

毎号、テーマを絞って製品トレンドをお伝えします

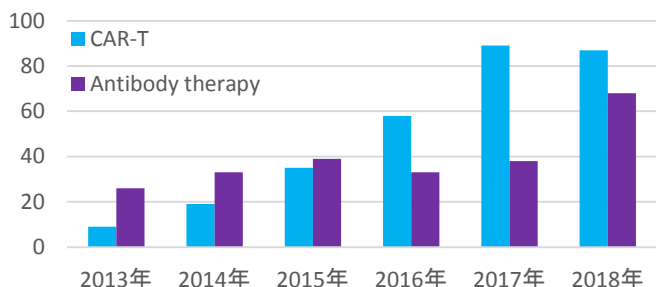
はじめに：免疫チェックポイント阻害薬であるニボルマブの登場により、がん免疫療法が近年大いに注目されています。また、キメラ抗原受容体発現T細胞(CAR-T)療法も、画期的な新免疫療法の一つとして大いに期待されています。

今回の「クロンテック通信」は、抗体医薬やCAR-T療法等での使用頻度が増加しているSMARTer RACE 5'/3' Kitの技術紹介と本キットを使ったCAR-T研究に関する最近の論文情報をお届けします。

CAR-T療法について

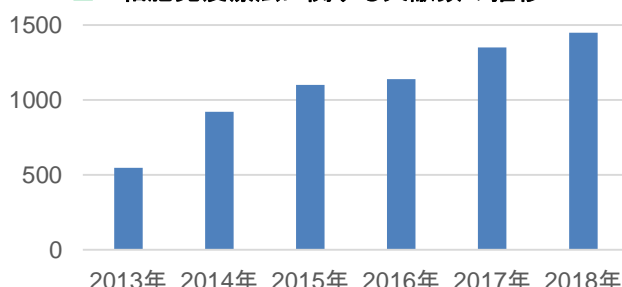
CAR-T療法とは、キメラ抗原受容体(CAR)を遺伝子改変技術によりT細胞に発現させ、その改変T細胞(CAR-T)を体内に戻す自家T細胞治療のことです。CARは、“抗体の抗原認識部位”とT細胞受容体の“細胞内シグナル伝達部位”をつなぎ合わせたキメラタンパク質で、CARを導入したT細胞(CAR-T)は、がん細胞特異的なタンパク質(抗原)を認識し攻撃します。CARを作製するためには、がん細胞に特有の抗原に対する抗体から“可変領域”をクローニングする必要があります。タカラバイオのSMARTer RACE 5'/3' Kitは、抗体の可変領域のクローニング等を迅速に行うことができるキットです。

■ “CAR-T”及び“抗体治療”の治験・臨床研究数の推移※1



※1 集計データは、ClinicalTrials.govから取得し、各年の治験・臨床研究を開始した総数。

■ T細胞免疫療法に関する文献数の推移※2



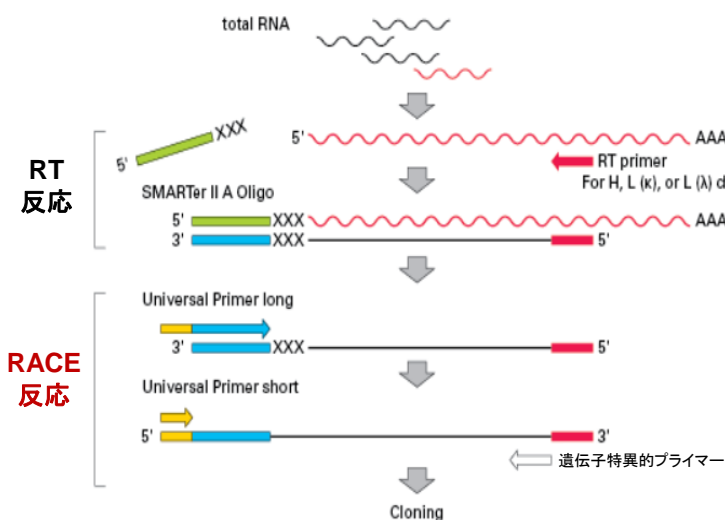
※2 文献数は Google Scholar により集計した。

治験・臨床研究数は年々増加傾向にあり、T細胞療法の文献数も年々増加しています。

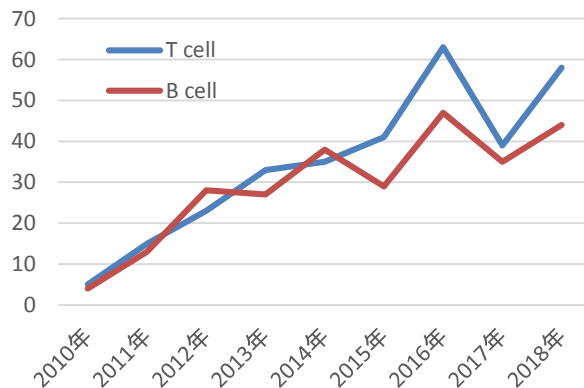
SMARTer® RACE 5'/3' Kit

本キットはSMARTer技術を用いたRACE (Rapid amplification of cDNA ends)用のキットで、アダプターライゲーションを行うことなくcDNA合成を実現します。合成されたcDNAは、そのまま5' RACE PCRや3' RACE PCRに用いることができるため、抗体の可変領域のクローニングなどをシンプルな操作手順で実施可能です。本キットは、CAR-TなどのT細胞療法でも使われています。

■ 本キットによる抗体可変領域のクローニング実験フロー



■ T細胞/B細胞の研究で本キットを使用した文献数の推移※



※ 文献数はGoogle Scholar により集計した。

T細胞/B細胞に関連する研究での本キットの使用頻度は年々増加しています。

裏面：SMARTer® RACE 5'/3'キット文献紹介

文献情報:本キットの免疫療法研究への応用例

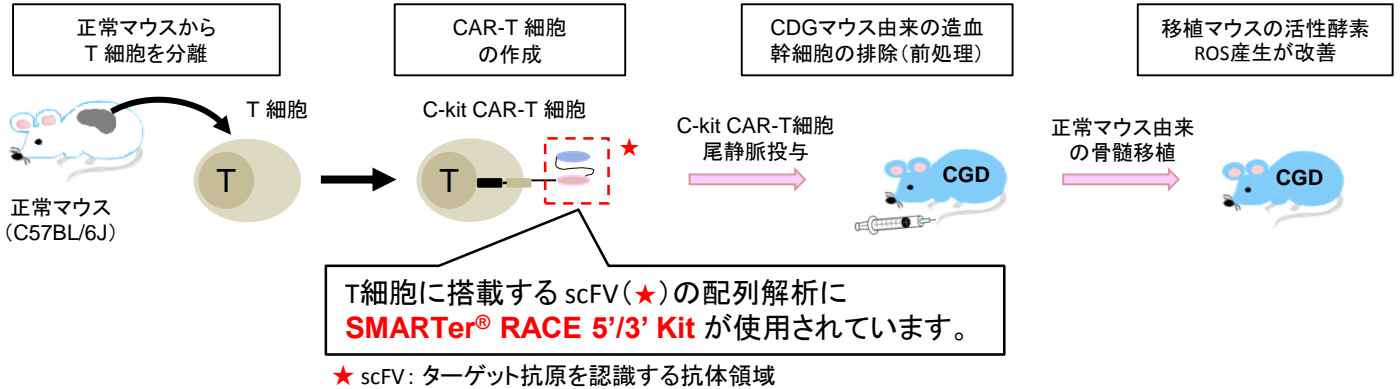
◆ 骨髄移植時の拒絶反応軽減効果について(CAR-Tの利用)

Arai Y., et al. (2018) Myeloid Conditioning with c-kit-Targeted CAR-T Cells Enables Donor Stem Cell Engraftment. *Mol Ther.* 26(5):1181-1197.

C-kit (造血幹細胞因子特異的なチロシナーゼ受容体) を標的とするCAR-T細胞を用い、慢性肉芽腫症(CGD※)マウスの骨髄を前処理することにより、正常マウス由来の骨髄を移植、移植マウスの活性酸素ROS産生が改善することを確認した。

※ CGD (Chronic Granulomatous Disease): 食細胞の活性酸素(ROS)産生障害を起こす遺伝性免疫不全症

■ 実験の概要

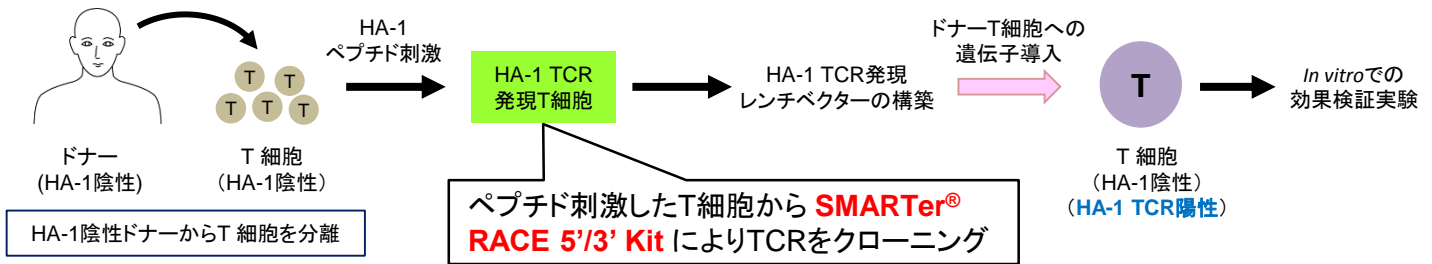


◆ T細胞免疫治療への応用:同種造血幹細胞移植後、白血病再発防止

Dossa RG., et al. (2018) Development of T-cell immunotherapy for hematopoietic stem cell transplantation recipients at risk of leukemia relapse. *Blood.* 131(1):108-120.

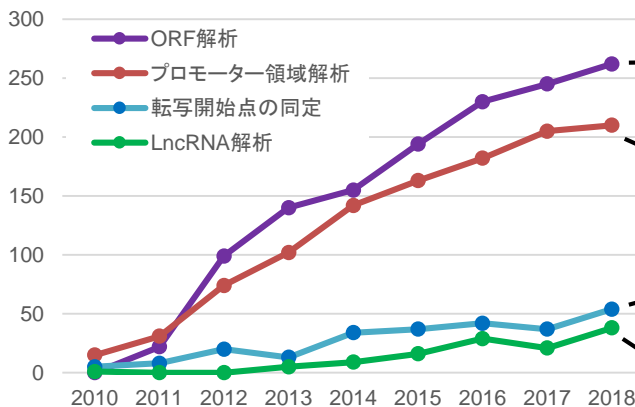
同種造血幹細胞移植後の白血病の再発を防ぐため、マイナー組織適合抗原(HA-1)に高い親和性を持つTCR発現レンチウイルスベクターをHA-1陰性T細胞へ導入し、*in vitro*実験でその効果を確認した。

■ 実験の概要



文献数の推移※

SMARTer RACE 5'/3' Kitは、免疫療法以外の分野でも世界中の研究者に使われています。



※ 文献数は Google Scholar により集計した。

◆ 完全長ORFのクローニングとそのタンパク質解析
Lv S., et al. (2018) Genetic control of seed shattering during African rice domestication. *Nat Plants.* 4(6):331-337.

◆ プロモーター解析
Ushijima T., et al. (2017) Light Controls Protein Localization through Phytochrome-Mediated Alternative Promoter Selection. *Cell.* 171(6):1316-1325.

◆ 転写開始点の解析
Ortiz de Ora L., et al. (2018) Regulation of biomass degradation by alternative σ factors in cellulolytic clostridia. *Sci Rep.* 8(1):11036.

◆ Long non-coding RNA (LncRNA)の解析
Zemmour D., et al. (2017) Flicr, a long noncoding RNA, modulates Foxp3. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 114(17):E3472-E3480