

# Pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq™ for Illumina

Investigazione veloce e accurata delle regioni hotspot in 50 geni con associazioni note al cancro.

## Punti principali

### • Contenuto del gene rilevante

Mira a circa 2.800 mutazioni COSMIC da 50 oncogeni e geni soppressori tumorali

### • Flusso di lavoro veloce e ottimizzato

Le librerie pronte per il sequenziamento vengono preparate in un solo giorno con appena 1 ng di DNA di elevata qualità o 10 ng di DNA ottenuto da tessuto in FFPE

### • Dati accurati

Rilevamento delle mutazioni somatiche fino al 5% della frequenza analizzando i dati in laboratorio o sul cloud

sequenziate mediante la comprovata chimica SBS Illumina su un sistema di sequenziamento compatibile Illumina (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 possono accedere al flusso di lavoro di analisi DNA Amplicon per l'allineamento e l'identificazione delle varianti. BaseSpace Sequence Hub consente di accedere a BaseSpace Variant Interpreter per convertire i dati delle identificazioni delle varianti in risultati annotati.

**Tabella 1: Panoramica del pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina**

| Parametro  | Specifica  |
|--|--|
| N. di geni   | 50   |
| Target   | Regioni hotspot negli oncogeni e nei geni soppressori tumorali |
| Dimensione cumulativa dei target   | 22 kb  |
| Tipi di varianti   | SNV, Indel <sup>a</sup>  |
| Dimensione amplicone   | 106 bp (in media)  |
| N. di ampliconi  | 207  |
| Requisito di DNA/input   | 1-100 ng (sono raccomandati 10 ng)                             |
| N. di raggruppamenti in pool per pannello  | 1  |
| Tipi di campione compatibili   | Tessuti in FFPE  |
| Percentuale di target coperti alla copertura minima di 500x alla processività raccomandata | più del 95%  |
| Uniformità di copertura (percentuale di target con più di 0,2x di copertura media)         | > 95%  |
| Percentuale di letture allineate sul target  | più dell'80%   |
| Durata totale del saggio <sup>b</sup>  | 5 ore  |
| Interventi manuali   | < 1,5 ore  |
| Durata dal DNA ai dati   | 2,5 giorni   |

a. SNV: variante di singolo nucleotide; Indel: inserzione/delezione

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

Dati in archivio presso Illumina, Inc. 2017

## Introduzione

Il pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina è un saggio per il risequenziamento mirato che consente di ricercare mutazioni somatiche su regioni hotspot di 50 geni con associazioni note al cancro (Tabella 1). Partendo da appena 1 ng di DNA di elevata qualità (sono raccomandati 10 ng di DNA ottenuto da tessuto in FFPE), il pannello consente lo studio dei geni associati a diversi tipi di cancro come cancro al polmone, al colon, al seno, alle ovaie, alla prostata e il melanoma. Il requisito di basso input consente l'utilizzo di diversi tipi di campioni, inclusi i tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE).

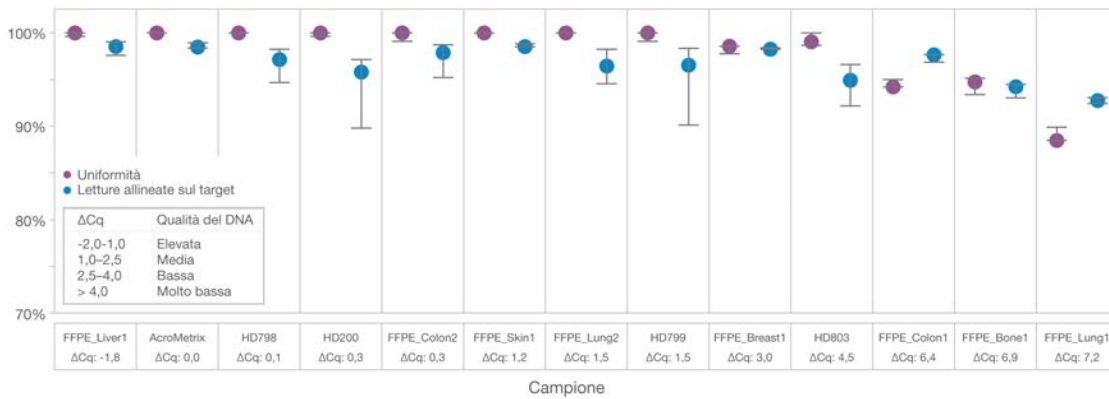
## Contenuto del gene rilevante

Il pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina mira a circa 2.800 mutazioni nelle regioni hotspot di 50 oncogeni e geni soppressori tumorali come identificate nel database Catalogue of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC)<sup>1</sup> (Tabella 2). Questo pannello pronto all'uso consente ai ricercatori di risparmiare tempo e sforzi nell'identificazione di target, nella progettazione di ampliconi e nell'ottimizzazione delle prestazioni.

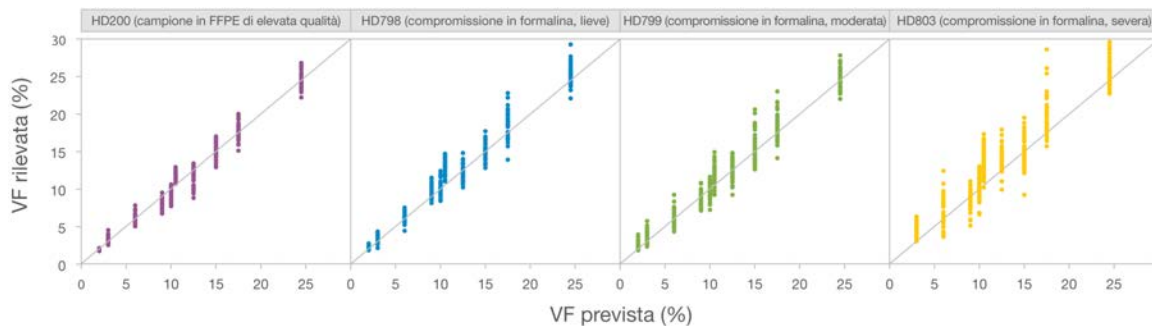
## Flusso di lavoro semplice e ottimizzato

Il pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina fa parte di una soluzione dal DNA alla variante che offre contenuto ottimizzato, semplice preparazione delle librerie, sistemi di sequenziamento di facile utilizzo e semplice analisi dei dati.

La preparazione delle librerie un protocollo ottimizzato basato sulla PCR che può essere completato in appena 5 ore, con meno di 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 vengono



**Figura 1: Elevata uniformità di copertura e allineamento sul target:** il DNA è stato estratto da campioni HD e in FFPE di diversa qualità utilizzando il pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina e sequenziato sullo strumento. Le barre degli errori indicano la variabilità dei replicati tecnici. Il valore  $\Delta Cq$  è un indicatore della qualità del DNA isolato da tessuti in FFPE.



**Figura 2: Elevata concordanza tra la frequenza della variante prevista e rilevata:** il DNA ottenuto da è stato preparato utilizzando il pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina e sequenziato sui sistemi. I risultati mostrano che è stato rilevato il 100% delle SNV previste. I valori  $\Delta Cq$  sono elencati nella Figura 1.

**Tabella 2: Geni del pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina**

|               |              |              |               |                |
|---------------|--------------|--------------|---------------|----------------|
| <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>     |

**Tabella 3: Sistemi di sequenziamento Illumina raccomandati per il pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina**

| Strumento                        | N. di campioni per corsa | Durata della corsa |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------|
| Sistema iSeq™ 100                | 16                       | 17 ore             |
| Sistema MiniSeq™ (Mid-Output)    | 32                       | 17 ore             |
| Sistema MiniSeq (High-Output)    | 96                       | 24 ore             |
| Sistema MiSeq™ (chimica Nano v2) | 4                        | 17 ore             |
| Sistema MiSeq (chimica Micro v2) | 16                       | 19 ore             |
| Sistema MiSeq (chimica v2)       | 60                       | 24 ore             |
| Sistema MiSeq (chimica v3)       | 96                       | 32 ore             |

## Dati accurati

Per dimostrare le funzionalità e la sensibilità del saggio, sono stati valutati un campione di controllo AcroMetrix, campioni Horizon Discovery (HD) e campioni in FFPE utilizzando il pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina e i sistemi MiniSeq™ e MiSeq™. I risultati hanno mostrato elevata uniformità di copertura e percentuale di letture allineate sul target, anche con diversi tipi di tessuto e qualità del campione (Figura 1). Sono stati inoltre analizzati campioni HD di diversa qualità per valutare l'accuratezza dell'identificazione delle varianti. I dati hanno mostrato elevata concordanza tra le varianti di singolo nucleotide (Single Nucleotide Variant, SNV) previste e rilevate (Figura 2).

## Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sul [pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina](#)

Per maggiori informazioni sulla [soluzione di sequenziamento mirata AmpliSeq for Illumina](#)

## Informazioni per gli ordini

I prodotti AmpliSeq for Illumina possono essere ordinati online alla pagina Web [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

| Prodotto  | N. di catalogo |
|---|----------------|
| Pannello Cancer Hotspot v2 AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)    | 20019161       |
| Library PLUS AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)                  | 20019101       |
| Library PLUS AmpliSeq for Illumina (96 reazioni)                  | 20019102       |
| Library PLUS AmpliSeq for Illumina (384 reazioni)                 | 20019103       |
| CD Indexes AmpliSeq for Illumina - set A (96 indici, 96 campioni) | 20019105       |
| Pannello Sample ID AmpliSeq for Illumina                          | 20019162       |
| Direct FFPE DNA AmpliSeq for Illumina                             | 20023378       |
| Library Equalizer AmpliSeq for Illumina                           | 20019171       |

## Bibliografia

1. Catalogo delle mutazioni somatiche nel cancro - Home Page.  
<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>. Consultato il 25 ottobre 2017.