

# AmpliSeq™ for Illumina TCR beta-SR Panel

Zielgerichtetes Panel zur Bestimmung von T-Zell-Varianz und klonaler Expansion in FFPE-Tumorproben durch Sequenzierung der TCR-β-Ketten-Umlagerungen.

## Vorteile

- **Hochwertiger Inhalt**  
Zielt dank Amplikons mit einer Read-Länge von bis zu 80 bp auf die TCR-β-Kette ab und bietet eine Coverage von CDR3
- **Einfacher, optimierter Workflow**  
Ermöglicht die Vorbereitung sequenzierungsfähiger Bibliotheken mit nur 10 ng Zugabe-DNA oder -RNA aus FFPE-Tumorproben innerhalb eines Tages
- **Genauere Daten**  
Liefert selbst bei minimaler Zugabe von FFPE-Proben qualitativ hochwertige Daten

## Einleitung

Beim T-Zell-Rezeptor (TCR) handelt es sich um einen transmembranen Heterodimer, der T-Zellen die Reaktion auf Fremdgewebe ermöglicht. Die überwiegende Mehrheit der TCRs besteht aus einer α- und einer β-Kette, die komplementaritätsbestimmende Regionen (Complementary Determining Regions, CDRs) umfassen. Die TCR-Varianz beschreibt das Potenzial einer kleinen Gruppe von Genen, die die CDRs innerhalb des T-Zell-Rezeptors codieren, mehr als 10<sup>12</sup> T-Zell-Klontypen (Populationen von T-Zellen, die identische TCRs exprimieren) durch Rekombination, zufällige Insertion, Deletion und Substitution zu erstellen. 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 TCR beta-SR Panel handelt es sich um ein hochgradig multiplexiertes und spezifisches Resequenzierungspanel zur Bestimmung der T-Zell-Varianz sowie der klonalen Expansion in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Tumorproben (FFPE-Tumorproben) 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 DNA/RNA generiert werden, die aus FFPE-Gewebe, frischem/gefrorenem Gewebe, Vollblut oder FACS-Zellen (Fluorescence-activated Cell Sorting, fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung) extrahiert wurde.

Das AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel ist Teil eines optimierten Workflows, der die PCR-basierte AmpliSeq for Illumina-Bibliotheksvorbereitung, die SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) und die NGS-Technologie (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) von Illumina sowie die automatisierte

Analyse beinhaltet. Durch die Nutzung dieses optimierten Workflows können Forscher ihre Studien auf die codierenden RNA-Regionen konzentrieren. Dabei können mit geringeren Zugabemengen hochempfindliche, genaue Ergebnisse erzielt werden.

**Tabelle 1: AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel – Übersicht**

Parameter	Spezifikation
Anzahl der Gene	Variabel
Zielregionen	TCR-β-Kette, CDR3
Amplikon-Größe	~80 bp
Anzahl der Amplikons	Variabel
DNA-/RNA-Zugabebedarf	10–1.000 ng
Anzahl der Pools pro Panel	1
Geeignete Probenotypen	Blut, frisches/gefrorenes Gewebe, FACS-Zellen, FFPE-Gewebe
Assay-Zeit insgesamt <sup>a</sup>	6 Stunden
Manueller Aufwand	< 1,5 Stunden
DNA-/RNA-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.

Archivierte Daten, Illumina, Inc. 2017

## Hochwertiger Inhalt

Das AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel bietet dank der Amplikons mit einer Read-Länge von bis zu 80 bp eine Coverage der TCR-β-Kette und ermöglicht so die Bestimmung von 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.

## Einfacher, optimierter Workflow

Das AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel ist Teil einer DNA-/RNA-zu-Repertoire-Klassifizierungslösung, die einen optimierten Inhalt, eine leicht durchführbare Bibliotheksvorbereitung, per Tastendruck bedienbare Sequenziersysteme und eine vereinfachte Datenanalyse bietet.

Die Bibliotheksvorbereitung erfolgt nach einem einfachen PCR-basierten Protokoll, das nicht länger als 6 Stunden dauert und einen manuellen Aufwand von weniger als 1,5 Stunden erfordert. Die daraus resultierenden Bibliotheken können normalisiert, gepoolt und dann für die Sequenzierung auf eine Fließzelle geladen werden. Die vorbereiteten Bibliotheken werden unter Verwendung bewährter SBS-Chemie (Sequencing by Synthesis, Sequenzierung durch Synthese) auf kompatiblen Sequenziersystemen von Illumina sequenziert (Tabelle 2).

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-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 TCR beta-SR Panel**

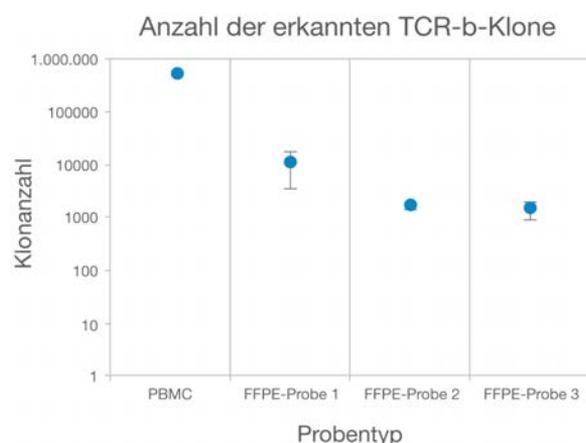
Gerät
MiniSeq™-System (hohe Leistung)
MiSeq™-System (v3-Chemie)
NextSeq-System (mittlere Leistung)
NextSeq-System (hohe Leistung)

 Weitere Informationen über [Sequenziersysteme von Illumina](#)

 Weitere Informationen über [AmpliSeq for Illumina-Informatik](#)

## Genauere Daten

Das AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel ermöglicht die Untersuchung der TCR-Varianz in FFPE-Proben. Die Proben wurden zur Demonstration der Assay-Funktionen mit dem AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel, dem NextSeq™-System und der MiXCR Immune Repertoire Analyzer-App analysiert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Kontrollprobe (PBMCs) und FFPE-Proben des Melanoms hohe Klonanzahlen aufweisen (**Abbildung 1**). Dies belegt die Eignung für die Erkennung von Klonen in FFPE-Proben.



**Abbildung 1: Erkennung von Klonen in FFPE-Proben:** Bibliotheken wurden mit dem AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel vorbereitet, mit dem NextSeq-System sequenziert und mit der MiXCR-App analysiert. Zugabe-RNA aus 100 ng PBMC-Probe oder 50 ng von drei einzelnen FFPE-Proben des Melanoms weist für jede Probe hohe Klonanzahlen auf. Fehlerbalken zeigen die Variabilität zwischen den Replikaten.

## Bestellinformationen

Bestellen Sie die AmpliSeq for Illumina-Produkte online unter [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

Produkt	Katalog-Nr.
AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel (24 Reaktionen)	20031675
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
AmpliSeq for Illumina Library Equalizer	20019171

## Weitere Informationen

Weitere Informationen zum AmpliSeq for Illumina TCR beta-SR Panel finden Sie unter [www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-tcr-beta-panel.html](http://www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-tcr-beta-panel.html).

Weitere Informationen zur AmpliSeq for Illumina-Lösung für die zielgerichtete Sequenzierung finden Sie unter [science-docs.illumina.com/documents/LibraryPrep/ampliseq-technology-overview-data-sheet-770-2017-022/Content/Source/LibraryPrep/AmpliSeq/ampliseq-technology-overview/ampliseq-technology-overview.html](http://science-docs.illumina.com/documents/LibraryPrep/ampliseq-technology-overview-data-sheet-770-2017-022/Content/Source/LibraryPrep/AmpliSeq/ampliseq-technology-overview/ampliseq-technology-overview.html).

Illumina, Inc. • Tel. USA (gebührenfrei) 1.800.809.4566 • Tel. außerhalb Nordamerikas +1.858.202.4566 • [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com) • [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

© 2019 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Eigentümer. Weitere Informationen zu Marken finden Sie unter [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html). Pub.-Nr. 770-2019-002-B DEU QB8261

**Nur für Forschungszwecke. Nicht zur Verwendung in Diagnoseverfahren.**