

Identificazione del campione con AmpliSeq™ for Illumina Sample ID Panel

Il prodotto opzionale offre
l'identificazione del campione da
utilizzare con qualsiasi pannello
AmpliSeq for Illumina

illumina®

Introduzione

AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel è un componente opzionale di AmpliSeq for Illumina Sequencing Solution. Compatibile con qualsiasi pannello di DNA umano AmpliSeq for Illumina, il Sample ID Panel consente un'identificazione rapida e accurata del campione. AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel è incluso come parte del contenuto genico del pannello in alcuni pannelli fissi AmpliSeq for Illumina. Per tutti gli altri pannelli, inclusi quelli personalizzati e progettati dalla comunità scientifica, è disponibile come accessorio ([Tabella 1](#)).

Contenuto del pannello

AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel è costituito da otto coppie di primer che mirano al polimorfismo di singolo nucleotide (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) e da una coppia di primer discriminanti di genere ([Tabella 2](#)). Le coppie di primer del Sample ID Panel possono essere aggiunte prima dell'amplificazione del template al fine di generare un'impronta o una firma univoca per ciascun campione.

Potere di discriminazione dei campioni

AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel può assicurare un potere di discriminazione del campione pari a circa 1:5.000. Questo potere di discriminazione presuppone la completa indipendenza tra gli SNP, la piena conformità alle ipotesi di Hardy-Weinberg e nessuna o errata identificazione di genotipizzazione dell'ID campione mancante. Il potere di discriminazione effettivo può variare. Se le dimensioni dello studio sono inferiori a 5.000 campioni indipendenti e non correlati, il Sample ID Panel può identificare e discriminare accuratamente ogni campione nello studio.

Flusso di lavoro integrato e ottimizzato

AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel richiede solo l'aggiunta di due fasi a qualsiasi flusso di lavoro del pannello AmpliSeq for Illumina: aggiunta di primer del Sample ID Panel preparati alla reazione di amplificazione target e selezione per includere il Sample ID Panel nell'analisi dei dati. Oltre a queste fasi aggiuntive, la preparazione delle librerie, il sequenziamento e l'analisi dei dati possono procedere senza ulteriori modifiche al flusso di lavoro per il pannello AmpliSeq for Illumina utilizzato. Le guide di riferimento per tutti i pannelli includono le istruzioni per l'utilizzo del Sample ID Panel.

Tabella 1: panoramica sulla disponibilità del Sample ID Panel

Sample ID Panel incluso	Sample ID Panel disponibile come accessorio
BRCA Panel	Cancer Hotspot Panel v2
Comprehensive Panel v3	Comprehensive Cancer Panel
Myeloid Panel	Focus Panel
	Pannelli DNA progettati dalla comunità scientifica
	Pannelli su richiesta
	Pannelli DNA personalizzati (umani)

Interpretazione dei dati

AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel assegna a ogni campione una firma, rappresentata da un codice di nove lettere. La prima lettera del codice indica l'identificazione del genere per il campione. Le lettere rimanenti del codice indicano i genotipi identificati negli otto SNP nel pannello ([Tabella 3](#)). Ad esempio, al campione di DNA NA12878 verrebbe assegnato FYGACRCRW e al campione di DNA NA12877 verrebbe assegnato MCTGYRSAW.

L'output dell'analisi del Sample ID Panel può essere visualizzato in tre formati: un file *.txt con i soli codici a nove lettere, un file *.vcf con informazioni più dettagliate per un'ulteriore analisi a valle e un file *.csv (compatibile con Excel) con i codici delle firme e informazioni dettagliate per facilitare la visualizzazione.

Identificazione accurata del campione

Per dimostrare l'accuratezza di AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel, le librerie sono state preparate da 12 campioni biologici (quattro replicati per campione) utilizzando AmpliSeq for Illumina Comprehensive Cancer Panel con l'aggiunta di Sample ID Panel durante la preparazione delle librerie. L'output dei dati del Sample ID Panel ha mostrato che tutti i replicati per ciascun campione hanno la stessa firma, come previsto ([Figura 1](#)).

Tabella 2: contenuto del Sample ID Panel

Codice	Cromosoma	Inizio	Fine	ID	Allele di rif.	Allele alt
1	X	113114957	11315075	AMELX		
1	Y	6737913	6737999	AMELY		
2	3	193207380	193207380	rs6444724	T	C
3	4	169663615	169663615	rs6811238	T	G
4	5	178690725	178690725	rs338882	G	A
5	7	137029838	137029838	rs321198	T	C
6	10	17193346	17193346	rs3780962	A	G
7	12	6945914	6945914	rs2269355	C	G
8	18	9749879	9749879	rs9951171	G	A
9	22	33559508	33559508	rs987640	T	A

Tabella 3: codice della firma Sample ID Panel

Identificazione genotipi	Codice (IUPAC)	Identificazione genotipi	Codice (IUPAC)
AC	M	GT	K
AG	R	AA	A
AT	W	CC	C
CG	S	GG	G
CT	Y	TT	T
Nessuna identificazione	N		
Identificazione genere	Codice		
Maschio	M		
Femmina	F		
Nessuna identificazione	N		

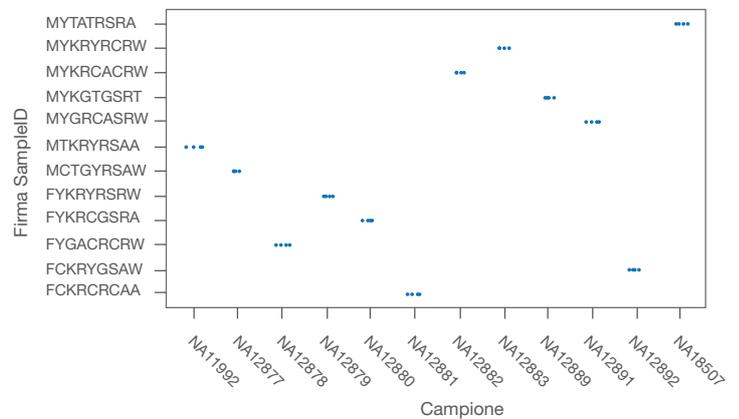


Figura 1: identificazione accurata del campione con Sample ID Panel. Il Sample ID Panel è stato incluso come parte della preparazione della libreria e del sequenziamento con AmpliSeq for Illumina Comprehensive Cancer Panel. L'analisi mostra che i replicati per ciascuno dei 12 campioni biologici hanno tutti la stessa firma dell'ID campione.

Applicazioni del Sample ID Panel

AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel offre il monitoraggio dei campioni per varie applicazioni di sequenziamento, tra cui:

- **Più campioni dello stesso individuo.** Il Sample ID Panel consente il monitoraggio dei campioni per i campioni multi-tessuto raccolti dallo stesso individuo o di più campioni raccolti nel tempo per gli studi longitudinali
- **Campioni da individui strettamente correlati.** Il Sample ID Panel può essere utilizzato per identificare e monitorare campioni raccolti da individui strettamente correlati (ad es. fratelli/sorelle), in quanto le firme saranno notevolmente simili
- **Campioni tumorali/normali accoppiati.** Il Sample ID Panel può essere utilizzato per la verifica e il monitoraggio dei campioni tumorali e normali dello stesso individuo; le mutazioni nel campione di tumore possono determinare una firma incoerente

Risoluzione dei problemi del Sample ID Panel

Sono previste alcune potenziali difficoltà nell'interpretazione dei risultati del Sample ID Panel e vengono fornite possibili soluzioni (Tabella 4).

Tabella 4: risoluzione dei problemi del Sample ID Panel

Osservazione	Possibile causa	Soluzione
Numerose "Identificazioni non riuscite" (Ns) nella firma	Il Sample ID Panel non è stato aggiunto correttamente al pool di primer	Ripetere la preparazione della libreria con la corretta aggiunta del Sample ID Panel
	Gli ampliconi SampleID avevano una bassa copertura	Controllare la copertura nel file *.csv SampleID
Firma incoerente dei campioni dello stesso individuo	Contaminazione del campione	Evitare la contaminazione incrociata quando si aggiungono o si trasferiscono campioni e durante la preparazione della PCR
	Bassa copertura per gli ampliconi SampleID	Controllare la copertura nel file *.csv SampleID
	Mutazioni nel campione di tumore	Sequenziamento aggiuntivo per conferma

Riepilogo

AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel è un componente opzionale di AmpliSeq for Illumina Sequencing Solution. Compatibile con qualsiasi pannello AmpliSeq for Illumina, il Sample ID Panel presenta un flusso di lavoro integrato e ottimizzato con l'aggiunta di una sola fase durante la preparazione delle librerie e l'analisi automatizzata dei dati. Con un potere di discriminazione pari a circa 1:5.000, AmpliSeq for Illumina Sample ID Panel fornisce un valore aggiunto per l'identificazione e il monitoraggio di campioni per varie applicazioni di sequenziamento.

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 Sample ID Panel (96 reactions)	20019162

Maggiori informazioni

Per AmpliSeq for Illumina Sequencing Solution fare riferimento alla pagina illumina.com/products/by-brand/ampliseq.html

Bibliografia

1. Pakstis AJ, Speed WC, Fang R, et al. *SNPs for a universal individual identification panel*. *Hum Genet.* 2010;127(3): 315-324. doi:10.1007/s00439-009-0771-1.
2. Coriell Institute for Medical Research. coriell.org. Consultato a settembre 2018.



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 web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01513 ITA v1.0