

組織微小環境の形態主導の高空間分析 GeoMx™ Digital Spatial Profiler

発表者

植松 隆 NanoString 日本リージョナルマーケットマネージャー

バイオマーカー探索とトランスレーショナルリサーチツールを開発

NanoString Technologies Inc.,
本社：シアトル、ワシントン州
2003年 設立



3,200 Publications To Date

GeoMx™
Digital Spatial Profiler
2019年
発売開始

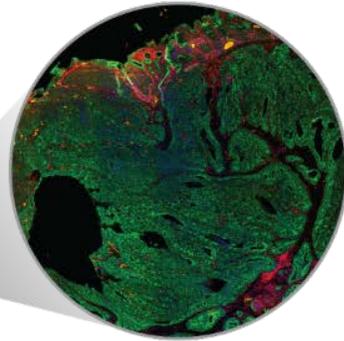


nCounter®
Analysis
System
2008年
発売開始

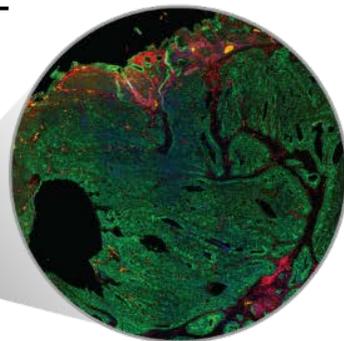
不均一性組織への挑戦

空間プロファイリングは、生物学な反応性の違いを明らかにする可能性が高い

レスポnder



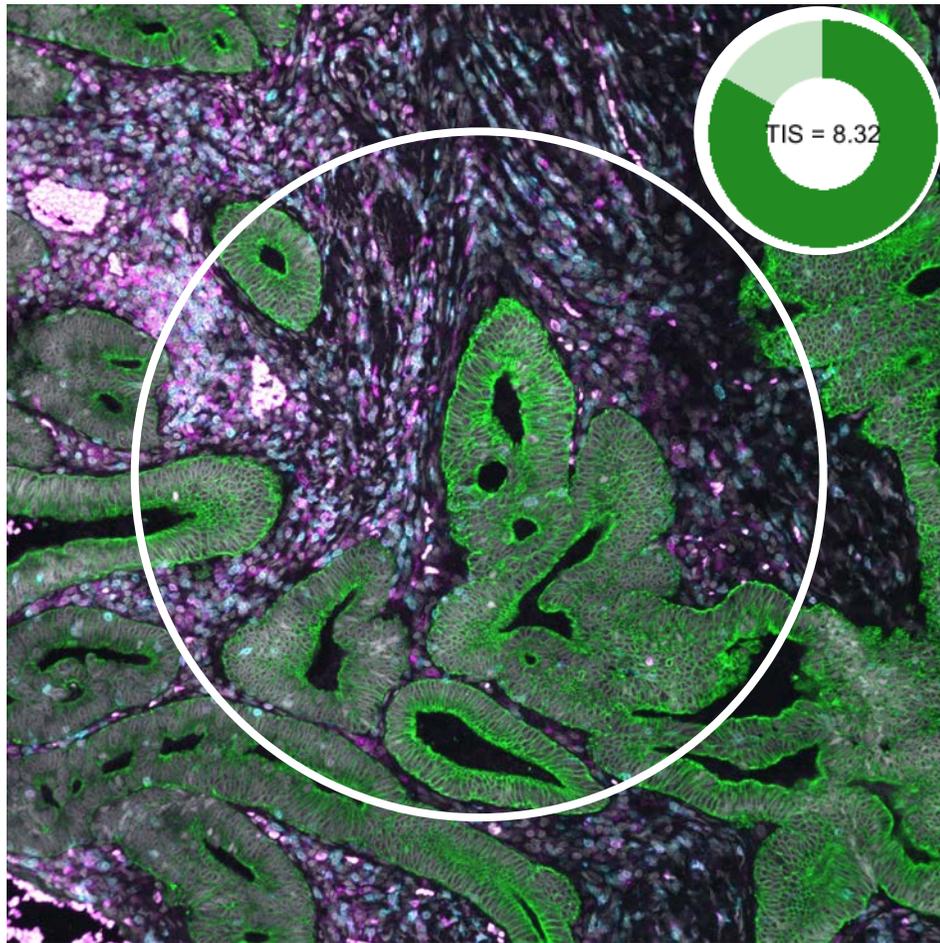
非レスポnder



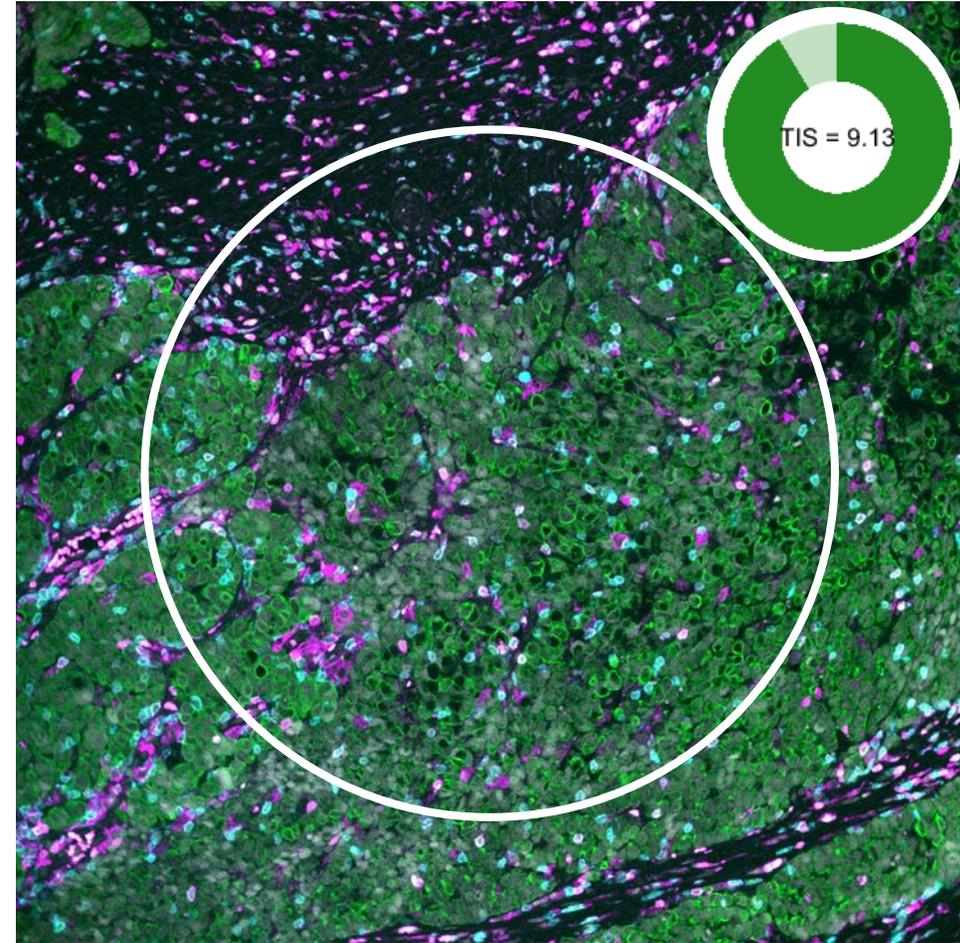
応答の仕組みは空間的な関係で、バルク、1細胞解析では解決できない

低浸潤だが、ホットな腫瘍領域

Pan-CK
CD45
CD3
Syto13



高浸潤な、ホットな腫瘍領域



非小細胞肺癌(NSCLC)における 有益なPD-1チェックポイント遮断に関連するバイオマーカー

背景

- 進行したNSCLC患者の大多数は、特に単剤療法としてPD-1の遮断治療に反応しない
- PD-1チェックポイント遮断は進行期疾患の標準治療であるが、これらの治療を最適に提供するには、更に最適な予測バイオマーカーが必要と考えられた

実験的デザイン

- 組織マイクロアレイを使用して、PD-1チェックポイントによる単剤の遮断治療を受けた 53人の進行NSCLC患者の治療前生検をアッセイしました
- 44種類のタンパク質の発現を4つの組織コンパートメントで測定：
腫瘍、マクロファージ、免疫細胞、非免疫細胞間質
- 4つのコンパートメントに於ける、すべてのマーカーの発現変動解析について、治療反応を予測する能力を評価しました。

Zugazagoitia et al., *Clin Can Res* 2020

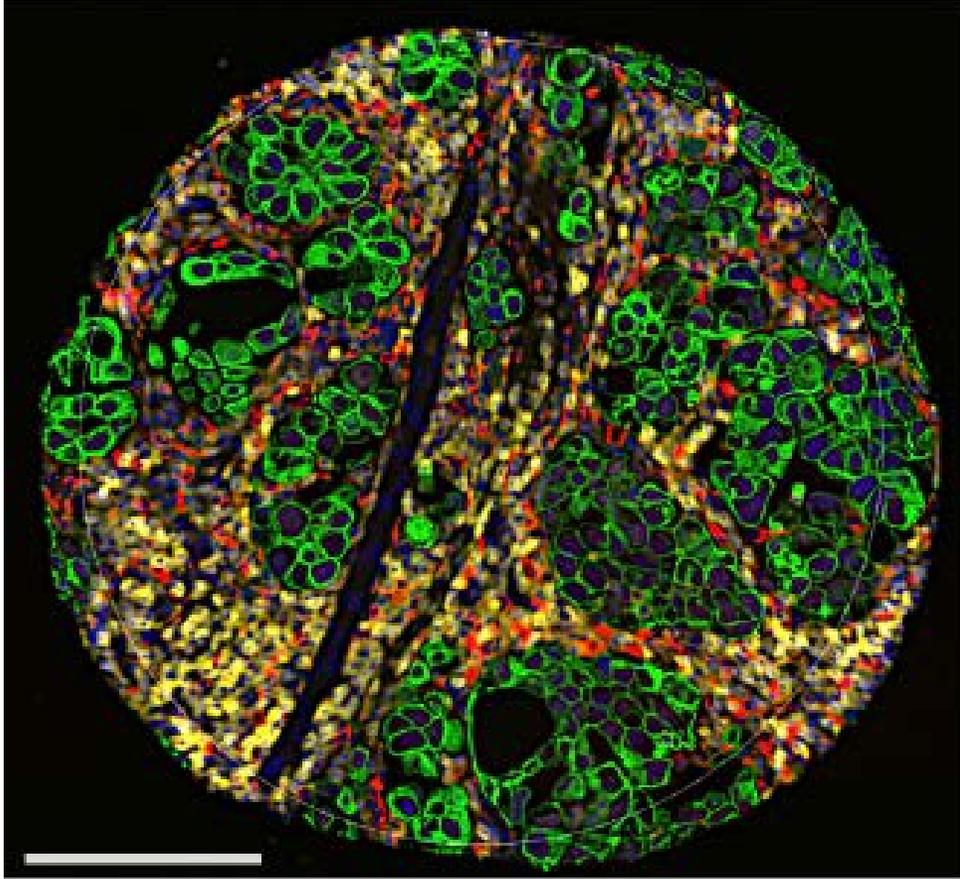


David Rimm, MD, PhD

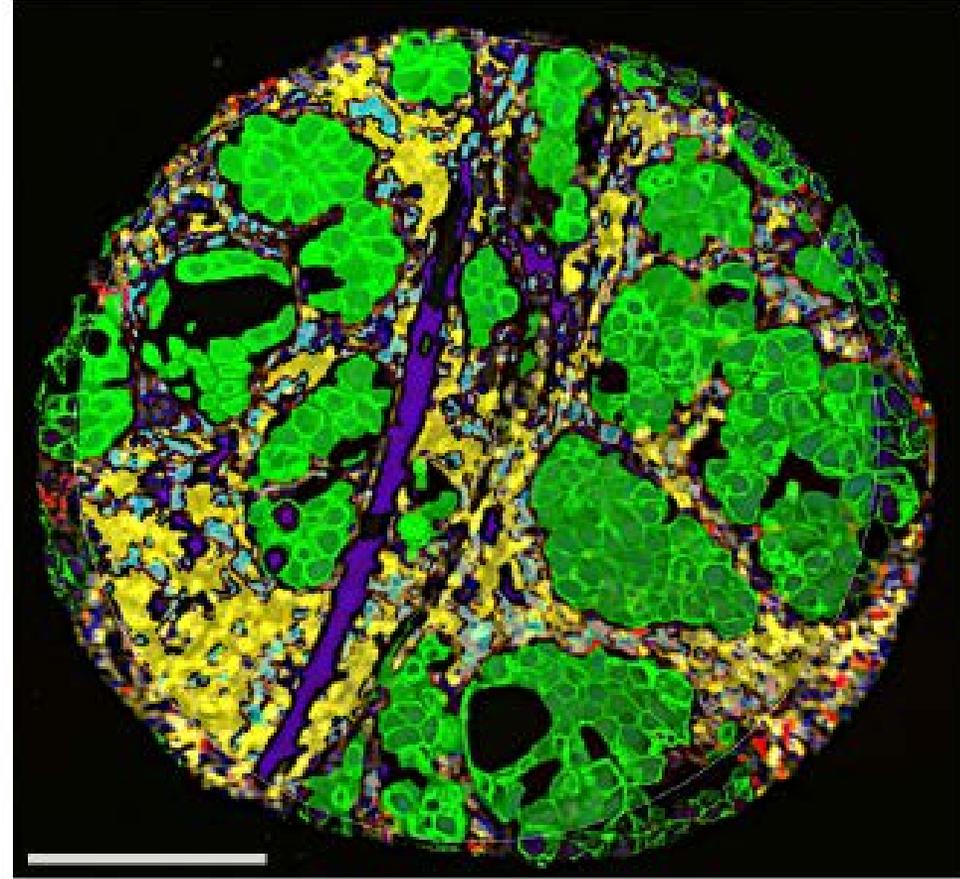
病理学、医学教授
病理組織サービス部門ディレクター
トランスレーショナル病理 ディレクター
エール大学

ROI(Region Of Interest;興味領域)の選択戦略

panCK/CD45/CD68

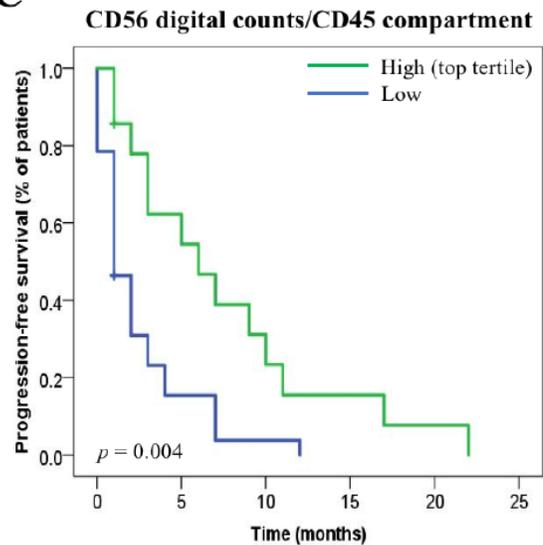


Tumor/CD45/CD68/Non-immune cell stroma

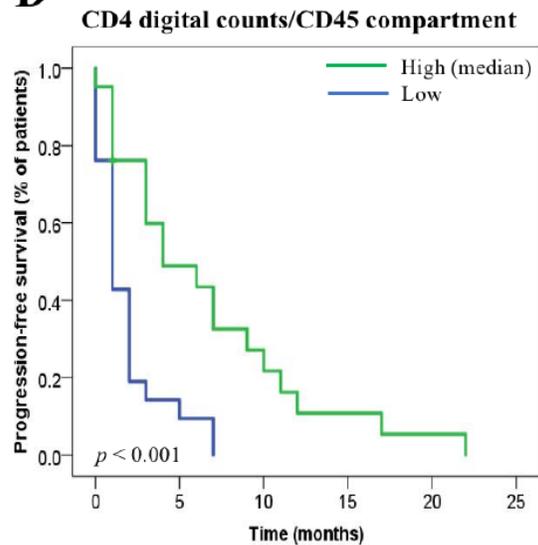


コンパートメント固有の発現プロファイルに関連する患者の生存率との関係

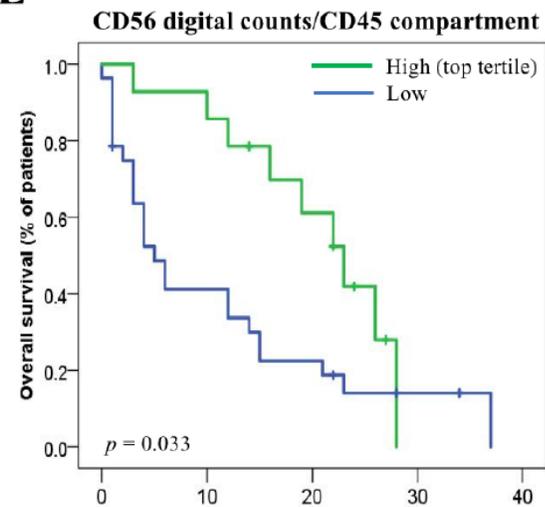
C



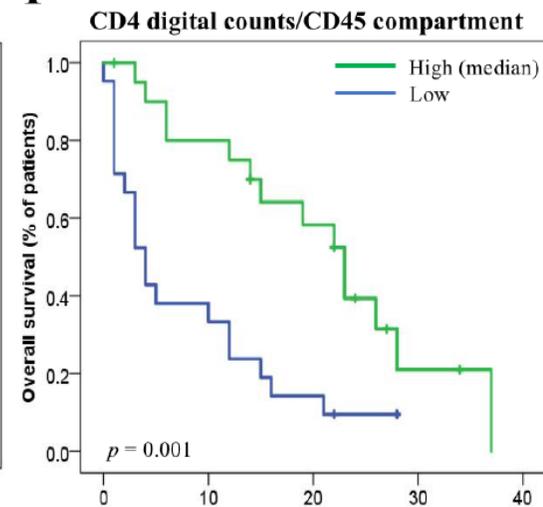
D



E



F



高プレックスなRNAおよび、タンパク質検出用試薬

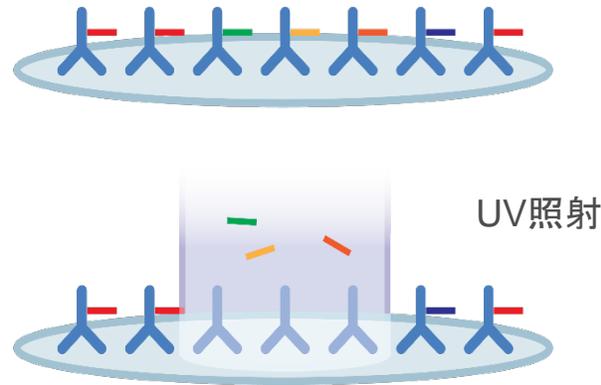
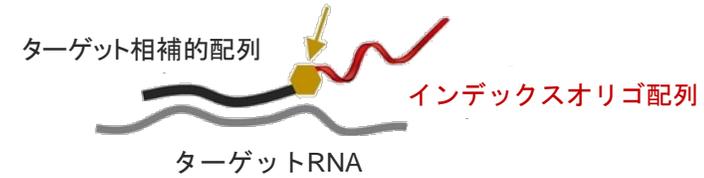
タンパク質検出試薬
オリゴラベル抗体

UV光（感受性）切断リンカー

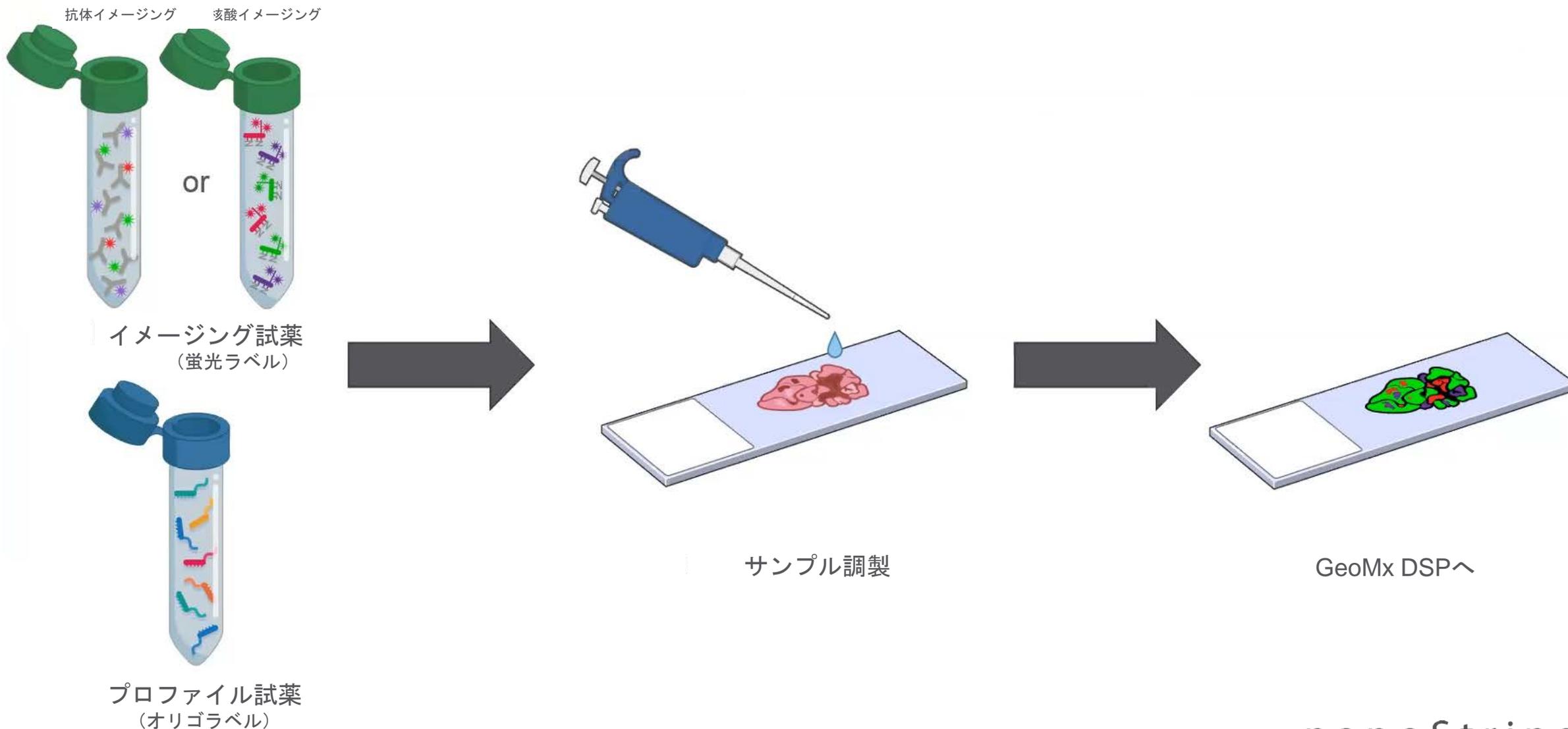


RNA 検出試薬
オリゴラベル核酸プローブ

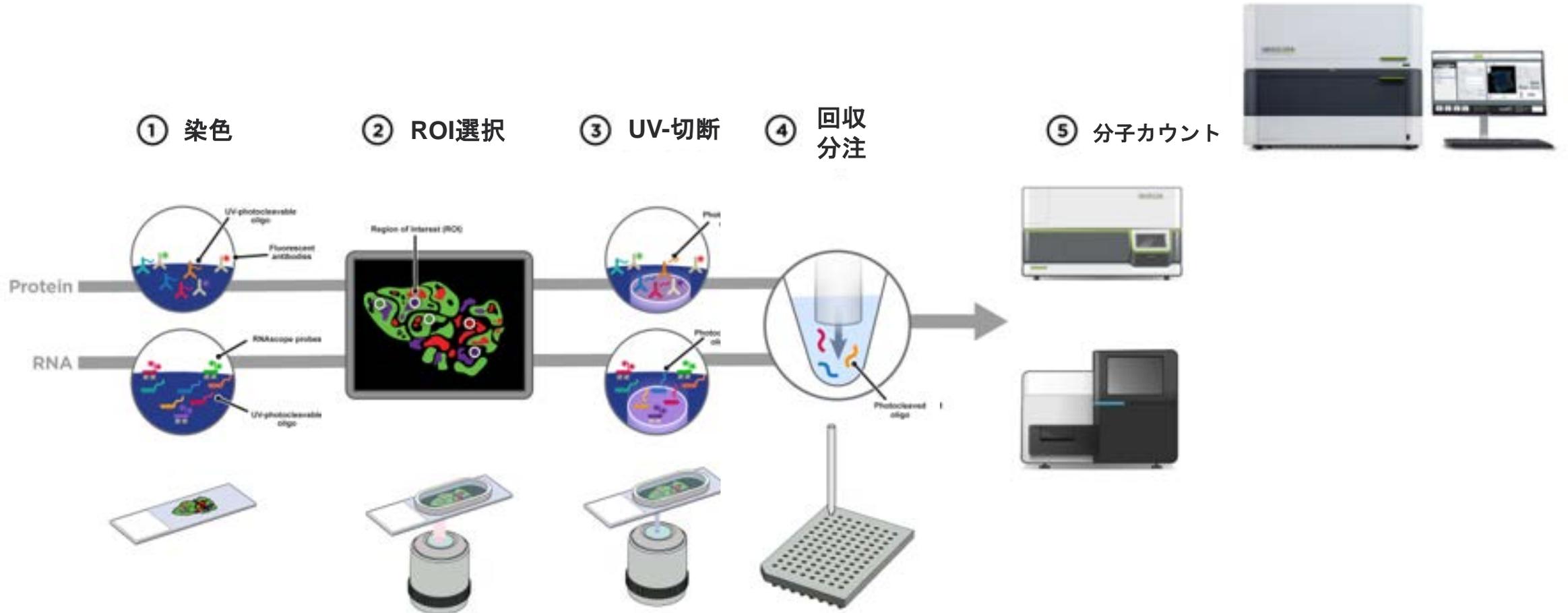
UV光（感受性）切断リンカー



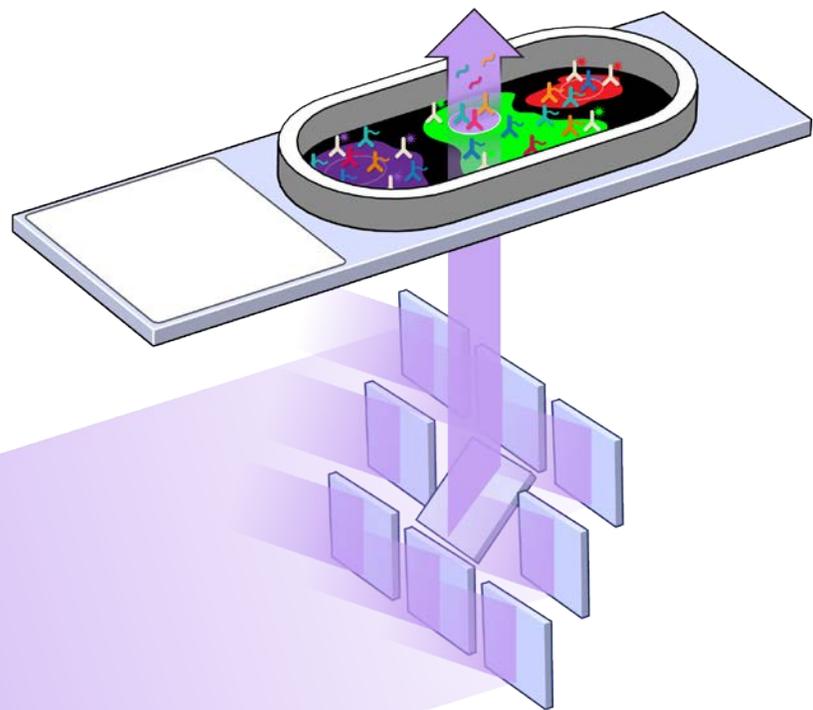
イメージング試薬とプロファイル試薬は、一度に添加



GeoMx[®] DSP: 手順

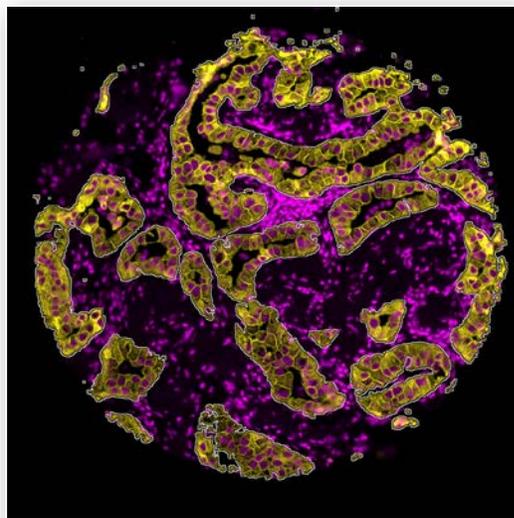


GeoMx DSP における光学系



Digital Micromirror Device (DMD)
約 1,000,000個の微小ミラー

染色

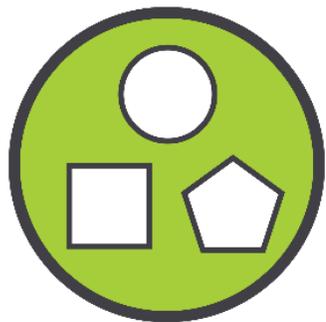


腫瘍部マスク

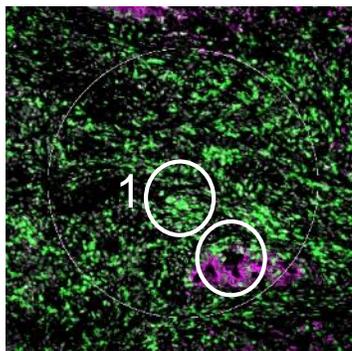
腫瘍周辺
微小環境マスク

組織を調査するために設定された5つのユニークなプロファイリング様式

幾何学的

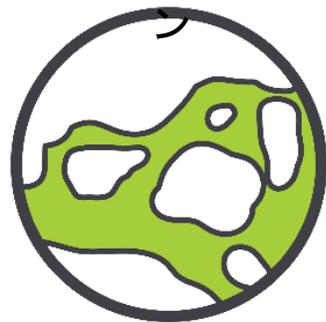


CD3 PanCK DNA

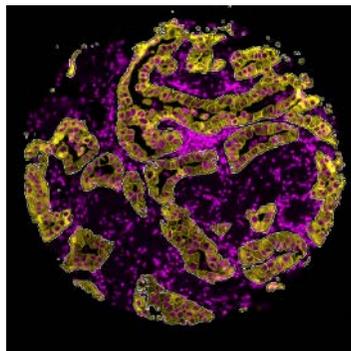


組織のさまざまな領域
で予測される発現の
不均一性の研究

セグメンテーション

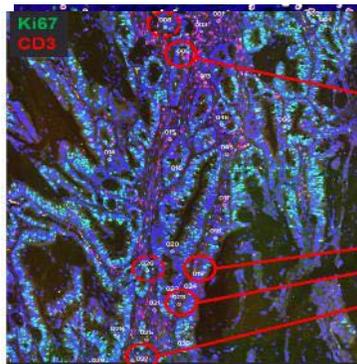
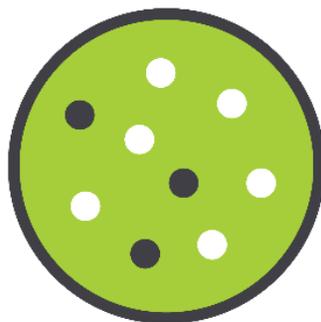


PanCK DNA



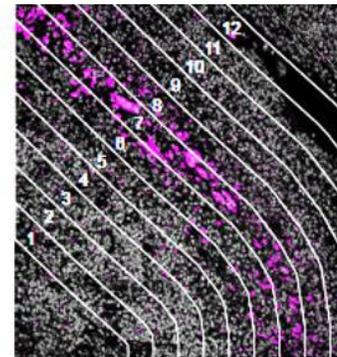
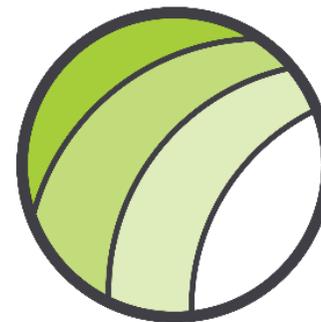
個別の生物学的
コンパートメントの
発現プロファイルの研
究 (例Tumor-TME)

細胞型特異的



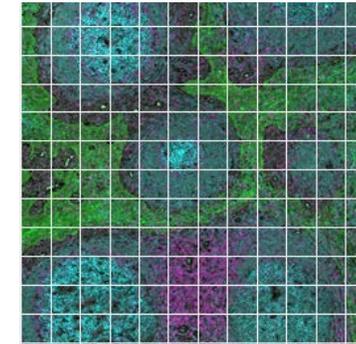
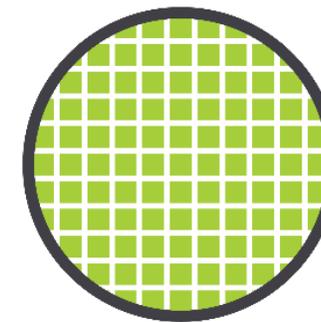
組織中の特定細胞集団の
発現プロファイル研究

輪郭



微小環境において
境界の両側で
どのような発現変動が
生じているか

グリッド



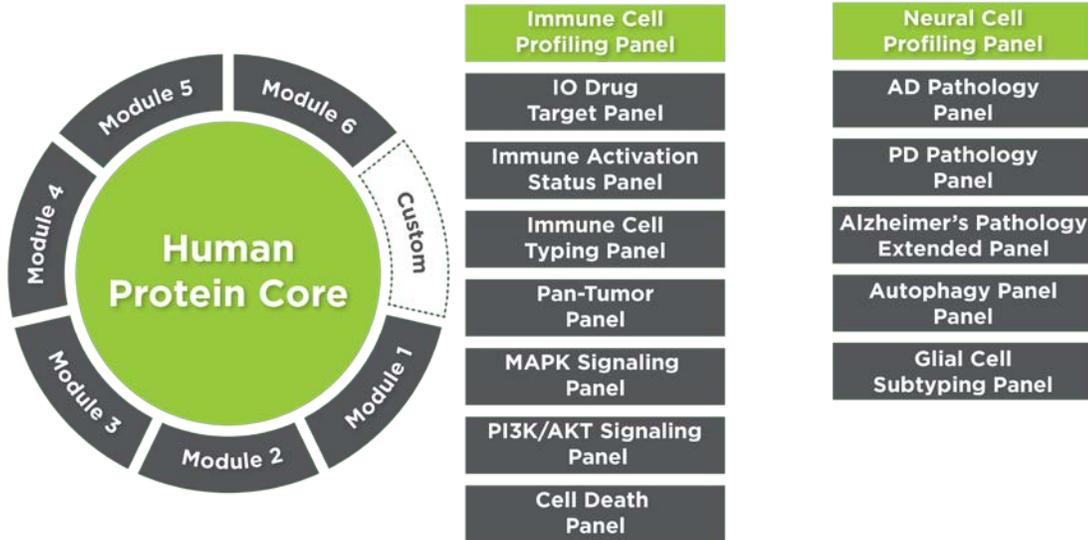
マルチプルな
ターゲット変動観察を
特定の組織領域の
詳細マッピング
により観察する

DSP におけるnCounter および Illumina NGS コンテンツ

nCounterのタンパク質アッセイ

>140 ターゲット：癌と免疫関連

>75 ターゲット：
神経科学関連



プラス >6,000 種類の抗体 ; Abcam社製カスタム標識抗体



NGS および nCounterのRNAアッセイ

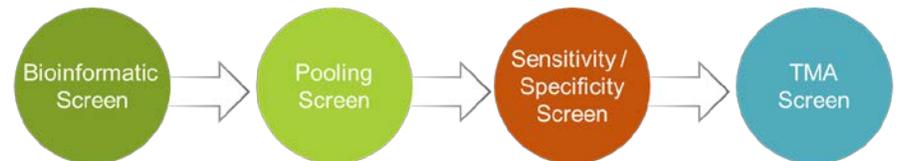
nCounter



Immune Pathways Core

84 遺伝子

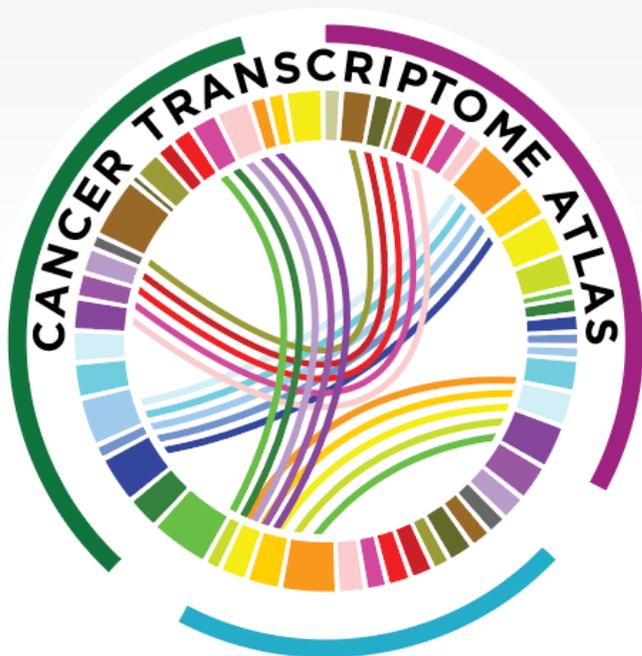
- 広範な免疫反応
- 免疫の微小環境活性
- 腫瘍の反応性
- 腫瘍炎症サイン



Cancer Transcriptome Atlas(CTA): 癌トランスレーショナル研究で新規の発見機会の提供

癌領域の探索アプリケーション

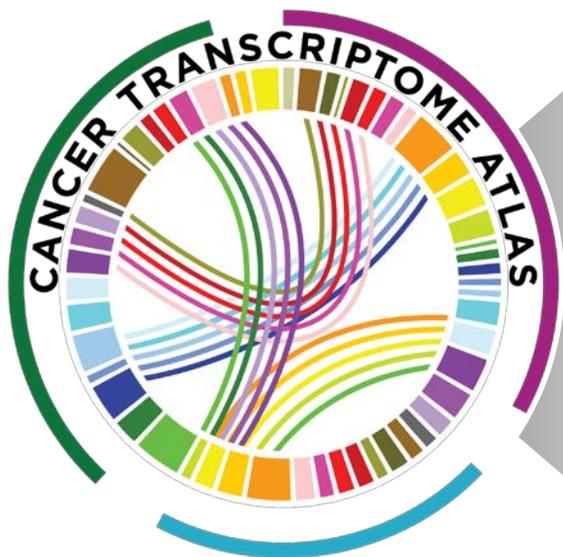
がん研究のために厳選され検証されたコンテンツ



- 広範なコンテンツ: 1,833 遺伝子、及び55のパスウェイ
- 生物学的な包括性:
 - 腫瘍生物学、免疫応答、微小環境、
低発現細胞 (サイトカイン、ケモカイン、転写因子など)
- キュレーションされた関連性:
 - 評価されたnCounter遺伝子発現パネルと
シグネチャ (PAM50、TIS) が含まれています
- 最小シークエエンス: 30-50M リード/サンプル

Technology Access (TAP) で利用可能
2020年半ばに製品発売予定

GeoMx® DSP ハイプレックス RNA 化学: 光切断バーコードのシーケンス



RNA タイプ

snRNA

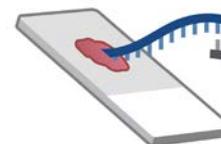
mRNA

small ncRNA

long ncRNA

circRNA

FFPE クロスリンク RNA



... AAAAA

エクソン1

光(感受性)切断リンカー

5'

ILMN i5
(20 nt's)

UMI
(14 nt's)

GeoMxID
(12 nt's)

ILMN i7
(20 nt's)

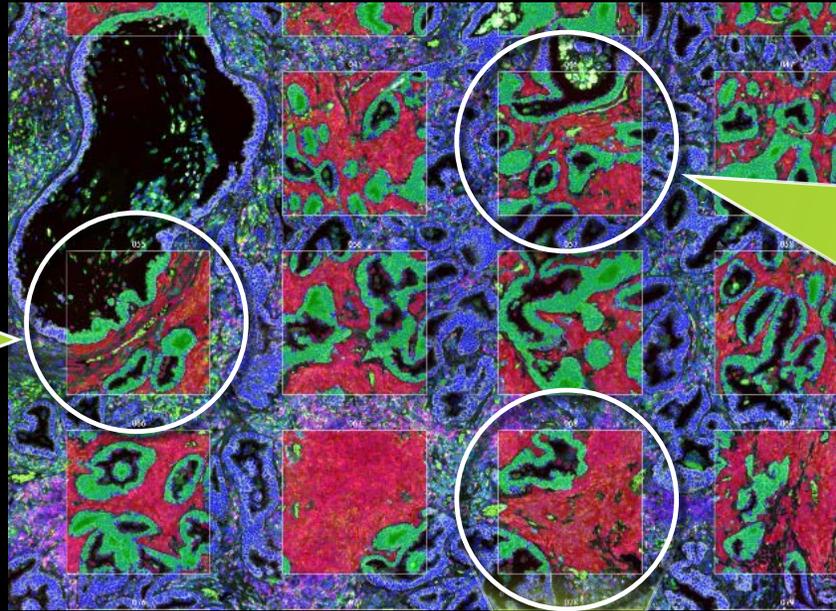
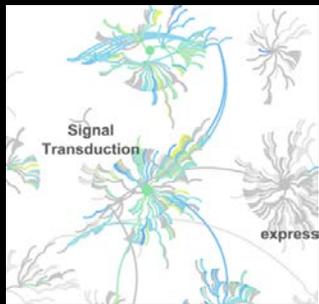
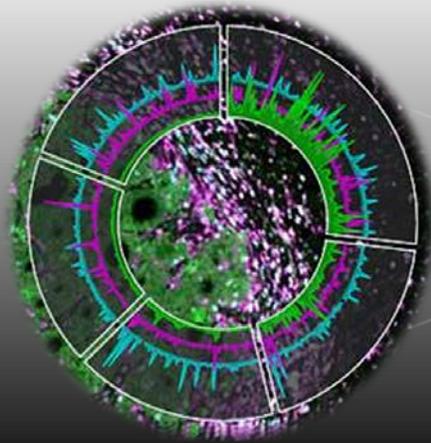
3'

LIGHT

シーケンス用
ソリューションプロブ

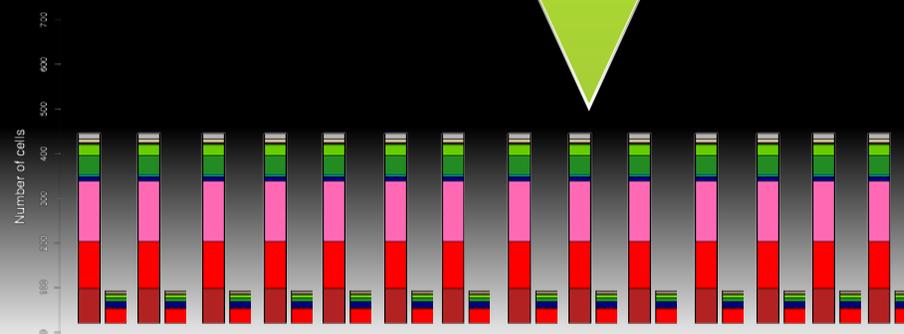
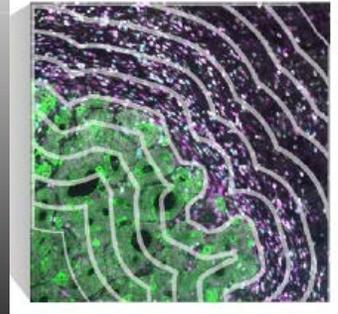
GeoMx DSP 空間解析による、Cancer Transcriptome Atlas (CTA) を使用した、複雑な高度分子プロファイリング

パスウェイ分析

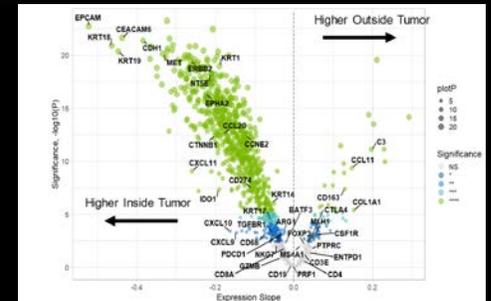


バイオマーカー探索

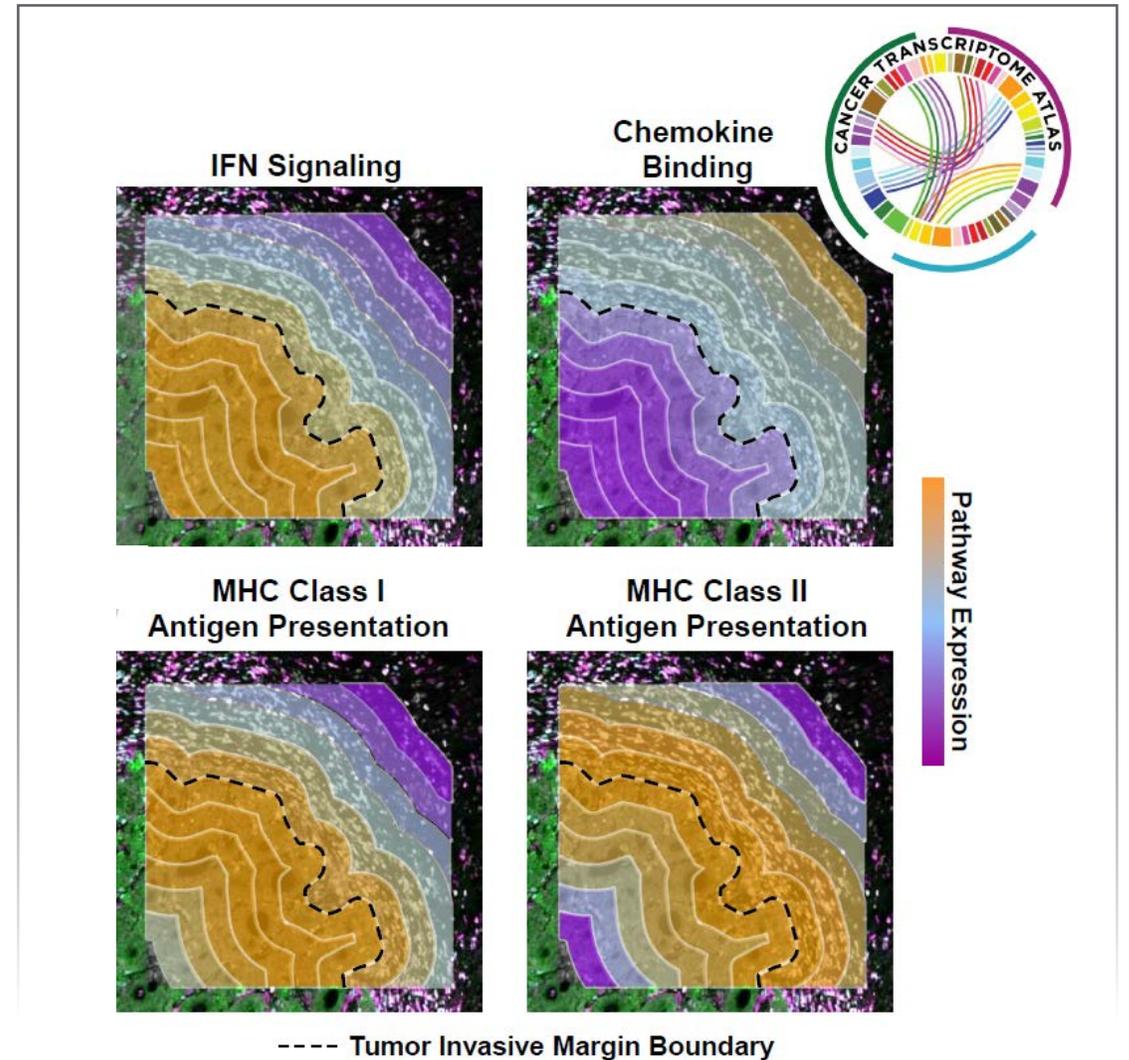
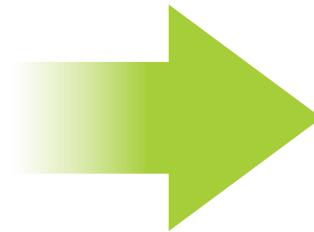
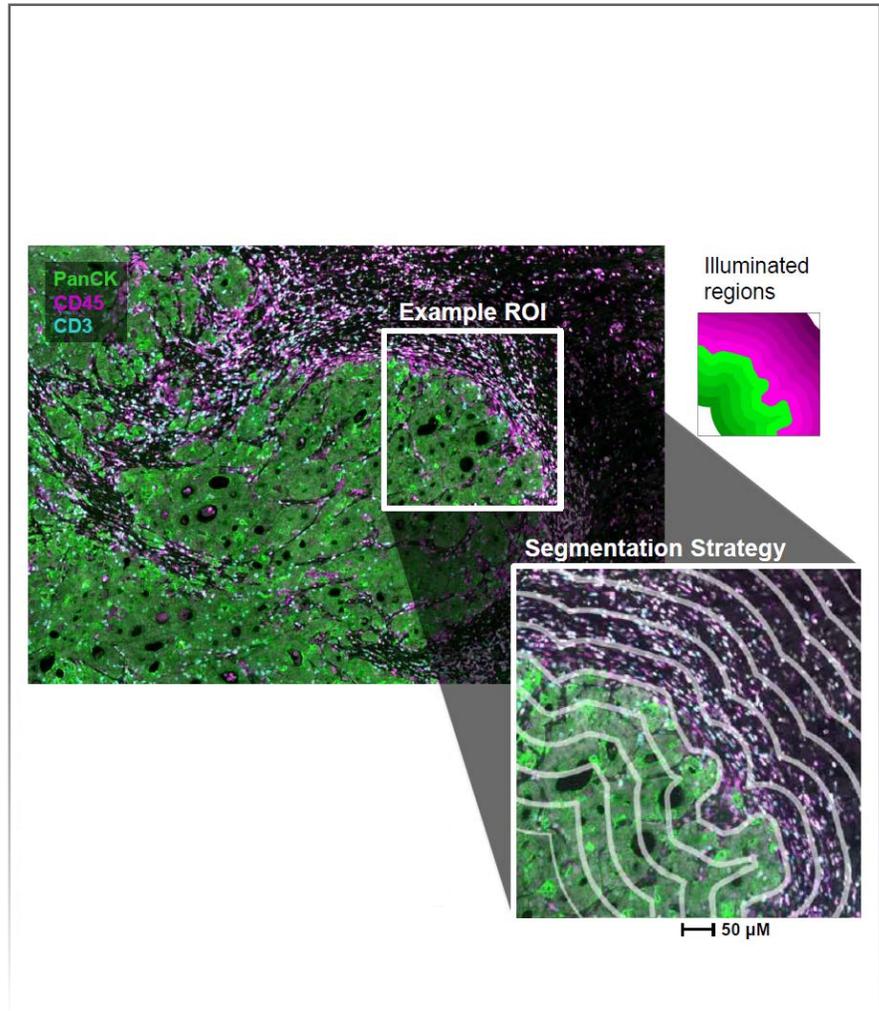
輪郭解析



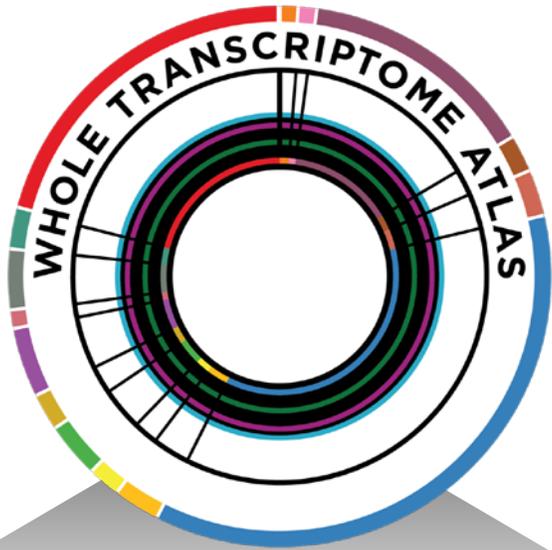
定量的単一細胞デコンボリューション



大腸癌組織における、Cancer Transcriptome Atlas による、新規性のある、パスウェイ解析データ

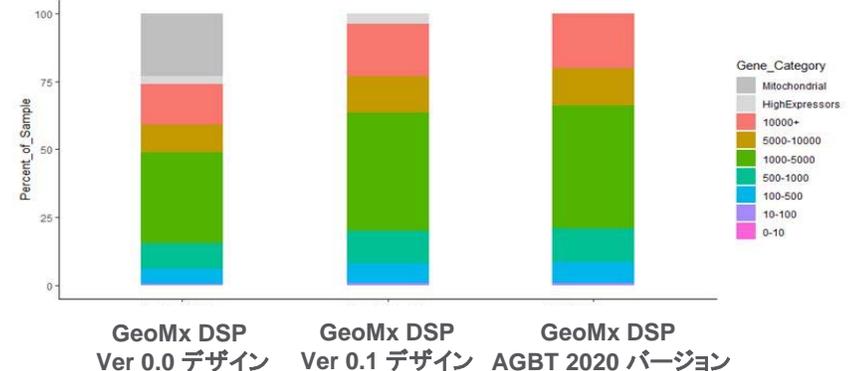


GeoMx[®] Whole Transcriptome Atlas

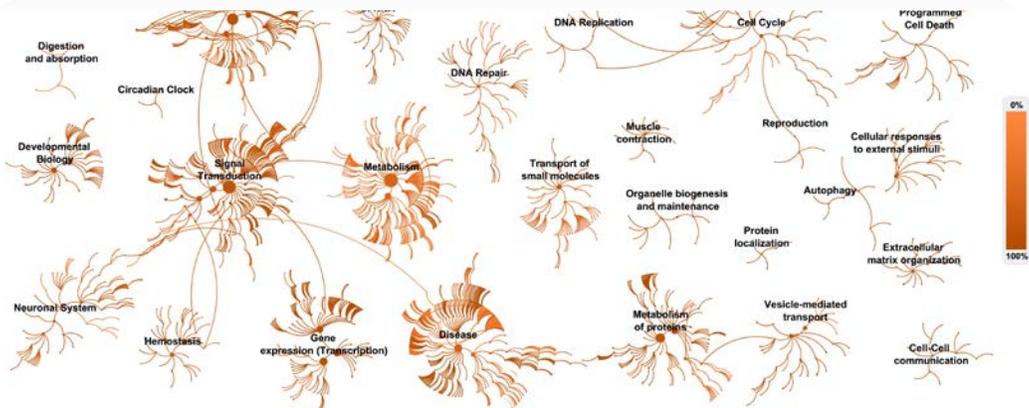


- 包括的なコンテンツ: 18,000 遺伝子以上. ヒトゲノム命名法委員会データを利用し、全タンパク質コード遺伝子を決定しました。上位10種の高発現遺伝子とミトコンドリア遺伝子を削除

情報量の少ない読み取りのうち4つに1つが削除され、シーケンス効率が33%向上

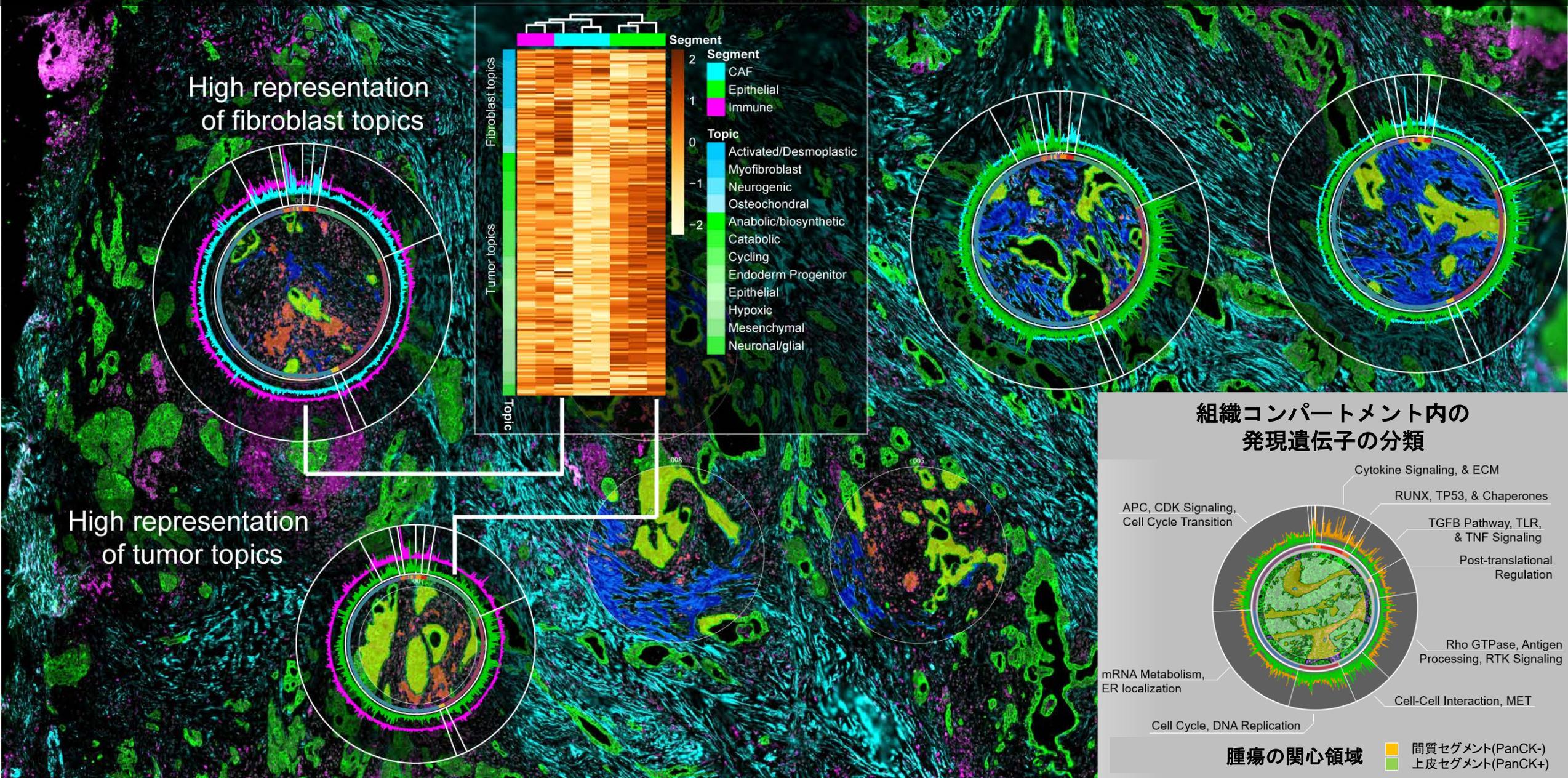


- カスタマイズ: 別途遺伝子プローブの追加が可能
- シーケンス: 100M リード/サンプル



単一の腫瘍が、空間的に調べられることで、 全トランスクリプトームデータは、まったく異なる実態を見せるでしょう

Regev and Jacks Lab, Broadより



GeoMx[®] DSPのNGSリードアウトでは、スケーラビリティの高い NextSeq 2000 が、GeoMxアプリケーションの理想的なシーケンサー

GeoMx パネルとNGSの使用例



iSeq
4M リード



MiSeq
25M リード



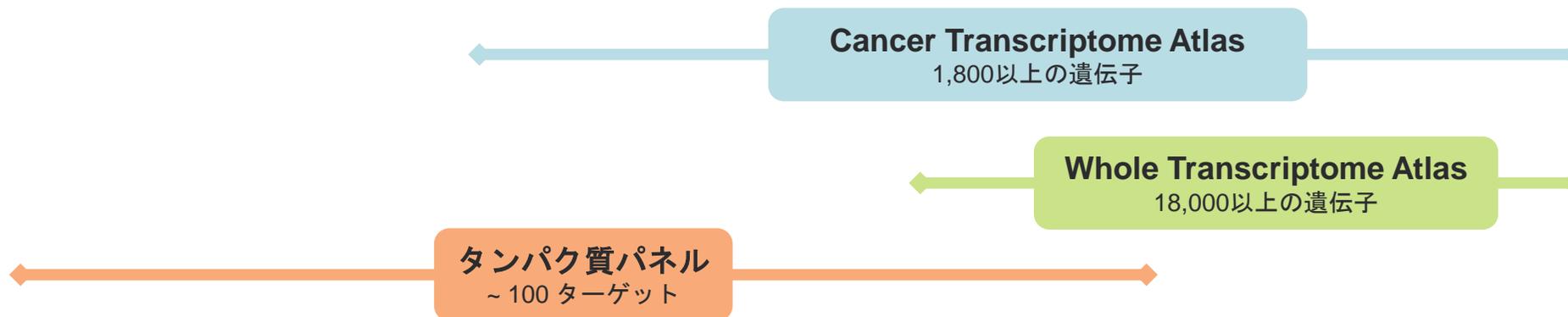
NextSeq550
400M リード



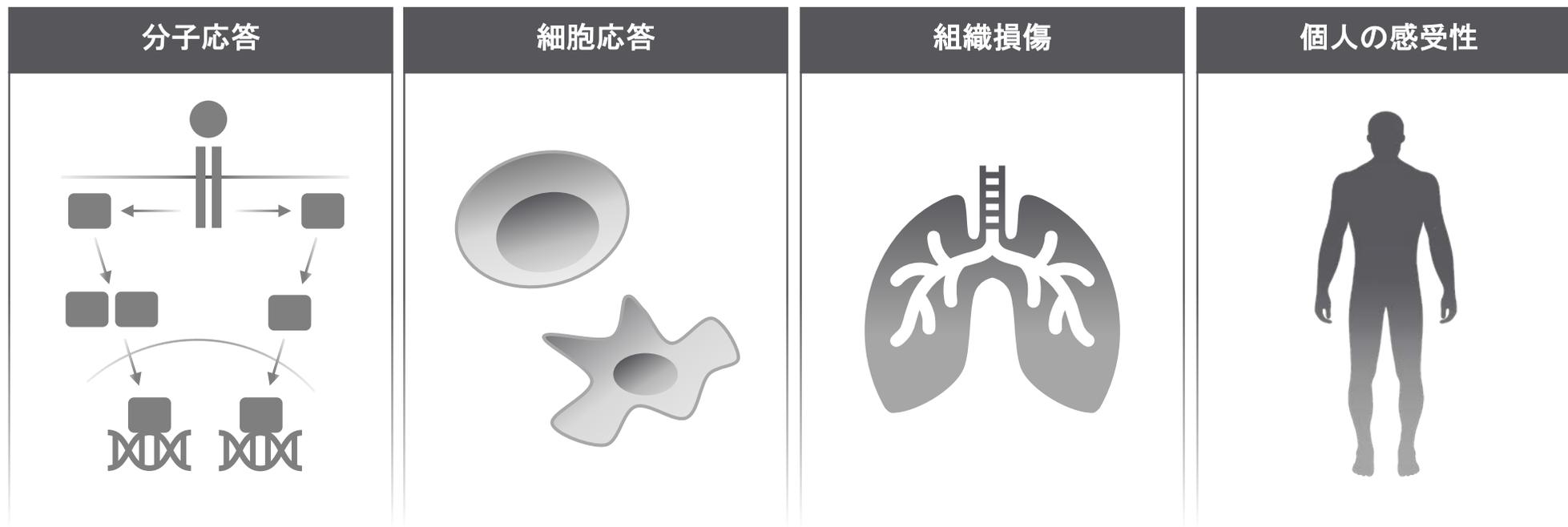
NextSeq2000
1B リード



NovaSeq
最大20B リード



COVID-19 研究のパラダイム



GeoMx[®]
Digital Spatial Profiler

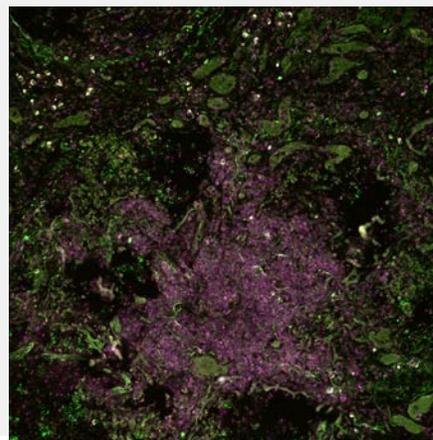


感染部位の
RNAおよびタンパク質発現
のプロファイル

GeoMx[®] COVID-19 免疫応答アトラス(~1850 ターゲット)

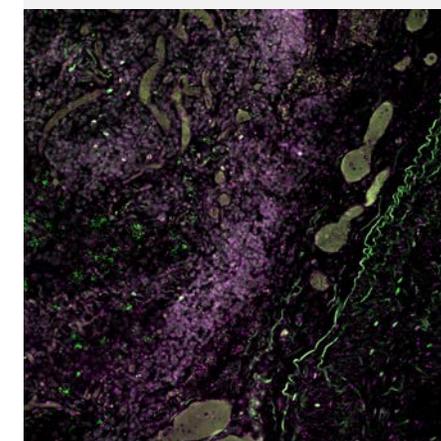
RNA プローブ

- **COVID-19**
 - S と ORF1ab (+ 鎖)
 - ORF1ab (- 鎖)
- **COVID 受容体とプロテアーゼ: ACE2, FURIN**
- **AT1 細胞マーカー: AQP5, HOPX**
- **AT2 細胞マーカー: SFTPC**
- **AT2 関連遺伝子: SFTPA, SFTPB, SFTPD, ABCA3, PGC, NAPSA**
- **肺のマーカー: MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC13, TP63, SCGB1A1, HAS2**
- **ウイルス応答: DHX58 (LGP2), IFNLR1, IL10RB (IFNL シグナリング)**
- **89 種類のインターフェロンシグナル伝達関連遺伝子**
- **120 種類の好中球活性化遺伝子**
- **174 種類の骨髄性活性化遺伝子**



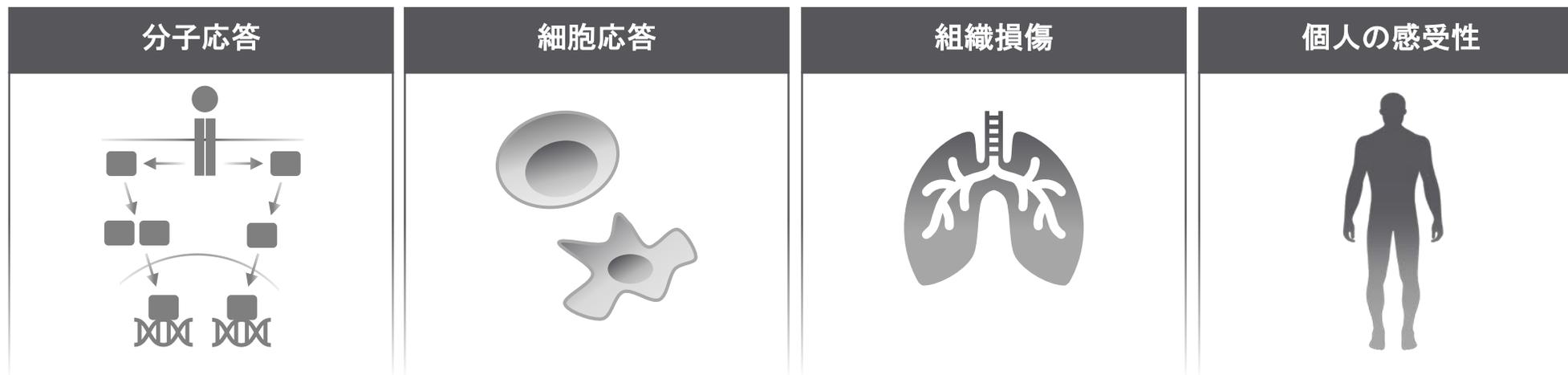
形態マーカー

- **RNAscope プローブ:**
 - SARS-CoV-2
 - ACE2
 - TMPRSS2
 - IL-6
 - TNF α
 - IFN γ



COVID+ 肺組織:
V-nCoV2019-S
ACE2
TMPRSS2
DNA

COVID-19 プロジェクトにNanoString担当者をご紹介ください



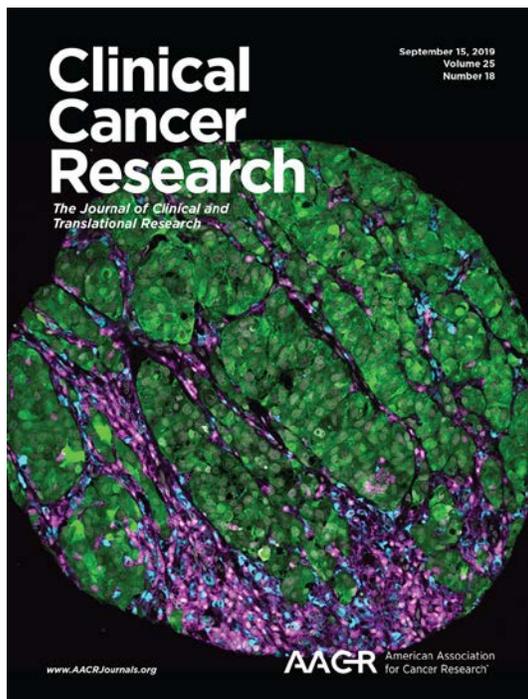
感染部位の
RNAおよびタンパク質発現
のプロファイル

COVID-19 サンプルとプロジェクトについてのお問い合わせ先
Email: GeoMx@nanosttring.com

GeoMx Digital Spatial Profiler

GeoMx の19件の査読付き学術誌で検証されています

GeoMx が表紙に



免疫腫瘍学分野

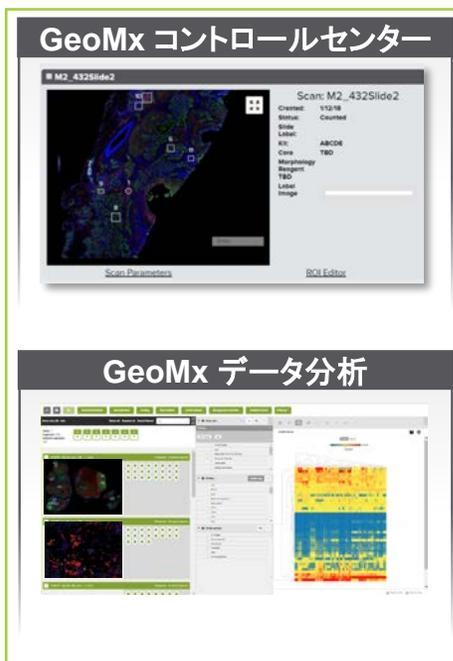


神経学分野



プラグアンドプレイデータ分析スイート

統合データ処理ツール
既存のNGSワークフロー



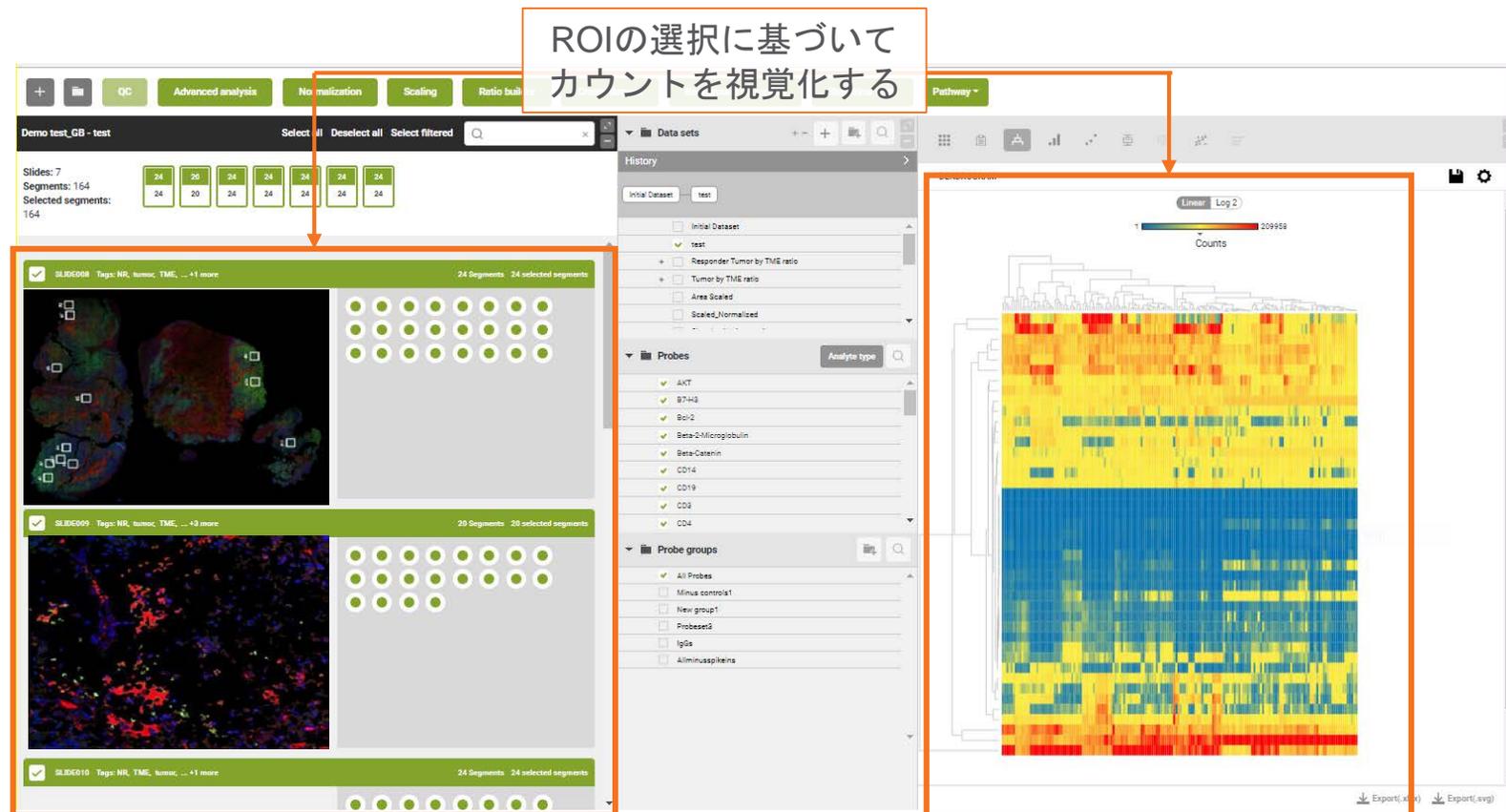
シーケンサー



情報処理



定量的データを空間コンテキストに関連させる
インタラクティブなデータ分析スイート



GeoMx による共同ユーザーエコシステムの促進



GeoMx
Digital Spatial Profiler



GeoMx DSP の利点

形態学的視点によるプロファイル



病理ワークフローとのシームレスな統合

マルチプレックス

数10～数万種類のプローブを一度に解析

マルチアナライト

遺伝子とタンパク質の解析が可能

定量性

イルミナ社NGSまたはnCounterによる解析

高解像度

シングルセルレベルの解像度

非破壊的

サンプルはUV光による処理

スループット

1日あたり最大12セクション

The background of the image is a dark gray or black topographic map with white contour lines. The lines are irregular and wavy, representing elevation changes. The text is centered on the map.

GeoMxTM Digital Spatial Profiler

GeoMx@nanosttring.com