

Pannello TCR beta-SR AmpliSeq™ for Illumina

Pannello mirato per la misurazione della diversità e dell'espansione clonale delle cellule T in campioni di tumore in FFPE sequenziando le riorganizzazioni della catena beta del recettore delle cellule T.

Punti principali

- Contenuto di elevato valore**
 Mira alla catena beta di TCR, con ampliconi con lunghezza di lettura fino a un massimo di 80 bp per la copertura di CDR3
- Flusso di lavoro semplice e ottimizzato**
 Preparazione delle librerie pronte per il sequenziamento in un solo giorno a partire da appena 10 ng di DNA o RNA da campioni di tumore in FFPE
- Dati accurati**
 Dati di elevata qualità, anche con input minimo da campioni in FFPE

Introduzione

Il recettore delle cellule T (T cell receptor, TCR) è un eterodimero transmembrana che consente alle cellule T di riconoscere e rispondere a materiale estraneo "nonself". La grande maggioranza dei recettori TCR consiste in una catena alfa e beta che contiene le regioni determinanti la complementarità (Complementary Determining Region, CDR). La diversità del recettore delle cellule T (TCR) descrive la possibilità che un piccolo set di geni che codificano le regioni CDR entro il recettore TCR crei clonotipi delle cellule T in eccesso di 10^{12} (popolazioni delle cellule T che esprimono TCR identici) mediante ricombinazione e inserzione, delezione e sostituzione casuali. La diversità del recettore TCR ricopre un ruolo fondamentale nella difesa dell'ospite. L'investigazione di questa diversità potrebbe essere utile nella comprensione della funzione immunitaria, nelle malattie autoimmuni e negli effetti avversi mediati dal sistema immunitario (Immune-Mediated Adverse Effect, IMAE).

Il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina è un pannello per il risequenziamento mirato, altamente in multiplex, progettato per misurare la diversità e l'espansione clonale delle cellule T in campioni di tumore fissati in formalina e inclusi in paraffina (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, FFPE) mediante il sequenziamento delle riorganizzazioni della catena beta del recettore TCR (Tabella 1). Utilizzando un singolo raggruppamento in pool di primer PCR in multiplex, di reagenti della libreria e di codici a barre dei campioni, le librerie possono essere generate da DNA/RNA estratto da tessuto in FFPE, tessuto fresco/congelato, sangue intero o cellule scelte mediante l'attivazione fluorescente (Fluorescence-Activated Cell Sorting, FACS) per il sequenziamento sui sistemi di sequenziamento compatibili Illumina.

Il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina fa parte di un flusso di lavoro ottimizzato che include la preparazione delle librerie basata sulla polimerizzazione a catena (Polymerase Chain Reaction, PCR) AmpliSeq for Illumina, la tecnologia di sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) basata sulla chimica di sequenziamento mediante sintesi (Sequencing By Synthesis, SBS) Illumina e l'analisi automatizzata. L'utilizzo di questo flusso di lavoro ottimizzato consente ai ricercatori di concentrare i propri studi sulle regioni codificanti l'RNA, di ridurre i requisiti di input e di ottenere al contempo risultati accurati con elevata sensibilità analitica.

Tabella 1: Panoramica del pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina

Parametro	Specifica
N. di geni	Variabile
Target	Catena beta di TCR, CDR3
Dimensione amplicone	circa 80 bp
N. di ampliconi	Variabile
Requisito di DNA/RNA input	10-1.000 ng
N. di raggruppamenti in pool per pannello	1
Tipi di campione compatibili	Sangue, tessuto fresco/congelato, cellule FACS, tessuto in FFPE
Durata totale del saggio ^a	6 ore
Interventi manuali	Meno di 1,5 ore
Durata da DNA/RNA ai dati	2,5 giorni

a. La durata si riferisce solo alla preparazione delle librerie e non include la quantificazione, la normalizzazione o il raggruppamento in pool delle librerie.

Dati in archivio presso Illumina, Inc. 2017

Contenuto di elevato valore

Il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina offre la copertura della catena beta del recettore TCR, con ampliconi con lunghezza di lettura di circa 80 bp per la caratterizzazione di CDR3. Questo pannello pronto all'uso consente ai ricercatori di risparmiare tempo e sforzi nell'identificazione di target, nella progettazione di ampliconi e nell'ottimizzazione delle prestazioni.

Flusso di lavoro semplice e ottimizzato

Il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina fa parte di una soluzione per la classificazione dal DNA/RNA al repertorio che offre contenuto ottimizzato, semplice preparazione delle librerie, sistemi di sequenziamento di facile utilizzo e semplice analisi dei dati.

La preparazione delle librerie si attiene a un protocollo ottimizzato basato sulla PCR che può essere completato in appena 6 ore, con meno di 1,5 ore di interventi manuali. Le librerie ottenute possono essere normalizzate, raggruppate in pool, quindi caricate su una cella a flusso per il sequenziamento. Le librerie preparate vengono sequenziate utilizzando la comprovata chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS) su un sistema di sequenziamento Illumina compatibile (Tabella 2).

I dati ottenuti possono essere facilmente passati in BaseSpace™ Sequence Hub per l'analisi. L'applicazione MiXCR Immune Repertoire Analyzer in BaseSpace Sequence Hub consente l'elaborazione veloce e accurata dei dati del sequenziamento ottenuti da librerie dei recettori delle cellule T. L'applicazione allinea le letture su segmenti della linea germinale, raggruppa i clonotipi e corregge gli errori della PCR e del sequenziamento. Gli output forniscono informazioni dettagliate sull'assegnazione dei segmenti delle linee germinali, sull'allineamento e sulle mutazioni.

Tabella 2: Sistemi di sequenziamento Illumina raccomandati per il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina

Strumento
Sistema MiniSeq™ (High-Output)
Sistema MiSeq™ (chimica v3)
Sistema NextSeq (Mid-Output)
Sistema NextSeq (High-Output)



Maggiori informazioni sui [sistemi di sequenziamento Illumina](#)



Maggiori informazioni sui [sistemi informatici AmpliSeq for Illumina](#)

Dati accurati

Il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina consente l'investigazione della diversità dei recettori TCR nei campioni in FFPE. Per dimostrare le capacità del saggio, sono stati analizzati i campioni utilizzando il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina, il sistema NextSeq™ e l'applicazione MiXCR Immune Repertoire Analyzer. I risultati mostrano che il campione di controllo (PBMC) e i campioni di melanoma in FFPE presentano elevati livelli di conteggi di cloni, (Figura 1) dimostrando la compatibilità per il rilevamento clonale in campioni in FFPE.

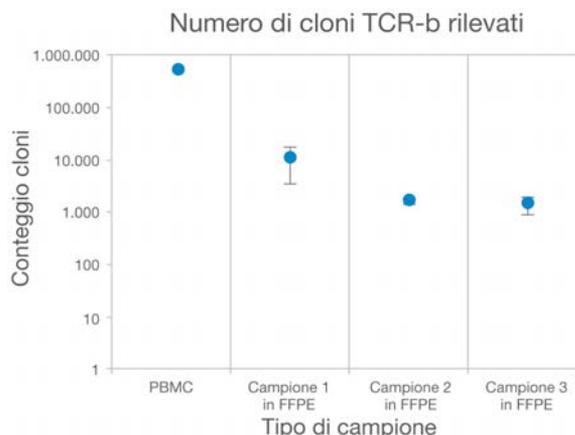


Figura 1: Rilevamento clonale in campioni in FFPE: le librerie sono state preparate con il pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina, sequenziate sul sistema NextSeq e analizzate con l'applicazione MiXCR. Input di RNA da 100 ng di campione PBMC o 50 ng di tre singoli campioni di melanoma in FFPE mostrano elevati livelli di conteggi di cloni in ciascun campione. Le barre degli errori indicano la variabilità tra i replicati.

Informazioni per gli ordini

I prodotti AmpliSeq for Illumina possono essere ordinati online alla pagina Web www.illumina.com

Prodotto	N. di catalogo
Pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)	20031675
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (24 reazioni)	20019101
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (96 reazioni)	20019102
Library PLUS AmpliSeq for Illumina (384 reazioni)	20019103
CD Indexes AmpliSeq for Illumina - set A (96 indici, 96 campioni)	20019105
cDNA Synthesis AmpliSeq for Illumina (96 reazioni)	20022654
Library Equalizer AmpliSeq for Illumina	20019171

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sul pannello TCR beta-SR AmpliSeq for Illumina, visitate la pagina Web www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-tcr-beta-panel.html

Per maggiori informazioni sulla soluzione di sequenziamento mirato AmpliSeq for Illumina, visitate la pagina Web science-docs.illumina.com/documents/LibraryPrep/ampliseq-technology-overview-data-sheet-770-2017-022/Content/Source/Library-Prep/AmpliSeq/ampliseq-technology-overview/ampliseq-technology-overview.html