

LBx で採取した cfTNA の保存温度が NGS の反応性に与える影響についての検討

◎宮本 直樹¹⁾、梶原 亮佑¹⁾、一ノ瀬 佑果¹⁾、吉富 史美¹⁾、井上 賢二¹⁾、川野 祐幸¹⁾
久留米大学病院¹⁾

【背景】近年、血液検体を用いた遺伝子解析技術である Liquid biopsy(液性生検、以下 LBx)に注目が集まっている。LBx の対象には、cell-free DNA/RNA (cfDNA/RNA を合わせて cfTNA)があるが、血液中の cfTNA は微量であり、適正な管理が必要となる。

【目的】保存条件が cfTNA の品質及び NGS 解析に及ぼす影響について検討する。

【対象と方法】対象は久留米大学病院にて、がん患者 1 名より得た 56mL の血液検体(EDTA-2Na 7mL×2 本×4set)とした。得られた血漿より Maxwell RSC(プロメガ社)を用いて cfTNA を抽出後、すぐに測定するものと条件を変え 2 か月間保管するものに分割した(A:すぐに測定、B:2-8°C保存、C:-20°C保存、D:-80°C保存)。cfDNA の品質は、Agilent 4200 TapeStation System (アジレント・テクノロジー社)を用いて電気泳動し、バンドパターン、%cfDNA を比較した。また、Ion Torrent Genexus integrated sequencer(サーモフィッシャー・サイエンティフィック社)を用いてシーケンスを実施し、cfDNA では Median molecular coverage(以下 MMC)、read か

ら予測される MMC(以下予測 MMC)を、cfRNA では MMC、Read Counts Per Million(以下 RPM)を比較した。

【結果】cfDNA の電気泳動ではバンドパターンおよび %cfDNA に変化は認めなかった。シーケンスデータでは cfDNA の MMC は(A)と比較し(B)~(D)で低下を認めた(MMC ; 1447、964、641、766)が、予測 MMC では(B)のみ(A)を上回っていた(予測 MMC ; 1447、1974、1292、1379)。また、cfRNA 内在性コントロールの MMC は(A)と比較し、(B)、(C)、(D)で平均 52%、70%、76%の低下が認められた。RPM は(B)、(C)、(D)で平均 93%、117%、111%であり、(B)のみ低下傾向であった。

【考察】cfDNA は冷蔵保存の方が品質が保たれており、凍結融解による影響が示唆された。一方で cfRNA では冷蔵保存は品質低下が顕著であった。解析対象となる核酸によって保存設定を慎重に行う必要があると考えられた。

連絡先 0942-35-3311 (内線 5445)