



エピジェネティクス 特集カタログ

ゲノムの3D構造解析 | NGS

クロマチン構造の謎を解き明かす

Hi-C解析用ライブラリー調製キット



Phase Genomics 社 (アメリカ)

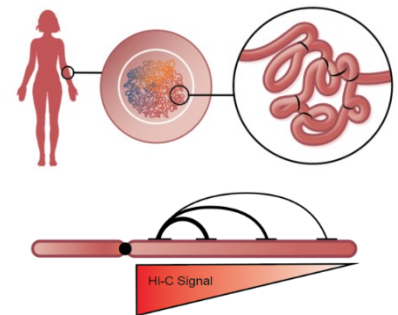
Phase Genomics社のProximo™ Hi-Cテクノロジーは、クロマチンの空間配置を研究するために考案された一連の染色体立体配座捕捉(または近接ライゲーション)技術の1つです。in vivoでDNAをクロスリンクすることで、細胞内のすべてのDNAの近接情報を保持したライブラリー (Hi-Cライブラリー) を作製します。3次元空間において同じ場所にあるゲノム遺伝子座間の相互作用の特定を可能とし、これによりヒト (および様々な生物種)のゲノムアセンブリ、ならびに構造変異およびエピジェネティクス解析を大幅に改善します。

- ✔ 高分子量DNA抽出は不要
- ✔ イルミナシーケンサーと互換性のあるデュアルインデックスライブラリー
- ✔ 所要時間: 2日間 (作業時間はわずか3時間)
- ✔ ゲノム構造変異

超長距離ゲノムシーケンシングを可能する近接ライゲーションライブラリー調製キット!

インタクトな細胞・組織を用いてin vivoでDNAを架橋し、細胞内に含まれるクロマチンを固定します。架橋したクロマチンをエンドヌクレアーゼにより断片化、末端をライゲーションすることにより近接する配列間にキメラ接合部が形成され、近接情報を保持したライブラリーが得られます。

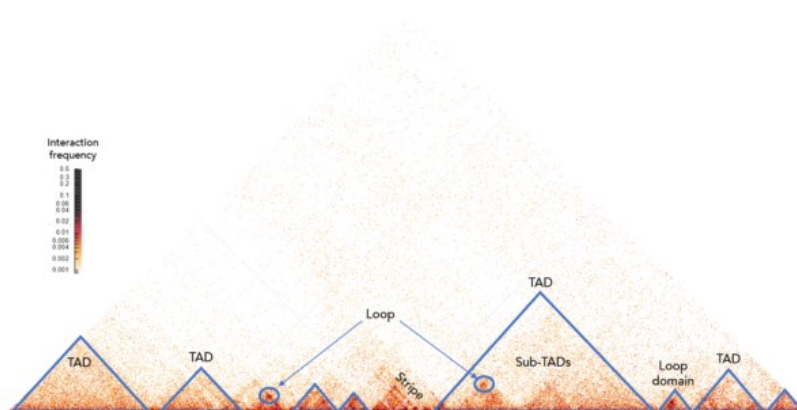
本ライブラリーから得られる各シーケンスリードは、ゲノム上の2点間の物理的な接続を表しているため、各リードを参照ゲノムにマッピングすることで、任意の2点間のゲノム上の距離 (全ての遺伝子座間の物理的的近接性) を得ることができます。ゲノム上の全遺伝子座間の物理的的近接性の測定により、各サンプルに固有のゲノムマップが作成され、広範囲の染色体異常の検出を可能にします。



バイオインフォマティクス解析付きパッケージもご用意!

バイオインフォマティクス解析付きパッケージでは、Hi-Cライブラリーから取得したHi-Cリードデータ (FASTQ) を用いたデータ解析を行います。

TAD (topologically associating domain) 解析例



Hi-Cマップで観察されたクロマチン構造要素

このヒートマップはヒト1番染色体の4Mbの領域を示しています。各ピクセルは2つの遺伝子座間の相互作用を示します。色の濃さは遺伝子座の各ペア間の相互作用の頻度を表します。色が濃いほど相互作用の頻度が高いことを意味します。三角形の領域は、クロマチン相互作用が発生するゲノム内の領域を表します。ほとんどのTADは青い三角形で指定されています。一部のTADには、より小さなサブTADが含まれています。三角形の頂点にある暗い点は、通常、クロマチンループに対応します。ストライプ(またはトラック)は、クロマチンから個々のCCCTC結合因子分子が放出されたときに形成され得る動的構造を表します。

製品ラインナップ

Proximo Hi-C Human Kitは、各種組織、細胞、血液サンプルに対応しています。また、Proximo™ Hi-C シークエンス受託解析サービスも提供していますので、ご興味ございましたらお問い合わせください。

品名	サイズ	品番
Proximo™ Hi-C Human Kit (v4.0)	4反応/キット	KT4040
Proximo™ Hi-C Human Kit (v4.0) バイオインフォマティクス解析付	4反応+1解析/キット	KT4040A

限りなく低いライブラリー調製時バイアスを実現 miRNA ライブラリー調製キット



RealSeq Biosciences 社 (アメリカ)

RealSeq Biosciences社は、次世代シーケンス解析用のsmall RNAライブラリー調製時のバイアスを最小限に抑える独自の技術を開発しました。多くのmiRNAの検出不足につながる、シーケンスライブラリー調製時のアダプターライゲーションに起因するバイアスの問題を解決します。

- ✓ ライブラリー調製時のバイアスを大幅に軽減
- ✓ Empty adapter / Adapter dimerをほとんど形成しない
- ✓ 少量のRNAライブラリーをゲルフリーで精製することが可能
- ✓ 多種多様なmiRNA、その他低分子RNAの検出が可能
- ✓ 堅牢なmiRNAの定量が可能

単アダプターとの環状化ライゲーション法でライブラリー調製時のバイアスを大幅に軽減

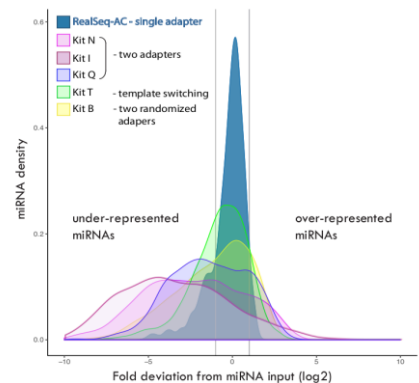


Small-RNAシーケンスライブラリーを調製する過程におけるほとんどのバイアスは、アダプターをmiRNA/small-RNAの3'および5'末端に接続することに起因します。RealSeq®は、単アダプターとの環状化ライゲーション法を用いた独自の技術であり、ライブラリー調製時のバイアスを大幅に軽減させます。



他社製ライブラリー調製キットとのバイアス比較

右図は、1pmoleのmiRXPloreユニバーサルリファレンスプール (Miltenyi Biotec) を使用して、5つの異なる市販のライブラリー調製キットとのバイアスを比較した結果です。本キットを使用した場合、他のキットよりもバイアスが大幅に低く、71.8%を正確に定量できます。各キットで検出されたmiRNAの総数やRT-qPCRで定量した結果との比較など様々なデータについては、下記参考文献からご確認いただけます。



参考文献

Barberán-Soler S, et al. Decreasing miRNA sequencing bias using a single adapter and circularization approach. *Genome Biol.* 2018 Sep 3;19(1):105. doi: 10.1186/s13059-018-1488-z. PMID: 30173660; PMCID: PMC6120088.

エピジェネティクス分野における使用文献

以下の文献では、本製品を使用し得られたSmall RNA 配列データにより、PoI IV 依存性 24nt small RNAが、局在しているCEN180部位でのDNAメチル化に関与していることが確認されています。

参考文献

Zhang-Wei Liu, et al. Depositing centromere repeats induces heritable intragenic heterochromatin establishment and spreading in Arabidopsis, *Nucleic Acids Research*, 2023;, gkad306, <https://doi.org/10.1093/nar/gkad306>

製品ラインアップ

品名	品番	
	12反応分	48反応分
【細胞、組織サンプル用】 RealSeq®-AC miRNA Library Kit	500-00012	500-00048
【血漿などの液体生検サンプル用】 RealSeq®-Biofluids Plasma/Serum miRNA Library Kit	600-00012	600-00048

メチル化解析 | NGS

メチル化CpG領域を濃縮し、コストを大幅に削減！ メチル化解析用ライブラリー調製キット



BioDynamy 社 (アメリカ)

本製品は、バイサルファイト処理したサンプルを用いたメチル化解析用ライブラリー調製キットです。メチル化CpG領域を濃縮することで、シーケンスコストを大幅削減します。

本製品のほかに、全ゲノムバイサルファイトシーケンス用やクロマチン免疫沈降シーケンス用などの、エピジェネティック修飾解析に有用なライブラリー調製キットもご用意しています。

- ✓ バィサルファイト処理DNAサンプルを使用
- ✓ メチル化CpG領域を濃縮することで、シーケンスコストを大幅削減
- ✓ 一塩基レベルでの解析
- ✓ シーケンスライブラリーへの高い変換効率

メチル化CpG領域を濃縮することで、シーケンスコストを大幅削減

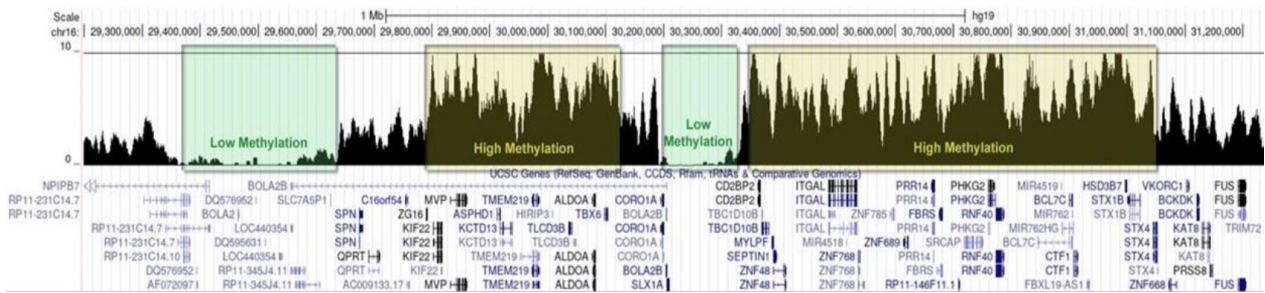
バイサルファイト処理したDNAサンプル (20ng-500ng) を使用し、メチル化CpG領域のNGSライブラリーを構築します。メチル化されたCpG領域を濃縮してシーケンシングするため、シーケンスコストを大幅に削減できます。バイサルファイトシーケンステクノロジーにより、一塩基レベルでメチル化パターンを推定することが可能です。

【NGSテクノロジーの比較】

手法	【本製品】 メチル化バイサルファイト Seq (MSBS)	全ゲノムバイサルファイト Seq (WGBS)	縮小表現バイサルファイト Seq (RRBS)	メチル化DNA免疫沈降 Seq (MeDIP-Seq)
テクノロジー	メチル化CpG領域の濃縮	非メチル化領域を含む全 ゲノムシーケンス	制限酵素を使用したDNA フラグメント解析	5-メチルシトシンに対する 抗体ベース解析
バイサルファイトシーケンス	○	○	○	-
単一塩基の解像度	○	○	○	150-200塩基
コスト	低	高	低	低
全メチル化CpGカバレッジ	○	○	およそ10%のみ	○

ヒトゲノムの高メチル化領域と低メチル化領域の解析例

シーケンス設定：豊富なメチル化CpG領域が主にRead1の先頭付近に位置しているため、シングルエンド35サイクルで実施した。



製品ラインアップ

品名	インデックス	容量	品番
【メチル化CpG領域ライブラリー調製キット】 Methylation Specific Bisulfite Seq Library Prep Kit	Index Unique Dual index	24, 48 反応 96, 192 反応	30102 30103
▼ 関連製品			
【全ゲノムバイサルファイトシーケンス用ライブラリー調製キット】 Bisulfite Sequencing Library Prep Kit	Index Unique Dual index	24, 48 反応 96, 192 反応	30092 30093
【クロマチン免疫沈降シーケンス用ライブラリー調製キット】 ChIP-Seq Library Prep Kit	Index Unique Dual index	24, 48 反応 96, 192 反応	30034 30036

ncRNAプロファイリング | PCR

RNAエピジェネティクス研究に

ncRNAプロファイリング用PCRアレイ



Arraystar 社 (アメリカ)

本製品はncRNAの包括的なqPCR解析のための、パネル型定量PCRアレイです。重要性の高いncRNAをパネルに採用しており、LncRNA、tRNA、tRF&tiRNA、snoRNA、microRNAなどのncRNAの発現プロファイリングが可能です。多数の培養細胞株や組織で検証され、高い正確性と特異性が確認されています。

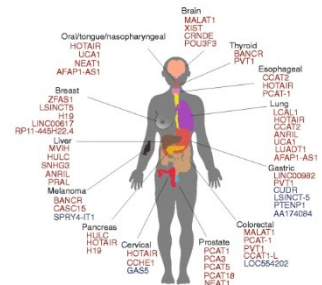
LncRNA、tRNA、tRF&tiRNAのパネルでは、プライマー単品での提供も可能です。

- ✓ プライマーは様々なサンプルタイプで検証済
- ✓ 転写産物固有のPCRプライマーにより、個々のncRNAアインフォームを明確かつ正確に検出
- ✓ 多くの引用文献あり
- ✓ シンプルで正確なプロファイリング

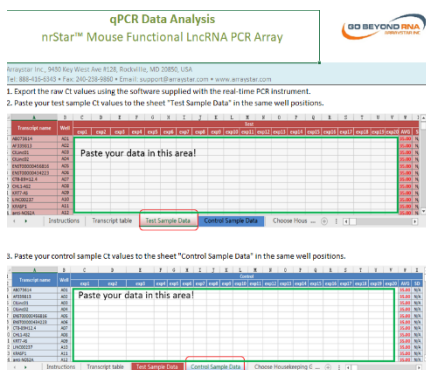
ncRNAとエピジェネティクス研究

ncRNA(ノンコーディングRNA)とは、DNAから転写された後、翻訳はされずに機能的な働きをするRNA分子のことを指します。遺伝子発現を調節するための重要な因子で、エピジェネティクス研究においてホットな研究分野となっています。中でも、LncRNA (Long ncRNA) とmiRNA (microRNA) はがんなどの疾患や生物学的機能と深い関連があるとされてきました。しかし、未だ多くのncRNAの機能的役割が明らかにされていません。

Arraystar社のPCRアレイキットを用いることでヒトマウスの88~372個の各ncRNAをqPCRによってプロファイリングすることが可能となり、その機能と分子機構、疾患との関連を解き明かす鍵となります。



パネルの内容例 (LncRNAアレイパネルの場合)



例えばヒトLncRNAパネルでは、7SK、AA174084、CDKN2B-AS1、ABHD11-AS1などのがん、神経変性疾患、心血管疾患、糖尿病などその他の疾患に関連する372個ものLncRNAが収集されています。

プレート上のコントロールには、qPCRノーマライゼーションのための6つのハウスキーピング遺伝子、qPCR反応の全体的な反応効率確認用RNAスパイクイン (外部コントロール)、PCR効率およびプレート間キャリブレーションのための3つのポジティブPCRコントロール、およびゲノムDNAコンタミネーションを判断するためのゲノムDNAコントロールが含まれます。また、左記のような解析ツールも付属しています。

※アレイの種類によって内容が異なります。詳しくは弊社までお問合せください。

製品ラインアップ

解析パネル	品名	動物種	サイズ (well)	品番
LncRNAパネル	nrStar™ Human Functional LncRNA PCR Array	ヒト	384	AS-NR-004-1
	nrStar™ Mouse Functional LncRNA PCR Array	マウス	384(2*192)	AS-NR-004M-1
miRNAパネル	nrStar™ Human Canonical Conserved miRNA PCR Array	ヒト	384	AS-NR-005H-1
tRNAパネル	nrStar™ Human tRNA PCR Array V2.0	ヒト	384(2*192)	AS-NR-001H-1
	nrStar™ Mouse tRNA PCR Array	マウス		AS-NR-001M-1
tRF&tiRNAパネル	nrStar™ Human tRF&tiRNA PCR Array	ヒト	384(2*192)	AS-NR-002-1
	nrStar™ Mouse tRF&tiRNA PCR Array	マウス	384(4*96)	AS-NR-002M-1
snoRNAパネル	nrStar™ Human snoRNA PCR Array	ヒト	384	AS-NR-003-1
	nrStar™ Mouse snoRNA PCR Array	マウス		AS-NR-003M-1

* Roche Light Cycler 480用の製品もございます。品番の末尾に-Rを追加してください。(例: AS-NR-004-1-R)

一塩基多型 (SNP、スニップ) は、DNAの単一塩基変異である一塩基レベルのDNA多型です。SNPはゲノム全体で「保存」されており、ヒトゲノムにおける最も単純で一般的な遺伝子多型の要因です。すべてのヒトDNA多型の90%がSNPに関連しており、ヒトゲノムの1000bpごとにおよび1つの頻度で存在します。ゲノム内のSNPは、遺伝子機能、タンパク質構造、発現に影響を与える可能性があり、遺伝子疾患のマーカーとして使用されます。

- 0.2mlチューブまたは12x8ストリップの2種類のフォーマットをご用意
- 凝固線溶系、ヘモクロマトーシス、糖尿病と肥満など、幅広い疾患関連遺伝子の製品をラインアップ

心血管疾患マーカーにおけるSNP

心血管疾患は、人口の最大10%が罹患している生命を脅かす病気です。この中でも、急性心筋梗塞、虚血性脳卒中、肺塞栓症、深部静脈血栓症などの血栓性合併症は、世界中の罹患率と死亡率増加の主な原因です。

現在、遺伝的感受性を伴う広範囲の心疾患が知られており、主に血液凝固、血圧の調節、脂質、グルコース、ホモシステインまたは鉄の代謝に関与するさまざまな遺伝子における突然変異およびSNPによって引き起こされる可能性があります。心血管疾患のマーカーの中で、血液凝固第V (FV)、II (プロトロンビン)、XIII (FXIII)、プラスミノゲン活性化因子阻害剤-1 (PAI-1)、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR)、アポリポタンパク質 B (Apo B)、血小板糖タンパク質 IIIa (GPIIIa)、β-フィブリノーゲン (FGB)の遺伝子における変異が重要な役割を果たしています。

さらに、「血栓形成傾向」とも呼ばれる血栓症を発症する傾向の増加が、最も一般的な産科合併症（不育症、胎児発育遅延、子癩前症、常位胎盤早期剥離）のかなりの割合の症例の根底にあります。

製品ラインアップ

検出項目	品名	品番	
		0.2 ml チューブ (60テスト)	12 x 8 ストリップ (96テスト)
ライデン変異 (Arg506Gln; rs6025)	FV (G1691A) Leiden SNP-Screen	T01101-50-T	T01101-96-S
プロトロンビンF2 遺伝子変異 (rs1799963)	FII Protrombin (G20210A) SNP-Screen	T01102-50-T	T01102-96-S
FVII遺伝子変異 (Arg353Gln; rs6046)	FVII (G1238A) SNP-Screen	T01105-50-T	T01105-96-S
MTHFR遺伝子変異 (Ala222Val; rs1801133)	MTHFR (C677T) SNP-Screen	T01103-50-T	T01103-96-S
MTHFR遺伝子変異 (Glu429Ala; Rs1801131)	MTHFR (A1298C) SNP-Screen	T01273-50-T	T01273-96-S
メチオニン合成酵素遺伝子変異 (Ile22Met; rs1801394)	MTRR (A66G) SNP-Screen	T01124-50-T	T01124-96-S
メチオニン合成酵素遺伝子変異 (rs1805087)	MTR (A2756G) SNP-Screen	T01143-50-T	T01143-96-S
SERPINE1/PAI1 遺伝子多型 (rs1799768)	PAI SERPINE (-675 5G/4G) SNP-Screen	T01120-50-T	T01120-96-S
フィブリノーゲンβ遺伝子 (rs1800790)	FGB (G-455A) SNP-Screen	T01107-50-T	T01107-96-S
第XII因子遺伝子変異 (rs1801020)	FXII (C-4T) SNP-Screen	T01356-50-T	T01356-96-S

*このほかにも多数製品がございます。お気軽にお問い合わせください。

RNAイメージング | smFISH

独自の技術を使用したカスタム作製！

smFISH解析用カスタムプローブキット

pixelbio

PixelBiotech 社 (ドイツ)

独自の技術を採用したマルチプレックスsmFISH解析用のカスタムプローブキットです。キットにはプローブのハイブリダイゼーションのための試薬も含まれるため、手ごろな価格で、正確かつ簡単に解析可能です。蛍光標識の組み合わせにより、1回のハイブリダイゼーション反応で最大7遺伝子の発現を視覚的に検証できます。

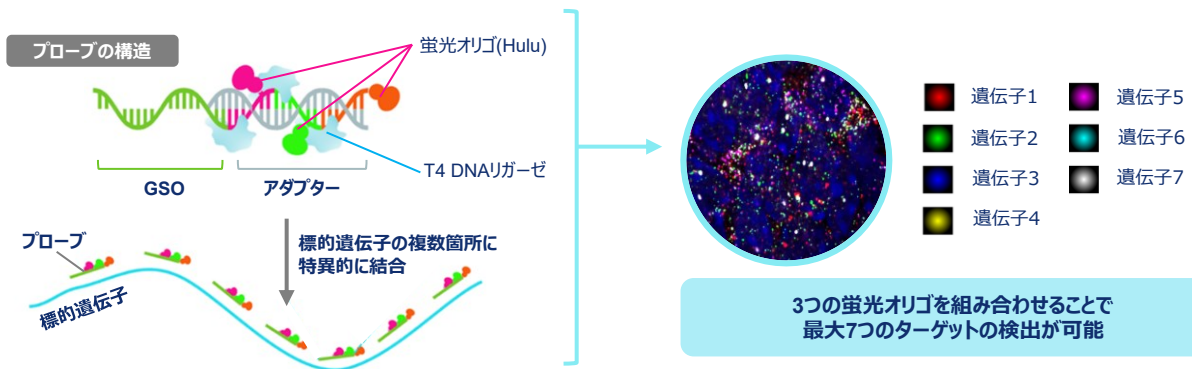
- ✔ 同時に最大7遺伝子の解析
- ✔ 明瞭なイメージング
- ✔ カスタム作製による柔軟性
- ✔ ハイブリダイゼーションのための試薬付き
- ✔ CRISPRイメージング用の蛍光標識sgRNA (開発中)

独自の技術を用いたsmFISHプローブ



独自技術

smFISH (Single Molecule Fluorescence In Situ Hybridization) は、サンプル内の標的遺伝子がどこに存在しているかを明らかにするための手法です。本プローブは、蛍光オリゴ(Hulu)と標的遺伝子特異的オリゴ(GSO)をT4DNAリガーゼを用いて結合することで合成されます。一つの標的遺伝子に対して複数個所に特異的に結合するように、配列の異なるプローブが設計されているため、より強力なイメージングを可能とします。さらに、蛍光標識の組み合わせを調節することにより、1回のハイブリダイゼーション反応で最大7遺伝子の発現を視覚的に区別して検出することが可能です。



キット内容物

- HuluFISHプローブ (各プローブ長: 17-21bp) ※カスタム作製
- HuluHyb solution (2xSSC, 2M Urea, 10% dextran sulfate, 5x Denhardt's solution)
- HuluWash solution (2xSSC, 2M Urea)



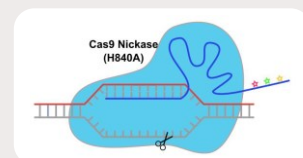
製品ラインアップ

カスタマイズで作製いたします。弊社までお気軽にお問い合わせください。「HuluFISHプローブ」と「HuluFISH plus プローブ」の2種類のプローブからご選択いただけます。「HuluFISH plus プローブ」は、通常のサンプルよりバックグラウンドが高く、低いクオリティーのRNAが含まれると予想されるFFPEサンプルでも機能するように蛍光シグナルがおよそ9倍に増強されています。



CRISPRイメージング用 蛍光標識sgRNA (開発中)

蛍光オリゴと様々なRNA/DNAを結合する独自技術を用いて、蛍光標識されたsgRNAを開発中です。



品名	容量
HuluFISH kit	
HuluFISH plus probe kit	20または80反応

【ご注意】

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

輸入販売元



フィルジェン 株式会社

【お問い合わせ】

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

代理店

(Jun. 2023)