

Panel LC para RLT beta AmpliSeq™ for Illumina

Panel selectivo para medición de la diversidad de células T y la expansión clónica en muestras tumorales FFPE, mediante la secuenciación de reordenamientos de cadenas beta del receptor de célula T.

Puntos destacados

- **Contenido de gran valor**

Fije la cadena beta del RLT como objetivo, con amplicones con una longitud de lectura de hasta 80 pb, para una cobertura de RDC3

- **Flujo de trabajo sencillo y optimizado**

Prepare bibliotecas listas para secuenciar en un solo día con tan solo 10 ng de ARN o ADN de entrada a partir de muestras tumorales FFPE

- **Datos precisos**

Obtenga datos de alta calidad incluso con una cantidad mínima de entrada a partir de las muestras FFPE

Introducción

El receptor de célula T (RLT) es un heterodímero transmembrana que permite que las células T reconozcan y respondan a material "extraño". La gran mayoría de RLT consisten en una cadena alfa y beta que contiene regiones determinantes de la complementariedad (RDC). La diversidad del receptor de células T (RLT) describe el potencial de un pequeño conjunto de genes que codifiquen las RDC dentro del RLT para crear más de 10^{12} clonotipos de células T (poblaciones de células T que expresan RLT idénticos) mediante recombinación, inserción aleatoria, eliminación y sustitución. 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 LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina es un panel de resecuenciación altamente multiplexado, diseñado para medir la diversidad de las células T y la expansión clonal en muestras tumorales fijadas en formol y embebidas en parafina (FFPE), mediante la secuenciación de reordenamientos de cadenas beta del receptor de célula T (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 ADN y ARN extraído de tejido FFPE, tejido fresco/congelado, sangre completa o células FACS (clasificador de células activadas por fluorescencia), para su secuenciación en sistemas de secuenciación de Illumina compatibles.

El panel LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina forma parte de un flujo de trabajo optimizado que incluye la preparación de bibliotecas basada en PCR AmpliSeq for Illumina, la tecnología de secuenciación de próxima generación (NGS) de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina y los análisis automatizados. Gracias a este flujo de trabajo optimizado, los investigadores pueden centrar sus estudios en regiones codificantes de ARN, lo que disminuye la cantidad de entrada necesaria y permite obtener unos resultados precisos y una gran sensibilidad analítica.

Tabla 1: Resumen del panel LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina

Parámetro	Especificación
N.º de genes	Variable
Objetivos	Cadena beta de RLT, incluida RDC3
Tamaño del amplicón	~80 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/congelado, células FACS y tejido FFPE
Duración total del ensayo ^a	6 horas
Tiempo de participación activa	<1,5 horas
Tiempo de ADN/ARN a datos	2,5 días

a. El tiempo refleja únicamente la preparación de bibliotecas, sin incluir su cuantificación, normalización o agrupación.
 Datos en el archivo de Illumina, Inc. (2017)

Contenido de gran valor

El panel LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina ofrece cobertura de la cadena beta de los RLT, con amplicones con una longitud de lectura de hasta 80 pb para una caracterización de 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.

Flujo de trabajo sencillo y optimizado

El panel LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina forma parte de una solución de clasificación de ADN/ARN a repertorio que ofrece un contenido optimizado, una preparación sencilla de bibliotecas, sistemas de secuenciación con solo pulsar un botón y análisis simplificados de los datos.

La preparación de bibliotecas sigue un sencillo protocolo basado en PCR que puede completarse en tan solo 6 h, 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 SBS en un sistema de secuenciación compatible de Illumina (Tabla 2).

Los datos resultantes se pueden transmitir fácilmente en BaseSpace™ Sequence Hub para su análisis. El uso de 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 células T. 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 LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina

Instrumento
MiniSeq™ System (rendimiento elevado)
MiSeq™ System (química v3)
NextSeq System (rendimiento medio)
NextSeq System (rendimiento elevado)

 Más información sobre los [sistemas de secuenciación Illumina](#)

 Más información sobre las [soluciones informáticas AmpliSeq for Illumina](#)

Datos precisos

El panel LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina permite la investigación de la diversidad de RLT en muestras FFPE. Para demostrar las capacidades del ensayo, las muestras se analizaron con el panel LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina, el sistema NextSeq™ y la aplicación MiXCR Immune Repertoire Analyzer. Los resultados muestran que las muestras de control (PBMC) y las muestras FFPE de melanoma tienen niveles altos de recuento de clones, (Figura 1) lo que demuestra la compatibilidad con la detección clónica en muestras FFPE.

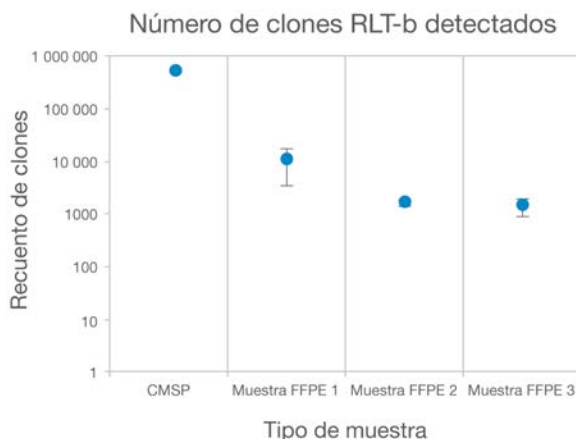


Figura 1: Detección clónica en muestras FFPE: Las bibliotecas se prepararon utilizando el panel LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina, secuenciado en el sistema NextSeq y analizado con la aplicación MiXCR. El ARN de entrada a partir de 100 ng de muestra de PBMC o de 50 ng de tres muestras FFPE individuales de melanoma muestra un nivel alto de recuento de clones en cada muestra. Las barras de error indican la variabilidad entre los duplicados.

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 LC para RLT beta AmpliSeq for Illumina (24 reacciones)	20031675
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
Ecualizador de bibliotecas AmpliSeq for Illumina	20019171

Información adicional

Para obtener más información acerca del panel LC para RLT beta, visite www.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-tcr-beta-panel.html.

Obtenga más información sobre la solución de secuenciación selectiva AmpliSeq for Illumina en 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.