

Panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq™ for Illumina (v2)

Investigación rápida y precisa de regiones de puntos de mayor riesgo en 50 genes con asociaciones conocidas con el cáncer.

Puntos destacados

- **Contenido genético significativo**

Objetivo: aproximadamente 2800 mutaciones recogidas en el COSMIC de 50 oncogenes y genes oncosupresores

- **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 de alta calidad o 10 ng de ADN 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

Introducción

El panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2) es un ensayo de resecuenciación selectiva para la investigación de mutaciones somáticas en las regiones de mayor riesgo de 50 genes con asociaciones conocidas con el cáncer (Tabla 1). A partir de tan solo 1 ng de ADN de alta calidad (se recomiendan 10 ng de ADN si se trabaja con tejido FFPE), el panel permite el estudio de genes asociados a diferentes tipos de cáncer, como los de pulmón, colon, mama y próstata, así como los ováricos y los melanomas. La poca cantidad de entrada necesaria posibilita su uso con distintos tipos de muestra, como las de tejidos fijados en formol y embebidos en parafina (FFPE).

Contenido genético significativo

El panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2) tiene como objetivo un número aproximado de 2800 mutaciones en las regiones de mayor riesgo de 50 oncogenes y genes oncosupresores identificados en la base de datos del Catalogue of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)¹ (Tabla 2). 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 de *BRCA* de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2) forma parte de una solución de ADN 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 seis horas, 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 probados de secuenciación por síntesis (SBS) en cualquier sistema de secuenciación Illumina compatible: el modelo sistemático NextSeq™ System (Tabla 3).

Los datos resultantes pueden analizarse de forma local con Local Run Manager o transmitirse con facilidad a BaseSpace™ Local Run Manager. 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.

Tabla 1: Resumen del panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2)

Parámetro	Especificación
N.º de genes	50
Objetivos	Regiones de mayor riesgo en los oncogenes y en los genes oncosupresores
Tamaño de objetivo acumulativo	22 kb
Tipos de variante	SNV e inserciones/delecciones ^a
Tamaño del amplicón	106 pb de media
N.º de amplicones	207
Cantidad necesaria de ADN de entrada	1-100 ng (valor recomendado de 10 ng)
N.º de grupos por panel	1
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	>80 %
Duración total del ensayo ^b	5 horas
Tiempo de participación activa	<1,5 horas
Tiempo de conversión de ADN a datos	2,5 días

a. SNV: Variantes de nucleótido único; indels: Inserciones y delecciones

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

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

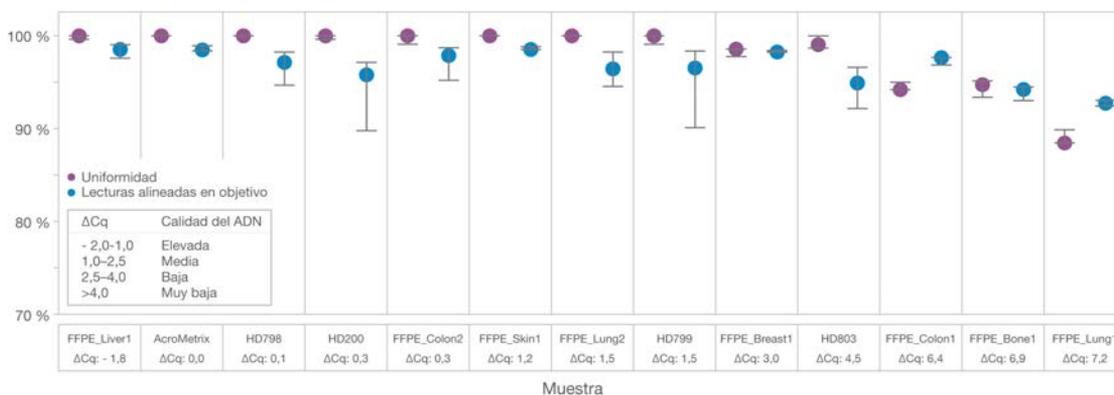


Figura 1: Uniformidad de cobertura y alineación en objetivo altas: Se preparó ADN extraído de muestras FFPE y de HD de calidad variable mediante el panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2), y se secuenció en el instrumento. Las barras de error indican la variabilidad de los duplicados técnicos. El valor ΔCq es un indicador de la calidad del ADN aislado a partir de tejidos FFPE.

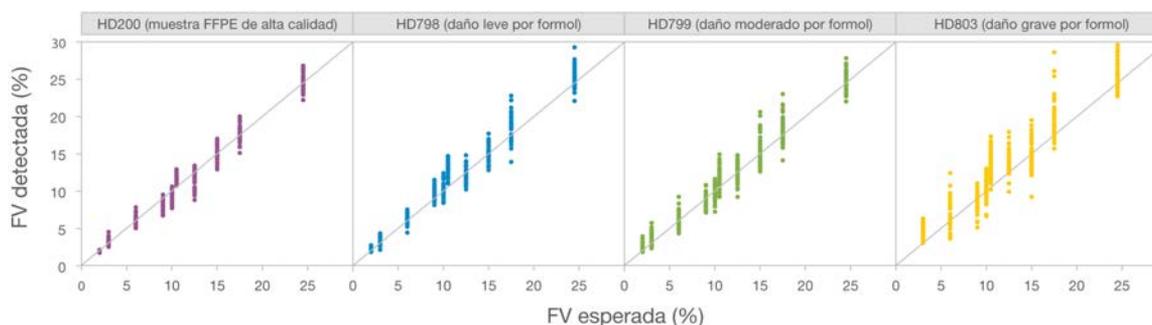


Figura 2: Alto grado de concordancia entre la frecuencia de variantes esperada y la detectada: Se preparó ADN obtenido de muestras de HD utilizando el panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2), y se secuenció en el instrumento. Los resultados revelaron la detección del 100 % de las SNV esperadas. Los valores ΔCq quedan reflejados en la figura 1.

Tabla 2: Genes del panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (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>

Datos precisos

Para demostrar las capacidades y la sensibilidad del ensayo, se evaluó una muestra de control de AcroMetrix, muestras de Horizon Discovery (HD) y muestras FFPE utilizando el panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2), así como MiniSeq™ System y MiSeq™ System. Los resultados revelaron una uniformidad de cobertura y un porcentaje en objetivo de lecturas alineadas elevado, incluso con una calidad de las muestras y tipos de tejido variables (Figura 1). Asimismo, se evaluaron 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 las SNV esperadas y las detectadas (Figura 2).

Tabla 3: Sistemas de secuenciación de Illumina que se recomienda utilizar con el panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2)

Instrumento	N.º de muestras por experimento	Duración del experimento
iSeq™ 100 System	16	17 horas
MiniSeq™ System (rendimiento medio)	32	17 horas
MiniSeq System (rendimiento elevado)	96	24 horas
MiSeq System™ (procesos químicos Nano v2)	4	17 horas
MiSeq System (procesos químicos Micro v2)	16	19 horas
MiSeq System (procesos químicos v2)	60	24 horas
MiSeq System (procesos químicos v3)	96	32 horas

Información adicional

Más información sobre el [panel de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina \(v2\)](#)

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

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 de puntos de mayor riesgo oncológico AmpliSeq for Illumina (v2) (24 reacciones)	20019161
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
Panel de ID de muestra AmpliSeq for Illumina	20019162
ADN de FFPE directo AmpliSeq for Illumina	20023378
Ecuador de bibliotecas AmpliSeq for Illumina	20019171

Referencias

1. Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (página de inicio): <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>. Acceso: 25 de octubre de 2017.