

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](http://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®.

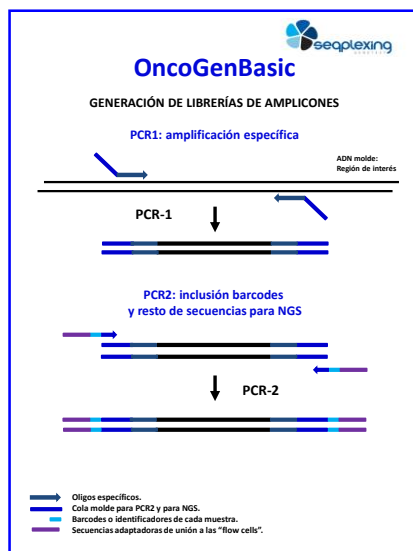


Figura 1: Esquema del procedimiento de generación de librerías.

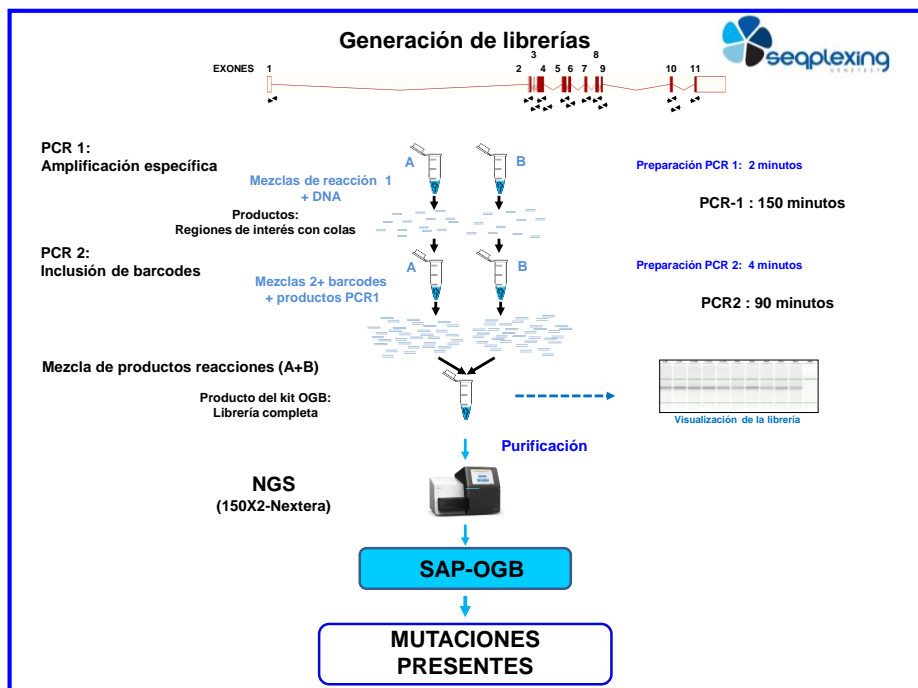


Figura 2: Esquema del procedimiento completo.

## Análisis de mutaciones en las regiones “hot spot” de los genes AKT1 y PIK3CA

### IMPORTANCIA DE MUTACIONES

Mutaciones en los genes AKT1 y PIK3CA se presentan en porcentajes variables en diferentes tipos de tumores. Las mutaciones en estos genes se han implicado en la patogénesis en cáncer de colon, gástrico, de mama, endometrio y pulmón mayoritariamente. Las proteínas producidas por estos genes tienen un papel central en el sistema PI3K-AKT-mTOR, que tiene implicaciones en crecimiento, proliferación y supervivencia celular.

Las mutaciones presentes en estos genes se centran en determinadas regiones que tienen un efecto pro-cancerígeno. Estas regiones son:

GEN	EXONES
AKT	3, 4, 11, 13
PIK3CA	2-7, 9,21

Las mutaciones en las regiones indicadas tienen implicaciones importantes en el tratamiento de los tumores en base a la presencia o ausencia de mutaciones en estos genes. El estudio de estos dos genes, o de alguno de ellos, es necesario para el tratamiento con determinados fármacos según normas de la FDA y la EMA.

OG-P2 permite generar librerías de NGS y la identificación de mutaciones puntuales somáticas en las regiones “hot spot” de los genes AKT1 y PIK3CA

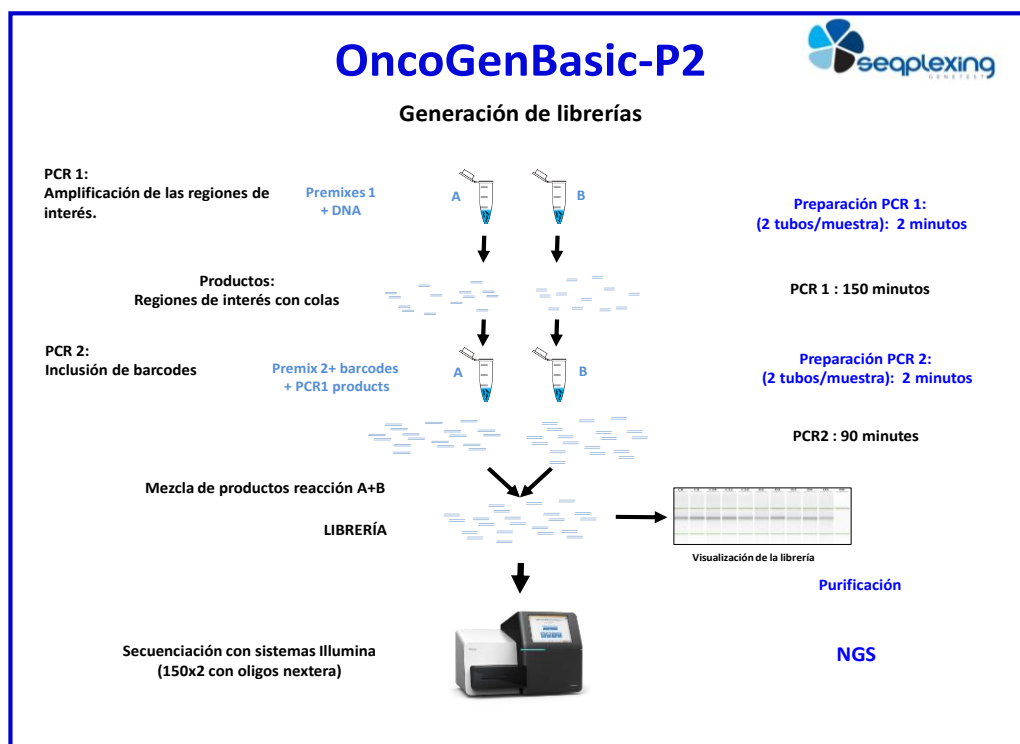
El procedimiento para generar estas librerías es sencillo y rápido. Se basa en amplicones que cubren las regiones de interés. El kit origina las librerías mediante dos PCRs multiplex consecutivas.

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 lista para utilizarse según los protocolos de NGS de sistemas Illumina.

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



REF. PRODUCTO RUO  
(uso exclusivo en investigación)  
OG-P2-24

### PRODUCTOS RELACIONADOS

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

CONTACTO:

[www.seqplexing.com](http://www.seqplexing.com)  
e-mail: [info@seqplexing.com](mailto:info@seqplexing.com)  
Tel: +34 96 35432 63