



Arraystar

マイクロアレイ 受託解析サービス カタログ

ノンコーディングRNA解析

- DoG RNA (遺伝子下流転写物)
- GlycoRNA (糖鎖修飾RNA)
- Lnc RNA (長鎖ノンコーディングRNA)
- small RNA (スモールRNA)
- circRNA (環状RNA)
- T-UCR (転写超保存領域)
- piRNA (PIWI結合RNA)
- SE-LncRNA (スーパーエンハンサー長鎖ノンコーディングRNA)
- LncPath™ Pathway LncRNA (パスウェイ別 長鎖ノンコーディングRNA)

エピジェネティクス解析

- Epitranscriptomic
- m6A Single Nucleotide
- small RNA Modification

RNA構造プロファイリング解析

- rG4 (RNA G-四重鎖)

Contents

サンプルQCから
データ解析まで
フルサービス

ノンコーディングRNA解析

03 DoG RNA (遺伝子下流転写物) アレイ受託解析サービス

NEW

Downstream-of-gene (DoG) RNAは、約10%のホスト遺伝子の下流で発生し、上流のRNAと連続するRNA転写産物です。本解析は、ヒトDoG RNAのプロファイリングと研究のために設計されたマイクロアレイ技術を利用して、DoG RNA、ホスト遺伝子のpre-mRNAおよび潜在的な調節標的としての下流の重複転写産物を同時に検出および定量します。

05 GlycoRNA (糖鎖修飾RNA) アレイ受託解析サービス

NEW

glycoRNAは、糖鎖付加を受けた低分子ノンコーディングRNAです。本解析では、glycoRNAの生化学的捕捉方法とマイクロアレイによるRNA検出を組み合わせ、高い特異性、感度、精度でglycoRNA発現を定量およびプロファイリングします。GlycoRNAアレイは、Y-RNA/Y-RNAフラグメント、tRNA、tsRNA (tiRNAおよびtRF)、pre-miRNA、miRNA、snRNA/snRNAフラグメント、snoRNA/snoRNAフラグメント、rRNA/rRNAフラグメント、scRNAなど、幅広いグリコシル化RNAクラスをカバーしています。

07 Lnc RNA (長鎖ノンコーディングRNA) アレイ受託解析サービス

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、がんや心疾患などヒトの疾患に大きく関与しています。本解析は、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。

09 small RNA (スモールRNA) アレイ受託解析サービス

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。本解析は、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)などの生体内において重要な役割を持つsmall RNAを同じアレイ上で同時に検出・定量化可能です。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を特異的に区別できます。

11 circRNA (環状RNA) アレイ受託解析サービス

Circular RNA(circRNA)は、共有結合で閉じたループ構造を形成するRNAです。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。本解析は、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を正確に同定します。

13 T-UCR (転写超保存領域) アレイ受託解析サービス

遠縁種のゲノム間でも高度に保存されている超保存領域(UCR)から転写される特定のノンコーディングRNAは、転写超保存領域(T-UCR)と呼ばれます。近年の研究により、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りました。本解析では、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ており、T-UCRにおける網羅的なプロファイリング情報をご提供いたします。

piRNA (PIWI結合RNA) アレイ受託解析サービス

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もちます。本解析では、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リングし、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。

SE-LncRNA (スーパーエンハンサー長鎖ノンコーディングRNA) アレイ受託解析サービス

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。本アレイ搭載のプロープは、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リングするように設計されており、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ます。これにより、SE-LncRNAおよびそれらが制御するコード遺伝子の研究を促進させます。

LncPath™ Pathway LncRNA (パスウェイ別 長鎖ノンコーディングRNA) アレイ受託解析サービス

がん研究用、上皮観葉転換パスウェイ研究用、心血管疾患研究用、エピジェネティックパスウェイ研究用のパスウェイ・疾患にフォーカスをあてた包括的なマイクロアレイを用意しています。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が可能です。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。

エピジェネティクス解析

15 Epitranscriptomic アレイ受託解析サービス

mRNA&LncRNAまたはcircRNAのm6A、m1A、m5C、ac4C、m7G、ψ修飾解析

m6Aおよびm5CなどのRNA修飾は、エピトランスクリプトーム（転写後の遺伝子制御）および遺伝子発現制御に深く関係しています。本解析では、メチル化RNA免疫沈降法と2色チャンネルマイクロアレイ技術を組み合わせることで、修飾および未修飾のRNAを比較し、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実現します。mRNAおよびLncRNA、またはcircRNAにおいて主要なm6A、m1A、m5C、ac4C、m7G、ψにおけるエピトランスクリプトーム修飾の定量化が可能です。

17 m6A Single Nucleotide アレイ受託解析サービス

単一ヌクレオチド解像度のm6A修飾解析

本解析は、メチル化感受性MazF RNaseと特徴的なプロープにより、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。

19 small RNA Modification アレイ受託解析サービス

small RNAのo8G、m7G、m6A、ψ、m1A、m5C 修飾解析

small RNAにおけるo8G、m7G、m6A、ψ、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ており、生物学的プロセスおよび疾患理解に非常に重要です。本解析は、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します。

RNA構造プロファイリング解析

21 rG4 (RNA G-四重鎖) アレイ受託解析サービス



RNA G-四重鎖 (RNA G-quadruplexes : rG4) は、遺伝子発現、がん、神経変性疾患に関わる重要な調節RNA構造です。しかし、その動的な折り畳みと低存在量のため、標準的なRNAシーケンス法では検出が困難です。本サービスは、in vivo DMS処理によるネイティブのrG4構造の保持、in vitroでのリフォールディングおよびBG4抗体アフィニティーキャプチャーを組み合わせることで、生体内におけるrG4構造の高感度かつトランスクリプトーム全体にわたるプロファイリングを可能にし、rG4を介した調節機構に関する信頼性の高い知見を提供します。



ノンコーディングRNA解析 DoG RNA アレイ受託解析サービス

本解析は、ヒト DoG RNA (遺伝子の下流転写物) のプロファイリングと研究のために設計されたマイクロアレイ技術を利用して、DoG RNA、ホスト遺伝子の pre-mRNA および潜在的な調節標的としての下流の重複転写産物を同時に検出および定量します。

DoG RNA とは？

Downstream-of-gene (DoG) RNA (遺伝子下流 RNA) は、約10%のホスト遺伝子の下流で発生し、上流の RNA と連続する RNA 転写産物です。DoG は、転写終結点 (TES) のポリアデニル化シグナル (PAS) を越えて 5kb 以上の長さを持つと定義され、哺乳類細胞では最大 200kb の長さを持ちます。DoG はその長さから、リードイン遺伝子と呼ばれる他の下流転写ユニットとしばしば重複します (図1)。

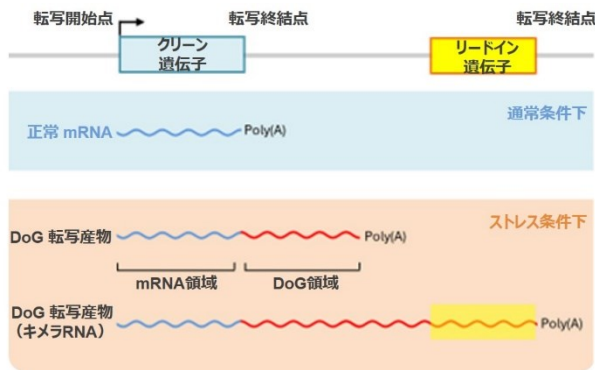


図1. 通常の条件下では、リードイン転写のない正常な mRNA を生成。細胞ストレスは「Downstream-of-Gene」転写産物 (DoGs) の産生を誘発する。DoG の中には、「リードイン」遺伝子と呼ばれる、その下流の遺伝子にまで転写を拡大するものがある。合成後、多くの DoG は転写部位の近くに留まるが、一部 DoG は核小胞内に放出される。ポリアデニル化された DoG もポリアデニル化されていない DoG も、同程度のレベルで検出されている。

DoG の制御標的の包括的なカバレッジ

- 1) DoG下流隣接遺伝子からのセンスオーバーラップ lncRNA、または circRNA
- 2) DoG およびその下流隣接遺伝子転写産物のシス-スプライシングによるキメラ RNA
- 3) DoG とそのリードスルー下流隣接遺伝子転写産物のバック-スプライシングによる rt-circRNA
- 4) アンチセンスオーバーラップ mRNAs および lncRNA

DoG とその全標的 RNA を検出

スプライスジャンクションに特異的な、シンプルで高感度なアレイプローブにより、1つのアレイで DoG とその全ての標的 RNA を検出可能です。また、シーケンシング法で必要とされる様な大変な計算やバイオインフォマティクス解析は不要です。

低存在量の転写物にも有効な高感度

1転写物/細胞という低濃度でも高感度で、低存在量な転写物にも有効 (例: ほとんどのDoG由来のcircRNAやchimera RNA)

DoG RNAアレイの仕様

アレイデザイン	プローブ総数: 14,707 アレイフォーマット: 8 × 15 K	
プローブ部位	DoG RNA (遺伝子下流転写物): ホスト遺伝子の 3' 末端ポリアデニル化シグナルから 3 kb 先 DoG ホスト遺伝子由来 pre-mRNA: ホスト遺伝子由来 pre-mRNA のエクソン-イントロンジャンクション DoG RNA の下流センスオーバーラップ lncRNA: lncRNA のエクソン-エクソンジャンクション DoG RNA の下流センスオーバーラップ circRNA: circRNA のバックスプライシングジャンクション キメラRNA (DoG のリードスルー転写物と下流のリードインキメラ遺伝子の成熟シス-スプライシング産物): キメラ RNA のシス-スプライシングジャンクション rt-circRNA (リードスルー転写物のバックスプライシングによって産生される circRNA): rt-circRNA のバックスプライシング 下流アンチセンスオーバーラップ lncRNA または DoG のコーディング RNA: 転写産物のエクソン-エクソンジャンクション ショウジョウバエのスパイクイン RNA: コントロールとしてのショウジョウバエのコーディング RNA をコードに特異的なプローブ	
プローブ特異性	転写物特異的	
各種カバレッジ	DoG RNA のカバレッジ: 4,460 ホスト遺伝子由来の pre-mRNA のカバレッジ: 4,460 lncRNA (センス)のカバレッジ: 480 circRNA のカバレッジ: 1,546	キメラRNA のカバレッジ: 539 rt-circRNA のカバレッジ: 356 アンチセンス転写物のカバレッジ: 1,866 ショウジョウバエのスパイクインのカバレッジ: 1,000



解析データ例

Downstream-of-Gene Transcript (DoG RNA) マイクロアレイは、DoG RNA のプロファイリングのための最も高感度で、効果的かつ堅牢な手法です。プロファイリングデータには、DoG RNA の豊富な解析とアノテーションが含まれています。

発現変動 DoG RNA、ホスト遺伝子の pre-mRNA、および体系的な lncRNA アノテーションを持つ下流転写産物

DoG comparison (Group1 vs. Group2)				
transcript ID	transcript_name	Differential Expression		
		P-value <0.05	log2FC >1	Regulation
DoCACNA1C	DoCACNA1C	0.0000148	2.28324637	up
DoCACNA1C-pre-mRNA	CACNA1C-pre-mRNA	0.0000203	2.10372869	up
DoCACNA1C-sense-LINC02371-202	LINC02371-202	0.0000103	2.52167687	up
DoCACNA1C-antisense-ITFG2-AS1-201	ITFG2-AS1-201	0.0000671	-2.0136142	down
DoACADM	DoACADM	0.0000115	-2.4050353	down
DoACADM-pre-mRNA	ACADM-pre-mRNA	0.0000169	-2.2008475	down
DoACADM-sense-hsa_circ_0012969	hsa_circ_0012969	0.0000107	-2.6164853	down
DoACADM-rt-circRNA	rt-circRNA-ACADM-RABGGTB-e7e2	0.0000059	-2.814912	down
DoABR	DoABR	0.000000034	3.10297237	up
DoABR-pre-mRNA	ABR-pre-mRNA	1.6E-09	5.44875714	up
DoABR-sense-hsa_circ_0004931	hsa_circ_0004931	0.000000334	2.96418948	up
DoABR-ChimeraRNA	ChimeraRNA-ABR-NXN-e16e2	4.16E-08	4.49189189	up

Annotation				
DoGRegion _Locus	DoGRegion _Length	HostGene	Sense overlapping DownstreamTranscripts	Anti-Sense overlapping DownstreamTranscripts
chr12: 2697950- 2779950:+	82000	CACNA1C ENST00000399655	lncRNA --- LINC02371-202 LINC02371; rt-circleRNA CACNA1C(ENST00000399655) 45/47 LINC02371(ENST00000670289) 2/5	lncRNA --- ITFG2-AS1-201 ITFG2-AS1
chr1: 75763720- 75805086:+	41366	ACADM ENST00000370841	CircRNA --- hsa_circ_0012969(NM_004582 2-6/9); CircRNA --- hsa_circ_0012970(NM_004582 4-6/9); CircRNA --- hsa_circ_0114121(ENST00000319942 2-2/9); CircRNA --- hsa_circ_0114123(NM_002440 2-4/20); Coding --- MSH4-201 MSH4; Coding --- RABGGTB-201 RABGGTB; rt-circleRNA ACADM(ENST00000370841) 7/12 RABGGTB(ENST00000319942) 2/9	
chr17: 998017- 1003518:-	5501	ABR ENST00000302538	ChimeraRNA ABR(ENST00000302538) 1/23 NXN(ENST00000336868) 2/8; ChimeraRNA ABR(ENST00000302538) 16/23 NXN(ENST00000336868) 2/8; CircRNA --- hsa_circ_0004931(NM_022463 2-5/8); CircRNA --- hsa_circ_0005351(NM_022463 6-7/8); CircRNA --- hsa_circ_0041179(NM_022463 3-4/8); CircRNA --- hsa_circ_0041180(NM_022463 2-4/8); Coding --- NXN-201 NXN; lncRNA --- ENST00000574560 ENSG00000262434	CircRNA --- hsa_circ_0001967(NM_013337 2-3/4); Coding --- MRM3-201 MRM3; Coding --- TIMM22-201 TIMM22; lncRNA --- ENST00000573877 ENSG00000262133; lncRNA --- ENST00000576252 ENSG00000262003; lncRNA --- ENST00000612517 ENSG00000277491



サービス情報

サービス名	生物種	受注受付	品番
Downstream-of-Gene Transcript (DoG RNA) Array 受託解析サービス	ヒト	1サンプルから受注受付	F-AS-DoGRH- [サンプル数]



ノンコーディングRNA解析 GlycoRNA アレイ受託解析サービス

本解析では、glycoRNAの生化学的捕捉方法とマイクロアレイによるRNA検出を組み合わせ、高い特異性、感度、精度でglycoRNA発現を定量およびプロファイリングします。GlycoRNAアレイは、Y-RNA/Y-RNAフラグメント、tRNA、tsRNA (tiRNAおよびtRF)、pre-miRNA、miRNA、snRNA/snRNAフラグメント、snoRNA/snoRNAフラグメント、rRNA/rRNAフラグメント、scRNAなど、幅広いグリコシル化RNAクラスをカバーしています。

GlycoRNAとは？

glycoRNAは、糖鎖付加を受けた低分子ノンコーディングRNAで、核内低分子RNA (snRNA)、リボソームRNA (rRNA)、核小体低分子RNA (snoRNA)、トランスファーRNA (tRNA)、Y-RNA、micro RNAなどが含まれます。グリコシル化 mRNA は知られていません。特に glycoRNA 上の N-グリカン、シアル化とフコシル化が進んでいます。glycoRNAは細胞表面に存在し、免疫応答の調節に重要な Siglec 受容体に結合することができます (図1)。

脂質とタンパク質は糖で修飾された唯一の生体高分子であると考えられており、RNA がグリコシル化されるとは考えられていませんでした。2021年、ノーベル賞受賞者のベルトツツイ研究室で、糖鎖前駆体の代謝標識により哺乳類の低分子ノンコーディング RNA がシアル化糖鎖と結合することが発見されました。従来の常識は覆され、RNA および糖鎖生物学の分野で大きな進歩を遂げました。

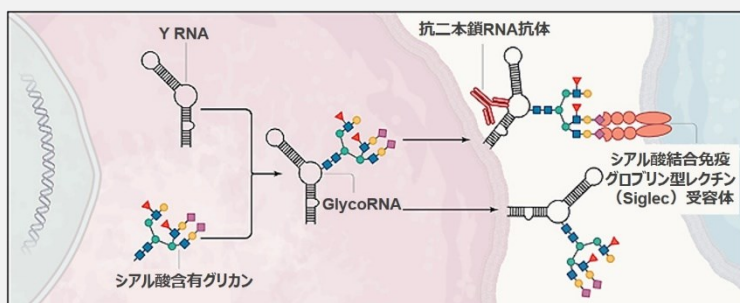


図1. glycoRNAは、シアル化糖鎖によるRNAの糖鎖修飾によって生成され、細胞膜上に表示され、シアル酸結合免疫グロブリン型レクチン (Siglec) 受容体によって認識される。

glycoRNAは、レクチン結合、代謝標識/クリックケミストリー、過ヨウ素酸化およびアルデヒド標識 (pAL) などの生化学的方法によって捕捉することができます。GlycoRNA アレイでは捕捉された glycoRNA を検出および定量することが可能です。本サービスは glycoRNA 捕捉技術と GlycoRNA マイクロアレイを組み合わせ、特異的な glycoRNA 捕捉とマイクロアレイによる高感度/特異性/精度のRNA検出という両技術の強みを活かした glycoRNA 生物学の分野における最先端のアプローチです。研究者は、glycoRNA の分子/細胞機能および生物学/疾患という新しい科学領域において、詳細かつ包括的な glycoRNA プロファイリング情報を得ることができるようになりました。

包括的なグリコシル化 RNA プロファイリング

GlycoRNA アレイは、Y-RNA/Y-RNA フラグメント、tRNA、tsRNA (tiRNA および tRF)、pre-miRNA、miRNA、snRNA/snRNA フラグメント、snoRNA/snoRNA フラグメント、rRNA/rRNA フラグメント、scRNA など、幅広い small RNA クラスを同時にカバーします。シーケンシングによる glycoRNA の検出には、そのユニークな生化学的特性のため、これらの small RNA の異なるクラス毎に個別の特殊なシーケンシングケミストリーとシーケンシングの実行が必要になります。

感度と信頼性の向上

glycoRNA 捕捉ステップにより、glycoRNA の検出シグナルが実際にグリコシル化 RNA に由来するものであることが保証されるため、偽陽性を低減し、結果の信頼性を高めることができます。glycoRNA の捕捉とマイクロアレイシグナルの非常に高い感度を組み合わせることで、S/N 比が向上し、低存在量でも glycoRNA をより適切に検出することができます。

新規 GlycoRNA の発見

GlycoRNA アレイには、グリコシル化の既知または未知に関わらず、ゲノム内のすべての small RNA が含まれています。マイクロアレイ上で検出された糖鎖捕捉 RNA は、過去に報告されていなければ、新規の glycoRNA として同定されます。したがって、あらかじめ印刷されたマイクロアレイに、シーケンシングのような新規 glycoRNA を発見する能力を持っているかどうかを心配する必要はありません。

前例のない科学および医学的な可能性

すぐに利用できる GlycoRNA アレイのプロファイリングデータに簡単にアクセスできるようになったことで、研究者はこの新しいクラスの glycoRNA 分子によって切り開かれる多くの前例のない科学分野を探索できるようになりました: 遺伝子、細胞、分子制御における RNA グリコシル化とグリコシル化 RNA、glycoRNA に基づく/配列特異的な細胞表面および細胞外相互作用と伝達、受容体に対する新しいクラスのリガンド、新規の生物学的および疾患機能、新しい医薬品ターゲット、および免疫学的および配列学的二重検出が可能で新しい細胞外バイオマーカーなど。



GlycoRNAアレイの仕様

アレイデザイン	プローブ総数 : 7,646 プローブ設計 : 5'-ヘアピンキャップと 3'-スパーサーを備えた small RNA 特異的配列 アレイフォーマット : 8 × 15 K	
プローブ結合部位	miRNA / 5' tsRNA : 3'-配列 3' tsRNA / Y-RNA / snRNA / snoRNA / rRNA 由来の断片 : 完全長配列内の任意のセグメント pre-miRNA : pre-miRNA のループ領域 tRNA : 成熟 tRNA のアンチコドンループ配列 Y-RNA / snoRNA / snRNA / rRNA : RNA 全長における特異的配列	
プローブ特異性	small RNA 特異的	
Small RNAのカバレッジ	YsRNA (Y-RNA 由来 small RNA) : 10 snsRNA (snRNA 由来 small RNA) : 4 sdRNA (snoRNA 由来 small RNA) : 289 rRF (rRNA 由来 small RNA) : 210 miRNA : 2,627 tsRNA (tRNA 由来 small RNA) : 1,432	Pre-miRNA : 1,745 成熟 tRNA : 338 snoRNA : 955 Y-RNA : 4 snRNA : 27 rRNA : 5



解析データ例

GlycoRNA マイクロアレイは、glycoRNA のプロファイリングと解析において、最も高感度で、効果的、かつ堅牢な方法です。プロファイリングデータには、glycoRNA の豊富なバイオインフォマティクス解析とアノテーションが含まれています。

表1. 差次的に発現する glycoRNA

GlycoRNA comparison (Group1 vs. Group2)						
Symbol	Tans_type	Precursor	Description	Differential Expression		
				Fold Change	Regulation	p-value
URS000007D24_9606	Y_RNA		RNA, Ro60-associated Y4 (RNY4)	2.10549179	Up	0.0198874
URS0000149178_9606	snRNA		RNA, U4 small nuclear 2 (RNU4-2)	-1.9140061	Down	0.0092145
rRF-16-0KWW5VD	rRFs	NR_145819		1.72252039	Up	0.0014583
YsRNA-23-CTCACTACTG CACTTGACTAGTC	YsRNA	URS0000103 047_9606		-1.5310347	Down	0.0121312

<表の用語>

Symbol : glycoRNA シンボル
 Tans type : 転写物のバイオタイプ
 Precursor : small RNA 由来フラグメントのプリカーサーID/シンボル
 Description : アノテーションの説明
 Fold Change : 比較グループ間の Fold change
 Regulation : Group1 と Group2 の比較によるアップレギュレーションまたはダウンレギュレーション
 P-value : t 検定による p 値



サービス情報

サービス名	生物種	受注受付	品番
GlycoRNA Array 受託解析サービス	ヒト	1サンプルから受注受付	F-AS-GRH- [サンプル数]



ノンコーディングRNA解析 Long non-coding RNA アレイ受託解析サービス

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、がんや心疾患などヒトの疾患に大きく関与しています。本解析は、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、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。使用するアレイは、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の提供が可能です。



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マイクロアレイ vs RNA-Seq

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シードを定量するで遺伝子発現レベルを測定します。しかし、LncRNAはmRNAと比べて発現レベルが低いいため、RNA-Seqでは低含有転写産物の信頼性のある定量が困難です。また、リード深度の増強による正確性に対する効果は限定的です。一方で、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可能です。

	LncRNAマイクロアレイ	RNA-seq
低発現 LncRNA	高感度および高定量精度	低発現LncRNAは正確が低く、定量も困難
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。体系的な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



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

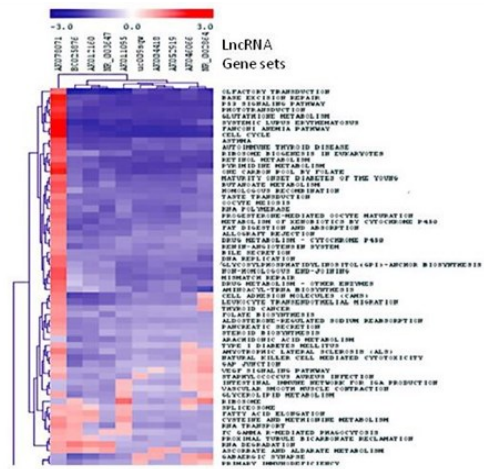


解析データ例

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



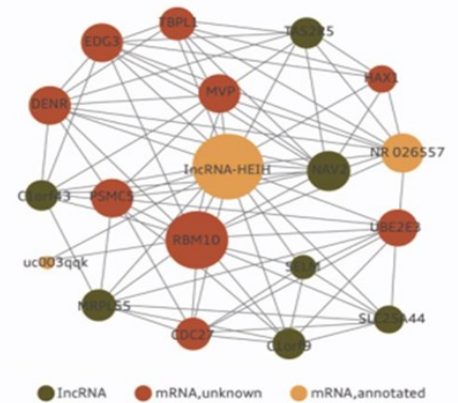
LncRNA分類およびサブグループ解析、Gold Standard LncRNAとReliable LncRNAのアノテーション

- 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	OCEPR	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



サービス情報

アレイ名	生物種	サンプル数	品番
LncRNA Array 受託解析サービス	ヒト	1サンプルから受付	F-AS-LNCH- (サンプル数)
	マウス		F-AS-LNCM- (サンプル数)
	ラット		F-AS-LNCR- (サンプル数)

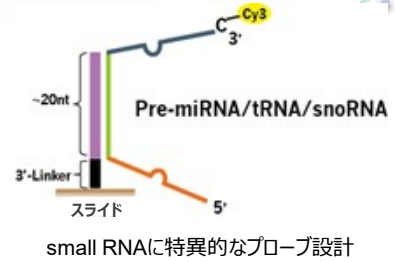


ノンコーディングRNA解析 small RNA アレイ受託解析サービス

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。本解析は、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を用いて、microRNA (miRNA)、pre-miRNA、tRNA、tRNA-derived small RNA (tsRNA)、small nucleolar RNA (snRNA)などの生体内において重要な役割を持つsmall RNAを同じアレイ上で同時に検出・定量化します。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、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。

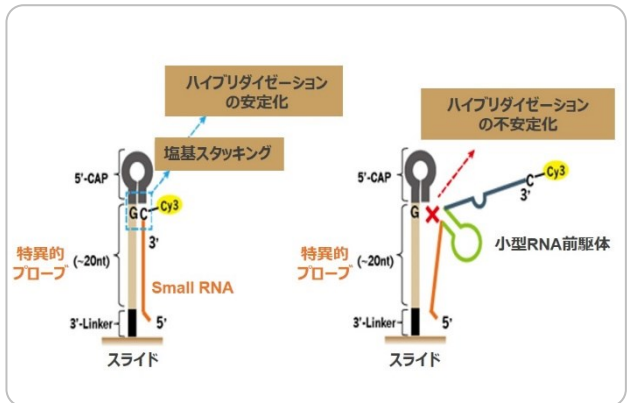
主要なsmall RNAクラスを同時にプロファイリング

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。

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	Rat small RNA Expression Array V1.0
プローブ総数	14,707	14,895	14,238
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		miRNAとtsRNA : 低分子 RNA の 3' 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 の全長に沿った特定の配列
プローブ特異性	small RNA 特異的		
miRNAのカバレッジ	2,627	1,949	749
tsRNAのカバレッジ	4,254	1,809	1,135
pre-miRNA のカバレッジ	1,745	1,122	448
成熟 tRNA のカバレッジ	346	270	197
snoRNAのカバレッジ	955	1,323	1,486
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)		

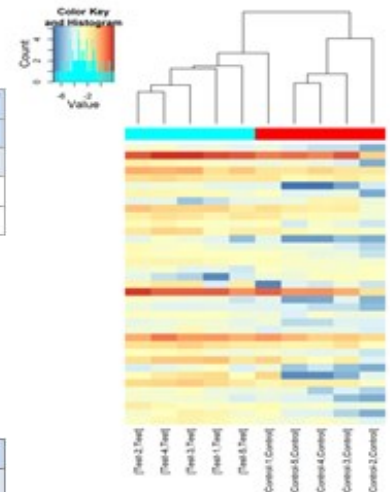


解析データ例

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です。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ノテーション、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	CATCCCTTGCATGGTGGAGGG	ATCCCTT	Yes	Mature
hsa-miR-409-5p	3.72	0.02	0.52	AGGTTACCCGAGCAACTTGCAT	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	ATTCAAAGTTCCGGGTTTCGAGTCCC 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



サービス情報

アレイ名	生物種	サンプル数	品番
small RNA Array 受託解析サービス	ヒト	1サンプルから受付	F-AS-SRNIH- [サンプル数]
	マウス		F-AS-SRNM- [サンプル数]
	ラット		F-AS-SRNR- [サンプル数]



ノンコーディングRNA解析 circRNA アレイ受託解析サービス

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。

circRNAとは？

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、いわゆる競合内在性RNA(ceRNA)として機能することが明らかにされています。

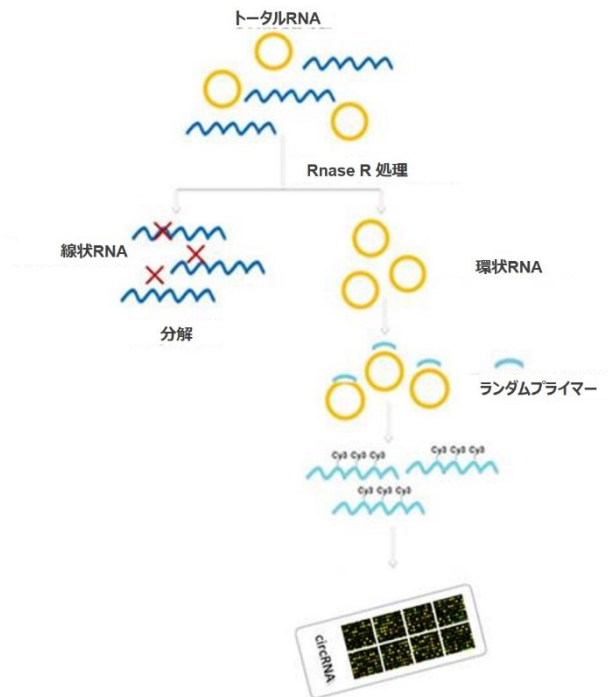
circRNA発現を確実にプロファイリング

▶ circular junction特異的プローブの採用

本アレイ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、Linear-RNAが存在した場合でもcircRNA特異的な解析が可能です。

▶ 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。

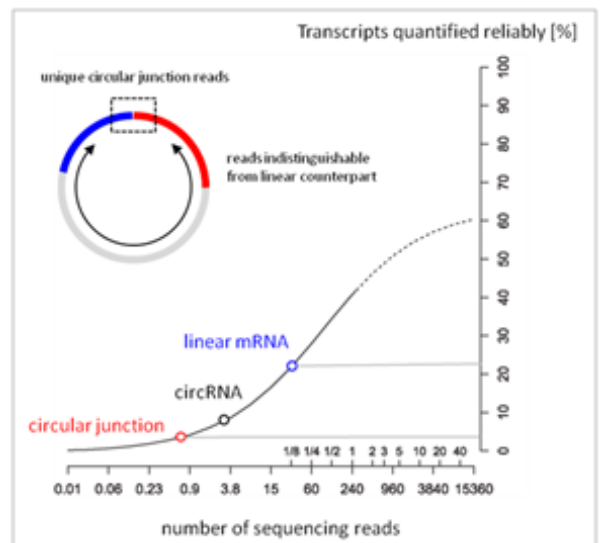
- circRNAは、linear-RNAと比べて低発現
- RNA-SeqにおけるCircular junctionのリードは少量
- RNA-Seqによる再現性ある発現変動解析には、数百リードが必要

本アレイでは、Circular junction特異的プローブと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3000万リードのRNA-seqカバレッジでも、circRNA junction readsは <50万リードしか得られず、信頼して定量できるcircRNAは5%未満です(右下図)。言い換えれば、95%を超える環状RNAは正確に定量化されていません。一方、マイクロアレイの精度は転写産物レベルの低下による影響を比較的受けません。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

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

	ヒト	マウス	ラット
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



解析データ例

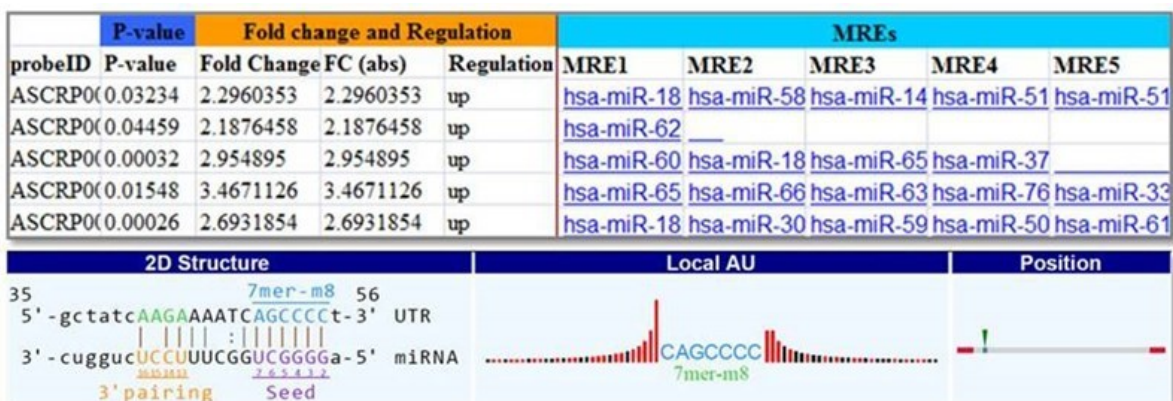
circRNA-miRNA関連性の詳細なアノテーション

circRNAには、miRNAと競合的に働きceRNAとしての役割を持ちます。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ます。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ます。

circRNA	linear RNA	miRNA	Binding Alignment	mirSVR score	PhastCons
circRNA-000482	NM_001286646	miR-340	3' uuaguCAGAGUAACGAAUUAUu 5' miR-340 : : uucuuGUGUAUAACUUUAUAu cIRS-9	-1.295	0.7719
		miR-125-3p	3' ccGAGGGU-UCUUGGAGUGGACa 5' miR-125a-3p : : : caUUCAUUAUAUAGUUCACCGGg cIRS-9	-1.141	0.7597
		miR-499-5p	3' uuuguaGUGACGUUCAGAAUu 5' miR-217 : : guugugCUUUUAAGUCUUAu cIRS-9	-1.143	0.7314
		miR-217	3' agGUUAGUCAAGGACU-ACGUCau 5' miR-217 : acCAGUCUUUGAGUGAUUGCAGua 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。



サービス情報

アレイ名	生物種	フォーマット	サンプル数	品番
circRNA Microarray 受託解析サービス	ヒト	13,617 circular RNAs 8×15K	1サンプルから 受付	F-AS-CIRH- (サンプル数)
	マウス	14,236 circular RNAs 8×15K		F-AS-CIRM- (サンプル数)
	ラット	14,236 circular RNAs 8×15K		F-AS-CIRR- (サンプル数)



ノンコーディングRNA解析 T-UCR アレイ受託解析サービス

本解析に使用するアレイは、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います。本解析は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。

T-UCRとは？

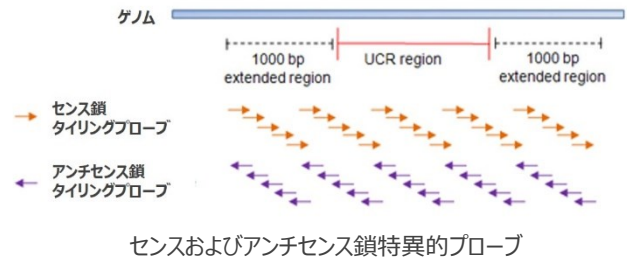
超保存領域(Ultraconserved regions: UCR)は、遠縁種のゲノム間でも高度に保存され、ほぼ100%同一である特異的な200bp以上の配列から構成されています。このUCRの多から、生物学的に不可欠と考えられている特定のnon-coding RNAが転写されます。このnon-coding RNAは、転写超保存領域(Transcribed ultraconserved Region: T-UCR)と呼ばれ、ヒトゲノムの481個のUCRから転写されるLong non-coding RNA(LncRNA)として知られています。近年のゲノムワイド発現プロファイリング研究により、いくつかの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。

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された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、本アレイ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



アレイ名	フォーマット	サンプル数	品番
Human T-UCR Microarray 受託解析サービス	8x60K	8サンプル単位の受付	F-AS-TUCR- (サンプル数)



ノンコーディングRNA解析 piRNA アレイ受託解析サービス

本解析に使用するアレイは、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。

piRNAとは？

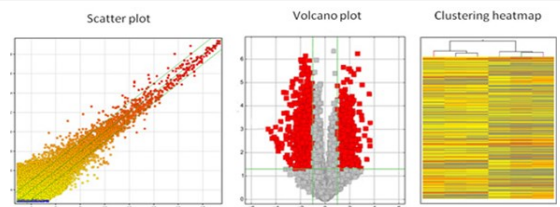
RNAのサイレンシング機構であるRNA干渉は、アルゴノートタンパク質の複合体RISCを形成し、miRNA、siRNA、およびpiwiRNA (piRNA)などのsmall RNAと結合します。RISC-RNA複合体は標的mRNAの切断または翻訳抑制を引き起こします。piRNAは哺乳動物の生殖細胞において、アルゴノートタンパク質PIWIと結合し、トランスポゾンおよびレトロトランスポゾンの制御に重要な役割を持つことが明らかとなっています。また、piRNAは他にも機能を有する可能性が示唆されています。

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。



Annotation of differentially expressed piRNAs

ProbeName	P-value	FDR	Fold Change	Regulation	piRNA_acc	piRNA_length	sequence
DD590282P	0.00015	0.0084	2.18	up	DD590282	28	TGGTGGCCGCTTCTTAAGCCGCTGGA
DD591461P	0.00012	0.0468	2.04	up	DD591461	29	TGTGAGATGTCCTGCTATCAAGCCCTGGA
DD576145P	0.04071	0.1512	3.25	up	DD576145	31	TCCTCAATGCTATGCTGCTAAGATCCCGAC
DD572133P	0.00297	0.0402	2.64	up	DD572133	31	TATCCAGAGCCGATCCTACTCTCTAGGGGCG
DD598178P	0.00042	0.0241	4.03	up	DD598178	31	CCCTCTGAGAGCCGATCCTACTCTCTAGGGGCG
DD579995P	0.03411	0.1324	2.08	up	DD579995	30	TGACTGCTGCTCTCAGGCTGCTTAGGAAAT
DD184827P	0.00032	0.0147	3.11	up	DD184827	19	TGCTATGAGAGCCGATCCTACTCTCTAGGGGCG

詳細なアノテーションおよび発現変動解析

アレイ名	生物種	サンプル数	品番
piRNA Array 受託解析サービス	ヒト	1サンプルから受付	F-AS-PIH- (サンプル数)
	マウス		F-AS-PIM- (サンプル数)
	ラット		F-AS-PIR- (サンプル数)



ノンコーディングRNA解析 SE-LncRNA アレイ受託解析サービス

本アレイ搭載のプロブは、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ます。これにより、SE-LncRNAおよびそれらが制御するコード遺伝子の研究を促進させます。

SE-LncRNAとは？

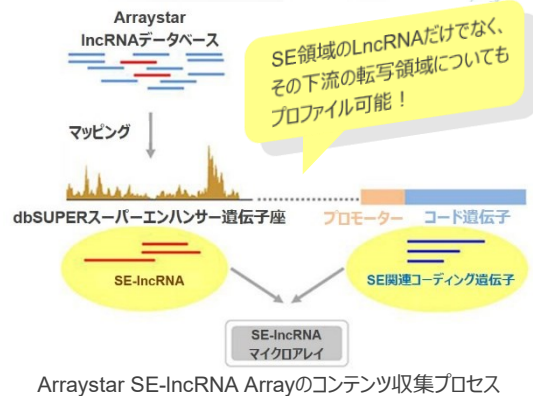
Super-Enhancer LncRNA(SE-LncRNA)は、マスター調節因子として転写を制御し、細胞型、細胞の同一性、および疾患を決定する多様な遺伝子発現プログラムにおいて調節的な役割を果たしています。例えばCERNAおよびDRRRNAなどのSE-LncRNAは自己調節により筋形成をオンにし、CCAT1-Lは発がん遺伝子であるMYC発現を活性化することで、結腸直腸がんの進行を促進させます。そのため、SE-LncRNAを理解することは生物学的プロセス、および疾患を理解する上で非常に重要です。

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。



サービス名	生物種	サンプル数	品番
Super-enhancer LncRNA Array	ヒト	1サンプル	F-AS-SELNCH- [サンプル数]
	マウス	1サンプル	F-AS-SELNCM- [サンプル数]



ノンコーディングRNA解析 LncPath™ Pathway LncRNA アレイ受託解析サービス

本アレイは、経路特異的/疾患特異的なLncRNAとその標的遺伝子をプロファイリングし、その根底にある制御メカニズムを解明し、特定の生物学的経路または疾患に関する知見を得るように設計されています。がん研究用、心血管疾患研究用、上皮観葉転換パスウェイ研究用そしてエピジェネティックパスウェイ研究用の各アレイから、目的に応じてご選択いただけます。

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。

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

機能分類の詳細なアノテーションとグラフ

- LncRNAと経路関連遺伝子のゲノム上の関係
- 競合的内在性 RNAとして経路関連遺伝子を標的とするLncRNA
- 発現変動 LncRNAと、その制御標的であるタンパク質コード経路遺伝子との発現相関

LncRNA			Relationship			Protein coding mRNA				
seqname	GeneSymbol	Fold change Regulation	Mechanism	Genom kRelationship	Distance	miRNA	symbol	Accession	Fold change Regulation	
ENST0000044	RP1-136J15.1	-8.7938	down	enhancer	downstream	4271	ACS4	NM_022977.2	5498	down
ENST0000054	TOPORS-AS1	10.1792	up	Neighboring	overlapping	0	TOPORS	NM_005802.3	1383	up
ENST0000044	RP1-218B13.1	-8.0792	down	enhancer	upstream	94509	AMOT	NM_001113.3	4914	down
ENST0000045	RP11-179H18.9	9.0766	up	enhancer	downstream	12287	BAG3	NM_004281.2	8134	up
uc003jla.3	AI110181	-9.0821	down	Neighboring	upstream	152	WASL	NM_003994.1	5372	up
uc003jpa.2	RP129131.8	-1.57119	down	enhancer	upstream	1327	YF1	NM_001849.1	2965	down

LncRNAの詳細な機能およびアノテーション

アレイ名	アレイフォーマット	サンプル数	品番
がん研究用 LncPath™ Pathway LncRNA Array 受託解析サービス	8×15	8サンプル単位での受付	F-AS-LP-CH- (サンプル数)
心血管疾患研究用 LncPath™ Pathway LncRNA Array 受託解析サービス			F-AS-LP-CDH- (サンプル数)
上皮間葉転換パスウェイ研究用 LncPath™ Pathway LncRNA Array 受託解析サービス			F-AS-LP-EH- (サンプル数)
エピジェネティックパスウェイ研究用 LncPath™ Pathway LncRNA Array 受託解析サービス			F-AS-LP-EPH- (サンプル数)



エピジェネティクス解析 Epitranscriptomic アレイ受託解析サービス

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。

本解析では、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。



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。

Arraystar mRNA&LncRNA Epitranscriptomic マイクロアレイ

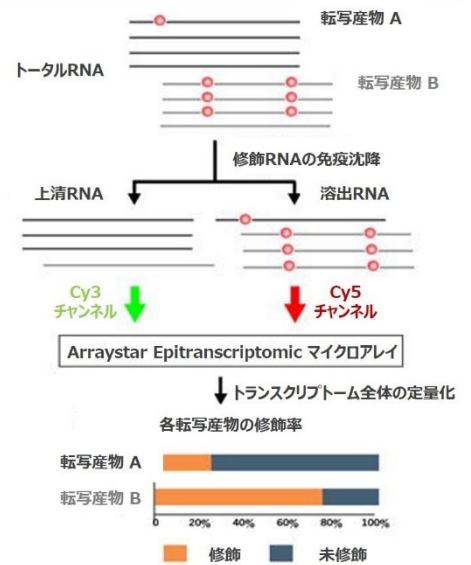
mRNA、LncRNAおよび中サイズのnon-coding RNAクラス(pre-miRNA、pri-miRNA、snoRNA、snRNA)を同一アレイ上でプロファイル可能です。

Arraystar circRNA Epitranscriptomic マイクロアレイ

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

上記二つのアレイでは、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

Epitranscriptomic Array vs MeRIP-seq

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だけでなく、rRNAの除去が不要なため、MeRIP-Seqよりも迅速かつ簡単に解析が行えます。さらに、MeRIP-seqでは最低120μgのTotal RNAが必要なのに対し、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	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



アレイの仕様

Arraystar mRNA&LncRNA Epitranscriptomic マイクロアレイ

	ヒト用	マウス用	ラット用
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 マイクロアレイ

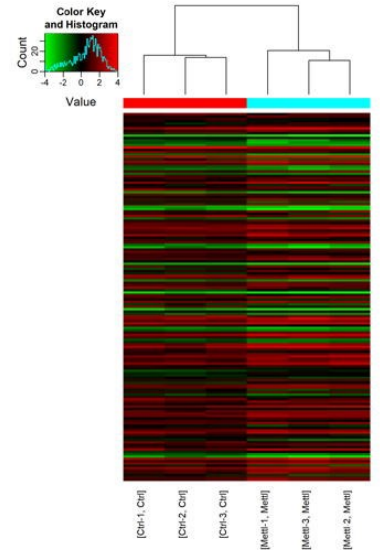
	ヒト用	マウス用	ラット用
プローブ総数	13,617	14,236	14,145
プローブ長	60 nt		
プローブ選択領域	CircRNA-specific junctionを標的とするプローブ		
プローブ特異性	転写物特異的		
ラベリング方法	ランダムプライマー標識とRNase前処理を組み合わせた、環状RNA特異的かつ効率的な標識		



解析データ例

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

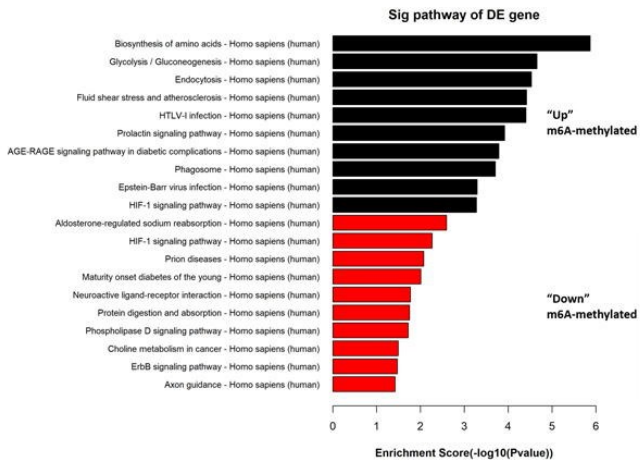
Comparison (Group 1 vs. Group 2)											
Seq_Name	Differential			Group normalized intensity (input)		Percentage of transcripts that are modified		Annotations			
	p-value (≤ 0.05)	FC (≥ 2.0)	Regulation	Group1	Group2	Group1	Group2	Type	Tier	Gene Symbol	Source
ENST00000377548	0.0016	3.55	UP	11.25	10.6	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



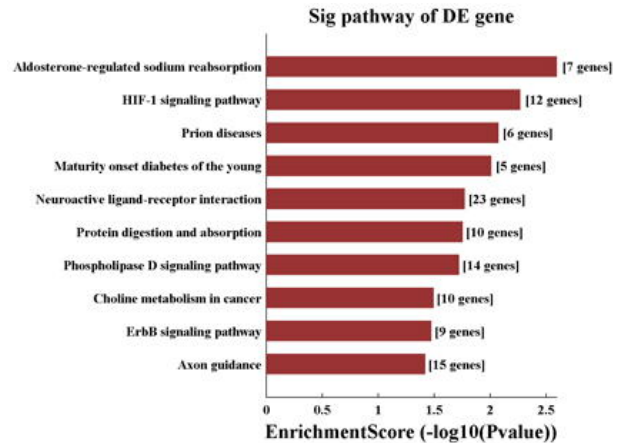
異なるm6Aメチル化転写産物(circRNA)

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		Parent linear RNA	
										MRE2	MRE3	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	hsa-miR-525	hsa-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



サービス情報

サービス名	修飾	品番		
		ヒト用	マウス用	ラット用
mRNA&lncRNA Epitranscriptomic Array 受託解析サービス	m6A	F-AS-MELRH6- [サンプル数]	F-AS-MELRM6- [サンプル数]	F-AS-MELRR6- [サンプル数]
	m1A	F-AS-MELRH1- [サンプル数]	F-AS-MELRM1- [サンプル数]	F-AS-MELRR1- [サンプル数]
	m5C	F-AS-MELRH5- [サンプル数]	F-AS-MELRM5- [サンプル数]	F-AS-MELRR5- [サンプル数]
	ac4C	F-AS-MELRH4- [サンプル数]	F-AS-MELRM4- [サンプル数]	F-AS-MELRR4- [サンプル数]
	m7G	F-AS-MELRH7- [サンプル数]	F-AS-MELRM7- [サンプル数]	F-AS-MELRR7- [サンプル数]
	ψ	F-AS-MELRHQ- [サンプル数]	F-AS-MELRMQ- [サンプル数]	F-AS-MELRRQ- [サンプル数]
circRNA Epitranscriptomic Array 受託解析サービス	m6A	F-AS-MECRH6- [サンプル数]	F-AS-MECRM6- [サンプル数]	F-AS-MECRR6- [サンプル数]
	m1A	F-AS-MECRH1- [サンプル数]	F-AS-MECRM1- [サンプル数]	F-AS-MECRR1- [サンプル数]
	m5C	F-AS-MECRH5- [サンプル数]	F-AS-MECRM5- [サンプル数]	F-AS-MECRR5- [サンプル数]
	ac4C	F-AS-MECRH4- [サンプル数]	F-AS-MECRM4- [サンプル数]	F-AS-MECRR4- [サンプル数]
	m7G	F-AS-MECRH7- [サンプル数]	F-AS-MECRM7- [サンプル数]	F-AS-MECRR7- [サンプル数]
	ψ	F-AS-MECRHψ- [サンプル数]	F-AS-MECRMQ- [サンプル数]	F-AS-MECRRQ- [サンプル数]



エピジェネティクス解析 m6A Single Nucleotide アレイ受託解析サービス

本解析は、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。

m6Aとは？

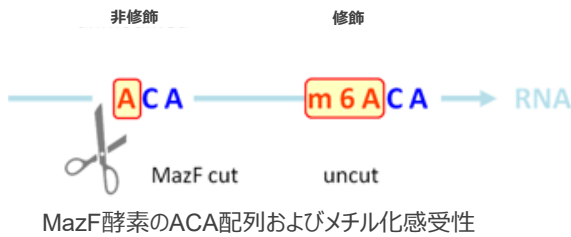
6-メチルアデノシン(m6A)はRNAにおける主要なRNA修飾の一つであり、RNAは単一のm6Aを持つ場合と、単一のm6A部位とポリメチル化領域が500 nt以内に含まれ、両者の距離が100 nt未満の場合は、1つの「クラスター化m6A部位」を持つ場合があります。そのため、単一またはポリメチル化されたm6A修飾は、分子、細胞、生物の表現型に対して重要な機能を持ちます。例えば、28S rRNAのA4220の単一m6Aは、細胞増殖に影響を与え、腫瘍の成長に影響を与え、ポリメチル化またはクラスター化されたm6Aは、mRNAの分解において重要な役割を持ち、細胞質におけるmRNAの半減期を決定しています。

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

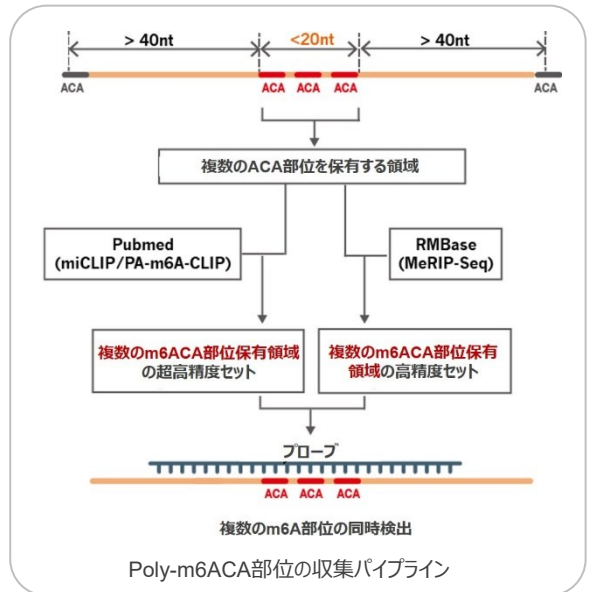
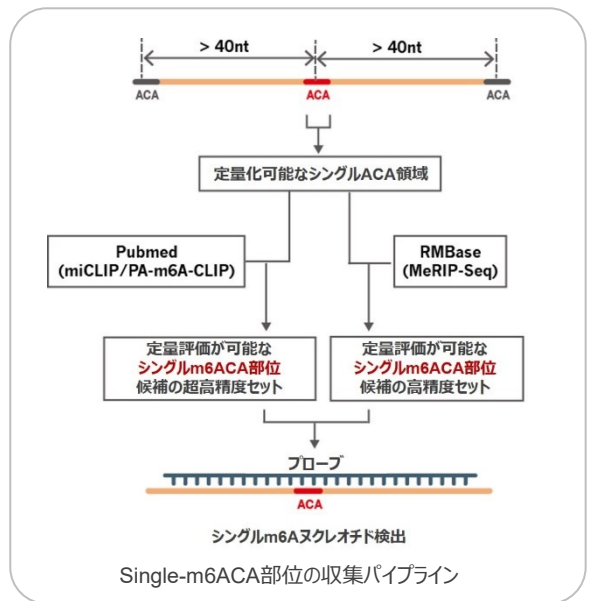
m6A修飾の割合や比率を部位ごとに定量化することで、ダイナミックなm6Aの状態を把握するという長年のニーズに応えます。

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です。

確実な収集と体系的なアノテーション

Single ACA、Poly-ACA、Cluster-ACAを用いた定量化可能な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。





m6A Single Nucleotide アレイの仕様

	ヒト用	マウス用	ラット用
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



解析データ例

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...3527aggagCGCAGGAAGTCACTACCATTATATCTAAACA GACCTATCTATGTTTCATAGGA CTTCTgatgt 3598...11416
Yes	2030	1...509cgctCTCCCTGTTTAGTTATGGCAGAGAACGATGTGGAC AATGAGCTCTTG GACTATGAA GATGatgag 580...2030



サービス情報

サービス名	生物種	品番
m6A Single Nucleotide Array 受託解析サービス	ヒト	F-AS-SNAH- [サンプル数]
	マウス	F-AS-SNAM- [サンプル数]
	ラット	F-AS-SNAR- [サンプル数]



エピジェネティクス解析 small RNA Modification アレイ受託解析サービス

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)、シュードウリジン (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います。

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ることで、修飾特異的なRNAをエンリッチメントすることが可能です。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います。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。

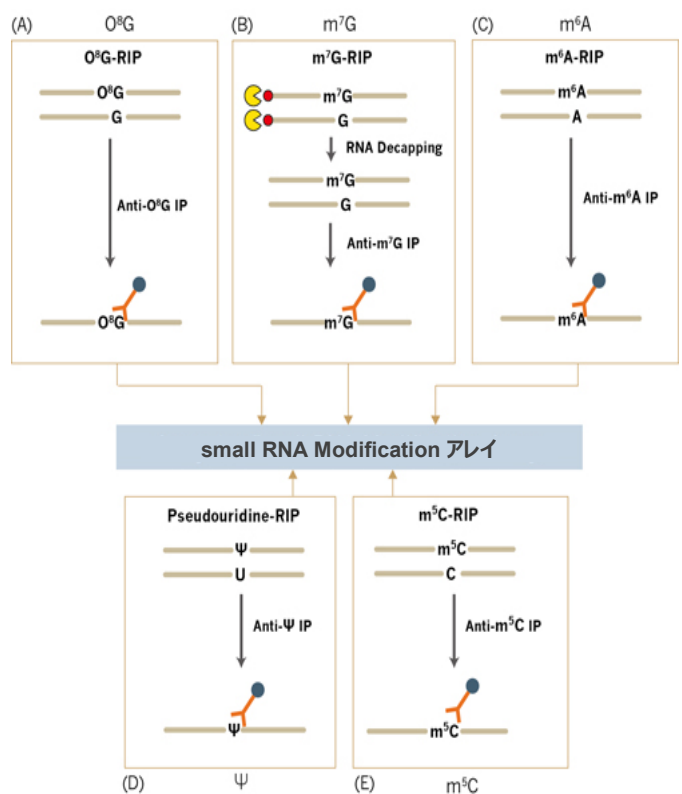
しかし、本解析ではRNA-seqとは異なり、RNAを直接ラベリングすることができるため、RNA-seqにおけるライブラリー調製中に、修飾によるcDNA合成阻害を受けることがありません。そのため、本解析では修飾RNAを特異的かつ正確に解析することが可能です。

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

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修飾プロファイリング技術によるRNA修飾の解析技術



small RNA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 V2.0	Mouse V2.0	Rat V2.0
プローブ総数	14,706	14,895	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 tRNA : mature tRNA のアンチコドンループ配列 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	2,627 (1,318 の 5-p-miRNA と 1,309 の 3-p-miRNA)	1,949 (966 の 5-p-miRNA と 983 の 3-p-miRNA)	749 (355 の 5-p-miRNA と 394 の 3-p-miRNA)
Pre-miRNAのカバレッジ	1,745	1,122	448
mature-tRNA のカバレッジ	346	270	197
tsRNAのカバレッジ	4,254	1,767	1,135
Small RNAのソース	miRNA : miRBase (v22) pre-miRNA : miRBase (v22) tRNA : GtRNADb (Updated to 18.1 2019.08) , ENSEMBL(v99) tsRNA : tRFdb, GtRNADb (Updated to 18.1 2019.08) Literatures : Scientific publications up to 2019 [1-40]		



解析データ例

修飾されたsmall RNAのサンプル間の比較例 (m7G)

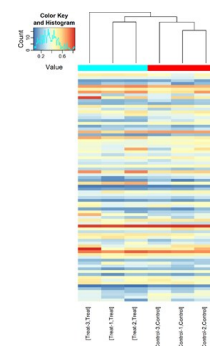
MatureID	Group m7G miRNA level (log2)		Differential			Group m7G %modified miRNA		Annotations	
	Treated	Control	FC	p	Regulation	Treated	Control	miRNA_family	m7G_motif
	hsa-let-7b-5p	5.07	4.01	2.062	0.034	up	20.30%	18.59%	hsa-let-7a-5p/hsa-let-7b-5p/hsa-let-7c-5p...
hsa-let-7c-5p	6.64	5.62	2.08	0.005	up	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 "RAM7GGT" 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。



サービス情報

サービス名	品番		
	ヒト用	マウス用	ラット用
【N6-メチルアデノシチン (m6A) 修飾解析】 Small RNA Modification Array (m6A) 受託解析サービス	F-AS-RMH1- [サンプル数]	F-AS-RMM1- [サンプル数]	F-AS-RMR1- [サンプル数]
【7-メチルグアノシン (m7G) 修飾解析】 Small RNA Modification Array (m7G) 受託解析サービス	F-AS-RMH2- [サンプル数]	F-AS-RMM2- [サンプル数]	F-AS-RMR2- [サンプル数]
【8-オキソグアニン (o8G) 修飾解析】 Small RNA Modification Array (o8G) 受託解析サービス	F-AS-RMH3- [サンプル数]	F-AS-RMM3- [サンプル数]	F-AS-RMR3- [サンプル数]
【シュドウリジン (ψ) 修飾解析】 Small RNA Modification Array (ψ) 受託解析サービス	F-AS-RMH4- [サンプル数]	F-AS-RMM4- [サンプル数]	F-AS-RMR4- [サンプル数]
【5-メチルシチジン (m5C) 修飾解析】 Small RNA Modification Array (m5C) 受託解析サービス	F-AS-RMH5- [サンプル数]	F-AS-RMM5- [サンプル数]	F-AS-RMR5- [サンプル数]
【N1-メチルアデノシチン (m1A) 修飾解析】 Small RNA Modification Array (m1A) 受託解析サービス	F-AS-RMH6- [サンプル数]	F-AS-RMM6- [サンプル数]	F-AS-RMR6- [サンプル数]

RNA構造プロファイリング解析 rG4 アレイ受託解析サービス

RNA G-四重鎖 (RNA G-quadruplexes : rG4) は、遺伝子発現、がん、神経変性疾患に関わる重要な調節RNA構造です。しかし、その動的な折り畳みと低存在量のため、標準的なRNAシーケンス法では検出が困難です。本サービスは、in vivo DMS処理によるネイティブのrG4構造の保持、in vitroでのリフォールディングおよびBG4抗体アフィニティーキャプチャーを組み合わせることで、生体内におけるrG4構造の高感度かつトランスクリプトーム全体にわたるプロファイリングを可能にし、rG4を介した調節機構に関する信頼性の高い知見を提供します。

rG4 とは？

RNA G-四重鎖 (RNA G-quadruplexes : rG4) は、グアニンに富む RNA 配列がフーグスティーン水素結合を介して形成する非標準的な二次構造です。これらの構造は、K⁺などの一価陽イオンによって安定化された、積層した平面状の G-四重鎖から構成されます (右図)。

rG4 の動的な折り畳みと展開は、RNA転写、クロマチン修飾因子のリクルート、pre-miRNA プロセッシング、mRNA 翻訳、および mRNA 安定性を制御します。さらに、rG4 は、m7G、o8G および m6A などの RNA 修飾と共調節して遺伝子発現を制御します。rG4 形成の調節異常は、ストレス応答、癌遺伝子発現調節、およびパーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症におけるα-シヌクレイン凝集などの疾患に関与しています。

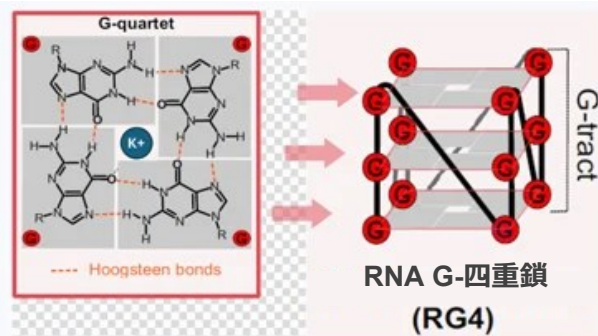


図. GリッチRNA配列では、4つグアニンがフーグスティーン結合で結合してG四重鎖を形成することがある。G-四重鎖は積み重なってRNA G-四重鎖 (RG4) を形成する

rG4の分子メカニズムと生物学的機能

動的なrG4の折り畳み/展開は、mRNA翻訳およびmRNA安定性を調節する可能性を秘めています。成熟mRNAにおいては、rG4は主にmRNA翻訳を阻害しますが、一部の報告では翻訳促進も観察されている。神経細胞では、rG4は神経突起におけるmRNAの細胞内局在化のシグナルとして機能し、細胞内における液滴相分離の足場を形成する。さらに、pre-mRNA中のrG4は、スプライシングによるポリAテール付加のための3'末端処理やイントロン除去など、pre-mRNAの成熟に影響を与える可能性があります。

lncRNAにおけるrG4の動的な折り畳み/展開は、クロマチン修飾機能、RNA転写、デコイ機能分子 (タンパク質など)、および核内でのpre-miRNAプロセッシングを調節する可能性があります。また、rG4は、m7G、o8G、m6AなどのRNAエピトランスクリプトーム修飾と相互作用し、遺伝子発現を共調節することが知られています。

疾患におけるrG4

動的なrG4の折り畳み/展開は、ストレス応答、がん遺伝子発現調節、およびパーキンソン病、レビー小体型認知症、多系統萎縮症におけるα-シヌクレインタンパク質の凝集に関与しています。

in vivo rG4プロファイリングのゴールドスタンダード

- ◆ DMSを用いた in vivo 処理と in vitro での再フォールディングにより本来のネイティブ型 rG4 構造を回復させる。
- ◆ 高選択性かつ高効率な BG4 抗体を用いて、rG4 含有 RNA 断片を濃縮する。
- ◆ 脱メチル化処理により、m1A および m3C 修飾によって生じるバイアスを除去する。
- ◆ 低存在量でも rG4-RNA を高感度に検出、プロファイリング解析できる。

生体内におけるrG4の同定と定量は、細胞生物学およびヒト疾患におけるrG4の研究に不可欠なステップです。しかしながら、G4RP-seq、BG4 uvRIP-seq、およびDMS-seqとRTストッププロファイリングといった現在のNGSベースの技術には、正確なrG4定量する上で限界があります。G4RP-seqおよびuvRIP-seqにおける架橋反応は、一過性のrG4を保持する一方で、間接的な相互作用も捕捉してしまうため、偽陽性を引き起こします。一方、rG4結合タンパク質はBG4またはリガンドへのアクセスを阻害する可能性があり、偽陰性を引き起こします。DMS-seqはRTストップによってrG4の折り畳みを推定しますが、DMSはAおよびCも修飾するため、rG4とは無関係なRT終結を引き起こし、精度を低下させます。

本マイクロアレイは、in vivo DMS標識法を用いてネイティブのrG4構造を保持し、in vitroでのリフォールディングとBG4抗体アフィニティーキャプチャーを組み合わせることで、これらの課題を克服しています。脱メチル化後、バイアスのないcRNA合成により、rG4マイクロアレイ上での高感度検出が可能となり、RTストップベースのシーケンス法よりも、より正確で信頼性の高いrG4プロファイルが得られます。さらに、rG4は一過性かつ動的な性質を持つため、その多くは低発現レベルにあります。シーケンスでは高発現RNAが低発現RNAの検出を妨げる可能性があります。マイクロアレイ上の配列特異的プローブによる低存在量のrG4検出にはほとんど影響を与えません。総合的に見て、本アレイは、in vivo rG4プロファイリングにおいて最も正確かつ高感度なプラットフォームです。



Human rG4アレイの仕様

プローブ総数	14,708
RNA中のrG4領域を標的とするプローブの総数	13,708
3'-UTR内のrG4部位	5,097
5'-UTR内のrG4部位	1,697
CDS内のrG4部位	3,053
lncRNA中のrG4	3,861
ショウジョウバエのmRNAをコードするスパイクイン制御プローブ	1,000
rG4サイトの情報源	rG4s: literatures[1-14], G4Atlas[15], QUADAtlas[16] G4s: EndoQuad[17], G4Bank[18]
ショウジョウバエのmRNAをコードする遺伝子源	ENSEMBL BDGP6.46[19]
アレイフォーマット	8 x 15K



RNA G-四重鎖(rG4)データベース

データベース	概要	リンク
G4Atlas	信頼性の高い実験的に検証されたrG4データと予測されたrG4データを統合した、包括的なトランスクリプトームワイドRNA G四重鎖 (rG4) データベース	https://www.g4atlas.org/
QUADAtlas	ヒトrG4とその相互作用ネットワークに関する厳選されたリソース 3つのツールによる実験的 (rG4-seq, RT-stop profiling) および計算的予測を組み合わせて、217,424個のrG4領域を特定	https://rg4db.cibio.unitn.it/
EndoQuad	ヒト、マウス、ニワトリの内因性G4 (eG4) に特化したデータベース ゲノムワイドな実験的に検証されたeG4データを提供	https://chenzxlabs.hzau.edu.cn/EndoQuad/#/
miRNAのカバレッジ	13種の生物種にわたって実験的に同定された6,915,983個のDNA G4配列のリポジット	http://tubic.tju.edu.cn/g4bank/



ワークフロー

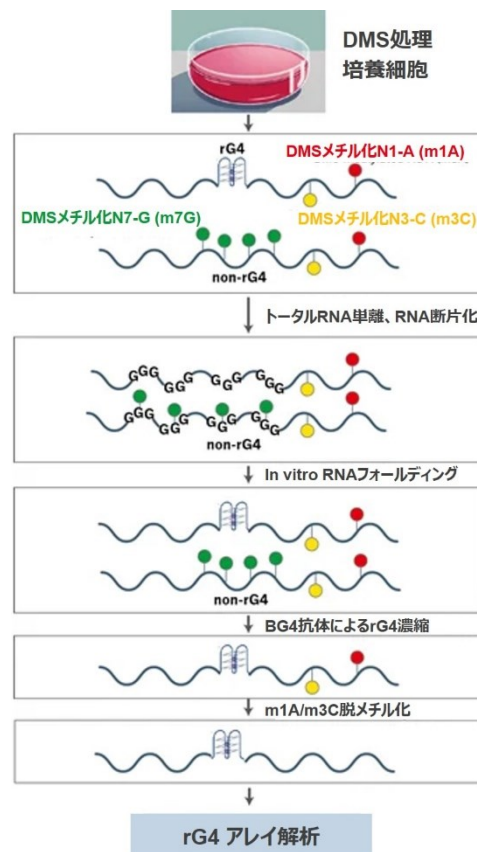
本サービスは、RNA QCチェックからデータ解析までのフルパッケージとなっています。

1. DMS 処理 Total RNA サンプルの受け取り
2. RNA の QC チェック： Total RNA の純度および量の測定、完全性の評価
3. RNA 断片化および in vivo RNA 再フォールディング
4. rG4 の BG4 抗体による免疫沈降
5. AikB 脱メチル化
6. cRNA の合成と標識
7. アレイのハイブリダイゼーション、洗浄、およびスキャンニング
8. データ抽出、アノテーション、解析

解析内容にはrG4に関するアノテーション (RNA配列上の位置、mRNA領域におけるサイト位置、関連するmRNAおよびlncRNA)、発現変動rG4部位とそのGene Ontology 解析、パスウェイ解析および階層クラスタリングヒートアップ、ボルケーノプロット等が含まれます。

(右図) rG4 Array プロファイリングのワークフロー

培養細胞を DMS 処理することで、A、C、G はメチル化されるが、rG4 内の G はメチル化されない。単離した RNA を K 存在下で、in vitro で断片化、変性、および再形成すると、m7G 修飾から保護されていた in vivo rG4 領域のみが再フォールディングされる。rG4 構造を含む RNA は、抗 G 四重鎖抗体 (BG4) で免疫沈降する。濃縮した RNA を脱メチル化し、T7 プロモーターを付加して二本鎖 cDNA に逆転写する。蛍光標識アンチセンス cRNA を、Cy3-CTP 色素基質を用いて T7 プロモーターから T7 ポリメラーゼにより in vitro で転写する。この cRNA を本アレイにハイブリダイズさせ、トランスクリプトーム中の rG4 領域を解析する。



サービス情報

サービス名	生物種	品番
rG4 Array 受託解析サービス	ヒト	F-AS-RMH1- [サンプル数]

サービス提供元



Arraystar Inc.

9430 Key West Avenue #128, Rockville, MD 20850, USA

TEL : 240-314-0388

E-mail : info@arraystar.com

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 愛知県名古屋市緑区定納山1丁目1409番地

TEL : 052-624-4388 FAX : 052-624-4389

E-mail : support@filgen.jp URL : <https://filgen.jp/>

代理店

(Apr.,2026)