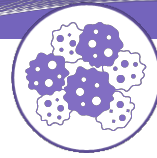


# 各種アプリケーションのご紹介



豊富なアプリケーションで  
がん・疾患研究、育種・農学、生命科学研究をサポートいたします。

## アンプリコンシーケンシング

アンプリコン解析  
ロングアンプリコン解析



## RNA-Seq/遺伝子発現解析

標準RNA-Seq遺伝子発現解析  
Ultra-Low Input RNA-Seq  
Small RNA-Seq/ExoRNA-Seq  
シングルセルRNA-Seq  
Iso-Seq

## 全ゲノムシーケンシング

全ゲノム解析～多型・変異同定  
構造多型・ハプロタイプフェージング  
(ロングリードゲノム解析)  
新規ゲノムアセンブリ

## ターゲットシーケンシング

ヒト全エクソーム解析  
がん・カスタムパネル  
アンプリコン解析

## エピジェネティクス解析

シトシンメチル化解析  
ChIP-Seq / RIP-Seq  
ATAC-Seq

## 抗体開発・免疫研究

バルクレパトア解析  
シングルセル遺伝子発現+レパトア解析

## CRISPRゲノム編集

sgRNAライブラリ検証  
sgRNAスクリーニング  
オフターゲット解析

## メタゲノミクス解析

16S/18S/ITS rRNA 可変領域解析  
16S rRNA 全長解析  
全メタゲノミクス  
全メタトランスクリプトーム

## 細胞・空間的遺伝子発現解析

シングルセル遺伝子発現解析  
NanoString デジタル空間プロファイリング  
ヒトPMBC調製サービス



## 各研究分野と関連する次世代シーケンシング利用の例

## ゲノム編集

CRISPR sgRNAスクリーニング

実験前後で濃縮されたsgRNAをスクリーニング、目的の候補遺伝子を同定。

オフターゲット解析

目的遺伝子以外の変異の有無を確認。

## 遺伝子治療

RNA-Seq、シングルセルRNA-Seq

治療標的遺伝子の探索および治療後の効果の評価。

全ゲノム・全エクソーム解析

治療標的遺伝子となるゲノム変異を同定。

## がん研究・免疫学

全ゲノム・全エクソーム解析

遺伝性疾患の同定、治療反応性・予後に影響する遺伝子変異を探索。

メチル化解析

遺伝子発現異常によるがん化のメカニズムを解析。

microRNA 遺伝子発現解析

血中エクソソームを用いたがんバイオマーカー探索。

バルクレプトア解析

がん組織中のリンパ球のレプトアを解析、免疫細胞療法に応用。

RNA-Seq 融合遺伝子同定

がんドライバー変異、治療標的の同定。

シングルセル遺伝子発現+レプトア解析

鎖ペアでの配列同定、同一細胞での遺伝子発現解析により免疫システムを包括的に理解。

## 農学・育種研究

ゲノム解析

多型マーカーの探索、連鎖解析による原因遺伝子同定の加速化。

RNA-Seq遺伝子発現解析

優良品種の遺伝的要因を遺伝子発現から研究、解析。

16S細菌叢解析・全メタゲノミクス

土壌微生物叢と作物生産との関連を探索、土壌改良に活用。

## 生命科学全般

RNA-Seq 遺伝子発現解析

処理前後、野生型と変異体での遺伝子発現を比較、処理・変異による表現型への影響を解析。

エピジェネティクス（メチル化解析、ChIP-Seq）

遺伝子発現制御に関わるシトシンメチル化やヒストン修飾の状態、転写因子の結合サイトを解析。

全ゲノム解析

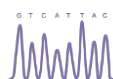
変異処理前の個体で配列を比較、原因遺伝子の同定を加速。

アンプリコンシーケンシング

特定領域の一塩基多型、挿入欠失の解析。特定配列の蓄積度・減少度を評価。

## アゼンタの特長・強み

- 合成から解析まで、One-stop shopのゲノミクス受託サービスにより研究開発をトータルサポート
- グローバルリソースを生かした最新鋭の機器と技術
- Ph.D.レベルのスタッフによるプロジェクトのご相談から納品後のサポート
- 国内ラボ対応（核酸抽出、ヒトPBMC調製、シングルセル解析、ライブラリ調製、シーケンシング解析など）
- CLIA/CAP準拠サービス（米国本社）



サンガーシーケンス解析



人工遺伝子合成



分子生物学サービス



次世代シーケンシング

©2021 Azenta Japan Corp. 本サービスは研究用のみに使用できます。診断目的に使用することはできません。  
当印刷物に記載されている会社名および商品名などは、各社の商標または登録商標です。本印刷物記載の内容は2021年11月現在のものです。



**AZENTA**  
LIFE SCIENCES

検体管理からゲノミクス受託解析まで

アゼンタ株式会社 / Azenta Japan Corp.

〒142-0043 東京都品川区二葉二丁目9番15号 NFパークビルディング 4F

TEL. 03-6628-2950 FAX. 03-6628-2951

E-mail. [NGS.Japan@azenta.com](mailto:NGS.Japan@azenta.com) Web. <https://www.genewiz.com/ja-JP>

NGS030BR-R0-2111

# 最新鋭のシーケンシングプラットフォーム

## アゼンタの特長・強み

- グローバルリソースを活用した最新鋭の機器・技術とバックアップ体制
- 国内ラボ設置のプラットフォーム=DNBSEQ-G400を用いた、国内ラボでの一貫したサービス提供体制
- 機器メーカーの規定値を凌駕する出力・品質
- 業界最速クラスの納期、高い品質、手頃な価格
- Ph.D.レベルのスタッフによる安心のサポート

### MGI tech DNBSEQ-G400 =国内対応=

仕様：150 bp ペアエンド (PE)  
出力：112.5~135 Gb (レーンあたり)



実質出力：105~135 Gb  
3.5~4.5億PEリード (レーンあたり)

#### アゼンタ対応サービス・アプリケーション：

- ライブラリ調製からご依頼のRNA-Seq、WGS、WES、10x Genomicsシングルセルライブラリなど。
- お客様による調製済みライブラリは、現在、MGI準拠のキットで作成されたもの、10x Genomicsシングルセル/Visiumライブラリのみ受け入れ。裏面参照。
- 国内実施。4レーン相当の同時ご注文で、優先対応。

### PacBio Sequel/Sequel II

仕様：Sequel II、HiFiモード  
出力：~500万 平均有効リード  
100万~400万 HiFiリード (>Q20)  
(1 SMRT Cell 8Mあたり)



- インサートサイズ20 kbでの例：  
HiFiリード~140万、HiFiデータ~30 Gb

仕様：Sequel II、CLRモード  
出力：~80 Gb (1 SMRT Cell 8Mあたり)

#### アゼンタ対応サービス・アプリケーション：

- 完全長cDNA、アイソフォーム同定 (Iso-Seq)
- 16S rRNA全長解析によるメタゲノミクス
- WGS (ハプロタイプフェージング、構造解析)
- ショート+ロングリードによる新規ゲノム配列決定
- ロングアンプリコン解析 (500 bp~15 kb)

## 諸注意事項

- 『出力』は機器メーカーのカタログ値に基づきます。『実質出力』は弊社実績に基づく参考値でこれを保証するものではありません。
- シーケンシングの出力・品質はライブラリの特長・品質に影響を受けます。お客様調製のライブラリおよびガイドラインを満たしていないサンプルに由来するライブラリにつきましては、データ出力は目安となります。
- 相乗りシーケンシングは、Illumina準拠のキットで調製されたWGS、RNA-Seq等の塩基バランスの取れた標準的なライブラリのみが対象です。納期に時間を要することもあります。ライブラリタイプによってはレーン専有でのご対応となります。

### Illumina NovaSeq 6000 =短納期対応=

仕様：150 bp ペアエンド (PE)  
出力：~3,000 Gb、100億PEリード  
(フローセルあたり)

実質出力：~3,200 Gb (フローセルあたり)  
~800 Gb (レーンあたり)



#### アゼンタ対応サービス・アプリケーション：

- お客様による調製済みライブラリのシーケンシング。レーン専有あるいはGb単位での相乗りに対応。プロジェクト当たりの最低データ量：4 Gb
- シーケンシングのみの短納期サービス有り。
- ライブラリ調製からご依頼のRNA-Seq、全ゲノム解析 (WGS)、シングルセルRNA-Seqなど。

### Illumina HiSeq X Ten =短納期対応=



仕様：150 bp ペアエンド (PE)  
出力：106 Gb、3.5億PEリード (レーンあたり)

実質出力：120 Gb、4億PEリード (レーンあたり)

#### アゼンタ対応サービス・アプリケーション：

- お客様による調製済みライブラリのシーケンシング。レーン専有のみ。短納期サービス有り。
- 弊社にライブラリ調製からご依頼のWGSなど。

### Illumina MiSeq

仕様：250 bp ペアエンド (PE)  
出力：8 Gb、1,600万PEリード

仕様：300 bp ペアエンド (PE)  
出力：15 Gb、2,500万PEリード  
(いずれもランあたり)



#### アゼンタ対応サービス・アプリケーション：

- お客様による調製済みライブラリのシーケンシング。ラン専有あるいはGb単位での相乗りに対応。
- ライブラリ調製からご依頼の、メタゲノミクス解析、アンプリコンシーケンシングなど。





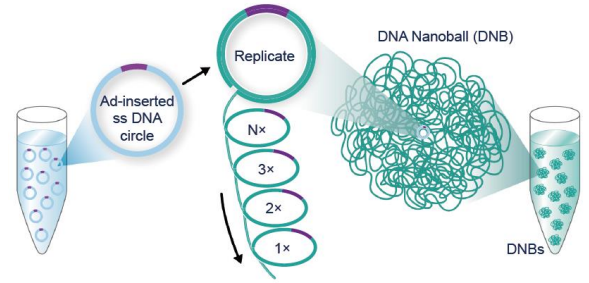
## MGI tech DNBSEQ-G400とは

MGI techにより開発された次世代シーケンシングプラットフォームです。配列情報の取得は、Illuminaシーケンサーと同様、蛍光標識されたヌクレオチドを用い、合成と読み取りを一塩基ずつ行う手法に基づきます。一方、MGIシーケンサーでは、一本鎖環状DNA様式のライブラリからローリングサークル増幅(RCA)によりDNAナノボールを生成、これがシーケンシングのテンプレートになります。RCA反応では、PCRと異なり、常に元の分子を鋳型に増幅することで**エラーの蓄積を軽減**します。

また、増幅反応の完了したDNAナノボールをフローセルに充填するため、**重複率を低く抑える**ことができます。これにより、同じデータ量でもより多くの有効なデータを得ることができます。

また、WGS、RNA-Seqなどのライブラリ調製の手法・手順は、一般的なIlluminaのものと類似で、標準出力もFASTQ形式のため、基本的に既存のパイプラインで解析が可能です。

弊社国内ラボでは2020年より導入、その高い品質と優れた費用対効果で非常に高い評価をいただいております。



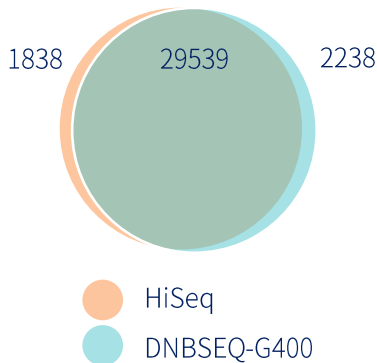
## Illuminaシーケンシングプラットフォームとのデータ比較

同一ゲノムDNAサンプルを用いたヒト全ゲノム解析の結果（弊社検証）

プラットフォーム	DNBSEQ-G400	HiSeq
リード数(M)	780	726
データ量(Gbp)	101.37	94.37
マッピング率(%)	99.85	99.93
重複率(%)	8.61	12.26
既知の一塩基多型 / 挿入欠失(%)	98.5 / 93.7	97.9 / 89.7

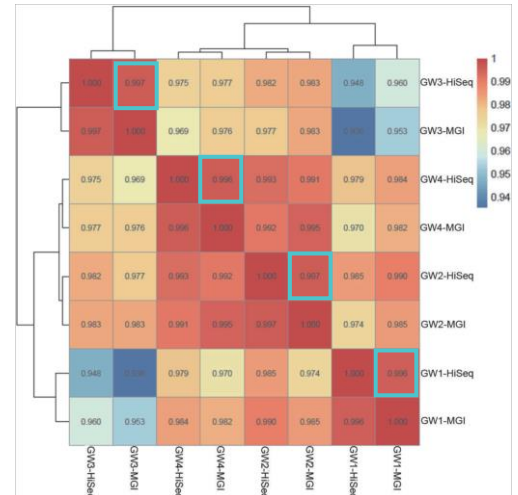
DNBSEQ-G400とHiSeqで同等のリード数・データ量が取得でき、また、DNBSEQ-G400ではHiSeqと比較し、重複率も有意に少ない結果が得られました。また、既知の多型・変異の検出についても高い再現性があることが示されました。

同一RNAサンプルを用いたRNA-Seqの結果（弊社検証）



4匹のマウスからそれぞれトータルRNAを抽出、ライブラリ調製を行い、DNBSEQ-G400とHiSeqでシーケンシング、遺伝子発現解析を実施。

発現の検出できた遺伝子の総数には、両プラットフォームで大きな差はなく、全遺伝子の94%以上が共通して確認できました（図左）。遺伝子発現についても高い相関を示しました（図右）。



## アゼンタ国内ラボにてDNBSEQ-G400で提供中のサービス・アプリケーション

ライブラリ調製あるいは核酸抽出からご提供中のアプリケーション

- RNA-Seq遺伝子発現解析（poly-A選択法あるいはrRNA枯渇法；ストランド特異的ライブラリ調製）
- 全ゲノム解析（WGS; 標準およびPCR-freeライブラリ調製）
- ヒト全エクソーム解析（Twist Bioscience製パネル使用）

調製済みライブラリをご提出、シーケンシングのみあるいは解析までご提供中のサービス

- 10x Genomics 3'遺伝子発現およびVisium ライブラリ（キット・インデックスの仕様により、マルチプレックスライブラリはお受けできないものもあります）
- その他Illumina準拠の調製済みライブラリにつきましては、原則未対応となります。

©2021 Azenta Japan Corp. 本サービスは研究用のみに使用できます。診断目的に使用することはできません。

当印刷物に記載されている会社名および商品名などは、各社の商標または登録商標です。本印刷物記載の内容は2021年11月現在のものです。

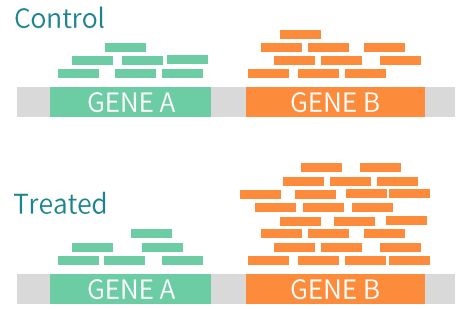
# RNA-Seq 遺伝子発現解析

網羅的な遺伝子発現解析を目的としたアプリケーションです。マイクロアレイと比較して、ダイナミックレンジが広く、アイソフォームの同定が可能などの特長により、ゲノム全体での遺伝子発現を検出する主要な方法となっています。

利用例：

- 薬剤処理前後の遺伝子発現変化を比較、薬理効果に関わる分子機序を解析。
- 野生型と変異体での発現の差異を比較、表現型に関わる分子機構を探索。

目的・生物種・RNAの量/品質により、適切なRNA選択法とライブラリ調製法があります。またRNA-Seqのオプション解析では、アイソフォームの発現変動、RNA編集部位の検出、融合遺伝子解析、発現ネットワーク解析も可能です。



## アゼンタの特長・強み

- サンプルの品質確認、ご報告はサンプル受領確認後、約2営業日以内の迅速対応。
- 不安定なRNAサンプルも安心の、国内ラボでのライブラリ調製。各種検体からのRNA抽出も対応。

## サンプル受領から納品まで

- 濃度・品質確認の結果と予定納期をご案内。
- ガイドラインに満たない場合などは応相談。
- ハードディスクあるいはダウンロードにより納品。
- 納期は、サンプルの品質確認が完了してから約~35営業日  
\*アプリケーション、濃度・品質、解析の有無により変動

受領～サンプル品質確認

ライブラリ調製～シーケンシング～データ解析

納品～サポート

- 各段階で進捗をご報告。
- 解析込みのご依頼では、サンプルの品質確認報告時に、リファレンスと発現比較を行う組み合わせをお伺いします。

## サンプル提出ガイドライン

アプリケーション	トータルRNA総量 (濃度、液量)	純度	品質・分解度	その他事項
Poly-A選択法； ストランド特異的	>0.5~1.0 ug (>50 ng/μl, >10 μl)	OD260/OD280: 1.8~2.2	RIN: >=7	
rRNA枯濁法； ストランド特異的	>0.5~1.0 ug (>50 ng/μl, >10 μl)	OD260/OD280: 1.8~2.2	RIN: >=2~3 (分解度合 いによりリスクあり)	ゲノムDNAの混入がないこと。
Ultra-Low Input RNA-Seq (微量・超微量)	最低量10 pg相当 総量10 ng以下対象	OD260/OD280: 1.8~2.2	RIN: >=2~3	

※ RNA抽出からご依頼の際はお問い合わせください。

※ rRNA枯濁法は、ヒト・マウス・ラット、バクテリアに標準対応。rRNA除去率はベストエフォート型サービスとなります。

※ Ultra-Low Input RNA-Seqでは、rRNA除去法(ヒト・マウス対象)が標準仕様。対象外の生物種については、RNAの量・品質が条件を満たす場合はpoly-A選択を試みます。いずれもリスクありをご了承の上での実施となります。

## シーケンシング仕様

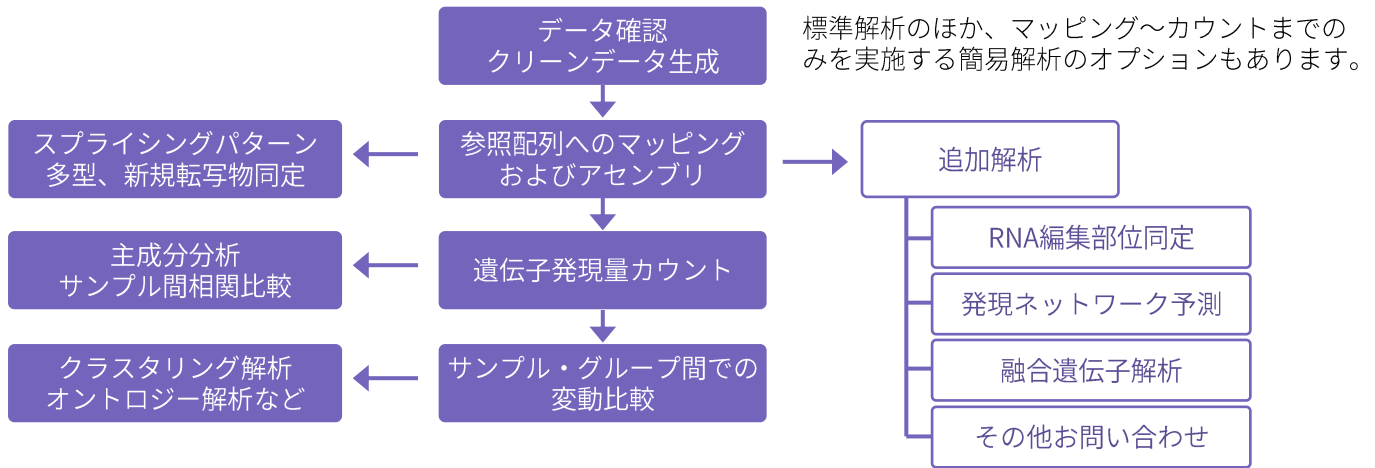
標準リード数 (ペアエンド/PE)	標準データ量 (塩基数/Gbase)	対象生物種・アプリケーション
500~1,000万	1	バクテリア等、ゲノムサイズ・遺伝子数の少ない生物
1,000万	3	ハエ、シロイヌナズナ等のゲノムサイズ・遺伝子数の中程度の生物
2,000万	6	高等動植物(ヒト、マウス、その他モデル動植物)
4,000万	12	ヒト、マウスでrRNA枯濁法適用の場合
8,000万	24	リファレンスがない生物で新規転写物アセンブリを行う場合

※ 150 bp PE仕様。標準リード数・データ量はサンプルあたり。新規転写物アセンブリではプロジェクトあたりのリード数・データ量。

※ Illumina NovaSeqのほか、国内ラボ設置の費用対効果に優れたMGI tech DNBSEQ-G400も利用可能(一部のアプリケーションを除く)。



## 解析手順の概要

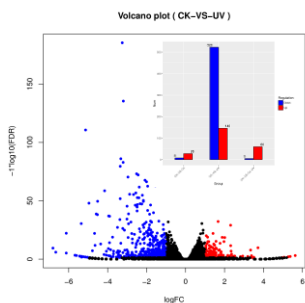


## 標準解析の納品データ例

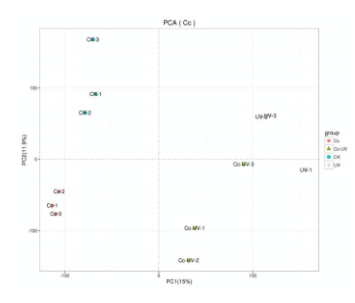
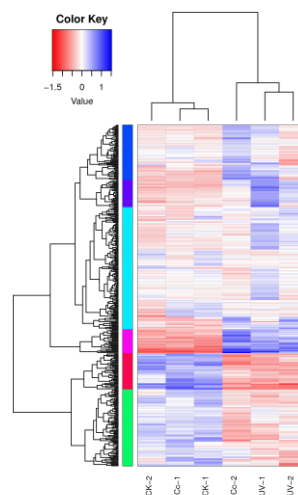
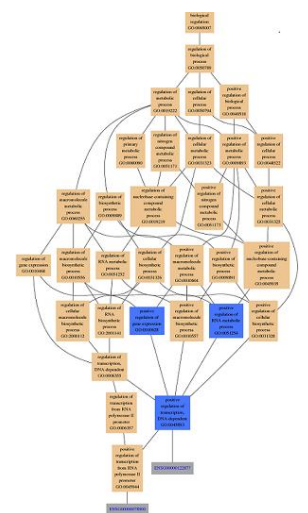
各サンプルでの発現量一覧（生リードカウント/FPKM/TPM）  
任意のサンプル間・グループ間での発現変動率一覧

Gene ID	CK-1	CK-2	CK-3	CK-1	CK-2	CK-3	CK-UV-1	CK-UV-2	CK-UV-2	UV-1	UV-2	UV-2
ENSG00000220002	12	13	25	54	218	178	22	18	215	27	2	2
ENSG00000149482	46	48	30	21	24	21	25	28	37	18	16	53
ENSG00000153404	1233	1225	1232	333	256	265	789	875	798	104	832	824
ENSG00000149529	876	857	813	847	536	589	245	275	289	258	325	314
ENSG00000216434	247	236	223	343	107	100	218	236	216	379	358	352

## サンプル間の発現変動比較



## 主成分分析

発現量に基づいた  
クラスター分析オントロジー解析による  
変動遺伝子群の機能推定

## よくある質問

- 『RNA量がガイドラインを満たしていませんがライブラリ調製可能でしょうか。』  
利用可能な量に応じて増幅サイクル数を増やして対応します。サンプル品質確認のご報告時にご相談も可能です。リスクありをご了承いただいた上での実施になりますが、多くの成功実績があります。  
より微量のRNAの場合には、Ultra-Low Input RNA-Seqのオプションもご用意しています。
- 『RNAが分解していますが、ライブラリ調製可能でしょうか。』  
rRNA枯渇法では分解しているRNAにも対応可能です。ただし、生物種により対応できないこともあります。
- 『poly-A選択法とrRNA枯渇法で調製されたライブラリは比較可能でしょうか。』  
基本的にできません。Poly-A選択とrRNA枯渇法では検出されるRNAの種類が異なるため、ライブラリ間で正しくノーマライズできないことによります。

## 関連サービス

**De novo Transcriptome Assembly** リファレンスのない生物種に対し転写物の配列をアセンブル、アノテーションを付加し、リファレンスを新規に作成。これを用いて遺伝子発現解析を実施。

**Iso-Seq** PacBio Sequelを用いたロングリードシーケンシングによる、全長cDNA・アイソフォーム同定。

**Single Cell RNA-Seq** 10x Genomicsのシステムを用いたシングルセル遺伝子発現解析。同時に1ウェルあたり最大10,000細胞を解析。同一細胞での遺伝子発現+レパトア解析、細胞表面タンパク質同定も可能。

©2021 Azenta Japan Corp. 本サービスは研究用のみに使用できます。診断目的に使用することはできません。  
当印刷物に記載されている会社名および商品名などは、各社の商標または登録商標です。本印刷物記載の内容は2021年11月現在のものです。