

免疫分野の研究を強力にサポート！

— ヒト・マウスのTCR／BCRレパトア解析専用 —
イルミナ社NGS装置用ライブラリー調製キット
総合ガイド

(2020年6月改訂)

SMARTer
NGS

TCR 解析

that's
GOOD
science!

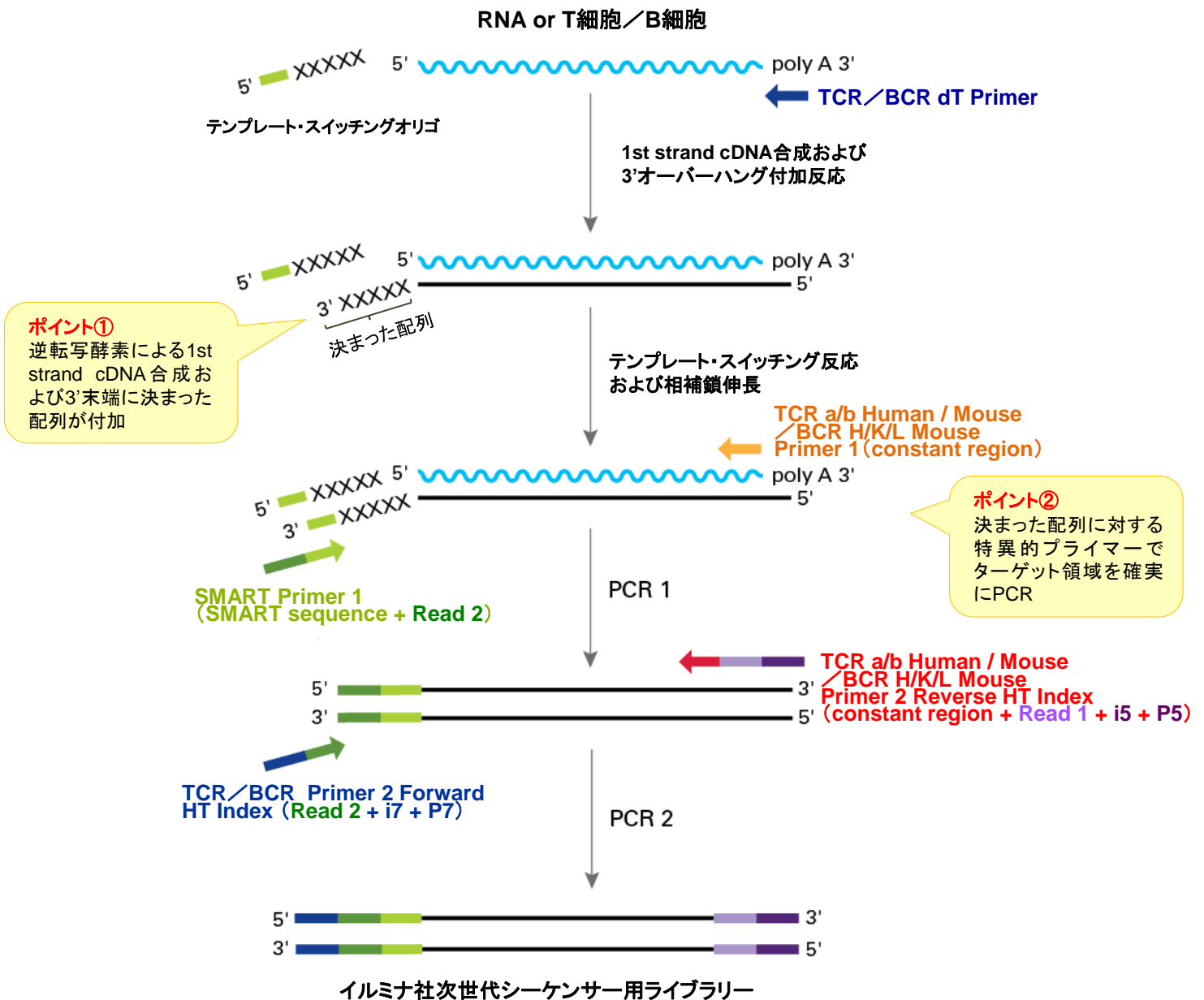
BCR 解析

タカラバイオのレパトア解析専用NGSライブラリー調製キットには、独自技術「SMARTテクノロジー」が使われています。この技術により、高感度で正確性の高い解析が可能です。

★ SMARTテクノロジーにより・・・

- ・ TCR／BCR mRNAの完全長V(D)J可変領域のシーケンスが可能
- ・ マルチプレックスPCRに依らない増幅でバイアスを低減

■ レパトア解析用キットのフロー概要



製品リスト

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
① SMARTer® Human TCR a/b Profiling Kit v2	12回	634478	¥330,000
	48回	634479	¥730,000
② SMARTer® Human scTCR a/b Profiling Kit	96回	634431	¥710,000
	480回	634432	¥2,200,000
③ SMARTer® Human BCR IgG IgM H/K/L Profiling Kit	12回	634466	¥180,000
	48回	634467	¥580,000
④ SMARTer® Mouse TCR a/b Profiling Kit	12回	634402	¥180,000
	48回	634403	¥580,000
	96回	634404	¥920,000
⑤ SMARTer® Mouse BCR IgG H/K/L Profiling Kit	12回	634422	¥180,000
	48回	634423	¥580,000
	96回	634424	¥920,000

- ・シーケンスを行う際には、サンプルにControl DNA (PhiX)を加えて解析してください。
- ・インデックスの種類は、SMARTer Human TCR a/b Profiling Kit v2は12回用、48回用いずれも24種類です。その他のキットは、各々12種類、48種類、96種類です。

製品一覧

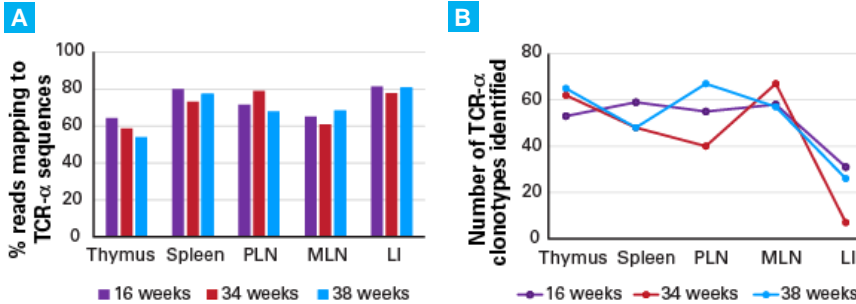
対象生物種	製品名	アプリケーション	特長	スタートサンプル	サンプル量	NGS解析
ヒト	① SMARTer® Human TCR a/b Profiling Kit v2	TCRレパトア解析 (分子バーコード付き)	<ul style="list-style-type: none"> ・α鎖とβ鎖の完全長V(D)J可変領域の検出が可能 ・Unique Dual Index(UDI)が標準採用 ・専用の情報解析ソフトウェアが利用可能 	PBMC由来 total RNA	10 ng~1 µg	Illumina MiSeq推奨 (2x300 bp) ※
				T細胞由来 total RNA	1~100 ng	
				T細胞	1,000~10,000細胞	
ヒト	② SMARTer® Human scTCR a/b Profiling Kit	TCRレパトア解析 シングルセル解析 (α鎖、β鎖ペアリング情報)	シングルセル解析のためTCRα鎖、β鎖のペアリング情報が取得可能	T細胞	1細胞	Illumina MiSeq推奨 (2x300 bp)
	③ SMARTer® Human BCR IgG IgM H/K/L Profiling Kit	BCRレパトア解析 (分子バーコード付き)	<ul style="list-style-type: none"> ・IgG、IgMのH鎖とL鎖(κ、λ)の完全長V(D)J可変領域の検出が可能 ・専用の情報解析ソフトウェアが利用可能 	PBMC由来 total RNA	10 ng~1 µg	
マウス	④ SMARTer® Mouse TCR a/b Profiling Kit	TCRレパトア解析	α鎖とβ鎖の完全長V(D)J可変領域の検出が可能	PBMC由来 total RNA	10~500 ng	Illumina MiSeq推奨 (2x300 bp)
				T細胞	1,000~10,000細胞	
	⑤ SMARTer® Mouse BCR IgG H/K/L Profiling Kit	BCRレパトア解析	IgGのH鎖とL鎖(κ、λ)の完全長V(D)J可変領域の検出が可能	PBMC由来 total RNA	10 ng~3 µg	
				B細胞	1,000~10,000細胞	

- ※ CDR3領域の解析のみの場合、NextSeqなどのリード長が2x150 bpのシーケンサーも利用可能。
ただし、V(D)J可変領域の完全長シーケンスはMiSeqを推奨(2x300 bp)。

SMARTer® Mouse TCR a/b Profiling Kitを用いたトランスジェニックマウス各組織におけるTCRαの多様性評価

加齢に伴って大腸炎になるRag-1欠損マウスの各組織からtotal RNAを抽出し、本キットを用いてライブラリーを作製してNGS解析を行った。ライブラリーの作製には、16週齢、34週齢、38週齢のマウスの胸腺(Thymus)、脾臓(Spleen)、末梢リンパ節(Peripheral Lymph Nodes, PLN)、腸間膜リンパ節(Mesenteric Lymph Nodes, MLN)、大腸(Large Intestine, LI)から抽出したtotal RNAをそれぞれ10 ng使用した。ただし、本実験ではTCRαをメインに検出するため、TCRα、TCRβに対する特異的プライマーの混合比率を、1:1ではなく、2:1とした。シーケンスにはMiSeq(2x300 bp)を用いて、1サンプルあたり400,000リードで解析を行い、ソフトウェアはMiXCR(Bolotin *et al.* 2015)を使用した。

参考文献: Bolotin, D. A. *et al.* MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. *Nat. Methods* (2015) 12, 380-381.



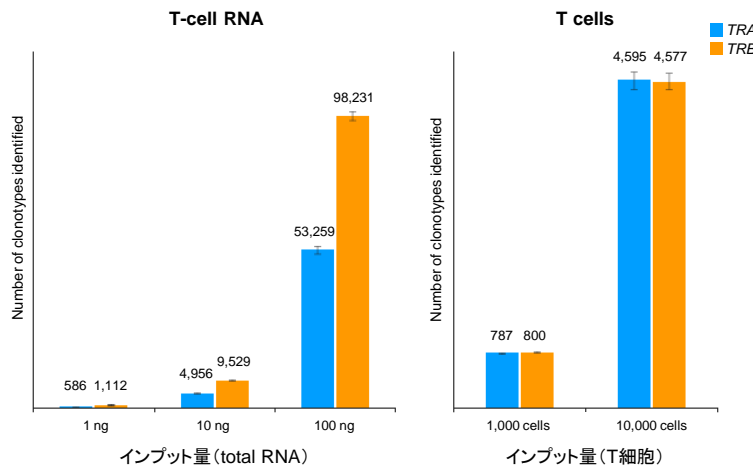
A 各組織の各週齢において、シーケンスリードの約60~80%がTCRα CDR3領域にマッピングされ、高いオンターゲット率が得られた。

B 各週齢の胸腺、脾臓、末梢リンパ節(PLN)、腸間膜リンパ節(MLN)ではTCRαクローン型の高い多様性が示されたが、大腸(LI)では低い結果となった。おそらく、大腸ではT細胞の浸潤が低いと考えられる。

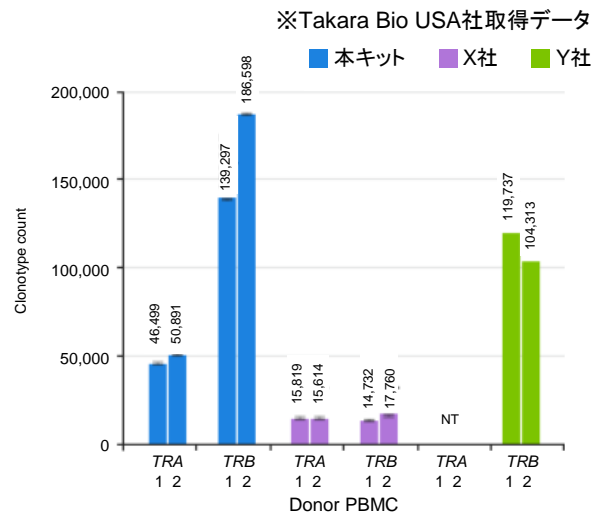
SMARTer® Mouse TCR a/b Profiling Kitを用いることで、さまざまな組織において高感度のレパトア解析が行えました。

SMARTer® Human TCR a/b Profiling Kit v2を用いた性能評価

異なるサンプルインプット量におけるクローンタイプ検出数の比較



他社キットとのクローンタイプ検出数の比較



ヒトCD3⁺ T細胞からのtotal RNA(1、10、100 ng)または細胞(1,000個、10,000個)からTCRα鎖(TRA)とTCRβ鎖(TRB)ライブラリーを作製した。得られたシーケンスリードをCogent NGS Immune Profiler Softwareによって解析し、同定されたクローンタイプの数を比較した。

2検体のPBMCからtotal RNAとgDNAを抽出した。100 ngのRNA(本キット、X社)と1.6 μgのgDNA(Y社)から、それぞれライブラリーを調製し、各社キットで検出されたクローンタイプの数を比較した(NT: not tested)。

本キットは、微量サンプル(T細胞 total RNA 1 ng、T細胞 1,000個)からでも解析可能であることが示されました。

本キットでは、TRAが平均48,700個、TRBが163,000個程度得られ、他社キットに比べて多くのクローンタイプを検出できました。

- ・イルミナ社とは、Illumina, Inc. (本社: 米国カリフォルニア州サンディエゴ)の日本法人であるイルミナ株式会社(本社: 東京都港区)をいいます。
- ・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ・本チラシに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。
- ・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。
- ・本チラシ記載の価格は2020年6月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2020年6月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
 関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995
 テクニカルサポートライン
 TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995
 Website <http://www.takara-bio.co.jp>
 Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店