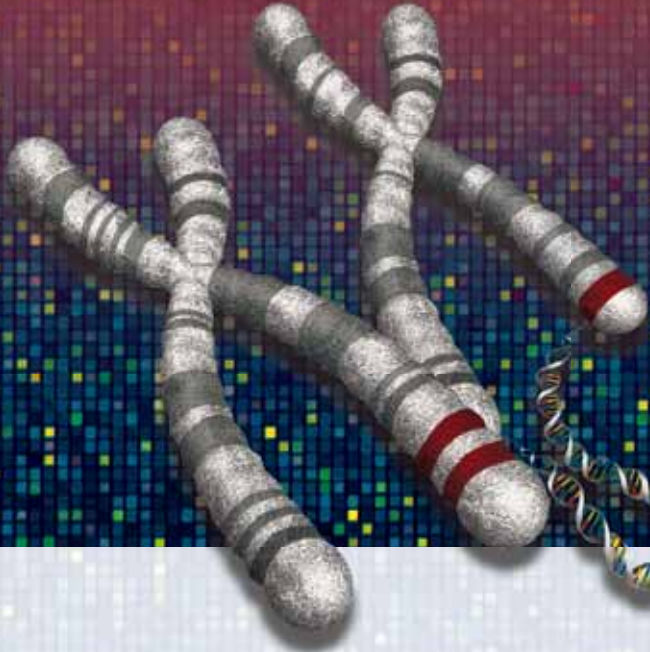


真核CGHアレイ解析



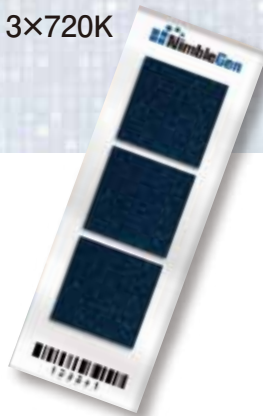
- 先天性疾患、精神疾患、がんなどのゲノム研究に
- 高解像度、高い再現性で信頼性のあるCNV検出を実現
- カスタムアレイが1枚からオーダー可能

1×2.1M



感度を最重要視して解析したい

3×720K



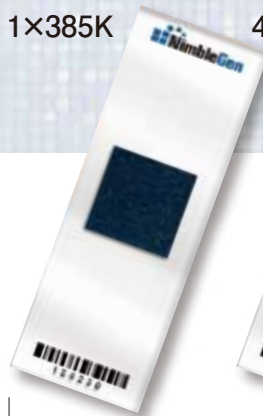
高感度でコストを抑えて解析したい

12×135K



コストとスループットを両立して解析をしたい

1×385K



トータルコストを抑えて解析したい

4×72K



受託サービス

1解析※
35万円

3解析
45万円

12解析
95万円

1解析
25万円

4解析
40万円

アレイ販売(1枚) 17万円

17万円

18万円

6.5万円

9.5万円

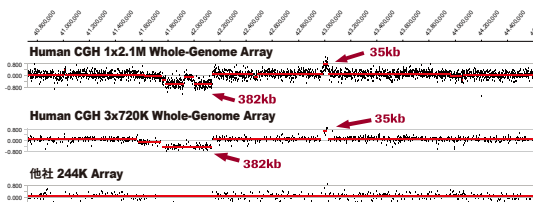
※1解析は1テストサンプルと1リファレンスサンプルの比較になります。

カタログアレイ例

Human <ヒト> / Whole Genome Tiling Array

Source: NCBI Build: HG18, Build 36

アレイフォーマット	1×2.1M	3×720K	12×135K	1×385K	4×72K
平均プローブ間隔 (bp)	1,169	2,509	12,524	7,073	40,046
検出感度 (理論値) (kb)	12	25	125	70	400



高感度にDNAコピー数変異(CNV)を検出

2.1M ヒトCGHアレイと3x720K ヒトCGHアレイを用いて、17番染色体上にあるパーキットリンパ腫症例の382kbの欠失領域と35kbの増幅領域を検出しています。

技術概要と解析結果例

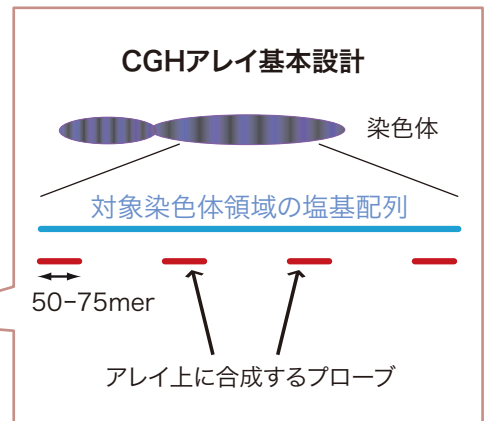
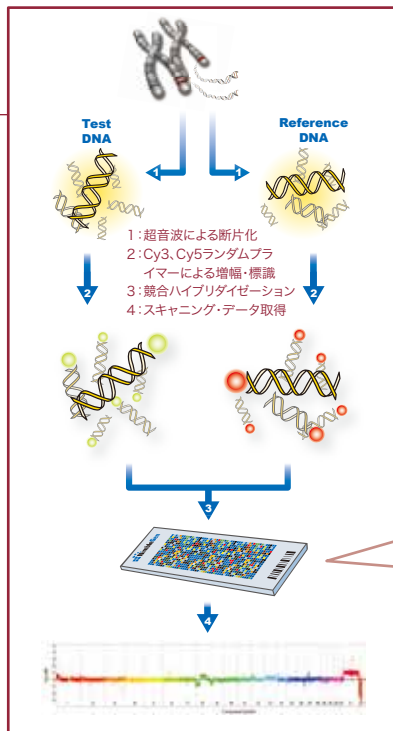
真核CGH (Comparative Genomic Hybridization) アレイ解析は、ゲノムDNA解析に最適なタイリングアレイを使用し、CNVなどゲノムDNAの増幅および欠失領域を網羅的に調べる方法です。プローブを自由に設計することができるため、プローブ間隔を広く設計して1枚のアレイでゲノム全体の網羅的解析を行うことも、密にプローブを設計することで微小な増幅・欠失を検出することもできます。

～CNVとは～

個体間でコピー数が異なるゲノム領域が存在し、それが多様な表現型を担っていることが分かってきました。このゲノム構造変異はコピー数変異 (Copy Number Variation: CNV) と呼ばれ、通常は 1kb 以上の長さの領域 (セグメント単位) で変化するとされています。CNVは対照と比較して相対的にコピー数が多い場合と少ない場合があり、それぞれ増幅、欠失と呼ばれます。特に集団のなかで1%以上の頻度を持つものを CNP (Copy Number Polymorphism) と呼びます。

解析手順

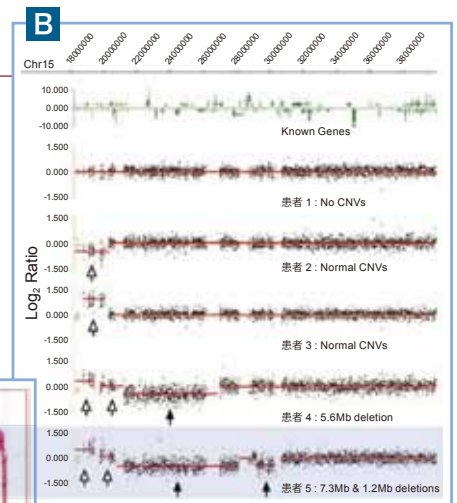
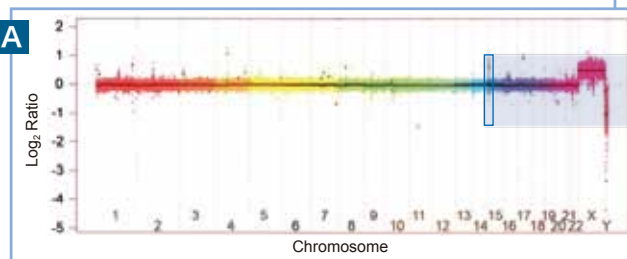
Cy3、Cy5ラベル化ランダムプライマーを用いて、ランダムプライム反応によりサンプルを標識・増幅し、テストサンプルとリファレンスサンプルを同一のアレイ上で競合ハイブリダイゼーションします。スキャン後、蛍光強度を解析し、CNV (増幅・欠失) のデータを取得します。



ヒトWhole Genome Tiling ArrayによるCGH解析結果例

A ヒト Whole genome tiling array (平均プローブ間隔6kb) を用いて精神疾患患者群のCNVを健常者と比較したデータ。15番染色体上で高頻度に増幅と欠失が起きています (青色ボックス)。

B 図Aの15番染色体部分 (青色ボックス) を Roche NimbleGen SignalMap ソフトウェアで拡大したときの図です。15番染色体上の欠失 (アンジェルマン/プラダー・ウィリー領域) が患者4、患者5で検出されています (黒矢印)。この図には示されていませんが、患者1、患者2、患者3では他の領域で欠失が検出されました。白矢印は Normal CNV です。



■ ■ ■ 論文実績例 ■ ■ ■

Wilms腫瘍のゲノム上の欠失を高分解能に検出

著者等は以前にBACアレイで同定したWilms腫瘍の1.78Mbの変異領域について、新たに10bp間隔で細かくプローブをデザインしたCGHアレイを用いて200～1,200bpの変異箇所を新規に同定しました。

Natrajan R, et al. *Genes: Chromosomes and Cancer*, 46-6 607-615 (2007)

ピエール・ロバン症候群に関わるゲノム上の75kbの欠失を17番染色体の24.3-25.1に検出

ピエール・ロバン症候群に関係するヒト17番染色体(24.3-25.1)にフォーカスしたカスタムCGHアレイで解析を行いました。その結果、SOX9 (SRY (sex determining region Y) -box 9) 遺伝子の上流1.06～1.23Mbに75kbのヘテロの欠失が検出されました。今回検出された領域は、マウスでも保存されている領域であることも確認されたことから、マウスを用いたChIP解析を行い、この領域に口蓋裂との関係が示唆されているMSX1タンパクが結合することが明らかになりました。

Benko S, et al. *Nature Genetics* 41, 359-364 (2009)

15q13.3における1.5Mb反復性微小欠失は知的障害・てんかん発作と関連性があり、疾患相関解析の結果、同じ微小欠失が特発性全般てんかんの最優位なリスクファクターであることが判明

CGHアレイ解析の結果、15q13.3における反復性微小欠失が、知的障害、てんかん、顔面形成異常、指形成異常を引き起こす先天性異常と関連があることが示唆されました。この微小欠失には6遺伝子が含まれており、その1つはてんかん原因遺伝子候補とされているCHRNA7 (ニコチン性アセチルコリン受容体 $\alpha 7$ サブユニット遺伝子)でした。知的障害を有する2,082人によるコホート研究では6人(～0.3%)でこの微小欠失が検出されましたが、コントロール群(1,276人)では検出されませんでした。さらに特発性全般てんかん患者における疾患相関解析を行った結果、同じ微小欠失が患者1,223人中12人(～1.0%)とより高い頻度で検出されました。一方、健常人(3,699人)では検出されなかったことから、この微小欠失が特発性全般てんかんの最優位なリスクファクターであることが示されました。

Sharp AJ, et al. *Nature Genetics* 40, 322-328 (2008)

Helbig I, et al. *Nature Genetics* 41, 160-162 (2009)

マウス造血幹細胞、前駆細胞における遺伝子発現とコピー数変異 (CNV) の関係を解析

表現型の異なる20系統のモデルマウスのゲノムをCGHアレイ(平均プローブ間隔1,015bp)で解析した結果、そのほとんどが10kbより短い1,333個のコピー数可変領域(CNVR)が同定されました。これら変異領域の総計は全ゲノムの3.2%(85Mb)に相当しました。CNVの機能的な影響を評価するために、造血幹細胞、前駆細胞、脂肪組織、視床下部の発現プロファイルをCNVRのデータにマッピングした結果、600個以上のCNVRと発現プロファイル間で相関が認められ、CNVRのほとんどは遺伝子が転写される領域の外側に存在していました。特に造血幹細胞、前駆細胞においてマウス系統特異的に発現している遺伝子の28%はCNVと関連性があることが示されました。研究室で使用されるモデルマウスの系統においても表現型の違いにCNVが重要な役割を担っていることが示唆されました。

Patrick C, et al. *Nature Genetics* 41, 430-437 (2009)

筋ジストロフィー患者におけるジストロフィン遺伝子2.2Mb領域の網羅的遺伝子変異解析で高感度に変異を検出

ジストロフィン遺伝子全体の2.2Mbのゲノム領域をカバーできるカスタムCGHアレイを使ってヒト29サンプルにおける遺伝子変異を検出し、その結果をMLPA (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification) と比較検証しました。MLPA法では検出不可能な微小な欠失・増幅やMLPAプローブのターゲット領域以外の検出が、CGHアレイ解析では検出可能であることが明らかになりました。全てのエクソン・イントロン・5' UTR・3' UTR・プロモーター領域の塩基配列に対してプローブを設計したCGHアレイでは、全染色体における欠失、増幅の包括的な検出が可能であり、単一エクソンや未知のイントロン変異も明らかにできることが示されました。

Hegde MR, et al. *Human Mutation* 29,1091-1099 (2008)

受託解析サービスの流れについて

実験計画をご確認ください。(ご注文前)

- 1: 解析を行う生物のゲノム情報をご確認ください。
(カタログアレイ、またはカスタムアレイ)
- 2: アレイフォーマット (1x2.1M、3x720K、12x135K、1x385K、4x72K)
をご選択ください。
- 3: 必要なサンプル量、濃度、純度をご確認ください。
※アレイフォーマットにより、必要なサンプル量が異なります。
- 4: 弊社取扱代理店または弊社へご注文ください。

サンプルをご準備ください。(ご注文後)

- 5: サンプルと記入済み送付サンプル情報シートを弊社へご送付ください。
- 6: 弊社にて受領サンプルの品質検査 (受入れQC) を実施いたします。
※弊社基準値を満たさない場合は再度のサンプル調製をお願いします。

解析を実施いたします。(受入れQC通過ご報告後)

- 7: アレイ合成、ラベル化、ハイブリダイゼーションを行います。
- 8: アレイをスキャン後、NimbleScanソフトウェア (製品番号: 5225035)
にて数値化、データ解析を行います。

解析データの納品。(受入れQC通過後約6週間)

- 9: 解析データを代理店より納品いたします。
※解析データ閲覧にはSignalMapソフトウェア (製品番号: 5225051) が
別途必要となります。

サンプル発送について

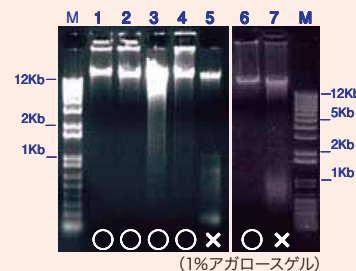
- 1: ご発送前にサンプル到着予定日を営業担当者へお知らせください。
- 2: サンプルチューブは冷凍により亀裂などが生じない材質のものをお選びください。
- 3: サンプルチューブが輸送中に破損することのないように50mLプラスチック遠心管等に入れ、周りをドライアイス (目安3kg/日) で囲み、残りの空間を緩衝材等で埋めてください。
- 4: 送付サンプル情報シート、電気泳動画像を同梱してください。
- 5: 冷凍便による翌日配達をご指定いただき、月曜日または火曜日発送で、水曜日までに弊社へ届くようにご手配ください。なお、弊社到着が土曜日、日曜日、祝祭日、また弊社指定休暇日と重なる場合はお預かりできませんのでご了承ください。
- 6: 送付先
〒105-0014 東京都港区芝 2-6-1
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
AS事業部 RAマーケティンググループ
マイクロアレイチーム

受託サービスに必要なゲノムDNAについて

アレイフォーマット	1x2.1M	3x720K	12x135K	1x385K	4x72K
サンプル量	Class I* 6 µg 以上	4 µg 以上	4 µg 以上	5 µg 以上	5 µg 以上
	Class II*以上 12 µg 以上	8 µg 以上	8 µg 以上	10 µg 以上	10 µg 以上
サンプル濃度	250 ~ 500 ng/ µL				
サンプル純度	OD260/280 : 1.8 以上				
	OD260/230 : 1.9 以上				

電気泳動により、ゲノムDNAが分解しておらず、RNA等が混入していないことをご確認ください。
※ Class I、Class IIの区分については別途お問い合わせください。

アガロースゲル電気泳動画像の例



- 1~4, 6: 品質の良好なサンプル
5: ゲノムDNAの分解またはRNAの混入が疑われます
7: ゲノムDNAの分解が疑われます

受託サービス

カタログデザインアレイ

製品名	製品番号	受託サービス価格 (税抜)
Human CGH 2.1M WG-T v2.0D Arr Ser	5543991	¥350,000
Human CGH 3x720K WG-T v3.0 Arr Ser	5520860	¥450,000
Human CGH 12x135K WG-T v3.0 Arr Ser	5520886	¥950,000
Human CGH 385K WG-T v2.0 Arr Ser	5544297	¥250,000
CGH 4x72K Catalog Arr Ser	5544335	¥400,000

カスタムデザインアレイ

製品名	製品番号	受託サービス価格 (税抜)
CGH 2.1M Arr Ser	5223911	¥350,000
CGH 3x720K Arr Ser	5355290	¥450,000
CGH 12x135K Arr Ser	5223920	¥950,000
CGH 385K Arr Ser	5223890	¥250,000
CGH 4x72K Arr Ser	5223903	¥400,000

※その他、多くのカタログデザインアレイを取り揃えておりますので、お問い合わせください。

アレイ販売

カタログデザインアレイ

製品名	製品番号	希望販売価格 (税抜)
Human CGH 2.1M WG-T v2.0D Arr Del	5541921	¥170,000
Human CGH 3x720K WG-T v3.0 Arr Del	5520797	¥170,000
Human CGH 12x135K WG-T v3.0 Arr Del	5520878	¥180,000
Human CGH 385K WG-T v2.0 Arr Del	5542243	¥65,000
CGH 4x72K Catalog Arr Del	5542278	¥95,000

カスタムデザインアレイ

製品名	製品番号	希望販売価格 (税抜)
CGH 2.1M Arr Del	5223873	¥170,000
CGH 3x720K Arr Del	5355184	¥170,000
CGH 12x135K Arr Del	5223881	¥180,000
CGH 385K Arr Del	5223857	¥65,000
CGH 4x72K Arr Del	5223865	¥95,000