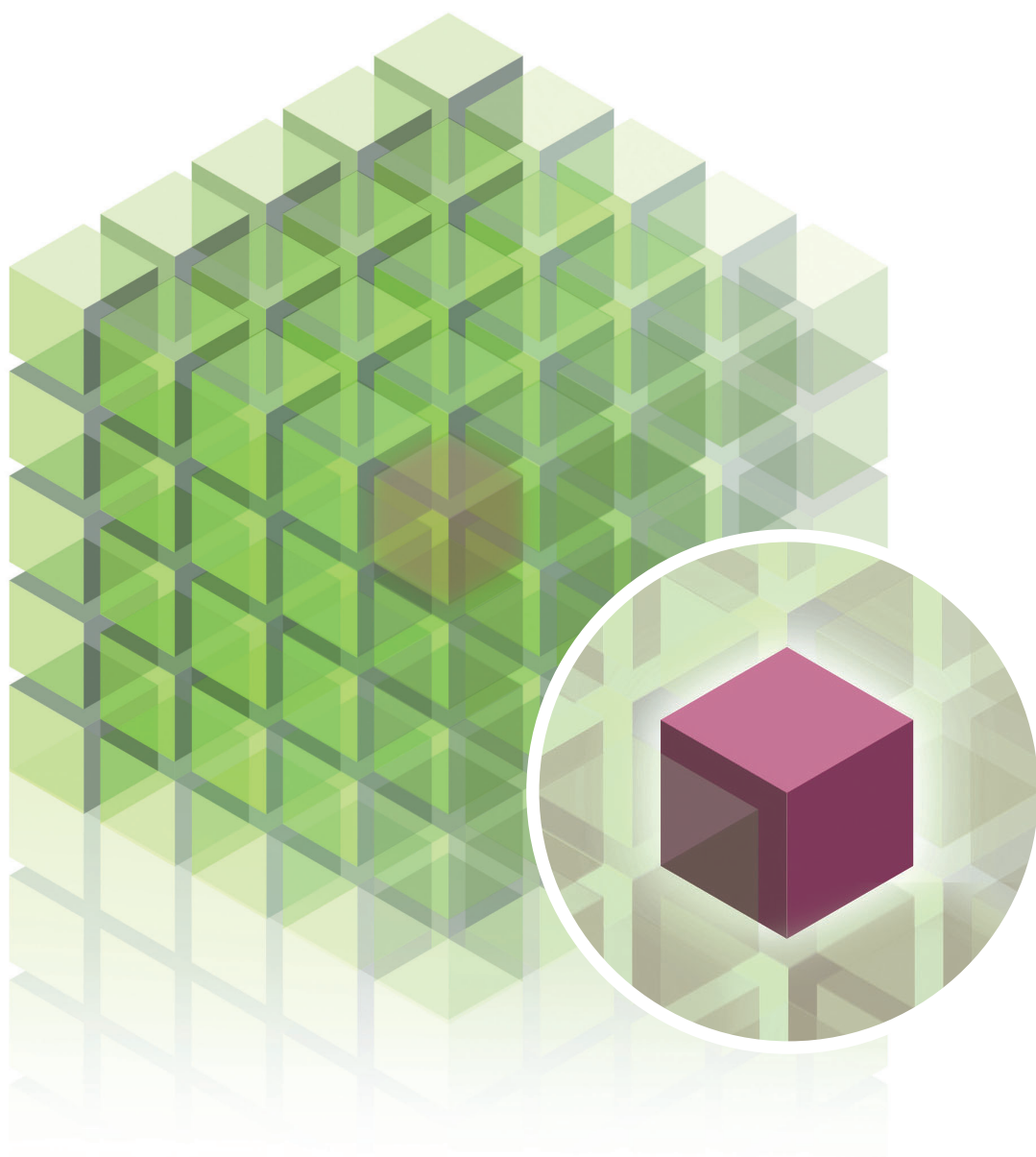


An Innovative NGS powering MRD assay



NGSを用いた測定可能残存病変解析 (研究用)

clonoSEQ[®] 受託解析サービス
By Adaptive

 riken genesis

Adaptive
biotechnologies™

測定可能残存病変解析サービス——clonoSEQ®

理研ジェネシスは、国内ラボとして初めてのclonoSEQ®受託解析サービスを提供します。

Adaptive Biotechnologies開発のclonoSEQ®は、B細胞リンパ系腫瘍を対象とした、治療中および治療後に残存するわずかながん病変 (measurable residual disease; MRD) の状態とその腫瘍量の変化を評価する、次世代シーケンサーを用いた研究用アッセイです (図1)。

マルチプレックスPCR*1をベースとしたNGS*2技術による、

ハイスループットなB細胞受容体 (BCR) シーケンシング解析により、

- ①多様なレパートリーから構成されるB細胞受容体の包括的な評価
- ②何百万もの正常な細胞を含む検体から、残存する非常に少数の腫瘍B細胞の検出を可能とするため、測定可能残存病変の評価の強力なアプローチとなります。

*1 PCR: ポリメラーゼチェーンリアクション

*2 NGS: 次世代シーケンシング

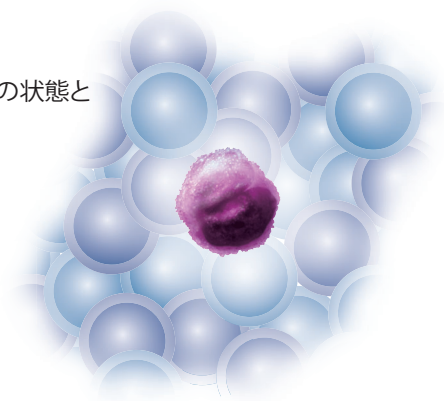
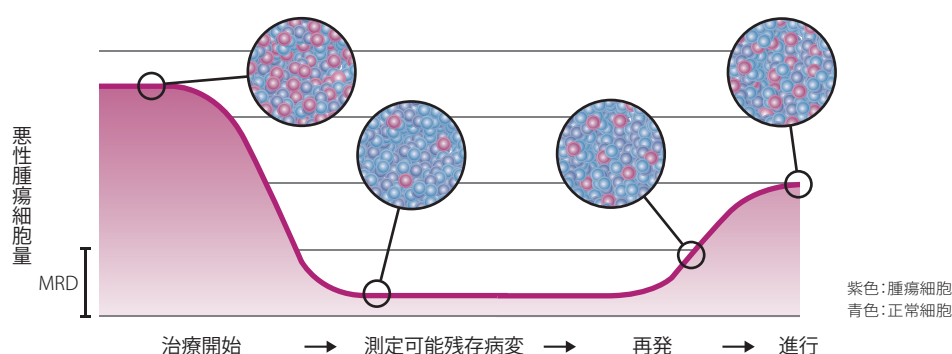
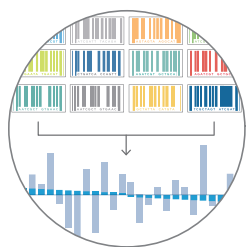


図1. 治療中・治療後のMRDステータスの変化



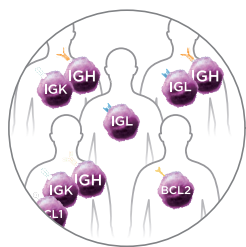
clonoSEQ®の特長

clonoSEQ®は、マルチプレックスPCR、NGS、独自のバイオインフォマティクスを組み合わせた革新的な解析技術により、他にはない高精度なMRD解析を可能にしました。



● PCR増幅バイアスの抑制

遺伝子再構成により多様性を獲得したBCR CDR3配列を、マルチプレックスPCRにより網羅解析するときに、発生するPCR増幅バイアスの問題に対処した解析手法です。独自のバイアスコントロール技術により、**測定可能残存病変の非常に正確かつ再現性の高い定量**が可能です。



● 腫瘍特異的配列の検出率向上

IgH (VDJ)、IgH (DJ)、IgK、IgLおよび、BCL1/IgH (J) とBCL2/IgH (J) 転座のプライマーセットを備え、測定の度に、検体中の**BCRレパートリー全体を包括的に評価するハイスループットアッセイ**です。腫瘍細胞のマーカースとして識別された配列をモニタリングするだけでなく、新たに出現した腫瘍クローン配列の検出も可能です。*3

*3 研究用サービスでは、新規腫瘍クローン検出は対象外となります。



● MRD評価能力を最大化するバイオインフォマティクス

NGSから出力されるシーケンス生データから、臨床研究用に理解しやすいMRD解析結果を抽出します。独自のアルゴリズムを用いて、**残留する増幅バイアスの修正後、B細胞のクロナリティを評価し、追跡可能な腫瘍特異的配列を同定**します。使用サンプル量に基づいたアッセイの検出限界および定量限界を算出するため、ノイズを除いた検出シグナルによるMRD評価が可能です。

clonoSEQ®の解析原理

B細胞受容体シーケンシング

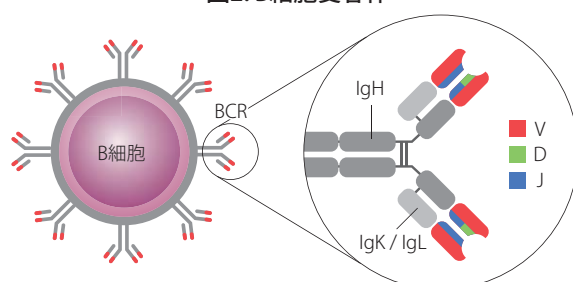
解析バックグラウンド

● B細胞受容体とは

B細胞表面に発現するB細胞受容体 (BCR) (図2) は、免疫グロブリン (Ig) 受容体とも呼ばれ、多種多様な外部抗原を特異的に認識する分子として、獲得免疫システムにおける重要な役割を担っています。

BCRは免疫グロブリンH鎖 (IgH)、免疫グロブリンL鎖 (IgK/IgL) の2つのペプチド鎖で構成されており、Bリンパ球の抗原特異性は主にB細胞受容体の超可変的相補性決定領域3 (CDR3) のアミノ酸配列によって決定されます。

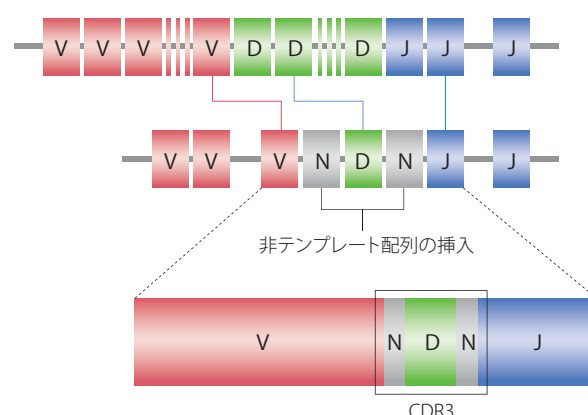
図2. B細胞受容体



● 遺伝子再構成によるB細胞受容体の多様性

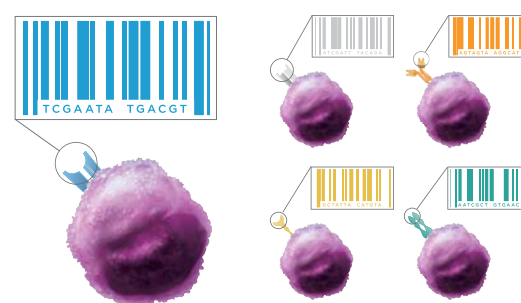
B細胞はその分化過程で免疫グロブリン遺伝子のV (D) J断片組換え (再構成) が起こります (図3)。ゲノムDNA上には複数のVおよびJ遺伝子セグメントが存在しているため、その組み合わせにより、多様なBCRが形成されます。さらに、超可変的領域のCDR3には、L鎖のV-J、H鎖のV-DおよびD-J接合部での非テンプレート配列挿入・削除や体細胞超変異などが含まれるため、受容体の潜在的な多様性が増加します。

図3. V (D) J遺伝子再構成



こうした受容体の潜在的多様性により、特定のCDR3配列を有するB細胞に偏って存在する可能性は非常に低く、膨大な種類からなる各CDR3配列が実質的にB細胞クローンを識別できる固有のタグとなります (図4)。

図4. B細胞の多様性

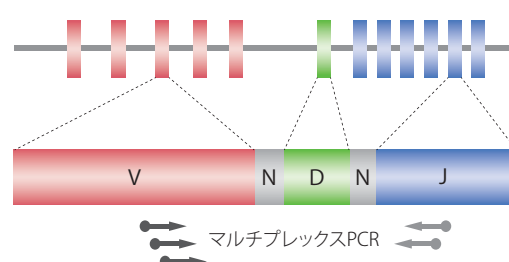


解析原理

● 多様なB細胞受容体のハイスループットシーケンシング

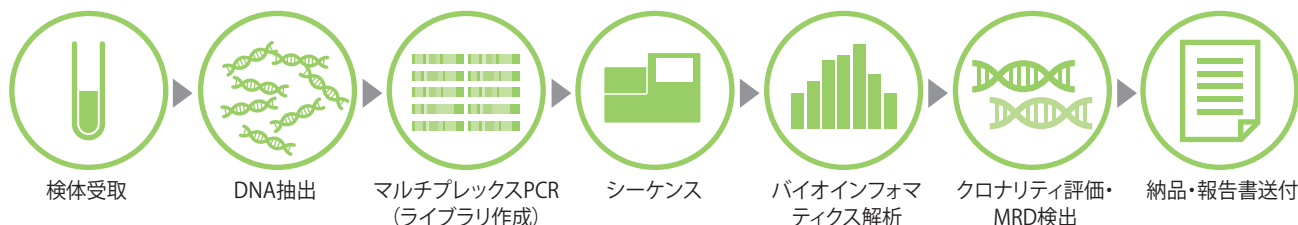
clonoSEQ®は、再構成されたBCR CDR3配列を増幅してIgH (VDJ)、IgH (DJ) およびIgK/L遺伝子座の再構成、ならびにBCL1/IgH (J) およびBCL2/IgH (J) の転座を解析するマルチプレックスPCR法をベースとしたBCRシーケンシングです (図5)。BCRシーケンシングにより、クロナリティを評価し、追跡可能な腫瘍特異的BCR CDR3配列 (ドミナントシーケンス) を同定します。腫瘍特異的配列の同定後、フォローアップサンプルにおいてBリンパ球のクローン性を評価し、ドミナントシーケンスの検出と定量化、およびその他特徴的なBCR CDR3配列を調べることでMRDを評価します。

図5. BCRシーケンシング



clonoSEQ®は、多様なBCR CDR3配列の網羅的解析に対応するため、VおよびJセグメントに設計された複数のプライマーを使用し、マルチプレックスPCRを行います。

解析フロー



検体条件

clonoSEQ®によるMRD解析には2種類の検体が必要です。

IDサンプル：クローン多様性を決定し、クローン特異的BCR遺伝子配列を同定する検体

MRDサンプル：IDサンプルで同定されたBCR遺伝子配列を追跡するフォローアップ検体

	IDサンプル	MRDサンプル
gDNA検体量	1 μ g以上	25 μ g以上
gDNA検体濃度	15ng/ μ L以上	300ng/ μ L以上

- ・gDNA以外の各種検体も受け入れ可能です。詳細は、パンフレット「サンプルおよび返却データ」をご覧ください。お問い合わせください。
- ・記載の量にはQCテスト分も含まれます。
- ・MRDテストにおいて、95%の信頼度で 10^{-6} の感度（100万個の正常細胞中に1個の腫瘍細胞）を得るには、20 μ g以上のDNAが必要です。

● 研究対象例

（多発性骨髄腫）（急性リンパ性白血病）（慢性リンパ性白血病）（非ホジキンリンパ腫） など

clonoSEQ®は、様々なB細胞性リンパ系腫瘍のMRDアッセイに使用できます。

納品物

- 解析報告書
- 解析データ（CSVファイル）：Assay Report（検体と解析結果に関する重要な情報）、Clonality Report（識別されたドミナントシーケンス情報）、Tracking Report（追跡されたシーケンス情報）

— clonoSEQ® 受託解析サービスに関するお問い合わせは —

株式会社理研ジェネシス 営業部

電話でのお問い合わせ

03-5759-6042

Webでのお問い合わせ

info2@rikengenesis.jp

本解析は研究用です。診断・検査に用いることはできません。clonoSEQは、Adaptive Biotechnologies Corp.の登録商標です。
Adaptive BiotechnologiesはAdaptive Biotechnologies Corp.の商標です。本パンフレットに記載されている商品名等は、特に記載はなくても各社の商標、または登録商標です。
本パンフレットの内容の一部または全部を無断で転載あるいは複製することはご遠慮ください。

販売元

株式会社理研ジェネシス

〒141-0032 東京都品川区大崎1-2-2 アートヴィレッジ大崎セントラルタワー 8 階
TEL : 03-5759-6042 / FAX : 03-5759-6043 / URL: <https://www.rikengenesis.jp>

rikengenesis

取扱代理店