

Panel completo v3 AmpliSeq™ for Illumina

Investigue de forma rápida y precisa las variantes en 161 genes asociados a varios tipos de cáncer a partir de ADN o ARN.

Puntos destacados

- **Contenido genético significativo**

Objetivo: 161 genes únicos asociados al cáncer

- **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 ADN o ARN de alta calidad o 10 ng de ADN o ARN extraído de tejido FFPE

- **Datos precisos**

Detección de mutaciones somáticas hasta una frecuencia mínima del 5 % mediante el empleo de análisis en el entorno local o basado en la nube



Consulte la [lista exhaustiva de los genes del panel completo v3 AmpliSeq for Illumina](#).

Tabla 1: Resumen del panel completo v3 AmpliSeq for Illumina

Parámetro	Especificación
N.º de genes	161
Objetivos	Puntos de mayor riesgo y genes de longitud completa
Tamaño de objetivo acumulativo	ADN: 397 kb, ARN: 86 kb
Tipos de variante	SNV, inserciones/delecciones, CNV y fusiones de genes ^a
Tamaño del amplicón	ADN: 105 pb de media, ARN: 99 pb de media
N.º de amplicones	ADN: 3781, ARN: 867
Cantidad necesaria de ADN/ARN de entrada	1-100 ng (valor recomendado de 10 ng por grupo)
N.º de grupos por panel	Panel de ADN: 2 grupos, panel de ARN: 2 grupos
Tipos de muestras compatibles	Tejido FFPE
Porcentaje de objetivos cubiertos a un mínimo de 500x al valor de rendimiento recomendado	>95 %
Uniformidad de cobertura (porcentaje de objetivos con una cobertura media superior a 0,2x)	>95 %
Porcentaje de lecturas alineadas en objetivo	>95 %
Duración total del ensayo ^b	5-6 horas
Tiempo de participación activa	<1,5 horas
Tiempo de ADN/ARN a datos	2,5 días

a. SNV: variantes de nucleótido único; indels: inserciones y delecciones, CNV: variantes en el número de copias.

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

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

Introducción

El panel completo v3 AmpliSeq for Illumina permite el uso de la resecuenciación selectiva para estudiar las mutaciones somáticas de 161 genes con asociaciones conocidas con el cáncer (Tabla 1). El panel completo v3 forma parte de un flujo de trabajo mejorado que incluye la preparación de bibliotecas basada en PCR AmpliSeq for Illumina, la tecnología de secuenciación de próxima generación (NGS) de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina y los análisis automatizados.

Para el panel completo v3 AmpliSeq for Illumina solo hace falta 1 ng de ADN o ARN de alta calidad. Además, el panel es compatible con varios tipos de muestras, incluidos tejidos fijados en formol y embebidos en parafina (FFPE). El elevado contenido genético y la escasa cantidad necesaria de ADN/ARN de entrada permiten un único flujo de trabajo optimizado para la evaluación rápida de las variaciones genéticas relacionadas con el cáncer, lo que permite a los investigadores aprovechar un vasto conjunto de datos genómicos de numerosos tipos de tumores.

Contenido genético significativo

El panel completo v3 AmpliSeq for Illumina ofrece cobertura para 161 genes asociados al cáncer, incluidos quinasas y genes implicados en la reparación de ADN. El contenido del panel incluye puntos de mayor riesgo, genes de longitud completa, variaciones del número de copias, fusiones de genes intergénicas y reordenaciones intragénicas. Se contó con la ayuda de científicos con experiencia para la selección del contenido con el fin de garantizar la cobertura de los objetivos clave y la alineación con las pruebas publicadas. 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.

Flujo de trabajo sencillo y optimizado

El panel completo v3 AmpliSeq for Illumina forma parte de una solución de ADN/ARN a variante 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 sigue un sencillo protocolo basado en PCR que puede completarse en tan solo cinco horas (para ADN) o seis horas (para ARN), 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 reconocidos de secuenciación por síntesis (SBS) en cualquier sistema de secuenciación Illumina (Tabla 2).

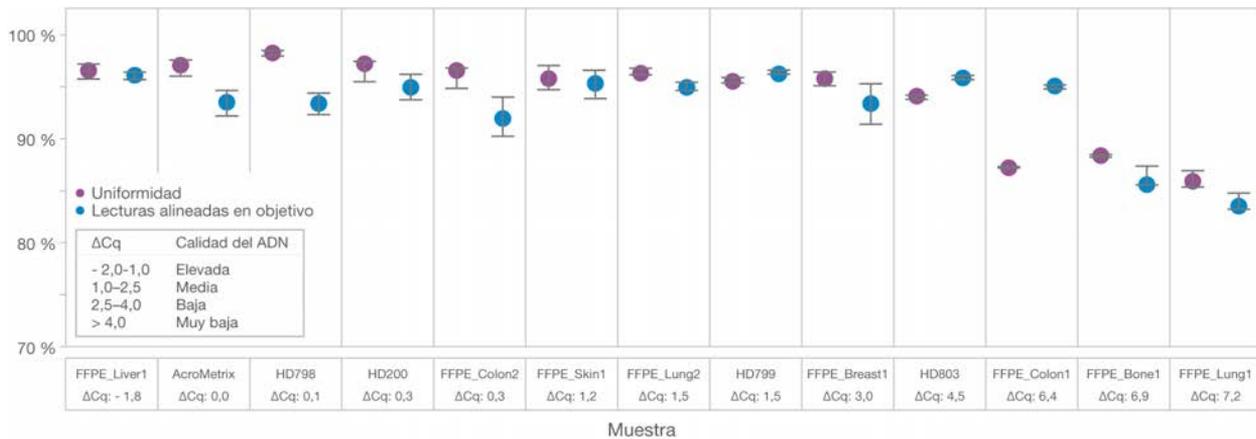


Figura 1: Uniformidad de cobertura y alineación en objetivo altas: Se preparó ADN extraído de muestras FFPE y de HD de calidad variable mediante el panel completo v3 AmpliSeq for Illumina y se secuenció en el instrumento. Las barras de error indican la variabilidad de los duplicados técnicos. El valor ΔCq es un indicador de la calidad del ADN aislado a partir de tejidos FFPE.

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 ADN para realizar la alineación y llamada de variantes. BaseSpace Sequence Hub brinda acceso a BaseSpace Variant Interpreter, que asiste en la conversión de los datos de las llamadas de variantes en resultados anotados.

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

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

Tabla 2: Sistemas de secuenciación de Illumina que se recomienda utilizar con el panel completo v3 AmpliSeq for Illumina

Instrumento	N.º de muestras por experimento	Duración del experimento
MiniSeq System (rendimiento elevado)	3	24 horas
MiSeq System (procesos químicos v3)	3	32 horas
NextSeq System (rendimiento medio)	16	26 horas
NextSeq System (rendimiento elevado)	48	29 horas

Datos precisos

El panel completo v3 AmpliSeq for Illumina permite evaluar más de 160 genes por muestra de forma simultánea a la vez que se mantiene una excelente especificidad y uniformidad.

Cobertura y sensibilidad

Para demostrar las capacidades del ensayo, se evaluaron muestras FFPE, de Horizon Discovery (HD) y de control de AcroMetrix con el panel completo v3 AmpliSeq for Illumina y se secuenciaron en NextSeq™ System. Los resultados revelaron una uniformidad de cobertura y un porcentaje en objetivo de lecturas alineadas elevados, incluso con una calidad de las muestras y tipos de tejido variables (Figura 1). Se probaron muestras de HD de calidad variable para valorar la precisión de las llamadas de variantes. Los datos pusieron de manifiesto un alto grado de concordancia entre la frecuencia de variantes (FV) esperada y la detectada (Figura 2).

Detección de fusión de genes

Para demostrar la capacidad del ensayo de detectar variantes estructurales en las transcripciones de ARN, se evaluaron las muestras de HD y la referencia de Seraseq Fusion RNA Mix v2 mediante el panel completo v3 AmpliSeq for Illumina, así como MiniSeq™ System y MiSeq™ System. Los resultados mostraron un índice de llamada del 100 % para las fusiones de genes en estas muestras (Tabla 3).

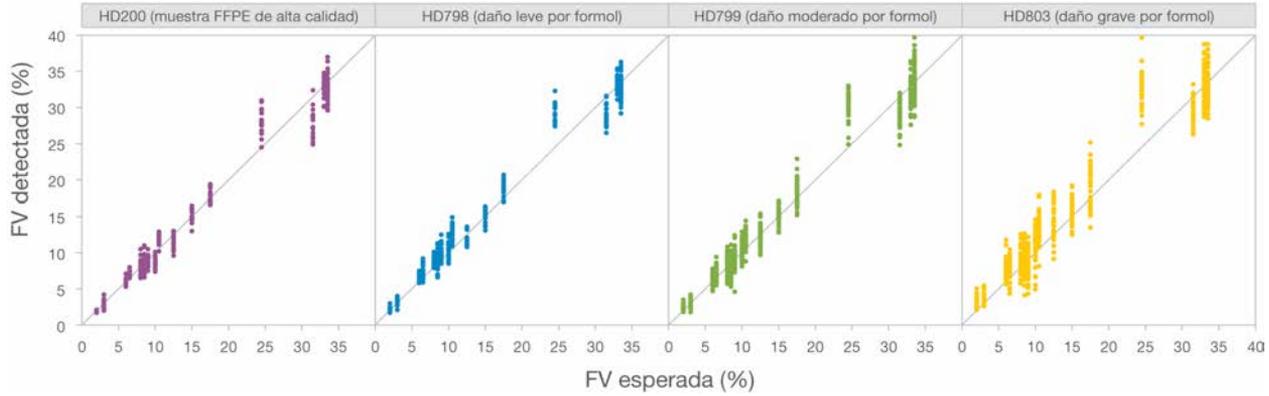


Figura 2: Alto grado de concordancia entre la frecuencia de variantes esperada y la detectada: Se preparó ADN obtenido de muestras de HD fijadas en formol utilizando el panel completo v3 AmpliSeq for Illumina y se secuenció en MiniSeq System y MiSeq System. Los resultados revelaron la detección del 100 % de las SNV esperadas. Los valores ΔCq quedan reflejados en la figura 1.

Tabla 3: Altos índices de llamada para las fusiones de genes

Fusión	N.º de muestras NO detectadas	N.º de muestras detectadas	Índice de llamada
Fuente de ARN: 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 %
Fuente de ARN: 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 %

Se utilizaron dos muestras de ARN de fusión positiva, HD784 y Seraseq Fusion RNA Mix v2 para generar las bibliotecas de ARN con el panel completo v3 AmpliSeq for Illumina y se secuenciaron en MiniSeq System y MiSeq System.

Datos para realizar pedidos

Puede solicitar en línea los productos AmpliSeq for Illumina en la página www.illumina.com.

Producto	N.º de catálogo
Panel completo v3 AmpliSeq for Illumina (24 reacciones)	20019109
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
ADN de FFPE directo AmpliSeq for Illumina	20023378
Equalizador de bibliotecas AmpliSeq for Illumina	20019171

Información adicional

Más información sobre el [panel completo v3 AmpliSeq for Illumina](#)

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