, las bases de datos públicas, como la base de datos de anotación, visualización y detección integrada (Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery, DAVID), y el registro de ensayos clínicos ([clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov)). El panel resultante tiene como objetivo 395 genes expresados en el microentorno tumoral (Tabla 2). Gracias a este panel listo para usar, los investigadores ahorran tiempo y esfuerzo en la identificación de objetivos, el diseño de amplicones y la optimización del rendimiento.

**Tabla 1: Resumen del panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina**

Parámetro	Especificación
N.º de genes	395
Objetivos	Genes asociados a la respuesta inmunitaria en varios genes funcionales
Tamaño de objetivo acumulativo	42 kb
Tipos de análisis	Niveles de expresión genética, incluidos genes sin expresión y con expresión baja
Tamaño del amplicón	106 pb de media
N.º de amplicones	398
Cantidad necesaria de ARN de entrada	1-100 ng (valor recomendado de 10 ng)
N.º de grupos por panel	1
Tipos de muestras compatibles	Tejido FFPE
Duración total del ensayo <sup>a</sup>	6 horas
Tiempo de participación activa	<1,5 horas
Tiempo de conversión de ARN a datos	2,5 días

a. El tiempo refleja únicamente la preparación de bibliotecas, sin incluir su cuantificación, normalización o agrupación.

Datos en el archivo de Illumina, Inc. (2017)



Consulte en [la lista exhaustiva de los genes del panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina](#)

## Flujo de trabajo sencillo y optimizado

El panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina forma parte de una solución de ARN a resultados que ofrece un contenido optimizado, una preparación sencilla de bibliotecas, sistemas de secuenciación con solo pulsar un botón y análisis simplificados de los datos.

La preparación de bibliotecas comienza con la conversión de ARN total en ADNc, seguida de un sencillo protocolo basado en PCR que puede completarse en tan solo seis horas, con un tiempo de participación activa de <1,5 horas. Las bibliotecas resultantes pueden normalizarse, agruparse y, posteriormente, cargarse en una celda de flujo para su secuenciación. Esta última se efectúa usando los procesos químicos probados de secuenciación por síntesis (SBS) en cualquier sistema de secuenciación Illumina compatible (Tabla 3).

Los datos resultantes pueden analizarse de forma local con Local Run Manager o transmitirse con facilidad a BaseSpace™ Sequence Hub. Local Run Manager y BaseSpace Sequence Hub pueden acceder al flujo de trabajo de análisis de amplicones de ARN para el análisis. El flujo de trabajo de análisis de amplicones de ARN alinea las lecturas con las regiones especificadas en el archivo de manifiesto, cuantifica la expresión relativa de los genes y las isoformas entre varias muestras, y compara la abundancia entre muestras. El resultado proporciona la identificación de la expresión de la transcripción y los resultados de expresión diferencial.

**Tabla 2: Lista de genes para el panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina**

Regulación linfocitaria	Marcadores linfocitarios
Presentación de antígeno	Marcador de linfocito B
Procesamiento del antígeno	Célula dendrítica
Respuesta inmunitaria innata	Célula dendrítica, macrófago
Inhibición leucocitaria	Linfocitos T colaboradores
Migración leucocitaria	Macrófago
Activación linfocitaria	Marcador mielóide
Desarrollo linfocitario	Neutrófilo
Infiltración linfocitaria	Activación de célula NK
Señalización de receptor de linfocito B	Marcador de célula NK
Señalización de receptor de linfocito T	Diferenciación de linfocito T
Regulación de linfocito T	<b>Vía de señalización de punto de control</b>
Coexpresión de RLT	Vía de señalización de punto de control
<b>Señalización de citocina</b>	Señalización de PD-1
Señalización de quimiocina	Diana de medicamentos
Señalización de citocina	<b>Caracterización tumoral</b>
Señalización de interferón	Adhesión, migración
Señalización de interferón de tipo I	Apoptosis
Señalización de interferón de tipo II	Proliferación
<b>Constitutivo</b>	Antígeno tumoral
Constitutivo	Marcador tumoral



Más información sobre los [sistemas de secuenciación Illumina](#)



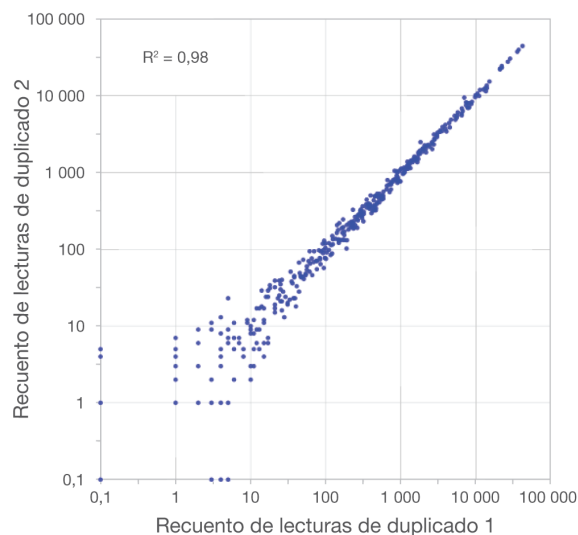
Más información sobre las [soluciones informáticas AmpliSeq for Illumina](#)

**Tabla 3: Sistemas de secuenciación de Illumina que se recomienda utilizar con el panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina**

Instrumento	N.º de muestras por experimento	Duración del experimento
MiniSeq™ System (rendimiento medio)	8	17 horas
MiniSeq System (rendimiento elevado)	24	24 horas
MiSeq System (procesos químicos v2)	16	24 horas
MiSeq System (procesos químicos v3)	24	32 horas
NextSeq System (rendimiento medio)	96	26 horas

## Datos precisos

El panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina permite el estudio de genes implicados en el sistema de respuesta inmunitaria y en el microentorno tumoral. Para demostrar la precisión del ensayo, se analizó por duplicado ARN aislado de tejido pulmonar con el panel de respuesta inmunitaria y NextSeq™ System. Los resultados muestran una elevada concordancia ( $R^2 = 0,98$ ) entre las dos muestras (Figura 1).



**Figura 1: Alta concordancia entre los duplicados:** Las bibliotecas se prepararon empleando ARN aislado de tejido pulmonar y el panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina, y se secuenciaron en NextSeq System. Un diagrama de reproducibilidad pone de manifiesto la elevada correlación existente entre dos duplicados de la misma muestra de ARN.  $R^2$  equivale a una medición estadística de la correlación de datos.

## Datos para realizar pedidos

Puede solicitar en línea los productos AmpliSeq for Illumina en la página [www.illumina.com](http://www.illumina.com).

Producto	N.º de catálogo
Panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina (24 reacciones)	20019169
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (24 reacciones)	20019101
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (96 reacciones)	20019102
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (384 reacciones)	20019103
Juego A de índices AmpliSeq for Illumina CD (96 índices, 96 muestras)	20019105
Síntesis de ADNc con AmpliSeq for Illumina (96 reacciones)	20022654
Panel de ID de muestra AmpliSeq for Illumina	20019162
ADN de FFPE directo AmpliSeq for Illumina	20023378
Ecuador de bibliotecas AmpliSeq for Illumina	20019171

## Información adicional

Más información sobre el [panel de respuesta inmunitaria AmpliSeq for Illumina](#)

Más información sobre la [solución de secuenciación selectiva AmpliSeq for Illumina](#)

## Referencias

1. Masucci GV, Cesano A, Hawtin R, et al. [Validation of biomarkers to predict response to immunotherapy in cancer: Volume I - pre-analytical and analytical validation](#). *J Immunother Cancer*. 2016;4:76.