

# AmpliSeq™ for Illumina Immune Response Panel

RNA-Panel zur Untersuchung von 395 Genen, die an der Interaktion zwischen Tumoren und dem Immunsystem beteiligt sind.

## Vorteile

- **Relevanter Geninhalt**

Fokussierte Studien zu 395 Genen, die Krebs-Biomarker tragen, die auf eine Immuntherapie-Antwort hindeuten

- **Schneller, optimierter Workflow**

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

- **Genaue Daten**

Nachweis der Expression von Genen, die an der Interaktion zwischen Tumoren und dem Immunsystem beteiligt sind

## Einleitung

Das Verständnis der Expression von Krebs-Biomarkern kann nützlich sein, um den Erfolg bestimmter immuntherapeutischer Behandlungen vorherzusagen.<sup>1</sup> Zur Unterstützung dieses Bestrebens bietet Illumina Forschern das AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel an. Dieser Assay für die zielgerichtete Resequenzierung ermöglicht die Quantifizierung der Expression von Krebs-Biomarkern in 395 Genen, die an der Interaktion zwischen Tumoren und dem Immunsystem beteiligt sind (Tabelle 1).

Das Immune-Response-Panel ist Teil eines integrierten 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 10 ng RNA-Zugabe ermöglicht das Panel Forschern, Biomarker zu erkennen, die mit verschiedenen Leukozytenuntergruppen, Antigenpräsentation, Checkpoint-Signalwegen und Tumorprogression assoziiert sind. Die geringe Zugabeanforderung ermöglicht die Verwendung mit Proben unterschiedlicher Qualität, einschließlich FFPE-Gewebe (formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Gewebe). Als Teil der AmpliSeq for Illumina-Lösung für die zielgerichtete Resequenzierung ermöglicht das Immune-Response-Panel die schnelle und genaue Untersuchung der Genexpression für translationale und klinische Forschungsstudien.

## Relevanter Geninhalt

Der Inhalt für das AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel wurde auf der Grundlage von Beiträgen aus verschiedenen Quellen ausgewählt, darunter von Fachkollegen begutachtete Artikel, in denen potenziell prädiktive Marker für die Arzneimittelwirkung genannt werden, Beiträge von Experten des Japan National Cancer Center, von Pharmaunternehmen, aus öffentlichen Datenbanken wie DAVID (Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery) und dem Register für klinische Studien ([clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov)). Das daraus resultierende Panel zielt auf 395 Gene ab, die in der Tumormikroumgebung exprimiert werden (Tabelle 2). 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 Immune Response Panel**

Parameter	Spezifikation
Anzahl der Gene	395
Zielregionen	Mit einer Immunantwort assoziierte Gene aus mehreren funktionalen Genen
Kumulative Größe der Zielregion	42 kb
Analysearten	Genexpressions-Level, einschließlich nicht exprimierender und niedrig exprimierender Gene
Amplikon-Größe	durchschnittlich 106 bp
Anzahl der Amplikons	398
RNA-Zugabebedarf	1–100 ng (10 ng empfohlen)
Anzahl der Pools pro Panel	1
Geeignete Probentypen	FFPE-Gewebe
Assay-Zeit insgesamt <sup>a</sup>	6 Stunden
Manueller Aufwand	< 1,5 Stunden
RNA-zu-Daten-Dauer	2,5 Tage

a. 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



Rufen Sie eine [vollständige Liste der Gene auf dem AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel](#) auf.

## Einfacher, optimierter Workflow

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

Die Bibliotheksvorbereitung beginnt mit der Umwandlung der Gesamt-RNA in cDNA. Anschließend ein einfaches PCR-basiertes Protokoll durchlaufen, das sich in nur sechs Stunden abschließen lässt (bei einem manuellen Aufwand von weniger als eineinhalb Stunden). 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 kompatiblen 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 bieten Zugriff auf den RNA Amplicon-Analyse-Workflow. Der RNA Amplicon-Analyse-Workflow aligniert Reads anhand der in der Manifestdatei spezifizierten Regionen, quantifiziert die relative Expression von Genen und Isoformen in mehreren Proben und vergleicht die Häufigkeit über die Proben hinweg. Die Ausgabe bietet die Identifizierung von Transkript-Expressions- und Differenzialexpressions-Ergebnissen.

**Tabelle 2: Genliste für das AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel**

Lymphozytenregulierung	Lymphozytenmarker
Antigenpräsentation	B-Zellmarker
Antigenprozessierung	Dendritische Zellen
Angeborene Immunantwort	Dendritische Zellen, Makrophagen
Leukozytenhemmung	T-Helferzellen
Leukozytenmigration	Makrophagen
Lymphozytenaktivierung	Myeloische Marker
Lymphozytenentwicklung	Neutrophil
Lymphozyteninfiltration	NK-Zellaktivierung
B-Zell-Rezeptor-Signalisierung	NK-Zellmarker
T-Zell-Rezeptor-Signalisierung	T-Zelldifferenzierung
T-Zellregulierung	<b>Checkpoint-Signalweg</b>
TCR-Koexpression	Checkpoint-Signalweg
<b>Zytokin-Signalisierung</b>	PD-1-Signalisierung
Chemokin-Signalisierung	Medikamenten-Target
Zytokin-Signalisierung	<b>Tumorcharakterisierung</b>
Interferon-Signalisierung	Adhäsion, Migration
Typ-I-Interferon-Signalisierung	Apoptose
Typ-II-Interferon-Signalisierung	Proliferation
<b>Housekeeping</b>	Tumorantigen
Housekeeping	Tumormarker



Weitere Informationen über [Sequenziersysteme von Illumina](#)



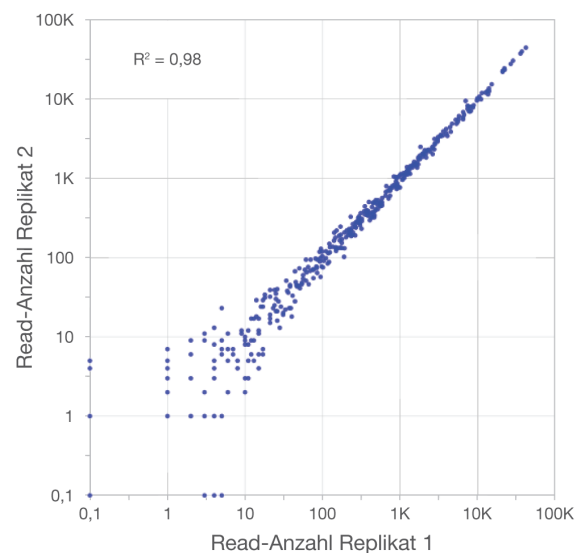
Weitere Informationen über [AmpliSeq for Illumina-Informatik](#)

**Tabelle 3: Empfohlene Illumina-Sequenziersysteme für das AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel**

Gerät	Anzahl der Proben pro Lauf	Laufzeit
MiniSeq™-System (mittlere Leistung)	8	17 Stunden
MiniSeq-System (hohe Leistung)	24	24 Stunden
MiSeq-System (v2-Chemie)	16	24 Stunden
MiSeq-System (v3-Chemie)	24	32 Stunden
NextSeq-System (mittlere Leistung)	96	26 Stunden

## Genauere Daten

Das AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel ermöglicht die Untersuchung von Genen, die an der Mikroumgebung des Tumors und am Immunantwortsystem beteiligt sind. Um die Genauigkeit des Assays aufzuzeigen, wurde aus Lungengewebe isolierte RNA replizierend mit dem Immune-Response-Panel und dem NextSeq™-System analysiert. Die Ergebnisse zeigen eine hohe Übereinstimmung ( $R^2 = 0,98$ ) zwischen den beiden Proben (Abbildung 1).



**Abbildung 1: Hohe Übereinstimmung zwischen Replikaten:** Bibliotheken wurden mit aus Lungengewebe isolierter RNA und dem AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel vorbereitet und auf dem NextSeq-System sequenziert. Ein Reproduzierbarkeits-Plot zeigt die hohe Korrelation zwischen zwei Replikaten derselben RNA-Probe.  $R^2$  ist ein statistisches Maß für die Korrelation von Daten.

## Bestellinformationen

Bestellen Sie die AmpliSeq for Illumina-Produkte online unter [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

Produkt	Katalog-Nr.
AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel (24 Reaktionen)	20019169
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 Immune Response Panel](#)

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

## Quellen

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