

AmpliSeq™ for Illumina Comprehensive Panel v3

Ausgehend von DNA oder RNA, schnelle und genaue Untersuchung von Varianten in 161 Genen, die mit verschiedenen Krebsarten assoziiert werden.

Vorteile

- **Relevanter Geninhalt**

Deckt 161 eindeutige krebsassoziierte Gene ab

- **Schneller, optimierter Workflow**

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

- **Genaue Daten**

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

Einleitung

Das AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3 ermöglicht die Nutzung der zielgerichteten Resequenzierung für die Untersuchung somatischer Mutationen in 161 Genen mit bekannten Assoziationen zu Krebserkrankungen (Tabelle 1).

Das Comprehensive Panel v3 ist Teil eines optimierten Workflows, der die PCR-basierte AmpliSeq for Illumina-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.

Das AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3 benötigt nur 1 ng hochwertige DNA oder RNA und ist für verschiedene Probenotypen geeignet, einschließlich formalinfixierter, in Paraffin eingebetteter Gewebe (FFPE). Der hohe Gengehalt des Panels und der geringe DNA-/RNA-Zugabebedarf ermöglichen die schnelle Beurteilung krebsrelevanter genetischer Variationen in einem einzigen, optimierten Workflow und bieten Forschern das Potenzial, aus vielen Tumorarten eine Fülle genomischer Informationen aufzudecken.

Relevanter Geninhalt

Das AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3 deckt 161 krebsassoziierte Gene ab, einschließlich Kinasen und Genen, die an der DNA-Reparatur beteiligt sind. Der Inhalt des Panels umfasst Hotspots, Gene in voller Länge, Kopienzahlvarianten, intergenische Genfusionen und intragenische Rearrangements. Erfahrene Wissenschaftler halfen bei der Auswahl des Inhalts, um die Coverage der relevanten Zielregionen und die Übereinstimmung mit veröffentlichten Evidenzdaten zu gewährleisten.

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.



Rufen Sie eine [vollständige Liste der Gene auf dem AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3](#) auf.

Tabelle 1: Überblick über das AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3

Parameter	Spezifikation
Anzahl der Gene	161
Zielregionen	Hotspots und Gene voller Länge
Kumulative Größe der Zielregion	DNA: 397 kb, RNA: 86 kb
Variantentypen	SNVs, Indels, CNVs und Genfusionen ^a
Amplikon-Größe	DNA: durchschnittlich 105 bp, RNA: durchschnittlich 99 bp
Anzahl der Amplikons	DNA: 3.781, RNA: 867
DNA-/RNA-Zugabebedarf	1–100 ng (10 ng pro Pool empfohlen)
Anzahl der Pools pro Panel	DNA-Panel: zwei Pools, RNA-Panel: zwei Pools
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	> 95 %
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

Einfacher, optimierter Workflow

Das AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3 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). Die daraus resultierenden Bibliotheken können normalisiert,

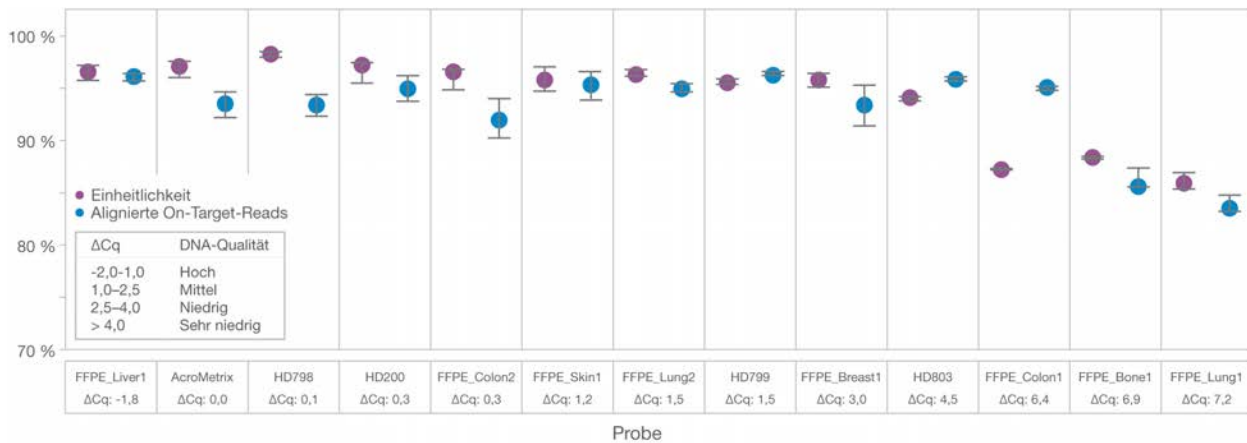


Abbildung 1: Hohe Coverage-Einheitlichkeit und hohes On-Target-Alignment: Die DNA, die aus FFPE- und HD-Proben unterschiedlicher Qualität extrahiert wurde, wurde mit dem AmpliSeq für Illumina Comprehensive Panel v3 vorbereitet und anschließend auf dem Gerät sequenziert. Die Fehlerbalken geben die Variabilität der technischen Replikate an. ΔCq ist ein Indikator für die Qualität der aus FFPE-Gewebe isolierten DNA.

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 2) 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 für Illumina-Informatik](#)

Tabelle 2: Empfohlene Illumina-Sequenziersysteme für das AmpliSeq für Illumina Comprehensive Panel v3

Gerät	Anzahl der Proben pro Lauf	Laufzeit
MiniSeq-System (hohe Leistung)	3	24 Stunden
MiSeq-System (v3-Chemie)	3	32 Stunden
NextSeq-System (mittlere Leistung)	16	26 Stunden
NextSeq-System (hohe Leistung)	48	29 Stunden

Genauere Daten

Das AmpliSeq für Illumina Comprehensive Panel v3 ermöglicht es, mehr als 160 Gene pro Probe gleichzeitig zu bewerten, und bietet zugleich eine ausgezeichnete Spezifität und Einheitlichkeit.

Coverage und Sensitivität

Zur Demonstration der Fähigkeiten des Assays wurden eine AcroMetrix-Kontrollprobe, HD-Proben (Horizon Discovery) und FFPE-Proben mit dem AmpliSeq für Illumina Comprehensive Panel v3 untersucht und auf dem NextSeq™-System sequenziert. Die Ergebnisse zeigten eine hohe Coverage-Einheitlichkeit und einen hohen On-Target-Prozentwert alignierter Reads, auch bei variierender Probenqualität und verschiedenen Gewebetypen (Abbildung 1). Zur Bestimmung des Genauigkeitsgrads des Varianten-Callings wurden HD-Proben unterschiedlicher Qualität getestet. Die Daten wiesen eine hohe Übereinstimmung zwischen der erwarteten und nachgewiesenen VF (Variant Frequency, Variantenhäufigkeit) auf (Abbildung 2).

Erkennung von Genfusionen

Um die Fähigkeit des Assays, strukturelle Varianten in RNA-Transkripten zu erkennen, aufzuzeigen, wurden HD-Proben und die Seraseq Fusion RNA Mix v2-Referenz mit dem AmpliSeq für Illumina Comprehensive Panel v3 sowie dem MiniSeq™- und dem MiSeq™-System beurteilt. Die Call-Rate bei den Genfusionen dieser Proben betrug 100% (Tabelle 3).

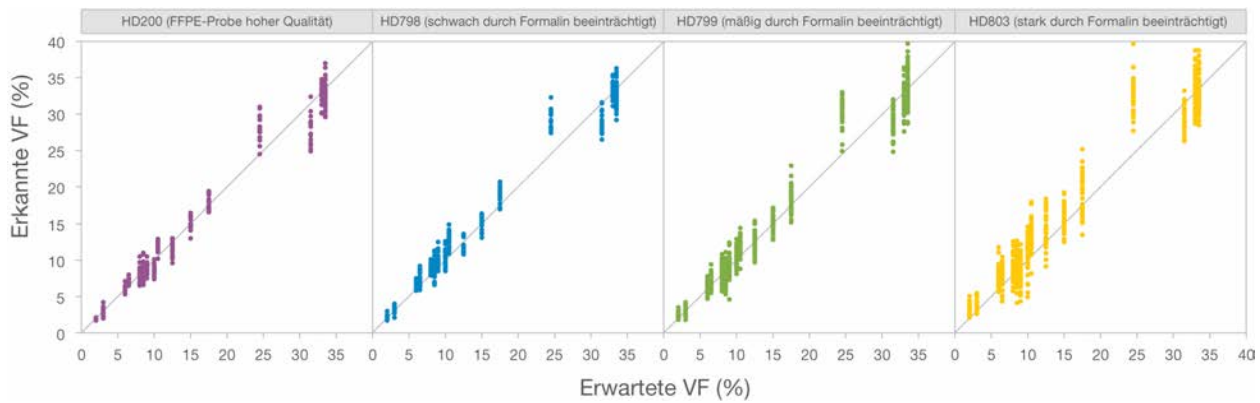


Abbildung 2: Hohe Übereinstimmung zwischen der erwarteten und beobachteten Häufigkeit von Varianten: Die DNA aus formalinfixierten HD-Proben wurde mit dem AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3 vorbereitet und anschließend auf dem MiniSeq- und dem MiSeq-System sequenziert. Die Ergebnisse zeigen, dass 100 % der erwarteten SNVs erkannt wurden. Die ΔCq -Werte sind in Abbildung 1 aufgeführt.

Tabelle 3: 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>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 %

Aus zwei fusionspositiven RNA-Proben, HD784 und Seraseq Fusion RNA Mix v2, wurden RNA-Bibliotheken mit dem AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3 vorbereitet und 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 Comprehensive Panel v3 (24 Reaktionen)	20019109
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 Direct FFPE DNA	20023378
AmpliSeq for Illumina Library Equalizer	20019171

Weitere Informationen

Weitere Informationen zum [AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3](#)

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