

研究内容の説明文

説明用課題名* (括弧内は申請課題名)	一分子ロングリードシーケンサーによる新しい HLA タイピング法の検証 (ロングリードシーケンス技術による HLA タイピングの検証)
研究期間	2024 年度から 2026 年度 (3 年計画)
研究機関名	中央血液研究所 研究開発部
研究責任者職氏名	主査 清水 まり恵

※献血者に対しても理解しやすく、平易な文言を使用した課題名

研究の説明

1 研究の目的・意義・予測される研究の成果等

現在、非血縁者間の骨髄移植では、患者にとって可能な限り HLA (ヒト白血球型) が一致しているドナーが必要で HLA 遺伝子型のタイピング検査を行っています。近年、患者とドナーが詳細まで HLA が一致していることが、移植成績に影響を与えるという報告があり、一つ一つの塩基配列を読む次世代シーケンサー (NGS) を用いた検査が普及しています。しかし、HLA 領域のアレル (対立遺伝子) の種類が多く全てのアレルのタイピングができないことや、HLA 遺伝子全体の塩基配列は決定されていない部分があることが問題となっています。

中央血液研究所では、献血者 (PC-HLA ドナー) や骨髄バンクドナーの精査を実施している中で、タイピングが困難であることを課題としています。

近年開発されたロングリードシーケンスとは、DNA 塩基配列を数キロ塩基から数十キロ塩基の長さで直接読み取ることができる技術です。それに対して従来のショートリードシーケンスでは数百塩基の長さで読み取ることができますが、目的の解析領域を一度に解読できないために、断片化を行って短い長さ (ショートリード) で測定してきました。

一方、一連のつながりとして長く測定 (ロングリード) することができる SMRT シーケンス (一分子リアルタイムシーケンス) に代表されるロングリード系 NGS は、これまでの HLA 方法で解決できなかった以下の①から③のような解析ができるようになり、今後の HLA タイピング方法に一般的に用いられることが期待されています。

- ①塩基置換の距離が大きく離れている場合は正確な HLA 型の同定が難しい
- ②遺伝子上の一部塩基の欠失や挿入の検出が難しい
- ③タンパク質の合成や調節に関わる部位の検出が難しい

また、海外の造血幹細胞バンクにおいてロングリード系 NGS を採用した HLA タイピングが広まって、造血幹細胞移植においても SMRT シーケンスを用いて移植の成績が良くなるという報告があります。これらから中央血液研究所では、2021 年度に SMRT シーケンス技術を利用した一分子ロングリードシーケンサー (Sequel II e、Pacbio 社) を導入し検討を進めています。2022 年度までに、ショートリード系 NGS とロングリード系 NGS のタイピング結果を比較し、HLA クラス I、クラス II で概ねタイピングができました。

そこで本研究は、ロングリード系 NGS による高精度な HLA タイピング法のルーチン化に向けた検討を行い、その特性や有用性を確立することで、最適な運用方法の構築を目指します。

また、本法は、他の NGS 関連の研究の中心的な役割を担い、相互に連携しながら最も優れた方法論について検討を行います。そのため、別な検討にも検体や情報が使用されることがあります。

2 使用する献血者の試料と情報の項目

献血者の試料の種類： 血液型検査残余検体および PC-HLA タイピング検査の残余検体

献血者の情報： ABO 型と HLA-A, B, C, DRB1, DRB3/4/5, DQA1, DQB1, DPB1, DPA1 の 11 座

3 共同研究機関及びその研究責任者氏名

《献血血液等を使用する共同研究機関》

該当なし

《献血血液等を使用しない共同研究機関》

該当なし

4 献血血液等を利用又は提供を開始する予定日

2024 年 7 月 12 日

5 方法《献血者の試料・情報の使用目的・使用方法含む》

献血血液等のヒト遺伝子解析：行いません。 行います。

《研究方法》

検査残余検体から DNA を抽出し、試薬を用いて Sequel II e (Pacbio 社)にて HLA タイピング (HLA-A, B, C, DRB1, DRB3/4/5, DQA1, DQB1, DPB1, DPA1 の 11 座) を行います。解析は市販のソフトウェアを使用します。

これらの方法をルーチン化に向けて検討します。具体的には、1) 目的のローカスの HLA タイピングができるか、2) データクオリティは十分か、3) 構築した検査プロトコルの最適化と検体処理用ロボット (分注機) へ適合できるか、について評価を行い、大量検体処理の可能性を検証します。

なお、研究結果によっては、ABO 血液型を参考とすることがあります。

試料・情報の種類：

HLA 遺伝子座における新規塩基配列

特定の個人を識別できないように加工する方法：

新たにシリアル番号等を発生させ対応表を作成して管理を行いますが、個人情報 は削除して用います。

バンクの名称：

日本 DNA データバンク (DDBJ) および international Immuno-genetics project (IMGT)

6 研究期間の終了後の試料や情報について

新規アレル等の塩基配列の情報や試料は保存することがあり、情報はデータベースに登録して管理し、試料は研究実施機関で 2035 年 3 月まで保管します。

別紙様式第 10

担当者	清水 まり恵
電話	03-5534-7510
Mail	ma-shimizu@jrc.or.jp