

Pannello Immune Response AmpliSeq™ for Illumina

Il pannello RNA è in grado di investigare 395 geni coinvolti nelle interazioni tra il tumore e il sistema immunitario.

Punti principali

• Contenuto del gene rilevante

Concentra gli studi su 395 geni che trasportano i biomarcatori del cancro e sono indicativi della risposta immunitaria alla terapia

• Flusso di lavoro veloce e ottimizzato

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

• Dati accurati

Rilevamento dell'espressione genica coinvolta nelle interazioni tra il tumore e la risposta immunitaria

Introduzione

La comprensione dell'espressione dei biomarcatori del cancro potrebbe permettere di predire il successo di determinati trattamenti immunoterapici.¹ Per contribuire a questi studi, Illumina offre il pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina, 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 (Polymerase Chain Reaction, PCR) AmpliSeq, la chimica di sequenziamento mediante sintesi (Sequencing By Synthesis, SBS) e la tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) Illumina e l'analisi automatizzata. 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 (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE). Il pannello Immune Response fa parte della soluzione di risequenziamento mirato AmpliSeq for Illumina e consente la valutazione veloce e accurata dell'espressione genica per studi in campo traslazionale e di ricerca clinica.

Contenuto del gene rilevante

Il contenuto del pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina 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 Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery (DAVID) e il registro dei trial clinici (clinicaltrials.gov). Il pannello ottenuto mira a 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 di ampliconi e nell'ottimizzazione delle prestazioni.

Tabella 1: Panoramica del pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina

| Parametro | Specifica |
|---|---|
| N. di geni | 395 |
| Target | Geni associati con la risposta immunitaria su diversi geni funzionali |
| Dimensione cumulativa dei 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 RNA input | 1-100 ng (sono raccomandati 10 ng) |
| N. di raggruppamenti in pool per pannello | 1 |
| Tipi di campione compatibili | Tessuti in FFPE |
| Durata totale del saggio ^a | 6 ore |
| Interventi manuali | Meno di 1,5 ore |
| Durata dall'RNA ai 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.

Dati in archivio presso Illumina, Inc. 2017



Per accedere a un elenco [completo dei geni presenti nel pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina](#)

Flusso di lavoro semplice e ottimizzato

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

La preparazione delle librerie inizia con la conversione dell'RNA totale in cDNA, seguito da protocollo ottimizzato basato sulla PCR che può essere completato in appena 6 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 sequenziate mediante la comprovata chimica SBS Illumina su un 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 DNA 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 il pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina

| Regolazione linfocitaria | Marker linfocitari |
|--|----------------------------------|
| Presentazione dell'antigene | Marker delle cellule B |
| Elaborazione dell'antigene | Cellula dendritica |
| Risposta immunitaria innata | Cellula dendritica, macrofaga |
| Inibizione leucocitaria | Cellule T Helper |
| Migrazione leucocitaria | Macrofago |
| Attivazione leucocitaria | Marker mieloide |
| Sviluppo leucocitario | Neutrofilo |
| Infiltrazione leucocitaria | 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 |

 Maggiori informazioni sui [sistemi di sequenziamento Illumina](#)

 Maggiori informazioni sui [sistemi informatici AmpliSeq for Illumina](#)

Tabella 3: Sistemi di sequenziamento Illumina raccomandati per il pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina

| Strumento | N. di campioni per corsa | Durata della corsa |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------|
| Sistema MiniSeq™ (Mid-Output) | 8 | 17 ore |
| Sistema MiniSeq (High-Output) | 24 | 24 ore |
| Sistema MiSeq (chimica v2) | 16 | 24 ore |
| Sistema MiSeq (chimica v3) | 24 | 32 ore |
| Sistema NextSeq (Mid-Output) | 96 | 26 ore |

Dati accurati

Il pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina consente di investigare 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 mediante il pannello Immune Response e il sistema NextSeq™. I risultati mostrano elevata concordanza ($R^2 = 0,98$) tra i due campioni (Figura 1).

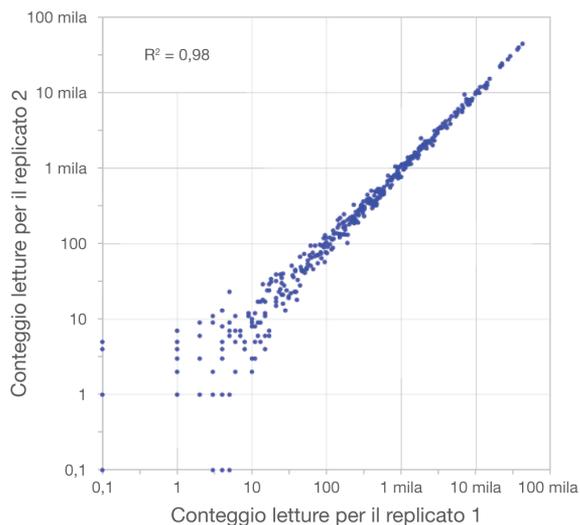


Figura 1: Elevata concordanza tra i replicati: le librerie sono state preparate utilizzando RNA isolato da tessuto polmonare e il pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina e infine sequenziate sul sistema NextSeq. Un grafico di riproducibilità mostra l'elevata correlazione tra i due replicati dello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

Informazioni per gli ordini

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

| Prodotto | N. di catalogo |
|---|----------------|
| Pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina (24 reazioni) | 20019169 |
| 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 |
| cDNA Synthesis AmpliSeq for Illumina (96 reazioni) | 20022654 |
| Pannello Sample ID AmpliSeq for Illumina | 20019162 |
| Direct FFPE DNA AmpliSeq for Illumina | 20023378 |
| Library Equalizer AmpliSeq for Illumina | 20019171 |

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sul [pannello Immune Response AmpliSeq for Illumina](#)

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

Bibliografia

1. 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.