

AmpliSeq™ for Illumina Focus Panel

Zielgerichtetes DNA- oder RNA-Panel zur Untersuchung von 52 Genen mit bekannter Relevanz für solide Tumore.

Vorteile

- **Relevanter Geninhalt**

Deckt Biomarker in 52 Genen ab, die für solide Tumore relevant sind

- **Schneller, optimierter Workflow**

Vorbereitung sequenzierfähiger Bibliotheken aus nur 1 ng hochwertiger DNA oder RNA und 10 ng DNA und RNA aus FFPE-Gewebe innerhalb eines Tages

- **Genauere Daten**

Erkennung von somatischen Mutationen bis zu einer Häufigkeit von 5 % mittels lokaler oder cloudbasierter Analyse

Einleitung

Das AmpliSeq for Illumina Focus Panel ist ein zielgerichteter Resequenzierungs-Assay für die Biomarker-Analyse von 52 Genen mit bekannter Relevanz für solide Tumore (Tabelle 1). Mithilfe des Focus Panels können Forscher gleichzeitig DNA und RNA analysieren. Das Focus Panel ist Teil eines optimierten Workflows, der die AmpliSeq for Illumina-PCR-basierte Bibliotheksvorbereitung, die SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) und die NGS-Technologie (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) von Illumina sowie die automatisierte Analyse beinhaltet.

Ausgehend von nur 1 ng hochwertiger DNA und RNA (bei FFPE-Gewebe werden 10 ng DNA und RNA empfohlen) ermöglicht das Panel die Untersuchung von Genen, die mit verschiedenen Krebsarten assoziiert werden, darunter Lungen-, Dickdarm-, Brust-, Eierstock- und Prostatakrebs sowie Melanome. Die geringe Zugabeanforderung ermöglicht die Verwendung mit verschiedenen Probenotypen, einschließlich FFPE-Gewebe (formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe). Als Teil der AmpliSeq for Illumina-Lösung für die zielgerichtete Resequenzierung ermöglicht das Focus Panel die schnelle und genaue Untersuchung genomischer Varianten für die translationale und klinische onkologische Forschung.

Relevanter Geninhalt

Das AmpliSeq for Illumina Focus Panel deckt Hunderte von Mutationen von 52 Schlüsselgenen ab, die mit soliden Tumoren assoziiert sind (Tabelle 2). Der Geninhalt für dieses Panel wurde auf der Grundlage der veröffentlichten Literatur, aktueller Richtlinien (National Comprehensive Cancer Network [NCCN], Association for Molecular Pathology [AMP], College of American Pathologists [CAP], European Society for Medical Oncology [ESMO] usw.) und relevanter klinischer Studien ausgewählt. Forscher können das Panel nutzen, um Einzelnukleotidvarianten (SNVs), Insertionen/Deletionen (Indels), Kopienzahlvarianten (CNVs) in DNA-Proben oder Genfusionen in RNA-Proben zu untersuchen. Das gebrauchsfertige Panel spart Forschern Zeit und Mühe, die für das Identifizieren von Zielregionen, das Entwickeln von Amplikons und das Optimieren der Leistung aufzuwenden wären.

Tabelle 1: Überblick über das AmpliSeq for Illumina Focus Panel

Parameter	Spezifikation
Anzahl der Gene	52
Zielregionen	Für solide Tumore relevante Gene
Kumulative Größe der Zielregion	DNA: 29 kb, RNA: 26 kb
Variantentypen	SNVs, Indels, CNVs und Genfusionen ^a
Amplikon-Größe	DNA: durchschnittlich 107 bp, RNA: durchschnittlich 93 bp
Anzahl der Amplikons	DNA: 269, RNA: 284
DNA-/RNA-Zugabebedarf	1–100 ng (10 ng pro Pool empfohlen)
Anzahl der Pools pro Panel	DNA-Panel: ein Pool, RNA-Panel: ein Pool
Geeignete Probenotypen	FFPE-Gewebe
Prozentsatz der Zielregionen mit mindestens 500-facher Coverage bei empfohlenem Durchsatz	> 95 %
Coverage-Einheitlichkeit (Prozentsatz der Zielregionen mit > 0,2-facher mittlerer Coverage)	> 95 %
Alignierte On-Target-Reads in Prozent	> 80 %
Assay-Zeit insgesamt ^b	5 bis 6 Stunden
Manueller Aufwand	< 1,5 Stunden
DNA-/RNA-zu-Daten-Dauer	2,5 Tage

a. SNVs: Single Nucleotide Variations (Einzelnukleotidvarianten), Indels: Insertionen/Deletionen, CNVs: Kopienzahlvarianten

b. Die angegebene Zeit bezieht sich nur auf die Bibliotheksvorbereitung und beinhaltet nicht die Quantifizierung, Normalisierung oder das Pooling von Bibliotheken.

Archivierte Daten, Illumina, Inc. 2017

Tabelle 2: Genliste für das AmpliSeq for Illumina Focus Panel

DNA-Pool				
AKT1	EGFR	FGFR4	JAK3	MYCN
ALK	ERBB2	GNA11	KIT	NRAS
AR	ERBB3	GNAQ	KRAS	PDGFRA
BRAF	ERBB4	HRAS	MAP2K1	PIK3CA
CCND1	ESR1	IDH1	MAP2K2	RAF1
CDK4	FGFR1	IDH2	MET	RET
CDK6	FGFR2	JAK1	MTOR	ROS1
CTNNB1	FGFR3	JAK2	MYC	SMO
DDR2				
RNA-Pool				
ABL1	EGFR	ETV5	NTRK1	PPARG
ALK	ERBB2	FGFR1	NTRK2	RAF1
AKT3	ERG	FGFR2	NTRK3	RET
AXL	ETV1	FGFR3	PDGFRA	ROS1
BRAF	ETV4	MET		

Einfacher, optimierter Workflow

Das AmpliSeq for Illumina Focus Panel ist Teil einer DNA-/RNA-zu-Variante-Lösung, die einen optimierten Inhalt, eine leicht durchführbare Bibliotheksvorbereitung, per Tastendruck bedienbare Sequenziersysteme und eine vereinfachte Datenanalyse bietet.

Die Bibliotheksvorbereitung durchlaufen, das sich in nur fünf Stunden (DNA) oder sechs Stunden (RNA) abschließen lässt (bei einem manuellen Aufwand von weniger als eineinhalb Stunden (DNA) bzw. weniger als zwei Stunden (RNA)). Die daraus resultierenden Bibliotheken können normalisiert, gepoolt und dann für die Sequenzierung auf eine Fließzelle geladen werden. Die vorbereiteten Bibliotheken werden mit bewährter SBS-Chemie auf einem beliebigen Sequenziersystem von Illumina (Tabelle 3) sequenziert.

Die generierten Daten können lokal mit Local Run Manager analysiert oder problemlos in BaseSpace™ Sequence Hub übertragen werden. Local Run Manager und BaseSpace Sequence Hub verfügen zum Zweck von Alignment und Varianten-Calling über Zugriff auf den DNA Amplicon-Analyseworkflow. BaseSpace Sequence Hub bietet Zugriff auf BaseSpace Variant Interpreter, der Unterstützung bei der Umwandlung der Varianten-Call-Daten in annotierte Ergebnisse bietet.



Weitere Informationen über [Sequenziersysteme von Illumina](#)



Weitere Informationen über [AmpliSeq for Illumina-Informatik](#)

Tabelle 3: Empfohlene Illumina-Sequenziersysteme für das AmpliSeq for Illumina Focus Panel

Gerät	Anzahl der Proben pro Lauf	Laufzeit
iSeq™ 100-System	8	17 Stunden
MiniSeq™-System (mittlere Leistung)	16	17 Stunden
MiniSeq-System (hohe Leistung)	48	24 Stunden
MiSeq-System (v2-Micro-Chemie)	8	19 Stunden
MiSeq-System (v2-Chemie)	30	24 Stunden
MiSeq-System (v3-Chemie)	48	32 Stunden

Genauere Daten

Mithilfe des AmpliSeq for Illumina Focus Panels können Forscher unter Verwendung von DNA und RNA über 52 Schlüsselgene für solide Tumore hinweg Biomarker analysieren.

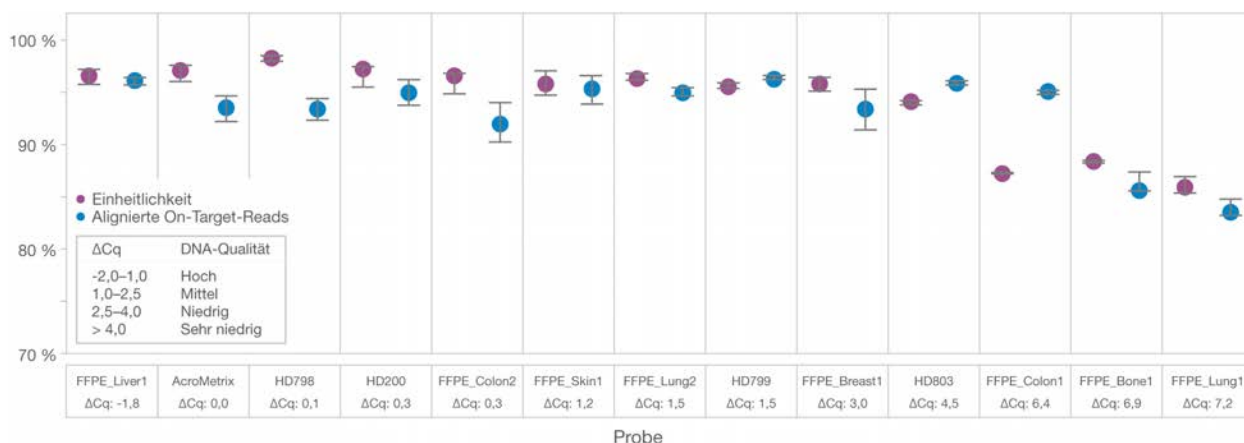


Abbildung 1: Hohe Coverage-Einheitlichkeit und hohes On-Target-Alignment: Die DNA, die aus FFPE- und HD-Proben unterschiedlicher Qualität extrahiert wurde, wurde mit dem AmpliSeq for Illumina Focus Panel vorbereitet und anschließend auf dem Gerät sequenziert. Die Fehlerbalken geben die Variabilität der technischen Replikate an. ΔCq ist ein Indikator für die Qualität der aus FFPE-Gewebe isolierten DNA.

Coverage und Sensitivität

Zur Demonstration der Fähigkeiten und der Sensitivität des Assays wurden unter Verwendung des AmpliSeq for Illumina Focus Panels auf dem MiniSeq™- und dem MiSeq™-System eine AcroMatrix-Kontrollprobe, HD-Proben (Horizon Discovery) und FFPE-Gewebe untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine hohe Coverage-Einheitlichkeit und einen hohen On-Target-Prozentwert alignierter Reads, auch bei variierender Probenqualität und verschiedenen Gewebetypen (Abbildung 1). Zusätzlich wurden HD-Proben unterschiedlicher Qualität auf die Genauigkeit des Varianten-Callings hin untersucht. Die Daten wiesen eine hohe Übereinstimmung zwischen der erwarteten und nachgewiesenen Variantenhäufigkeit auf (Abbildung 2).

Erkennung von Genfusionen

Zur Demonstration der Fähigkeit des AmpliSeq for Illumina Focus Panels, strukturelle Varianten innerhalb von RNA-Transkripten zu erkennen, wurden auf dem MiniSeq- und dem MiSeq-System unter Verwendung des Panels HD-Proben und als Referenz Seraseq Fusion RNA Mix v2 untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine 100%ige Call-Rate für Genfusionen in diesen Proben (Tabelle 4).

Tabelle 4: Hohe Call-Rate für Genfusionen

Fusion	Anzahl NICHT erkannter Proben	Anzahl erkannter Proben	Call-Rate
RNA-Quelle: 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 %
RNA-Quelle: Seraseq Fusion RNA Mix v2			
<i>CD74-ROS1</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>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 %

Zwei fusionspositive RNA-Proben, HD784 und Seraseq Fusion RNA Mix v2, wurden verwendet, um mit dem AmpliSeq for Illumina Focus Panel RNA-Bibliotheken vorzubereiten, und wurden auf dem MiniSeq- und dem MiSeq-System sequenziert.

Bestellinformationen

Bestellen Sie die AmpliSeq for Illumina-Produkte online unter www.illumina.com

Produkt	Katalog-Nr.
AmpliSeq for Illumina Focus Panel (24 Reaktionen)	20019164
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (24 Reaktionen)	20019101
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (96 Reaktionen)	20019102
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (384 Reaktionen)	20019103
AmpliSeq for Illumina CD Indexes Set A (96 Indizes, 96 Proben)	20019105
AmpliSeq for Illumina cDNA Synthesis (96 Reaktionen)	20022654
AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel	20019162
AmpliSeq for Illumina Direct FFPE DNA	20023378
AmpliSeq for Illumina Library Equalizer	20019171

Weitere Informationen

Weitere Informationen zum [AmpliSeq for Illumina Focus Panel](#)

Weitere Informationen über die [AmpliSeq for Illumina-Lösung für die zielgerichtete Sequenzierung](#)

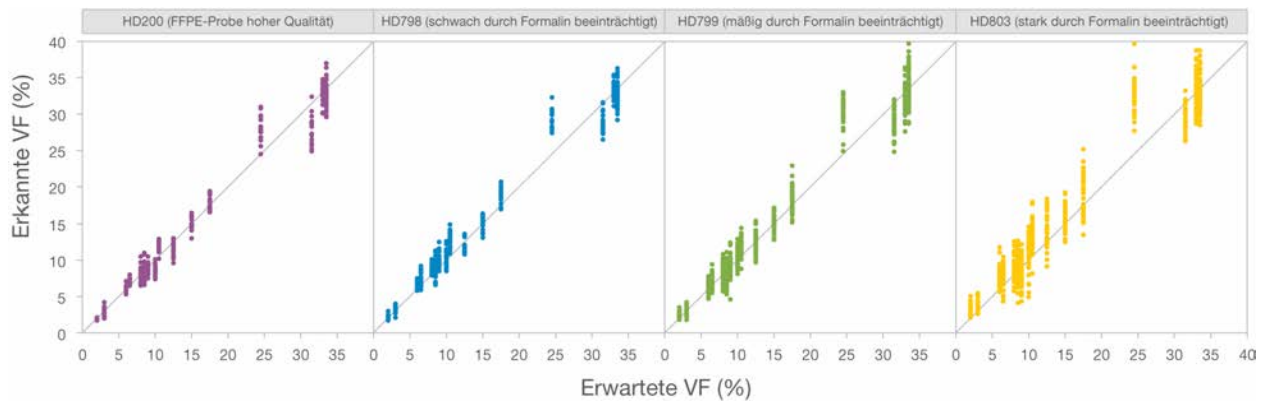


Abbildung 2: Hohe Übereinstimmung zwischen erwarteten und beobachteten Häufigkeiten von Varianten: Die DNA aus den HD-Proben wurde mit dem AmpliSeq for Illumina Focus Panel vorbereitet und anschließend auf dem. Die Ergebnisse zeigen, dass 100 % der erwarteten SNVs erkannt wurden. Die ΔCq -Werte sind in Abbildung 1 aufgeführt.