

DNA・RNA
マイクロアレイ
受託解析
サービス

遺伝子発現解析

non-coding RNA解析

エピジェネティクス

SNP解析

CNV解析

核型解析

本サービスは、ワールドスタンダードなDNAマイクロアレイである、Thermo Fisher Scientific社 (applied biosystems/affymetrix) のGeneChip™ Arraysを用いて当社ラボ(名古屋市本社)にて解析を実施している国内サービスです。研究目的に合わせて、豊富なラインナップからアレイをご選択いただけます。

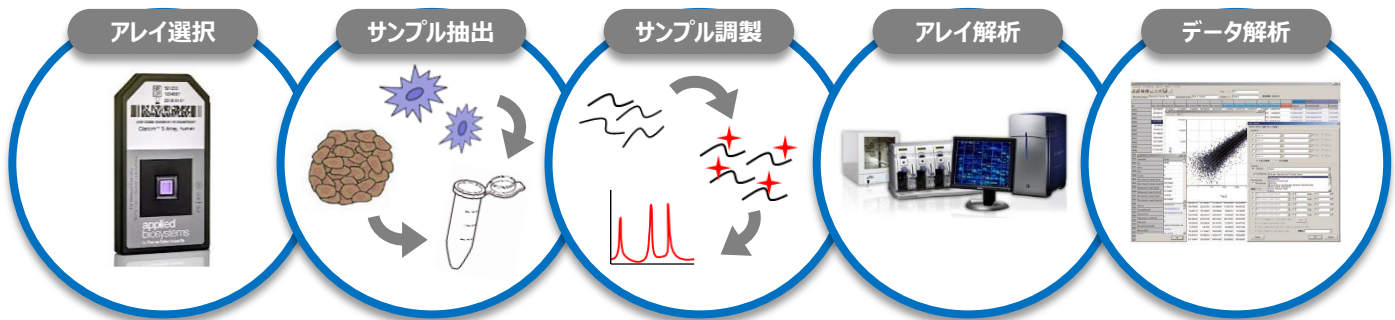
メーカーのTranscriptome Analysis Console (TAC) Softwareと、GO解析やパスウェイ解析が可能な弊社独自の解析ソフトウェア「Microarray Data Analysis tool」(付属)を組み合わせてご活用ください。

applied biosystems
by Thermo Fisher Scientific

Authorized Service
Provider

ワークフロー

本サービスは、以下の様な流れで解析を実施いたします。有償オプションとして様々なサービスをご用意しております。

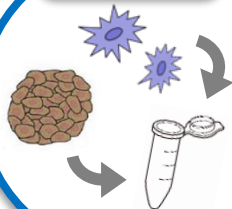


アレイ選択



**GeneChip Array
のご選択**
ご希望のマイクロアレイをご
選択いただけます。

サンプル抽出

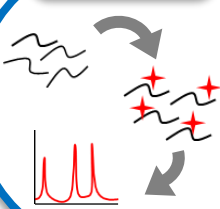


組織、細胞からの抽出

<オプション1>

total RNA抽出サービス

サンプル調製



増幅、蛍光標識、QCなど

<オプション2>

**真核生物由来の微量RNA
からの増幅作業**

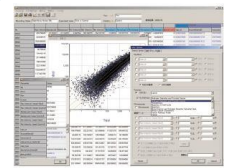
専用キットを用いた増幅作業に
も対応！
わずか500pgのtotal RNAでも
解析が可能です。

アレイ解析



ハイブリダイゼーション
およびスキャニング
スキャンした画像データの数
値化まで実施いたします。

データ解析



解析データのご報告

<オプション3>

データマイニングサービス
・変動遺伝子抽出サービス
・統計検定解析サービス
・階層型クラスタリングサービス
など

主なアレイラインナップ

- 遺伝子レベルでの全トランスクリプトーム発現プロファイリングアッセイ
Clariom™ S Assay (Human, Mouse, Rat)
発現解析に的を絞ったプローブ設計、機能が明らかな発現バイオ
マーカーを迅速かつ簡単に、低コストで見つけるための最適なツール

Array specifications

Content summary	Human	Mouse	Rat
Genes*	>20,800	>22,100	>22,900
Transcripts*	>337,100	>150,300	>129,800
Total probes*	>211,300	>221,900	>231,800
Probes targeting genes*	>205,800	>221,300	>229,500
Probe length (bases)	25	25	25
Probe feature size	5 μm	5 μm	5 μm
Background probes	Antigenomic set	Antigenomic set	Antigenomic set
Probe orientation**	Antisense	Antisense	Antisense

- 包括的トランスクリプトーム解析
Clariom™ D Assay (Human, Mouse, Rat)
コーディングおよび長鎖ノンコーディング(lnc)RNAの選択的スプライ
シング検出のような最も複雑なトランスクリプトームレベルでの発現プロ
ファイルを提供

Array specifications

Content summary	Human	Mouse	Rat
Genes*	>134,700	>66,100	>68,900
Transcripts*	>542,500	>214,900	>495,200
Exons*	>948,300	>498,500	>320,400
Exon-exon splice junctions*	>484,900	>282,500	>293,700
Total probes*	>6,765,500	>6,022,300	>5,946,400
Probes targeting exons*	>4,781,200	>4,895,600	>4,780,700
Probes targeting exon-exon splice junctions*	>1,984,300	>1,126,700	>1,165,700
Probe length (bases)	25	25	25
Probe feature size	5 μm	5 μm	5 μm
Background probes	Antigenomic set	Antigenomic set	Antigenomic set

* Numbers are representative of annotations as of April 2016. All numbers have been rounded down to the nearest hundred.

** Total RNA input requirements depend on assay selection. The assay types offered require different total RNA input amounts based on sample sources.

※ Thermo Fisher Scientific社の資料Data Sheetを引用しています。

- 多くの生物種的全転写産物発現解析

Gene ST Array

Human、Mouse、Ratを含む多くの生物種におけるmRNAの完全な発現プロファイルだけでなく、mRNA発現プロファイルに影響を与える中間lincRNAの完全な発現プロファイルも提供

ラインナップ

- | | |
|--|---|
| • GeneChip™ Human Gene 2.0 ST Array | • GeneChip™ Guinea Pig Gene |
| • GeneChip™ Mouse Gene 2.0 ST Array | • GeneChip™ Marmoset Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Rat Gene 2.0 ST Array | • GeneChip™ Medicago Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ CHO Gene 2.0 ST Array | • GeneChip™ Ovine Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Arabidopsis Gene | • GeneChip™ Porcine Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Bovine Gene 1.0 ST Array | • GeneChip™ Rabbit Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Canine Gene 1.0 ST Array | • GeneChip™ Rhesus Gene |
| • GeneChip™ C.elegans Gene | • GeneChip™ Rice(US) Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Chicken Gene 1.0 ST Array | • GeneChip™ Rice(JP) Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Cynomolgus Gene 1.0 ST Array | • GeneChip™ Rice(Cn) Gene |
| • GeneChip™ Cynomolgus+Rhesus Gene | • GeneChip™ Soybean Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Drosophila Gene 1.0 ST Array | • GeneChip™ Zebra Finch Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Equine Gene 1.0 ST Array | • GeneChip™ Zebrafish Gene 1.0 ST Array |
| • GeneChip™ Feline Gene 1.0 ST Array | |

よくあるご質問 : Clariom™ D Assay (Human、Mouse、Rat)

マイクロアレイ解析かRNA-Seqか？

次世代シーケンサー(NGS)を用いた発現解析(RNA-Seq)が様々な場面で活用されるようになってきました。配列情報が得られるなどの利点がある一方で、RNA-Seqではリード数によって解析できる遺伝子数が大きく変わります。下図は、Clariom Dアレイと同等の変動解析に必要なシーケンスの深さを表しています。RNA-Seqは原理上、発現量の低い遺伝子では測定値が大きばらつき傾向にあります。ばらつきを小さくするためには、リード数を増やす必要がありますが、解析コストは上昇してしまいます。一方で、マイクロアレイは低発現から高発現まで精度よく解析することができます。多数の遺伝子発現解析を低コストかつ高速に行うにはマイクロアレイが適しています。

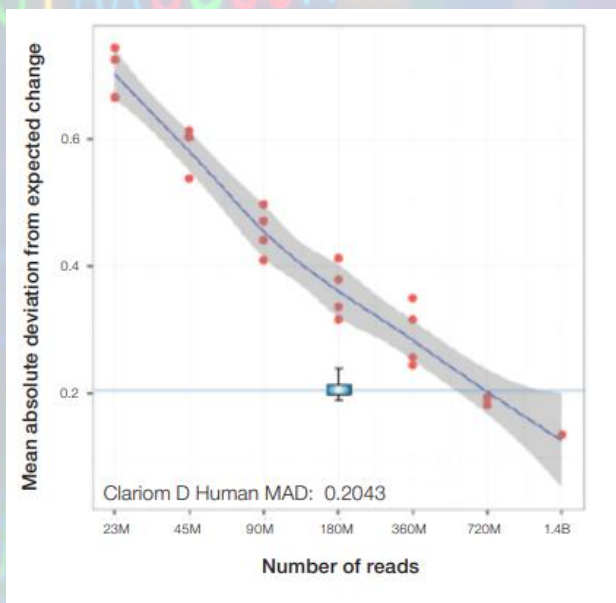


Figure. Sequencing depth required for equivalent variation between the Clariom D array and RNA-Seq analysis. By evaluating a tissue mixture model in which RNA from two samples is mixed in known proportions, the mean absolute deviation (MAD) of expression was evaluated across all measured exons.

※ Thermo Fisher Scientific社の下記資料を引用しています。

TECHNICAL NOTE

Clariom D microarrays provide a deep view of our transcriptome

Long non-coding RNA(lncRNA)やスプライスバリエント解析に威力を発揮

一般的にLong non-coding RNA(lncRNA)の発現量は、非常に少ないため、RNA-Seqを用いて発現変動解析をするためには、数億以上のリード数が必要といわれています。※

Clariom Dは、低発現の転写産物でも精度よく解析できるため、lncRNA研究を大幅に加速します。Clariom Dに搭載された超高密度プローブはスプライスバリエントの解析にも威力を発揮します。エクソン領域とスプライシング接合部位両方に設計されたプローブにより、選択的スプライシングによって生じるバリエント間の発現差を再現性良く解析できます。lncRNAやスプライスバリエントは、次世代のバイオマーカー候補として急速に注目を集めています。Clariom Dを効果的に用いてバイオマーカー探索を加速させましょう。

※ Hou, R., et al. Impact of the next-generation sequencing data depth on various biological result inferences. *Science China Life Sciences* 56(2):104-109(2013).

Long non-coding RNA(LncRNA)は、タンパク質をコードしない200塩基長のRNAであり、転写や分化制御などの生物学的プロセス、がんや心疾患などヒトの疾患に大きく関与しています。

ArrayStar社のLncRNA Arrayは、LncRNAおよびタンパク質コードmRNAを体系的にプロファイリングする様デザインされており、本解析は複雑なLncRNA生物学の解明やタンパク質コード遺伝子との関連性について、非常に重要な解析データを提供します。また、このアレイは、包括的かつ厳密に収集された最高のLncRNAコンテンツ(Reliable LncRNA)を有し、十分に実験的に裏付けのあるデータソース(Gold Standard LncRNA)を利用することで、RNA-Seqよりも優れたLncRNAプロファイリングデータを提供します。また本解析はサンプルのQCチェックから分析および解析までフルパッケージのサービスとなっています。

本サービスのメリット

LncRNAおよびmRNAのプロファイリング

本アレイはLncRNAを標的としたプローブのみではなく、mRNAを標的としたプローブも搭載しています！

Transcript-specificプローブの採用による正確な転写産物アイソフォームの検出

本アレイの搭載プローブは、転写産物の全長に沿ったエクソンおよびスプライスジャンクションを標的としており、正確かつ転写産物特異的なLncRNAおよびmRNAの検出を可能にします！

質の高いLncRNAデータベース (Reliable LncRNA, Gold Standard LncRNA)

タンパク質コード遺伝子と異なり、公的に利用可能なLncRNAデータベースではアノテーションが不十分な場合があります。これに対し、本サービスでは、高品質なトランスクリプトームおよび LncRNAデータベースであるGold Standard LncRNA および Reliable LncRNA を有しています。これらのデータベースは、47Tb以上のRNA-Seqデータや主要な公的データベース(Refseq, USCS known Genes, GENCODE, lncRNA catalogs, lncRNAdb, T-UCRs, RNAdb, NRED, および文献)に基づいています。

LncRNAアレイの仕様

	Human V5.0	Mouse V4.0	Rat V3.0
プローブ総数	60,491	60,641	38,352
プローブ長	60 nt		
プローブ選択領域	転写物の全長に沿った特異的エクソンまたはスプライスジャンクション		
プローブ特異性	転写物特異的		
ラベリング法	少量の分解RNAでも、cRNAは3'バイアスなしで全長に沿って標識される		
mRNA数	21,174	30,924	27,770
LncRNA数	40,173	37,949	10,582
mRNAのソース	Refseq, USCS, GENCODE, FAMTOM5 CAT	Refseq, Known Gene, GENCODE	Refseq, Ensembl
LncRNAのソース	FAMTOM5 CAT(v29), GENCODE (v29), Refseq(2018.11), BIGトランスクリプトーム(v1), KnownGene(208.11), LncRNAdb, LncRNAwiki, RNAdb, NRED, CLS FL, NONCODE (v5), Miトランスクリプトーム (v2)	GENCODE (VM19), Refseq, KnownGene, GenBank	Refseq, Ensembl

RNA-Seqよりも優れたLncRNA発現のプロファイリング

次世代シーケンシングでは、全トランスクリプトームにおける転写産物のシーケンスリードを定量することによって遺伝子発現レベルを測定します。しかし、LncRNA発現解析に関して、マイクロアレイはNGSを用いた解析よりも以下の理由から有効な解析手法となっています。

- LncRNAは、mRNAと比較して発現レベルが低いため、RNA-Seqでは、低含有転写産物の信頼性のある定量が困難
- RNA-Seqでは、リード深度の増強による低含有量転写産物の正確性に対する効果は限定的
- マイクロアレイは、LncRNAを包括的に網羅し、低含量LncRNAもプロファイリング

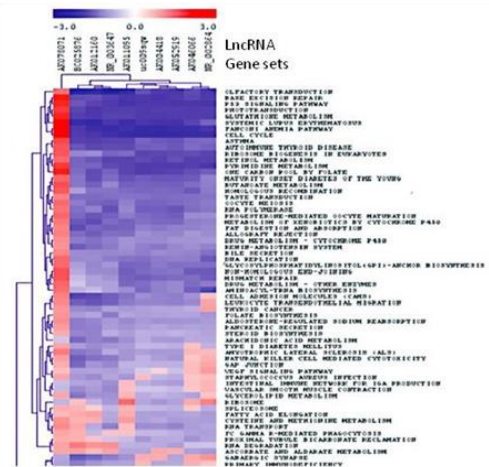
	LncRNAマイクロアレイ	RNA-seq
発現レベルの低いLncRNA	高感度および高定量精度	低発現LncRNAは正確性が低く、定量も困難
LncRNAのアイソフォーム解析	明確で特異的なLncRNAアイソフォームの検出および定量が可能	LncRNAアイソフォームの感度と精度が低い
データベース	Arraystar LncRNA MicroarrayプレミアムLncRNAコレクション、アノテーションおよび解析	公共のLncRNA参照データベースが不十分な場合がある。系統的なLncRNAアノテーション、および解析は、RNA-seqデータには簡単な利用は困難

バイオインフォマティクス解析例

LncRNAの解析概要

- Rawデータの正規化及び低シグナルデータのフィルタリング
- Gold Standard LncRNAおよびReliable LncRNAによるアノテーション
- 発現変動LncRNAスクリーニング
- ヒートマップおよびクラスター分析

ヒートマップおよびクラスター解析例
生物機能におけるLncRNAのエンリッチメントを同定



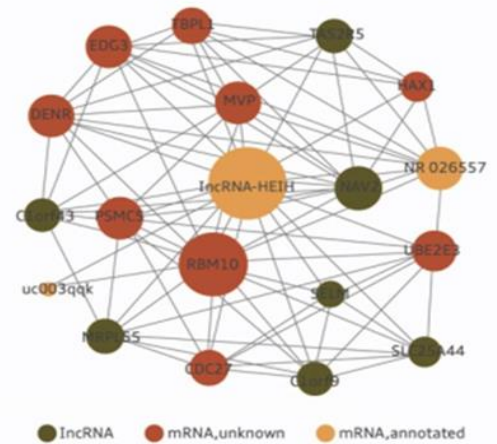
LncRNA分類およびサブグループ解析、Gold Standard LncRNAとReliable LncRNAのアノテーション

- 発現変動LncRNAおよびその隣接コード遺伝子
- 発現変動antisense LncRNAおよびその隣接コード遺伝子
- エピジェネティクスにおける背景 → e_LncRNA : エンハンサー-LncRNA、p_LncRNA : プロモーター-LncRNA
- DNase I hypersensitive site (DHS) における背景 → DNase I 酵素による切断に敏感なクロマチンの領域についての記載
- 関連疾患の記載
- LncRNAの差次的発現解析

2 Fold Up/Down-regulated LncRNAs Pass t-test (Group 1 vs. Group 2)							
LncRNA	P-value, Fold Change and Regulation			Annotation			
	P-value <0.05	FC >2	Regulation	Tier	Gene Symbol	Source	Genomic_context
ENST00000423918	0.0012	4.1664	Up	Gold	LINC00963	GENCODE	intergenic
HSALNT0288960	0.0236	2.6177	Up	Gold	EWSAT1	LncBook	intergenic
NR_131782	0.0001	2.5284	Down	Gold	CCEPR	Refseq	intergenic
ENST00000543837	0.0018	3.0126	Down	Gold	ST7	GENCODE	exon sense-overlapping
ENST00000381361	0.0233	2.0789	Down	Gold	IGF2-AS	GENCODE	natural antisense

LncRNAのアノテーション

LncRNA	Annotation				
	Completeness NEW	Epigenomic_context NEW	DHS_context NEW	Disease	Cancer
ENST00000423918	Refseq:Complete3End; FANTOM5CAT:Complete5End; BIGTranscriptome:FullLength	e_LncRNA	DHS_enhancer	prostate cancer; renal cell carcinoma	-
HSALNT0288960	FANTOM5CAT:Complete5End; BIGTranscriptome:FullLength	e_LncRNA	DHS_enhancer	Ewing sarcoma	-
NR_131782	Refseq:Complete3End; FANTOM5CAT:Complete5End	p_LncRNA_divergent	DHS_promoter	CancerGene; cervical cancer	CancerGene
ENST00000543837	FANTOM5CAT:Complete5End	-	DHS_promoter	-	-
ENST00000381361	Refseq:Complete3End; FANTOM5CAT:Complete5End; BIGTranscriptome:FullLength	p_LncRNA_divergent	DHS_promoter	CancerGene; hepatocellular carcinoma; liver cancer; Wilms tumor	CancerGene



Pathway 解析例
肝細胞がんにおけるLncRNA-HEIHのコード・非コード相互作用共発現(CNC)サブネットワーク

small RNAは長さが約20-30塩基の短いRNA分子で、発生、分化、腫瘍進展、神経発生など様々な生物学的プロセスの調節において非常に重要な役割を持ちます。本解析サービスは、生体内において重要な役割を持つsmall RNAをArraystar社の直接的な末端ラベリングとスマートなプローブ設計に基づいた高いアレイ技術により、microRNA (miRNA)、pre-miRNA、tRNA、tRNA-derived small RNA (tsRNA)、small nucleolar RNA (snRNA)などのsmall RNAを同じアレイ上で同時に検出および定量化を可能にします。また、高いプローブ設計技術により、わずか1~2ヌクレオチドの違いでsmall RNAを特異的に区別することが可能であるため、本解析サービスはsmall RNAの網羅的な解析かつ正確性の高い解析データを提供します。

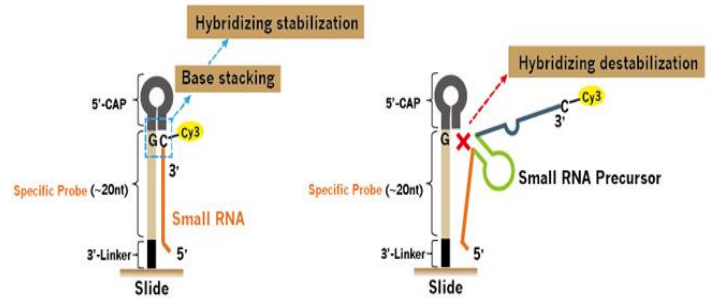
本サービスのメリット

主要なsmall RNAクラスを同時にプロファイリング

本解析に使用するマイクロアレイは、miRNA、pre-miRNA、tRNA-derived small RNA (tsRNA)、tRNA、およびsmall nucleolar RNA (snoRNA)を解析するためのプローブが搭載されています。上記のsmall RNAは、生体における重要な制御機構と優れたバイオマーカーとしての可能性を持っており、生物科学および臨床科学的に非常に注目を集めています。small RNA-seqによるプロファイリングでは、異なる生化学的特性を持つsmall RNAクラスをカバーするために、ライブラリー構築や分析を別々に行う必要があります。一方、本サービスは一度の解析でこれらすべてのsmall RNAを同時に分析することを可能にします。

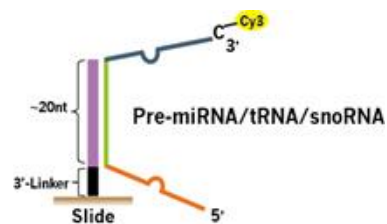
高感度、高特異性、高精度に低分子RNAをプロファイリング

本アレイでは、高い親和性のプローブハイブリダイゼーションによって少量のsmall RNAで高感度な解析を実現しています。プローブデザインには、5'ヘアピン構造と正規化された配列ターゲティング領域が組み込まれており、わずか1~2ヌクレオチドの違いでsmall RNAを特異的に区別します(右図)。RNA-seqによるsmall RNAプロファイリングの長年の課題は、RNA修飾、RNAの折り畳み構造、および複雑なライブラリー調製でした。本アレイでは、small RNAは3'-OH末端でCy3と直接ライゲーションされるため、内部RNA修飾を除去するための前処理や、修飾やRNAの折り畳みによる阻害に起因する不完全な逆転写、歪んだPCRの増幅ステップなどを完全に回避することができます。これらにより、ネイティブなsmall RNAレベルをより忠実に再現し、RNA-seqやqPCRよりも優れた偏りのない高い定量精度を達成しています。



少ないサンプル量で解析が可能

本アレイは、small RNA-seqと比較してもはるかに少量での解析を可能にします。RNAに直接的にラベリングを行うことで、RNAの損失を引き起こす可能性のある前処理が不要になります。そのため、特に多く修飾されたRNA(tRNAやtsRNAなど)の場合のインプットRNA量の量を大幅に削減することができます。そのため、サンプル量を確保できない様な条件でも、柔軟に対応できる可能性があります。



small RNAに特異的なプローブ設計

低品質なRNAサンプルにも耐性

本サービスによるsmall RNAプロファイリングでの直接のRNA末端ラベリングは、逆転写によるcDNA複製に依存しないため、基質RNA配列のヌクレオチド損傷は比較的寛容となります。これはsmall RNA配列のヌクレオチド損傷に対して脆弱なsmall RNA-seqとは対照的です。また、プローブは関連の無い配列の存在に影響を受けることはありませんが、small RNA-seqの場合は、サンプル中に含まれるrRNAの分解産物のフラグメントRNAによって、同様のサイズとなるsmall RNAを汚染し、small RNAのカバレッジを低下させる可能性があります。

small RNAアレイの仕様

	Human Small RNA Expression Array V1.0	Mouse Small RNA Expression Array V1.0
プローブ総数	14,707	14,895
プローブデザイン	プローブ全体には、5'キャップセグメント、small RNAハイブリダイゼーション用の特定の配列、および3'リンカーが含まれる	
プローブ部位	5-p-miRNAs および 5'tsRNAs : Small RNAの3'配列 3-p-miRNAs および 3'tsRNAs : Small RNAの5'配列 Pre-miRNA : pre-miRNAのループ配列 tRNA : 成熟tRNAのアンチコドンループ配列 snoRNA : snoRNA中の特異的配列領域	
プローブ特異性	small RNA 特異的	
miRNAのカバレッジ	2,627	1,949
tsRNAのカバレッジ	4,254	1,809
mature tRNAのカバレッジ	1,745	1,122
snoRNAのカバレッジ	955	1,323
small RNA ソース	miRNA : miRBase(v22) tsRNA : tRFdb, MINTbase, GtRNADb(Updated to 18.1 2019.08) pre-miRNA : miRBase(v22) tRNA : GtRNADb(Updated to 18.1 2019.08), ENSEMBL(v99) snoRNA : ENSEMBL(v99) 参考文献 : Scientific publications up to 2019(references 1-40)	

バイオインフォマティクス解析例

本サービスは、QCチェックからデータ解析までのフルパッケージとなっています。解析内容にはプロファイリング測定値、統計計算、情報提供のためのアニメーション、出版品質の解析画像が含まれます。(ボックスプロットおよびスキャタープロット、階層クラスタリングヒートアップ、ボルケーノプロット)

miRNAの差次的発現解析

miRNAのmiRBaseに基づくIDや、グループ間のFold Change、t-testに基づくp値、miRNAの配列情報、標的配列のSeed配列などが記載されます。

miRNA							
Mature-ID	Differential Expression Statistic			Annotation			
	Fold_Change	p_value	q_value	Mature-Sequence	Seed	High_Confidence	Type
hsa-miR-188-5p	3.71	0.01	0.05	CATCCCTTGATGGTGGAGGG	ATCCCTT	Yes	Mature
hsa-miR-409-5p	3.72	0.02	0.52	AGGTTACCCGAGCAACTTGAT	GGTTACC	Yes	Star

tsRNA・tRNAの発現解析

tsRNAの種類(tRF-5、tRF-3、tRF-1、5-Leader、5-tiRNA、3-tiRNA、およびi-tRF)、ゲノム配列上の位置、tsRNAの配列情報、tsRNAの長さ、tsRNAの前駆体の情報、tsRNAの疾患関与および文献上での報告等、分子メカニズムなどが記載されます。

tsRNA					
tsRNA_type	tsRNA-sequence	tsRNA-length	tsRNA-precursor	Level	Molecular mechanism
3'tiRNA	ATTCAAAGGTTCCGGTTCGAGTCCC GGCGGAGTCGCCA	39	tRNA-Arg-TCT-1	Potential	Cytotoxicity to neurons
3'tiRNA	ATGCCGAGGTTGTGAGTTCAAGCCTC ACCTGGAGCACCA	39	tRNA-Ile-TAT-3	Potential	Cytotoxicity to neurons

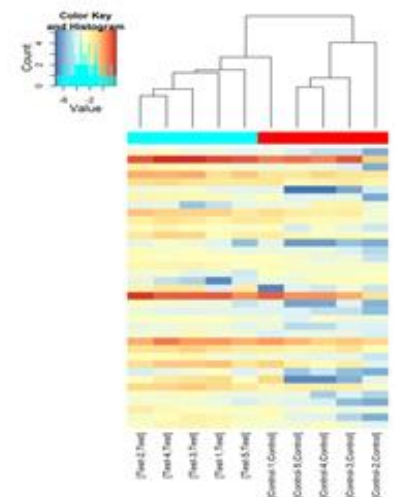


図. 発現差のあるmiRNAの階層的クラスタリングヒートマップ

Circular RNA(circRNA)は、Linear-RNAとは異なり、共有結合で閉じたループ構造を形成するRNAであり、その一部は真核生物の転写産物中に高く発現し、しばしば組織・発生段階特異的な発現を示しています。また、circRNAはLinear-RNAと比較してヌクレアーゼに対して安定性が高く、新規バイオマーカーとして臨床的な観点からも非常に注目されています。さらにcircRNAは、様々な生物種において、天然のmiRNAスポンジ転写物、いわゆる競合内性RNA(ceRNA)として機能することが明らかになっています。

Arraystar社のcircRNA Arrayは、circRNAのループ構造を形成するCircular junction特異的なプローブ設計およびLinear-RNAを除去することにより、より個々のcircRNAを確実にかつ正確に同定可能です。そのため、本解析サービスは様々な観点から注目されているcircRNAを最も効果的にプロファイルおよび解析、探索を提供します。

本サービスのメリット

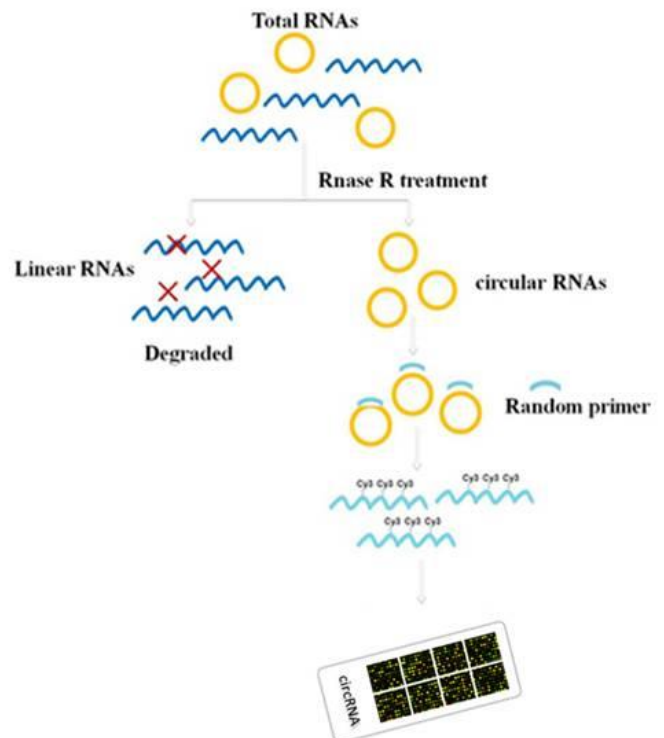
circRNA発現を確実にプロファイリング

▶ circular junction-specific プローブの採用

circRNA Arrayが採用しているプローブは、circRNAのループ構造を形成しているCircular junction特異的なプローブを用いております。そのため、Linear-RNAが存在した場合でもcircRNA特異的な解析を可能にします。

▶ Linear-RNAの除去

circRNAはRNase Rに対する安定性を持ちますが、Linear-RNAは分解されてしまいます。この特性を生かし、circRNAのみを解析します。



circRNAのみを解析対象に絞ったワークフロー

circRNAに関する詳細なアノテーション

▶ miRNA結合部位やmiRSVRスコア、保存状態など

circRNA上にあるmiRNAの潜在的な標的部位に関するアノテーションは、circRNAの有するmiRNAスポンジ機能の解明に貢献します。

RNA-Seqよりも優れたプロファイリング

以下の理由からRNA-seqよりも好ましいデータが獲得できます。

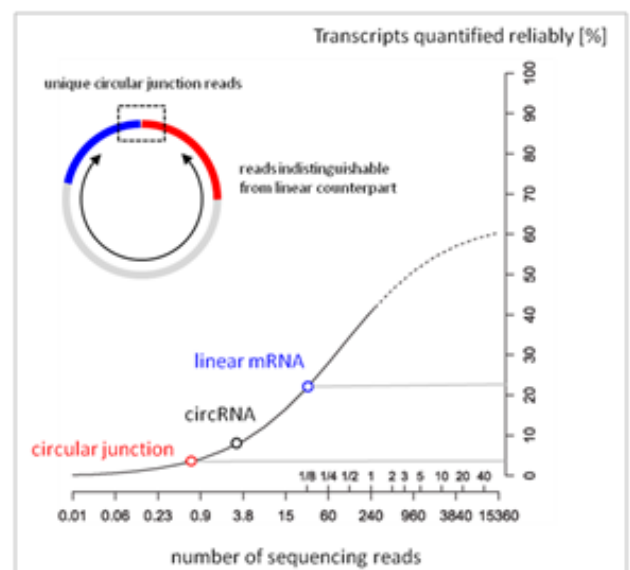
- circRNAは、linear-RNAと比べて低発現
- RNA-SeqにおけるCircular junctionのリードは少量
- RNA-Seqによる再現性ある発現変動解析には、数百リードが必要

ArraystarのcircRNAアレイでは、Circular junction-specific probeとRNase R処理によるlinear-RNAの除去により、細胞当たり1転写産物レベルの感度で、circRNAを特異的に回収します(右上図)。

また、一般的なRNA-SeqのmRNAに対する深度は<300万リードであり(青丸)、Circular junctionリードは<50万であります(赤丸)。そのため、確実に定量されるCircular junctionは5%以下となります(右下図)。つまり、RNA-seqではリード深度を深く読まなければ、定量の信頼性が低くなります。本アレイでは、1転写レベルでの感度でcircRNAの網羅的な検出を可能にします。

QCチェックからバイオインフォマティクスまでのフルパッケージ

Arraystarは、サンプル調製からデータ解析まで、CircRNA Microarrayプロファイリングのフルサービスを提供します。段階的な品質管理は、信頼できる結果の取得を確かなものとする様にデザインされています。



RNA-Seqによる定量の信頼性 vs リード深度

circRNAアレイの仕様

	Human	Mouse	Rat
プローブ総数	13,617	14,236	14,145
プローブ長	60 nt		
プローブ選択領域	CircRNA-specific junctionを標的とするプローブ		
プローブ特異性	転写物特異的		
ラベリング方法	ランダムプライマー標識とRNase前処理を組み合わせた、CircRNA特異的かつ効率的な標識		
circRNAソース	Salzman's circRNAs: 8,529 Memczak's circRNAs:1,601 Zhang's circRNAs: 93 Zhang's circRNAs: 4,980 Jeck's circRNAs: 3,769 Guo's circRNAs: 5,536	Memczak's circRNAs: 1,750 Guo's circRNAs: 570 You's circRNAs:13,300	You Xintian's circRNAs: 12,298 Mouse circRNA orthologs: 1,668 Human circRNA orthologs: 179

バイオインフォマティクス解析例

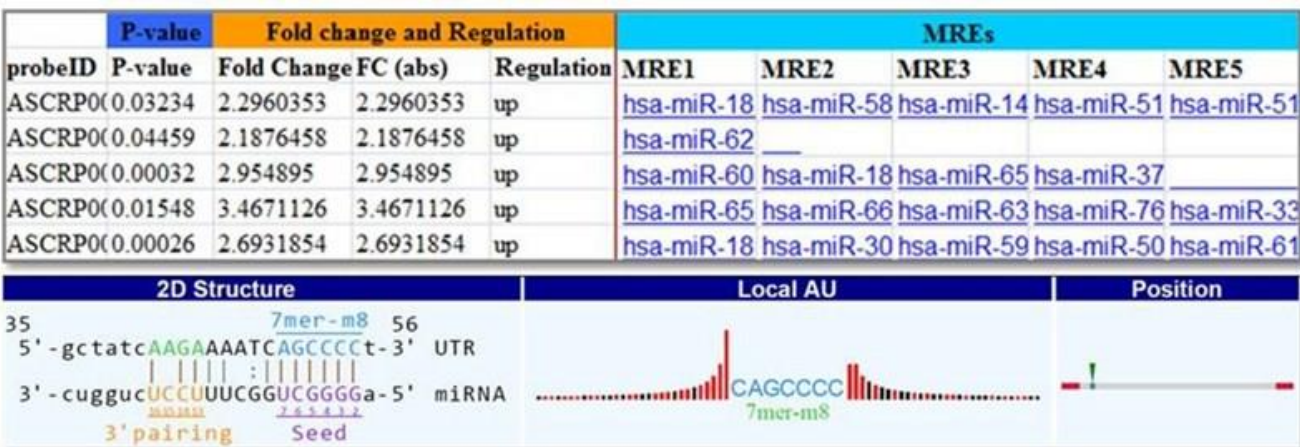
circRNA-miRNA関連性の詳細なアノテーション

circRNAには、miRNAと競合的に働きceRNAとしての役割を持つ。そのため、circRNAにはmiRNAとの潜在的な標的部位を持つことが知られている。本アレイデータの解析では、circRNAと結合する複数のmiRNA、およびそのmiRNAとの結合領域がアノテーションされる。

circRNA	linear RNA	miRNA	Binding Alignment	mirSVR score	PhastCons
circRNA-000482	NM_001286646	miR-340	3' uuaguCAGAGUACGAAAUu 5' miR-340 : : uucuuGUUGUAUAACUUUAUu cIRS-9	-1.295	0.7719
		miR-125-3p	3' ccGAGGGU-UCUUGGAGUGGCa 5' miR-125a-3p : : : caUUCUAUAAUAGUACACCUg cIRS-9	-1.141	0.7597
		miR-499-5p	3' uuuguagUGACGUUCAGAAUu 5' miR-217 : : guugugCUUUUAAGUCUUu cIRS-9	-1.143	0.7314
		miR-217	3' agGUUAGUCAAGGACU-ACGUCAu 5' miR-217 : acCAGUCUUUGAGUGAUUCAGUa cIRS-9	-1.131	0.7481

発現変動circRNA

発現変動circRNAは、変化の規模および統計学的有意差 (p-value)によって選択されます。これらはvolcano plotによって可視化することができます。発現様式は、階層型クラスター分析であるヒートマップによって可視化されます。



本サービスは、ワールドスタンダードなDNAマイクロアレイである、Thermo Fisher Scientific社(applied biosystems/affymetrix)のGeneChip™ Arraysを用いて当社ラボ(名古屋市本社)にて解析を実施している国内サービスです。研究目的に合わせて、豊富なラインナップからアレイをご選択いただけます。

メーカーのTranscriptome Analysis Console (TAC) Softwareと、GO解析やパスウェイ解析が可能な弊社独自の解析ソフトウェア「Microarray Data Analysis tool」(付属)を組み合わせてご活用ください。

miRNAとは

miRNAは、21～23塩基対からなる機能性non-coding RNAです。その機能は、遺伝子発現の転写後抑制であり、複数のタンパク質と複合体を形成して標的となるmRNAに結合し、その翻訳を抑制しますが、RNAiと類似の機構により標的mRNAを切断する場合もあると考えられています(ref. Cell, 116, 281, 2004)。また、標的mRNAはその認識が配列の完全一致だけでなく、ミスマッチも含まれるため複数あります。このように、miRNAが多くのmRNAを制御していることから、細胞増殖・アポトーシス・発生と分化・代謝などの多岐にわたり、その異常は癌などの疾患とも密接に関わっており、多くの生命現象に深く関わっています。現在までに、数千のmiRNAが同定されています。

アレイの詳細

GeneChip™ miRNA Arrayは、低分子ノンコーディングRNA(miRNA, snoRNA, scaRNA)の役割や癌や疾患における重要性を研究するための強力なツールです。1993年に発見されて以来、低分子ノンコーディングRNA(miRNA, snoRNA, scaRNA)は、複雑な生命体の発生と生理機能の基礎をなす調節回路の主要構成要素として舞台に登場する様になりました。

その結果、異なるパターンで発現される遺伝子の生物学的背景を理解するためには、メッセンジャーRNA(mRNA)の発現に関する研究をmiRNA解析で補完することがますます重要になってきています。これらの主要な機能性遺伝子産物は、全タンパク質コード遺伝子の約30%を制御していると推定されています。

本製品は、以下の条件を満たす唯一のアレイです。

- 全生物・snoRNAとscaRNAにおけるmiRBase V20カバー率100%
- 全203生物種(30,424プローブセット)
- ヒトsnoRNAおよびscaRNA(1,996プローブセット)
- ヒト、マウス、ラットのmiRNA前駆体ヘアピン配列に特異的な3,770プローブセット

Array content description	
miRBase	Release 20
Ensembl (BioMart Export)	Release 73
snoRNAbase	Version 3
mirTarbase	Release 4.5
MicroCosm Targets	11/2013
Organisms (including viruses)	203
Total mature miRNA probe sets	30,434
Probes/probe set for mature miRNA	9
Human mature miRNA probe sets	2,578
Mouse mature miRNA probe sets	1,908
Rat mature miRNA probe sets	728
Human snoRNA and scaRNA probe sets	1,996
Human pre-miRNA probe sets	2,025
Mouse pre-miRNA probe sets	1,255
Rat pre-miRNA probe sets	490

Specifications

Performance	
Reproducibility (inter- and intra-lot)	>0.95
Transcripts detected at 1.3 amol in 130 ng	85%
Dynamic range	4 logs
Total RNA input	130–1,000 ng
Probe feature size	11 μm
Probe length	Up to 25-mer

※ Thermo Fisher Scientific社の資料Data Sheetを引用しています。

豊富なRNA抽出サービス(有償)

追加オプションとして下記のサンプルからの抽出に対応しています。

- 組織 / 細胞
- 血清 / 血漿
- エクソソーム (血清/血漿/培養上清/尿/その他体液)

下流のバリデーション試験もお任せください！

リアルタイムPCR受託解析サービス

TaqMan® MicroRNA Assays 受託解析へ

超保存領域(Ultraconserved regions: UCR)は、遠縁種のゲノム間でも高く保存され、ほぼ100%同一である特異的な200bp以上の配列から構成されています。このUCRの多くから、生物学的に不可欠と考えられている特定のnon-coding RNAが転写されます。このnon-coding RNAは、転写超保存領域(Transcribed ultraconserved Region: T-UCR)と呼ばれ、ヒトゲノムの481個のUCRから転写されるLong non-coding RNA(LncRNA)として知られています。近年のゲノムワイド発現プロファイリング研究により、いくつかのT-UCRが白血病および固形腫瘍などにおいて、特徴的な発現をすることが明らかとなっています。

Arraystar社のT-UCR Arrayは、UCRおよびその周辺領域の配列、LncRNAおよびmRNA転写産物またはUCRと重複する転写産物ユニット、UCR近傍遺伝子を網羅し、T-UCR発現およびその境界、転写産物、潜在的な標的遺伝子に関する情報を最大限引き出すよう設計されており、本アレイを用いた解析はT-UCRにおける網羅的なプロファイリング情報をお客様にご提供いたします。

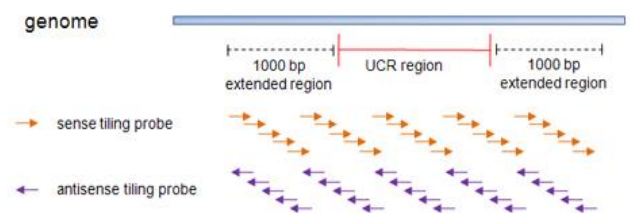
本サービスのメリット・バイオインフォマティクス解析

T-UCR Arrayの包括的なプローブ設計

センスおよびアンチセンス鎖特異的のプローブによって40 bpの分解能でタイリング481個のUCRとその拡張領域をカバーする合計51,320個のタイリングプローブが、Arraystar Human T-UCR Arrayにプリントされています。

詳細で豊富なアノテーション

T-UCRの発現解析
UCRおよびその周辺領域における新規転写領域
UCRと転写が重複するLncRNAおよびmRNA転写産物
UCR近傍遺伝子



センスおよびアンチセンス鎖特異的のプローブ

RNAのサイレンシング機構であるRNA干渉は、アルゴノートタンパク質の複合体RISCを形成し、miRNA、siRNA、およびpiwiRNA (piRNA)などのsmall RNAと結合します。RISC-RNA複合体は標的mRNAの切断または翻訳抑制を引き起こします。piRNAは哺乳動物の生殖細胞において、アルゴノートタンパク質PIWIと結合し、トランスポゾンおよびレトロトランスポゾンの制御に重要な役割を持つことが明らかとなっています。また、piRNAは他にも機能を有する可能性があることが示唆されています。

Arraystar社のpiRNA microarrayは、非常に多彩であり、近縁種において配列保存が低いpiRNAにおいても数万のpiRNAを高い特異性および感度でプロファイルし、piRNAの生物学や分子機能、生殖細胞やがん、その他の細胞型におけるバイオマーカー的機能に関する研究を支援します。

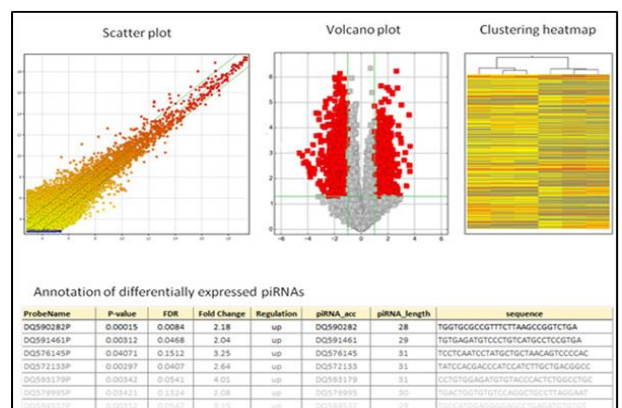
本サービスのメリット・バイオインフォマティクス解析

piRNAを包括的にプロファイリング

60bpのロングオリゴヌクレオチドプローブによって、特異的にpiRNAをプロファイリング。
ヒトの23,677種、マウス43,537種、ラット39,727種のpiRNAを網羅的に解析します。

詳細なアノテーション

遺伝子発現値およびアノテーションがまとめられ、発現変動piRNAは、変動および統計的有意差によって同定されます。
加えて、発現変動をまとめたVolcano plotや階層発現変動を図にまとめて納品されます。



詳細なアノテーションおよび発現変動解析

Super-Enhancer LncRNA(SE-LncRNA)は、マスター調節因子として転写を制御し、細胞型、細胞の同一性、および疾患を決定する多様な遺伝子発現プログラムにおいて調節的な役割を果たしています。例えばCERNAおよびDRRRNAなどのSE-LncRNAは自己調節により筋形成をオンにし、CCAT1-Lは発がん遺伝子であるMYC発現を活性化することで、結腸直腸がんの進行を促進させます。そのため、SE-LncRNAを理解することは生物学的プロセス、および疾患を理解する上で非常に重要であります。

Arraystar社のSE-LncRNA Array搭載のプロブは、SE領域から転写されたSE-LncRNAに対応するSE制御タンパク質コード遺伝子とともに体系的にプロファイルする様に設計されており、SE-LncRNA、標的遺伝子、転写因子、およびがん遺伝子を同時にプロファイリングし、それらの制御下にあるSE-LncRNAおよびコード遺伝子の研究を促進させます。

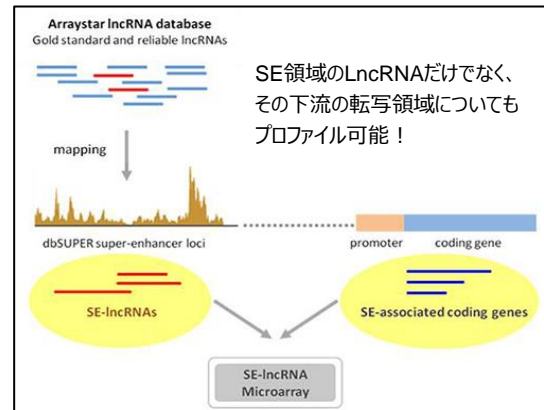
本サービスのメリット・バイオインフォマティクス解析

SEの下流遺伝子のプロファイリングおよび特異的な検出

SE-LncRNAとその標的遺伝子を同一アレイ上にて同時にプロファイリングを行います。SE-LncRNAの転写産物アイソフォームは、細胞あたり1つの転写産物で高い感度で、特異的かつ確実に検出されます。

SE-LncRNAと標的コード遺伝子の包括的なアノテーション

バイオインフォマティクス解析では、transcript ID、gene symbol、およびalias、ゲノム遺伝子座、配列および長さ、細胞内局在、関連する細胞または組織の種類、がんおよび疾患、重複したスーパーエンハンサー情報が含まれます。



Arraystar SE-LncRNA Arrayのコンテンツ収集プロセス

Long non-coding RNA (LncRNA)は、タンパク質をコードしない200塩基長のRNAであり、転写や分化制御などの生物学的プロセス、がんや心疾患などのヒトの疾患に大きく関与しています。Arraystar社のLncPath™ Pathway LncRNA Arrayは重要な疾患やLncRNAが関与するパスウェイを対象とした多数のマイクロアレイがございます。本解析で提供するアレイには、がん経路研究用、上皮観葉転換パスウェイ研究用、循環器疾患パスウェイ研究用やエピジェネティクスパスウェイ研究用などのパスウェイ・疾患にフォーカスを当てた信頼できる包括的なマイクロアレイを用意しており、各パスウェイ・疾患におけるLncRNAと標的となる遺伝子を一度に解析することを可能にします。これらのアレイにより、LncRNA-標的パスウェイ遺伝子間の発現制御および調節機構の探索および確立、またはその潜在的な標的タンパク質コード遺伝子に関する詳細な情報を提供します。

本サービスのメリット・バイオインフォマティクス解析

重要な疾患やパスウェイを網羅的に解析

LncRNAの潜在的な調節機構の解明や特定の生物学的パスウェイまたは疾患に対する知見を取得することができます。

機能分類の詳細なアノテーションとグラフ

LncRNAおよびそのパスウェイ遺伝子とのゲノム上の関連性競合内在性RNA(ceRNA)としてのLncRNAの標的パスウェイ遺伝子発現変動LncRNAおよび対応するタンパク質コード遺伝子の関連性などを含んだ解析をご提供

LncRNA	Relationship between LncRNA and its Protein Coding Gene Target	MuTaMe Score	Coding Gene Transcript	Coding Gene Symbol
ENST890001	ceRNA	0.312374307	NM_00530	WNT1
ENST820003	ceRNA	0.182784303	NM_00530	WNT1
ENST800053	ceRNA	0.068902341	NM_00530	WNT1

LncRNA	LncRNA Symbol	Relationship	MuTaMe Score	Coding Gene Transcript	Coding Gene Symbol	miRNAs mediating ceRNA interaction
ENST00000568270	LAT	ceRNA	3.5252	NM_139578	BCL2L1	hsa-miR-149-3p, hsa-miR-185-3p, hsa-miR-423-5p, hsa-miR-486-3p, hsa-miR-608, hsa-miR-1207-5p, hsa-miR-1909-3p, hsa-miR-3184-5p, hsa-miR-4681, hsa-miR-4986-5p, hsa-miR-4729-5p, hsa-miR-4763-3p, hsa-miR-6721-5p, hsa-miR-6722-3p

LncRNAの詳細な機能およびアノテーション

本解析サービスは、クロマチン免疫沈降法(Chromatin ImmunoPrecipitation)とマイクロアレイ技術を組み合わせることにより、DNAと転写因子の相互作用によるエピジェネティック制御を網羅的に検証することができる解析サービスとなっています。

本サービスではタンパク質コード遺伝子のプロモーター領域やnon-coding RNA (ncRNA)のプロモーター領域、がんのメチル化可変領域(Differentially Methylated Region: DMR)、ゲノムブロックを解析するための4種類のアレイ(RefSeqプロモーターアレイ、ncRNAプロモーターアレイ、Cancer DMRアレイ、Cancer Blockアレイ)を用意しています。さらに、Arraystar社で実施する本解析は、サンプル提供後、アレイ解析、バイオインフォマティクス解析まで実施いたします。

本サービスのメリット

プロモーター領域以外にもncRNAや腫瘍特異的な遺伝子発現に対応する豊富なアレイラインナップ

アレイ名	生物種	解析目的
Arraystar Refseq Promoter Array	Human, Mouse, Rat	mRNAのプロモーター領域およびその近傍のCpGアイランドにおけるクロマチン結合部位、ヒストン修飾、転写因子結合を網羅的に検出可能
Arraystar ncRNA Promoter Array	Human, Mouse	LncRNAやmicroRNA遺伝子のプロモーター領域におけるクロマチン結合部位、ヒストン修飾、転写因子結合を網羅的に検出可能
Arraystar Cancer DMR Array	Human	がんにおいて、組織型、細胞分化でメチル化が異なる12,113個の小さなDMRと、その近傍の11,380個のCpG islandおよびCpG island shoresのヒストン修飾、および転写因子結合を網羅的に検出可能
Arraystar Cancer Block Array	Human	がんにおいて遺伝子発現の変動が大きい、極端に大きい遺伝子の大部分を包含しているブロックに含まれるタンパク質コード遺伝子およびLncRNA遺伝子のヒストン修飾、転写因子結合を網羅的に検出可能

※ご提供いただくサンプルはクロマチン免疫沈降後のIP-DNAのみの受け入れとなっています。

バイオインフォマティクス解析例

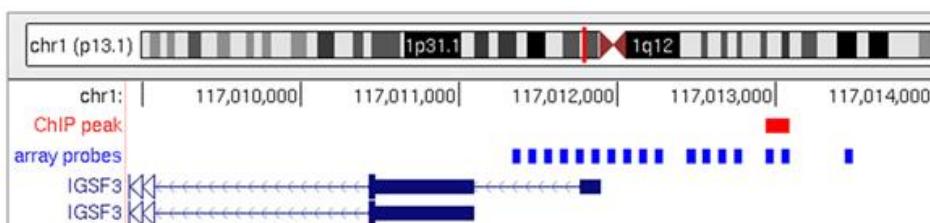
Arraystar社は、ChIP-chipデータ解析に豊富な経験を持っており、お客様に徹底的かつ包括的な解析データをご提供いたします。

- 生データ抽出およびデータ品質評価
- ChIP/インプットコハイブリッドチャンネル強度のlog2比のスケールリング、中央値センタリング、分位正規化、線形平滑化による正規化
- エンリッチメントピーク(EP)の検出、ピークの位置、長さ、ピークスコア、有意性、転写開始点(TSS)までの距離
- マップされたゲノムの特徴によるピークアノテーション
- ゲノムブラウザで表示するためのトラックファイル
- 差分濃縮ピーク(DEP)解析
- サマリーレポート

図1. ChIPによって濃縮したDNAのアノテーション結果

ArrayName	PeakID	Peak Chr	PeakStart	PeakEnd	Peak Length	Peak Score	Peak FDR	Gene Name	Gene Chr	Strand	PeakToTSS
Sample1	31	chr1	17402716	17403165	449	0.97	0	PADI1	chr1	+	-1266
Sample1	32	chr5	34020937	34021796	859	0.93	0	SLC45A2	chr5	-	-829
Sample1	35	chr19	47190822	47191371	549	0.9	0	ATP1A3	chr19	-	-874
Sample1	36	chr7	988769	989318	549	0.94	0.001504	CYP2W1	chr7	+	-316

図2. IGSF3遺伝子プロモーター領域に結合したChIP濃縮ピーク(赤色)



illumina社のDNAメチル化ビーズアレイ「Infinium® Methylation BeadChip」を用いた受託解析サービスです。DNAのメチル化は遺伝子発現制御において、発生・分化における細胞の特殊化および分化細胞の安定維持、ウイルス遺伝子や非宿主DNA配列から生じる有害な発現の抑制、そして、環境刺激に対する応答機序の付与などの役割があります。また、異常なDNAのメチル化に伴う遺伝子発現への影響はがんなどの疾患過程に深く関与しております。

Infinium® Methylation BeadChipはメチル化の専門家が選択した包括的ガバレッジ、高スループットを実現し、大規模なゲノムワイドのDNAメチル化研究を行うために理想的な解析方法の一つであります。また、本アレイとilluminaの独自技術によって、一塩基レベルの解像度でCpGサイトのメチル化を定量することを可能にし、エピゲノムの詳細な変化を捉えることを可能にします。

本サービスのメリット

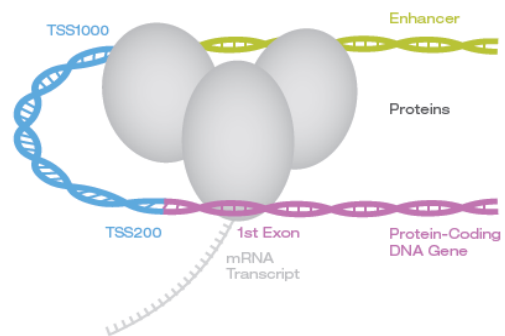
包括的でゲノムワイドなカバレッジを持つ搭載コンテンツ

Infinium® MethylationEPIC BeadChipはCpGアイランド、遺伝子、およびプロモーターの高カバレッジを実現しており、そのため、高範囲なメチル化サイトを網羅的に解析が可能となっています。

また、潜在的なエンハンサーなどのENCODEプロジェクトによって同定された領域およびFANTOM5プロジェクトによって同定されたエンハンサーをターゲットにしています。

本アレイはメチル化の専門家が選択した以下のDNA領域が解析可能です。

- CpGアイランド以外のヒトCpGサイト
- ヒト幹細胞で同定された非CpGサイトのメチル化領域(CHHサイト)
- ヒト腫瘍細胞と正常細胞間で確認された異なるメチル化を示す領域
- FAMTOM5 エンハンサー
- ENCODEオープンクロマチンとエンハンサー
- DNase高感受性部位
- miRNAプロモーター領域
- illumine Human HumanMethylation450 BeadChipに搭載されたコンテンツの約90%



Feature Type	# Features Mapped	% Features Covered	Avg # Loci/Feature
RefSeq			
NM_TSS200*	> 20,000	> 88%	3
NM_TSS1500	> 23,000	> 97%	5
NM_5'UTR	> 20,000	> 85%	7
NM_1stExon	> 20,000	> 85%	2
NM_3'UTR	> 14,000	> 70%	1
NM_ExonBoundaries	> 8000	> 35%	0.5
NR_TSS200	> 4000	> 65%	1
NR_TSS1500	> 5000	> 80%	3
NR_ExonBoundaries	> 500	> 15%	0.2
GenCode Basic v12			
TSS200	> 65,000	> 86%	2
TSS1500	> 80,000	> 95%	5
5'UTR	> 50,000	> 75%	7
First Exon	> 45,000	> 60%	2
3'UTR	> 35,000	> 65%	3
Exon Boundaries	> 8000	> 30%	0.5
Enhancers			
ENCODE Open Chromatin ^b Evidence ≥ 4	> 150,000	> 65%	2
ENCODE TFBS in Open Chromatin ^c Evidence ≥ 3	> 220,000	> 50%	1
ENCODE TFBS in Open Chromatin Evidence ≥ 4	> 150,000	> 75%	3
FANTOM5 Enhancers ^d	> 23,000	> 80%	1

a. Distance (in base pairs) from transcriptional start site (TSS).
 b. ENCODE Open Chromatin: Genomic regions ≥ 4 pieces of evidence supporting open chromatin status from ENCODE tracks within DNaseI_FAIRE_CHIP_Synthesis_from_ENCODE_OperChrom_Duke_UNC_UTA.
 c. ENCODE TFBS in Open Chromatin: Regions of ENCODE Open Chromatin defined above also identified as transcription factor binding sites (TFBS) in the track TFBS_PeakSeq-based_Peaks. Data are provided with ≥ 3 and ≥ 4 pieces of evidence, as indicated.
 d. Genomic regions identified as enhancers by the FANTOM5 project.

MethylationEPIC BeadChip Provides Dense Coverage Throughout Enhancer Regions—The MethylationEPIC BeadChip offers dense coverage across multiple content categories requested by methylation experts including enhancer regions. Specifications are rounded for product prerelease. Exact specifications will be released when product ships at the end of 2015.



Feature Type	# Covered	% Covered	Avg # Loci/Feature
Island	26,000	> 95%	6
North Shore	25,000	> 90%	3.5
South Shore	25,000	> 90%	3.5
North Shelf	22,000	> 80%	2
South Shelf	22,000	> 80%	2

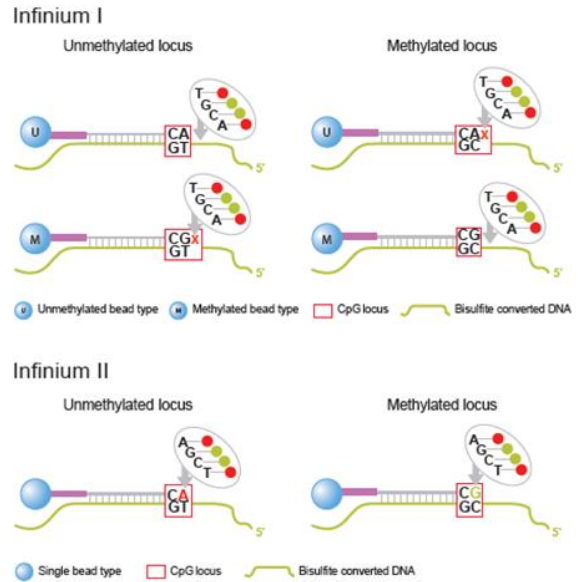
MethylationEPIC BeadChip Provides Dense Coverage Throughout Gene Regions—The MethylationEPIC BeadChip offers broad coverage across gene regions, CpG islands/CpG island regions, shelves, and shores for the most comprehensive view of the methylation state. Specifications are rounded for product prerelease. Exact specifications will be released when product ships at the end of 2015.

Infinium I

Infinium Iアッセイでは、1つのCpGサイトに対して、1個の「非メチル化」DNA検出プローブ及び1個の「メチル化」DNA検出用プローブの合わせて2個のプローブが利用されます。各プローブの3'末端は、保護されたシトシン(メチル化デザイン)、またはバイサルファイトによる変換と全ゲノムの増幅によって生成するチミン塩基(非メチル化デザイン)のいずれかにマッチする様にデザインされています。

Infinium II

Infinium IIアッセイは、1個のターゲットサイトに対して、1個のプローブのみを使用する様にデザインされています。プローブの3'末端は、検出サイトのすぐ上流の塩基に相補的で、1塩基伸長の結果、「メチル化」Cまたは「非メチル化」Tに相補的な、標識されたGまたはAの塩基がそれぞれ付加されます。Infinium IIアッセイは、縮重オリゴヌクレオチドプローブを用いることにより、50merの配列内に別のCpGサイトが存在したとしても、最大3箇所まで存在しても、データに影響を及ぼさず、ターゲットに隣接するCpGサイトのメチル化状態とは関係なく、検出サイトでのメチル化状態を評価することが可能となります。

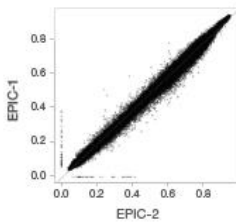


Broader Coverage Using Infinium I and II Assay Designs—
The MethylationEPIC BeadChip employs both Infinium I and Infinium II assays. Infinium I assay design employs 2 bead types per CpG locus, 1 each for the methylated and unmethylated states. The Infinium II design uses 1 bead type, with the methylated state determined at the single base extension step after hybridization.

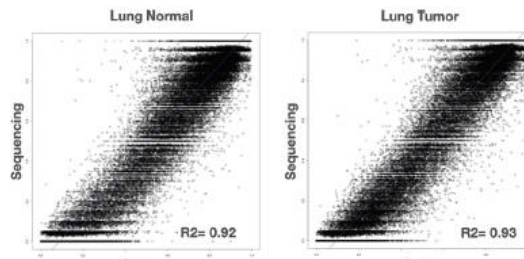
高い精度と再現性

再現性は繰り返し得られた結果の相関に基づいて決定されています。Infinium® MethylationEPIC BeadChipは、繰り返し実験間で強い相関を示し($R^2 > 0.98$)、全ゲノムバイサルファイトシーケンス結果とも強い相関を示しております。Infinium® MethylationEPIC BeadChipを用いることにより、一貫した信頼性の高いデータを確実に得ることができます。

A. MethylationEPIC Replicate Correlation ($R^2 > 0.98$)



C. HumanMethylation450 vs. Whole Genome Bisulfite Sequencing



Infinium Methylation Technology Shows High Reproducibility and Correlation to Sequencing Data — A) Technical replicates of beta values for noncancer samples on the Infinium MethylationEPIC BeadArray show a $> 98\%$ R^2 value. B) Comparison of beta values for noncancer samples on overlapping content between the Infinium HumanMethylation450 BeadArray vs the MethylationEPIC chip show an R^2 of greater than 98%. C) Infinium HumanMethylation450K data show high methylation call correlation when compared to whole-genome bisulfite sequencing data across normal and tumor lung tissues.

高い精度と再現性で1塩基単位でのメチル化の解析によって以下の解析が可能なサービスです！！

- CpGアイランド以外のヒトCpGサイト
- ENCODEオープンクロマチンとエンハンサー
- ヒト幹細胞で同定された非CpGサイトのメチル化領域
- DNase高感受性部位
- ヒト腫瘍細胞と正常細胞間の異なるメチル化領域
- miRNAプロモーター領域
- FANTOM5エンハンサー

必要サンプル情報

サンプルタイプ	必要量	O.D. 260/280	O.D. 260/230
ゲノムDNA	>1.5µg(>30µL)、濃度: 50ng/µL	>1.7	>1.0

本解析サービスは、メチル化DNA免疫沈降法(Methylated DNA immunoprecipitation: MeDIP)とヒドロキシメチル化免疫沈降法(Hydroxymethylated DNA immunoprecipitation: hMeDIP)とマイクロアレイ技術を組み合わせることにより、DNAのメチル化またはヒドロキシメチル化によるエピジェネティック制御を網羅的に検証することができる解析サービスとなっております。

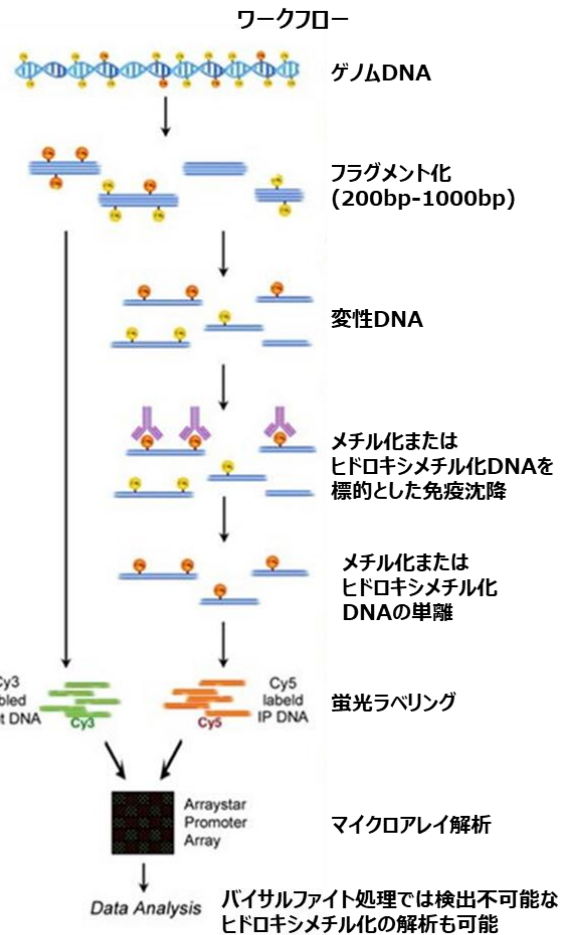
本サービスではタンパク質コード遺伝子やnon-coding RNA (ncRNA)のプロモーター領域、がんのメチル化可変領域(Differentially Methylated Region: DMR)、ゲノムブロックを解析するための、4種類のアレイ(RefSeqプロモーターアレイ、ncRNAプロモーターアレイ、Cancer DMRアレイ、Cancer Blockアレイ)を用意しています。さらに、ArrayStar社で実施する本解析は、サンプル提供後、QCチェックから分析、バイオインフォマティクス解析まで実施いたします。

本サービスのメリット

メチル化/ヒドロキシメチル化を単一解析が可能

DNAメチル化の解析手法としてパイサルファイト処理による塩基の変換を利用した解析手法があります。パイサルファイト処理では、シトシンをウラシルへと変換しますが、メチル化またはヒドロキシメチル化を受けたシトシンはウラシルへと変換されません。この特性によりメチル化領域について検証することが可能ですが、パイサルファイト処理を用いた解析では、DNAのヒドロキシメチル化および非ヒドロキシメチル化は区別をつけることができません。

しかし、本解析では、特異抗体を用いてメチル化DNAまたはヒドロキシメチル化を区別し、解析を可能にします。メチル化は遺伝子発現制御や疾患と関与しており、加えてヒドロキシメチル化は脳、着床前初期胚および胚性幹細胞の分化に関与していることが報告されております。そのため、本解析サービスは、異なる役割をもつ二つの修飾を区別して解析が可能なサービスとなっております。



アレイラインナップ

本解析サービスはお客様の研究目的に合ったアレイをご選択いただけます。

✓ Arraystar RefSeq Promoter Microarray

本マイクロアレイは、全てのタンパク質コード遺伝子のプロモーター領域、およびその周辺のCpGアイランドにおけるエピジェネティック修飾やクロマチン結合部位を研究するためにデザインされています。

- RefSeq databaseに基づいてアノテーションされたmRNAsのプロモーターを網羅
- ロングオリゴヌクレオチドプローブ(60mer)を使用し、類を見ない感度および特異性の解析を実現

生物種	Human	Mouse	Rat
ガバレッジ	23,148 RefSeq promoters (-1,300bp~500bp of TSS)	22,327 RefSeq promoters (-1,300bp~500bp of TSS)	15,987 RefSeq promoters (-1,300bp~500bp of TSS)

✓ Arraystar ncRNA Promoter Microarray

本マイクロアレイは、non-codingなLncRNAおよびmicroRNA遺伝子のプロモーター領域におけるエピジェネティック修飾やクロマチン結合部位を研究するために、MeDIP-chipやhMeDIP-chipおよび、ChIP-chip実験用にデザインされています。

Human

- LncRNAのプロモーター領域および622のmiRNAのプロモーターを網羅
- 60-merのプロープにより、類を見ない感受性および特異性を実現

Mouse

- LncRNAのプロモーター領域および346のmiRNAのプロモーターを網羅
- 60-merのプロープにより、類を見ない感受性および特異性を実現

生物種	Human	Mouse
ガバレッジ	27,248 LncRNA promoters (-1,300bp~500bp of TSS) 622 miRNA promoter(-50kb~50kb)	18,552 LncRNA promoters (-1,300bp~500bp of TSS) 346 miRNA promoter(-50kb~50kb)

✓ Arraystar Cancer DMR Microarray

本マイクロアレイは、がんにおける小規模なメチル化可変領域(Differentially Methylated Region: DMR)を研究するためにデザインされています。本アレイは、がん、組織および細胞分化においてMethylationが変動している12,113の小規模なDMR、およびその近傍の11,380のCpGアイランドとCpGアイランドショアを網羅しています。

- がんにおいて過メチル化または低メチル化を受ける12,000以上の小規模DMRを網羅
- 小規模DMRの近傍にある11,000以上のCpGアイランドおよびCpGアイランドショア
- MeDIPおよびinput DNAの二重色相チャンネルにより、優れた感受性および特異性を実現

生物種	Human
ガバレッジ	12,113 DMRs and nearby 11,380 CpG islands and shores

✓ Arraystar Cancer Block Microarray

本マイクロアレイは、ヒトがんにおけるエピジェネティック変化の起きるゲノムブロックを研究するためにデザインされています。ブロックのサイズは、5kbから10Mb(median 28kb)であり、ヒトゲノムの半分以上を占めています。低メチル化ブロックは、がんにおけるメチレーション変化の最大95%に関連していると考えられており、固形腫瘍において、普遍的に認められているエピジェネティック変化として見出されています。本マイクロアレイは、ゲノムブロックにおける2,554のタンパク質コード遺伝子および8,481のLncRNA遺伝子のメチレーション変化の解析に利用できます。

- 7,000以上のがんゲノムブロックに対応し、タンパク質コード遺伝子、LncRNA遺伝子およびmiRNA遺伝子を網羅

生物種	Human
ガバレッジ	7,088 blocks containing 2,554 mRNA, 8,481 LncRNA and 463 miRNA genes

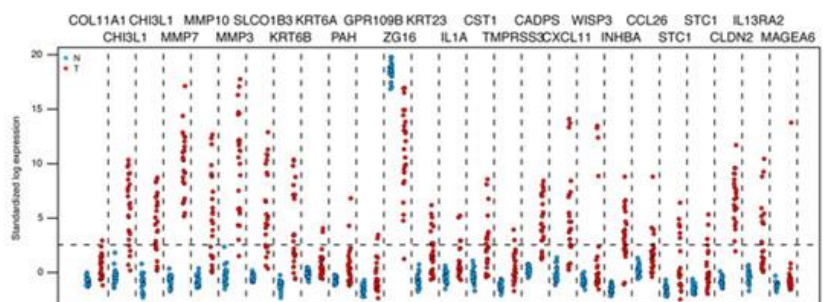
バイオインフォマティクス解析例

本サービスは、MeDIP-chip、hMeDIP-chipにおける包括的なデータを提供します。

- メチル化・ヒドロキシメチル化濃縮ピークの検出結果
- 特異的濃縮ピーク
- 3つのクラスにアノテーションされたプロモーター
転写抑制の優れた予測因子である、CpG比、GC含量、およびCpGリッチな領域の長さに基づいて分類
高CpG密度プロモーター: HCP
低CpG密度プロモーター: LCP
中間CpG密度プロモーター: ICP
- ROIによって解析されるメチル化可変領域(DMR)
※ 追加オプション(追加費用が発生します)

GeneName	group_X	group_Y	X vs Y	Pvalue	ProbeNum	Promoter Classification	Accession	Chromosome	Strand	TSS	TTS
LOC401097	0.028	0.555	-0.526	0.016	7	HCP	NM_001168214	chr3	+	1.61E+08	1.61E+08
TBC1D17	-0.125	-0.500	0.376	0.039	9	HCP	NM_001168222	chr19	+	55072493	55083618
TSPYL1	-0.080	0.228	-0.308	0.004	9	ICP	NM_003309	chr6	-	1.17E+08	1.17E+08
RREB1	-0.271	0.140	-0.412	0.008	8	HCP	NM_001003700	chr6	+	7053084	7197211
RREB1	-0.107	0.182	-0.289	0.008	8	HCP	NM_001168344	chr6	+	7052828	7197211
UGT3A2	-0.023	-0.422	0.399	0.000	15	LCP	NM_001168316	chr5	-	36070877	36102780
VWTR1	0.135	-0.312	0.447	0.008	8	ICP	NM_015472	chr3	-	1.51E+08	1.51E+08

データ解析例: グループ間での関心のあるメチル化可変領域



Arraystar Cancer Block Microarrayを用いた解析例

低メチル化ブロック内に位置するがんの26遺伝子の発現値で、がんサンプル(赤)は正常サンプル(青)に比べて大きな発現変動を示しています。

N6-メチルアデノシン(m6A)および5-メチルシチジン(m5C)などのRNA修飾は転写後の遺伝子制御つまりエピトランスクリプトーム、および遺伝子発現制御に深く関係しています。この2つのメチル化はmRNAおよびLncRNAにおいて、豊富な内部修飾となっており、転写後mRNA/LncRNA代謝、および機能のあらゆる局面に影響を与えます。さらに、m6Aは、キャップに依存しないcircRNAの翻訳開始やPrimary microRNA (pri-miRNA)のプロセッシングなど、他の多くのncRNAの機能にも関与しています。

Arraystar社のEpitranscriptomic Array解析では、メチル化RNA免疫沈降法(MeRIP)と2色チャンネルマイクロアレイ技術を組み合わせ、修飾および未修飾のRNAを比較することができ、転写産物をアイソフォーム特異的にRNAの修飾レベルの割合を定量化します。この解析手法により、mRNAとLncRNA、またはcircRNAのトランスクリプトームワイドのRNA修飾プロファイリングをご提供いたします。

本サービスのメリット

codingおよびnon-codingなエピトランスクリプトームのカバレッジ

本解析サービスでは、2種類のマイクロアレイからご選択いただき、解析を行うことが可能です。

1. Arraystar mRNA&LncRNA Epitranscriptomic Microarray

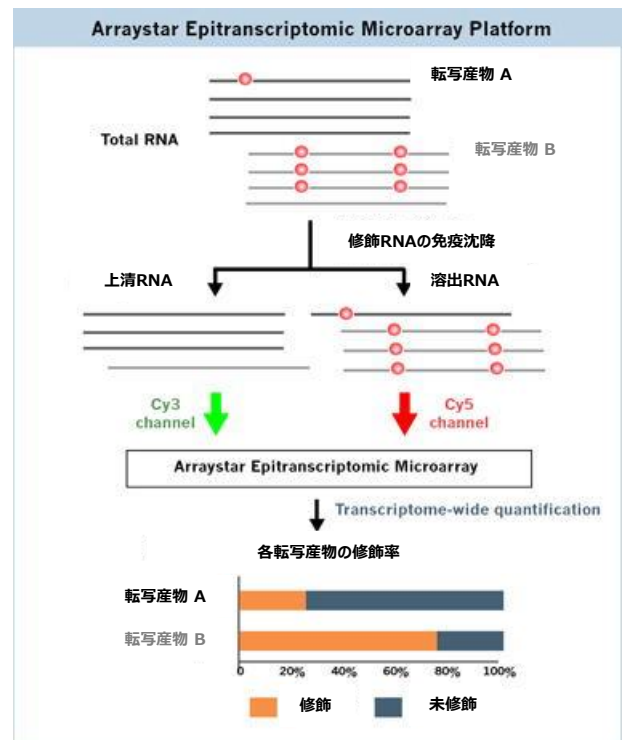
mRNA、LncRNAおよび中サイズのnon-coding RNAクラス(pre-miRNA、pri-miRNA、snoRNA、snRNA)を同一アレイ上でプロファイル可能です。

2. Arraystar circRNA Epitranscriptomic Microarray

miRNAの競合内在性RNAであるcircRNAのRNA修飾をカバーしています。

上記2つのアレイでは、MeRIP-Seqでは検出が難しいLncRNAやcircRNAなどを高い感度および精度で検出可能です。サンプル中のLncRNA/circRNAジャンクション部位の存在量は非常に低く、シーケンシングによって正確に定量することはできません。IPエンリッチなLncRNA/circRNAジャンクションについても同様です。

また、circRNA Epitranscriptomic Microarrayでは、mRNA&LncRNA Epitranscriptomic Microarrayとは異なり、作業工程の中でRNase R処理によりLinear RNAを除去することで、より正確なcircRNAの修飾の定量化が可能です。



Epitranscriptomic Arrayのワークフロー

MeRIP-seqよりも優れたRNAメチル化プロファイル

本アレイ解析では、MeRIP-Seqでは検出の難しいLncRNAおよびcircRNAの高い精度での検出および同一アレイ上での検出以外にも利点が2つあります。

- rRNAの除去が不要で、MeRIP-Seqよりも迅速かつ簡単に解析が行えます。
- MeRIP-seqでは最低120μgのTotal RNAが必要ですが、本解析は少量のサンプルでの解析が可能であり、希少サンプルでのRNAメチル化解析に適しています。

Epitranscriptomic ArrayとMeRIP-Seqとの比較

	Epitranscriptomic Array	MeRIP-Seq
各転写産物に対する修飾割合の解析	単一アレイ上で同時検出可能	1度のRunでは困難
Lnc-RNA、circRNAのプロファイル	高い感度と精度で解析可能	困難
mRNAまたはrRNAの除去	不要	必要
必要サンプル量	≥ 5μg Total RNA	≥ 120μg Total RNA

Arraystar mRNA&LncRNA Epitranscriptomic Microarrayの仕様

	Human	Mouse	Rat
プローブ総数	60,491	60,641	38,352
プローブ長	60 nt		
プローブ選択領域	転写物の全長に沿った特異的エクソンまたはスプライスジャンクション		
プローブ特異性	転写物特異的		
ラベリング法	少量の分解RNAでも、cRNAは3'バイアスなしで全長に沿って標識される		
mRNA数	21,174	30,924	27,770
LncRNA数	40,173	37,949	10,582

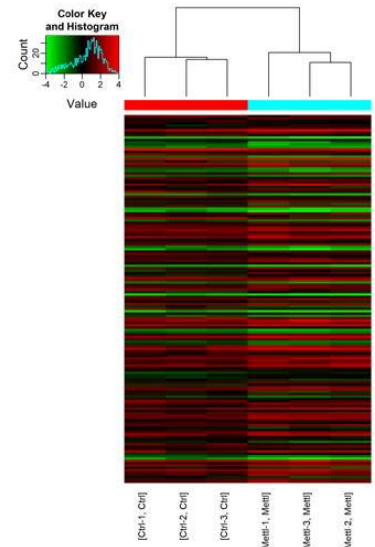
Arraystar circRNA Epitranscriptomic Microarrayの仕様

	Human	Mouse	Rat
プローブ総数	13,617	14,236	14,145
プローブ長	60 nt		
プローブ選択領域	CircRNA-specific junctionを標的とするプローブ		
プローブ特異性	転写物特異的		
ラベリング方法	ランダムプライマー標識とRNase前処理を組み合わせた、環状RNA特異的かつ効率的な標識		

バイオインフォマティクス解析例

異なるm6Aメチル化転写産物(mRNA、LncRNA、および中サイズncRNA)

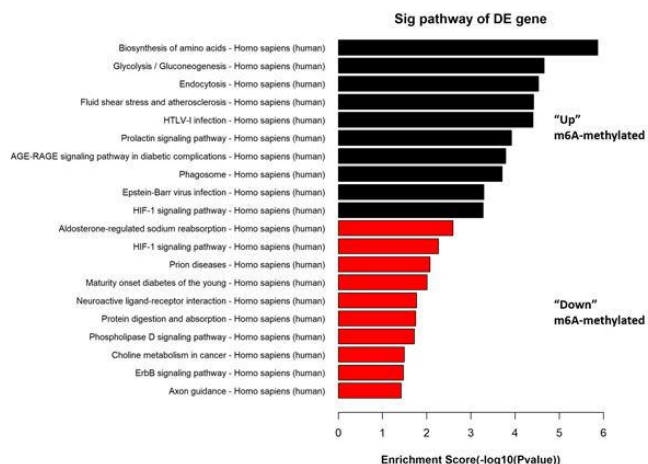
Comparison (Group 1 vs. Group 2)											
Seq_Name	Differential			Group normalized intensity (input)		Percentage of transcripts that are modified		Annotations			
	p-value (≤ 0.05)	FC (≥ 2.0)	Regulation	Group1	Group2	Group1	Group2	Type	Tier	Gene Symbol	Source
ENST00000377548	0.0016	3.55	UP	11.25	10.6	15%	18%	mRNA		RP11-160N1.10	GENCODE
NM_003128	0.0023	4.72	Up	4.23	4.46	6%	6%	mRNA		SPTBN1	RefSeq
NR_110004	0.0082	2.72	Up	8.03	7.71	15%	17%	lncRNA	Gold	LOC101927159	RefSeq
T110862	0.0067	2.49	Down	13.7	12.83	27%	29%	lncRNA	Reliable	G026239	RNA-seq



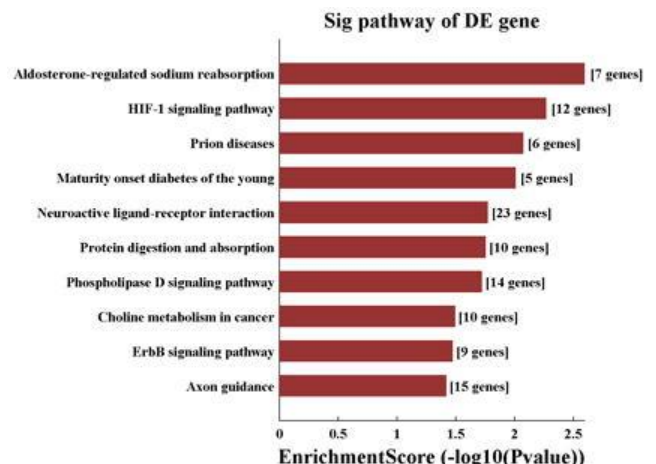
異なるm6Aメチル化転写産物(circRNA)

Comparison (Group 1 vs. Group 2)											
circRNA	Differential			Group normalized intensity (input)		Percentage of m6A-methylated		Annotations			
	P-value (≤ 0.05)	FC (≥ 2.0)	Regulation	Group1	Group2	Group1	Group2	circRNA Type	Protein-coding Potential	miRNA binding site (MRE2, MRE3)	Parent linear RNA (Best_transcript, Gene Symbol)
hsa_circRNA_40446	0.0197	11.19	Up	2.75	18.56	4%	31%	exonic	YES	hsa-miR-3682, hsa-miR-640	NM_004930, CAPZB
hsa_circRNA_40733	0.0208	3.07	Down	14.53	8.29	19%	12%	exonic	NO	has-miR-525, has-miR-525	NM_006281, STK3

異なるm6Aメチル化RNAの階層的クラスタリングヒートマップ



異なるm6Aメチル化mRNAのGOエンリッチメント解析



異なるm6Aメチル化mRNAのパスウェイ解析

6-メチルアデノシン(m6A)はRNAにおける主要なRNA修飾の一つであり、RNAは単一のm6Aを持つ場合と、単一のm6A部位とポリメチル化領域が500 nt以内に含まれ、両者の距離が100 nt未満の場合は、1つの「クラスター化m6A部位」を持つ場合があります。そのため、単一またはポリメチル化されたm6A修飾は、分子、細胞、生物の表現型に対して重要な機能を持つ。例えば、28S rRNAのA4220の単一m6Aは、細胞増殖に影響を与え、腫瘍の成長に影響を与え、ポリメチル化またはクラスター化されたm6Aは、mRNAの分解において重要な役割を持ち、細胞質におけるmRNAの半減期を決定しています。Arraystar社のm6A single Nucleotide Array解析は、メチル化感受性MazF RNaseと特徴的なプローブにより、単一ヌクレオチドの解像度で、正確なm6A部位を特定し、修飾の割合を定量化することができます。この手法は、他の技術で類似した解析を行うことはできないため、本サービスを利用することで、m6Aの分子メカニズムや生化学的機能、疾患の関連性に関する研究の強化につながります。

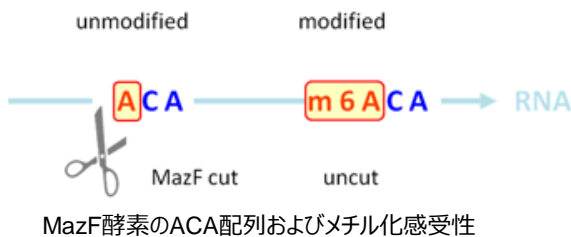
本サービスのメリット

m6A検出のための直交的方法論

本解析サービスでは、MeRIPやmiCLIPのようなm6A抗体免疫沈降に基づくアプローチに依存しないm6Aプロファイリングを可能にします。

m6A部位位置の1塩基分解能

MeRIP-Seqの分解能が100~200ntであるのに対し、MazF RNaseを用いる本解析は、1塩基の分解能でm6ACA配列を正確に検出することができます。



m6A修飾の化学量論

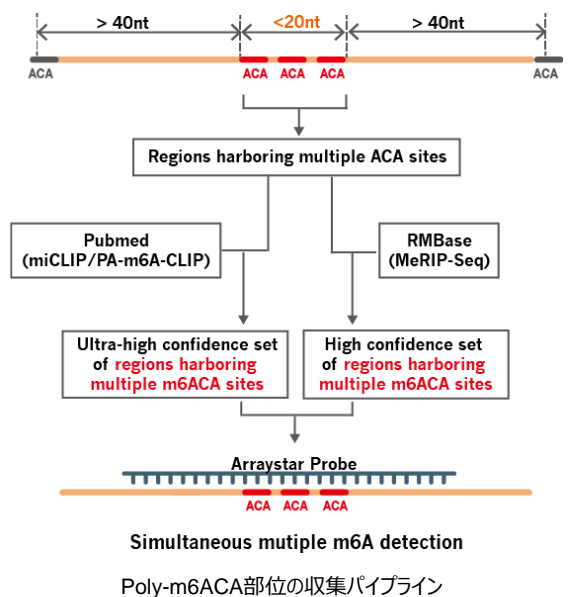
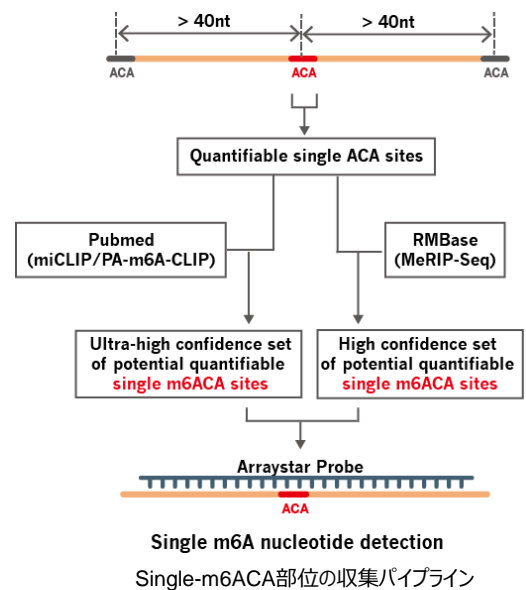
m6A修飾の割合や比率を部位ごとに定量することで、ダイナミックなm6Aの状態を把握するという長年のニーズに応えます。

少ないRNA量での解析が可能

MeRIP-seqでは100ug以上必要であるのに対し、本アレイでは1ugのtotal RNAを使用します。希少なサンプル、貴重な病理標本、特定の組織部位、低収量のソーティング細胞、小動物モデルに対してm6Aプロファイリングを実行することが可能にします。

確実な収集と体系的なアノテーション

Arraystar社では、Single ACA、Poly-ACA、Cluster-ACAを用いた定量可能なm6A部位の収集とアノテーションのための専用パイプラインを確立しています。



アレイラインナップ

m6A Single Nucleotide Arrayの仕様

	Human	Mouse	Rat
総プローブ数	14,321	14,319	14,581
プローブ長	60nt		
Single-ACA部位	11,237	11,120	11,499
Multiple-ACA領域	3,084	3,199	3,082
Cluster ACA領域	693	279	2,614
m6ACA部位ソース	miCLIP dataset RMbase database		Mouse M6ACA site homologs RMbase database

バイオインフォマティクス解析例

本解析では、m6A修飾化学量論、m6A存在レベル、単一ヌクレオチド分解能でのm6A位置、転写モデル領域などの豊富なバイオインフォマティクス解析およびアノテーションをご提供いたします。

差別的なm6Aメチル化情報

比較条件/グループ間の異なるm6A部位のメチル化化学量論およびm6A部位の存在量に関する情報をご提供いたします。

m6A Site on the Transcript			Differential				m6A Site Methylation Stoichiometry	
TransID	m6A_Transcript Location	Gene Symbol	Regulation	FC	p-value	FDR	Test Group (mean)	Control Group (mean)
NM_080598	547	DDX39B	hyper	5.6977	0.021	0.448	95%	16.6%
NM_213589	3952	RAPH1	hyper	2.9699	0.032	0.479	77%	26%

m6A Site on the Transcript			Differential				m6A Site Abundance	
TransID	m6A_Transcript Location	Gene Symbol	Regulation	FC	p-value	FDR	Test Group (mean)	Control Group (mean)
NM_018085	3563	IPO9	hyper	20.193	0.009	0.219	1.970402858	-2.36539351
NM_152705	754	POLR1D	hyper	26.472	0.020	0.231	2.377749776	-2.34866785

m6A部位の体系的なアノテーション情報

TransID	m6A_Transcript_Location	Gene Symbol	Trans_Biotype	m6A_Site_Locus	m6A Location
NM_080598	547	DDX39B	protein_coding	chr1:201845569-201845570_+	3'UTR
NM_213589	3952	RAPH1	protein_coding	chr6:31508289-31508290_-	CDS

m6A Conservation	Transcript Length	Transcript Sequence
No	11416	1...3527aggagCGCAGGAAGTCACTACCATTTATATCTCAAAACA GACCTATCTATGTTTCATAGGA CTTCTgatgt 3598...11416
Yes	2030	1...509cgctCTCCCTGTTTAGTTATGGCAGAGAACGATGTGGACAATGAGCTCTTG GACTATGAA GATGatgag 580...2030

small RNAにおける8-オキシグアニン(o8G)、7-メチルグアノシン (m7G)、N6-メチルアデノシン (m6A)、シュドウリジン (Ψ)、および5-メチルシチジン(m5C)などの修飾は、miRNAの生合成、標的mRNAとの二重鎖形成、tRNAの安定性、および疾患のバイオマーカーとして機能します。例えば、miRNAにおけるm6A修飾は正常組織と比較して、腫瘍組織で著しく増加することが報告されており、血清中のm6A修飾miR-17-5pレベルは、極めて高い感度と特異性で早期膵臓癌を検出します。そのため、small RNAにおける修飾の解析は生物学的プロセスおよび疾患理解に非常に重要です。

本サービスは、miRNA、pre-miRNA、tsRNA由来のsmall RNA (tsRNA、tRNA-derived fragments (tRFs)、およびtRNA halves (tiRNAs)を含む)におけるo8G、m7C、m6A、Ψ、m5Cの修飾を免疫沈降法とマイクロアレイ技術によって網羅的に検証することが可能な受託解析サービスとなっており、また、本解析はご準備いただくサンプルのQCチェックからマイクロアレイ解析、およびバイオインフォマティクス解析までフルパッケージのサービスとなっております。

本サービスのメリット

5種類のsmall RNAの修飾をそれぞれ検出・定量することが可能

本解析サービスでは抗体を用いて、修飾特異的なRNAをエンリッチメントすることを可能にし、個々の修飾に関するRNA発現の網羅的な解析データを提供します。

複数のsmall RNA クラスをカバー

本解析サービスでは、複数種類あるsmall RNAのクラスをカバーするアレイを用いて解析を行います。遺伝子発現制御に関与するmiRNA、miRNAの前駆体であるpre-miRNA、tRNA-derived fragments(tRFs)、tRNA halves等のtRNA derived small RNAが含まれており、複数あるsmall RNAの種類を幅広くカバーします。

修飾されたsmall RNA をより正確に解析

RNA-seqのライブラリー調製の際にRNAの修飾によってcDNAの逆転写反応が阻害されることが知られております。例えばtRNAのTΨC loopにm1Aの修飾が存在する場合、逆転写酵素の進行が阻害されることが知られています。

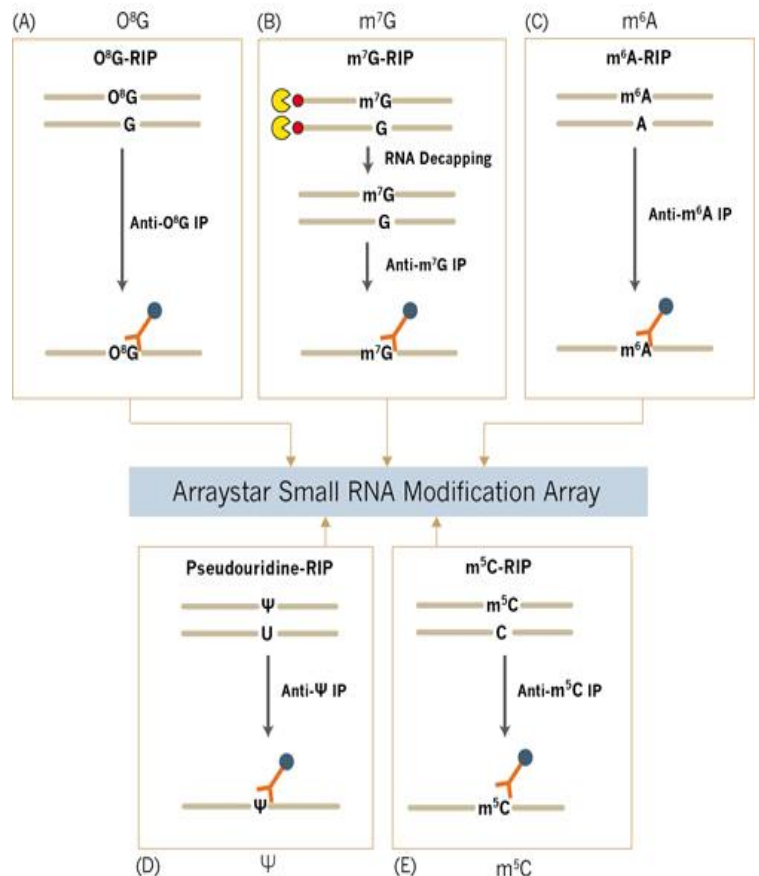
しかし、本解析ではRNA-seqとは異なり、RNAを直接ラベリングすることができるため、RNA-seqにおけるライブラリー調製中に、修飾によるcDNA合成阻害を受けることがありません。そのため、本解析では修飾RNAを特異的かつ正確に解析することを可能にしています。

少量サンプルでの解析が可能

RNA-seqを用いたsmall RNAの修飾解析では100μg以上のRNA量が必要であり、希少なサンプル等における修飾解析は困難であります。しかし、本解析では、特異的プローブが搭載されたマイクロアレイによって低発現レベルのsmall RNAに対して優れた分析感度を実現します。

サンプルQCから解析までフルパッケージ

Arraystar社が提供する本解析サービスは、サンプルのQC、マイクロアレイ解析、およびバイオインフォマティクス解析まですべて含まれているフルパッケージのサービスをご提供します。



Arraystar small RNA modification profiling technologyによるRNA修飾の解析技術

small RNAマイクロアレイの仕様

解析を希望される修飾の内容にかかわらず、同じ構成のアレイスライドを使用いたします。

	Human V1.0	Mouse V1.0
プローブ総数	14,706	14,895
プローブデザイン	5'キャップ断片、small RNA 特異的、および3'リンカー配列から構成されています。	
プローブの結合部位	5-p-miRNAおよび5'tsRNA : small RNAの3'領域 3-p-miRNAおよび3'tsRNA : small RNAの5'領域 pre-miRNA : pre-miRNAのループ領域	
プローブの特異性	small RNA特異的	
miRNAのカバレッジ	2,628 (1,319の5-p-miRNAと1,309の3-p-miRNA)	1,949 (966の5-p-miRNAsと983の3-p-miRNAs)
Pre-miRNAのカバレッジ	1,745	1,122
tRNA-derived Small RNAsのカバレッジ	5,128	1,809
Small RNAのソース	miRNA: miRBase (v22) pre-miRNA: miRBase (v22) tsRNA: tRFdb, GtRNADB (Updated to 18.1 2019.08) Literatures: Scientific publications up to 2019 [1-40]	miRNA: miRBase (v22) pre-miRNA: miRBase (v22) tsRNA: tRFdb, GtRNADB (Updated to 18.1 2019.08) Literatures: Scientific publications up to 2019 [1-40]

バイオインフォマティクス解析例

修飾されたsmall RNAのサンプル間の比較例 (m7G)

MatureID	Comparison (Treated vs. Control)								
	Group m7G miRNA level (log2)		Differential			Group m7G %modified miRNA		Annotations	
	Treated	Control	FC	p	Regulation	Treated	Control	miRNA_family	m7G_motif
hsa-let-7b-5p	5.07	4.01	2.062	0.034	up	20.30%	18.59%	hsa-let-7a-5p/hsa-let-7b-5p/hsa-let-7c-5p...	GAGGT
hsa-let-7c-5p	6.64	5.62	2.08	0.005	up	35.63%	27.49%	hsa-let-7a-5p/hsa-let-7b-5p/hsa-let-7c-5p...	GAGGT

<表の用語>

Mature ID : miRbase IDに基づく成熟miRNA

Group m7G miRNA level (normalized, log2): シグナル強度を基にlog2変換した値

TreatedおよびControl: グループ名

FC: Fold Change, P: t-testを基に算出されたp値、Regulation: グループ間における正または負の制御の結果

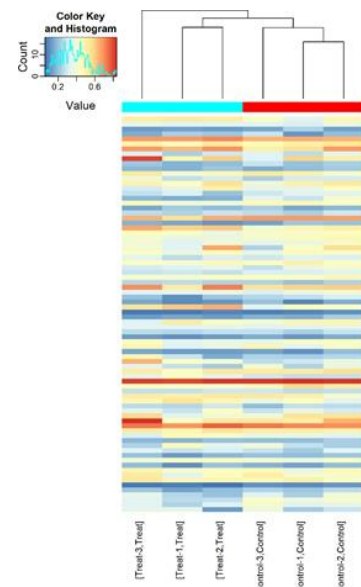
Group m7G %modified miRNA: m7G修飾miRNAのグループ平均割合

miRNA Family: 同じシード配列を持つmiRNAファミリーメンバー

m7G_motif: m7G部位の "Rm7GGT"モチーフ配列 (RはGまたはAを表す)

修飾miRNA、pre-miRNA、tsRNA (tRFとtiRNA)の階層的クラスタリングヒートマップ

右図は、修飾small RNAの階層的クラスタリングヒートマップです。修飾small RNAのレベルは、左上のカラーキーを参照した赤-青のカラースケールで表されています。上の系統樹は、サンプル間の修飾プロファイルの相対的な近さを示しています。ヒートマップ上部のカラーバーは、それぞれサンプルグループを示しています。



ハイスループットなSNPジェノタイピングが可能なAxiom® Genotyping Solutionは、検証済みのSNPで構成されるAxiom® Genomic Databaseからコンテンツを選択し、作製されたアレイを用いて解析を行います。本解析サービスは、民族または人種間でのSNP、人種間における疾患関連SNP、またヒトだけでなくリンゴや綿花、トウモロコシ、小麦などの作物、およびウシ、ブタ、家禽、ウマなどのAffimetrix社のAxiom® Arrayを豊富にご用意しています。

本サービスのメリット

- ✓ Affymetrix®社のAxiom® Arrayを多数用意しており、多種多様な人種におけるSNP解析や疾患に関連したSNPの解析
- ✓ リンゴ、綿花をはじめとした作物や家畜などのSNPにも対応可能
- ✓ 大規模受託解析プロバイダーである1 AKESOgen社によるハイコストパフォーマンスサービス
- ✓ 米国病理学会および臨床検査室質改善法(CLIA)認定ラボでの解析
- ✓ 高品質および正確なデータを短納期で提供

マイクロアレイ一覧

Axiom® Genome-Wide Human Array: 人種ごとのSNP	
Axiom® Genome-Wide Exsome 319 Array Plate	非同義SNPと同義SNP、ならびにスプライシングと停止コドンのバリエーションを含めた30万を超えるコーディングSNPを搭載。1000ゲノムプロジェクトPhase Iのドラフトエクソームコールから得られた約3万のSNPとインデルを搭載。疾患関連の機能性バリエーションをスクリーニングするための最適なアレイ。
Axiom® Genome-Wide Human Origins 1 Array Plate	11種の現代のヒト集団および初期のヒト科生物の62.9万個のSNPを搭載。ヒトや人種分布の起源・進化研究用にHarvard Medical School Dept of GeneticsのDr. David Reichと共同で開発されたアレイ。
Axiom® Genome-Wide ASI 1 Array Plate	東アジア人(JPTおよびCHB)のゲノムの共通配列にみられる頻度の低いアレル(MAF > 1%)のゲノムカバー率を最大化したGWAS用アレイプレート。
Axiom® Precision Medicine Research Array	アフリカ、アメリカ、東アジア、ヨーロッパ、南アジアの先住民での遺伝的カバレッジを最大化する様にマーカーを選択。GWAS用マーカーに加え、Loss of function SNP, Pharmacogenomics, eQTLマーカーなどを搭載。
Axiom® Genome-Wide Human Array: 人種における疾患関連SNP	
Axiom® Genome-Wide EAS 1 Array Plate(World Array 2)	疾患に関連した頻度の高い変異および頻度の低い変異をカバーし、GWAS、レプリケーション、ファインマッピングを一度にできる様にデザインされたアレイプレート。ヨーロッパ人種と東アジア人種での遺伝的カバレッジを最大化する様にマーカーを選択。
Carrier Scan™ Assay	600の疾患に関する600遺伝子における6,000以上の構造および配列変異を評価。
Axiom® Biobank Genotyping Array	
Axiom® Biobank Genotyping Array	バイオバンクサンプルなど、大規模なコホート研究に適する様にデザインされ、低コストな解析を可能にしたアレイプレート。GWAS用マーカー、Exomeマーカーに加え、Loss of function SNP, Pharmacogenomics, eQTLマーカーなどを搭載。
Axiom® miRNA Target Site Genotyping Array	
Axiom® miRNA Target Site Genotyping Array	miRNAのターゲットサイトのジェノタイピングが可能な唯一の市販アレイ。miRNAプロモーター、miRNAシードサイト、miRNAターゲットバインディングサイトなどにある、既知および予測されるSNPやインデルマーカーを搭載。

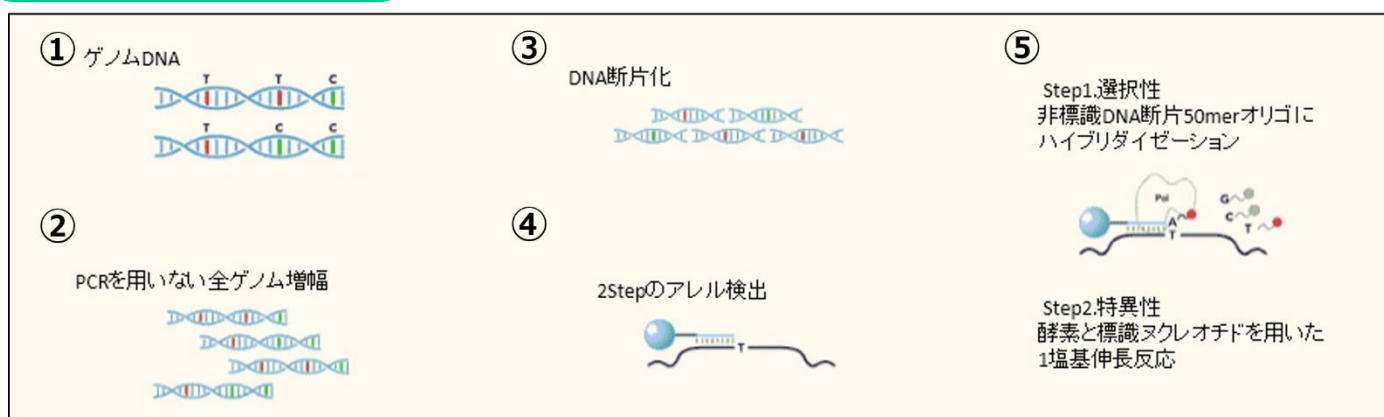
一覧にないアレイもございますので、弊社までお問い合わせください！

本解析はillumina BeadChipアレイを用いたジェノタイピングアレイは、PCRを用いないDNA増幅および1塩基伸長を行うInfiniumアッセイを用いて高品質かつ高密度なデータを提供します。また、専門家が選定したコンテンツを搭載するReady-to-useなBeadChipや特定の研究ニーズに合わせたアレイをお選びいただけます。

本サービスのメリット

- ✓ Infiniumアッセイ技術を用いた高品質かつ高密度なデータであり、再現性が非常に高いデータの提供が可能です
- ✓ 迅速かつハイスループットであり、大規模集団研究やゲノム関連解析および全表現型関連解析に至適
- ✓ ヒト以外の作物、家畜及びモデル生物にも広範囲なアレイを用意しており、かつカスタムアレイにも対応可能

Infiniumアッセイ ワークフロー



マイクロアレイ一覧

アレイ名	生物種	マーカー数	カスタムマーカー数	アレイ説明
Infinium Core	Human	307,000	300,000	大規模かつ正確なジェノタイピング解析が可能であり、オプションとして最大30万のセミカスタマイズマーカーの追加可能なアレイ。
Infinium CoreExome	Human	552,000	100,000	大規模ヒトジェノタイピング解析を始めとして、全ゲノムのSNPと遺伝子変異の情報取得が可能なアレイ。
Infinium ImmunoArray	Human	254,000	390,000	免疫システムの遺伝的変異検出のための次世代ジェノタイピングアレイ。
Infinium Multi-Ethnic Global	Human	1,780,000	245,000	多様なヒト集団における複雑な疾患理解のためのアレイ。
Infinium Omni2.5Exome	Human	2,609,000	N/A	ジェノタイピング、GWSAおよびCNV解析と機能領域であるエクソンコンテンツを搭載した包括的なアレイ。
Infinium OncoArray-500K	Human	500,000	120,000	がん罹患の素因およびリスクを検討可能なアレイ。
Infinium PsychArray-24	Human	590,000	60,000	精神医学関連の素因およびリスクを検討可能なアレイ。
BovineHD	Bovine	770,000	N/A	肉牛種および乳牛種の777,000個を超えるSNPが搭載されているウシ全ゲノムジェノタイピングアレイ。
PorcineSNP60	Porcine	64,000	N/A	複数のブタ品種に対応したSNPを搭載したアレイ。
CanineHD Whole-Genome	Canine	170,000	N/A	あらゆる犬種の遺伝的バリエーションに対応し、種内関連解析、CNV解析およびSNP解析に適したアレイ。

一覧にないアレイもございますので、弊社までお問い合わせください

本解析サービスで使用するCytoScan™ HD Arrayは、細胞遺伝学研究において、重要な染色体異常の検出と解析を、他のどの技術よりも高い信頼性で行うことができるCNV解析用アレイです。染色体のコピー数解析実験を行い、データ解析結果をご返却します。Thermo Fisher Scientific社製専用解析ソフトウェア「CytoScan™ HD Chromosome Analysis Suite」で、お客様自身の要件に基づくデータ解析とカスタムレポート作成をシンプルに行うことができます。

本サービスのメリット

最高のカバー率

先天性疾患に関与する遺伝子、癌遺伝子、OMIM遺伝子、RefSeq遺伝子が最大のカバー率で1枚のアレイに搭載されており、もっとも包括的かつ重要な細胞遺伝学的解析が可能。

最高レベルの性能

ゲノム全体にわたって細胞遺伝学コミュニティのガイドラインを上回る特異性、感度、解像度を実現。

最多のSNP

的確な切断点の決定、コピー数の変化したアレル遺伝子の確認、高解像度LOH、遺伝子レベルのホモ接合性マッピング、低レベルのモザイク、サンプルの不均一性、トリプロロイディーの検出促進。

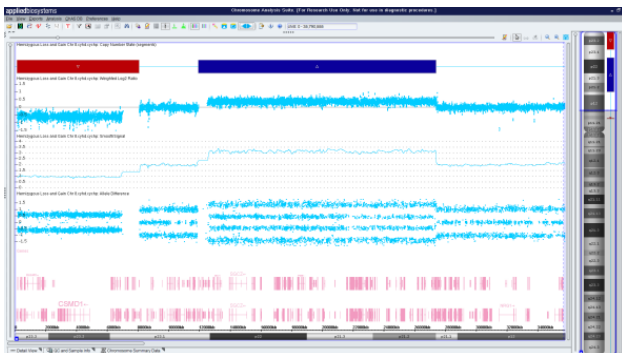


本解析サービスで使用するOncoScan™ CNV Plus Assayは、固形腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルから全ゲノムのコピー数解析を可能にし、CNVとLOHの検出、約900個の癌遺伝子に対する高解像度な解析、癌で頻繁に検査される体細胞変異の有無判定を高い信頼性で行うことができるCNV解析用アレイです。

FFPEに由来する微量のDNAサンプルから、染色体のコピー数解析実験を行い、データ解析結果をご返却します。Thermo Fisher Scientific社製専用解析ソフトウェア「CytoScan™ HD Chromosome Analysis Suite」で、より分かりやすく異常領域を可視化でき、お客様自身の要件に基づいたデータ解析が可能です。

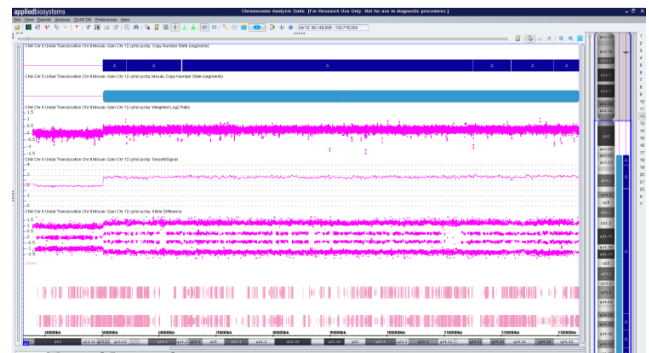
Thermo Fisher Scientific社製専用解析ソフトウェア「CytoScan™ HD Chromosome Analysis Suite」データ解析例

※Thermo Fisher Scientific社の資料(CytoScan HD Array sample data set presentation)を引用しています。



Hemizygous Loss and Gain

- This example illustrates copy numbers of 1, 2, and 3 on chromosome 8.



Mosaic Gain

- This sample illustrates a mosaic gain on chromosome 12.
- The percent mosaicism has been estimated at 85-90% using the smooth signal and mosaic segment/flag.

近年ではES細胞、iPS細胞などを始めとした再生医療研究が大きな注目を集めております。KaryoStat HD アッセイは、PSC(多能性幹細胞)解析用のアプリケーションとして開発されたアレイで、総数260万個を超えるコピー数解析用マーカーを搭載しており、うち約75万個は99%を上回る精度で遺伝子型を完全に同定できるSNPを搭載しているため、染色体異常を正確に検出し、全ゲノムカバレッジなジェノタイピングが行えるアッセイです。

Thermo Fisher Scientific社製 専用解析ソフトウェア「CytoScan™ HD Chromosome Analysis Suite」で、お客様独自の要件に基づくデータ解析とカスタムレポート作成をシンプルに行っていただくことができます。

本サービスのメリット

- ✓ 260万以上のマーカーを搭載 (75万SNPマーカーを含む)
- ✓ 全てのマーカーを3000検体を用いて検証済み
- ✓ 業界最大のマーカー密度 (最短マーカー間距離)
- ✓ 最高のデータベースカバレッジ
- ✓ 無償提供の解析ソフトウェア: ChAS (Chromosome Analysis Suite)

Chromosome Analysis Suite (ChAS) ソフトウェアは、細胞遺伝学の専門家からの情報提供を受けて開発されたため、細胞遺伝学研究の解析とレポートに適合しています。合理化され、直感的に利用できる解析ワークフロー、多重グラフィックビュー、理解しやすいグラフィックインターフェースで表示される柔軟性の高い解析オプションなどを特長としています。簡単に使用できる Chromosome Analysis Suite (ChAS) で、お客様独自の要件に基づくデータ解析とカスタムレポート作成をシンプルに行うことができます。

マイクロアレイの仕様

約75万個のジェノタイピング可能なSNPにより、Genotype callを可能とし、さらには正確な切断点の推定、高解像度のヘテロ接合性消失(LOH)の決定、片親性インダイソミー(UPD)および同組的領域の検出、低レベルのモザイク現象の可視化、トリプロイディーの検出促進、および不均一性の測定も可能です。また、Constitutional、Cancer、OMIM、RefSeq遺伝子が1枚のアレイに搭載されているため、包括的な解析が可能です。

核型解析vsマイクロアレイ	核型解析	アレイCGH	Karyo Stat HD
解像度	>10mb	50-100kb	25kb
LOH(ヘテロ接合性欠失)	-	SNP数に依存	+++
Copy neutral LOH (コピー数の変化のないLOH)	-	SNP数に依存	+++
Copy number (コピー数) gain/loss	+ (大きな異常)	+++	+++
モザイク	+	++	+++

コピー数マーカー	
マーカー総数	2,696,550
(非多型マーカー数)	1,953,246
(SNPマーカー数)	743,304
遺伝子型を同定可能なSNPマーカーの総数	749,157
ゲノムビルド	Hg19
常染色体マーカー	2,491,915
偽常染色体マーカー	4,624
遺伝子内マーカー	1,410,535
遺伝子間マーカー	1,286,015

マーカー間隔の平均(塩基対)	
遺伝子内(以下のすべての遺伝子内)	880
(ISCA constitutional genes)	384
(Cancer genes)	553
(OMIM Morbid genes)	659
(X Chromosome OMIM Morbid genes)	486
(RefSeq genes)	880
遺伝子間(非遺伝子バックボーン)	1,737
全体(遺伝子および非遺伝子バックボーン)	1,148



【ご注意】

- ◆ 本誌掲載のサービス、製品は医療用ではなく、研究用に限定して販売しています。医療品の製造、品質管理、各種診断、治療には使用しないでください。
- ◆ 本誌掲載の価格、サービスや製品の名称、仕様、プロトコルなどは改良などの理由から予告なしに変更される場合がありますので、予めご了承ください。
- ◆ 本誌掲載の商品名などは、各社の商標または、登録商標です。また、各サービス・製品における情報は提携先企業のホームページより引用しています。
- ◆ お知らせいただいたお客様の個人情報は、弊社事業における商品発送、関連サービスおよび製品の情報提供などに利用させていただきます。

販売元



フィルジェン 株式会社

受託解析部

【お問い合わせ】

〒459-8011 愛知県名古屋市長区定納山1丁目1409番地
TEL : 052-624-4388 FAX : 052-624-4389
E-mail : biosupport@filgen.jp URL : <https://filgen.jp/>

代理店

(Nov.,2022)