

# AmpliSeq™ for Illumina Cancer Hotspot Panel v2

Schnelle und genaue Untersuchung von Hotspot-Regionen in 50 Genen mit bekannten Krebsassoziationen

## Vorteile

- **Relevanter Geninhalt**

Deckt ca. 2.800 COSMIC-Mutationen von 50 Onkogenen und Tumorsuppressorgenen ab

- **Schneller, optimierter Workflow**

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

- **Genaue Daten**

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

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 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.

**Tabelle 1: Überblick über das AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2**

Parameter	Spezifikation
Anzahl der Gene	50
Zielregionen	Hotspot-Regionen innerhalb von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen
Kumulative Größe der Zielregion	22 kb
Variantentypen	SNVs, Indels <sup>a</sup>
Amplicon-Größe	durchschnittlich 106 bp
Anzahl der Amplikons	207
Erforderliche DNA-Zugabe	1–100 ng (10 ng empfohlen)
Anzahl der Pools pro Panel	1
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 <sup>b</sup>	5 Stunden
Manueller Aufwand	< 1,5 Stunden
DNA-zu-Daten-Dauer	2,5 Tage

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

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

## Einleitung

Das AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2 ist ein zielgerichteter Resequenzierungs-Assay zur Erforschung somatischer Mutationen in den Hotspotregionen von 50 Genen mit bekannten Assoziationen zu Krebserkrankungen (Tabelle 1). Ausgehend von nur 1 ng hochwertiger DNA (bei FFPE-Gewebe werden 10 ng DNA 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).

## Relevanter Geninhalt

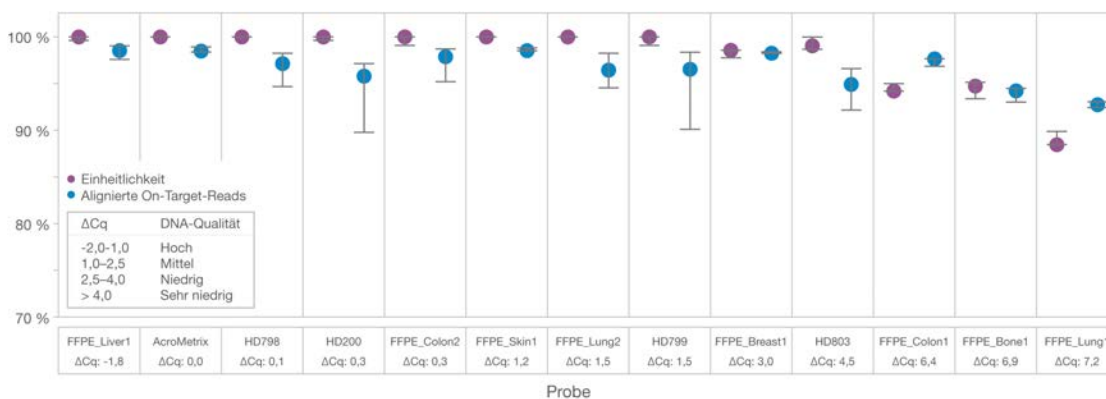
Das AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2 deckt ca. 2.800 Mutationen in den Hotspot-Regionen von 50 Onkogenen und Tumorsuppressorgenen ab, die in der COSMIC-Datenbank (Catalogue of Somatic Mutations In Cancer)<sup>1</sup> identifiziert sind (Tabelle 2).

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.

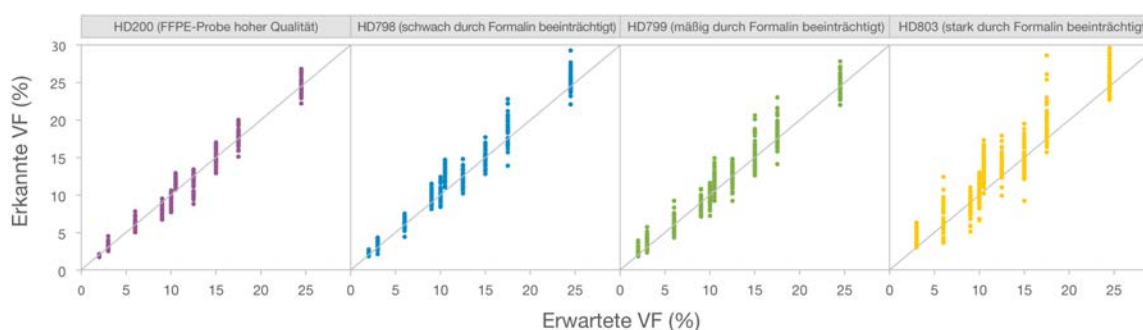
## Einfacher, optimierter Workflow

Das AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2 ist Teil einer DNA-zu-Variante-Lösung, die einen optimierten Inhalt, eine leicht durchführbare Bibliotheksvorbereitung, per Tastendruck bedienbare Sequenziersysteme und eine vereinfachte Datenanalyse umfasst.

Die Bibliotheksvorbereitung durchläuft ein einfaches PCR-basiertes Protokoll, das sich in nur fünf 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.



**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 für Illumina Cancer Hotspot Panel v2 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.



**Abbildung 2: Hohe Übereinstimmung zwischen erwarteten und beobachteten Häufigkeiten von Varianten:** Die DNA aus den HD-Proben wurde mit dem AmpliSeq für Illumina Cancer Hotspot Panel v2 vorbereitet und anschließend auf dem Gerät sequenziert. Die Ergebnisse zeigen, dass 100 % der erwarteten SNVs erkannt wurden. Die ΔCq-Werte sind in Abbildung 1 aufgeführt.

**Tabelle 2: Gene im AmpliSeq für Illumina Cancer Hotspot Panel v2**

<i>ABL1</i>	<i>EGFR</i>	<i>GNAS</i>	<i>KRAS</i>	<i>PTPN11</i>
<i>AKT1</i>	<i>ERBB2</i>	<i>GNAQ</i>	<i>MET</i>	<i>RB1</i>
<i>ALK</i>	<i>ERBB4</i>	<i>HNF1A</i>	<i>MLH1</i>	<i>RET</i>
<i>APC</i>	<i>EZH2</i>	<i>HRAS</i>	<i>MPL</i>	<i>SMAD4</i>
<i>ATM</i>	<i>FBXW7</i>	<i>IDH1</i>	<i>NOTCH1</i>	<i>SMARCB1</i>
<i>BRAF</i>	<i>FGFR1</i>	<i>JAK2</i>	<i>NPM1</i>	<i>SMO</i>
<i>CDH1</i>	<i>FGFR2</i>	<i>JAK3</i>	<i>NRAS</i>	<i>SRC</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>FGFR3</i>	<i>IDH2</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>STK11</i>
<i>CSF1R</i>	<i>FLT3</i>	<i>KDR</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>TP53</i>
<i>CTNNB1</i>	<i>GNA11</i>	<i>KIT</i>	<i>PTEN</i>	<i>VHL</i>

Die Daten zeigten eine hohe Übereinstimmung zwischen erwarteten und erkannten SNVs (Abbildung 2).

**Tabelle 3: Empfohlene Illumina-Sequenziersysteme für das AmpliSeq für Illumina Cancer Hotspot Panel v2**

Gerät	Anzahl der Proben pro Lauf	Laufzeit
iSeq™ 100-System	16	17 Stunden
MiniSeq™-System (mittlere Leistung)	32	17 Stunden
MiniSeq-System (hohe Leistung)	96	24 Stunden
MiSeq™-System (v2-Nano-Chemie)	4	17 Stunden
MiSeq-System (v2-Micro-Chemie)	16	19 Stunden
MiSeq-System (v2-Chemie)	60	24 Stunden
MiSeq-System (v3-Chemie)	96	32 Stunden

## Genauere Daten

Zur Demonstration der Fähigkeiten und der Sensitivität des Assays wurden unter Verwendung des AmpliSeq für Illumina Cancer Hotspot Panel v2 sowie des MiniSeq™- und des MiSeq™-Systems eine AcroMatrix-Kontrollprobe, HD-Proben (Horizon Discovery) und FFPE-Proben 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.

## Weitere Informationen

Weitere Informationen zum [AmpliSeq für Illumina Cancer Hotspot Panel v2](#)

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

## Bestellinformationen

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

Produkt	Katalog-Nr.
AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2 (24 Reaktionen)	20019161
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 Sample ID Panel	20019162
AmpliSeq for Illumina Direct FFPE DNA	20023378
AmpliSeq for Illumina Library Equalizer	20019171

## Quellen

1. Catalogue of Somatic Mutations in Cancer – Homepage.  
<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>. Aufgerufen am 25. Oktober 2017.