

illumina Protein Prep

Soluzione basata su NGS per l'acquisizione di informazioni proteomiche più approfondite

Misurazione di oltre 9.500 proteine umane univoche in un solo campione di plasma o siero utilizzando il saggio di proteomica SomaScan® con lettura NGS

Passaggio dal campione ai risultati in meno di 2,5 giorni con interventi manuali limitati a sole 4 ore con un flusso di lavoro ottimizzato e automatizzato

Studio dei dati proteomici con l'analisi secondaria integrata mediante DRAGEN™ Protein Quantification e illumina Connected Multiomics



Introduzione

Le proteine svolgono un ruolo funzionale fondamentale nella biologia umana e riflettono in tempo reale lo stato di salute o le eventuali malattie. Le informazioni ottenute dalla proteomica fungono da collegamento cruciale tra genotipo e fenotipo, consentono di comprendere più a fondo i meccanismi patologici e, in definitiva, aiutano a prevedere, monitorare e prevenire il progredire delle malattie. I saggi proteomici a elevata processività con letture basate sul sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) consentono l'esecuzione di studi proteomici su larga scala e il collegamento di set di dati genomici e proteomici, accelerando così la ricerca multiomica.

Illumina Protein Prep è una soluzione proteomica completa a elevata processività che integra l'affidabile chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS, Sequencing by Synthesis) di Illumina con l'elevata sensibilità del saggio di proteomica Standard BioTools SomaScan. Questo innovativo saggio di proteomica utilizza i reagenti SOMAmer® (Slow Off-Rate Modified Aptamer), basati su aptameri modificati a bassa dissociazione con il ligando, per la cattura delle proteine target con una maggiore specificità

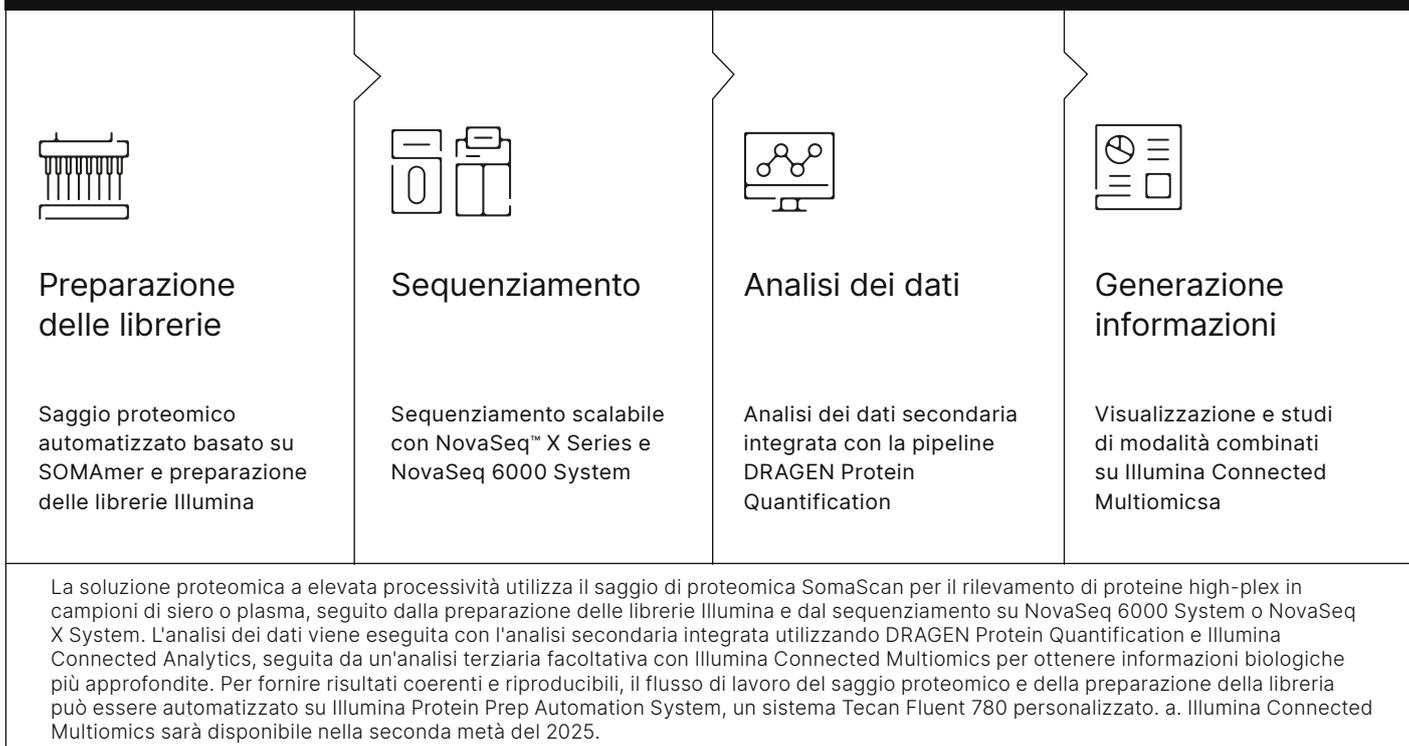
rispetto agli approcci basati sugli anticorpi.¹ Grazie alla combinazione di questo saggio di proteomica avanzato con la lettura basata su NGS e la potenza bioinformatica del software di analisi dei dati Illumina, i ricercatori possono disporre di una soluzione ottimizzata dal campione ai risultati per la valutazione di oltre 9.500 proteine umane univoche in un solo campione di plasma o siero (Figura 1).

Contenuto completo

Il saggio Illumina Protein Prep consente l'individuazione e la quantificazione di 9.464 proteine umane univoche in campioni di plasma o siero utilizzando 10.326 reagenti SOMAmer. Questo contenuto completo* è mirato alle proteine umane in diversi processi fisiopatologici, tra cui cancro, infiammazione, immunologia e funzione cardiometabolica. Il contenuto copre i principali target molecolari, inclusi recettori, chinasi, fattori di crescita e ormoni, e include proteine secrete, intracellulari ed extracellulari per oltre 200 percorsi biologici.

* L'elenco completo delle proteine è disponibile su richiesta.

Figura 1: panoramica della soluzione Illumina Protein Prep



Tutti i reagenti SOMAmer utilizzati in Illumina Protein Prep sono stati sottoposti a una caratterizzazione rigorosa; inoltre, la specificità del reagente SOMAmer per la relativa proteina affine è stata confermata da metodi ortogonali, tra cui spettroscopia di massa e saggio di immunoassorbimento enzimatico (ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).¹ Più di 7.400 reagenti SOMAmer dispongono di almeno un'ulteriore forma di convalida ortogonale. Grazie al contenuto incluso nella soluzione Illumina Protein Prep, i ricercatori possono ottenere informazioni approfondite sul panorama proteomico, favorendo la scoperta di nuovi biomarcatori, target farmacologici e dati sui meccanismi patologici.

Rilevamento sensibile e preciso delle proteine

Illumina Protein Prep utilizza innovativi aptameri modificati a bassa dissociazione con il ligando, o reagenti SOMAmer, come molecole di affinità proteica, il che consente di ottenere sensibilità e specificità eccezionali per il rilevamento delle proteine in un ampio intervallo dinamico.² Questi aptameri, che sono segmenti brevi di DNA a singolo filamento con modifiche idrofobiche, offrono un elevato grado di corrispondenza della forma al target proteico, così da permettere di distinguere proteine quasi identiche. A differenza degli anticorpi policlonali, che possono variare per struttura e prestazioni, i reagenti SOMAmer si basano sulla cinetica di legame, caratterizzata da sensibilità femtomolare² ed eccellente riproducibilità, con un coefficiente di variazione (CV, coefficient of variance) mediano ridotto, pari a circa 5,5%[†] (Tabella 1).

[†] CV mediano previsto calcolato utilizzando campioni di donatori sani.

| Tabella 1: riepilogo delle metriche delle prestazioni previste ^a | | | | |
|---|------------------------|------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Campione | CV mediano intra-corsa | CV mediano inter-corsa | CV mediano della corsa totale | CV 90° %ile della corsa totale |
| Plasma | 4,7% | 5,3% | 5,8% | 8,7% |
| Siero | 4,7% | 5,0% | 5,0% | 7,4% |

a. CV mediano previsto calcolato utilizzando campioni di donatori sani.

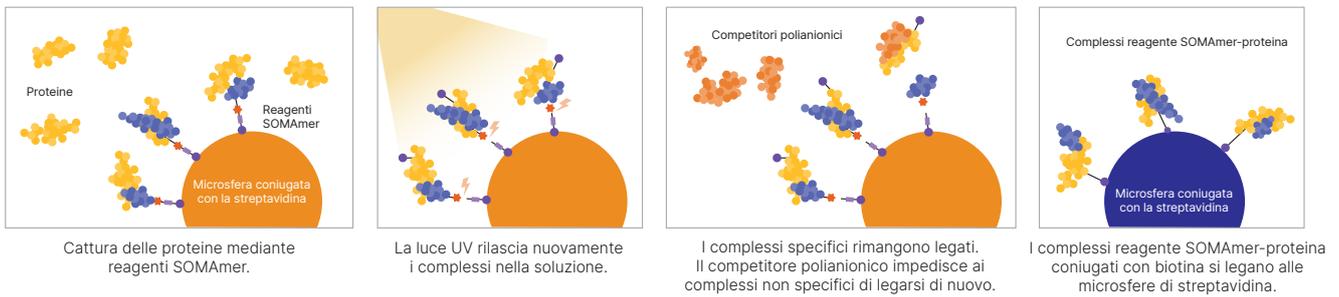
Saggio NGS basato su ibridazione

La prima fase del flusso di lavoro di Illumina Protein Prep è il saggio SomaScan, che trasforma quantitativamente la disponibilità degli epitopi proteici di un campione biologico in un segnale specifico del DNA basato su reagente SOMAmer.³ La fase iniziale di legame fra reagente SOMAmer e proteina è seguita da una serie di fasi di cattura e lavaggio delle microsferi per convertire le concentrazioni relative delle proteine in abbondanze di reagente SOMAmer (Figura 2). Successivamente, i reagenti SOMAmer vengono convertiti in librerie di sequenziamento con codice a barre utilizzando un approccio basato su ibridazione (Figura 3). Le coppie di sonde vengono ibridate con i reagenti SOMAmer in una fase di incubazione notturna prima di essere catturate sulle microsferi magnetiche. Ogni reagente SOMAmer dispone di una coppia esclusiva di sonde, una delle quali riporta un codice a barre corrispondente a un particolare reagente SOMAmer. Le sonde non legate vengono rimosse per garantire che l'abbondanza relativa dei reagenti SOMAmer sia convertita nell'abbondanza della sonda con codice a barre. Vengono aggiunti primer PCR indicizzati per unire gli indici dei campioni destinati al sequenziamento, quindi gli stessi vengono amplificati per creare librerie singolarmente indicizzate e dotate di codice a barre. L'intero saggio Illumina Protein Prep è automatizzato su un'unica piattaforma: Illumina Protein Prep Automation System. I campioni vengono raggruppati in pool e sequenziati su NovaSeq™ 6000 System o su NovaSeq X System.

Flusso di lavoro scalabile e ottimizzato

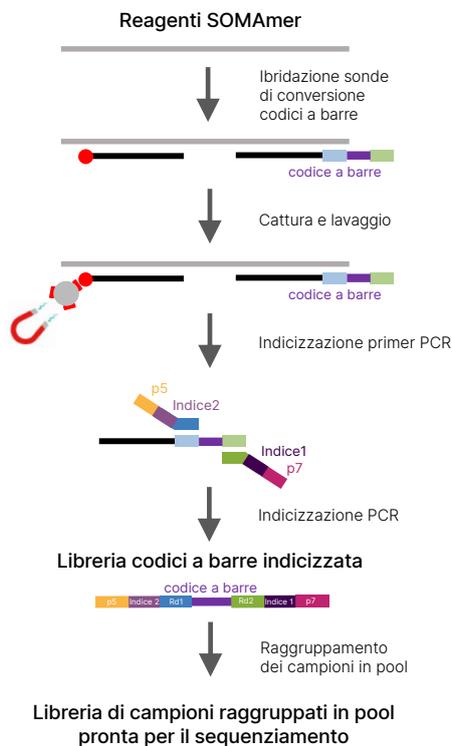
La soluzione Illumina Protein Prep utilizza un flusso di lavoro end-to-end ottimizzato (Figura 1) che parte da campioni di plasma o siero umano e prosegue con la cattura delle proteine altamente sensibili tramite gli innovativi reagenti SOMAmer e la preparazione delle librerie Illumina. L'intero flusso di lavoro è automatizzato su Illumina Protein Prep Automation System, consentendo ai laboratori di passare dai campioni ai risultati in meno di 2,5 giorni e con circa 4 ore di interventi manuali (Tabella 2). Le librerie vengono sequenziate su NovaSeq 6000 System (cella a flusso S4) o NovaSeq X System (cella a flusso 10B), con 170 campioni e 22 controlli per corsa. La cella a flusso 25B di NovaSeq X Series può ospitare 340 campioni e 44 controlli per corsa.

Figura 2: cattura delle proteine utilizzando il saggio SOMAScan



I reagenti SOMAmer (blu) contengono un linker fotoclivabile e biotina. I reagenti SOMAmer legati alle microsfere di streptavidina vengono utilizzati per catturare proteine specifiche (gialle) in una miscela complessa di proteine contenuta nel siero o nel plasma. Le proteine non legate vengono rimosse e le proteine legate vengono marcate con biotina. Successivamente, viene impiegata la luce UV per rompere il linker fotoclivabile e rilasciare nuovamente i complessi SOMAmer-proteina nella soluzione. Durante la fase di incubazione, i complessi aspecifici si dissociano mentre i complessi specifici rimangono legati. L'inclusione di competitori polianionici durante la fase di incubazione impedisce il nuovo legame aspecifico delle proteine dissociate. Specifici complessi proteina-reagente SOMAmer vengono catturati su nuove microsfere di streptavidina ed eluiti per la quantificazione relativa con NGS.

Figura 3: chimica di conversione NGS di Illumina Protein Prep



Dopo il saggio SomaScan, le abbondanze di reagente SOMAmer vengono convertite in librerie pronte per il sequenziamento con codice a barre utilizzando un approccio basato su ibridazione.

Al termine del sequenziamento, la pipeline DRAGEN Protein Quantification viene avviata automaticamente, generando conteggi normalizzati dell'espressione proteica e report di controllo qualità. Questi file di output vengono analizzati facilmente con piattaforme di analisi terziaria, tra cui Illumina Connected Multiomics, fornendo così informazioni biologiche più approfondite sul proteoma.

Analisi integrata dei dati

I laboratori possono analizzare facilmente i dati utilizzando una pipeline di analisi secondaria proteomica completamente integrata che include metodi di normalizzazione specifici per i saggi NGS e proteomici. Dopo il sequenziamento, la pipeline DRAGEN Protein Quantification viene avviata automaticamente tramite Illumina Connected Analytics, una piattaforma sicura, ottimizzata e basata su cloud, al fine di adeguare l'analisi secondaria ai volumi e di ridurre i punti di contatto manuali. L'integrazione con la piattaforma Illumina Connected Multiomics semplifica la visualizzazione dei dati e consente studi con modalità combinata.

Per maggiori informazioni, leggere la [nota tecnica sulla normalizzazione dei dati di Illumina Protein Prep](#).

Riepilogo

La soluzione Illumina Protein Prep è un flusso di lavoro completo di proteomica end-to-end con lettura NGS per studi proteici su larga scala. Questo saggio ad alte prestazioni sfrutta gli innovativi reagenti SOMAmer per rilevare 9.500 proteine umane univoche in un solo campione di plasma o siero con sensibilità femtomolare ed eccellente riproducibilità. Il contenuto completo di Illumina Protein Prep include reagenti per l'affinità delle proteine rigorosamente convalidati che coprono i principali processi biologici, tra cui cancro, infiammazione, immunità, funzione cardiometabolica e altro ancora. Combinando questo saggio di proteomica high-plex con la lettura NGS, la soluzione Illumina Protein Prep consente l'integrazione dei dati proteomici con i dati genomici e trascrittomici, aprendo la strada alla ricerca multiomica ad alto impatto.

Maggiori informazioni →

[Illumina Protein Prep](#)

[Proteomica basata su NGS](#)

[NovaSeq 6000 System](#)

[NovaSeq X Series](#)

[Analisi secondaria DRAGEN](#)

[Illumina Connected Analytics](#)

Bibliografia

1. SomaLogic. SomaScan platform. somalogic.com/somascanplatform. Aggiornato a dicembre 2023. Consultato il 2 gennaio 2024.
2. SomaLogic. SomaScan 7K Assay v4.1 technical note. somalogic.com/wp-content/uploads/2023/01/Rev4_2022-01_SomaScan_Assay_v4.11.pdf. Aggiornato a gennaio 2022. Consultato il 2 gennaio 2024.
3. Gold L, Ayers D, Bertino J, et al. [Aptamer-based multiplexed proteomic technology for biomarker discovery](#). *PLoS One*. 2010;5(12):e15004. doi:10.1371/journal.pone.0015004.

Tabella 2: specifiche di Illumina Protein Prep

| Parametro | Specifica |
|------------------------------------|--|
| Tipo di campione | Plasma o siero |
| Volume di input | 55 µl |
| N. totale di reagenti SOMAmer | 10.326 |
| N. di proteine umane target | 9.464 proteine umane univoche |
| Intervallo dinamico | Più di 10 log (da fM a mM) |
| Processività | Fino a 384 reazioni alla settimana: <ul style="list-style-type: none"> • 170 campioni + 22 controlli per corsa sulla cella a flusso S4 di NovaSeq 6000 o sulla cella a flusso 10B di NovaSeq X • 340 campioni + 44 controlli per corsa sulla cella a flusso 25B di NovaSeq X |
| Durata totale del flusso di lavoro | 2,5 giorni |
| Interventi manuali | Circa 4 ore |

| Informazioni per gli ordini | |
|--|----------------|
| Prodotto | N. di catalogo |
| Illumina Protein Prep 9.5K Plasma (96 samples) | 20137827 |
| Illumina Protein Prep 9.5K Serum (96 samples) | 20137828 |
| Illumina Protein Prep Automation System | 20116818 |



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

© 2025 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.
M-GL-02533 ITA v3.0