

遺伝子発現解析受託サービス

タカラバイオ(株)バイオメディカルセンターでは、研究目的に応じた解析サービスをご提供しています。DNAマイクロアレイ解析や高速シーケンス解析、遺伝子工学の技術を活用し、経験豊富なスタッフの作業により、国内受託実績No.1の高品質なサービスをお届けいたします。



◆遺伝子発現解析受託プラットフォーム◆

	マイクロアレイ解析	RNA-seq解析	リアルタイムPCR解析
用途	<ul style="list-style-type: none"> 網羅的解析 低コスト解析 	<ul style="list-style-type: none"> 網羅的解析 新規転写産物の発見 スプライシングバリエーションの解析 	<ul style="list-style-type: none"> 高感度、高精度な解析 アレイやシーケンス結果の検証
特徴	<ul style="list-style-type: none"> 測定できるのは既知遺伝子のみ ダイナミックレンジに限度 広く普及した解析法 	<ul style="list-style-type: none"> 新規の領域を含めて測定可能 シーケンス量に応じた解像度を取得 高度な情報解析が必要 	<ul style="list-style-type: none"> 様々な定量方法を持つ プライマー/プローブの設計が重要
メニュー	-- 発現解析 (遺伝子レベル) --	-- 発現解析 --	-- プライマー/プローブ設計・合成 --
	<ul style="list-style-type: none"> ● Agilent Expression Array ● GeneChip® Expression Array 	<ul style="list-style-type: none"> ● RNA-seq 解析 ● SMART-Seq解析 	<ul style="list-style-type: none"> ● リアルタイムPCR用プライマー合成 (SYBR® Green I 検出系用) ● リアルタイムPCR用プライマー/プローブ合成【TaKaRa qPCR Probe】
	-- 発現解析 (Exonレベル) --	-- 配列解析 --	
	<ul style="list-style-type: none"> ● Agilent Exon Array ● GeneChip® Transcriptome Array 	<ul style="list-style-type: none"> ● de novo RNA-seq 解析 ● Fusion gene 解析 	

Agilent Expression Array 安価に低発現領域も解析

◆ 主要なアレイ ◆

生物種	製品名	コンテンツ
ヒト	SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v3	26,083 Entrez gene RNAs, 30,606 lncRNAs
マウス	SurePrint G3 Mouse Gene Expression 8x60K v2	27,122 Entrez gene RNAs, 4,578 lncRNAs
ラット	SurePrint G3 Rat Gene Expression 8x60K v2	30,584 Entrez gene RNAs

ヒト、マウス、ラットのほか、モデル生物や微生物などのアレイをご利用いただけます。

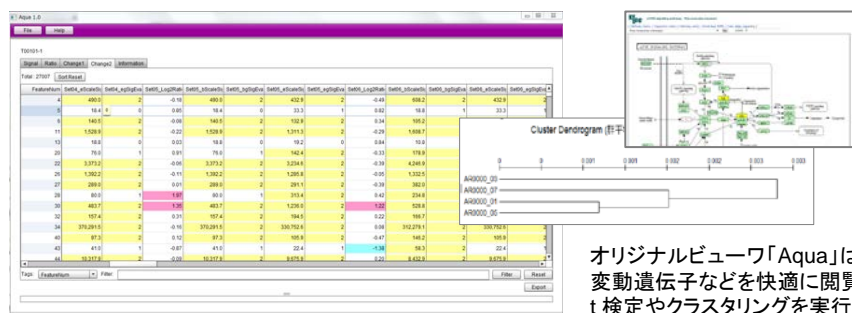
◆ 基本サービス ◆

アジレント社認定サービスプロバイダとして、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行います。アジレントマイクロアレイは、広いダイナミックレンジと特異性の高い60 merのプローブにより、低発現遺伝子の変動も検出が可能です。RNA抽出(オプション)、RNA品質検定、ラベル化cRNA合成、アレイへのハイブリダイゼーションおよびスキャニングの後、データの数値化、正規化処理を行い、指定の比較組み合わせ(1対1)で発現比を算出したファイルを納品いたします。



◆ 納品物例 ◆

オリジナルビューワ「Aqua」(ヒト・マウス・ラットの場合)



【納品物】

- 作業報告書、解析補足資料
- Rawデータ(txtファイル)
- 解析データ(シグナルデータ、発現比率データ、変動遺伝子データ)
- 有意差検定ツール「Aqua t-test」
- クラスター分析ツール「Aqua Clustering」
- ヒートマップ など

オリジナルビューワ「Aqua」はExcelよりも操作性が向上し、シグナルデータや発現比率、変動遺伝子などを快適に閲覧できます。データをエクスポートし、Excelで解析も可能です。t検定やクラスタリングを実行するツールも併せて納品いたします。

◆ 主要なアレイ ◆



生物種	製品名	コンテンツ
ヒト	Human Genome U133 Plus 2.0 Array	約47,000の転写産物/約54,000のプローブセット
マウス	Mouse Genome 430 2.0 Array	約34,000の確認されたマウス遺伝子を含む
ラット	Rat Genome 230 2.0 Array	約28,000のラット遺伝子を含む

ヒト、マウス、ラットのほか、モデル生物や微生物などのアレイをご利用いただけます。

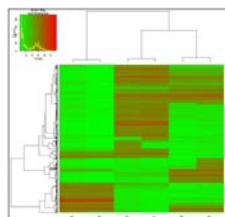
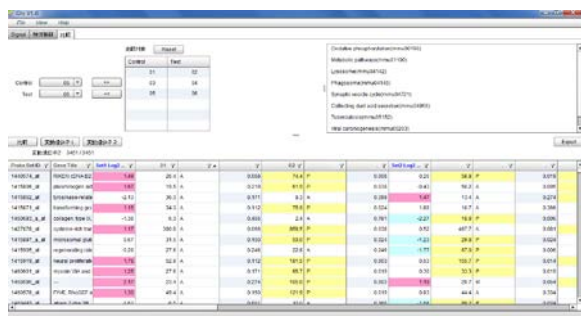
◆ 基本サービス ◆

アフィメトリクス社認定サービスプロバイダとして、マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析を行います。GeneChipは1遺伝子の検出に11~20種のprobeが設計されており、ハイブリダイゼーション、洗浄・染色の工程が自動化されているため高精度で再現性の高いデータを取得可能です。

RNA抽出(オプション)、RNA品質検定、ラベル化cRNA合成、アレイへのハイブリダイゼーションおよびスキャニングの後、データの数値化、正規化処理を行い、ご希望のペアで比較可能なオリジナルビューワ「Gris」にて納品いたします。

◆ 納品物例 ◆

オリジナルビューワ「Gris」(ヒト・マウス・ラットの場合)



【納品物】

- ・ 作業報告書、解析補足資料
- ・ Rawデータ(CELファイル)
- ・ 解析データ(シグナルデータ)
- ・ ヒートマップ など

オリジナルビューワ「Gris」は、検体間の組み合わせを自由に選択でき、比較データを計算します。Excelよりも操作性が向上し、シグナルデータや発現比率、変動遺伝子などを快適に閲覧できます。データをエクスポートし、Excelで解析も可能です。

データマイニングサービス(マイクロアレイ解析・RNA-seq解析に対応)

- ・ マイクロアレイ解析やRNA-seqで得られた数値データの前処理やフィルタリングを行い、有意差検定やパターン解析、クラスタリングなどによる遺伝子の抽出および分類を行います。
- ・ 抽出や分類を行った遺伝子に対して、有意に多く含まれるGO(Gene Ontology) termやパスウェイを解析することにより、生物学的な意味づけを行います。

アレイシグナル値
シーケンスFPKM値

n = 1

2検体比較(1 vs 1)
Fold-change

変動遺伝子抽出

複数検体間比較
Fold-change

変動遺伝子抽出

アレイシグナル値
シーケンスFPKM値

n ≥ 3

群間比較
フィルタリング
t-検定
(+Fold-change)

変動遺伝子抽出

多重比較
フィルタリング
ANOVA
(+Fold-change)

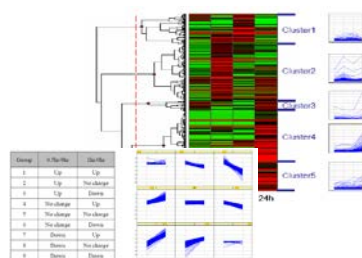
変動遺伝子抽出

キーワード遺伝子検索

遺伝子抽出

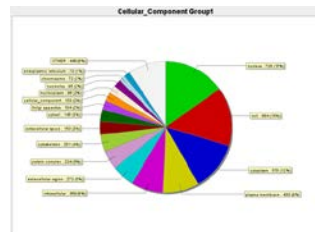
階層クラスタリング
テンプレートマッチング
パターン解析

グループ作成



GO Slim機能比率解析

機能解析(挙動解析)

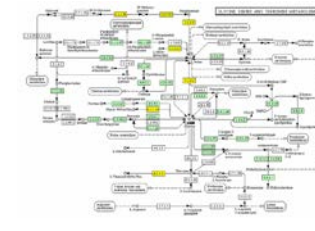


KEGG Pathway 挙動解析

機能解析(挙動解析)

KEGG Pathway 頻度解析

機能予測(頻度解析)



Gene Ontology 頻度解析

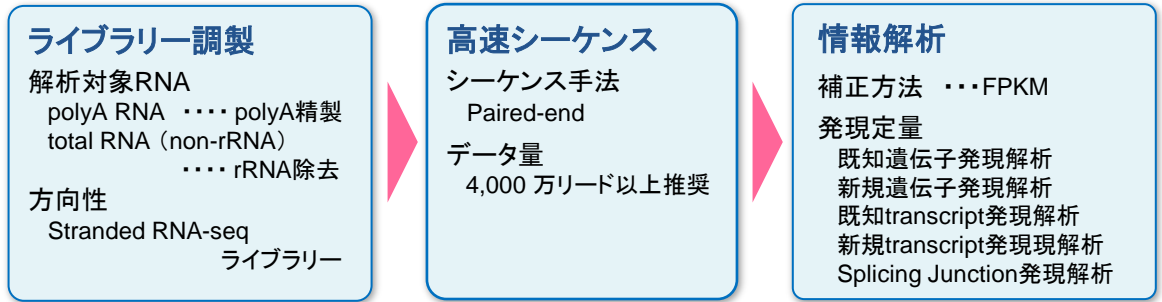
機能予測(頻度解析)

<例>

複数の実験データを比較するためにデータ補正を行い、有意な発現が認められない遺伝子のフィルタアウトを行う(フィルタリング)。次に繰り返し実験においてコントロール検体と比較検体との間で発現に有意な差がある遺伝子の抽出(t-検定など)、各検体で発現パターンが似た遺伝子群の分類(パターン解析など)を行う。発現差のあった各遺伝子群に、どのパスウェイに含まれる遺伝子が多く集まっているかを解析し、テーブル表示、さらにパスウェイにリンクさせる(KEGG Pathway頻度解析)。

RNA-seq解析

◆ 解析の流れ ◆



ライブラリー調製

解析対象RNA
polyA RNA …… polyA精製
total RNA (non-rRNA)
…… rRNA除去

方向性
Stranded RNA-seq
ライブラリー

高速シーケンス

シーケンス手法
Paired-end

データ量
4,000 万リード以上推奨

情報解析

補正方法 …… FPKM

発現定量
既知遺伝子発現解析
新規遺伝子発現解析
既知transcript発現解析
新規transcript発現解析
Splicing Junction発現解析

◆ 基本サービス ◆

イルミナ社HiSeqによる転写物遺伝子発現解析を行います。total RNAやmRNAからライブラリーを作製し、HiSeqを用いたシーケンスにより塩基配列解析データを取得します。得られたデータは参照ゲノム配列にマッピングし、遺伝子発現量を推定します。遺伝子毎の発現量解析に加えて、transcript毎の発現量解析も行います。

解析結果は、遺伝子および新規遺伝子領域毎の発現量とリード数をまとめたExcelファイル、マッピング結果閲覧用ファイル、UCSCゲノムブラウザのリード数表示用ファイル等を納品いたします。

◆ 納品物例 ◆

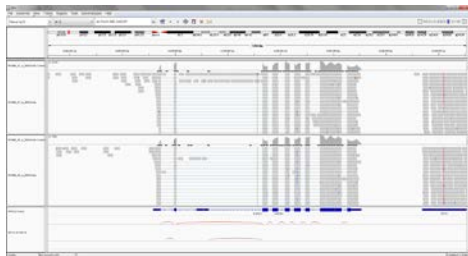
遺伝子毎の発現量推定結果 (エクセル形式)

Transcript毎の発現量推定結果や新規転写産物の発現量推定結果にも対応しています。

Name	発現量 (FPKM値)		ID	ゲノム位置情報				遺伝子アノテーション情報		RefSeq ID
	Sample A	Sample B		Chromosome	Position	Width	Strand	Annotation Type	Annotation Source	
chr1:11874-14409	0.1642	0.1134	DX11L1	chr1	11874	2536	+	non-coding Transcript	Transcript Consolidation	NR_046018
chr1:1288069-129891	1.2046	1.0585	MXRA8	chr1	1288069	10853	-	Protein Transcript	Transcript Consolidation	NM_001282582

マッピング結果

Mapping結果 (BAMファイル) をフリーソフトで閲覧いただけます。



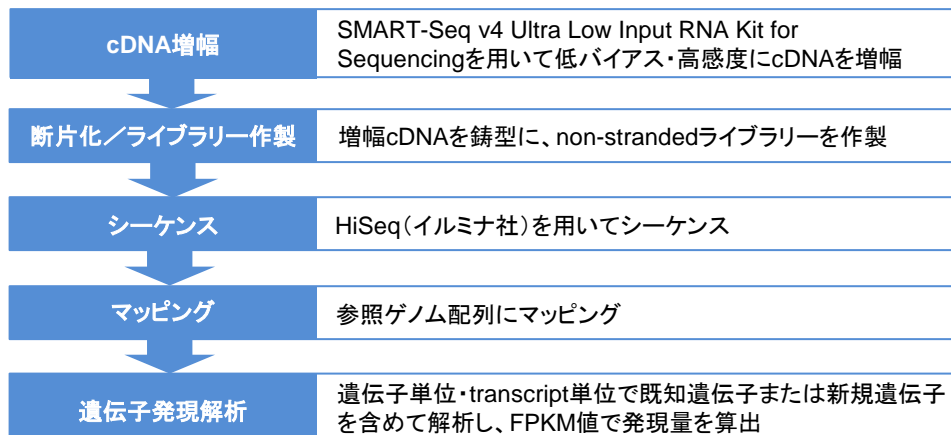
【納品物】

- ・ 作業報告書、解析補足資料
- ・ シーケンスデータ (fastqファイル)
- ・ 発現定量結果 (Excel形式ファイル) (Gene毎、Transcript毎)
- ・ マッピング結果 (BAM形式)
- ・ ビューデータ (Bedgraph形式) (新規transcriptの位置情報)

SMART-Seq解析

◆ 基本サービス ◆

1~1,000細胞またはpgオーダーのtotal RNAなど微量検体からcDNA調製が可能なSMART-Seq v4 Ultra Low Input RNA Kit for Sequencing (製品コード 634888)を用いた遺伝子発現解析です。微量組織、ソーティング細胞、LCM検体などから調製されたtotal RNAをバイアス少なく増幅し、遺伝子発現解析を実施します。50 ng以上の total RNAからRNA-seq解析が可能です。



cDNA増幅

SMART-Seq v4 Ultra Low Input RNA Kit for Sequencingを用いて低バイアス・高感度にcDNAを増幅

断片化/ライブラリー作製

増幅cDNAを鋳型に、non-strandedライブラリーを作製

シーケンス

HiSeq(イルミナ社)を用いてシーケンス

マッピング

参照ゲノム配列にマッピング

遺伝子発現解析

遺伝子単位・transcript単位で既知遺伝子または新規遺伝子を含めて解析し、FPKM値で発現量を算出



【納品物】

- ・ 作業報告書、解析補足資料
- ・ シーケンスデータ (fastqファイル)
- ・ 発現情報、マッピング結果ファイル

リアルタイムPCR用プライマー・プローブ合成

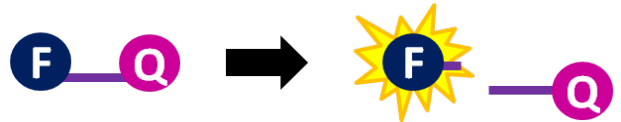
SYBR® Green I 検出系

- リアルタイムPCR用プライマー合成（Perfect Real Time サポートシステム）
- RefSeqに登録されたヒト（約35,000種類）、マウス（約27,000種類）、ラット（約16,000種類）、ウシ、イヌ、ニワトリ、およびEnsembl Plantsに登録されたイネ、シロイヌナズナの対象遺伝子に対して高精度な特異的プライマーを設計
- 対象遺伝子のAccession No.やキーワード情報などからオンラインで検索後、簡単に注文可能
- カスタム設計/カスタム合成も可能

Perfect Real Time サポートシステム

TaKaRa qPCR Probe 検出系

- リアルタイムPCR用プライマー/蛍光標識プローブ合成
- 対象遺伝子のAccession No.、キーワード、配列情報、生物種情報などから、プライマーとプローブをカスタム設計。配列情報を確認した上でオンライン注文可能
- リアルタイムPCR装置の機種や使用目的に応じて、レポーター色素（5'修飾）とクエンチャー色素（3'修飾）の最適な組み合わせを選択可能

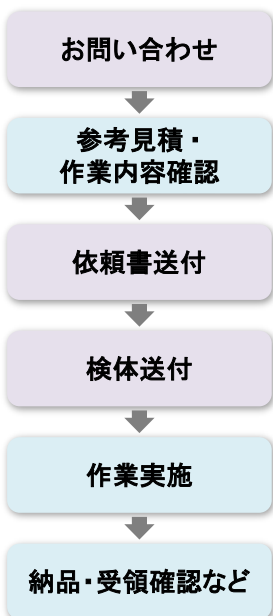


受入サンプル

アプリケーション	RNA抽出済み			RNA抽出から		
	total RNA	濃度	OD260/OD280	細胞	組織	血液
Agilent Expression Array	1 µg 以上	100~500 ng/µl	1.6 以上	1 × 10 ⁶ cells ~	3~5 mm 角片で 100 mg程度	2.5 ml~
GeneChip® Expression Array	1 µg 以上	100~500 ng/µl	1.6 以上			
RNA-seq	4 µg 以上	200 ng/µl 以上	1.6 以上			
SMART-Seq	50 ng 以上	—	1.6 以上	別途ご相談ください		

- いずれのアプリケーションにも微量増幅オプションを用意しています。RNA量が規定量に満たない場合にはご相談ください。
- RNA抽出および精製にはマッハライ・ナーゲル社のNucleoSpinカラムの使用を推奨いたします。
- RNAサンプルはRNase free水に溶解してください。また、サンプル調製時にエタノール沈殿を行う場合、共沈剤としてグリコーゲンを追加しないでください。
- ヒト臨床検体からのRNA抽出の場合は、事前にサンプル感染性について情報提供用紙をご提出いただき、施設受入の可否をご連絡いたします。

ご依頼方法



受託内容、価格等、まずはお気軽にご相談ください。担当者が直接お伺いしてご相談も可能です。

- 受託窓口 TEL. 077-565-6999
- WEBからのお問い合わせフォーム <https://www.takara-bio.co.jp/support/jutaku/>

ご相談いただいた内容に基づき、参考見積を提示いたします。作業内容や仕様等をご確認、ご検討ください。正式見積は、ご指定の弊社販売店を通じて提出させていただきます。

ウェブサイトから「**解析依頼書**」をダウンロードして必要事項をご記入の上、FAXまたはメールにて送付してください。サンプル送付の際にも「**解析依頼書**」を同梱してください。（FAX. 077-565-6975）

サンプルは破損・漏れのないように梱包いただき、十分量のドライアイスと同梱の上、**平日**午前着指定、冷凍便にて送付してください。

【送付先】 タカラバイオ株式会社 バイオメディカルセンター 受託受付担当 宛て
〒525-0058 滋賀県草津市野路東七丁目4番38号 TEL. 077-565-6981

納品物をお客様直送または販売店を通じて送付いたします。ご請求・お支払等は販売店が承ります。

※本パンフレットに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。 ※表示価格はすべて税別です。 2016年5月作成G

タカラバイオ株式会社

■ 受託サービスに関するお問い合わせ
滋賀県草津市野路東七丁目4番38号 〒525-0058
TEL 077-565-6999

Website <http://catalog.takara-bio.co.jp/jutaku/>

取扱店