



MassARRAY® Systemを用いた キメリズム解析

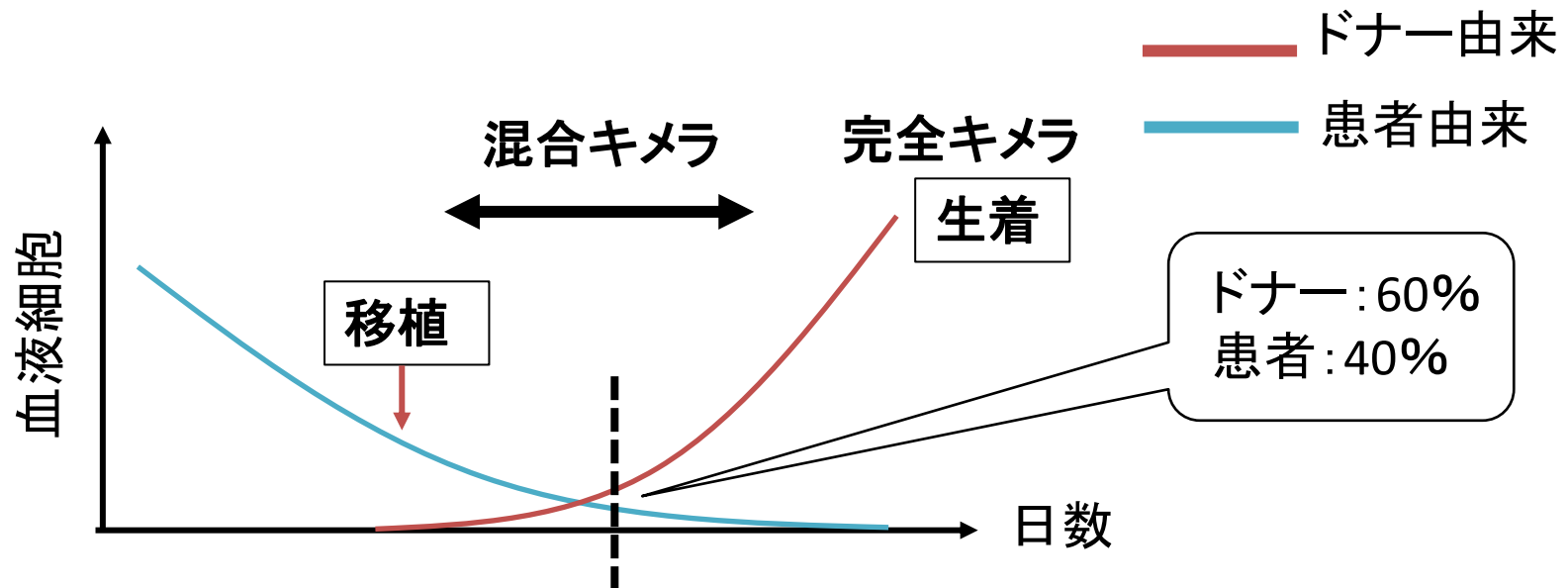
2022/7/4

株式会社ベリタス

研究用試薬

キメリズム解析とは

同種造血幹細胞移植を行ったレシピエント(患者)の血液細胞の遺伝子を検査
 →ドナー由来の遺伝子と患者由来の遺伝子の割合(キメリズム%)を決定

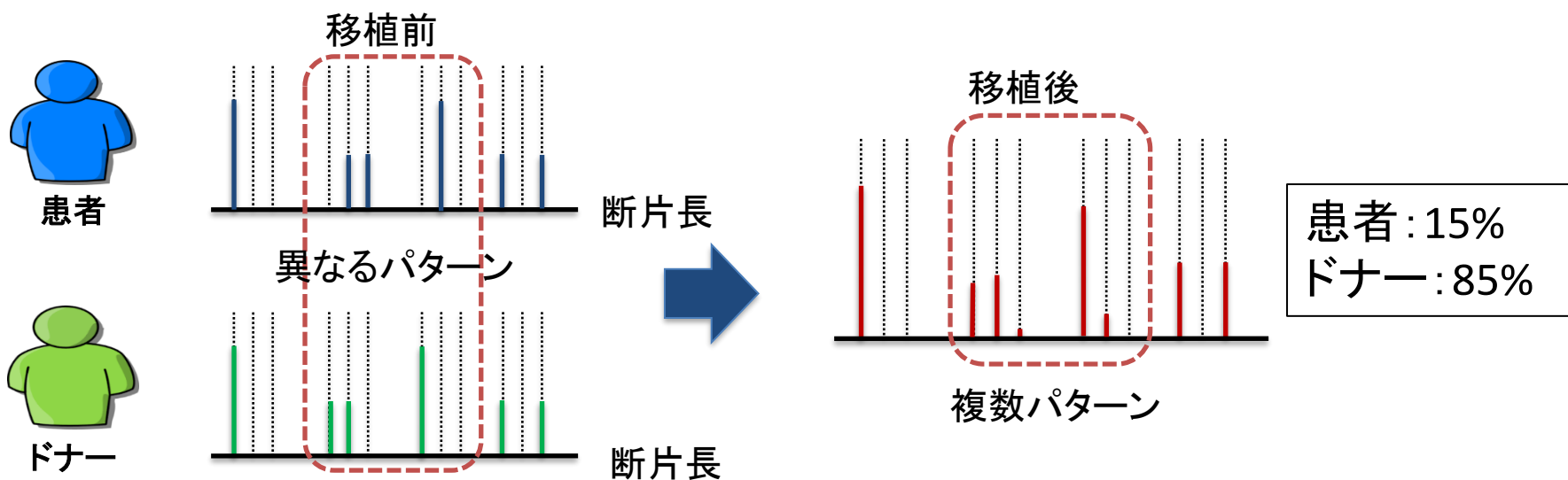


- 生着の状態や再発、腫瘍細胞の有無のモニタリング
- 移植後に発生する移植片対宿主病 (GVHD) などに関連する情報取得

キメリズム解析の手法

○PCR-STR法

遺伝子内の短い反復領域STR (short tandem repeat) をターゲットとした解析



- × アッセイの準備やデータ解析が煩雑
- × 解析に時間がかかる

MassARRAY Systemによるキメリズム解析

MassARRAY Systemを利用したキメリズム解析

- MALDI-TOFベースの解析
- 医療機器 (class I) 取得済、検査ラボ等に導入済
- Agena社開発のChimeric ID Panelを利用
- 低濃度～高濃度のDNAでも解析可能
- ハンズオンは短時間、低コスト
- STR解析と同等の精度
- 専用ソフトウェアによる自動解析

Agena[®]
BIOSCIENCE



Chimeric ID Panelについて

92のSNPを解析

HapMap集団 (ASW, CEU, CHB, GIH, JPN, MEX) においてマイナーアレル頻度 (MAF) が45-55%かつ、連鎖不平衡が存在しないものをパネルに利用

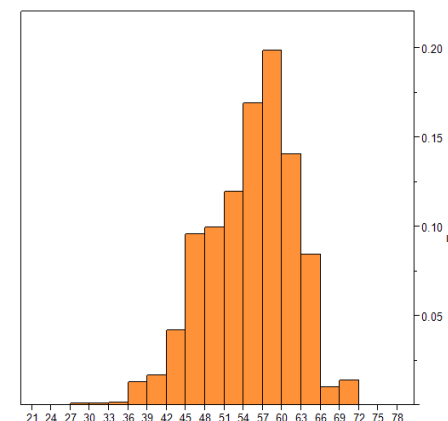


平均57 SNPの結果を利用

有益なデータが得られたSNPの解析結果からドナーと患者サンプルのアレル頻度を検出

多検体の同時解析が可能

1チップ当たり最大12検体 (96 well)、48検体 (384 well) 解析



キメリズム解析のワークフロー

簡便な実験ステップ

- ①マルチプレックスPCR
- ②SAP処理
- ③一塩基伸長反応
- ④質量分析

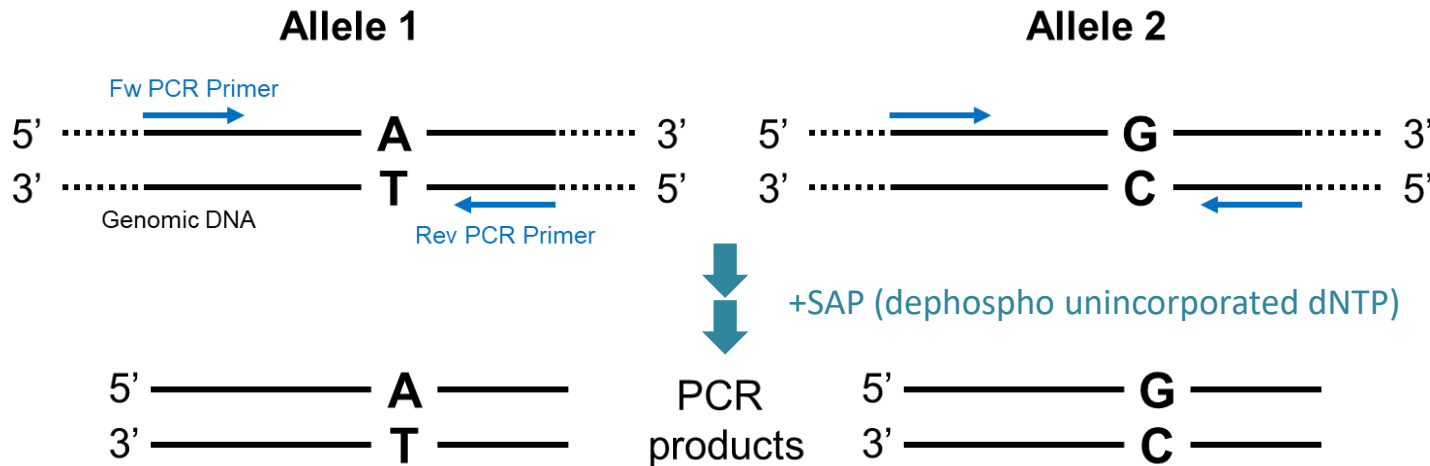


抽出DNAからデータ取得までは約9時間

キメリズム解析の詳細

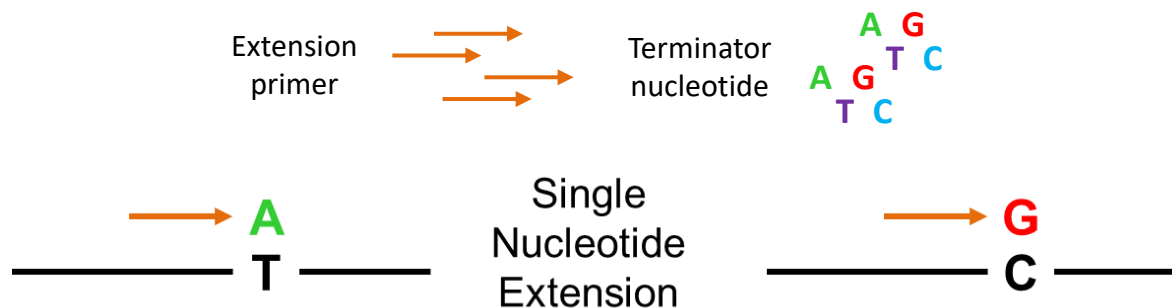
①

PCR反応
&
dNTPの
脱リン酸化
(SAP)



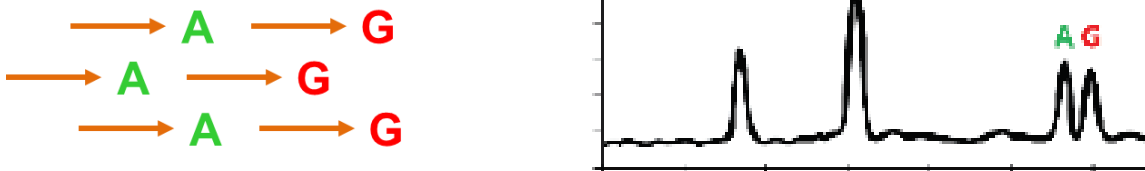
②

1塩基
伸長反応

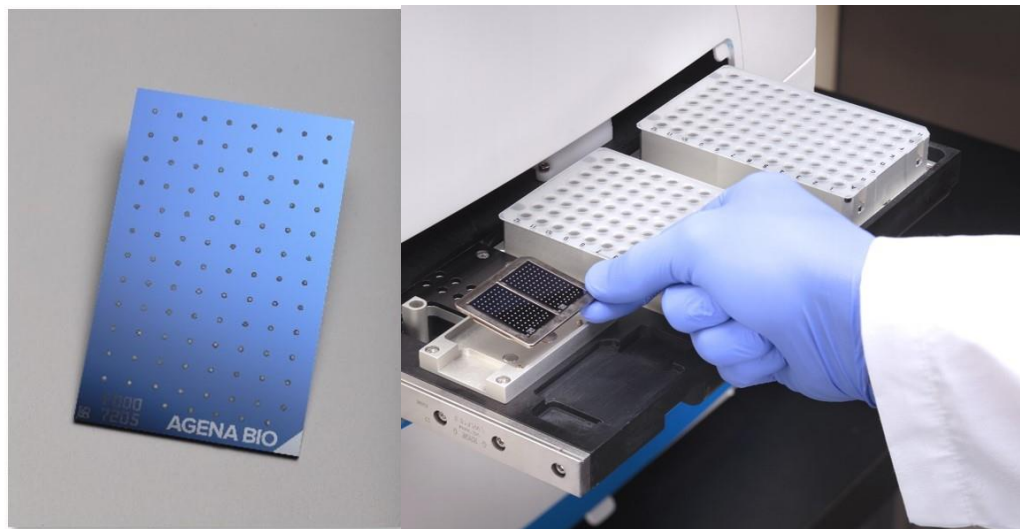


③

質量分析

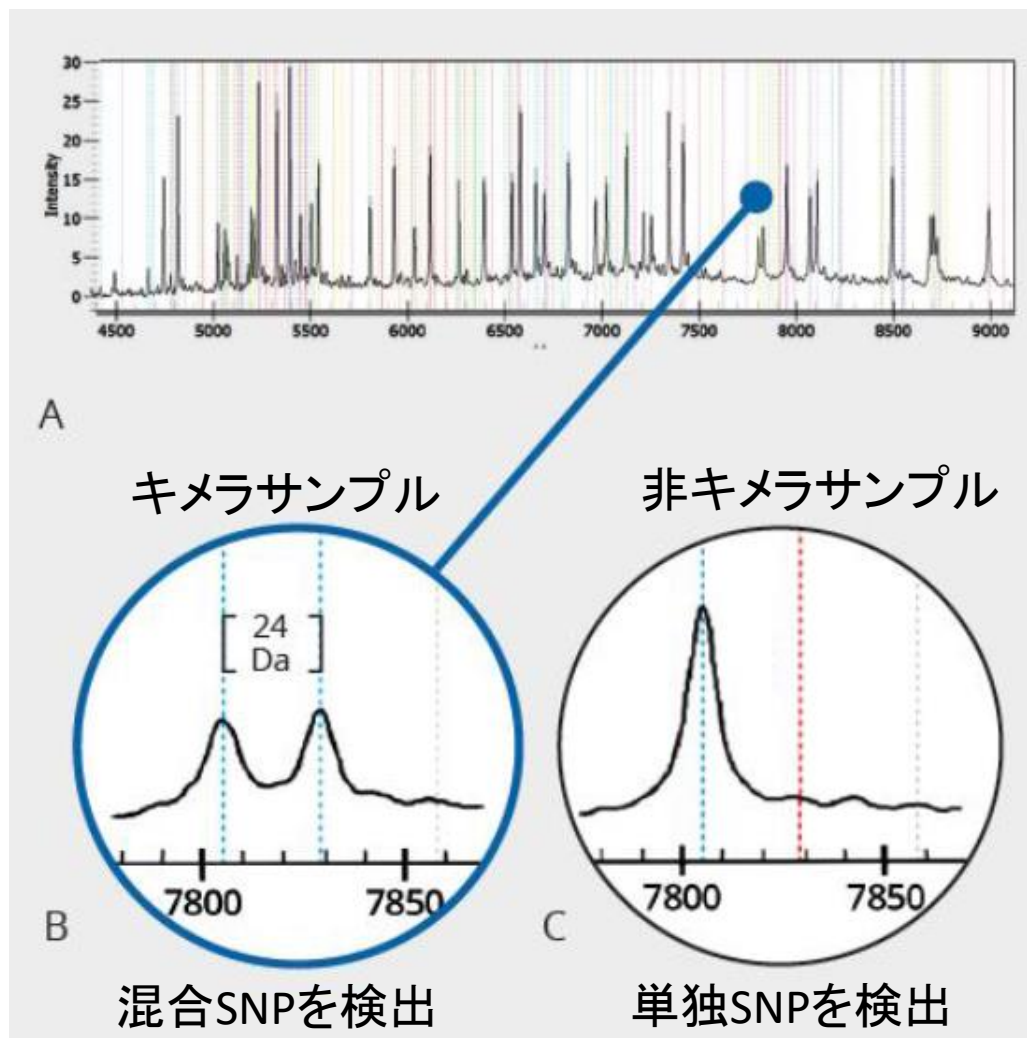


MassARRAY Systemを用いた解析



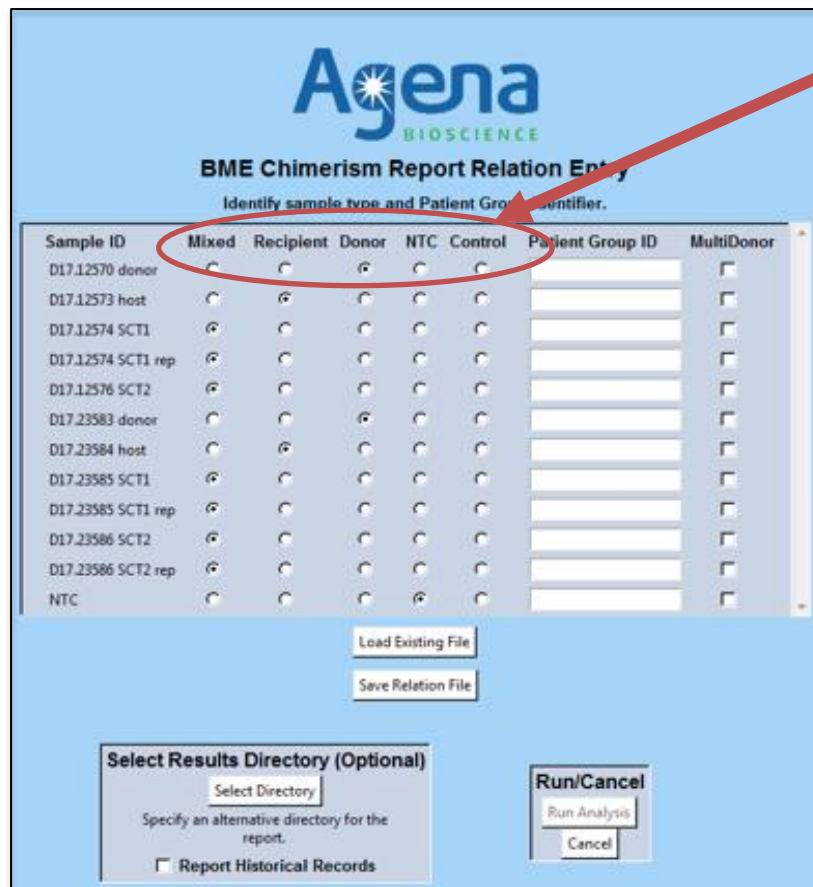
96 or 384 wellのSpectroCHIP[®]を用いた解析
※1ランで2チップまで解析可能

1ウェルでの多項目の質量分析の例(イメージ)



専用ソフトウェアによるレポート作成①

- サンプル名やサンプルタイプを入力するのみ
→解析データから自動でレポート作成



Agena BIOSCIENCE
BME Chimerism Report Relation Entry
 Identify sample type and Patient Group Identifier.


Sample ID	Mixed	Recipient	Donor	NTC	Control	Patient Group ID	MultiDonor
D17.12570 donor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.12573 host	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.12574 SCT1	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.12574 SCT1 rep	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.12576 SCT2	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.23583 donor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.23584 host	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.23585 SCT1	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.23585 SCT1 rep	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.23586 SCT2	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
D17.23586 SCT2 rep	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>
NTC	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="checkbox"/>

Buttons: Load Existing File, Save Relation File, Select Results Directory (Optional), Run/Cancel

サンプルタイプ
(ドナー/患者/混合
など)

専用ソフトウェアによるレポート作成②

- サンプルIDやキメリズム割合をレポート形式で簡単に取得
- 過去の結果も参照可能


 4755 Eastgate Mall, San Diego, CA 92121
 p. (858) 882-2900 | f. (858) 882-2727
 © 2018 Agena Bioscience, Inc. All rights reserved.

Patient Group ID: 888 **BME CHIMERISM ID**
 Software Version: "1.36"


Sample ID	Chimerism Call
ID: 15_M3_F1_F2_rep10 DATE: 2018-08-30 15:33:01	Chimeric
Z Score	Z Score Hmzg
19.2	36.5
Z Score Htzg	1.9

Result: Chimeric	Warnings: NA
DONOR ID: 100_F1	83.5%
RECIPIENT ID: 100_M3	16.5%

Approved By: _____

Signature Print Date

キメラ割合


 4755 Eastgate Mall, San Diego, CA 92121
 p. (858) 882-2800 | f. (858) 882-2727
 © 2018 Agena Bioscience, Inc. All rights reserved.

Patient Group ID: 123 **BME CHIMERISM ID**
 Software Version: "1.36"

MIXED	DATE: 2018-01-16 11:48:04	Z Score	Z Score Hmzg
ID: D17.12574 SCT1 rep		59.16106	91.58098
DONOR			
ID: D17.12570 donor		91.2%	
RECIPIENT			
ID: D17.12573 host		8.8%	

MIXED	DATE: 2018-01-16 11:48:01	Z Score	Z Score Hmzg	Z Score Htzg
ID: D17.12574 SCT1		71.63547	122.0364	1.63424
DONOR				
ID: D17.12570 donor		91.4%		
RECIPIENT				
ID: D17.12573 host		8.6%		

MIXED	DATE: 2018-01-16 11:48:00	Z Score	Z Score Hmzg	Z Score Htzg
ID: D17.12570 donor		.1	0	.4
DONOR				
ID: D17.12570 donor		100%		
RECIPIENT				
ID: D17.12573 host		0%		

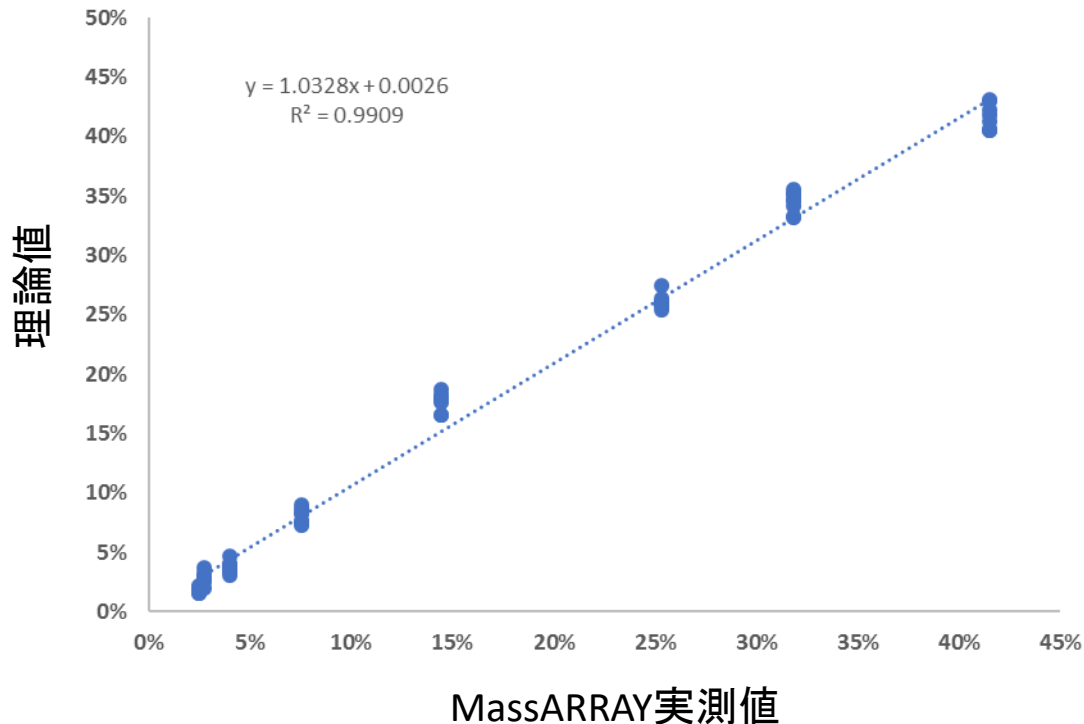
MIXED	DATE: 2018-01-16 11:48:02	Z Score	Z Score Hmzg	Z Score Htzg
ID: D17.12576 SCT2		89.00539	156.8265	2.345124
DONOR				
ID: D17.12570 donor		86.4%		
RECIPIENT				
ID: D17.12573 host		13.6%		

解析結果

同一サンプルの過去データ

高精度解析を実現

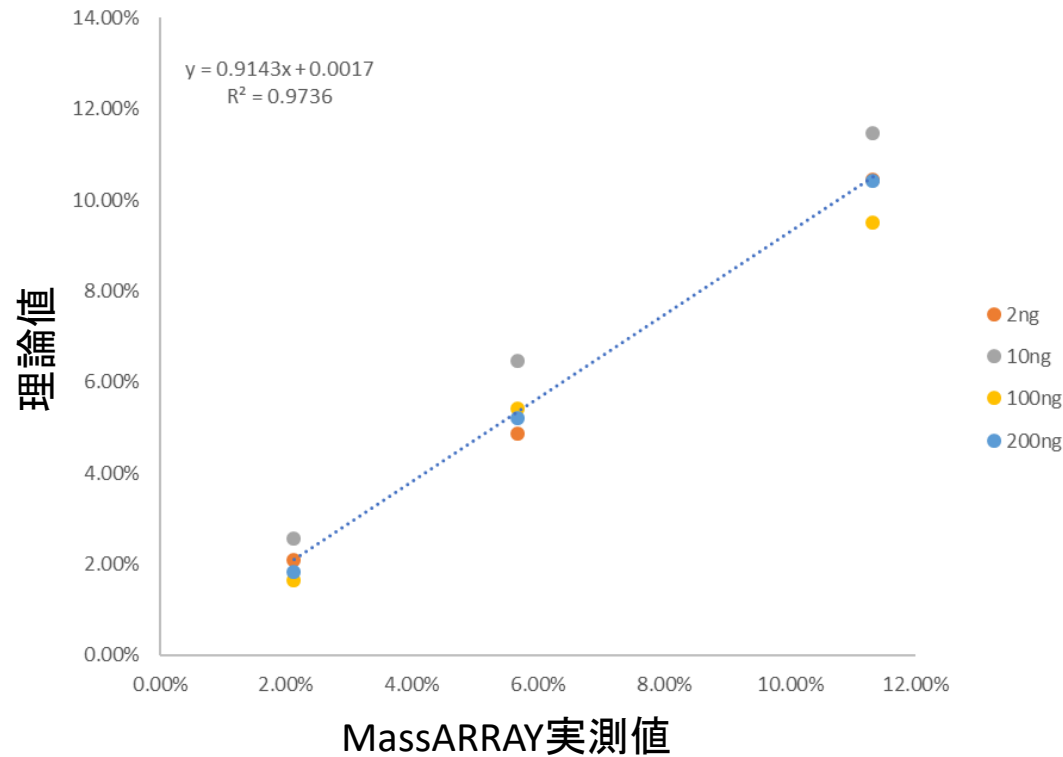
- 各キメリズム%で理論値と強い相関
- 施設間でのブレがなく正確性の高い結果を取得



キメリズム割合3-45%の範囲で高い正確性

低濃度～高濃度のDNAでも解析可能

- 濃度調整せずに実験を開始可能
- どの濃度でも同じ精度の結果を取得



初期DNA量 2-200 ngの範囲で良好な再現性と正確性

高い検出感度

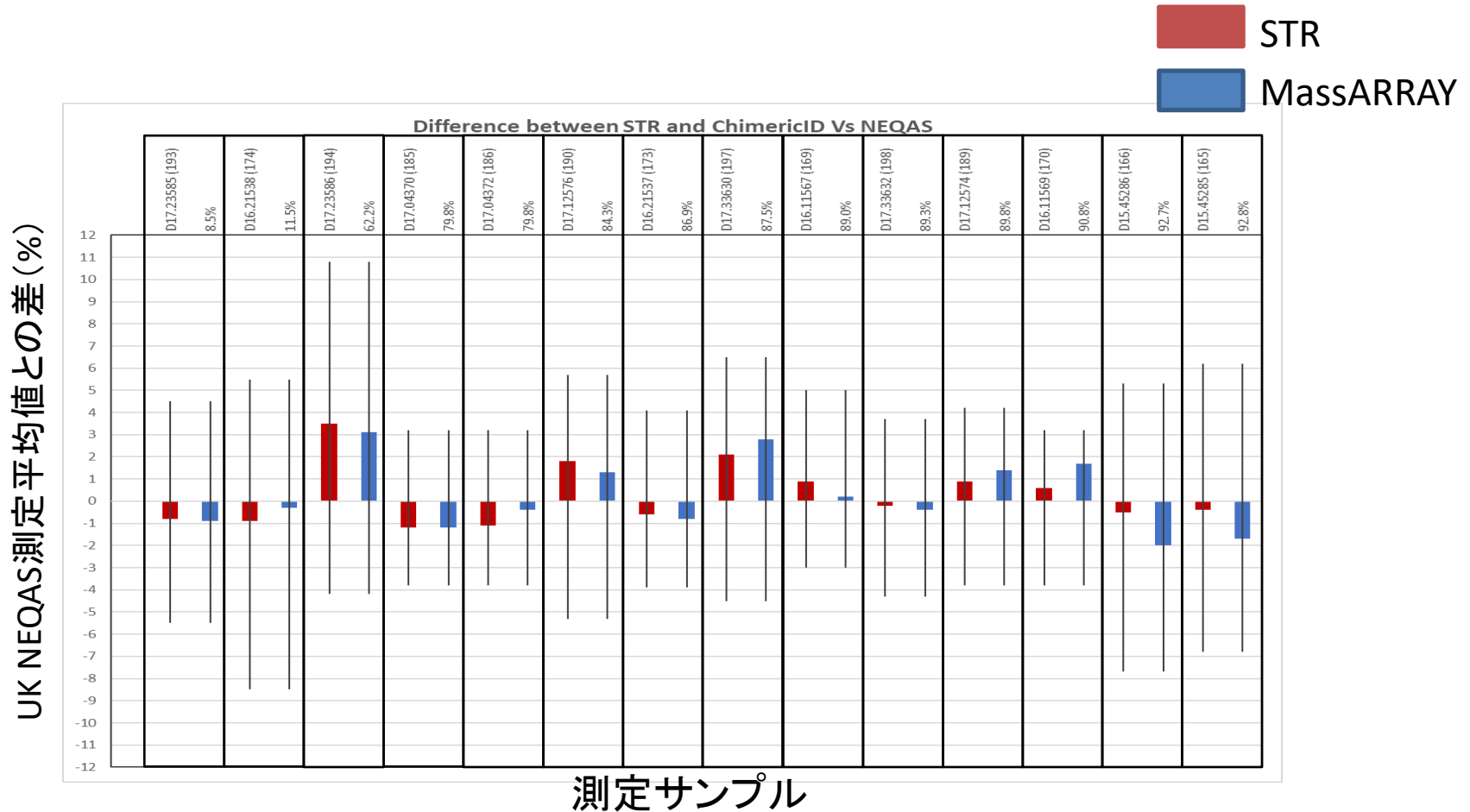
- キメラ割合3%～正確に検出

キメラ割合	反復数	キメラ陰性	キメラ陽性	キメラ検出割合
1%	12	10	2	16.7%
2%	12	2	10	83.3%
3%	13	0	13	100%
5%	13	0	13	100%
“Pure”	48	48	0	0%

※デフォルトのLODは1%

STR解析と同等の精度

- STRベースの解析の代替法として利用可能



両手法で同程度の検出精度

商品ラインナップ

- Chimeric ID Panel CPM (試薬とチップのセット)

商品コード	チップフォーマット	解析サンプル数
AGN-13168F	96 well CPM	120
AGN-13245D	384 well CPM	96
AGN-13169D		480

- 製品ページ

– <https://www.veritastk.co.jp/products/PGN-AGN018.html>

Agena[®]

BIO SCIENCE

正確で低コストなキメリズム解析は
MassARRAY Systemで



お問い合わせ先

株式会社ベリタス

〒105-0013 東京都港区浜松町 1-18-16 住友浜松町ビル 6 階

TEL: 03-5776-0078 FAX: 03-5776-0076

技術的なお問い合わせは

TEL: 03-5776-0040 E-mail: Tech_support@veritastk.co.jp