

Panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq™ for Illumina

Panel de ARN específico para la caracterización de la diversidad de receptores de linfocitos T.

Puntos destacados

- **Contenido genético de alto valor**
Obtenga una cobertura completa de las secuencias de las cadenas beta de los receptores de linfocitos T.
- **Flujo de trabajo rápido y optimizado**
Prepare bibliotecas listas para secuenciación en un solo día a partir de sangre completa, tejidos frescos/congelados o células de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS).
- **Poca cantidad de entrada necesaria**
Genere bibliotecas de secuenciación de alta calidad con solo 10 ng de ARN de entrada.

Introducción

El receptor del linfocito T (RLT) es un heterodímero transmembrana que permite que los linfocitos T reconozcan y respondan a material "extraño". La gran mayoría de RLT consta de una cadena alfa y beta que contiene regiones determinantes de complementariedad (RDC). La diversidad de receptores de linfocitos T (RLT) describe el potencial de un pequeño conjunto de genes para codificar las RDC dentro del RLT con el objeto de crear 10^{12} clonotipos de linfocitos T de más (poblaciones de linfocitos T que expresan RDC idénticas) mediante recombinación, inserción aleatoria, eliminación y sustitución.¹ La diversidad de RLT desempeña un papel crucial en la defensa anfitriona. La investigación de esta diversidad puede resultar útil para comprender la función inmunitaria, las enfermedades autoinmunitarias y los efectos adversos en los que interviene el sistema inmunitario.

El panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina es un panel de resecuenciación selectivo altamente multiplexado que se ha concebido para medir la diversidad de linfocitos T y la expansión clonal mediante la secuenciación de las reordenaciones de la cadena beta de los RLT (Tabla 1). Con ayuda de un solo grupo de cebadores de PCR multiplexada, reactivos de bibliotecas y códigos de barras de muestras, pueden generarse bibliotecas a partir de ARN extraído de sangre completa, tejido fresco/congelado o células FACS para su secuenciación en sistemas de secuenciación de Illumina compatibles.

Contenido genético de alto valor

El panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina ofrece cobertura de la cadena beta de los RLT, con amplicones con una longitud de lectura de aproximadamente 325 pb para una caracterización completa de las tres RDC (RDC1, RDC2 y RDC3).

Gracias a este panel listo para usar, los investigadores ahorran tiempo y esfuerzo en la identificación de objetivos, el diseño de amplicones y la optimización del rendimiento.

Tabla 1: Resumen de panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina

Parámetro	Especificación
N.º de genes	Variable
Objetivos	Cadena beta de RLT, incluidas RDC1, RDC2 y RDC3
Tamaño del amplicón	Aprox. 325 pb
N.º de amplicones	Variable
Cantidad necesaria de ADN/ARN de entrada	10-1000 ng
N.º de grupos por panel	1
Tipos de muestras compatibles	Sangre, tejido fresco/congelados y células FACS
Duración total del ensayo ^a	5-6 horas
Tiempo de participación activa	<1,5 horas
Tiempo de conversión de ADN a datos	2,5 días

a. El tiempo refleja únicamente la preparación de bibliotecas, sin incluir su cuantificación, normalización o agrupación

Flujo de trabajo sencillo y optimizado

El panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina forma parte de una solución de ARN a resultados que ofrece una preparación sencilla de bibliotecas, sistemas de secuenciación con solo pulsar un botón y análisis simplificados de los datos.

La preparación de bibliotecas comienza con la conversión de ARN total en ADNc, seguida de un sencillo protocolo basado en PCR que puede completarse en tan solo cinco horas, con un tiempo de participación activa inferior a una hora y media. Las bibliotecas resultantes pueden normalizarse, agruparse y, posteriormente, cargarse en una celda de flujo para su secuenciación. Esta última se efectúa mediante los procesos químicos probados de secuenciación por síntesis (SBS) en un sistema de secuenciación de Illumina compatible (Tabla 2).

Los datos resultantes se pueden transmitir fácilmente en BaseSpace™ Sequence Hub para su análisis. La aplicación MiXCR Immune Repertoire Analyzer en BaseSpace Sequence Hub permite un procesamiento rápido y preciso de los datos de secuenciación de las bibliotecas de los receptores de linfocitos T y B. Alinea las lecturas con los segmentos de líneas germinales, une los clonotipos y corrige los errores de secuenciación y PCR. La información resultante ofrece datos detallados sobre las mutaciones, la alineación y las asignaciones de segmentos de líneas germinales.

Tabla 2: Sistemas de secuenciación de Illumina que se recomienda utilizar con el panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina

Instrumento
MiniSeq™ System (rendimiento medio)
MiniSeq System (rendimiento elevado)
MiSeq™ System (procesos químicos v2)
MiSeq System (procesos químicos v3)
Sistema NextSeq™ 550

Datos precisos

El panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina permite la investigación de la diversidad de RLT en la función inmunitaria. Para demostrar las capacidades del ensayo, las muestras se analizaron con el panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina, el sistema NextSeq 550 y la aplicación MiXCR Immune Repertoire Analyzer. Los resultados revelan que las muestras con clones de repertorios inmunológicos productivos (leucocitos y células Jurkat) presentan una alta utilización de lectura; mientras que un tipo de muestra con prácticamente ninguna expresión de objetivos de repertorio inmunológico (tejido cerebral) presenta una baja utilización de lectura (Figura 1).

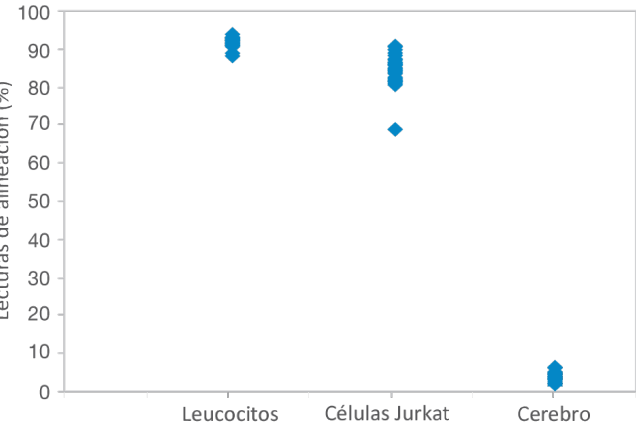


Figura 1: Utilización de lectura productiva: Las bibliotecas se prepararon con el panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina, se secuenciaron en el sistema NextSeq 550 y se analizaron con la aplicación MiXCR. El ADN de entrada de los clones de repertorio inmunológico productivos (leucocitos y células Jurkat) muestra una alta utilización de lectura en comparación con el ADN de entrada de una muestra sin prácticamente expresión de objetivos de repertorio inmunológico (tejido cerebral), que presenta una baja utilización de lectura. Las barras de error indican la variabilidad de los duplicados técnicos.

Información adicional

Para obtener más información acerca del panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina, visite www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-immune-repertoire-panel.html.

Para obtener más información acerca de la solución de resecuenciación selectiva AmpliSeq for Illumina, lea el resumen que encontrará en www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/ampliseq-for-illumina-targeted-resequencing-solution-data-sheet-770-2017-022.pdf.

Datos para realizar pedidos

Puede solicitar en línea los productos AmpliSeq for Illumina en la página www.illumina.com.

Producto	N.º de catálogo
Panel de repertorio inmunológico Plus (RLT beta) AmpliSeq for Illumina (24 reacciones)	20024479
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (24 reacciones)	20019101
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (96 reacciones)	20019102
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (384 reacciones)	20019103
Juego A de índices AmpliSeq for Illumina CD (96 índices, 96 muestras)	20019105
Síntesis de ADNc con AmpliSeq for Illumina (96 reacciones)	20022654

Referencias

- Laydon DJ, Bangham CRM, Asquith B. Estimating T-cell repertoire diversity: limitations of classical estimators and a new approach. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2015;370(1675):20140291.