

Pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq™ for Illumina

Un pannello mirato per l'analisi simultanea dei livelli di espressione di più di 20.000 geni umani RefSeq.

Punti principali

- **Rapida profilazione dell'espressione genica**
Librerie pronte in sei ore con meno di 1,5 ore di interventi manuali; risultati disponibili in meno di due giorni
- **Input di campione di scarsa qualità e in quantità limitata**
Dati di elevata qualità anche a partire da input minimo ottenuto da tessuti in FFPE
- **Soluzione dall'RNA all'analisi**
Un flusso di lavoro completo che va dalla preparazione delle librerie, al sequenziamento fino all'analisi

Introduzione

Il pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina è un saggio per il risequenziamento mirato che consente la quantificazione dell'espressione genica (Tabella 1). Partendo da appena 1 ng di RNA totale (sono raccomandati 10 ng), il pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina fornisce risultati sensibili e accurati per gli studi sull'espressione genica anche da campioni di scarsa qualità o in quantità limitata, inclusi i tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE).

Il pannello Transcriptome Human Gene Expression fa parte di un flusso di lavoro completo che include la preparazione delle librerie basate sulla reazione di polimerizzazione a catena (Polymerase Chain Reaction, PCR) AmpliSeq for Illumina, 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. L'utilizzo di questo flusso di lavoro ottimizzato consente ai ricercatori di concentrare i propri studi sulle regioni codificanti l'RNA, di ridurre i requisiti di input e di ottenere al contempo risultati accurati e altamente sensibili.

Copertura dei geni rilevanti

Il pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina fornisce una copertura completa delle sequenze codificanti l'RNA. Il pannello è composto da singole provette per singoli raggruppamenti in pool ed include più di 20.000 ampliconi progettati sul genoma di riferimento NCBI37/hg19. Questo consente di coprire più del 95% dei geni RefSeq. 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 Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina

Parametro	Specifica
N. di geni	Più di 20.000 (più del 95% del database di geni umani RefSeq)
Dimensione cumulativa dei target	2,2 Mb
Tipi di varianti	Espressione genica differenziale, fusione genica
Dimensione amplicone	104 bp (in media)
N. di ampliconi	20.802
Requisito di RNA input	1-100 ng (sono raccomandati 10 ng)
N. di raggruppamenti in pool per pannello	1
Tipi di campioni supportati	Tessuto in FFPE, sangue
Percentuale di letture allineate	> 80%
Durata totale del saggio	6 ore ^a
Interventi manuali	< 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

Flusso di lavoro semplice e ottimizzato

Il pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina consente la profilazione simultanea dell'espressione genica di più di 20.000 distinti geni umani in un singolo raggruppamento in pool. Come parte di una soluzione completa il pannello 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, seguita da un 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 sono sequenziate mediante la comprovata chimica SBS su un sistema di sequenziamento Illumina (Tabella 2).

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 RNA Amplicon ed eseguire la profilazione dell'espressione genica.



Per maggiori informazioni sulle soluzioni informatiche Illumina, visitate la pagina Web www.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/informatics.html

Tabella 2: Sistemi di sequenziamento Illumina raccomandati per il pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina

Strumento	Campioni per corsa	Durata della corsa
Sistema MiniSeq™ (High-Output)	3	24 ore
Sistema MiSeq™ (chimica v3)	3	32 ore
Sistema NextSeq (Mid-Output)	12	26 ore
Sistema NextSeq (High-Output)	40	29 ore



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

Dati accurati

Il pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina consente ai ricercatori di analizzare l'espressione genica differenziale sul trascrittoma. Per dimostrare la riproducibilità del saggio, l'RNA isolato da tessuto cerebrale è stato analizzato in duplicati utilizzando il pannello Transcriptome e il sistema NextSeq™. I risultati mostrano un'elevata concordanza ($R^2 = 0,98$) tra i due campioni (Figura 1).

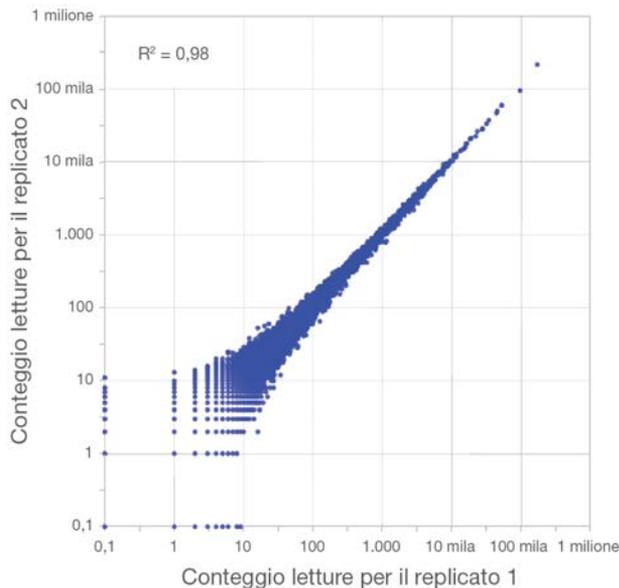


Figura 1: Elevata concordanza tra i replicati: le librerie sono state preparate utilizzando RNA isolato da tessuto cerebrale e il pannello Transcriptome Gene Expression AmpliSeq for Illumina, quindi sequenziate sul sistema NextSeq. Un grafico di riproducibilità mostra l'elevata correlazione tra i due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

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sul pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina, visitate la pagina Web www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-transcriptome-gene-expression-panel.html

Per maggiori informazioni sulla soluzione di risequenziamento mirato AmpliSeq for Illumina, consultate la panoramica alla pagina Web www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/ampliseq-for-illumina-targeted-resequencing-solution-data-sheet-770-2017-022.pdf

Informazioni per gli ordini

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

Prodotto	N. di catalogo
Pannello Transcriptome Human Gene Expression AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)	20019170
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)	20019101
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (96 reazioni)	20019102
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (384 reazioni)	20019103
Indici CD AmpliSeq for Illumina - set A (96 indici, 96 campioni)	20019105
Sintesi cDNA AmpliSeq for Illumina (96 reazioni)	20022654
Pannello ID campioni AmpliSeq for Illumina	20019162
DNA in FFPE diretto AmpliSeq for Illumina	20023378