

Panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq^{MC} pour Illumina

Panel ciblant l'ARN pour caractériser la diversité des récepteurs des cellules T.

Points forts

- **Contenu génétique de grande qualité**
Obtention de la couverture complète des séquences de la chaîne bêta des récepteurs des cellules T
- **Flux de travail rapide et efficace**
Préparation des librairies prêtes au séquençage en une seule journée à partir de sang entier, de tissus frais/congelés ou de cellules provenant du triage de cellules marqué par fluorescence (FACS)
- **Faible exigence relative à l'entrée**
Génération de librairies de séquençage de qualité élevée avec aussi peu que 10 ng d'ARN

Ce panel prêt à utiliser permet aux chercheurs d'économiser du temps et de l'énergie pour l'identification des cibles, la conception des amplicons et l'optimisation de la performance.

Tableau 1 : Aperçu du panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina

Paramètre	Caractéristique
Nbre de gènes	Variable
Cibles	Chaîne bêta des TCR, y compris RDC1, RDC2 et RDC3
Taille de l'amplicon	~ 325 pb
Nbre d'amplicons	Variable
ADN/ARN d'entrée requise	10 à 1 000 ng
Nbre de regroupements par panel	1
Types d'échantillons pris en charge	Sang, tissus frais/congelés, cellules du FACS
Durée totale du test ^a	5 à 6 heures
Durée de manipulation	< 1,5 heure
Durée, de l'ADN aux données	2,5 jours

a. La durée représente la préparation des librairies uniquement et ne comprend pas leur quantification, leur normalisation ni leur regroupement.

Introduction

Le récepteur des cellules T (TCR) est un hétérodimère transmembranaire qui permet aux cellules T de reconnaître et de réagir à une matière étrangère au corps. La plupart des récepteurs des cellules T sont constitués d'une chaîne alpha et d'une chaîne bêta possédant des régions déterminant la complémentarité (RDC). La diversité des récepteurs des cellules T (TCR) définit la capacité d'un petit ensemble de gènes à encoder ces zones à l'intérieur du TCR afin de produire un excédant de 10^{12} clonotypes de cellules T (populations de cellules T exprimant des TCR identiques) par recombinaison, insertion aléatoire, suppression et substitution¹. La diversité des TCR joue un rôle essentiel dans la défense de l'hôte. L'étude de cette diversité peut s'avérer utile à la compréhension de la fonction immunitaire, des maladies auto-immunes et des réactions indésirables à médiation immunitaire (RIM).

Le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina est un panel de réséquençage ciblé hautement multiplexé conçu pour mesurer la diversité des cellules T et l'expansion clonale par le séquençage des réarrangements de la chaîne bêta des TCR (Tableau 1). En vue du séquençage sur un système de séquençage compatible d'Illumina, les librairies peuvent être générées à partir d'ARN provenant de sang entier, de tissus frais/congelés ou de cellules provenant du FACS en utilisant un seul regroupement de primers PCR multiplexes, de réactifs pour librairies et de codes à barres d'échantillons.

Contenu génétique de grande qualité

Le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina permet une couverture de la chaîne bêta des TCR avec une longueur de lecture d'amplicons d'environ 325 pb pour obtenir une caractérisation complète des trois régions déterminant la complémentarité (RDC1, RDC2 et RDC3).

Flux de travail simple et rationalisé

Le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina fait partie d'une solution de l'ARN aux résultats qui offre une préparation facile des librairies, des systèmes de séquençage à boutons de commande et une analyse des données simplifiée.

La préparation de librairies commence par la conversion de l'ARN complet en ADNc, suivie par un protocole simple basé sur la PCR pouvant se faire en 5 heures seulement, avec moins de 1,5 heure de manipulation. Les librairies obtenues peuvent être normalisées, regroupées, puis chargées sur une Flow Cell aux fins du séquençage. Les librairies préparées sont séquencées au moyen de la chimie éprouvée de séquençage par synthèse (SBS), dans un système de séquençage compatible d'Illumina (Tableau 2).

Les données obtenues peuvent être facilement transmises dans BaseSpace^{MC} Sequence Hub pour l'analyse. L'application MiXCR Immune Repertoire Analyzer de BaseSpace Sequence Hub permet un processus de séquençage rapide et précis des données provenant des librairies de récepteurs des cellules T et B. Elle permet l'alignement des lectures en fonction des segments germinaux, l'assemblage des clonotypes et la correction des erreurs de séquençage et de PCR. Les résultats fournissent des renseignements détaillés sur les positions des segments germinaux, l'alignement et les mutations.

Tableau 2 : Systèmes de séquençage Illumina dont l'utilisation est recommandée avec le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina

Instrument
Système MiniSeq ^{MC} (débit moyen)
Système MiniSeq (débit élevé)
Système MiSeq ^{MC} (chimie v2)
Système MiSeq (chimie v3)
Système NextSeq ^{MC} 500

Données exactes

Le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina permet l'étude de la diversité des TCR de la fonction immunitaire. Afin de démontrer les capacités du test, des échantillons ont été évalués avec le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina, le système NextSeq 550 et l'application MiXCR Immune Repertoire Analyzer. Les résultats montrent que les échantillons comportant des clones productifs du répertoire immunitaire (leucocytes et cellules Jurkat) ont un taux élevé d'utilisation pour la lecture, alors qu'un type d'échantillon exprimant peu ou pas les cibles du répertoire immunitaire (tissus cérébraux) ont un faible taux d'utilisation pour la lecture (Figure 1).

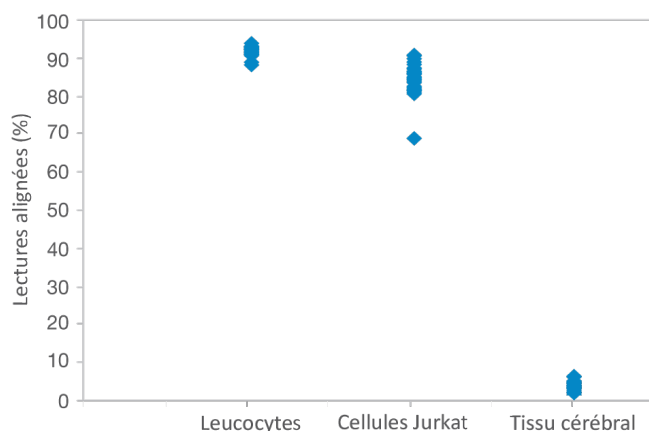


Figure 1 : Utilisation productive pour la lecture : Les librairies ont été préparées avec le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina, séquençées dans le système NextSeq 550, puis analysées à l'aide de l'application MiXCR. L'ADN d'entrée provenant des clones productifs du répertoire immunitaire (leucocytes, cellules Jurkat) montre un taux élevé d'utilisation pour la lecture, contrairement à l'ADN d'entrée provenant d'un échantillon exprimant peu ou pas les cibles du répertoire immunitaire (tissus cérébraux), lequel montre un faible taux d'utilisation pour la lecture. Les barres d'erreur indiquent la variabilité des réplicats techniques.

En savoir plus

Pour en savoir plus sur le panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina, visitez le site www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-immune-response-panel.html.

Pour en savoir plus sur la solution de reséquençage ciblé AmpliSeq pour Illumina, lisez l'aperçu à l'adresse www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/ampliseq-for-illumina-targeted-resequencing-solution-data-sheet-770-2017-022.pdf.

Renseignements relatifs à la commande

Commandez en ligne les produits AmpliSeq pour Illumina sur le site www.illumina.com.

Produit	N° de référence
Panel des TCR bêta, répertoire immunitaire plus AmpliSeq pour Illumina (24 réactions)	20024479
Librairie PLUS AmpliSeq pour Illumina (24 réactions)	20019101
Librairie PLUS AmpliSeq pour Illumina (96 réactions)	20019102
Librairie PLUS AmpliSeq pour Illumina (384 réactions)	20019103
Index doubles combinatoires AmpliSeq pour Illumina, ensemble A (96 index, 96 échantillons)	20019105
Synthèse d'ADNc AmpliSeq pour Illumina (96 réactions)	20022654

Références

1. 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.