

高感度かつバイアスを抑えた高品質なデータをご提供いたします！

T細胞レパトア解析 (T細胞受容体多様性解析) 受託サービス

特長

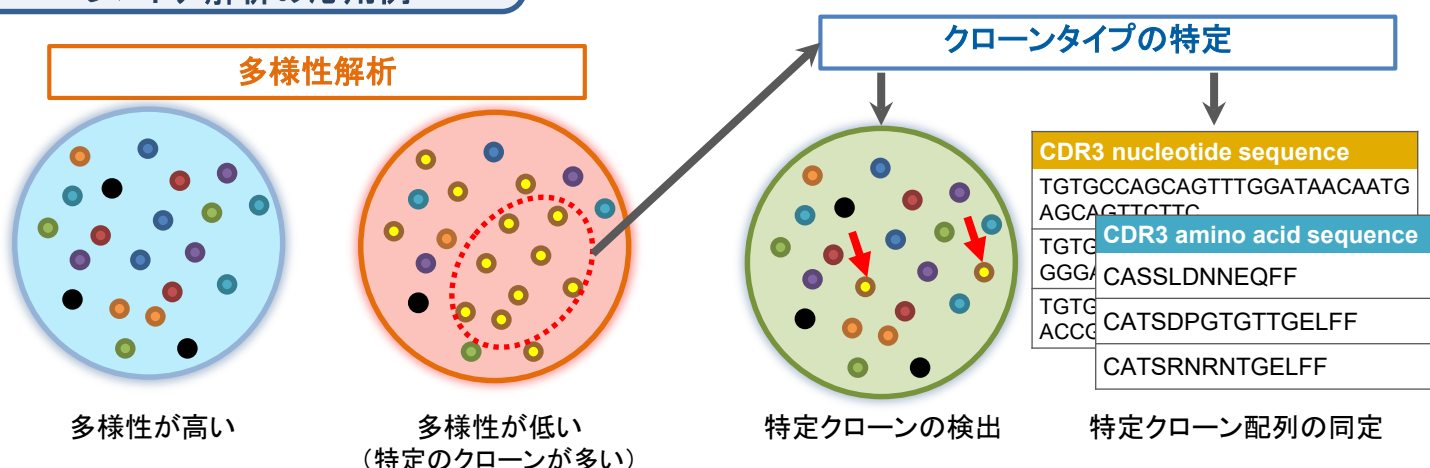
- ◆ 低い増幅バイアスが期待できる**SMARTer® Human TCR a/b Profiling Kit V2**を使用
- ◆ 微量検体からの高感度なNGS解析を実現
- ◆ 比較解析を含む多様な情報解析メニューでがん免疫関連の研究をサポート

■ 分子バーコード(UMI)の使用による解析結果の信頼性の向上例

% Jurkat RNA spiked in to 100 ng of PBMC RNA	Total read count (TRA/TRB)	Without UMI collapse			With UMI collapse		
		# of TRB raw reads	# of reads for TRBV12-3-TRBJ1-2	Detected percentage of Jurkat reads	# of detected UMIs	# of UMIs for TRBV12-3-TRBJ1-2	Detected percentage of Jurkat UMIs
10.00%	2,500,000	1,565,005	397,179	25.00%	281,280	62,629	22.00%
1.00%	2,500,000	1,422,102	47,160	3.3%	219,776	6,426	2.9%
0.10%	2,500,000	1,366,127	5,412	0.4%	189,580	631	0.33%
0.01%	2,500,000	1,218,025	521	0.043%	196,615	74	0.038%
0.001%	2,500,000	1,331,465	909	0.068%	197,870	6	0.003%
0.0001%	2,500,000	1,409,199	-	0%	124,149	-	0%
0%	2,500,000	1,222,245	-	0%	197,933	-	0%

PBMC total RNAに白血病細胞Jurkat T細胞 (TRBV12-3-TRBJ1-2クローンタイプ)のRNAを各濃度(10%、1%、0.1%、0.01%、0.001%、0.0001%)となるようにスパイクインし、本キットで解析した。100 ng total RNAからTRB CDR3領域を増幅し、イルミナ社NextSeq (2 × 150 bp)でシーケンスを行い、2.5 Mリードで解析した。検出されたJurkat T細胞由来のリードの割合と、実際にスパイクインしたJurkat RNA濃度を比較し、信頼性があると考えられる検出限界を、UMIによるデータ補正をしなかった場合 (Without UMI collapse) とUMIによるデータ補正をした場合 (With UMI collapse) のそれぞれにおいて、グレーの網掛けで示した。UMIによるデータ補正がない場合、TRBV12-3の検出限界は0.01%であったが、UMIによるデータ補正を行った場合は0.001%まで検出できた。UMIを用いたデータ補正を行うことで、より信頼性の高いNGS解析が可能となった。

レパトア解析の応用例



造血器腫瘍研究

- ・T細胞系腫瘍のクローナリティの評価
- ・時系列による分子遺伝学的な再発のモニタリング
- ・微小残存病変 (MRD) の検出

がん免疫関連研究

- ・腫瘍特異的TCR遺伝子の同定
- ・腫瘍浸潤T細胞のレパトア解析による治療薬有効性評価
- ・有用なCAR-T作製のための抗体遺伝子の探索
- ・ワクチン、がん免疫細胞療法の有用性の評価・開発

ヒトT細胞レパトア解析受託サービス

レパトア解析のフロー

RNA抽出～核酸品質検定

ヒトT細胞を含む検体(単核球・組織等)からRNA抽出を行い、品質検定を実施

TCRα/TCRβ領域増幅

SMARTer TCR a/b Profiling Kit V2(※)を用いて**高効率な逆転写反応**
 CDR3可変領域全体と3'側の定常領域の一部を**低バイアスに増幅**

ライブラリー混合 シーケンス

磁気ビーズによるライブラリーの精製およびBioAnalyzerを用いたサイズ・濃度の測定
 MiSeq / NovaSeq(イルミナ社)によるTCRの網羅的なシーケンス解析

V(D)Jセグメント同定 クローナリティ解析

アライメントおよびV(D)Jセグメント同定
 クローンタイプの解析結果生成

統計処理～解析結果生成

統計処理ならびに結果データの可視化、レパトア多様性の解析結果ならびに各種グラフの生成

※ TCRγ鎖、δ鎖はターゲットに含まれておりません。

情報解析例

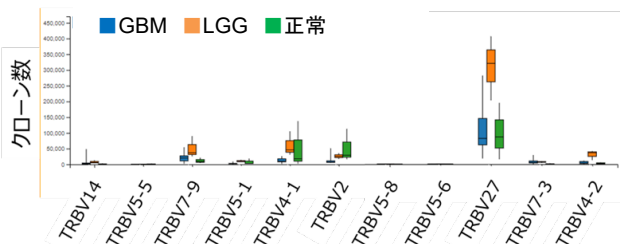
Clones	Proportion	CDR3_nt	Count_nt	CDR3_aa	Count_aa	V_name	D_name	J_name
59	0.002192249	TGCTACAATAACAATGACATGCGGCTTT	27	SYNNNDMRF	9	TRAV17		TRAJ43
56	0.002080779	TGTGCAGAGAAGTACACCAATGCAGGCAAAATCAACCTTT	39	CAEKYTNAGKSTF	13	TRAV13-2		TRAJ27
34	0.00126333	TGTGCAATGAGAGAGGGCCCATCCTACGACAAGGTGATTTT	42	CAMREGPSYDKVIF	14	TRAV14DV4		TRAJ50

V_end	D_start	D_end	J_start	VJ_ins	VD_ins	DJ_ins	Sequence
1	NA	NA	2	0	NA		TGCTACAATAACAATGACATGCGGCTTT
11	NA	NA	13	1	NA		TGTGCAGAGAAGTACACCAATGCAGGCAAAATCAACCTTT
17	NA	NA	21	3	NA		TGTGCAATGAGAGAGGGCCCATCCTACGACAAGGTGATTTT

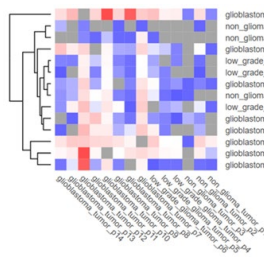
各クローンの検出結果 (CDR3サマリ / V(D)Jセグメントに関する情報)

Names	samples					
	N20	N40	N60	T20	T40	T60
TRBV1	NA	NA	NA	NA	1	NA
TRBV10-1	2	2	2	1	2	NA
TRBV10-2	4	NA	1	3	1	NA
TRBV10-3	9	2	5	8	7	2
...						
TRBJ1-1	39	35	18	6	62	6
TRBJ1-2	34	15	15	9	47	2
TRBJ1-3	13	4	5	1	12	1
TRBJ1-4	16	7	3	8	16	2
...						

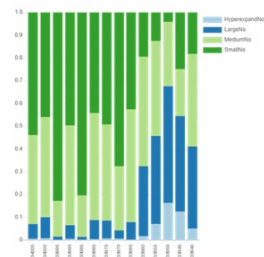
V/Jセグメントにおいて検出された遺伝子ごとのカウント



V/Jセグメント usage



TCR共通性による
クラスタリング解析



Clonal Expansion Plot

納品物

- ・作業報告書
- ・シーケンスデータ (fastq)

・解析データ

- サンプルごとの検出クローンの情報のサマリ
- immunarchによるレパトア解析結果
- V/Jセグメントにおいて検出された遺伝子ごとのカウント
- プロット(GUI形式)

受入サンプル

送付物	サンプル量	濃度	純度	
			OD260/OD280	OD260/OD230
total RNA (T細胞)	300 ng 以上	20 ng/μl 以上	1.6 以上	
total RNA (全血・組織由来)※	3 μg 以上	150 ng/μl 以上	1.6 以上	
組織検体	100 mg 以上			
血液検体	全血 3 ml 以上			

※ヘパリン含採血管で採血された血液は本解析に適していません。
 ※血液からのRNA抽出には下記製品を推奨します。
 NucleoSpin RNA Blood Midi
 (製品コード 740210.20)



注1: 対象はヒト由来検体のみとなります。その他生物種には対応しておりません。

注2: 組織検体、血液検体でのご依頼の場合は、別途核酸抽出費用を申し受けます。

注3: ヒト臨床検体からのRNA抽出の場合には、サンプル感染性について情報提供用紙をご提出いただき、施設受入の可否をご連絡いたします。

記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。

2022年3月作成

タカラバイオ株式会社

■ 受託サービスに関するお問い合わせ

滋賀県草津市野路東七丁目4番38号 〒525-0058

TEL 077-565-6999

Website <http://catalog.takara-bio.co.jp/jutaku/>

取扱店