

RNA-Seq 遺伝子発現解析

ヒト・マウスを含む、リファレンス配列のある生物を対象とした遺伝子発現解析サービスのご案内です。

※ リファレンスゲノム情報の無い生物種については、弊社ホームページの「*de novo* トランスクリプトーム解析」をご参照ください。

シーケンスデータ取得 (Raw Data)

○RNA ライブラリ調製 (方向性有り)

○Illumina 150PE 6Gb / 検体 (2,000 万リードペア / 検体)

※ 上記は弊社標準仕様です。最低 1Gb/ 検体 (330 万リードペア / 検体) から、1Gb 単位の任意のデータ量でご利用可能です。

<ご注意いただくサンプル>

精製済み Total RNA : 600ng 以上 (濃度 : 20ng/μL 以上 液量 : 30μL 以上) ※ 真核生物の場合
サンプル量が上記基準に満たない場合でも解析可能な場合がございますので、ご相談ください。

データ解析 (遺伝子発現解析)

<特長>

- ・ 遺伝子発現量算出に特化した解析系
- ・ 発現量は **TPM 値** で算出 (裏面参照)

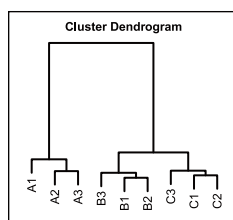
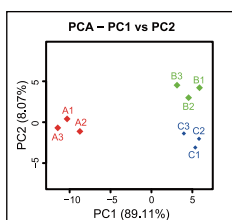
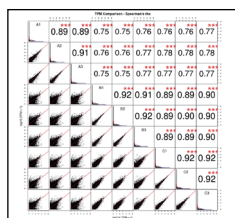
※ 本解析では、リファレンス配列に対するアライメント情報 (BAM ファイル) は出力されません。

<納品データ例>

■ 遺伝子発現テーブル

Gene ID	Gene Name	TPM normalized count									mean count [Group]			log2 FoldChange [Group]		
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	A (A1,A2,A3)	B (B1,B2,B3)	C (C1,C2,C3)	B / A	C / A	C / B
ENSG00000121410	A1BG	20.971	31.101	20.336	8.556	18.194	14.726	17.725	10.469	9.076	24.136	13.825	12.423	-0.804	-0.958	-0.154
ENSG00000148584	A1CF	0.016	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000	0.017	0.044	0.000	0.005	0.013	0.020	1.316	1.936	0.619
ENSG00000166535	A2ML1	0.933	2.218	8.717	0.057	0.667	0.676	0.910	0.655	0.330	3.956	0.466	0.631	-3.084	-2.647	0.437
ENSG00000094914	AAAS	23.130	34.282	34.029	38.760	36.323	32.658	43.593	41.439	36.069	30.480	35.914	40.367	0.237	0.405	0.169
ENSG00000081760	AACS	21.482	24.466	24.289	64.771	70.237	47.835	18.432	20.189	15.778	23.412	60.948	18.133	1.380	-0.369	-1.749
ENSG00000205002	AARD	0.307	0.290	0.311	0.344	0.467	0.207	0.110	0.227	0.229	0.303	0.339	0.189	0.164	-0.682	-0.846
ENSG00000281376	ABALON	2.149	1.138	1.199	4.188	4.247	6.378	2.837	2.198	4.449	1.495	4.938	3.161	1.724	1.080	-0.643
ENSG00000198691	ABCA4	0.367	0.612	0.365	94.002	59.012	14.546	426.844	394.464	195.167	0.448	55.853	338.825	6.962	9.563	2.601

■ 各種 Figure (検体間の発現プロファイル比較)



検体間・群間の Fold Change 算出まで実施いたします。有意差検定は有償のオプション解析となります。

TPM 値について

TPM と FPKM は、どちらも総リード数と遺伝子長に関して各転写産物のリード数を補正する標準化方法ですが、その算出方法には両者で違いがあります（右図）。

FPKM では、総リード数を揃えた後に遺伝子長の補正を行うため、その合計値は検体ごとに異なります。

TPM では、遺伝子長の補正後に総リード数を揃えることで各検体の TPM の総和が等しくなり、検体間の発現量を比較するのに適した値とされています。

TPM : Transcripts Per Million

FPKM : Fragments Per Kilobase of transcript per Million fragments mapped

FPKM

各サンプルの総リード数を 100 万に揃える

遺伝子長 1kb あたりのリード数に補正する

TPM

遺伝子長 1kb あたりのリード数に補正する

各サンプルの総リード数を 100 万に揃える

<使用プログラムについて>

弊社標準解析では、アライメントフリーの Salmon プログラムを採用し、TPM の発現量を算出します。TPM・FPKM 問わず、各種プログラム※を利用した発現量の算出も対応可能です。

ご希望の場合はお問い合わせください。（別途費用）

※ STAR/RSEM, HISAT/Stringtie, Tophat/Cufflinks 等

オプション解析（有償）

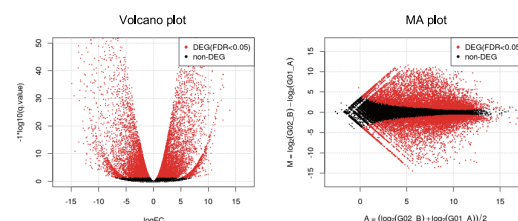
有意差検定

遺伝子発現解析結果を用いて、群間における遺伝子発現変動の有意差検定を行います。（ $n \geq 3$ 推奨）

■有意差検定結果

Gene ID	Gene Name	mean count [Group]		statistical significance					
		A (A1,A2,A3)	B (B1,B2,B3)	a.value	m.value	p value	q value	rank	DEG
ENSG00000121410	A1BG	108.356	61.610	6.352	-0.815	0.091	0.201	15765	0
ENSG00000148584	A1CF	0.812	1.368	0.076	0.752	0.828	1.000	28494	0
ENSG00000175899	A2M	669.289	1239.704	9.831	-0.889	0.023	0.064	12595	0
ENSG00000166535	A2ML1	258.282	11.054	5.740	-4.546	0.000	0.000	5229	1
ENSG00000184389	A3GALT2	2.290	1.004	0.600	-1.190	0.530	0.768	24038	0
ENSG00000128274	A4GALT	4268.418	23.398	8.304	-7.511	0.000	0.000	219	1
ENSG00000094914	AAAS	649.336	559.536	9.235	-0.215	0.489	0.724	23563	0
ENSG00000081760	AACS	1065.693	2004.674	10.513	0.912	0.003	0.011	9802	1

■各種 Figure



GO 解析

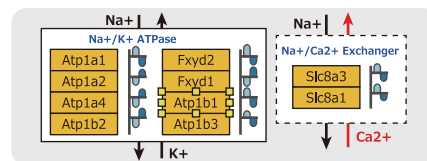
GO : Gene Ontology

発現変動遺伝子群と関連性の高い GO を探索します。

GO Accession	GO Term	p-value
GO:0044802	single-organism membrane organization	8.37E-12
GO:0044702	single organism reproductive process	3.27E-10
GO:0050818	regulation of coagulation	3.61E-10
GO:0051917	regulation of fibrinolysis	5.58E-10
GO:0051781	positive regulation of cell division	4.81E-07
GO:0006600	creatine metabolic process	5.54E-07

パスウェイ解析

発現変動遺伝子群と関連性の高いパスウェイを探索します。



※ GO 解析、パスウェイ解析について、ヒト・マウス以外の生物種の場合は事前にお問い合わせください。

お見積り・お問い合わせ

▼ お問い合わせの際、こちらをお知らせいただくとスムーズです ▼

- 生物種
- 検体数
- 比較の組み合わせ（ $n=3$ で 2 群の比較、など）



お気軽にお問い合わせください。

hss-ngs@hssnet.co.jp

<https://www.hssnet.co.jp>

代理店



北海道システム・サイエンス株式会社

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

☎ 0120-613-190

TEL : 011-768-5901 FAX : 011-768-5951

E-mail : hss-ngs@hssnet.co.jp

URL : <https://www.hssnet.co.jp>

※ 本サービスの仕様は、予告なく変更する場合がございます。