

Los kits OGB producidos por Sequencing Multiplex SL (Seqplexing) permiten la rápida generación de librerías para Secuenciación de Nueva Generación (NGS).

- El protocolo es sencillo y se basa en una amplificación de las regiones de interés y la reamplificación-marcado de estas regiones con las secuencias necesarias para la reacción de NGS (Ver Figura 1).
- Las librerías pueden obtenerse en unas 5 horas con menos de 10 minutos de trabajo manual.
- Las librerías obtenidas tienen una baja tasa de error en la secuenciación y tienen una alta especificidad (más del 97% de las lecturas corresponden a las regiones de interés).
- Cada kit está diseñado para analizar mutaciones somáticas y germinales en genes o regiones "hot spot" de diferentes genes que tienen utilidad en la clínica.

PROTOCOLO

El protocolo para nuestros kits es muy sencillo y se basa en 4 puntos:

- Añadir el ADN problema a las mezclas de reacción 1.
- Realizar ciclos de PCR 1.
- Añadir los productos de la primera PCR en la mezcla de reacción 2
- Realizar ciclos de PCR 2.

Una vez finalizada la PCR2 ya tendríamos la librería para proceder a su secuenciación. Las librerías pueden visualizarse de forma sencilla mediante Qiaxcel (Qiagen), gel de agarosa, etc.

CONTACTO:

www.seqplexing.com
e-mail: info@seqplexing.com
Tel: +34 96 354 32 63

VENTAJAS

Mínimo tiempo de trabajo manual: menos de 10 minutos, uso de mezclas "ready to use".

Mínima manipulación. Reduce el riesgo de errores y contaminaciones. Uso de mezclas "ready to use".

Alta sensibilidad. Detección de variantes presentes hasta un 1% de las copias.

Muestras: Resultados positivos a partir de 10 ng de ADN obtenido de muestras parafinadas, sangre, saliva, etc.

Especificidad: más del 97% de las lecturas corresponden a las regiones de interés lo que supone una reducción de costes al reducir la lecturas necesarias.

Alto valor clínico. Detección de todas las mutaciones relevantes para cada uno de los genes o estudios de interés.

Compatible con el sistema Nextera de Illumina®.

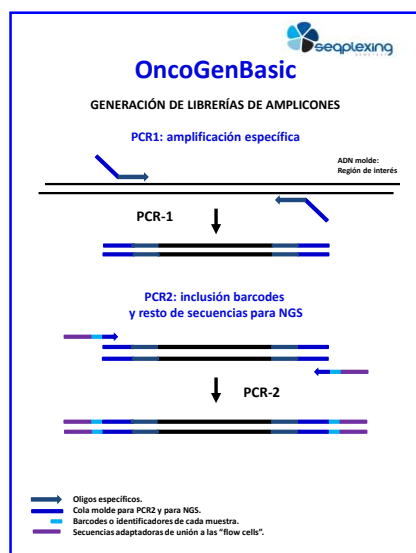


Figura 1: Esquema del procedimiento de generación de librerías.

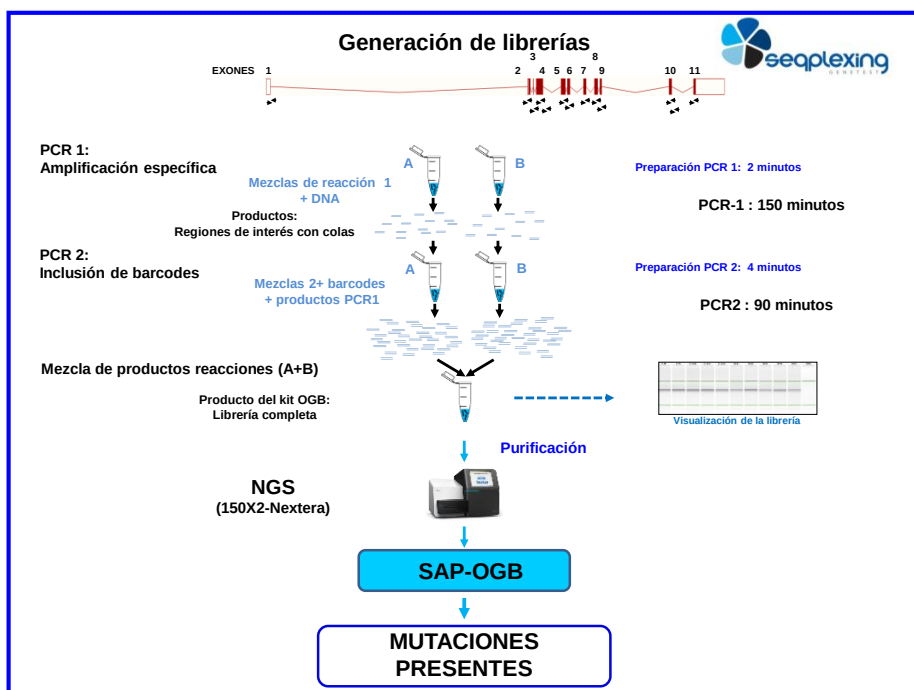


Figura 2: Esquema del procedimiento completo.

Gen TP53



Regiones del gen TP53 analizadas: regiones codificantes (negro) y zonas de splicing en regiones no codificantes (gris)

IMPORTANCIA DE MUTACIONES EN TP53

Mutaciones en el gen TP53 son muy frecuentes en diferentes tipos de tumores, estimándose que más del 50% tienen este gen mutado. Por otro lado, mutaciones germinales causan el síndrome de Li-Fraumeni (OMIN 151623).

La detección de mutaciones en TP53 es cada vez más relevante para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de numerosos tumores. Así, es muy importante la detección de mutaciones de TP53 por su implicación en la resistencia o sensibilidad a tratamientos en Leucemia Linfática Crónica (LLC), Leucemia Mieloide Aguda (LMA), síndromes mielodisplásicos, etc. Además, muchos tumores tienen un peor pronóstico si presentan mutaciones en TP53. La identificación de mutaciones de TP53 es esencial para administrar diferentes tratamientos según directivas de la FDA y MDA.

Además, se están desarrollando nuevas estrategias de tratamiento que implican a TP53 en diferentes tipos de tumores (colon, pulmón, LLC, LMA, etc.).

OGB para el gen TP53 permite generar librerías de NGS y la identificación de mutaciones puntuales que afecten a este gen en las regiones codificantes y en las regiones de splicing contiguas a todos los exones.

El procedimiento para generar estas librerías es sencillo y rápido. Se basa en amplicones que cubren todas las regiones de interés. El kit origina las librerías mediante dos PCRs multiplex consecutivas.

El protocolo es muy sencillo y rápido:

- Añadir el ADN problema a las mezclas de reacción "ready to use": PCR1-A y PCR1-B.
- Realizar los ciclos de PCR.
- Añadir el correspondiente producto de la PCR1 directamente (**no hace falta purificarlo**) a las reacciones PCR2-A y PCR2-B.
- Realizar los ciclos de PCR y mezclar los productos.

La mezcla obtenida a partir de la PCR2 es la librería para secuenciar según los protocolos de Illumina.

Tras la reacción se analizan los datos con nuestro software Small Amplicons Platform (SAP-OGB) para identificar las mutaciones presentes en cada muestra.

OncoGenBasic TP53



PCR 1: Amplificación específica

Mezclas de reacción 1 + DNA
Productos:
Regiones de interés con colas

PCR 2: Inclusión de barcodes

Mezclas 2+ barcodes + productos PCR1

Mezcla de productos reacciones (A+B)

Producto del kit OGB:
Librería completa

Purificación

NGS
(150X2-Nextera)

SAP-OGB

MUTACIONES
PRESENTES

Preparación PCR 1: 2 minutos

PCR-1 : 150 minutos

Preparación PCR 2: 4 minutos

PCR2 : 90 minutos



REF. PRODUCTO RUO
(uso exclusivo en investigación)
OG-TP53-24

PRODUCTOS RELACIONADOS

PRODUCTO	REFERENCIA
OG-TP53-NB	OG-TP53-NB-24/48
OG-P1	OG-P1-24/96
OG-P2	OG-P2-24/96
OG-BC-01 02/03/04	OG-BC-01/02/03/04

CONTACTO:

www.seqplexing.com

e-mail: info@seqplexing.com

Tel: +34 96 35432 63