

AmpliSeq™ for Illumina Immune Response Panel

Pannello RNA per indagini
su 395 geni coinvolti nelle
interazioni tra il tumore
e il sistema immunitario

- Focalizzazione degli studi su 395 geni che trasportano i biomarcatori del cancro e sono indicativi della risposta immunitaria alla terapia
- Le librerie pronte per il sequenziamento vengono preparate in un solo giorno con 1 ng di RNA di elevata qualità o 10 ng di RNA ottenuto da tessuto in FFPE
- Rilevamento dell'espressione genica coinvolta nelle interazioni tra il tumore e la risposta immunitaria

illumina®

Introduzione

La comprensione dell'espressione dei biomarcatori del cancro potrebbe permettere di prevedere il successo di determinati trattamenti immunoterapici.¹ Per contribuire a questi studi, Illumina offre ai ricercatori l'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel, un saggio per il risequenziamento mirato che consente la quantificazione dell'espressione dei biomarcatori del cancro in 395 geni coinvolti nelle interazioni tra tumore e sistema immunitario (Tabella 1).

Il pannello Immune Response fa parte di un flusso di lavoro integrato che include la preparazione delle librerie basata sulla polimerizzazione a catena (PCR, Polymerase Chain Reaction) AmpliSeq for Illumina, la chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS, Sequencing By Synthesis), la tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) e l'analisi automatizzata Illumina. Partendo da appena 10 ng di RNA input, il pannello consente ai ricercatori di rilevare i biomarcatori associati con diversi sottogruppi di leucociti, presentazione dell'antigene, percorsi del checkpoint e progressione del tumore. Il requisito di basso input consente l'utilizzo di campioni di diversa qualità, inclusi i tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE, Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded). Il pannello Immune Response fa parte della soluzione di risequenziamento mirato AmpliSeq for Illumina e consente una valutazione veloce e accurata dell'espressione genica per studi in campo traslazionale e di ricerca clinica.

Contenuto genico rilevante

Il contenuto dell'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel è stato selezionato in base a determinati input ottenuti da più risorse, inclusi articoli rivisti da esperti (peer-reviewed) relativi ai marker potenzialmente predittivi della risposta al farmaco, esperti del Japan National Cancer Center, case farmaceutiche, database pubblici come il Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery (DAVID) e il registro dei trial clinici (clinicaltrials.gov). Il pannello ottenuto ha come target 395 geni espressi nel microambiente tumorale (Tabella 2). Questo pannello pronto all'uso consente ai ricercatori di risparmiare tempo e sforzi nell'identificazione di target, nella progettazione degli ampliconi e nell'ottimizzazione delle prestazioni.

Flusso di lavoro semplice e ottimizzato

L'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel fa parte di una soluzione dall'RNA ai risultati che offre contenuto ottimizzato, semplice preparazione delle librerie, sistemi di sequenziamento di facile utilizzo e analisi dei dati semplificata.

Tabella 1: Panoramica dell'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel

Parametro	Specifica
N. di geni	395
Target	Geni associati con la risposta immunitaria su diversi geni funzionali
Dimensione cumulativa del target	42 kb
Tipi di analisi	Livelli dell'espressione genica, inclusi i geni senza espressione e a bassa espressione
Dimensione amplicone	106 bp in media
N. di ampliconi	398
Requisito di input di RNA	1-100 ng (sono raccomandati 10 ng)
N. di pool per pannello	1
Tipi di campione compatibili	Tessuto FFPE
Durata totale del saggio ^a	6 ore
Durata interventi manuali	< 1,5 ore
Durata da RNA a dati	2,5 giorni

a. La durata si riferisce solo alla preparazione delle librerie e non include la quantificazione, la normalizzazione o il raggruppamento in pool delle librerie.



Per accedere a un [elenco completo dei geni presenti nell'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel](#)

La preparazione delle librerie inizia con la conversione dell'RNA totale in cDNA, seguita da un protocollo ottimizzato basato sulla PCR che può essere completato in appena 6 ore, con < 1,5 ore di interventi manuali. Le librerie ottenute possono essere normalizzate, raggruppate in pool, quindi caricate su una cella a flusso per il sequenziamento. Le librerie preparate sono sequenziate mediante la comprovata chimica SBS su un qualsiasi sistema di sequenziamento Illumina compatibile (Tabella 3).

I dati ottenuti possono essere analizzati in laboratorio mediante Local Run Manager o facilmente trasferiti a BaseSpace™ Sequence Hub. Local Run Manager e BaseSpace Sequence Hub consentono di accedere al flusso di lavoro di analisi RNA Amplicon per eseguire l'analisi. Il flusso di lavoro di analisi RNA Amplicon allinea le letture sulle regioni specificate nel file manifest, quantifica l'espressione relativa di geni e isoforme tra i diversi campioni e confronta l'abbondanza tra i campioni. Gli output forniscono l'identificazione dell'espressione del trascritto e i risultati dell'espressione differenziale.

Tabella 2: Elenco dei geni per l'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel

Regolazione linfocitaria	Marker linfocitari
Presentazione dell'antigene	Marker delle cellule B
Elaborazione dell'antigene	Cellula dendritica
Risposta immunitaria innata	Cellula dendritica, macrofago
Inibizione leucocitaria	Cellule T Helper
Migrazione leucocitaria	Macrofago
Attivazione linfocitaria	Marker mieloide
Sviluppo linfocitario	Neutrofilo
Infiltrazione linfocitaria	Attivazione della cellula NK
Segnalazione recettore delle cellule B	Marker della cellula NK
Segnalazione recettore delle cellule T	Differenziazione delle cellule T
Regolazione delle cellule T	Percorso dei checkpoint
Coespressione TCR	Percorso dei checkpoint
Segnalazione delle citochine	Segnalazione di PD-1
Segnalazione delle chemochine	Target del farmaco
Segnalazione delle citochine	Caratterizzazione del tumore
Segnalazione dell'interferone	Adesione, migrazione
Segnalazione dell'interferone, Tipo I	Apoptosi
Segnalazione dell'interferone, Tipo II	Proliferazione
Costitutivo	Antigene del tumore
Costitutivo	Marker del tumore



Per maggiori informazioni sui sistemi di sequenziamento Illumina, visitare la pagina www.illumina.com/systems



Per maggiori informazioni sulle soluzioni informatiche AmpliSeq for Illumina, visitare la pagina illumina.com/products/by-brand/ampliseq/informatics

Tabella 3: Sistemi di sequenziamento Illumina raccomandati per l'uso con l'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel

Strumento	N. di campioni per corsa	Durata della corsa
MiniSeq™ System (output medio)	8	17 ore
MiniSeq System (output alto)	24	24 ore
MiSeq System (chimica v2)	16	24 ore
MiSeq System (chimica v3)	24	32 ore
NextSeq 550 System (output medio)	96	26 ore

Dati accurati

L'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel consente di studiare i geni coinvolti nel microambiente del tumore e nel sistema di risposta immunitaria. Per dimostrare l'accuratezza del saggio, è stato analizzato, in replicati, l'RNA isolato da tessuto polmonare utilizzando il pannello Immune Response e il NextSeq™ System. I risultati mostrano elevata concordanza ($R^2 = 0,98$) tra i due campioni (Figura 1).

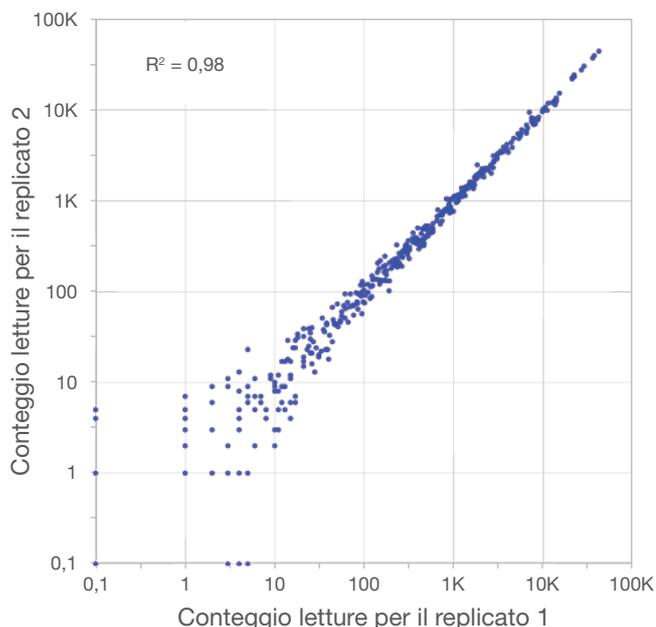


Figura 1: Elevata concordanza tra i replicati: le librerie sono state preparate utilizzando RNA isolato da tessuto polmonare e l'AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel; sono state infine sequenziate con il NextSeq System. Un grafico di riproducibilità mostra l'elevata correlazione tra i due replicati dello stesso campione di RNA. R^2 è una misurazione statistica della correlazione dei dati.

Maggiori informazioni

AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel, [illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-immune-response-panel.html](https://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-immune-response-panel.html)

Soluzione di sequenziamento mirato AmpliSeq for Illumina, [illumina.com/products/by-brand/ampliseq.html](https://www.illumina.com/products/by-brand/ampliseq.html)

illumina[®]

Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2023 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01514 ITA v1.0

Informazioni per gli ordini

I prodotti AmpliSeq for Illumina possono essere ordinati online alla pagina www.illumina.com

Prodotto	N. di catalogo
AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel (24 reactions)	20019169
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (24 reactions)	20019101
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (96 reactions)	20019102
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (384 reactions)	20019103
AmpliSeq for Illumina CD Indexes Set A (96 indexes, 96 samples)	20019105
AmpliSeq for Illumina cDNA Synthesis (96 reactions)	20022654
AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel	20019162
AmpliSeq for Illumina Direct FFPE DNA	20023378
AmpliSeq for Illumina Library Equalizer	20019171

Bibliografia

- Masucci GV, Cesano A, Hawtin R, et al. [Validation of biomarkers to predict response to immunotherapy in cancer: Volume I - pre-analytical and analytical validation.](#) *J Immunother Cancer.* 2016;4:76. Published 2016 Nov 15. doi:10.1186/s40425-016-0178-1