



三代全长BCR

免疫组库 (immune repertoire, IR) 是指在任何指定时间内, 某个个体的循环系统中所有功能多样性 B 细胞和 T 细胞的总和, 其具体特征反映了机体免疫系统应对外界刺激的能力。B 细胞受体 (B cell receptor, BCR) 是 B 细胞抗原识别决定性表面分子, 其本质是一种膜表面免疫球蛋白 (membrane immunoglobulin, mlg), 由两条等同的重链和两条等同的轻链构成。BCR 的重链 (IgH) 由 IGH 基因群编码, 该基因群由可变区 (Variable, V)、多变区 (Diversity, D)、连接区 (Joining, J) 和恒定区 (Constant, C) 四部分基因片段组成; 轻链则有两类 Igκ 和 Igλ, 分别由 IGK 和 IGL 基因群编码, IGK 和 IGL 均由 V、J 和 C 基因片段组成。在 B 细胞发育、成熟的过程中, B 细胞会经历一系列的 V(D)J 的重排。

三代全长 BCR 是通过在 BCR 恒定区的保守区域设计多重引物, 覆盖整个 BCR 的全长序列。在进行 BCR 序列扩增时, 为进一步提高 3' 端扩增的有效性, 设计了多组半巢式引物, 通过半巢式引物的匹配筛选即可获得覆盖整个 BCR 全长的扩增片段。通过 PacBio 建库流程, 在扩增子的两端添加带有 barcode 的测序接头, 即可进行 PacBio 测序。

分析流程



送样建议

样品类型	单次建库送样量	建议送样量
全血RNA	1.5ug	3ug
全血	2ml	5ml
B Cells RNA	500ng	1ug
分选细胞	1x10 ⁶	1x10 ⁶

优势对比

	多重PCR免疫组库	10×单细胞免疫组库	三代全长免疫组库
原理	采用多对引物对 CDR3区域扩增	采用“油包水”分离出单细胞, 独立扩增	基于三代测得整个可变区
扩增区域	CDR3区	全长	整个可变区和恒定区
优势	价格低, 样品要求低	单细胞水平, 重链轻链匹配	1. BCR全长测序, 更全面的克隆型鉴定; 2. PacBio CCS测序单碱基准确性 > 99.9%, 减少BCR克隆型假阳性

应用方向



免疫组库在肿瘤研究上的应用

通过对免疫组库测序可以早期发现急性白血病缓解后的微小残留病灶，发现疾病特异的免疫球蛋白重链(IgH)重排和特定的CDR基因序列，从而为T或B淋巴细胞肿瘤诊断，监测微小残留病灶提供一种新方法。



免疫组库在抗体药物发现中的应用

在新药的临床试验中，通过对免疫组库高通量测序可以预测药物疗效过程中的免疫组库变化，如免疫组库多样性的增减，特异克隆型的出现或消失等，为新药开发提供新指标。通过获得特征性的BCR (Ig) 序列，可以大大缩短抗体开发的周期。



免疫组库在器官移植中的应用

在造血干细胞移植后机体免疫重建过程中，临床医生可以通过监测免疫组库，及时准确地了解患者免疫功能的恢复情况，为后期的治疗起到指导作用。



免疫组库在自身免疫疾病研究中的应用

针对自身免疫疾病，免疫组库测序可以了解患者体内异常表达的免疫细胞，寻找优于现有标准的生物标记物、研究免疫系统在自身免疫中的机制，从而为疾病的诊疗提供依据。

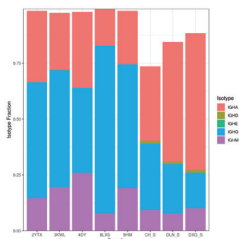


部分特色分析展示

Sample	Total bases (Gbp)	Total number	Minimum length	Average length	Maximum length	N50	Average accuracy	Average passes
2YTX	0.16	204,855	48	775	7,719	925	0.9992	119
3KWL	0.16	214,071	53	731	7,785	836	0.99921	120
4DY	0.14	210,164	49	687	10,064	702	0.99932	121
8LXS	0.1	169,009	48	617	5,576	640	0.99925	130
9HM	0.14	199,974	47	691	6,452	756	0.99927	123
CH_S	0.32	224,691	49	1,405	13,113	1,658	0.99936	81
DLN_S	0.47	285,078	47	1,656	14,624	1,929	0.99933	68
DXG_S	0.61	358,918	47	1,704	14,702	1,916	0.99939	62

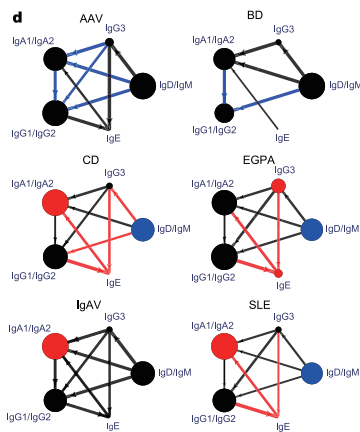
菲沙基因三代BCR实测数据

BCR抗体的Isotype是抗体的重要特征。在机体内，不同阶段或状态的B细胞通过类别转换 (class switch) 来表达不同的Isotype BCR (IgA/D/M/E/G)，也反映着机体的免疫状态。



样本的抗体Isotype丰度统计频率图

免疫球蛋白类型转换 (class-switch recombination, 简称CSR) 是通过基因顺序剪切而实现的，所以，免疫球蛋白恒定区的基因排列顺序决定了其同型演变的类型。每个CSR的进展可以通过量化reads测序深度归一化后，共享两种同型的独特VDJ区域的频率来评估(表明其共同的克隆起源)。



免疫球蛋白类型转换示意图

武汉菲沙基因组医学有限公司
Wuhan Frasergen Genomic Medicine Co., Ltd.
武汉市东湖新技术开发区高新大道666号B8栋 邮编: 430075

嘉兴菲沙基因信息有限公司
Jiaxing Frasergen Bioinformatics Co., Ltd.
嘉兴市嘉善县大云镇创业路555号C2栋 邮编: 314100

武汉菲沙基因信息有限公司
Wuhan Frasergen Bioinformatics Co., Ltd.
武汉市东湖新技术开发区高新大道666号 邮编: 430075

北京研发中心
Beijing Research Center
北京市海淀区中关村南大街12号科技综合楼 邮编: 100081



www.frasergen.com