

Panel ciblé AmpliSeq^{MC} pour Illumina

Panel d'ADN ou d'ARN ciblé pour l'étude de 52 gènes dont la pertinence relativement aux tumeurs solides est connue.

Points forts

- **Contenu génétique pertinent**

Ciblage des biomarqueurs de 52 gènes dont la pertinence relativement aux tumeurs solides est connue

- **Flux de travail rapide et efficace**

Préparation de bibliothèques prêtes au séquençage en une seule journée avec seulement 1 ng d'ADN ou d'ARN de qualité élevée, et 10 ng d'ADN ou d'ARN provenant de tissus FFPE

- **Données exactes**

Détection des mutations somatiques jusqu'à une fréquence minimale de 5 % avec l'analyse locale ou infonuagique

Introduction

Le panel ciblé AmpliSeq pour Illumina est un test de reséquençage ciblé pour l'analyse des biomarqueurs de 52 gènes dont la pertinence relativement aux tumeurs solides est connue (Tableau 1). Au moyen du panel ciblé, les chercheurs peuvent analyser de l'ADN et de l'ARN simultanément. Le panel ciblé fait partie d'un flux de travail simplifié qui comprend la préparation de bibliothèques basées sur la PCR AmpliSeq pour Illumina, le séquençage par synthèse (SBS) et la technologie de séquençage nouvelle génération (SNG) d'Illumina, ainsi que l'analyse automatisée.

Avec seulement 1 ng d'ADN et d'ARN d'entrée de haute qualité (10 ng sont recommandés pour l'ADN et l'ARN provenant de tissus FFPE), le panel permet l'étude des gènes associés à divers types de cancer, notamment les mélanomes et le cancer du poumon, du côlon, du sein, des ovaires et de la prostate. La faible exigence d'entrée permet l'utilisation du panel avec divers types d'échantillons, y compris les tissus fixés au formol et imprégnés à la paraffine (FFPE). Dans le cadre de la solution de reséquençage ciblé AmpliSeq pour Illumina, le panel ciblé permet l'évaluation rapide et précise de la variation génomique aux fins des recherches cliniques et translationnelles en oncologie.

Contenu génétique pertinent

Le panel ciblé AmpliSeq pour Illumina cible des centaines de mutations dans 52 des principaux gènes associés aux tumeurs solides (Tableau 2). Le contenu génétique du panel a été sélectionné en fonction de la littérature publiée, des lignes directrices en vigueur (National Comprehensive Cancer Network [NCCN], Association for Molecular Pathology [AMP], College of American Pathologists [CAP], European Society for Medical Oncology [ESMO], etc.) et des essais cliniques pertinents. Les chercheurs peuvent utiliser le panel pour étudier les variants à simple nucléotide (SNV), les insertions/délétions (indels) et les variations du nombre de copies (CNV) dans les échantillons d'ADN et les fusions de gènes dans les échantillons d'ARN. Ce panel prêt à utiliser permet aux chercheurs d'économiser du temps et de l'énergie pour l'identification des cibles, la conception des amplicons et l'optimisation de la performance.

Tableau 1 : Aperçu du panel ciblé AmpliSeq pour Illumina

Paramètre	Caractéristique
Nbre de gènes	52
Cibles	Gènes pertinents relativement aux tumeurs solides
Taille des cibles cumulées	ADN : 29 kb, ARN : 26 kb
Types de variants	SNV, indels, CNV et fusions de gènes ^a
Taille de l'amplicon	ADN : 107 pb en moyenne, ARN : 93 pb en moyenne
Nbre d'amplicons	ADN : 269, ARN : 284
ADN/ARN d'entrée requise	De 1 à 100 ng (10 ng recommandés par regroupement)
Nbre de regroupements par panel	Panel d'ADN : 1 regroupement, panel d'ARN : 1 regroupement
Types d'échantillons compatibles	Tissus FFPE
Pourcentage de cibles ayant une couverture d'au moins 500x au débit recommandé	> 95 %
Uniformité de la couverture (pourcentage des cibles ayant une couverture moyenne > 0,2x)	> 95 %
Pourcentage de lectures alignées sur la cible	> 80 %
Durée totale du test ^b	De 5 à 6 heures
Durée de manipulation	< 1,5 heure
Durée, de l'ADN/ARN aux données	2,5 jours

a. SNV : variations à simple nucléotide, indels : insertions/délétions, CNV : variations du nombre de copies

b. La durée représente la préparation des bibliothèques uniquement et ne comprend pas leur quantification, leur normalisation ni leur regroupement.

Données internes d'Illumina, Inc. 2017

Tableau 2 : Liste des gènes du panel ciblé AmpliSeq pour Illumina

Regroupement d'ADN				
AKT1	EGFR	FGFR4	JAK3	MYCN
ALK	ERBB2	GNA11	KIT	NRAS
AR	ERBB3	GNAQ	KRAS	PDGFRA
BRAF	ERBB4	HRAS	MAP2K1	PIK3CA
CCND1	ESR1	IDH1	MAP2K2	RAF1
CDK4	FGFR1	IDH2	MET	RET
CDK6	FGFR2	JAK1	MTOR	ROS1
CTNNB1	FGFR3	JAK2	MYC	SMO
DDR2				
Regroupement d'ARN				
ABL1	EGFR	ETV5	NTRK1	PPARG
ALK	ERBB2	FGFR1	NTRK2	RAF1
AKT3	ERG	FGFR2	NTRK3	RET
AXL	ETV1	FGFR3	PDGFRA	ROS1
BRAF	ETV4	MET		

Flux de travail simple et rationalisé

Le panel ciblé AmpliSeq pour Illumina fait partie d'une solution de l'ADN/ARN aux variants qui offre un contenu rationalisé, une préparation facile des bibliothèques, des systèmes de séquençage à boutons de commande et une analyse des données simplifiée.

La préparation de bibliothèques suit un protocole simple basé sur la PCR pouvant se faire en seulement 5 heures (ADN) ou 6 heures (ARN), nécessitant moins de 1,5 heure (ADN) ou moins de 2 heures (ARN) de manipulation. Les bibliothèques obtenues peuvent être normalisées, regroupées, puis chargées sur une Flow Cell aux fins du séquençage. Les bibliothèques préparées sont séquencées au moyen de la chimie éprouvée SBS dans l'un ou l'autre des systèmes de séquençage d'Illumina (Tableau 3).

Les données obtenues peuvent être analysées localement avec Local Run Manager ou transmises facilement dans BaseSpace^{MC} Sequence Hub. Local Run Manager et BaseSpace Sequence Hub peuvent accéder au flux de travail d'analyse d'amplicons d'ADN pour effectuer l'alignement et l'appel de variants.

BaseSpace Sequence Hub donne accès à BaseSpace Variant Interpreter, ce qui aide à transformer les données sur les appels de variants en résultats annotés.



En savoir plus sur les [systèmes de séquençage d'Illumina](#)



En savoir plus sur les solutions [informatiques AmpliSeq pour Illumina](#)

Tableau 3 : Systèmes de séquençage d'Illumina recommandés pour utilisation avec le panel ciblé AmpliSeq pour Illumina

Instrument	Nbre d'échantillons par analyse	Durée de l'analyse
Système iSeq ^{MC} 100	8	17 heures
Système MiniSeq ^{MC} (débit moyen)	16	17 heures
Système MiniSeq (débit élevé)	48	24 heures
Système MiSeq (Micro, chimie v2)	8	19 heures
Système MiSeq (chimie v2)	30	24 heures
Système MiSeq (chimie v3)	48	32 heures

Données exactes

Au moyen du panel ciblé AmpliSeq pour Illumina, les chercheurs peuvent analyser les biomarqueurs de 52 des principaux gènes associés aux tumeurs solides à l'aide de l'ADN et de l'ARN.

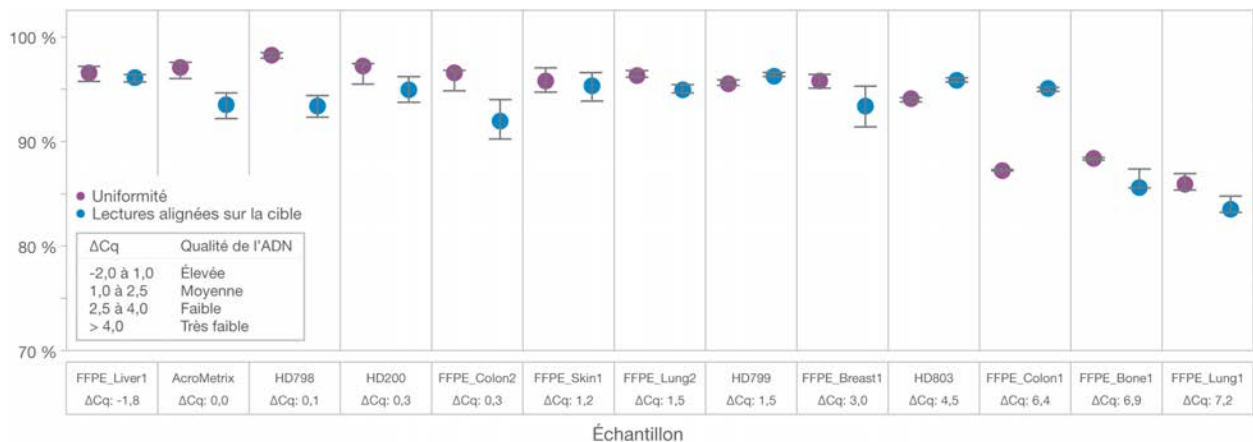


Figure 1 : Grande uniformité de couverture et exactitude de l'alignement : L'ADN extrait d'échantillons FFPE et HD de qualité variable a été préparé avec le panel ciblé AmpliSeq pour Illumina, et séquencé sur l'instrument. Les barres d'erreur indiquent la variabilité des réplicats techniques. La valeur ΔCq est un indicateur de la qualité de l'ADN provenant de tissus FFPE.

Couverture et sensibilité

Pour démontrer les capacités et la sensibilité du test, un échantillon de contrôle AcroMetrix, des échantillons Horizon Discovery (HD) et des échantillons provenant de tissu FFPE ont été évalués avec le panel ciblé dans les systèmes MiniSeq^{MC} et MiSeq^{MC}. Les résultats ont démontré une grande uniformité de couverture et des lectures alignées atteignant le pourcentage cible, même avec des échantillons de tissus de qualité variable et de types différents (Figure 1). De plus, la précision de la définition des variants a été évaluée pour des échantillons HD de différents niveaux de qualité. Les données obtenues montrent une concordance élevée entre la fréquence de variant prévue et celle détectée (Figure 2).

Détection des fusions géniques

Afin d'attester la capacité du panel ciblé AmpliSeq pour Illumina de reconnaître les variants structurels dans les transcrits d'ARN, des échantillons HD et l'échantillon de référence Seraseq Fusion RNA Mix v2 ont été évalués avec le panel dans les systèmes MiniSeq et MiSeq. Les résultats ont démontré un débit d'appel de 100 % pour les fusions de gènes dans ces échantillons (Tableau 4).

Tableau 4 : Débit élevé d'appel des fusions de gènes

Fusion	Nbre d'échantillons NON détectés	Nbre d'échantillons détectés	Débit d'appel
Source d'ARN : 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 %
Source d'ARN : Seraseq Fusion RNA Mix v2			
<i>CD74-ROS1</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>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 %

Deux échantillons d'ARN affichant des résultats de fusion positifs, HD784 et Seraseq Fusion RNA Mix v2, ont été utilisés pour générer des bibliothèques d'ARN avec le panel ciblé AmpliSeq pour Illumina, puis séquencés dans les systèmes MiniSeq et MiSeq.

Renseignements relatifs à la commande

Commandez en ligne les produits AmpliSeq pour Illumina sur le site www.illumina.com.

Produit	N° de référence
Panel ciblé AmpliSeq pour Illumina (24 réactions)	20019164
Librairie PLUS AmpliSeq pour Illumina (24 réactions)	20019101
Librairie PLUS AmpliSeq pour Illumina (96 réactions)	20019102
Librairie PLUS AmpliSeq pour Illumina (384 réactions)	20019103
Index doubles combinatoires AmpliSeq pour Illumina, ensemble A (96 index, 96 échantillons)	20019105
Synthèse d'ADNc AmpliSeq pour Illumina (96 réactions)	20022654
Panel de l'identifiant de l'échantillon AmpliSeq pour Illumina	20019162
ADN de tissus FFPE direct AmpliSeq pour Illumina	20023378
Librairie Equalizer AmpliSeq pour Illumina	20019171

En savoir plus

En savoir plus sur le [panel ciblé AmpliSeq pour Illumina](#)

En savoir plus sur la [solution de séquençage ciblé AmpliSeq pour Illumina](#)

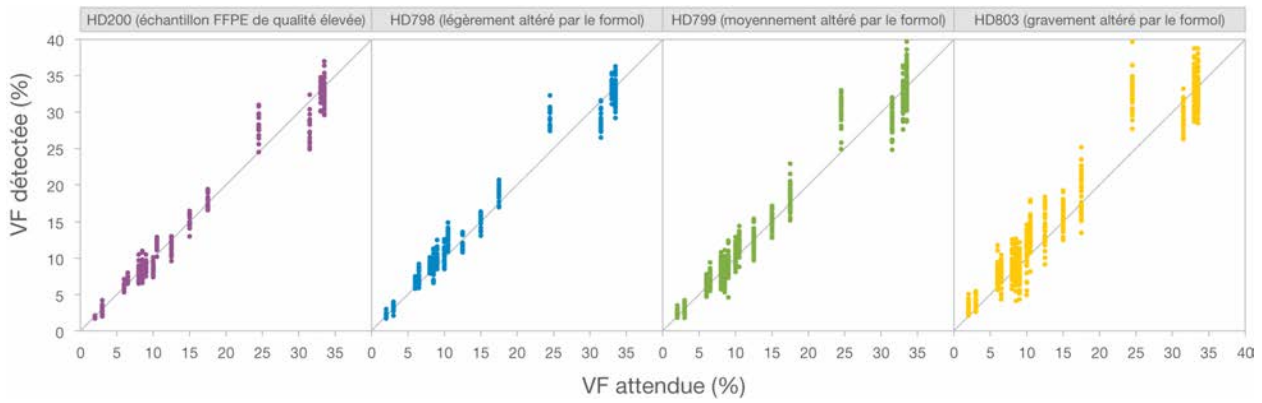


Figure 2 : Concordance élevée entre les fréquences de variants attendues et détectées : L'ADN provenant d'échantillons HD a été préparé avec le panel ciblé AmpliSeq pour Illumina et séquençé sur l'instrument. Les résultats démontrent que 100 % des SNV attendus ont été détectés. Les valeurs ΔCq sont présentées à la figure 1.