Native Elongating Transcript Cap Analysis of Gene Expression

DNAFORM
Precision Gene Technologies

NET CAGE

5’ RNA-seq 受託解析サービス

転写中のmRNA / ncRNAを定量
新たな遺伝子発現制御領域解析法

活性化エンハンサーの同定が可能な発現解析

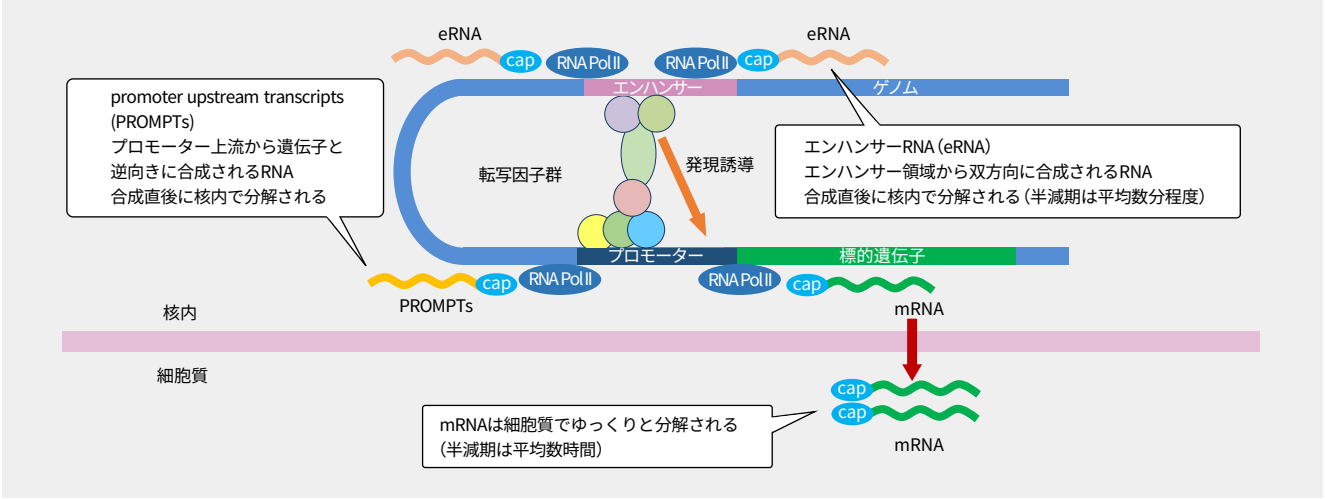
- ☑ 転写中の新生RNA（NET-RNA）を網羅的に捉える新遺伝子発現解析
- ☑ 短寿命のeRNAを捉えエンハンサー領域を高塩基解像度で特定
- ☑ リアルタイムな転写活性に基づく遺伝子発現解析も可能
- ☑ 細胞・組織を送るだけでインフォマティクス解析までを実施

ダナフォーム & 理化学研究所の共同開発技術

https://cage-seq.com/jp

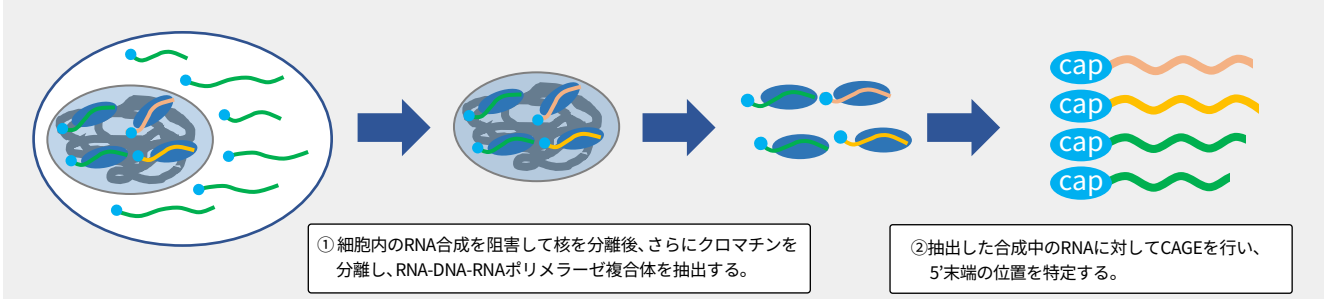
明らかになりつつある短寿命のノンコーディングRNA

エンハンサー領域から双方向に発現しているエンハンサーRNA（eRNA）、プロモーター上流からmRNAと反対方向に転写されているpromoter upstream transcripts (PROMPTs)など、mRNA以外にもRNAポリメラーゼIIによって転写されるRNA（長鎖ノンコーディングRNA）が知られています。eRNA、PROMPTsはどちらも5’末端cap構造を持ち、きわめて短寿命で、合成直後に核内で分解されます。



NET-CAGE: 新生鎖RNAを捉える新トランスクリプトーム解析

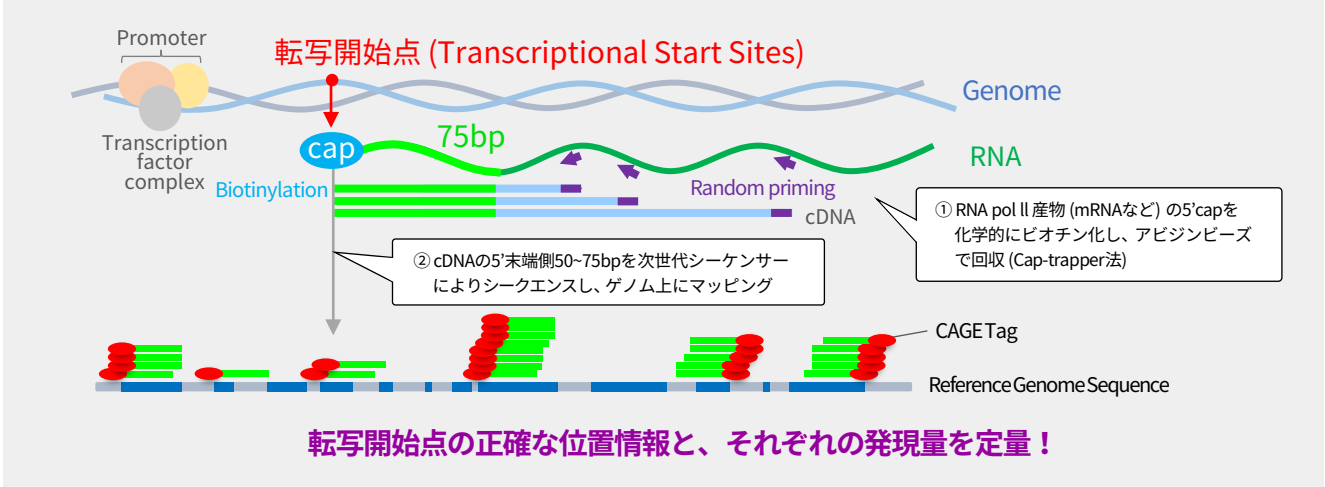
NET-CAGE(Native Elongating Transcript Cap Analysis of Gene Expression)[1]は、核内にある新生鎖RNAを濃縮後、CAGE法を用いて転写開始点の位置を1塩基単位でゲノム上にマッピングする技術です。mRNAに加えて**eRNAやPROMPTsのような短寿命のRNAを捉え、定量することが可能**です。



1: Hirabayashi *et al. Nature Genetics* 2019 volume 51, 1369–1379

CAGE法とは

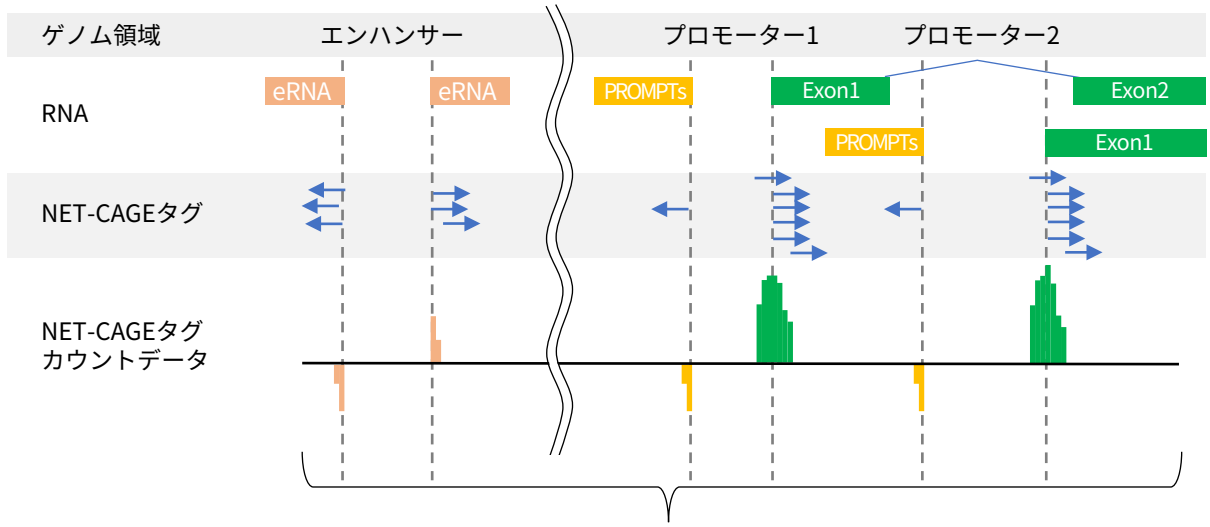
CAGE(Cap Analysis of Gene Expression)は、RNAポリメラーゼII産物のCap構造を補足するCap-trapper法によりRNAの5’末端の塩基配列を決定、ゲノム上にマッピングする技術です。転写開始点の位置を1塩基単位、かつゲノムワイドに同定することで、各転写産物の5’末端の位置や発現量を的確にとらえた発現プロファイルを可能にします。



転写開始点の正確な位置情報と、それぞれの発現量を定量！

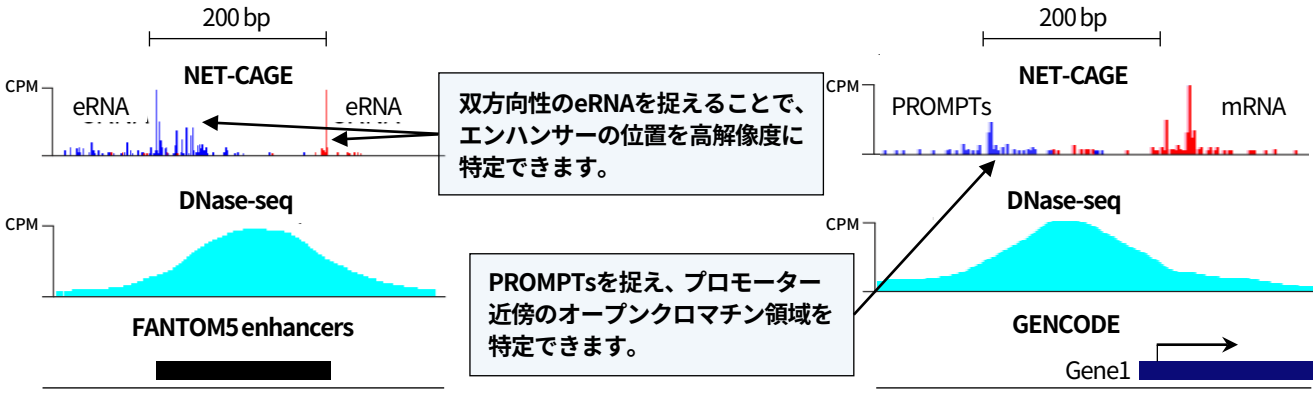
NET-CAGEによる活性化エンハンサー/プロモーター領域の同定

エンハンサー領域から双方向に発現しているeRNAの転写開始点を捉えることで、活性化しているエンハンサーを高解像度でゲノムワイドに同定することが可能になります。また、PROMPTsを捉えることで、活性化したプロモーター領域の範囲の特定にも活用できます。
さらにNET-CAGEは転写中のmRNAも同時に捉えることができるため、mRNAの真の転写量に基づく発現比較も可能となります。

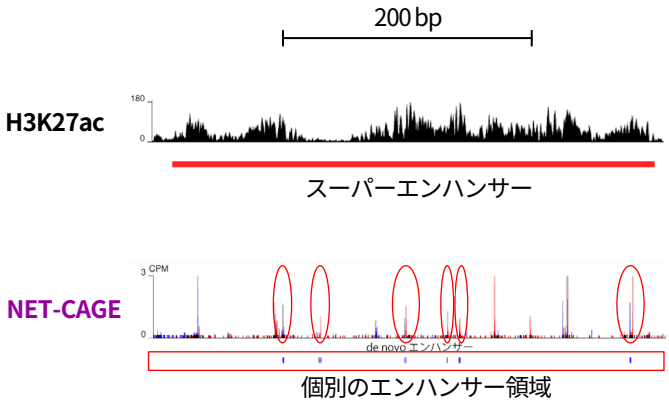


eRNAとPROMPTsを捉え、活性化されたエンハンサー領域とプロモーター領域をゲノムワイドに検出！

例1. 活性化しているエンハンサー領域やプロモーター領域を捉える

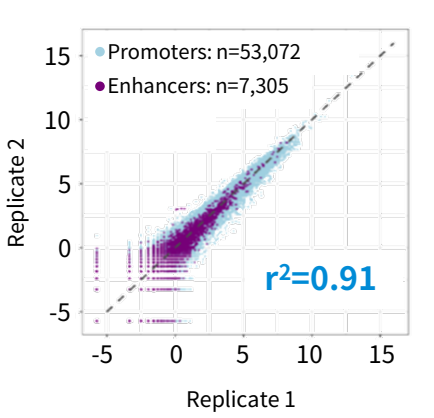


例２.スーパーエンハンサー内の個別エンハンサー領域の検出



NET-CAGEによって既知のスーパーエンハンサーに含まれる個別のエンハンサー領域を高解像度で同定！

高い再現性



同一サンプルに2反復のNET-CAGEを実施して、発現量（Log_2CPM）をプロットしたもの。
高い相関係数を示しています。

NET-CAGEの特徴

1 活性化している**エンハンサー領域やプロモーター領域を高解像度で同定**できます。

2 GRO-seqやPRO-seqと異なり**凍結サンプルや組織サンプル**からも解析が可能です。※1

3 リアルタイムな転写活性に基づいた**遺伝子発現量比較データも同時に得られます。**

4 **細胞または組織を送るだけ。**インフォマティクス解析込みで納品します。

※1 骨や軟骨など組織の種類によってはNET-CAGEでの解析が難しい場合があります。事前にご相談ください。

他の解析法との比較	NET-CAGE	CAGE	RNA-seq	ChIP-seq
未知遺伝子を含むトランスクリプトーム解析	○	○	○	△
発現量の定量性ダイナミックレンジ	◎	◎	○	×
プロモーター部位の同定	◎	◎	△	○
転写因子結合モチーフの予測	◎	◎	△	◎
eRNA / PROMPTsの同定	◎	△	×	×
Alternative Exon1の同定	◎	◎	△	×
選択的スプライシング、融合転写物等遺伝子の構造同定	×	×	△	×
サンプル調整難易度	△	△	○	×
リアルタイムな転写活性に基づく遺伝子発現比較	◎	×	×	×

基本サービス

1. ご依頼（受付サンプル）

サンプル※1	**哺乳類の細胞あるいは組織**※2
細胞数（培養細胞の場合）	2×10^7細胞程度※3
サンプルの状態	-80°C以下で凍結

※1 NET-CAGEの解析対象は哺乳類のみとなります。
※2 組織によっては解析できない場合もあります。サンプル量と合わせて事前にご相談ください。
※3 可能であれば2×10^7個の細胞を2本分お送りください。

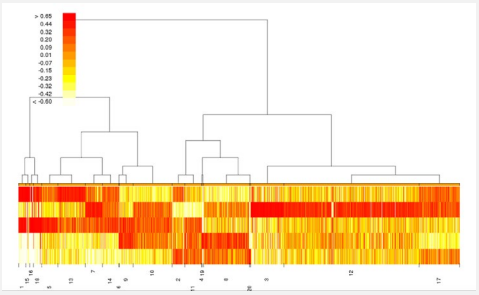
2. ライブラリ作製・NGSシーケンス

NGS	HiSeq 2500/NextSeq
推奨サンプル数	6〜16mix/レーン
平均データ量	1,000〜1,500万リード/サンプル
シークエンス	50bp/75bp Single-end
データ解析	CAGE解析は遺伝学研究所のフリー解析パイプライン※でも可能

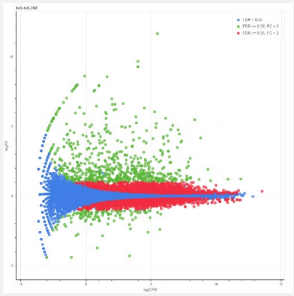
※http://cell-innovation.nig.ac.jp/index_en.html

3. データ解析・納品（納期1〜2ヵ月）

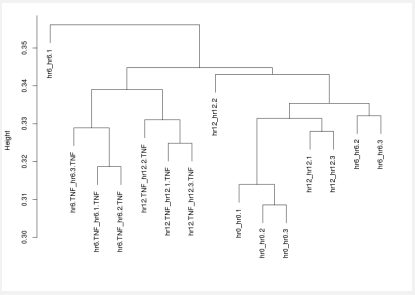
シーケンシングデータ（塩基配列情報、クオリティ情報）
マッピングデータ（リファレンスゲノムにマップされた配列情報と位置情報）
CTSS（CAGE Transcription Start Sites）情報
遺伝子発現情報（ノーマライズした発現量、結果の信頼性を示す情報）
遺伝子発現比較解析結果（理研FANTOMプロジェクトで検出されたエンハンサーとの発現比較、比較対象との差異量情報、相関図、転写因子結合モチーフ探索の結果など）
報告書（サンプル、シーケンスライブラリ、シーケンスの品質情報、解析結果の説明文書）、手引書



遺伝子クラスタリング



遺伝子発現比較



サンプルクラスタリング

価格

NET-CAGE解析受託サービス（解析費用込み）

サンプル数	NET-RNA抽出（税別）	CAGE解析（税別）
1 – 23 サンプル	20,000 円/ サンプル	90,000 円/ サンプル
24 サンプル以上	10,000 円/ サンプル	80,000 円/ サンプル

株式会社ダナフォーム
〒230-0045　神奈川県横浜市鶴見区末広町 1-1-43
ライフサイエンス研究センター 402号室
TEL: 045-508-1539　E-mail: contact@dnaform.jp

取扱店