

Pannello Comprehensive v3 AmpliSeq™ for Illumina

Partendo da DNA o RNA, è possibile investigare le varianti in modo accurato e veloce su 161 geni associati a diversi tipi di cancro.

Punti principali

- **Contenuto del gene rilevante**

Mira a 161 geni univocamente associati al cancro

- **Flusso di lavoro veloce e ottimizzato**

Le librerie pronte per il sequenziamento possono essere preparate in un solo giorno a partire da 1 ng di DNA o RNA di elevata qualità o da 10 ng di DNA o RNA ottenuto da tessuto in FFPE

- **Dati accurati**

Rilevamento delle mutazioni somatiche fino al 5% della frequenza analizzando i dati in laboratorio o sul cloud

Questo pannello pronto all'uso consente ai ricercatori di risparmiare tempo e sforzi nell'identificazione di target, nella progettazione di ampliconi e nell'ottimizzazione delle prestazioni.



Per accedere a un [elenco completo dei geni presenti nel pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina](#)

Tabella 1: Panoramica del pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina

Parametro	Specifica
N. di geni	161
Target	Regioni hotspot e geni di lunghezza intera
Dimensione cumulativa dei target	DNA: 397 kb, RNA: 86 kb
Tipi di varianti	SNV, Indel, CNV e fusioni geniche ^a
Dimensione amplicone	DNA: 105 bp (in media), RNA: 99 bp (in media)
N. di ampliconi	DNA: 3.781, RNA: 867
Requisito di DNA/RNA input	1-100 ng (sono raccomandati 10 ng per raggruppamento in pool)
N. di raggruppamenti in pool per pannello	Pannello DNA: due raggruppamenti in pool, Pannello RNA: due raggruppamenti in pool
Tipi di campione compatibili	Tessuto in FFPE
Percentuale di target coperti alla copertura minima di 500x alla processività raccomandata	> 95%
Uniformità di copertura (percentuale di target con più di 0,2x di copertura media)	> 95%
Percentuale di letture allineate sul target	> 95%
Durata totale del saggio ^b	5-6 ore
Interventi manuali	Meno di 1,5 ore
Durata da DNA/RNA ai dati	2,5 giorni

a. SNV: variante di singolo nucleotide; Indel: inserzione/delezione; CNV: variazione del numero di copie

b. La durata si riferisce solo alla preparazione delle librerie e non include la quantificazione, la normalizzazione o il raggruppamento in pool delle librerie.

Dati in archivio presso Illumina, Inc. 2017

Introduzione

Il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina consente l'utilizzo del risequenziamento mirato per studiare le mutazioni somatiche su 161 geni con associazioni note al cancro (Tabella 1). Il pannello Comprehensive v3 fa parte di un flusso di lavoro ottimizzato che include la preparazione delle librerie basata sulla polimerizzazione a catena (Polymerase Chain Reaction, PCR) AmpliSeq for Illumina, la chimica di sequenziamento mediante sintesi (Sequencing By Synthesis, SBS) e la tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) Illumina e l'analisi automatizzata.

Il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina richiede appena 1 ng di DNA o RNA di elevata qualità ed è compatibile con diversi tipi di campioni, inclusi i tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE). L'elevato contenuto del gene e il basso requisito di input di DNA/RNA consentono l'utilizzo di un singolo flusso di lavoro ottimizzato per la rapida valutazione delle variazioni genetiche relative al cancro, permettendo ai ricercatori di svelare un patrimonio di informazioni genomiche da diversi tipi di tumori.

Contenuto del gene rilevante

Il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina offre la copertura di 161 geni associati al cancro, inclusi i geni della chinasi e i geni coinvolti nella riparazione del DNA. Il contenuto del pannello comprende regioni hotspot, geni di lunghezza intera, variazioni del numero di copie, fusioni geniche intrageniche e riarrangiamenti intragenici. Gli scienziati esperti possono trarre vantaggio dalla selezione del contenuto, assicurando così la copertura dei target chiave e l'allineamento con prove pubblicate.

Flusso di lavoro semplice e ottimizzato

Il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina fa parte di una soluzione dal DNA/RNA alla variante che offre contenuto ottimizzato, semplice preparazione delle librerie, sistemi di sequenziamento di facile utilizzo e semplice analisi dei dati.

La preparazione delle librerie un protocollo ottimizzato basato sulla PCR che può essere completato in appena 5 ore (DNA) o 6 ore (RNA), con meno di 1,5 ore di interventi manuali.

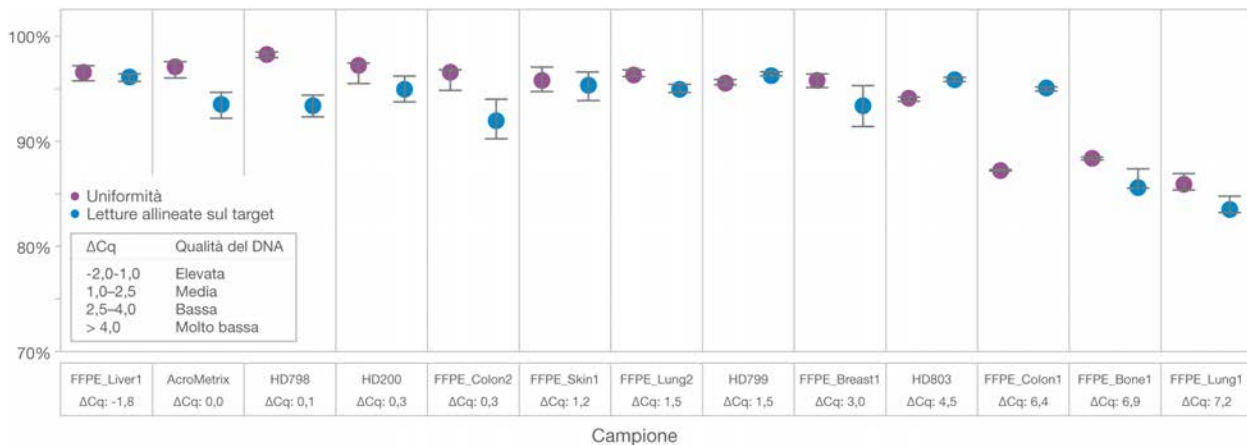


Figura 1: Elevata uniformità di copertura e allineamento sul target: il DNA è stato estratto da campioni HD e in FFPE di diversa qualità utilizzando il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina e sequenziato sullo strumento. Le barre degli errori indicano la variabilità dei replicati tecnici. Il valore ΔCq è un indicatore della qualità del DNA isolato da tessuti in FFPE.

Le librerie ottenute possono essere normalizzate, raggruppate in pool, quindi caricate su una cella a flusso per il sequenziamento. Le librerie preparate vengono sequenziate mediante la comprovata chimica SBS Illumina su un sistema di sequenziamento Illumina compatibile (Tabella 2).

I dati ottenuti possono essere analizzati in laboratorio mediante Local Run Manager o facilmente trasferiti a BaseSpace™ Sequence Hub. Local Run Manager e BaseSpace Sequence Hub possono accedere al flusso di lavoro di analisi DNA Amplicon per l'allineamento e l'identificazione delle varianti. BaseSpace Sequence Hub consente di accedere a BaseSpace Variant Interpreter per convertire i dati delle identificazioni delle varianti in risultati annotati.



Maggiori informazioni sui [sistemi di sequenziamento Illumina](#)



Maggiori informazioni sui [sistemi informatici AmpliSeq for Illumina](#)

Tabella 2: Sistemi di sequenziamento Illumina raccomandati per il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina

Strumento	N. di campioni per corsa	Durata della corsa
Sistema MiniSeq (High-Output)	3	24 ore
Sistema MiSeq (chimica v3)	3	32 ore
Sistema NextSeq (Mid-Output)	16	26 ore
Sistema NextSeq (High-Output)	48	29 ore

Dati accurati

Il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina consente di accedere simultaneamente a più di 160 geni per campione, mantenendo al contempo eccellente specificità e uniformità.

Copertura e sensibilità

Per dimostrare le funzionalità del saggio, sono stati valutati un campione di controllo AcroMetrix, campioni Horizon Discovery (HD) e campioni in FFPE mediante il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina e sequenziati sul sistema NextSeq™. I risultati hanno mostrato elevata uniformità di copertura e percentuale di letture allineate sul target, anche con diversi tipi di tessuto e qualità del campione (Figura 1). I campioni HD di diversa qualità sono stati testati per valutare l'accuratezza delle identificazioni delle varianti. I dati hanno mostrato elevata concordanza tra la frequenza della variante (Variant Frequency, VF) prevista e rilevata (Figura 2).

Rilevamento della fusione genica

Per dimostrare la capacità del saggio di rilevare le varianti strutturali nei trascritti di RNA, i campioni HD e il riferimento Seraseq Fusion RNA Mix v2 sono stati valutati mediante il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina e i sistemi MiniSeq™ e MiSeq™. I risultati hanno mostrato una percentuale di identificazione del 100% per le fusioni geniche in questi campioni (Tabella 3).

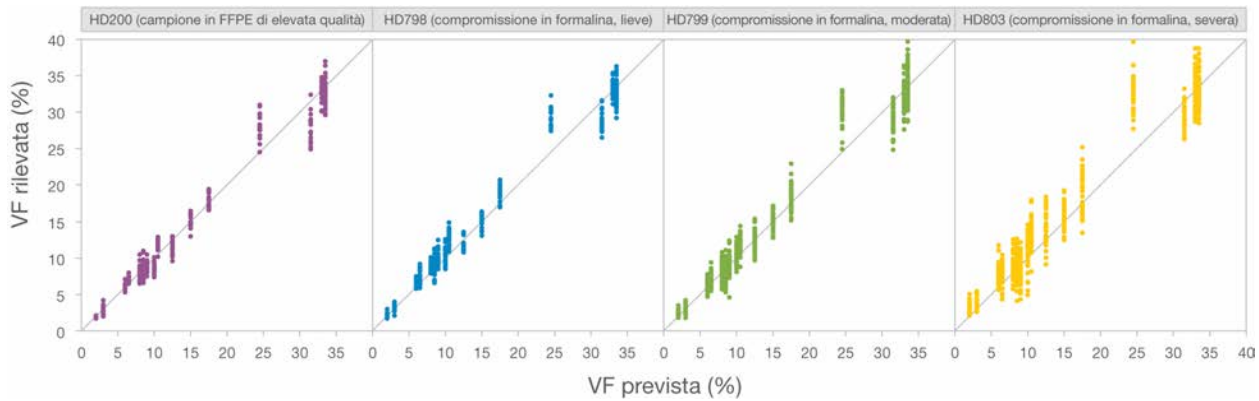


Figura 2: Elevata concordanza tra la frequenza della variante prevista e rilevata: il DNA ottenuto da campioni HD fissati in formalina è stato valutato utilizzando il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina e sequenziato sui sistemi MiniSeq e MiSeq. I risultati mostrano che è stato rilevato il 100% delle SNV previste. I valori ΔCq sono elencati nella Figura 1.

Tabella 3: Elevata percentuale di identificazione per le fusioni geniche

Fusione	N. di campioni NON rilevati	N. di campioni rilevati	Percentuale di identificazione
Fonte di RNA: HD784			
<i>CCDC6-RET</i>	0	16	100%
<i>EML4-ALK</i>	0	16	100%
<i>SLC34A2-ROS1</i>	0	16	100%
<i>SLC34A2-ROS1</i>	0	16	100%
Fonte di RNA: Seraseq Fusion RNA Mix v2			
<i>CD74-ROS1</i>	0	16	100%
<i>EGFR-SEPT14</i>	0	16	100%
<i>EML4-ALK</i>	0	16	100%
<i>ETV6-NTRK3</i>	0	16	100%
<i>FGFR3-BAIAP2L1</i>	0	16	100%
<i>FGFR3-TACC3</i>	0	16	100%
<i>KIF5B-RET</i>	0	16	100%
<i>LMNA-NTRK1</i>	0	16	100%
<i>MET-MET</i>	0	16	100%
<i>NCOA4-RET</i>	0	16	100%
<i>PAX8-PPARG</i>	0	16	100%
<i>SLC34A2-ROS1</i>	0	16	100%
<i>SLC45A3-BRAF</i>	0	16	100%
<i>TPRSS2-ERG</i>	0	16	100%
<i>TPM3-NTRK1</i>	0	16	100%

Sono stati utilizzati due campioni di RNA con fusioni positive, HD784 e Seraseq Fusion RNA Mix v2, per generare librerie di RNA mediante il pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina e sequenziati sui sistemi MiniSeq e MiSeq.

Informazioni per gli ordini

I prodotti AmpliSeq for Illumina possono essere ordinati online alla pagina Web www.illumina.com

Prodotto	N. di catalogo
Pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)	20019109
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)	20019101
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (96 reazioni)	20019102
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (384 reazioni)	20019103
CD Indexes AmpliSeq for Illumina - set A (96 indici, 96 campioni)	20019105
cDNA Synthesis AmpliSeq for Illumina (96 reazioni)	20022654
Direct FFPE DNA AmpliSeq for Illumina	20023378
Library Equalizer AmpliSeq for Illumina	20019171

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sul [pannello Comprehensive v3 AmpliSeq for Illumina](#)

Per maggiori informazioni sulla [soluzione di sequenziamento mirata AmpliSeq for Illumina](#)