

# サービスカタログ

**Rhelixa**

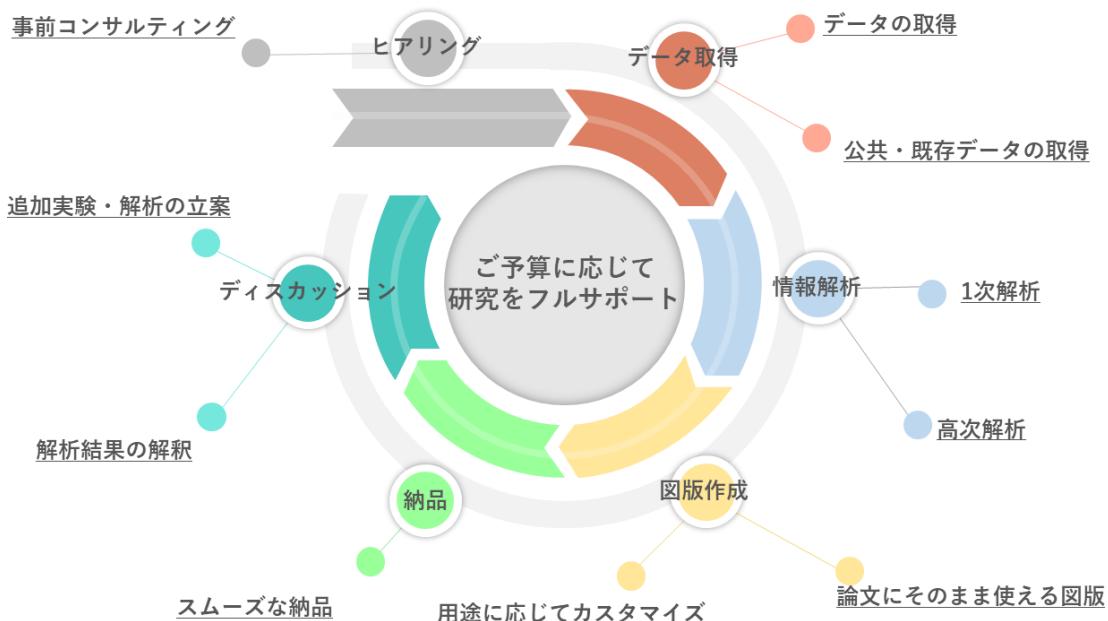
Decoding Life, Creating Future

2019.5.1 時点

# 1. 当社サービスプラン

## 1.1. フルサポートプラン [実験解析 | 解析のみ]

実験計画のご相談から解析結果の解釈まで、フルサポートする当社標準のプランとなります。ご要望に応じて、2次解析、公共データとの統合解析、論文作成に必要なご支援などのオプションサービスをご提供しております。研究の背景、目的など伺うためのヒアリングから、実験計画のご相談、ご提案までは無料で承っております。



### ▶ RNA-seq フルサポートプランの一例 [実験解析]

- |                 |                      |                |
|-----------------|----------------------|----------------|
| 1. 実験計画のデザイン    | 6. FPKM 値取得          | 10. 遺伝子リストの抽出  |
| 2. シーケンス        | 7. リードカウント計算         | 11. GO 解析      |
| 3. データクオリティチェック | 8. 発現変動遺伝子の抽出 (群間比較) | 12. パスウェイ解析※   |
| 4. データトリミング     | 9. クラスタリング解析         | 13. 納品後のミーティング |
| 5. マッピング        |                      |                |

※パスウェイ解析はフルサポートプランにおけるオプションサービスとなります。

### ▶ ATAC-seq フルサポートプランの一例 [実験解析]

- |                 |              |                |
|-----------------|--------------|----------------|
| 1. 実験計画のデザイン    | 5. マッピング     | 9. モチーフ解析      |
| 2. シーケンス        | 6. ピークコール    | 10. 近傍遺伝子絞込み   |
| 3. データクオリティチェック | 7. クラスタリング解析 | 11. GO 解析      |
| 4. データトリミング     | 8. ピークの絞り込み  | 12. 納品後のミーティング |

### ▶ ディスカッション

シーケンスデータから得られた解析結果の傾向を読み解き、生物学的な意味づけを行なったレポートを納品いたします。そのレポートをもとに、研究員とディスカッションを実施する機会を設け、解析結果に対する疑問などをその場で解消して頂きます。良好な結果が得られた場合には、より有用な結論を得るために追加実験および解析のデザインをご提案いたします。更にケースに応じて、次の予算を獲得するための、予算申請のご支援もいたします。

## 1.2. 生データプラン

シーケンシングにより取得した生データ (fastq データ) のみを納品するプランです。既に実験計画や解析方針を定められているお客様が、ご自身で解析を進められることを前提とした低価格プランとなります。事前ヒアリングや納品後のミーティングは本プランには含まれません。

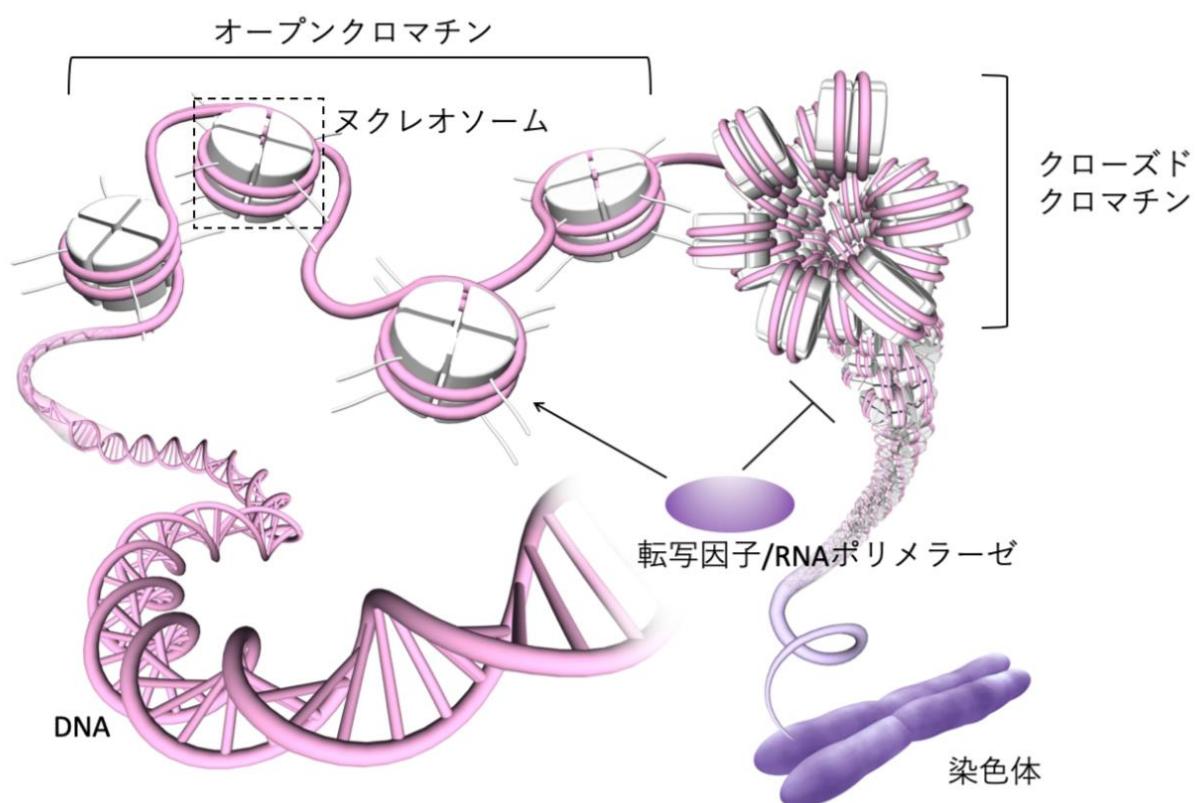
## 1.3. 定期契約カスタムプラン

次世代シーケンスデータの解析や解釈を、ご指定の期間、ご要望に応じて支援いたします。

## 2. 受託解析メニュー

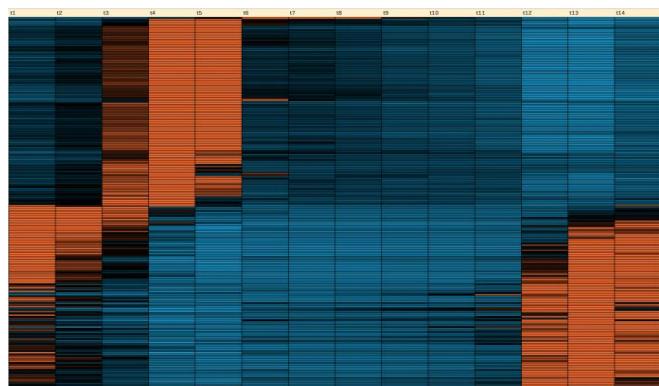
遺伝情報の異常が原因で疾患に至るには、大きく分けて 2 つのパターンがあります。1 つ目は、DNA の塩基配列に変異が生じる場合で、がんや先天的な遺伝性疾患に見られます。2 つ目は、ある細胞が疾患に関わる遺伝子の発現を変化させることにより生じる場合で、多くの後天的な疾患に見られます。例えば、免疫細胞が炎症性サイトカインの発現を増加させたことで炎症性疾患を発症したり、線維芽細胞が細胞外マトリックスの発現を増加させたことで線維症を発症したりすることが代表的な例です。

DNA の塩基配列の情報を「ゲノム」と呼びます。つまり、前者はゲノムの変化により疾患が生じるパターンです。これに対し、後者は、塩基配列の変化ではなく、遺伝子の発現のオン／オフにより生じる疾患です。このように、塩基配列は変化させずに、遺伝子の使われ方を変化させる仕組みをエピジェネティクスと呼び、エピジェネティクスを規定する情報を総称して「エピゲノム」と呼びます。具体的には、DNA のメチル化やヒストンの化学修飾などがエピゲノムに含まれます。



## 2.1. RNA-seq

エピゲノム解析に不可欠な情報である遺伝子発現を、次世代シーケンサーで網羅的に解析する手法です。融合遺伝子の探索・スプライシングバリエントの予測・変異の特定といった応用的な解析も可能です。一般的な解析として、発現変動解析、階層的クラスター解析、特定遺伝子の発現量に基づく box plot、Gene Ontology 解析/Gene Set Enrichment 解析、Pathway 解析などを行います。



時期特異的遺伝子のクラスタリング

サンプル性状	受け入れ条件
細胞、組織から抽出した total RNA	濃度 50ng/ $\mu$ L 以上、絶対量で 1 $\mu$ g 以上 OD280/260 が 1.8 以上、OD260/230 が 2.0 以上
凍結細胞	$5 \times 10^6$ 細胞以上
体組織	100mg 以上
FFPE から抽出した total RNA	お問合せください
微量な total RNA	お問合せください

※細胞・組織の場合は RNA 精製料金を別途頂戴しております。

## 2.2. シングルセル RNA-seq

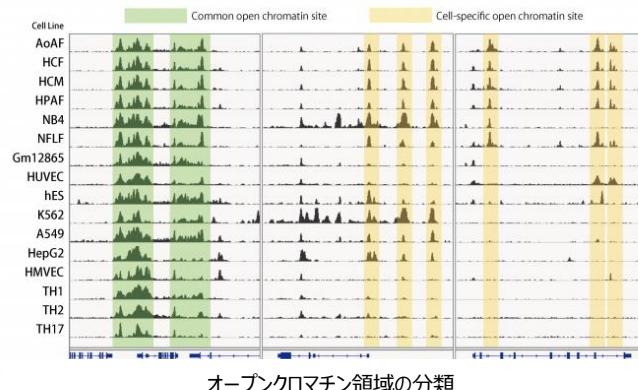
同様に見える細胞集団でも、個々の細胞で遺伝子発現パターンが異なることがあります。シングルセル RNA-seq は高感度 RNA シーケンスを行うことにより、個々の細胞におけるゲノムやトランスクript の情報を取得する手法です。複雑な組織を構成する細胞集団を分け、個々の細胞の寄与や機能を評価する事が可能となり、新たな知見が得られるケースが増えています。

サンプル性状	受け入れ条件
お問合せ下さい	お問合せ下さい

## 2.3. ATAC-seq

オープンクロマチン領域（ヌクレオソームのない領域）の分

布を網羅的に解析するには ATAC-seq が最適です。オープンクロマチン領域は、プロモーター や エンハンサー といった遺伝子発現制御領域に対応するもので、いわばエピゲノムの骨格を調べる解析と言えますが、ATAC-seq を行うことで、少ない細胞数（5-10 万個程度）でデータを取得することができます。オープンクロマチン領域に見られる塩基配列を解析することにより、注目するエピゲノム変化の原因となった転写因子などを予測することができます。

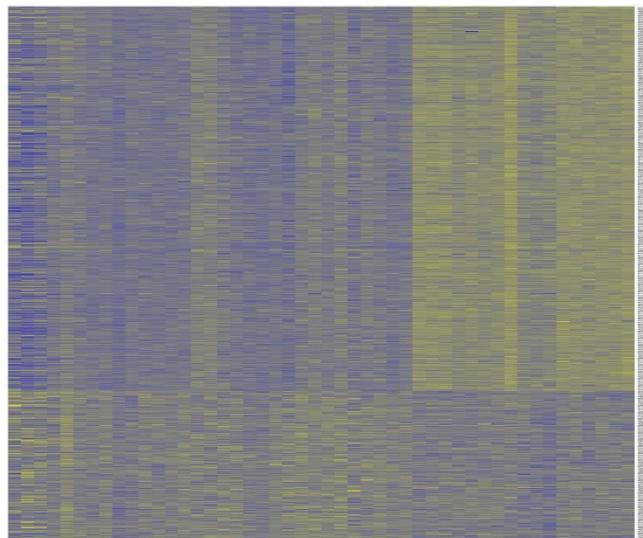


オープンクロマチン領域の分類

サンプル性状	受け入れ条件
生細胞（固定されていないフレッシュなもの）	50,000 個以上

### 2.3. Whole-genome bisulfite sequencing | Infinium® MethylationEPIC

次世代シーケンサーを用いた網羅的な DNA メチル化解析では、WGBS（Whole-genome bisulfite sequencing）または、Infinium® MethylationEPIC array を用いた解析をご提案します。ヒト検体に関しては、イルミナ社の提供する Infinium® MethylationEPIC アレイも利用できます。EPICはアレイをベースにした解析でありながら、重要なメチル化領域をほぼ全てカバーしているのが特徴です。解析は 1 塩基レベルではなく領域レベルとなりますが、エピジェネティックな意義を評価する目的には十分であるため、トップジャーナル掲載の論文を含む多くの研究で採用されています。



各プローブに対する DNA メチル化パターンに基づくクラスタリング

#### WGBS (Whole-genome bisulfite sequencing)

サンプル性状	受け入れ条件
精製ゲノム DNA	3μg 以上
凍結細胞	$1 \times 10^6$ 細胞以上
体組織	重量 100mg 以上

※細胞・組織の場合は DNA 精製料金を別途頂戴しております。

#### Infinium® MethylationEPIC

サンプル性状	受け入れ条件
精製ゲノム DNA	3μg 以上
凍結細胞	$1 \times 10^6$ 細胞以上
体組織	100mg 以上

※細胞・組織の場合は DNA 精製料金を別途頂戴しております。

### 2.4. ChIP-seq

DNA と転写因子の複合体を抗体で免疫沈降し、沈降した DNA 断片をシーケンスすることで、DNA のどの領域が転写因子と相互作用していたのかを明らかにする手法です。特定のタンパク質やヒストン修飾に興味が定まっている場合に有効な手法となります。

サンプル性状	受け入れ条件
クロマチン免疫沈降処理により取得した DNA	お問合せ下さい
その他	お問合せ下さい

### 3. 実績

エピジェネティクス分野において当社が支援し、共著者となっている論文の一部をご紹介します。

2018 年度は Nature Communication 誌を始めとする 4 つの国際誌で共同研究論文を発表いたしました。

#### □ ChIP-Atlas: a data-mining suite powered by full integration of public ChIP-seq data.

EMBO Rep. 2018 Nov 9. pii: e46255. doi: 10.15252/embr.201846255.

##### 当社のサポート

- ▶ 転写因子の共結合を予測するアルゴリズムを開発しました。
- ▶ 公共 ChIP-seq データをキュレーション<sup>※</sup>するシステムを開発しました。

<sup>※</sup>データを選別、収集、整理することにより、新たな意味や価値を付与する作業を意味します。

#### □ Diminished nuclear RNA decay upon Salmonella infection upregulates antibacterial noncoding RNAs.

##### 当社のサポート

- ▶ サルモネラ菌に感染した細胞内での遺伝子変化を解析しました。
- ▶ 論文掲載用の図版を作成しました。

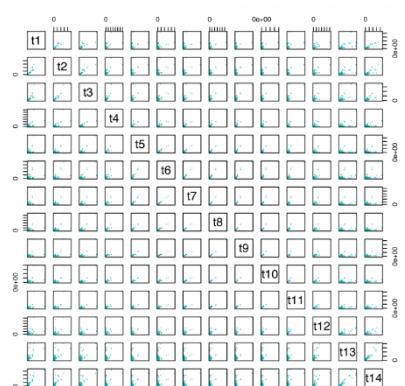
#### □ Histone demethylase JMJD1A coordinates acute and chronic adaptation to cold stress via thermogenic phospho-switch.

Nat Commun. 2018 Apr 19;9(1):1566. doi: 10.1038/s41467-018-03868-8.

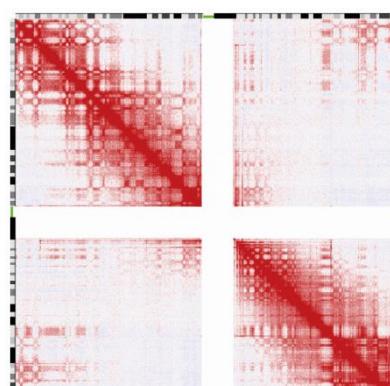
##### 当社のサポート

- ▶ ヒストン修飾酵素である JMJD1A の機能を不活化させた細胞内での遺伝子変化を解析しました。
- ▶ 論文掲載用の図版を作成しました。

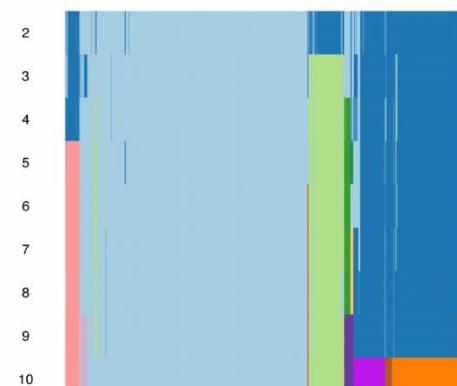
### 作図例（※全てデモデータとなります）



RNA-seq データ相関図



ゲノムワイド相互作用ヒートマップ



シングルセル ATAC-seq のクラス分類

## 4. サンプルのご準備について

### 3.1. 受託解析全般について

- 見積時のご依頼内容と変更がある場合は実施内容によっては追加費用が発生いたします。
- 細心の注意を払いお客様の検体を取り扱いますが、試薬や機器の不具合、人為的な操作ミスにより実験結果に不具合が生じた場合は、当社負担により再実験をおこないます。
- お預かりしました検体は、納品検収後、3ヶ月を目処に事前承諾なしに廃棄する場合があります。検体のご返却の希望を頂いた場合は、ご返却に係る費用をお客様にご負担頂きます。
- (臨床サンプルの場合) 検体名は個人情報が分からぬよう、匿名加工済みの状態でご提供ください。また、ご所属機関の倫理委員会と研究対象者の同意を得たサンプルをご提供ください。

### 3.2. 核酸試料 (DNA・RNA) 全般について

- 3μg/μl を超えるような高濃度の核酸溶液は、適当な濃度に希釈してからお送りください。
- これらの条件を満たさない場合、Quality Check および実験が行えないことがございますので事前にご相談ください。
- 基準値を下回る場合は実験解析にリスクが生じます。予めリスクをご理解いただいたうえで、ご依頼をご検討ください。基準値に満たないために起きる事故に関しては、弊社で責任を負いかねます。予めご了承ください。

### 3.3. RNA サンプルの抽出と提出前の QC について

- 比較するサンプルは必ず同じ方法で抽出をお願いいたします。
- タンパク質や有機溶媒等が混入しない様にお願いいたします。
- サンプルは DNase/RNase free water への溶解を推奨します。TE などのバッファに溶解した場合、データが取得できない可能性があります。DEPC 処理は行わないでください。
- 電気泳動またはバイオアナライザでの測定を行い、サンプルが分解していないか、DNA のコンタミネーションが無いかご確認ください。
- バイオアナライザによる RNA Integrity Number (RIN 値) = 7.0 以上を推奨します。18s 及び 28s のピーク (バンド) が明瞭で、18s の前に大きなピークがないこと、28s の前後にピークがないことをご確認ください。
- RNA 抽出時に共沈剤を使用した場合は、定量の精度が下がる可能性があります。使用した場合は予めお知らせください。
- DNA のコンタミネーションがないように DNase 処理の実施をお願いいたします。
- QC 後受入基準値に満たない場合は、サンプルの再送付や有償の再精製、DNase 処理をご提案する場合があります。
- QC が 2 回以上になる場合は追加料金が発生することがあります。
- 微量試料からの核酸抽出の場合は QC を行わない場合があります。

### 3.4. DNA サンプルの抽出と提出前の QC について

- DNA 抽出時に共沈剤を使用した場合は、定量の精度が下がる可能性があります。使用した場合は予めお知らせください。
- RNA のコンタミネーションがないように RNase 処理の実施をお願いいたします。
- ゲノム DNA は Qubit 等特異性の高い方法の dsDNA 測定を推奨します。RNA のコンタミ等により吸光度による測定と乖離がある可能性があります。
- 溶媒は Nuclease Free Water を推奨します。
- 電気泳動またはバイオアナライザでの測定を行い、サンプルが分解していないか、RNA のコンタミネーションが無いかご確認ください。
- 受け入れ後の QC で基準値に満たない場合は、サンプルの再送付、有償での再精製や RNase 処理をご提案する場合があります。
- QC が 2 回以降になる場合は追加料金が発生することがあります。

### 3.5. 核酸抽出用（DNA・RNA）組織・細胞の送付について

- 組織の場合： 固形組織は解剖後 5mm 以下の小片にし、すぐに凍結したものを推奨します。冷凍状態でお送りください。
- 細胞の場合： PBS 等で洗浄して遠心分離により上清を取り除いたペレットを冷凍状態でお送りください。
- 血液の場合： PAXgene 採血管で採血頂き、冷凍状態でお送りください。
- FFPE 細胞由来の場合は、核酸の分解が認められる可能性が高いです。予めご了承ください。
- 皮膚などの繊維組織由来の場合は、抽出効率が低いことがあります。Proteinase K 処理などを推奨します。
- 脳・脊髄などの脂質成分の多い組織由来の場合は専用のキット（QIAGEN 社 Lipid カラムなど）をご使用ください。
- 核酸収量はサンプル状態にも異存しますので、当社として核酸収量の保証は致しかねます。

### 3.6. サンプルの発送について

- サンプルは 1.5ml サンプルチューブに分注してください。
- サンプルチューブの蓋とチューブ部分にサンプルフォームに記載されたサンプル名と同一の名称を、油性マジックで区別しやすい文字で記入してください。
- サンプル分注後、サンプルチューブの蓋をきちんと閉め、パラフィルムで保護してください。低吸着チューブを推奨します。（0.5ml、0.2ml の PCR チューブは輸送、保管には向きでおすすめしません）
- サンプルチューブは輸送中、散乱したり破損したりしないように、箱またはビニール袋に入れてクッション材で保護してください。
- 当社の場合は土日祝を除いた日数が営業日となりますので、配達指定は営業日中の午前 9 時から午後 18 時到着の間でご指定ください（午前中到着を推奨します）。

### 3.7. ライブライアリ調製に関して

- ライブライアリ調製は市販のキットを用いて、メーカー指定のプロトコルで実施いたします。
- サンプル量が受入れ基準値を下回る場合、ライブライアリ調製が失敗する場合があります。この場合、再調製の対応は可能ですが、追加費用が発生いたします。

### 3.8. 配列解析に関して

- ご研究の目的と見積時のシーケンス条件があっているかご発注前にご確認ください。（シングルリード or ペアエンド、読み取り鎖長、想定データ量等）
- お見積時のシーケンスデータ量はメーカーCATログ値より想定される値となります。データ量はサンプル・ライブライアリの状態により大きく影響を受けます。
- 実測値が見積り時の想定値を下回る場合でも弊社免責とさせていただきます。
- データ量の不足による読み足しランは対応可能です。この場合、追加ランの費用が発生いたします。

#### 【お問合せ】

株式会社 R helixa (レリクサ)

〒101-0032 東京都千代田区岩本町 3-7-4 政弥ビル 3F

TEL : 03-6240-9330 (10:00-17:00)

FAX : 03-6240-9331

Email : customer-service@r helixa.com

URL : <https://r helixa.com>

#### 【販売店】