



Arraystar

次世代シーケンス 受託解析サービス カタログ

エピゲノミクス&ゲノミクス

- eccDNAシーケンス
- lncRNAプロモーターMeDIPシーケンス
- R-loopプロファイリング

トランスクリプトミクス

- tRNAシーケンス
- tRF&tiRNAシーケンス

エピトランスクリプトミクス

- mim-tRNAシーケンス
- m3C HACシーケエンシンス
- m7G TRACシーケエンシンス
- RNA 修飾シーケエンシンス
- tRNA 修飾シーケエンシンス

Contents

サンプルQCから
データ解析まで
フルサービス

エピゲノミクス&ゲノミクス Epigenomic & Genomic Sequencing

03 eccDNA（染色体外環状 DNA）シーケンス受託解析サービス

micro-eccDNA と mega-eccDNA を同時にプロファイリング

micro-eccDNA と mega-eccDNA を同時にプロファイリング可能な解析です。酵素処理によりDNAサンプル中から不要な直鎖DNAやミトコンドリアDNAを除去することでeccDNAを無傷のまま濃縮します。さらに、ローリングサークル増幅（RCA）によってeccDNAを増幅することで、eccDNAのシグナルとデータ品質を大幅に向上させています。eccDNAは正常組織からがん細胞まで広く存在し、遺伝子増幅や疾患、特にがんの進展に深く関わる重要な分子であり、診断・予後マーカーとして注目されています。

05 lncRNAプロモーターMeDIP シーケンス受託解析サービス

メチル化およびヒドロキシメチル化修飾を特定

5mC（メチル化）および5hmC（ヒドロキシメチル化）修飾を特定する解析です。メチル化 / ヒドロキシメチル化DNA免疫沈降法（MeDIP/hMeDIP）と次世代シーケンシング（NGS）を組み合わせた手法で実施します。lncRNAプロモーター解析を含むため、mRNAとlncRNA遺伝子プロモーターの両方について、5mCまたは5hmC修飾の詳細なデータ解析およびアノテーションが取得可能です。lncRNAの転写は、細胞種、組織、疾患特異的に厳密に制御されており、その上流の制御機構を理解することは、lncRNA研究において重要です。

07 R-loopプロファイリング（DRIPc-Seq）受託解析サービス

lncRNA/mRNAの組織化されたR-loopの分布をプロファイル

ゲノムにおけるlncRNA/mRNAの組織化されたR-loopの分布をプロファイルします。S9.6抗体を用いてR-loopを特異的に免疫沈降し、R-loopのRNA鎖を配列決定・解析します。R-loopは、遺伝子制御、DNA複製、DNA/ヒストン修飾などに関与する重要な構造であり、本解析はエピジェネティックおよび転写制御に関する貴重な機能的知見を提供します。

トランスクリプトミクス Transcriptomic Sequencing

09 tRNA（転移RNA）シーケンス受託解析サービス

tRNAの変異体/バリエーション/アイソフォームを含むtRNAの正確なプロファイリング

tRNAを正確にプロファイリングし、tRNAの変異体/バリエーション/アイソフォームを感度よく検出可能な解析です。tRNAの内部および末端修飾を効率的に除去することで、高効率と高精度のRNA-seqを実現しています。解析には、tRNAのアノテーション、発現差解析など豊富なバイオインフォマティクス解析を含みます。tRNAは細胞の分化・増殖や、がん・糖尿病などの疾患に関連しており、tRNAレパートリーの解析は生物学的プロセスおよびヒト疾患の研究に重要です。

11 tRF&tiRNA（tRNA由来フラグメント&tRNAハーフ）シーケンス受託解析サービス

多くの疾患に関連が見られるtRF&tiRNAのプロファイリング

多くの疾患に関連が見られる tRF&tiRNA のシーケンスおよびこれらの特化したバイオインフォマティクス解析を実施します。tRF 及び tiRNA は、tRNA から産生され、small non-coding RNA として、様々な機能を有することから、多くの疾患と関連しています。本解析から得られる豊富な情報は、この新しい研究分野での次のステップの研究を容易に進めるのに役立ちます。

13 mim-tRNA シークエンス受託解析サービス

NEW

tRNAの発現、修飾、チャージレベルをプロファイリング

mim-tRNA-seq (modification-induced misincorporation tRNA-seq) は、tRNA発現、tRNA修飾、およびtRNAチャージングをプロファイリングできる新しい強力なtRNA-seqです。この手法では、耐熱性逆転写酵素TGIRTを用いてtRNAの完全長cDNAを高効率で合成し、tRNA発現プロファイルの定量解析を可能にします。tRNA修飾はTGIRT逆転写時に塩基の誤取り込みを誘導するため、mim-tRNA-seqはtRNA配列に誘導された変異に基づいて正確な塩基位置で修飾を検出します。3'-CCAの末端酸化/β脱離を解析することで、アミノ酸の荷電状態または非荷電状態を測定することができます。mim-tRNA-seqは、tRNA修飾によるcDNA合成における逆転写阻害や、従来のtRNA-seq技術における完全長cDNA収量の低下といった多くの問題を克服します。これは、たとえば抗がん剤耐性、心臓線維症、その他多くの疾患における tRNA 研究の鍵となる tRNA の量、tRNA の修飾、および tRNA のチャージプロファイルを提供します。

15 m3C HAC シークエンス受託解析サービス

NEW

1塩基レベルの解像度でtRNA m3C修飾部位を同定、修飾レベルを定量的プロファイリング

m3C HAC-Seq (Hydrazine-Aniline Cleavage Sequencing) は、tRNAのm3C修飾を単一ヌクレオチド解像度でトランスクリプトーム全体にわたってマッピングするためのシーケンシング技術です。m3Cは、tRNAの構造維持、デコーディング精度、および翻訳効率の保持に重要な役割を果たします。m3C関連酵素の調節異常やtRNA m3C修飾異常は、肝細胞がんや乳がんなどのがんにおける腫瘍の進行や転移、ならびに神経疾患やミトコンドリア病と関連付けられています。m3C HAC-Seqは、選択的ヒドラジン-アニリン化学切断、次世代シーケンシング、およびバイオインフォマティクス解析を組み合わせることで、エピトランスクリプトミクス研究のためのtRNA m3Cメチロームの正確かつ定量的なプロファイリングを可能にします。

17 m7G TRAC シークエンス受託解析サービス

NEW

tRNAトランスクリプトーム全体の m7G修飾を非バイアスに1塩基解像度でプロファイリング

TRAC-Seq (tRNA reduction and cleavage sequencing) は、化学反応を利用した手法で、tRNAトランスクリプトーム全体におけるm7G修飾を、バイアスなく単一ヌクレオチド分解能でプロファイリングします。m7G TRAC-Seqサービスは、サンプルからデータ取得までを含むフルサービスです。m7G TRAC-seqプロファイリングから得られる豊富な情報は、この分野における次のステップの研究にとっても有効です。

19 RNA修飾 シークエンス受託解析サービス

RNA修飾 (m1A、m5C、ac4C、m7G、ψのいずれか) をプロファイリング

RNA修飾 (m1A、m5C、ac4C、m7G、ψのいずれか) をプロファイリングする解析です。特にm6A解析においては、従来の抗体を用いたMeRIP法に加え、m6Am等との交差反応を抑え、高い特異性と配列優先性を持つ「GST-YTH法」を用いた解析もご用意しています。MeRIP-PCR による高い MeRIP効率を検証し、修飾サイトの100塩基以内の正確なピーク位置、および input コントロールの転写産物の存在量に基づいて修飾レベルを較正することで、高分解能かつ高精度なデータを提供いたします。

21 tRNA 修飾 シークエンス受託解析サービス

tRNAの複数のメチル化修飾 (m1A、m3C、m1G、m2,2G) を定量的にプロファイリング

高度に最適化されたtRNA-seq によって修飾部位、メチル化レベル、tRNA 発現を同時に解析する包括的なtRNAエピトランスクリプトーム解析です。tRNA における m1A、m3C、m1G、m2,2G 修飾を同時にプロファイリングします。



eccDNA（染色体外環状 DNA）

シーケンス受託解析サービス

micro-eccDNA と mega-eccDNA を同時にプロファイリング

DNA サンプル中には、圧倒的な量の直鎖状染色体 DNA と環状ミトコンドリアDNA (mtDNA) が存在しており、NGS 解析においてこれらは、染色体外環状 DNA (Extrachromosomal circular DNA : eccDNA) の取得リード数を大幅に減らす可能性があるため、eccDNA-Seq ではこれらを除去する必要があります。

本解析では、制限エンドヌクレアーゼ切断によって環状 mtDNA を線形化し、線形化された mtDNA と直鎖状染色体 DNA を直鎖 DNA 特異的エキソヌクレアーゼによって消化することで、サンプル中の eccDNA を無傷のまま濃縮します。ローリングサークル増幅 (RCA) によって eccDNA を増幅し、eccDNA のシグナルとデータ品質を大幅に向上させます。本サービスでは micro-eccDNA と mega-eccDNA を同時にプロファイリング可能です。

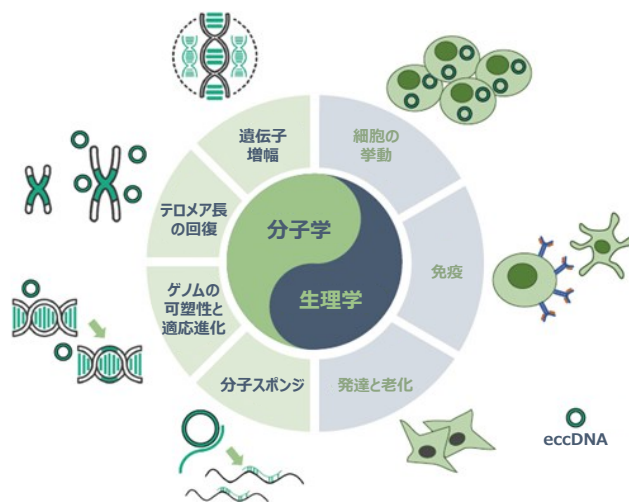
? なぜ eccDNA を研究するのか？

eccDNA は、通常の染色体 DNA の外側に存在する二本鎖環状 DNA 分子の一種で、ヒトの正常組織、がん組織、体液、およびその他の真核細胞に広く存在しています。長さにより、micro-eccDNA (10 kb 未満) と mega-eccDNA (10 kb 以上) の2つの主要なカテゴリに分類されます。

micro-eccDNA は、正常組織のゲノムの任意の領域から、またはプログラム細胞死の副産物として生じることがあります。これらの実態は、通常遺伝子を持たず、細胞内での増幅または増殖選択を受けていません。

染色体外 DNA (ecDNA) という用語は、非常に大きな mega-eccDNA、すなわちクローン的に遺伝し、自己複製し、増幅し、がん細胞でのみ選択される大きなクローン性環状 DNA 分子 (10 kb ~ 数 Mb) を指すのによく使われます。これらには、がん遺伝子、薬剤耐性遺伝子、またはモバイルスーパーエンハンサーなどが頻りに存在し、がんにとって進化的な選択的優位性をもたらしています。

eccDNA は多様な分子的 (遺伝子増幅、テロメア長回復など) および生理学的 (免疫、老化など) プロセスを制御し、様々な疾患と密接に関連しており、優れた診断および予後マーカーとなり得ます。近年、eccDNA は、がん研究における大きなブレイクスルーおよび研究ホットスポットの 1 つになっています。



<eccDNA 関連疾患に関する参考文献>

Zhao, Y., et al. (2022) "Extrachromosomal circular DNA: Current status and future prospects" *Elife* 11([PMID: 36256570])

🔍 サービス内容

本サービスは、ゲノム DNA ~ データ解析までのフルパッケージとなっています。

mtDNA の線状化および線状 DNA の除去後、
RCA およびライブラリー調製
対応生物種：ヒト、マウス、ラット

QC

QC

QC

次世代シーケンス反応

[シーケンスプラットフォーム]

NovaSeq 6000、または NextSeq 500、PE150

シーケンス量：130 M reads (20 Gb) / サンプル

バイオインフォマティクス解析

[解析内容]

- ・シーケンスデータの QC
- ・ゲノム参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- ・eccDNA 解析 (eccDNA の分類、アノテーション、ゲノム全体の染色体分布)
- ・eccDNA 発現変動解析
- ・発現変動 eccDNA 遺伝子のボルケーノプロット図
- ・発現変動 eccDNA 遺伝子の GO / Pathway 解析

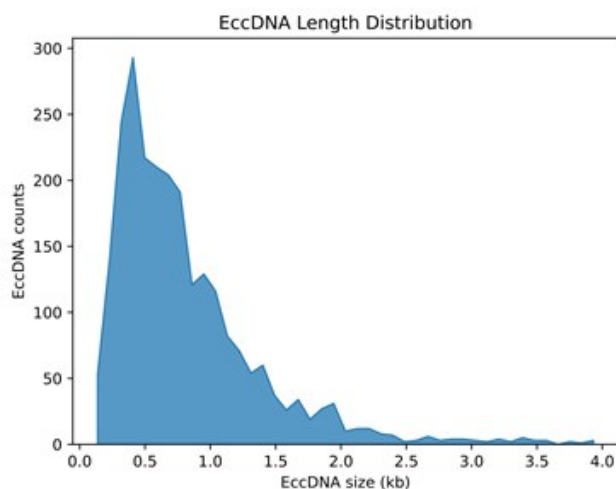
解析データ例

アノテーション付き eccDNA データ表

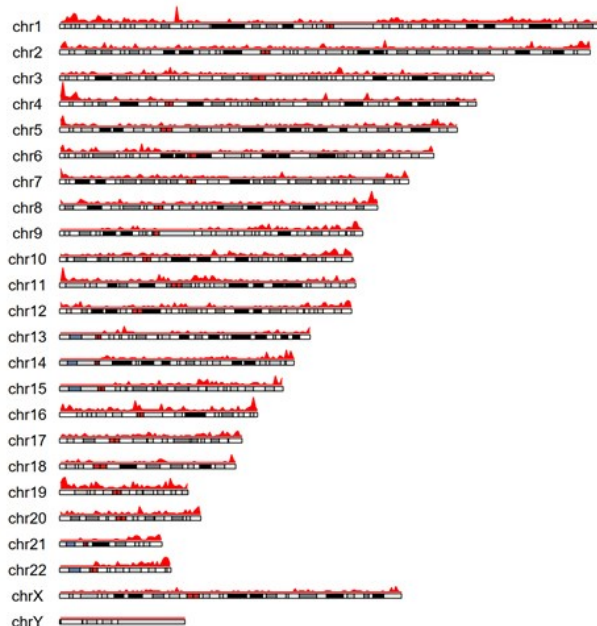
Type	Length	Soft clipped reads	Discordant pairs	Circle score	Chrom	Start	End
Mega-eccDNA	97,562,003	74	54	2733	Chr2	68799831	166361834
Mega-eccDNA	50,181,084	245	180	8117.43	ChrX	29724616	79905700
Mega-eccDNA	45,636,984	155	78	5603	Chr2	68533526	114170510
Mega-eccDNA	28,348,253	410	608	14514.49	ChrX	79870366	108218619
Micro-eccDNA	9,863	413	396	15689	Chr6	106157513	106167376
Micro-eccDNA	9,636	48	174	851.06	Chr4	169181379	169191015
Micro-eccDNA	9,403	179	124	7004	Chr13	86180618	86190021

Type	Gene ID	Overlap size	Gene ratio	Gene symbol	CancerDriverGene DB	Gene biotype	Gene locus
Mega-eccDNA	ENSG00000058085	58889	100%	LAMC2	TAG	Protein_coding	chr1:183155373-183214262+
Mega-eccDNA	ENSG00000163041	10168	100%	H3-3A	NCGV7;AC	Protein_coding	chr1:226249552-226259720+
Mega-eccDNA	ENSG00000158715	22658	100%	SLC45A3	IntOGen-DriverGenes;AC	Protein_coding	chr1:205626979-205649637-
Mega-eccDNA	ENSG00000143184	5464	100%	XCL1	DriverDBv3;AC	Protein_coding	chr1:168545843-168551307+

eccDNA サイズ分布のヒストグラム



ゲノム全体の eccDNA の分布



サービス情報・サンプル条件

サービス名

eccDNAシーケンス受託解析サービス

品番

F-AS-eccDNAseq- [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最少量	濃度	純度
ヒト、マウス、ラット	ゲノム DNA	> 3 µg	> 1 µg	> 20 ng/µL	O.D. _{260/280} : > 1.7 O.D. _{260/230} : > 1.8 アガロースゲル電気泳動：高分子 DNA のバンドがはっきりと確認できること



lncRNAプロモーターMeDIP

シーケンス受託解析サービス

メチル化およびヒドロキシメチル化修飾を特定

本解析は、メチル化DNA免疫沈降法（methylated DNA immunoprecipitation : MeDIP）またはヒドロキシメチル化DNA免疫沈降法（hydroxymethylated DNA immunoprecipitation : hMeDIP）と、NGS技術の組み合わせによるMeDIP / hMeDIPシーケンシングサービスです。本サービスでは、lncRNAプロモーター解析も含めており、mRNAとlncRNA遺伝子プロモーターの両方について、5mCまたは5hmC修飾の詳細なデータ解析およびアノテーションを取得するという利点が付加されています。

? lncRNAプロモーター解析とは？

lncRNA の転写は、タンパク質コード遺伝子の転写と比較して、細胞種、組織、疾患特異的に厳密に制御されています。lncRNA の発現異常の背後に何があるのか、上流の制御機構を理解することは、lncRNA 研究の重要な部分です。lncRNA の転写制御に関するエピジェネティックな研究は、ゲノムの観点から重要な手段です。

転写に重要なプロモーター領域における DNA メチル化やヒドロキシメチル化は、遺伝子発現を制御する作用があります。例えば、lncRNA-MEG3 プロモーター領域のメチル基修飾は、肝臓がんや統合失調症患者において異常な変化を示しています。食道がんでは、lncRNA プロモーターのメチル化シグネチャーが、mRNA プロモーターよりも高い腫瘍細胞・非腫瘍細胞間の分類能力を示しています。lncRNA プロモーターのメチル化調節異常は一般的で、乳がん検体では最大57%に見られます。lncRNA プロモーターのメチル化レベルと lncRNA 遺伝子発現は、当然のことながら有意に相関しています。

(h)MeDIP-Seq と lncRNA プロモーター解析の組み合わせにより、mRNA および lncRNA 遺伝子の両プロモーター上の 5mC または 5hmC 修飾の詳細なデータ解析およびアノテーションを得ることができます (図1)。

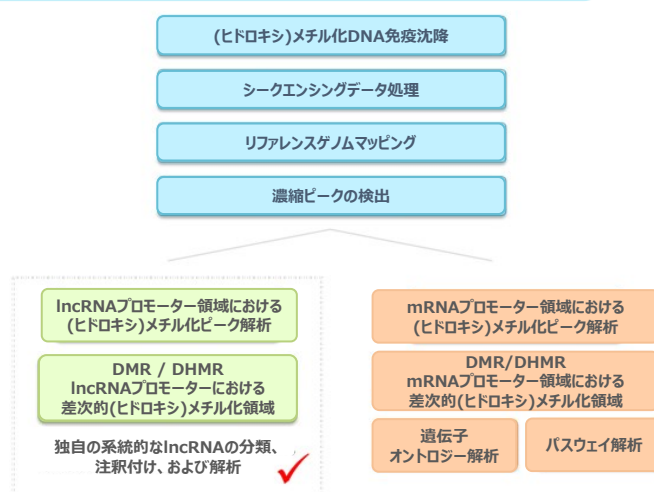
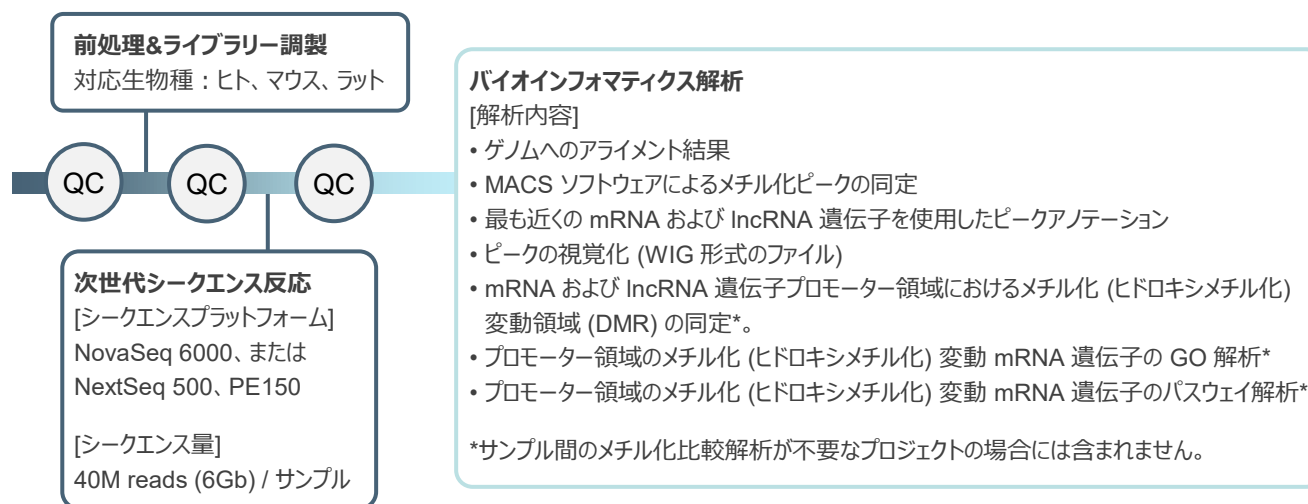


図1. tRF&tiRNA の機能および疾患との関連

🔍 サービス内容

本サービスは、ゲノム DNA ~ データ解析までのフルパッケージとなっています。厳格な QC プロセスによりパフォーマンスが最適化された (h)MeDIP 法を採用しており、mRNA および lncRNA の遺伝子プロモーターにおけるメチル化またはヒドロキシメチル化解析が可能です。



解析データ例

サンプル間またはグループ間の lncRNA プロモーター領域におけるメチル化 / ヒドロキシメチル化変動

lncRNA プロモーター領域 (-2000 bp of TSS) におけるメチル化 (ヒドロキシメチル化) 変動は、参照ゲノムにてアノテーション付けされます。

GeneName	DMR_To_TSS	DMR_Locus	DMR_Length	Group1_Count	Group2_Count	log2FC	p-value	q-value	Accession
ANKDD1A	-705	chr15:65213261-65213580	319	3.35	22.71	-2.76	5.88E-05	0.000749	ENST00000487867
AK123891	-986	chr22:32899261-32899540	279	1.67	33.47	-4.32	2.89E-09	5.32E-07	uc003aaw.1
LOC284412	82	chr19:37759681-37759980	299	53.79	17.57	1.61	1.14E-05	0.000274	NR_029390
RP11-616M22.3	1114	chr16:1255861-1256160	299	10.04	34.66	-1.79	0.000152	0.001803	ENST00000564700
RP11-354I13.2	-355	chr16:60393281-60393500	219	4.18	29.88	-2.84	2.95E-06	0.000111	ENST00000565506
FAM231D	1280	chr1:149288621-149288840	219	16.73	49	-1.55	4.74E-05	0.000675	NR_111934
MLL1	1579	chr19:6215121-6215680	559	83.67	11.71	2.84	5.22E-15	5.97E-12	ENST00000585588
AK055324	1653	chr19:47140581-47140940	359	19.24	54.98	-1.51	2.28E-05	0.000425	AK055324

図2. lncRNA プロモーター領域のメチル化変動領域は、fold change、統計的有意性のための p 値と q 値、およびゲノムアノテーションとともに表にまとめられます。

lncRNA プロモーターの (h)MeDIP-Seq と lncRNA 発現の組み合わせ解析

(h)MeDIP-Seq からのエピジェネティックな修飾データと遺伝子発現プロファイルを統合的に解析します。5mC または 5hmC の特異的な修飾遺伝子と発現変動遺伝子は、ヒートマップ上で階層的にクラスター化され、変化の相関をとることができます (図3)。

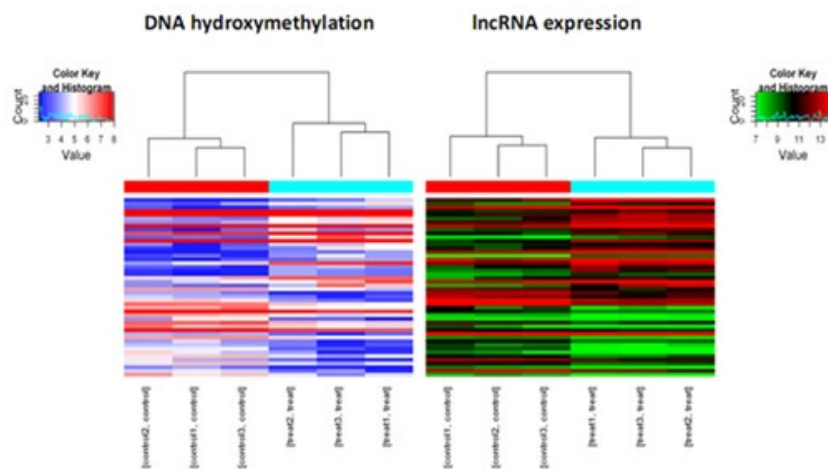


図3. hMeDIP-Seq と lncRNA 発現アレイプロファイルングを統合解析し、クラスタリングヒートマップを示す様に、lncRNA プロモーターのヒドロキシメチル化と lncRNA 遺伝子発現の関係を明らかにしたものです。

lncRNA プロモーターメチル化 (ヒドロキシメチル化) の視覚化

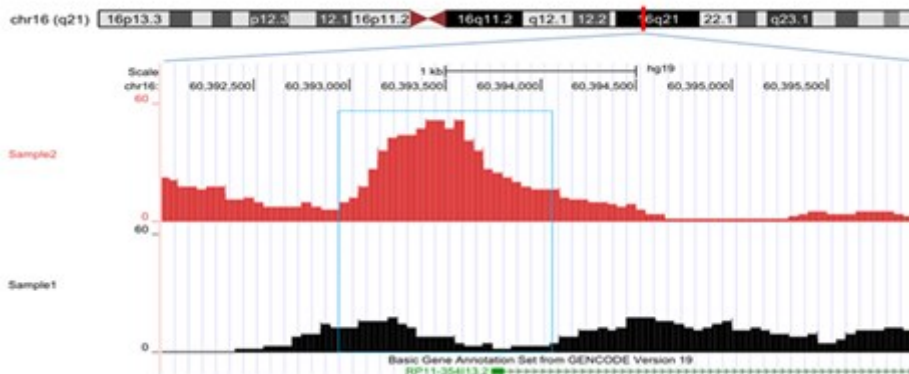


図4. hMeDIP-Seq データから得られたヒドロキシメチル化ピークを Genome Browser 上で視覚化します。

サービス情報・サンプル条件

サービス名		品番
lncRNAプロモーターMeDIP シーケンズ受託解析サービス	5mC, 5hmC, 6mA から選択	F-AS-MDIPseq- [修飾] - [H/M/R] - [サンプル数]
lncRNAプロモーターhMeDIP シーケンズ受託解析サービス	5mC, 5hmC, 6mA から選択	F-AS-hMDIPseq- [修飾] - [H/M/R] - [サンプル数]

※1サンプルの解析に「IP」「input」の両方の解析が含まれます。

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	純度
ヒト、マウス、ラット	ゲノム DNA	> 5 μ g	> 2 μ g	> 20 ng/ μ L	O.D. _{260/280} : > 1.7 O.D. _{260/230} : > 1.8 アガロースゲル電気泳動: 高分子 DNA のバンドがはっきりと確認できること



R-loopプロファイリング(DRIPc-Seq)

受託解析サービス

LncRNA/mRNAによって形成されるR-loopの分布をプロファイル

R-loop profiling (DRIPc-Seq) では、LncRNA や mRNA によって形成される R-loop のゲノム上での分布を解析します。本解析では、S9.6 抗体を用いて R-loop を特異的に免疫沈降させ、R-loop に含まれる RNA 鎖の塩基配列を決定・解析することで、R-loop によるエピジェネティックおよび転写制御に関する貴重な機能的知見を提供します。

? R-loopとは？

R-loop は、転写された RNA 鎖と鋳型 DNA 鎖が塩基対を形成した RNA・DNA ハイブリッドと、非鋳型一本鎖DNAから成る三本鎖構造です(図1)。R-loop は広く分布しており、哺乳類ゲノムの5%に存在しています。R-loop は多くの場合、プロモーターの CpG アイランドや転写停止部位に存在します。R-loop の形成には、高 GC スキュー (TSS 非テンプレート鎖の下流において C よりも G が豊富)、グアニン 4重鎖、DNA ギャップ、DNA/RNA 修飾が寄与しています。R-loop は、遺伝子制御、DNA 複製、DNA / ヒストン修飾など、生物学的に重要な機能を持っています。

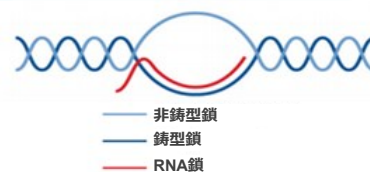


図1. R-loop の構造

R-loop による DNA メチル化と mRNA の転写の制御

通常、BAMBI (TGFb のネガティブレギュレーター) 遺伝子プロモーターの R-loop は転写を促進します。しかし、筋萎縮性側索硬化症 (ALS4) では、セナタキシンの変異により R-loop が減少し、BAMBI プロモーターでの DNA メチル化が増加し、BAMBI 転写抑制、TGFb シグナル伝達上昇、ALS 進行につながります(図2)。



図2. 健康な正常細胞では、BAMBI プロモーターの R-loop が転写を促進します。ALS 細胞では、セナタキシン変異がプロモーターの R-loop 形成と BAMBI 転写を抑制します。

アンチセンス lncRNA R-loop は、mRNA 転写に影響を与える

R-loop は、アンチセンス RNA 鎖とループ内の DNA との間に形成されます。TCF21 は多くのがんの腫瘍抑制因子です。TARID (脱メチル化を誘導する TCF21 アンチセンス RNA) は、TCF21 遺伝子の一対一のアンチセンス lncRNA であり、プロモーター領域に R-loop を形成しています(図3)。この R-loop は、GADD45a によって認識され、脱メチル化酵素 TET1 をリクルートして DNA メチル化を除去し、TCF21 mRNA 転写を増加させ、細胞周期を制御します。

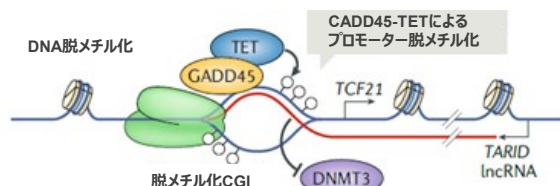


図3. アンチセンス lncRNA TARID は、R-loop を形成し TCF21 プロモーターの脱メチル化と TCF21 mRNA の転写を制御します。

サービス内容

本サービスは、ゲノム DNA ~ データ解析までのフルパッケージとなっています。確立された最適実験手順による高い信頼性を保ち、ポジティブおよびネガティブコントロールによる DRIP-Seq ライブラリーの品質を厳格に保証しています。ゲノム上の遺伝子制御における新たな担い手として R-loop 研究を利用するための強力なプロファイリングが可能です。また、豊富なアノテーション、ゲノムブラウザー 트랙に加えて、論文投稿用に利用できる高品質な視覚化データ(画像)をご提供いたします。

S9.6 抗体による DNA・RNA 免疫沈降およびライブラリー調製
対応生物種：ヒト、マウス、ラット

QC **QC** **QC**

次世代シーケンス反応
[シーケンスプラットフォーム]
NovaSeq 6000、または NextSeq 500、PE150
[シーケンス量]
40 M reads (6Gb) / サンプル

バイオインフォマティクス解析

[解析内容]

- シークエンスデータのQC
- ゲノム参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- R-loopピーク解析：R-loopピーク分類、gene feature上での分布とエンリッチメントおよび遺伝子本体内部での分布
- R-loopピークの変動解析
- 変動メチル化ピークのボルケーノプロット図
- 有意差のある R-loop ピークを含む遺伝子の GO / Pathway 解析

解析データ例

ピークコールとアノテーション

統計的に優れた DRIP 濃縮領域 (R-loop ピーク) は、MACS2 により p 値の閾値を 0.001 としてコールされます。

Peak_Information								Adjacent_Gene_Information		
Peak_Name	Peak_Locus	Peak_Direction	Source_of_RNA_in_R-loop	RNA_type	Peak_Width	log ₂ FC	p-value	Adjacent_Gene_Name	Gene_type	Peak_Classification
peak_8976	chr3:1284669 76-128467472	+	DNAJB5-AS1	lncRNA	497	3.15	0.015	DNAJB5	protein_coding	Promoter
peak_8976	chr3:1284669 76-128467472	+	DNAJB5-AS1	lncRNA	497	3.15	0.015	DNAJB5-AS1	lncRNA	GeneBody
peak_7653	chr10:800852 61-80085955	+	TMEM254	protein_coding	695	1.69	0.047	TMEM254	protein_coding	GeneBody
peak_4563	chrX:7383645 3-73836927	-	XIST	lncRNA	475	2.18	0.035	XIST	lncRNA	GeneBody
...

R-loopピークの種類

R-loop ピークは、UCSC RefSeq アノテーションに基づく直近の遺伝子特徴 (プロモーター、遺伝子本体、ターミネーター、遺伝子間) により分類されます (図4)。R-loop の分類分布のサマリー統計が提供されます。

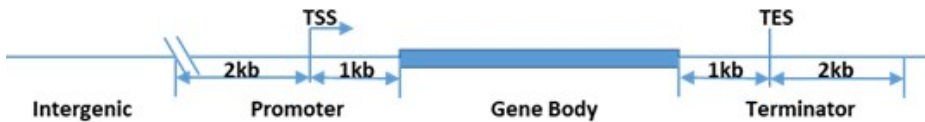


図4. 4 種類の遺伝子特徴における R-loop ピーク分類を示します。

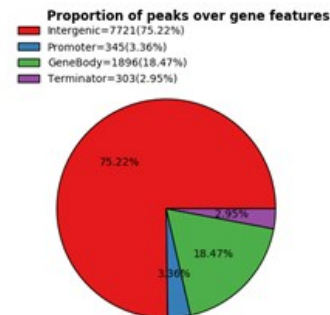


図5. 遺伝子特徴分類における R-loop ピークの割合を示します。

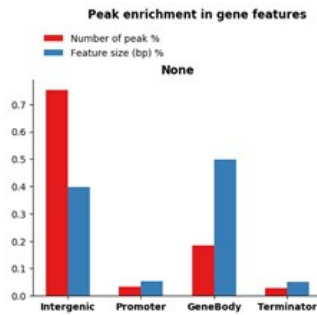


図6. 遺伝子特徴における R-loop ピークの濃縮度と、機能サイズに対して正規化されたランダム偶数分布の比較を表します。

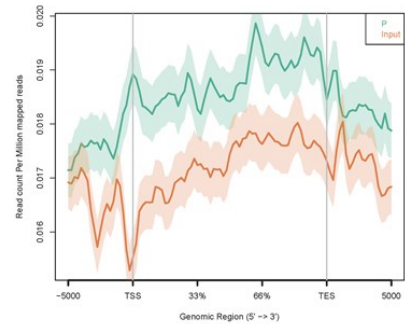


図7. 遺伝子本体上の R-loop ピーク分布を示します。X 軸は転写開始点 (TSS) と転写終了点 (TES) 間の遺伝子本体 (遺伝子本体の長さを 100 % に標準化) を表しています。Y 軸はマッピングされた 100 万リードあたりのリードカウントを示します。

サービス情報・サンプル条件

サービス名	品番
R-loopプロファイリング(DRIPc-Seq)受託解析サービス	F-AS-DRIPcseq- [サンプル数]

※1サンプルの解析に「IP」「input」の両方の解析が含まれます。

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	最小量	濃度	純度
ヒト、マウス、ラット	ゲノム DNA*	> 10μg	> 20ng/μL	O.D. _{260/280} : > 1.7 O.D. _{260/230} : > 1.8 アガロースゲル電気泳動：高分子DNAのバンドがはっきりと確認できること

* フェノール-クロロホルムで抽出してください。

* R-loop 構造の破壊を避けるため、抽出作業中にボルテックスをしないでください。



tRNA (転移RNA)

シーケンス受託解析サービス

tRNAの変異体／バリエーション／アイソフォームを含むtRNAの正確なプロファイリング

転移 RNA (tRNA) は遍在しており、すべての small non-coding RNA 分子の中で最も豊富に存在します。翻訳における基本的な構成要素として、tRNA は mRNA コード配列およびタンパク質配列間の物理的リンクとして機能しています。細胞増殖、分化、アポトーシスなどの多種多様な生物学的プロセスには、常に tRNA レベルの変動が伴います。tRNA レパートリーの変化は、細胞発生中の細胞運命の選択に影響を及ぼします (図1)。調節不全の tRNA レパートリーは、腫瘍形成およびがん進行を促進する可能性があります。さらに、2 型糖尿病、ハンチントン病、HIV 感染など、様々な疾患において tRNA レベルと分布に乱れが示されています。tRNA レパートリーの研究は、生物学的プロセスおよびヒト疾患研究の重要な部分となっています。

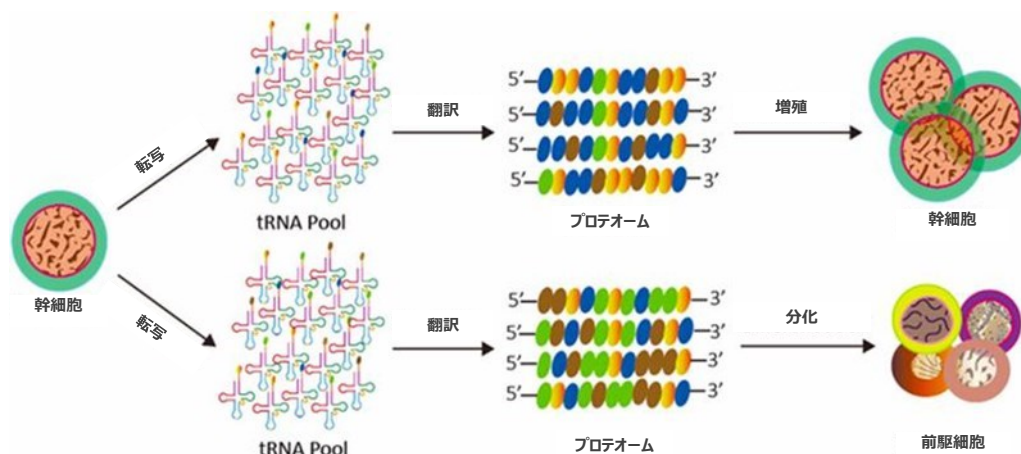


図1. 細胞運命決定における tRNA レパートリーの影響

tRNA は、はるかに多くの化学的にも多様な転写後の修飾を受け、この修飾は、tRNA の安定性、フォールディング、デコーディングに不可欠です。ペプチド合成のためのアミノ酸キャリアーとして、tRNA はアミノ酸が付加されている必要があります。しかし、これらのアミノアシル化された末端や内部修飾は、tRNA-Seq ライブラリー調製時のアダプターライゲーションや逆転写を阻害します。本サービスでは、tRNA に最適化された修飾除去と small RNA シーケンスを統合した最先端の tRNA-Seq 手法を採用し、tRNA 研究のための最も信頼性が高く正確な tRNA-Seq データを保証しています。

サービス内容

本サービスは、total RNA からデータ解析までのフルパッケージとなっています。tRNA の内部および末端修飾を効率的に除去して、前例のないレベルの tRNA-seq 効率と精度を実現しています。厳格な QC プロセスによりパフォーマンスが最適化された tRNA シーケンス法を採用しており、信頼できるすべてのデータベースからの包括的な tRNA トランスクリプトームリファレンス、および徹底した tRNA アノテーションが取得できます。また、バイオインフォマティクス解析では論文投稿用に利用できる高品質な視覚化データ (画像) をご提供いたします。

tRNA の単離・前処理およびライブラリー調製

対応生物種：ヒト、マウス、他、[GtRNAdb](#) に登録されている全生物種に対応

QC

QC

QC

次世代シーケンス反応

[シーケンスプラットフォーム]

NovaSeq 6000、または NextSeq 500、SE50

[シーケンス量]

5-10 M raw reads / サンプル

バイオインフォマティクス解析

解析内容]

- ・シーケンスデータ QC
- ・tRNA 参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- ・adaptor-trimmed reads の長さ分布
- ・tRNA の同定とアノテーション
- ・unique mapped reads に基づく tRNA 発現プロファイリング
- ・unique および multi-mapped reads に基づく tRNA 発現プロファイリング
- ・tRNA の発現差解析
- ・発現変動 tRNA の階層的クラスタリングヒートマップ
- ・発現変動 tRNA のスカッタープロット
- ・発現変動 tRNA のボルケーノプロット図

解析データ例

発現変動プロファイリング 1

Differential Expression Statistic				Annotation				
Isodecoder	FC	p_value	q_value	Isotype	Isoacceptor	Codon	tRNAscan Score	tRNAscanSSS
tRNA-Gly-CCC-3-1	0.374876127	2.20616E-07	2.64739E-05	Gly	Gly-CCC	GGG	73.1	24.3
tRNA-Gly-GCC-1-1	0.444682432	7.72736E-07	3.09094E-05	Gly	Gly-GCC	GGC,GGT	79.9	22.1
tRNA-Asn-GTT-1-1	2.107102673	3.01322E-05	0.000723174	Asn	Asn-GTT	AAC,AAT	77.7	24.3
tRNA-Asn-GTT-3-1	2.078479869	4.4458E-07	2.66748E-05	Asn	Asn-GTT	AAC,AAT	76.2	24.5

Annotation		
Isodecoder	Sequence	Structure
tRNA-Gly-CCC-3-1	GCAATTGGTGGTTCAATGTAGAAATTCGCTCCACGCGGGTACCAGGGTTCGATCCCGGCCAATGCACCA	
tRNA-Gly-GCC-1-1	GCATGGGTGGTTCAGTGGTAGAATTCGCTCCACGCGGGAGGCCGGTTCGATCCCGGCCAATGCACCA	
tRNA-Asn-GTT-1-1	GTCCTCCGTGGCGCAATCGGTCAGCGCGTTCGGCTGTAACCGAAAGGTTGGTTCGAGCCACCCGCGGACGCCA	
tRNA-Asn-GTT-3-1	GTCCTGTGGCGCAATCGGTTAGCGGCTTCGGCTGTAACCGAAAGGTTGGTTCGAGCCACCCAGGACGCCA	

図2. tRNA 発現プロファイリングでは、アンチコドン、配列、ドット-ブラケット構造表記、および発現レベルの詳細なアノテーションが付けられます。

発現変動プロファイリング 2

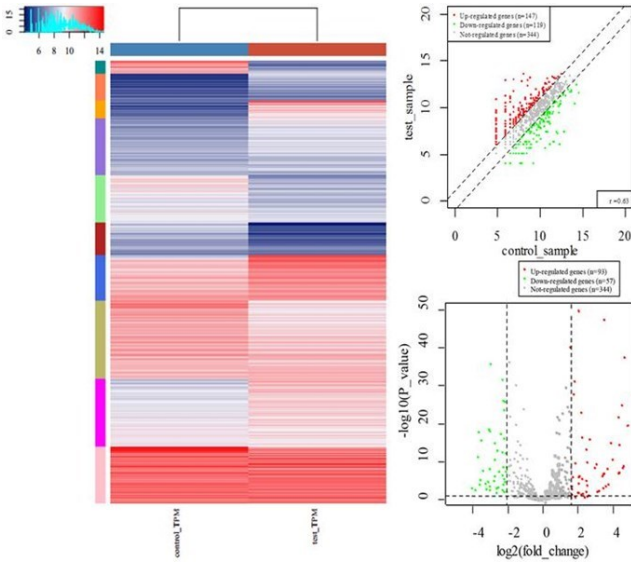


図3. 発現差解析のプロット。
発現変動 tRNA は、K-means クラスタリングヒートマップ、スキャッタープロットおよびボルケーノプロットで表示されます。

様々な tRNA 種類ごとの発現レベル (有償オプション)

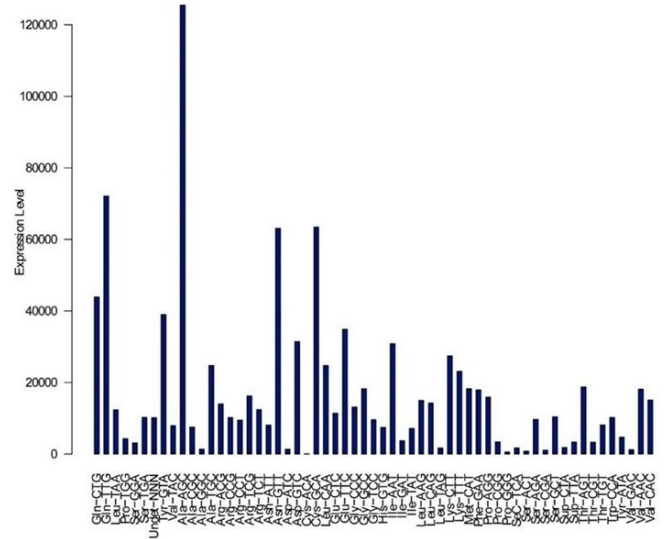


図4. アンチコドン別にグループ化された、様々な tRNA タイプの発現レベルを示しています。

サービス情報・サンプル条件

サービス名	品番
tRNAシーケンス受託解析サービス	F-AS-tRseq- [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	RIN	純度
ヒト、マウス、他、 GtRNAdb に登録され ている全生物種	total RNA	> 10 µg	> 5 µg	> 20 ng/µL	> 7.0	O.D. _{260/280} : 1.7~2.0 O.D. _{260/230} : > 1.8 ホルムアルデヒド変性1%アガロースゲル電気泳動： 18S および 28S rRNA のシャープなバンドが確認でき、 28S および 18S rRNA のバンド強度比が 2 : 1 程度であること



tRF&tiRNA (tRNA由来フラグメント&tRNAハーフ)

シーケンス受託解析サービス

多くの疾患に関連が見られるtRF&tiRNAのプロファイリング

tRF および tiRNA は tRNA から産生され、small non-coding RNA として様々な機能を有することから、多くの疾患と関連しています (図1)。また、tRF と tiRNA は、RNA 干渉において、microRNA として機能することが知られています (タンパク質との結合による mRNA の安定性の制御；シトクローム c との相互作用によるアポトーシスの制御；代謝性疾患の世代間遺伝における父性エピジェネティック因子である胚性転写カスケードの変更；ストレス環境に対するストレス顆粒の産生)。

tRF&tiRNA の組成・量は、細胞の種類や疾患状態に高度に依存しているため、優れたバイオマーカーとなっています。例えば、tRF&tiRNA の比率は、がんの無増悪生存期間の良き指標であり、また予後マーカーの候補となっています。また、tRNA および tRF&tiRNA 集団は、microRNA よりも非常に多く生物液中に存在しています。

Arraystar社の tRF&tiRNA のシーケンシングサービスは、次世代シーケンスからデータ解析まで対応することにより、この新分野の研究を支援します。

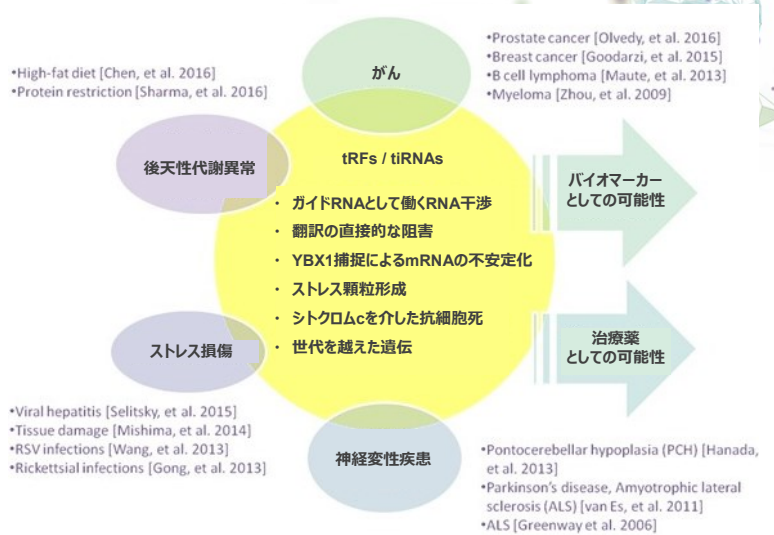
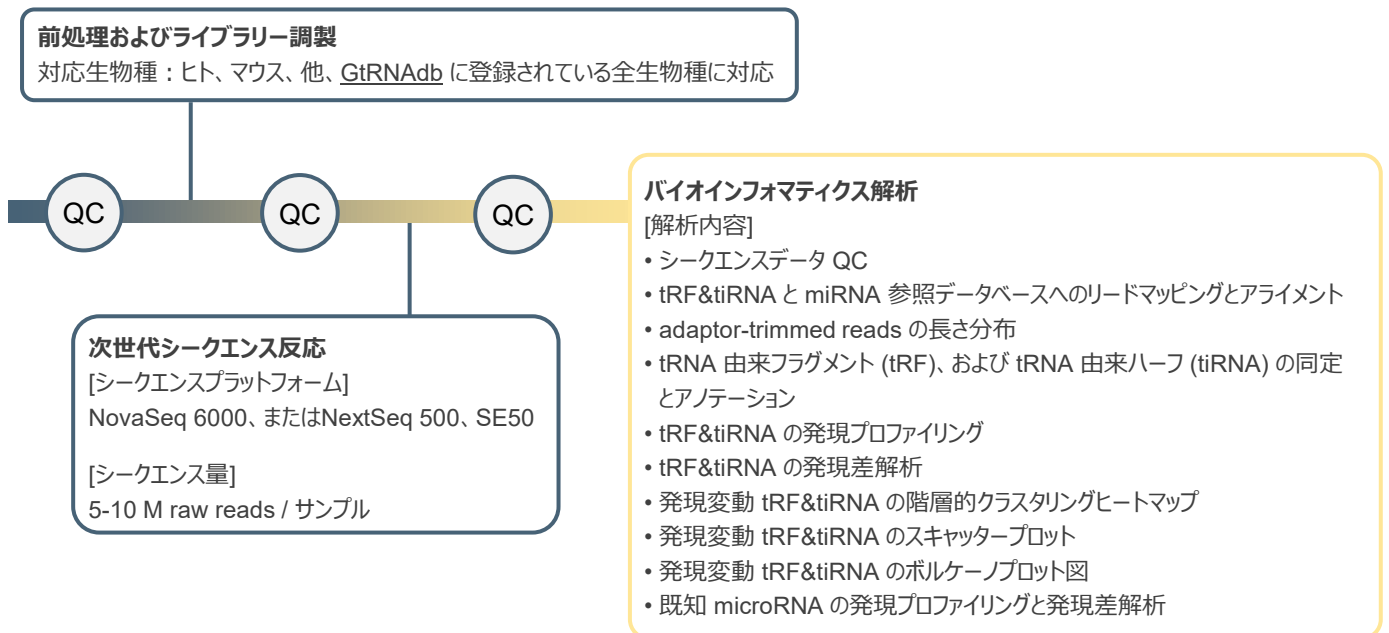


図1. tRF&tiRNA の機能および疾患との関連

サービス内容

本サービスは、total RNA～データ解析までのフルパッケージとなっています。厳格な QC プロセスによりパフォーマンスが最適化された tRF&tiRNA シーケンス法を採用しており、すべてのデータベースからの tRF および tiRNA の包括的なコレクション、および tRNA のトポロジーと統計的有意性に基づく正確なアノテーションと分類システムを実現しています。

また、データ解析では tRFs&tiRNAs に特化したバイオインフォマティクスと統計学的解析の他、miRNA の発現差解析も追加されています。加えて論文投稿用に利用できる高品質な視覚化データ (画像) をご提供いたします。



解析データ例

発現変動プロファイリングとアノテーション

tRF_ID	Differential Expression Statistic			Annotation			
	Fold_Change	p_value	q_value	Type	tRFdb_ID	MINTbase_ID	Length
tRF-42:62-chrM.Ser-GCT	0.226	1.21E-04	2.23E-03	tRF-3b	-	tRF-21-BOJ8N981B	21
tRF-1:14-Leu-TAA-1-1	0.379	7.83E-07	5.65E-03	tRF-5a	-	-	14
tRF-69:86-Leu-TAA-1-1	0.478	3.02E-03	3.17E-03	tRF-3a	3009a	tRF-18-ORER9LD2	18
tRF-1:31-iMet-CAT-1-1	0.158	4.45E-02	2.97E-03	tRF-5c	-	tRF-31-FP18LPMBQ4NKD	31
tRF-+1:T17-Ala-TGC-2-1	3.019	2.22E-04	3.44E-03	tRF-1	1029	-	17
tRF-30:43-Gln-CTG-1-1	2.889	1.25E-02	3.98E-03	tRF-2	-	-	14
tRF-1:22-Gly-GCC-1-1	2.221	3.27E-02	8.36E-03	tRF-5b	5003b	tRF-22-P4R8YP9LL	22
tiRNA-33:69-chrM.Thr-TGT	2.515	9.79E-03	9.33E-03	tiRNA-3	-	-	37

Annotation		
tRF_ID	tRF_Seq	AlignInfo
tRF-42:62-chrM.Ser-GCT	AACAACATGGCTTCTCACCA	chrM.tRNA12-SerGCT,GAGAAAGC...TCTCACCA,Ser-GCT,41
tRF-1:14-Leu-TAA-1-1	ACCAGGATGGCCGA	tRNA-Leu-TAA-1-1,ACCAGGAT...TGGTACCA,Leu-TAA,0
tRF-69:86-Leu-TAA-1-1	ACCCACTCCTGGTACCA	tRNA-Leu-TAA-1-1,ACCAGGAT...TGGTACCA,Leu-TAA,68
tRF-1:31-iMet-CAT-1-1	AGCAGATGGCGCAGCGGAAGCGTCTGGGC	tRNA-iMet-CAT-1-1,AGCAGAGT...TGCTACCA,iMet-CAT,0
tRF-+1:T17-Ala-TGC-2-1	ATAGGTATTAAGGTTTT	pre_tRNA-Ala-TGC-2-1,TTTTTAAA...TCAACGTA,Ala-TGC,112
tRF-30:43-Gln-CTG-1-1	GACTCTGAATCCAG	tRNA-Gln-CTG-1-1,GGTTCAT...AACCTCCA,Gln-CTG,29
tRF-1:22-Gly-GCC-1-1	GCATGGGTGTTCAAGGTAGA	tRNA-Gly-GCC-1-1,GCATGGGT...ATGCACCA,Gly-GCC,0
tiRNA-33:69-chrM.Thr-TGT	GTAAACCGGAGACGAAAAACCTTTTCCAAAGGACACCA	chrM.tRNA14-ThrTGT,GTCTTGT...GGACACCA,Thr-TGT,32

図2. tRF&tiRNA の配列、種類、長さ、tRNA の切断部位の詳細なアノテーションを含む変動解析データ表

発現変動プロファイリング 2

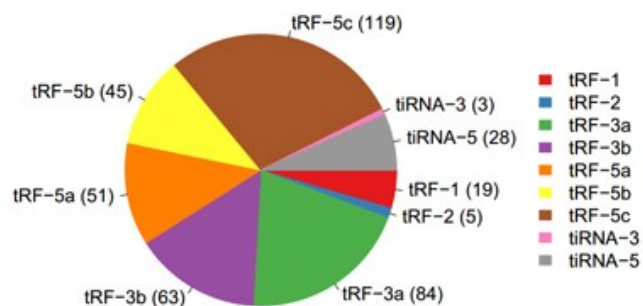


図3. tRF&tiRNA サブタイプの分布。
各色は、tRF&tiRNA のサブタイプを表しています。括弧内の数値は、tRF&tiRNA サブタイプの数を表しています。

サービス情報・サンプル条件

サービス名

tRF&tiRNAシーケンス受託解析サービス

品番

F-AS-tRFtiRseq- [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	RIN	純度
ヒト、マウス、他、 GtRNadb に登録さ れている全生物種	total RNA	> 10 µg	> 5 µg	> 20 ng/µL	> 7.0	O.D. _{260/280} : 1.7~2.0 O.D. _{260/230} : > 1.8 ホルムアルデヒド変性 1%アガロースゲル電気泳動： 18S および 28S rRNA のシャープなバンドが確認でき、 28S および 18S rRNA のバンド強度比が 2 : 1 程度であること



mim-tRNA

シーケンス受託解析サービス

tRNAの発現、修飾、チャージレベルをプロファイリング

mim-tRNA-seq (modification-induced misincorporation tRNA-seq) は、tRNA発現、tRNA修飾、およびtRNAチャージングをプロファイリングできる新しい強力なtRNA-seqです。この手法では、耐熱性逆転写酵素TGIRTを用いてtRNAの完全長cDNAを高効率で合成し、tRNA発現プロファイルの定量解析を可能にします。tRNA修飾はTGIRT逆転写時に塩基の誤取り込みを誘導するため、mim-tRNA-seqはtRNA配列に誘導された変異に基づいて正確な塩基位置で修飾を検出します。3'-CCAの末端酸化/β脱離を解析することで、アミノ酸の荷電状態または非荷電状態を測定することができます。mim-tRNA-seqは、tRNA修飾によるcDNA合成における逆転写阻害や、従来のtRNA-seq技術における完全長cDNA収量の低下といった多くの問題を克服します。これは、たとえば抗がん剤耐性、心臓線維症、その他多くの疾患における tRNA 研究の鍵となる tRNA の量、tRNA の修飾、および tRNA のチャージプロファイルを提供します。

❓ tRNAの発現、修飾、チャージはtRNAの分子機能を制御する上で重要な要素です

tRNAの発現レベルはmRNA翻訳に大きな影響を与えます。病態発生過程において、tRNA発現の差異によるtRNAレパートリーの変化が、コード選択性を介して標的mRNAの翻訳効率と精度を直接制御します。細胞増殖、分化、アポトーシスは、しばしばtRNAの発現レベルによって動的に調節されます。

tRNAの修飾はタンパク質翻訳に大きな影響を与えます。特定の修飾 (m7G、m1Aなど) はtRNAとリボソームの親和性を高め、mRNAの翻訳速度と安定性を向上させることができますが、異常なtRNA修飾はリボソームの停滞やデコードエラーを引き起こし、タンパク質合成の問題につながる可能性があります。

tRNAのチャージはmRNAの翻訳効率と相関しています。アミノ酸がチャージされたtRNAのみがリボソームに入り、アンチコドンと対合できるため、アミノアシル化レベルはtRNAの翻訳活性を直接決定します。つまり、tRNAのアミノアシル化レベルが低いと翻訳効率が低下し、mRNAの分解、細胞機能不全、場合によっては病原性の引き金となります。

近年、tRNAの発現、修飾、アミノアシル化の異常は、がん、心血管疾患、神経変性疾患、ウイルス感染症などとの関連が指摘されています。

tRNAの発現、修飾、およびチャージは極めて重要であるにもかかわらず、そのプロファイリングは、tRNAの非常に安定したフォールド構造と、従来のsmall RNAシーケンスライブラリー構築を妨げる重度のtRNA修飾のために、技術的に困難でした。その結果、cDNA収量の低下、フラグメントカバレッジの偏り、定量精度の低下といった問題が生じていました。本解析は、tRNAの発現、tRNAの修飾、およびtRNAのチャージを同時にプロファイリングする際のあらゆる困難を克服する、最先端の技術です。

🔍 サービス内容

本サービスは、Total RNA (保護+脱アシル化済み) ~ データ解析までのフルパッケージです。

RNAの酸化とβ脱離、tRNA単離

対応生物種：ヒト、マウス、他、GtRNAdbに登録されている全生物種に対応

QC

QC

QC

次世代シーケンス反応

[シーケンスプラットフォーム]

NovaSeq 6000、または NextSeq 500、SE150

シーケンス量：5-10 M reads / サンプル

バイオインフォマティクス解析

[解析内容]

- ・シーケンスデータの QC
- ・tRNA参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- ・tRNAアイソデコーダーおよびアンチコドンレベルでの発現差解析
- ・発現変動 tRNA のヒートマップ、スカッタープロット、ボルケーノプロット図
- ・発現変動 tRNA のスカッタープロット
- ・tRNA修飾部位の同定
- ・変動tRNA修飾部位のヒートマップ、スカッタープロット、ボルケーノプロット図
- ・アミノアシル化に関する3'-CCA末端解析 (ジヌクレオチド末端の割合と、3'-CCA、3'-CC、3'Cおよび3'末端欠損の平均割合を示す分岐的棒グラフ)

解析データ例

tRNA発現差解析結果

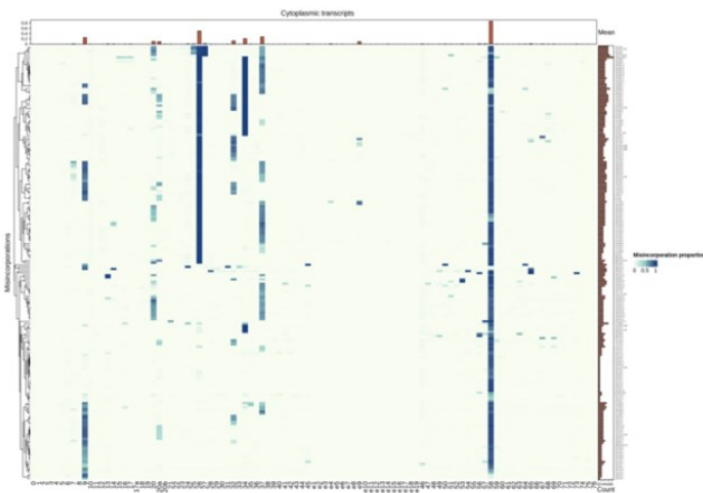
isodecoder	mimseq_hek_1	mimseq_hek_2	mimseq_k562_1	mimseq_k562_2
Homo_sapiens_mito_tRNA-Ala-TGC-1	209	192	421	372
Homo_sapiens_mito_tRNA-Arg-TCG-1	1480	671	237	123

isoacceptor	mimseq_hek_1	mimseq_hek_2	mimseq_k562_1	mimseq_k562_2
Homo_sapiens_mito_tRNA-Ala-TGC	209	192	421	372
Homo_sapiens_mito_tRNA-Arg-TCG	1480	671	237	123

tRNA修飾変動解析結果

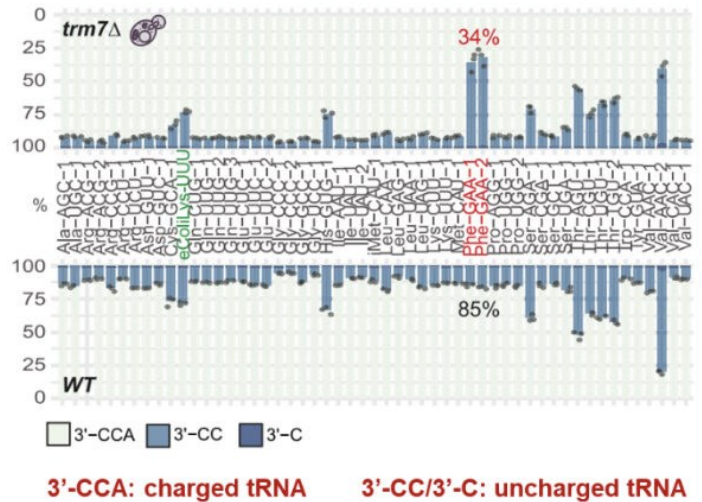
isodecoder	Annotation			
	pos	canon_pos	identity	known_modified
Homo_sapiens_mito_tRNA-Ala-TGC-1	8	9	A	m1A
Homo_sapiens_mito_tRNA-Ala-TGC-1	33	37	G	m1G

tRNA修飾ヒートマップ



tRNAチャージング変動解析

gene	end	condition	x.mean
Ala-AGC-1	Absent	HEK293T	-0.205
Ala-AGC-10	Absent	HEK293T	0
Ala-AGC-11	Absent	HEK293T	-0.185
Ala-AGC-12	Absent	HEK293T	-0.29



サービス情報・サンプル条件

サービス名	品番
mim-tRNAシーケンス受託解析サービス	F-AS-mimtRseq- [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	RIN	純度
ヒト、マウス、他、GtRNAdb に登録されている全生物種	total RNA ※保護 + 脱アシル化処理済み	> 10 µg	> 5 µg	> 20 ng/µL	> 7.0	O.D. _{260/280} : 1.7~2.0 O.D. _{260/230} : > 1.8 ホルムアルデヒド変性 1%アガロースゲル電気泳動 : 18S および 28S rRNA のシャープなバンドが確認でき、 28S および 18S rRNA のバンド強度比が 2 : 1 程度であること

※サンプル調製方法の詳細については、お問い合わせください。



m3C HAC

シーケンス受託解析サービス

1塩基レベルの解像度でtRNA m3C修飾部位を同定、修飾レベルを定量的プロファイリング

m3C HAC-Seq (Hydrazine-Aniline Cleavage Sequencing) は、tRNAのm3C修飾を単一ヌクレオチド解像度でトランスクリプトーム全体にわたってマッピングするためのシーケンシング技術です。m3Cは、tRNAの構造維持、デコーディング精度、および翻訳効率の保持に重要な役割を果たします。m3C関連酵素の調節異常やtRNA m3C修飾異常は、肝細胞がんや乳がんなどのがんにおける腫瘍の進行や転移、ならびに神経疾患やミトコンドリア病と関連付けられています。m3C HAC-Seqは、選択的ヒドラジン-アニリン化学切断、次世代シーケンシング、およびバイオフィオマティクス解析を組み合わせることで、エピトランスクリプトミクス研究のためのtRNA m3Cメチロームの正確かつ定量的なプロファイリングを可能にします。

? tRNA m3C修飾とは？

1963年に初めて同定されたN3-メチルシチジン (m3C) は、アンチコドンループの32位に存在する、真核生物のtRNA^{Ser}、tRNA^{Thr}、およびtRNA^{Arg}に見られる保存されたtRNA修飾です。この修飾は、翻訳と細胞生理の重要な調節因子として機能します。

ミトコンドリアにおいて、tRNA^{Thr/Ser}(UCN)上のMETTL8依存性m3Cは、タンパク質合成、呼吸活性、および神経幹細胞の維持に不可欠です[1]。tRNA-Ser-GCT上のMETTL2A/2B/6によって媒介される細胞質内のm3C32は、AGUコドンの効率的な解読を促進し、細胞周期およびDNA修復の調節因子の翻訳を促進します[2]。

翻訳以外にも、m3Cは疾患や発生において重要な役割を担っています。DALRD3依存性のtRNA-Arg修飾は神経機能に不可欠であり[3]、その一方でMETTL6を介したtRNA-Serの修飾は多能性および腫瘍形成を支えています[4]。さらに、核内のMETTL8はそのメチルトランスフェラーゼ活性を通じてRループを安定化させ、tRNAのm3C修飾機構とゲノム組織化を結びつけています[5]。

Reference

1. Zhang F et al: Epitranscriptomic regulation of cortical neurogenesis via Mettl8-dependent mitochondrial tRNA m(3)C modification. Cell Stem Cell 2023, 30(3):300-311 e311.[PMID: 36764294]
2. Cui J et al: m(3)C32 tRNA modification controls serine codon-biased mRNA translation, cell cycle, and DNA-damage response. Nat Commun 2024, 15(1):5775.[PMID: 38982125]
3. Lentini JM et al: DALRD3 encodes a protein mutated in epileptic encephalopathy that targets arginine tRNAs for 3-methylcytosine modification. Nat Commun 2020, 11(1):2510.[PMID: 32427860]
4. Ignatova VV et al: METTL6 is a tRNA m(3)C methyltransferase that regulates pluripotency and tumor cell growth. Sci Adv 2020, 6(35):eaaz4551.[PMID: 32923617]
5. Zhang LH et al: The SUMOylated METTL8 Induces R-loop and Tumorigenesis via m3C. iScience 2020, 23(3):100968.[PMID: 32199293]

🔍 サービス内容

本サービスは、Total RNA ~ データ解析までのフルパッケージです。

tRNAの単離・前処理およびライブラリー調製
 対応生物種：ヒト、マウス、他、GtRNAdb に登録されている全生物種に対応

QC

QC

QC

次世代シーケンス反応

[シーケンスプラットフォーム]

NovaSeq 6000、または NextSeq 500、SE100

シーケンス量：10 M reads / サンプル (脱メチル化処理/未処理のそれぞれ)

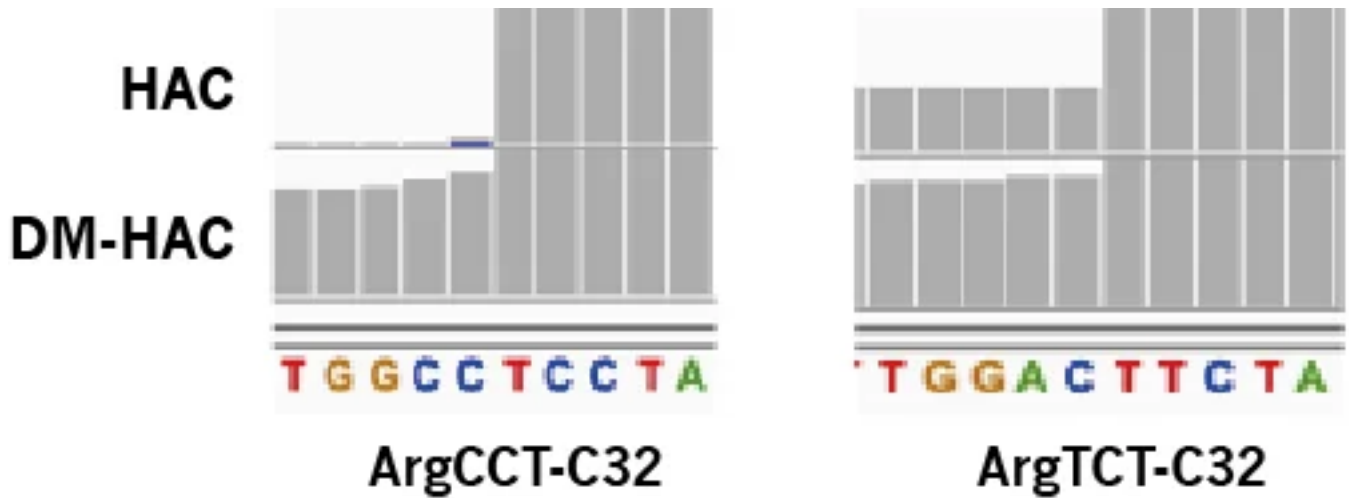
バイオフィオマティクス解析

[解析内容]

- ・シーケンスデータの QC
- ・tRNA参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- ・tRNA m3C修飾部位の同定と修飾レベルの定量化、およびtRNAアノテーション
- ・m3C修飾部位のモチーフ解析
- ・m3C修飾差解析
- ・変動 m3C修飾部位のヒートマップ、スキャッタープロット、ボルケーノプロット図

解析データ例

tRNA上のm3C32部位周辺のリードアライメントのIGV表示



m3C修飾tRNAの配列モチーフ解析



サービス情報・サンプル条件

サービス名	品番
m3C HACシーケンス受託解析サービス	F-AS-HACseq- [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	RIN	純度
ヒト、マウス、他、 GtRNADB に登録さ れている全生物種	total RNA	> 20 µg	> 10 µg	> 20 ng/µL	> 7.0	O.D. _{260/280} : 1.7~2.0 O.D. _{260/230} : > 1.8 ホルムアルデヒド変性 1%アガロースゲル電気泳動： 18S および 28S rRNA のシャープなバンドが確認でき、 28S および 18S rRNA のバンド強度比が 2 : 1 程度であること



m7G TRAC

シーケンス受託解析サービス

tRNAトランスクリプトーム全体の m7G修飾を非バイアスに1塩基解像度でプロファイリング

TRAC-Seq (tRNA reduction and cleavage sequencing) は、化学反応を利用した手法で、tRNAトランスクリプトーム全体におけるm7G修飾を、バイアスなく単一ヌクレオチド分解能でプロファイリングします。m7G TRAC-Seqサービスは、サンプルからデータ取得までを含むフルサービスです。m7G TRAC-seqプロファイリングから得られる豊富な情報は、この分野における次のステップの研究にとっても有効です。

? tRNA m7G修飾とは？

N7-メチルグアノシン (N7-methylguanosine : m7G) は、特定のtRNAの変形ループの46位に主に存在する保存されたtRNA修飾であり、METTL1/WDR4メチルトランスフェラーゼ複合体によって酵素的に付加されます。m7Gは、C13-G22-m7G46塩基三重構造の形成を通じてtRNAの構造的完全性を維持する上で極めて重要な役割を果たし、それによってtRNAを急速な分解経路から保護します。機能的には、m7Gは胚発における幹細胞の自己複製と適切な分化決定に不可欠です[1]。さらに、m7G修飾tRNAは、コドンに富むmRNA、特に細胞周期の進行、増殖、成長シグナル伝達に関与するオンコタンパク質をコードするmRNAの翻訳効率を高めます。m7Gの調節異常、特にMETTL1の過剰発現は、m7G修飾tRNA (例 : Arg-TCT-4-1、Lys-CTT、Val-AAC) のレベルを上昇させ、白血病、膠芽腫、胆管がん、肺がんなど様々な悪性腫瘍の腫瘍形成を促進します[2-4]。

Reference

1. Lin S et al: Mettl1/Wdr4-Mediated m(7)G tRNA Methylation Is Required for Normal mRNA Translation and Embryonic Stem Cell Self-Renewal and Differentiation. Mol Cell 2018, 71(2):244-255 e245.[PMID: 29983320]
2. Orellana EA et al: METTL1-mediated m(7)G modification of Arg-TCT tRNA drives oncogenic transformation. Mol Cell 2021, 81(16):3323-3338 e3314.[PMID: 34352207]
3. Dai Z et al: N(7)-Methylguanosine tRNA modification enhances oncogenic mRNA translation and promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression. Mol Cell 2021, 81(16):3339-3355 e3338.[PMID: 34352206]
4. Ma J et al: METTL1/WDR4-mediated m(7)G tRNA modifications and m(7)G codon usage promote mRNA translation and lung cancer progression. Mol Ther 2021, 29(12):3422-3435.[PMID: 34371184]

🔍 サービス内容

本サービスは、Total RNA ~ データ解析までのフルパッケージです。

tRNAの単離・前処理およびライブラリー調製
 対応生物種 : ヒト、マウス、他、GtRNAdb に登録されている全生物種に対応

QC

QC

QC

次世代シーケンス反応

[シーケンスプラットフォーム]

NovaSeq 6000、または NextSeq 500、SE100

シーケンス量 : 10 M reads / サンプル (NaBH₄/アニン処理/未処理のそれぞれ)

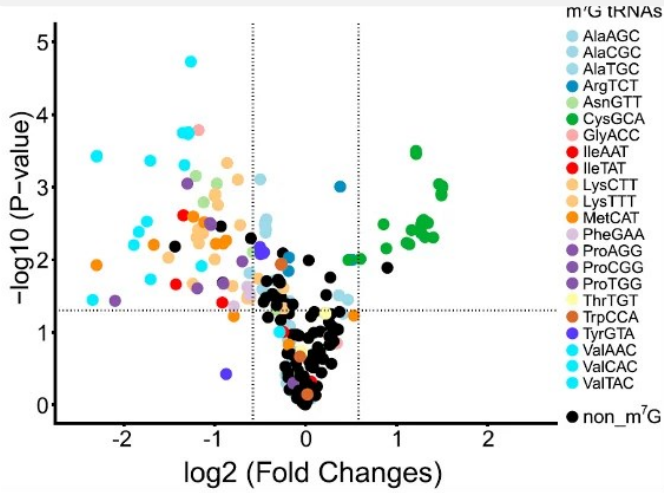
バイオインフォマティクス解析

[解析内容]

- ・シーケンスデータの QC
- ・tRNA参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- ・tRNA m7G修飾部位と修飾レベル、およびtRNAアノテーション
- ・m7G修飾部位のモチーフ解析
- ・m7G修飾差解析
- ・変動 m3C修飾部位のヒートマップ
- ・変動 m3C修飾部位のスカッタープロット
- ・変動 m3C修飾部位のボルケーノプロット図

解析データ例

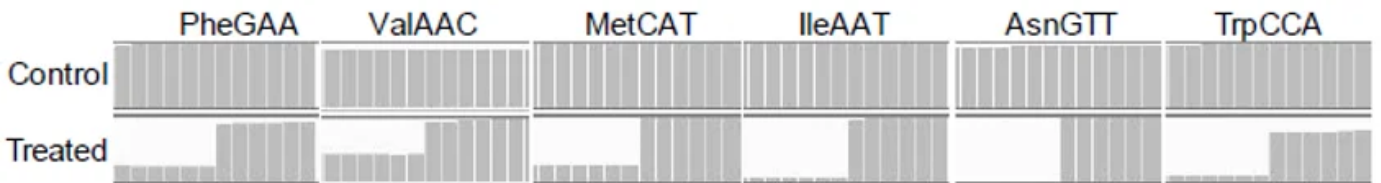
発現変動m7G-tRNAのボルケーノプロット



m3C修飾tRNAの配列モチーフ解析



m7G部位の同定のためのm7G TRAC-seqリードのアライメント



サービス情報・サンプル条件

サービス名	品番
m7G TRACシーケンス受託解析サービス	F-AS-TRACseq- [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	RIN	純度
ヒト、マウス、他、 GtRNadb に登録さ れている全生物種	total RNA	> 20 µg	> 10 µg	> 20 ng/µL	> 7.0	O.D. _{260/280} : 1.7~2.0 O.D. _{260/230} : > 1.8 ホルムアルデヒド変性 1%アガロースゲル電気泳動： 18S および 28S rRNA のシャープなバンドが確認でき、 28S および 18S rRNA のバンド強度比が 2 : 1 程度であること



RNA修飾

シーケンス受託解析サービス

RNA修飾(m1A、m5C、ac4C、m7G、ψのいずれか)をプロファイリング

RNA 修飾シーケンシング受託解析サービスでは、RNA 免疫沈降シーケンシングにより、N6-メチルアデノシチン (m6A)、1-メチルアデノシチン (m1A)、5-メチルシチジン (m5C)、N4-アセチルチミジン (ac4C)、7-メチルグアノシン (m7G)、およびシュドウリジン (ψ) エピトランスクリプトーム修飾のいずれかをプロファイリングします。m6A 修飾には、m6A 抗体免疫沈降による MeRIP 法と m6A リーダー GST-YTH 法によるプルダウンの 2 つの m6A-RNA 濃縮法をご用意しています。

? GST-YTH法について

GST-HTH は、m6A RNA 濃縮用の GST タグを備えた、YTH-DF2 m6A リーダードメイン (a.a.385-579) の組換え融合タンパク質です。YTH は進化的に保存された構造ドメインであり、コンセンサス RRACH モチーフ内の m6A を選択的に「読み取り」、結合します。構造的には、YTH ドメインには 2~3 個のトリプトファン残基があり、m6A に対して芳香族ケージと結合ポケットを形成し、さらに m6A の前後のヌクレオチドとも相互作用することで、RRACH モチーフに配列優先性を与えています (図1)。すなわち、GST-YTH は m6A 構造および RRACH 配列モチーフに依存的に m6A を含む RNA と結合するが、そのいずれも m6Am や他の類似の RNA 修飾とは異なります。したがって、GST-YTH のプルダウン法は、m6A 抗体 MeRIP による様な他の構造的に類似した RNA 修飾、特に m6Am との交差反応性を示すことなく、m6A に対して高度に特異的です。

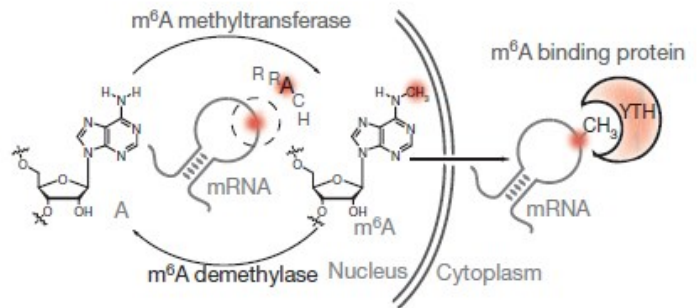


図1. YTHは、m6A 構造および RRACH 配列モチーフ依存的に m6A 修飾 RNA に結合し、m6Am などの他の類似の RNA 修飾に対する交差反応性なしに、m6A に対してより高い特異性を示します。

🔍 サービス内容

本サービスは、total RNA ~ データ解析までのフルパッケージとなっています。厳格な QC プロセスとして MeRIP-PCR による高い MeRIP 効率を検証し、修飾サイトの 100 塩基以内の正確なピーク位置、および input コントロールの転写産物の存在量に基づいて修飾レベルを校正することで、高分解能かつ高精度なデータをご提供いたします。また、論文投稿用に利用できる高品質なメチル化変動解析、ピーク分布、およびモチーフの同定データをご提供いたします。

mRNA の単離・断片化、免疫沈降 (m6A, m1A, m5C, ac4C, m7G, Pseudouridine 抗体のいずれか) または GST-YTH 法による m6A RNA 濃縮、およびライブラリー調製
 対応生物種：ヒト、マウス、ラット

QC

QC

QC

次世代シーケンス反応

[シーケンスプラットフォーム]

NovaSeq 6000、または NextSeq 500、PE150

[シーケンス量]

20 M reads (3Gb) / サンプル

バイオインフォマティクス解析

[解析内容]

- シーケンスデータの QC
- ゲノム参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- メチル化ピークのアノテーション
- メチル化ピークの変動解析
- 変動メチル化ピークのボルケーノプロット図
- 有意差のあるピークを含む遺伝子の GO / Pathway 解析
- モチーフの同定

解析データ例

トランスクリプトームにおける RNA 修飾のピーク分布

Peak information								Peak annotation	
Chromosome	Peak_start	Peak_end	Trans_id	Gene_name	Strand	P_value	fold_enrichment	RNA_length	Peak_region
chr20	479923	489122	ENST00000400227.3	CSNK2A1	-	3.1E-06	2.45	1483	cds
chr2	178095776	178095923	ENST00000449627.1	NFE2L2	-	1.8E-05	5.03	909	cds
chr19	19103355	19103476	ENST00000601879.1	SUGP2	-	4.2E-05	10.7	5546	utr3
chr12	95688078	95689995	ENST00000261219.6	VEZT	+	6.1659	3.21	2951	cds
chr1	67874959	67875139	ENST00000370994.4	SERBP1	-	1.3E-04	2.8	6676	utr3
chr16	31091071	31091192	ENST00000300850.5	ZNF646	+	4.5E-04	4.06	6892	cds

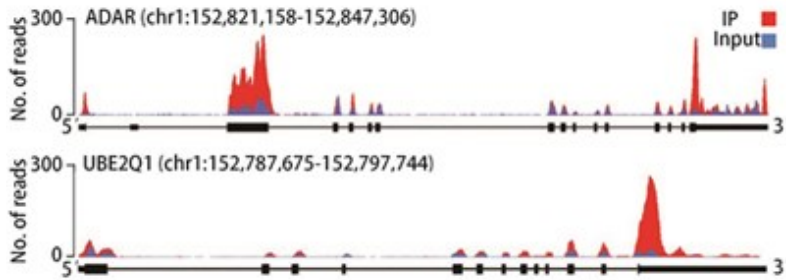


図2. ヒト ADAR1 および UBE2Q1 mRNA の m6A ピークを、提供されたトラックファイルをゲノムブラウザにロードすることで視覚化します。

mRNA 領域全体の m6A ピークリードの分布

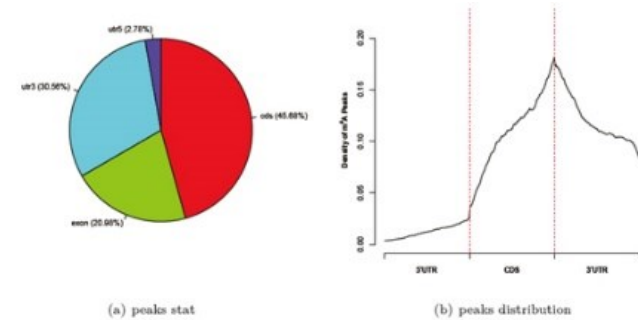


図3. mRNA の 5'UTR、CDS、3'UTR 領域における m6A ピークのピーク統計 (左) と密度分布 (右) を示します。

m6A ピーク配列のモチーフ解析



図4. m6A ピークの配列モチーフは、DREME アルゴリズムで同定され、配列ロゴ表現で示されます。

サービス情報・サンプル条件

サービス名	修飾	品番
RNA修飾シーケンス受託解析サービス (抗体免疫沈降)	m6A/m5C/m1A/ac4C/m7G/ψ *いずれか1つを選択	F-AS-MRIPseq- [修飾] - [H/M/R] - [サンプル数]
RNA修飾シーケンス受託解析サービス (GST-YTH プルダウン)	m6A	F-AS-GSTYTH- [H/M/R] - [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	RIN	純度
ヒト、マウス、ラット	total RNA	> 200 µg	> 100 µg	> 20 ng/µL	> 7.0	O.D. _{260/280} : 1.7~2.0 O.D. _{260/230} : > 1.8 ホルムアルデヒド変性 1%アガロースゲル電気泳動： 18S および 28S rRNA のシャープなバンドが確認でき、 28S および 18S rRNA のバンド強度比が 2 : 1 程度であること



tRNA 修飾

シーケンス受託解析サービス

tRNAの複数のメチル化修飾(m1A、m3C、m1G、m2,2G)を定量的にプロファイリング

tRNA 修飾シーケンシング受託解析サービスでは、tRNA における複数のメチル化修飾 (m1A、m3C、m1G、m2,2G) を一塩基分解能で同時かつ定量的にプロファイリング可能です。これらの修飾は、ワトソン-クリック型塩基を破壊し、逆転写による誤取り込みによりミスマッチ変異を誘発する可能性があります。

本解析では、修飾部位の特定およびtRNA中のメチル化の定量的ために高度に最適化されたtRNA-seqを脱メチル化処理tRNAおよび未処理tRNAに実施し、これらを比較することで、各塩基位置におけるメチル化誘導変異指数 (MI) によって各修飾を検出します。m1A、m3C、m1G および m2,2G 修飾のうち、m1G と m2,2G は哺乳類 tRNA における既知の異なる塩基位置 (m1G : 9 番目と 37 番目、m2,2G : 26 番目) によってさらに区別されます。

サービス内容

本サービスは、total RNA ~ データ解析までのフルパッケージとなっています。厳格な QC プロセスを備えた高度に最適化されたtRNA-seq によって修飾部位、メチル化レベル、tRNA 発現を同時に解析する包括的なtRNAエピトランスクリプトーム解析です。tRNA における m1A、m3C、m1G、m2,2G 修飾を同時にプロファイリングします。

tRNAの単離・前処理およびライブラリー調製

対応生物種 : ヒト、マウス、他、GtRNAdb に登録されている全生物種に対応

QC

QC

QC

次世代シーケンス反応

[シーケンスプラットフォーム]

NovaSeq 6000、またはNextSeq 500、SE50

[シーケンス量]

5-10 M raw reads / 脱メチル化処理サンプル

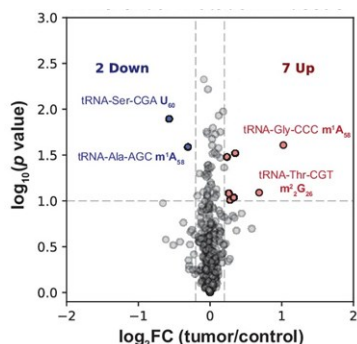
5-10 M raw reads / 脱メチル化未処理処理サンプル

バイオインフォマティクス解析

[解析内容]

- ・シーケンスデータ QC
- ・tRNA 参照データベースへのリードマッピングとアライメント
- ・adaptor-trimmed reads の長さ分布
- ・tRNA の発現差解析
- ・発現変動 tRNA のヒートマップ、散布図、ボルケーノプロット
- ・ミスマッチ率を用いて定量化された tRNA m1A/m3C/m1G/m2,2G の修飾部位レベル
- ・m1A/m3C/m1G/m2,2G の差次的修飾部位解析
- ・m1A/m3C/m1G/m2,2G の差次的修飾部位のヒートマップ、散布図、ボルケーノプロット

解析データ例



2 群間比較における tRNAメチル化部位の差異を示すボルケーノプロット

サービス情報・サンプル条件

サービス名	品番
tRNA修飾シーケンス受託解析サービス	F-AS- t Rmseq- [サンプル数]

<サンプル条件>

対応生物種	サンプルタイプ	推奨量	最小量	濃度	RIN
ヒト、マウス、他、GtRNAdb に登録されている全生物種	total RNA	> 20 µg	> 10 µg	> 20 ng/µL	> 7.0

純度

O.D._{260/280} : 1.7~2.0 / O.D._{260/230} : > 1.8

ホルムアルデヒド変性 1%アガロースゲル電気泳動 : 18S および 28S rRNA のシャープなバンドが確認でき、28S および 18S rRNA のバンド強度比が 2 : 1 程度であること。

その他Arraystar社提携サービス

【質量分析サービス】

LC-MS tRNA/mRNA 修飾受託解析サービス

本サービスは、55 ヌクレオチド修飾を解析し、tRNA および mRNA の全体的な修飾プロファイルを明らかにします。

tRNAは、mRNA デコーディングおよびタンパク質翻訳の基礎となる要素です。tRNAとmRNAは、化学的に多様な転写後修飾を多く受けます。これらの修飾は、tRNA 機能（フォールディング、安定性およびデコーディング）に重要です。tRNA本体の修飾は、tRNA 構造のフォールディング、安定性、剛性および柔軟性に重要です。一方、アンチコドンループの修飾は、オープンループ構造、コドン・アンチコドンペアリング、ゆらぎ、および翻訳フレームシフト防止によって、デコーディングに影響します。さらに、修飾ヌクレオチドは、追加のアミノ酸認識精度のアミノアシル-tRNAシターゼ (AARS) のアイデンティティ決定因子として機能します。一般的に、修飾の少ない tRNA は、分解の対象となります。

tRNAとmRNA修飾の研究は、発現プロファイリングと同様に重要です。tRNA修飾・修飾酵素の欠損は、がん、糖尿病、神経学的症状、循環器疾患、およびミトコンドリア関連疾患といった、ヒト疾患と関連しています。(図1)。tRNA 修飾プロファイルの解析は、疾患、tRNA 修飾酵素、および tRNA 分子機能の関連を確立する鍵となります。

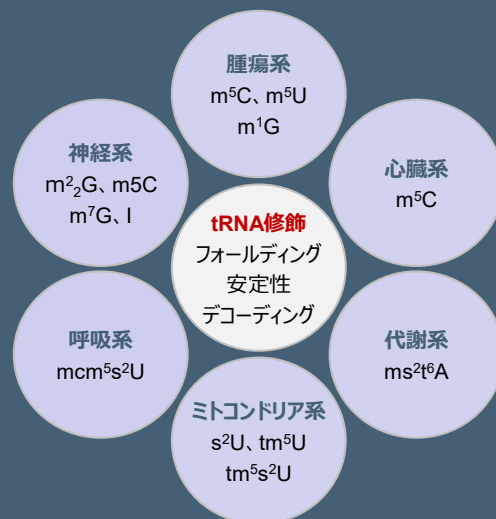


図1. ヒト疾患における tRNA 修飾

【納品データおよび仕様】

納品データは、CD または DVD により解析データをご提供いたします。

- ・サンプル情報、作業内容、データの要約を含む解析レポート (PDF 形式)
- ・定性または定量的なペプチド同定データを含んだデータリスト (Excel 形式)



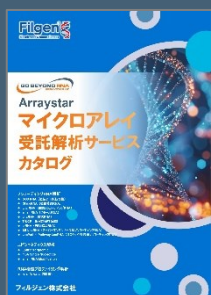
検出可能な修飾基のリストは、弊社web サイトからご覧いただけます。
<https://filgen.jp/Product/BioScience22-MS/Arraystar/>

サービス名	サンプル条件	数量	品番
LC-MS tRNA 修飾受託解析サービス	Total RNA (真核生物のみ対応) ※必要量 > 10 µg、濃度 ≥ 20 ng/µL)	1 サンプルから 受注受付	F-AS-LCTS-[サンプル数]
LC-MS mRNA 修飾受託解析サービス			F-AS-LCMS-[サンプル数]

- ※ サンプルの対象生物種をお知らせください。
- ※ DNase, RNase フリーの 1.5 mL または 2 mL エッペンチューブを使用してください (スクリュエキャップ式を推奨します)。
- ※ total RNA は、RNase-free H₂O に溶解し、-80°C で保存してください。
- ※ UV スペクトルベースの濃度測定法では、不正確になる場合がありますので、蛍光ベースでの測定を強く推奨します (UV スペクトルベースで測定した場合、上記よりも多いサンプルをご準備ください)。

【マイクロアレイサービス】

ノンコーディングRNA、エピジェネティクス、RNA構造プロファイリングなどのマイクロアレイ受託解析サービスを承っております。



Arraystar社 マイクロアレイ受託解析サービス カタログ

【掲載内容】

- ・ ノンコーディングRNA解析
- ・ エピジェネティクス解析
- ・ RNA構造プロファイリング解析



ダウンロードはこちら

https://filgen.jp/Product/Bioscience/Arraystar/Microarray_Service_Catalog_2026.pdf

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

輸入販売元



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

(Jun.,2026)