

AmpliSeq™ for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel

RNA-Panel speziell zur Bestimmung der T-Zell-Rezeptorvarianz

Vorteile

- **Wertvolle Geninhalte**
Umfassende Abdeckung von β -Kettensequenzen für T-Zell-Rezeptoren
- **Schneller, optimierter Workflow**
Vorbereitung von sequenzierfähigen Bibliotheken an nur einem Tag aus Vollblut, frischem/gefrorenem Gewebe oder Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS)-Zellen
- **Geringes Zugabevolumen**
Generierung von Sequenzierungsbibliotheken aus nur 10 ng Zugabe-RNA

Einleitung

Beim T-Zell-Rezeptor (TCR) handelt es sich um einen transmembranen Heterodimer, der T-Zellen die Reaktion auf Fremdgewebe ermöglicht. Die meisten TCRs bestehen aus einer α - und einer β -Kette mit CDRs (Complementary Determining Regions). Die T-Zell-Rezeptor (TCR)-Varianz beschreibt die Möglichkeit der kleinen Anzahl von Genen der CDRs des TCR, durch Rekombination, willkürliche Insertion, Deletion und Substitution über 10^{12} T-Zell-Klontypen (T-Zell-Populationen mit identischen TCRs) zu bilden.¹ Die TCR-Varianz spielt eine entscheidende Rolle bei der wirtseigenen Abwehr. Die Bestimmung dieser Varianz ist nützlich für das Verständnis der Immunfunktion sowie von Autoimmunerkrankungen und immunvermittelten Nebenwirkungen (IMAEs).

Beim AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel handelt es sich um ein hochgradig multiplexiertes und spezifisches Resequenzierungspanel zur Bestimmung der T-Zell-Varianz sowie der klonalen Expansion durch Sequenzierung der TCR- β -Ketten-Umlagerungen (Tabelle 1). Mit einem einzelnen Pool aus Multiplex-PCR-Primern, Bibliotheksreagenzien und Probenbarcodes können Bibliotheken zur Sequenzierung auf kompatiblen Illumina-Sequenziersystemen aus RNA generiert werden, die aus Vollblut, frischem/gefrorenem Gewebe oder FACS-Zellen extrahiert wurde.

Wertvolle Geninhalte

Das AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel deckt dank der Amplikons mit einer Read-Länge von ca. 325 bp die TCR- β -Kette ab und ermöglicht so eine umfassende Bestimmung aller drei CDRs (CDR1, CDR2 und CDR3). Das gebrauchsfertige Panel spart Forschern Zeit und Mühe, die für das Identifizieren von Zielregionen, das Entwickeln von Amplikons und das Optimieren der Leistung aufzuwenden wären.

Tabelle 1: AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel – Übersicht

Parameter	Spezifikation
Anzahl der Gene	Variabel
Zielregionen	TCR- β -Kette, einschließlich CDR1, CDR2 und CDR3
Amplikon-Größe	ca. 325 bp
Anzahl der Amplikons	Variabel
DNA-/RNA-Zugabebedarf	10–1000 ng
Anzahl der Pools pro Panel	1
Unterstützte Probenotypen	Blut, frisches/gefrorenes Gewebe, FACS-Zellen
Assay-Zeit insgesamt ^a	5–6 Stunden
Manueller Aufwand	< 1,5 Stunden
DNA-zu-Daten-Dauer	2,5 Tage

a. Die angegebene Zeit bezieht sich nur auf die Bibliotheksvorbereitung und beinhaltet nicht die Quantifizierung, Normalisierung oder das Pooling von Bibliotheken.

Einfacher, optimierter Workflow

Das AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel ist Teil einer RNA-zu-Ergebnissen-Lösung, die sich durch eine einfache Bibliotheksvorbereitung, per Tastendruck bedienbare Sequenziersysteme und eine vereinfachte Datenanalyse auszeichnet.

Die Bibliotheksvorbereitung beginnt mit der Umwandlung der Gesamt-RNA in cDNA. Anschließend wird ein einfaches PCR-basiertes Protokoll durchlaufen, das sich in nur 5 Stunden abschließen lässt (bei einem manuellen Aufwand von weniger als 1,5 Stunden). Die daraus resultierenden Bibliotheken können normalisiert, gepoolt und dann für die Sequenzierung auf eine Fließzelle geladen werden. Die vorbereiteten Bibliotheken können unter Verwendung bewährter SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) auf einem kompatiblen Sequenziersystem von Illumina (Tabelle 2) sequenziert werden.

Die Ergebnisdaten lassen sich zu Analyse Zwecken problemlos in BaseSpace™ Sequence Hub streamen. Die MiXCR Immune Repertoire Analyzer-App in BaseSpace Sequence Hub ermöglicht die schnelle und genaue Verarbeitung der Sequenzierungsdaten von T- und B-Zell-Rezeptorbibliotheken. Die App übernimmt das Alignment an Keimbahnsegmenten, kombiniert Klontypen und korrigiert PCR- und Sequenzierungsfehler. Die Ausgabe umfasst ausführliche Informationen zu Keimbahnsegmentzuweisungen, Alignment und Mutationen.

Tabelle 2: Empfohlene Illumina-Sequenziersysteme für das AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel

Gerät
MiniSeq™-System (mittlere Leistung)
MiniSeq-System (hohe Leistung)
MiSeq™-System (v2-Chemie)
MiSeq-System (v3-Chemie)
NextSeq™ 550-System

Genaue Daten

Das AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel ermöglicht die Untersuchung der TCR-Varianz bei der Immunfunktion. Die Proben wurden zur Demonstration der Assay-Funktionen mit dem AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel, dem NextSeq 550-System und der MiXCR Immune Repertoire Analyzer-App analysiert. Die Ergebnisse zeigen für Proben mit produktiven Immunrepertoireklonen (Leukozyten und Jurkat-Zellen) eine hohe Read-Nutzung, während Proben mit geringer oder fehlender Expression von Immunrepertoire targets (Hirngewebe) eine geringe Read-Nutzung aufweisen (Abbildung 1).

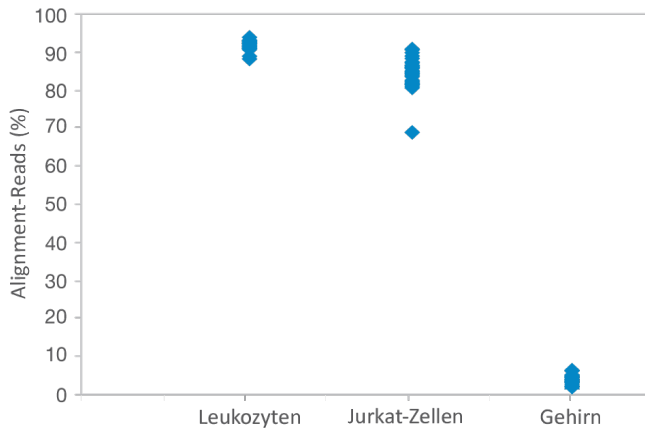


Abbildung 1: Produktive Read-Nutzung: Bibliotheken wurden mit dem Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel vorbereitet, auf dem NextSeq 550-System sequenziert und mit der MiXCR-App analysiert. Zugabe-DNA aus produktiven Immunrepertoireklonen (Leukozyten und Jurkat-Zellen) zeigt eine hohe Read-Nutzung. Im Gegensatz dazu zeigt die Zugabe-DNA aus Proben mit geringer oder fehlender Expression von Immunrepertoire targets (Hirngewebe) eine geringe Read-Nutzung. Die Fehlerbalken geben die Variabilität der technischen Replikate an.

Weitere Informationen

Weitere Informationen zum AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel finden Sie unter www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-immune-repertoire-panel.html

Wenn Sie mehr über die AmpliSeq for Illumina-Lösung für die zielgerichtete Resequenzierung erfahren möchten, lesen Sie den Überblick unter www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/ampliseq-for-illumina-targeted-resequencing-solution-data-sheet-770-2017-022.pdf

Bestellinformationen

Bestellen Sie die AmpliSeq for Illumina-Produkte online unter www.illumina.com

Produkt	Katalog-Nr.
AmpliSeq for Illumina Immune Repertoire Plus, TCR beta Panel (24 Reaktionen)	20024479
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (24 Reaktionen)	20019101
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (96 Reaktionen)	20019102
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (384 Reaktionen)	20019103
AmpliSeq for Illumina CD Indexes Set A (96 Indizes, 96 Proben)	20019105
AmpliSeq for Illumina cDNA Synthesis (96 Reaktionen)	20022654

Quellen

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.