

# マイクロアレイ新時代 アジレントテクノロジー高解像度マイクロアレイ



## 新高解像度マイクロアレイ開発のポイント、特徴(10分)

### アジレントのマイクロアレイ(15分)

- FDA MAQCプロジェクトから
- 新世代遺伝子発現アレイの特長
- 高解像度CGHアレイの特長
- CHIP-on-chipアレイの特長

### 次世代のマイクロアレイ研究の要件(5分)

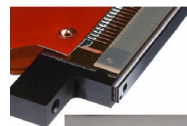
2006年 10月  
アジレント・テクノロジー



## 2006年夏 プラットフォームを一新



(旧44,000スポット)



新型ライター



インクジェットの技術革新により  
すべての性能を向上

- ◎正確さ
  - ・容量
  - ・位置
  - ・解像度
- ◎印刷速度
- ◎信頼性

# 研究者の様々な要望に応えるフォーマットをご用意

- 高解像度フォーマット
- マルチパックフォーマット



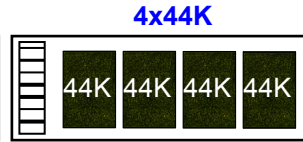
高解像度を必要とする  
アプリケーションに最適  
(例: ヒトプロモーターアレイ)

1アレイ 約80,000円



解像度と低コストを両立  
(例: マウスCpGアイランド)

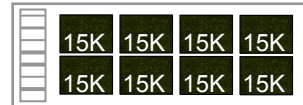
1アレイ 約50,000円



大幅な低コスト化  
(例: 遺伝子発現アレイ)

1アレイ 28,000円

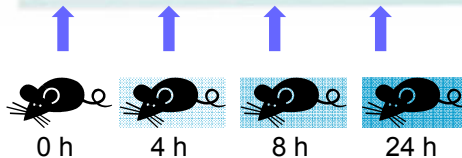
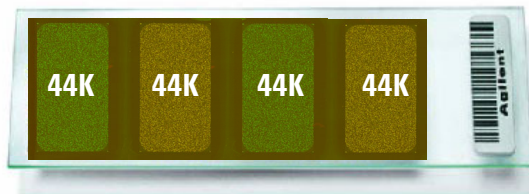
※Agilent Scanner  
※GenePix4000B  
(5umスキャン)に対応



(多検体分析に  
8x15Kフォーマット 開発中)

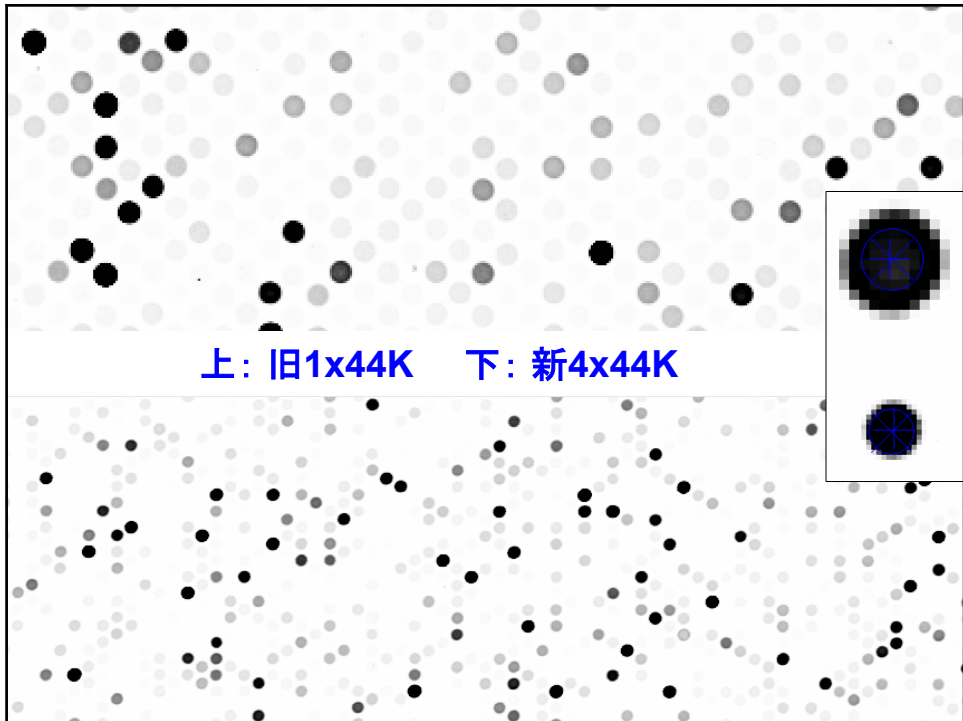
## 新製品 遺伝子発現カタログアレイ

- 4x44Kフォーマット ヒト、マウス、ラット、その他モデル生物



4つの異なるサンプルを、ハイブリダイゼーション可能

1アレイあたり 約 27,000円  
(当社従来比 最大60%コスト減)



# FDA MAQC プロジェクトから

## その時、FDA MAQCプロジェクト - 様々な市販のマイクロアレイの比較解析

- Evaluation of DNA microarray results with quantitative gene expression platforms
- Using RNA sample titrations to assess microarray platform performance and normalization techniques
- Evaluation of external RNA controls for the assessment of microarray performance
- Performance comparison of one-color and two-color platforms within the MAQC project
- The MAQC project shows inter- and intraplatform reproducibility of gene expression measurements

米FDAプロジェクト、  
市販のマイクロアレイデータは  
信頼性が高く一貫していることを確認



Nature Biotechnology  
September 8, 2006

## FDA MAQCプロジェクト



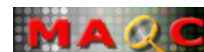
Nature Biotechnology  
September 8, 2006

最大の勝者は科学界！

“The end result is a rich data set !”  
(GSE5350)

- 1.5 years, 137 participants, 51 Organizations
- マイクロアレイは遺伝子発現の Profilingに今後も使える。
- 臨床での診断にも使える。

**Personalized  
Medicine**



## FDA MAQCプロジェクト

– データはプラットフォーム間で比較可能だが…



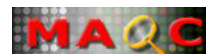
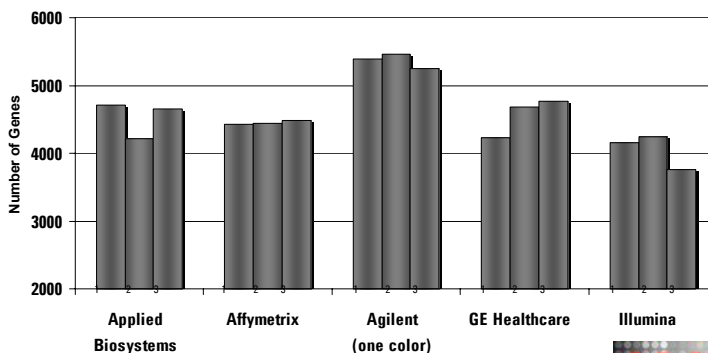
アジレントとABIは他のプラットフォームと比べてTaqManと相溶性が高い！

- Within the MAQC study, there were notable differences in various dimensions of performance between microarray platforms. Some platforms had better intrasite repeatability overall (e.g., Illumina), better intersite reproducibility (e.g., Affymetrix), or more consistency in the detection calls (e.g., GE Healthcare). Likewise, some platforms were more comparable to TaqMan assays (e.g., Applied Biosystems and Agilent one-color), whereas others demonstrated signal compression (e.g., NCI\_Operon).



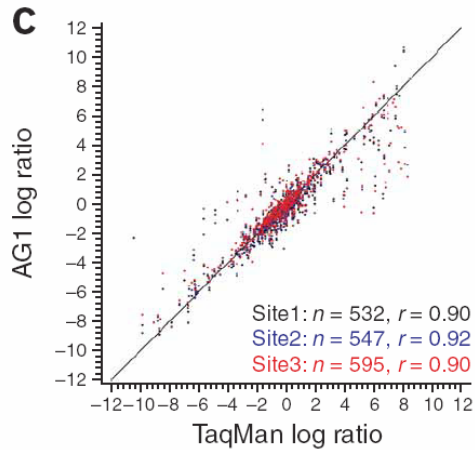
## Just the Facts : 最も多くの発現差のある遺伝子を検出できるプラットフォームは？

**Detected Differential Expression by Platform Site**  
*Data from Main Manuscript; Fig. 4 & Supplement Table S7*



# Just the Facts : 定量PCRとの相関

## - 旧1x44Kフォーマット使用



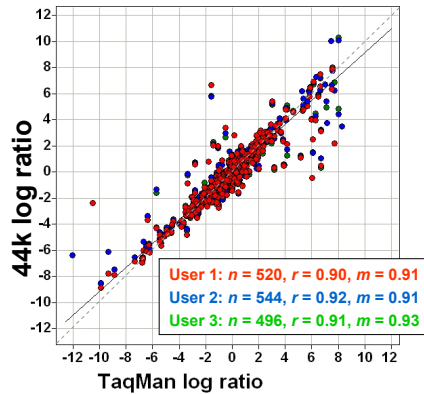
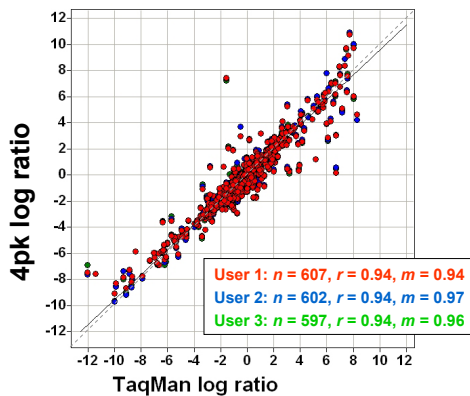
Nature Biotechnology  
Published online: 08 September 2006 | doi:10.1038/nbt1239



Agilent Technologies

# 定量PCRとの相関

## - 新4x44K vs. 旧1x44Kフォーマット



TaqMan data from MAQC  
project; Probe mapping from  
MAQC "cross-mapped" set

Agilent Technologies

# アジレントの マイクロアレイでできること

# アジレント・テクノロジー 新世代遺伝子発現用マイクロアレイ

# アジレントの遺伝子発現アレイ - 新4x44Kフォーマット

有効ダイナミックレンジ  
5ケタを実現

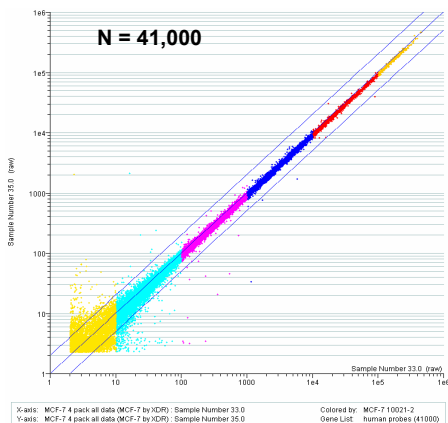
パスウェイ解析に重要な  
中・低発現遺伝子を  
ノイズと区別し高感度に検出

思い切った低価格化

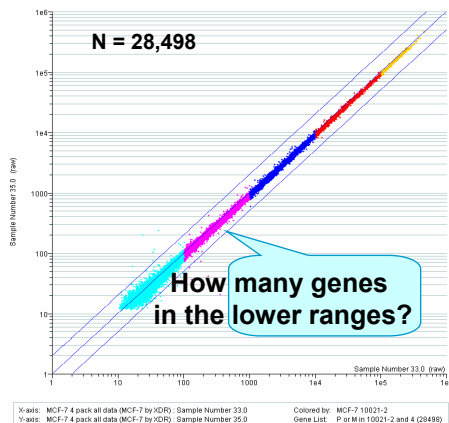
オミクス時代を  
開拓する研究者の方に、  
本当に  
信頼できるツールを提供

## 5桁のダイナミックレンジを実現

全プローブ、生データのScatter Plot



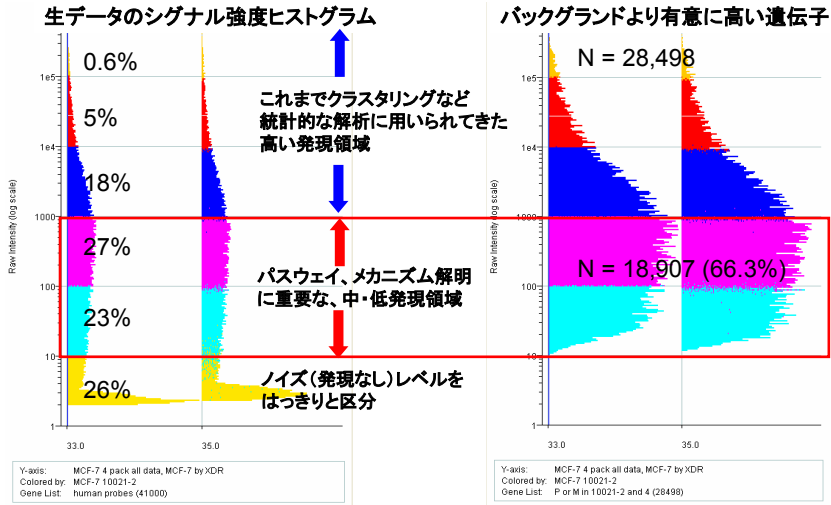
Well Above SpotsのScatter Plot



サンプル: MCF-7

# ノイズ成分をはっきりと区別

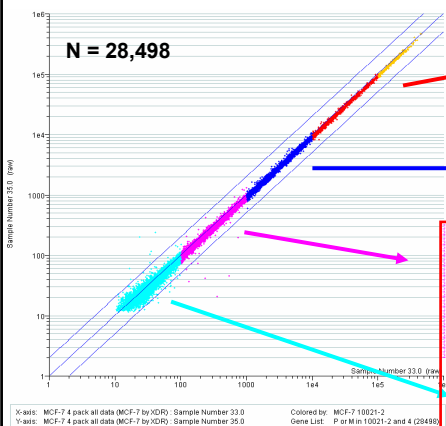
## - 中・低発現遺伝子を高い信頼性で検出



# 中・低発現領域の検出感度と再現性を大幅に向上

## - これまで出来なかった低・中発現遺伝子のGO解析

### Well Above SpotsのScatter Plot



Protein biosynthesis  
Macromolecule biosynthesis  
Cellular biosynthesis  
Biosynthesis  
Macromolecule metabolism

GO解析で濃縮される遺伝子のカテゴリ

Macromolecule/RNA/primary/biopolymer/cellular metabolism  
Cellular physiological process  
RNA processing/mRNA metabolism  
Nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism  
Protein transport

Regulation of transcription, DNA-dependent  
Regulation of nucleobase, nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism  
Metabolism  
Regulation of cellular metabolism  
Cellular physiological process

Synaptic transmission  
Transmission of nerve impulse  
Leukotriene biosynthesis  
Glutathione biosynthesis  
development

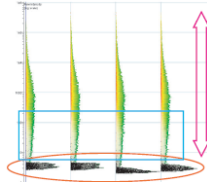
# アジレントの発現アレイの特長(カタログより)

## 「ノイズ」がきちんと見えていますか？

「最近のマイクロアレイは再現性がよくなった」と時々耳にしますが、ちょっと待ってください。もともとアレイにのっている遺伝子の中には、発現している遺伝子もあれば、全く発現しない遺伝子もあるはず。発現していない遺伝子はノイズとしてふるまうことが考えられますが、ノイズ成分がデータから全く見えないデータが増えてはいませんか？

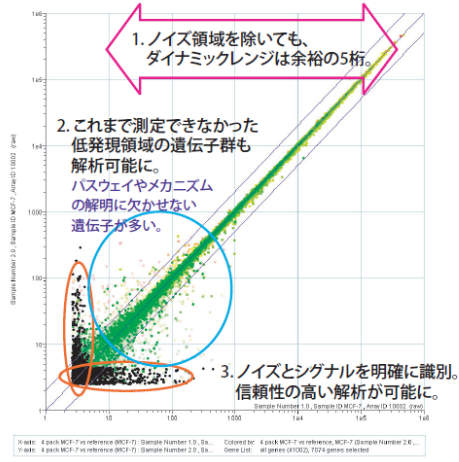
アジレントのマイクロアレイは違います！

この発現レベル領域を他社製アレイデータと比べてみてください！



公開データ：GSE5350

## Gene Expression

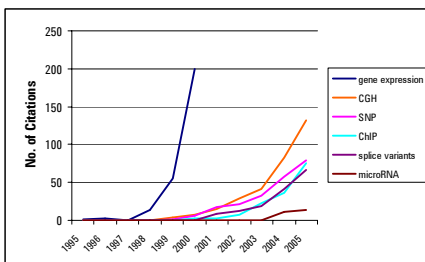


# マイクロアレイを用いた研究のトレンド

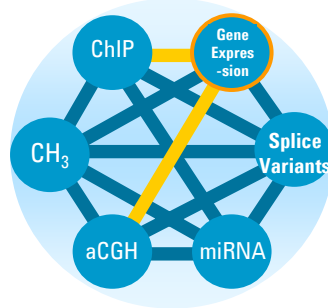
- アプリケーションの広がり
- 多様なレベルの解析を包括的に統合

## Applications Cited in PubMed

Searched: microarray AND (term)



## 調節ネットワークの キャラクタライゼーション



## 原因と効果の関係の同定




# アジレント・テクノロジー 高解像度CGH用マイクロアレイ

Comparative  
Genomic  
Hybridization

 Agilent Technologies

## アジレント高解像度CGH カタログアレイ

ゲノム全体にできるだけ均等にプローブを配置  
(疾病研究に重要なサブテロメア領域もカバー)

	型式	品名	フォーマット	アレイ/スライドグラス	アレイ/キット
	G4411B	Human Genome CGH Microarray Kit 244A	244K	1	5
	G4412A	Human Genome CGH Microarray Kit 100A	2 x 105K	2	10
	G4415A	Mouse Genome CGH Microarray Kit 244A	244K	1	5
	G4416A	Mouse Genome CGH Microarray Kit 100A	2 x 105K	2	10
	今秋発売予定	Rat Genome CGH Microarray Kit 244A	244K	1	5
	今秋発売予定	Rat Genome CGH Microarray Kit 105A	2 x 105K	2	10

 Agilent Technologies

# アジレント高解像度CGH カタログアレイ

## - アレイのプローブについて

Format		Human Genome		Mouse Genome	
		244A	105A	244A	105A
Intragenic probes		70.0%	71.0%	68.4%	69.6%
Intergenic probes		30.0%	29.0%	31.6%	30.4%
RefGenes represented		97.9%	97.9%	98.3%	98.3%
Median probe spacing	Overall	8.9 KB	21.7 KB	7.8 KB	19.3 KB
	Intragenic	7.4 KB	18.9 KB	6.2 KB	15.7 KB
	Intergenic	16.5 KB	50.6 KB	15.2 KB	36.8 KB
Average probe spacing*		6.4 KB	15.0 KB	6.4 KB	15.0 KB

※ リピート配列を除いて計算

遺伝子領域にバイアスをかけてプローブを設計  
(遺伝子の領域におきているDNAコピー数変異を確実に捉える)

## アジレントの高解像度CGHアレイの特長

●●● 正常細胞が高い比率で  
●●● 混入した癌細胞の1コピー  
●●● 変化も高感度に検出

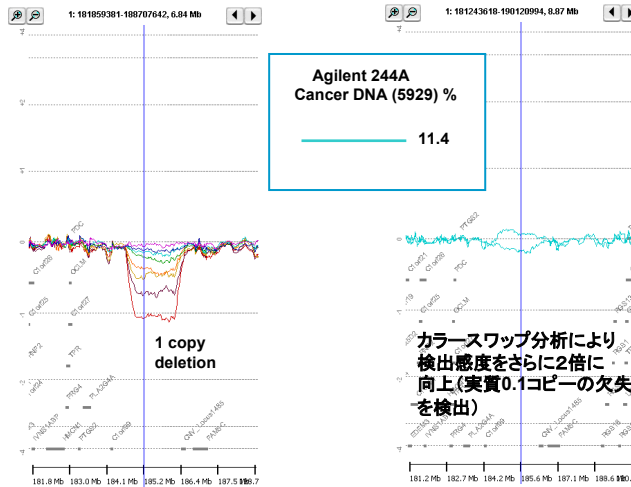
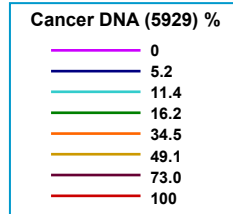
●●● 分解が進んだホルマリン固定  
●●● 標本 (FFPE) のDNAにも  
●●● 適用可能に。

●●● 遺伝子領域のコピー数  
●●● 変化を確実に検出。  
●●● 使いやすいソフトウェア。

癌の克服を目指す研究者に、  
本当に信頼できる  
ツールを提供

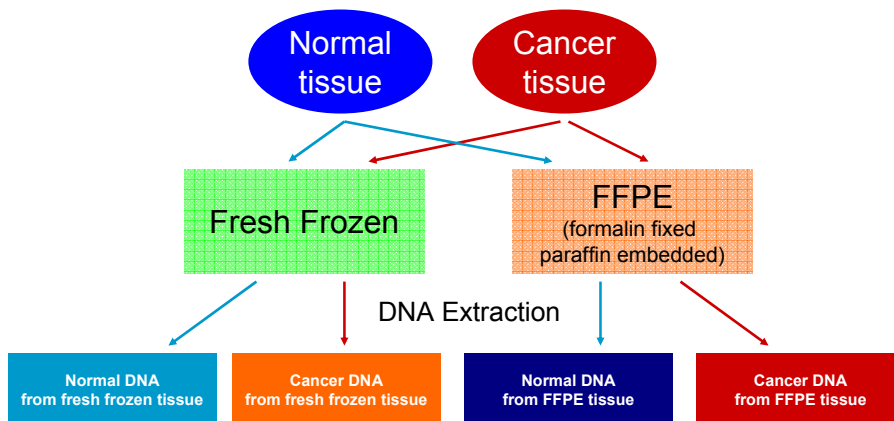
# アジレント高解像度CGHアレイ - HeterogeneousなDNAサンプルへの応用

Agilent 244A  
Moving average = 10 pt



サンプルおよび定量PCRデータご提供  
東京大学医学部 小川誠司先生

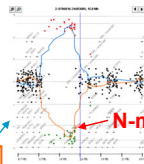
# 分解の進んだホルマリン固定パラフィン包埋由来のDNA サンプルへの応用



# 分解の進んだホルマリン固定パラフィン包埋由来のDNAサンプルへの応用

<Point>

- ※ FFPEサンプルは分解が激しいために直接ラベル化
- ※ Fresh Frozenサンプルは制限酵素処理の後、ラベル化

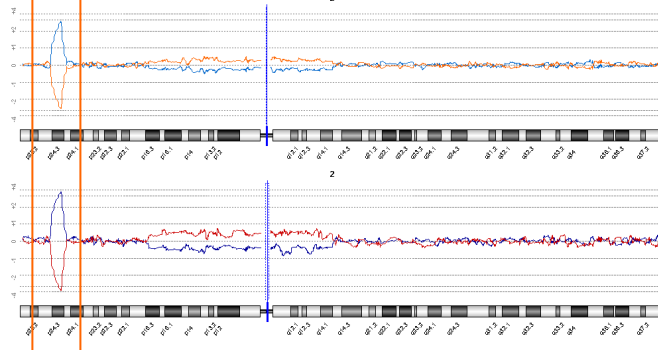


- Cy3 – Fresh Ref, Cy5 – Fresh Tumor
  - Cy3 – Fresh Tumor, Cy5 – Fresh Ref
  - Cy3 – FFPE Ref, Cy5 – FFPE Tumor
  - Cy3 – FFPE Tumor, Cy5 – FFPE Ref
- Moving Average = 20pt

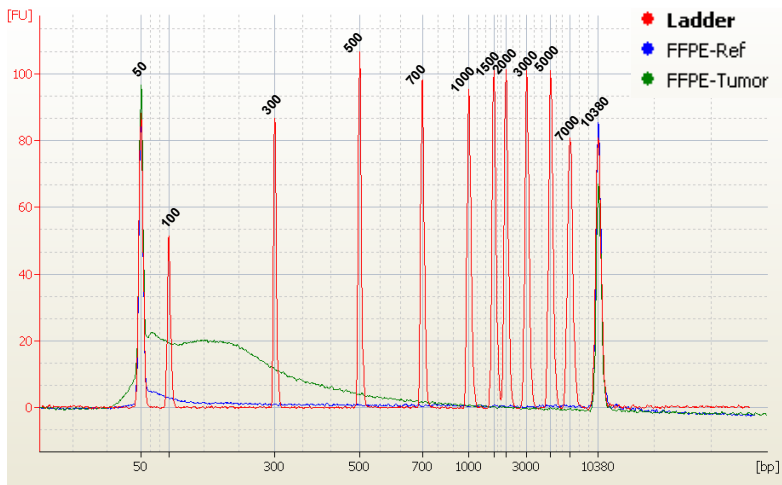
Fresh Frozen

FFPE

DNAサンプルご提供  
東京大学医学部 小川誠司先生

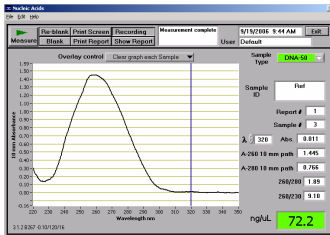


# gDNA from FFPE – Bio Analyzer

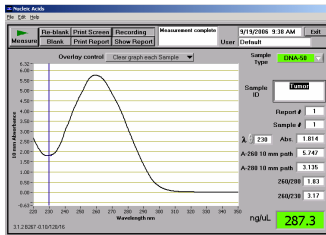


# gDNA from FFPE - UV-Vis

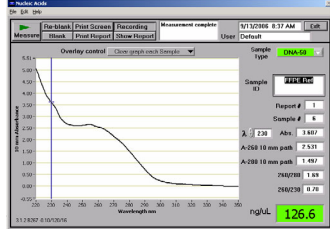
Normal DNA from Fresh Frozen



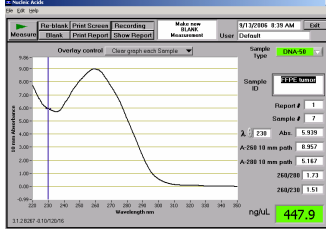
Cancer DNA from Fresh Frozen



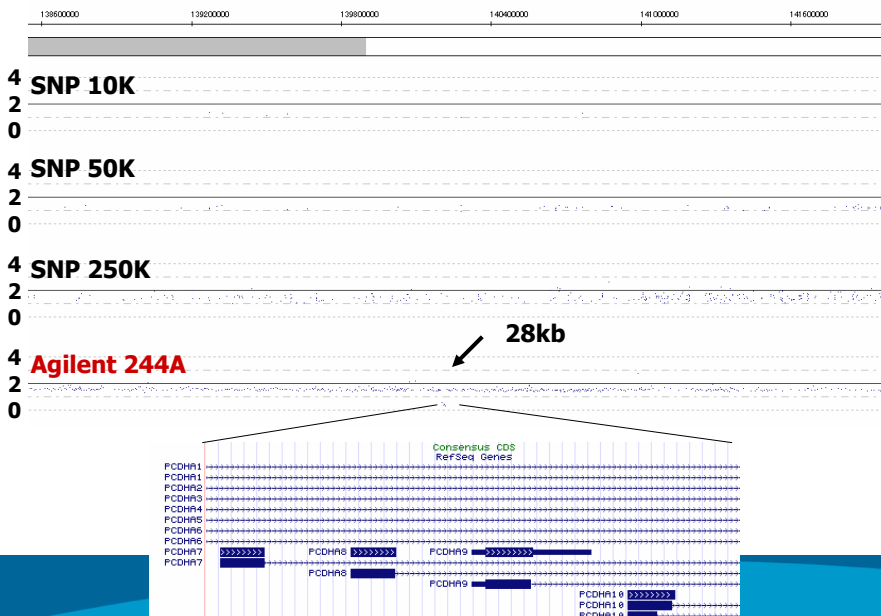
Normal DNA from FFPE



Cancer DNA from FFPE



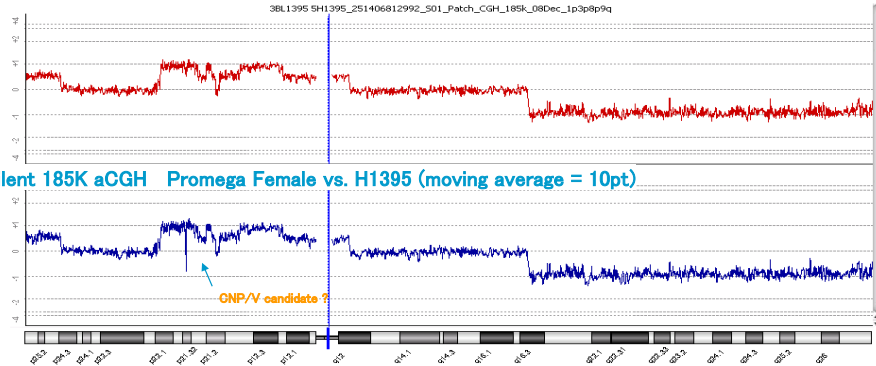
## Agilent244Aの均等なプローブ分布により検出される微細な欠失



# 同一患者由来のnormal DNAが入手できない癌DNAサンプルへの応用

## 6番染色体 (サンプル H1395)

Agilent 185K aCGH BL1395 vs. H1395 (moving average = 10pt)

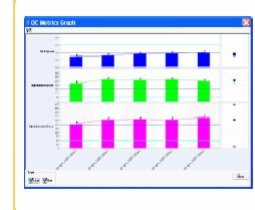
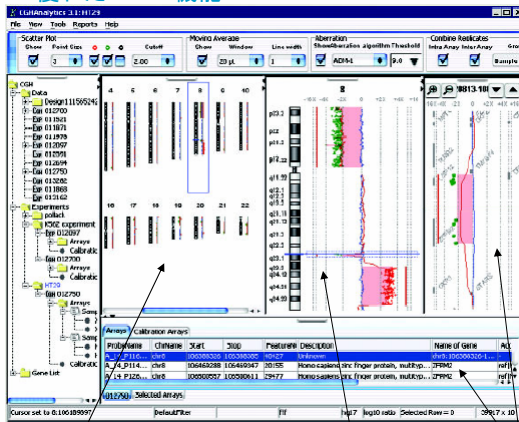


# CGH Analyticsソフトウェア v3.4

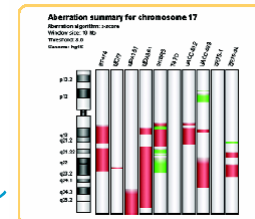
## アジレントの発現アレイ、他社CGHデータも同時表示可能

優れたViewer機能

ワンクリックでQCレポート出力



多検体での共通した変異を自動検出



ゲノムレベル

染色体レベル

遺伝子レベル

でのDNAコピー数変異が一目瞭然!

## ゲノム構造解析への応用 - SNPチップによるアレイCGHの問題点を解決

### 従来品

- × SNPがない場所のコピー数  
変異を検出できない
- × 増幅によるバイアスが発生
- × ノイズ除去プログラム必要
- × 同じ検体のNormal Reference  
が必要
- × heterogeneousなサンプルの  
コピー数変化検出が困難
- × 高度に切断されたFFPEサンプル  
への応用が困難

### アジレントCGHアレイ

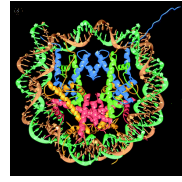
- 遺伝子領域を中心に、できるだけ  
均等にプローブを配置
- 増幅(バイアス)のないラベル化  
プロトコルを開発
- **ノイズ除去プログラム不要**
- 市販のNormal Reference利用可能
- Normal DNAが高い比率で混入  
したサンプルにも応用可能
- 高度に切断されたFFPEサンプルへも  
応用可能

## アジレント・テクノロジー 高解像度ChIP-on-chip用マイクロアレイ

Chromatin IP (ChIP)  
coupled with  
Microarray (on-chip)

# 今なぜ ChIP-on-chip か？

## - 今後の転写研究を推し進めるもの



Luger et al. and Richmond  
Nature 389:251 (1997)

- *in-vivo*でのゲノムDNA-タンパク質相互作用を丸ごと網羅的に捉えることのできるツール
- 転写調節のネットワークやメカニズムをダイレクトに解明
- クロマチン免疫沈降(ChIP)の利点と、DNAマイクロアレイ(on-chip)の利点の組み合わせ
- 高品質マイクロアレイがコスト低下で普及段階に
- GEやaCGHとほぼ同じマイクロアレイシステムでの実験が可能
- 各種生物学データベースを融合することで、より深い生物学的発見を期待
- エピジェネティクスを制御する抗癌剤、癌のメカニズム、診断・治療への応用

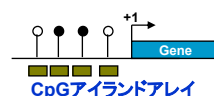
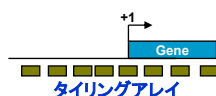
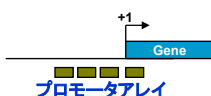
# アジレント高解像度ChIP-on-chip カタログアレイ

## - 新244K & 4x44Kフォーマット

	品名	フォーマット	アレイ/キット	スライドグラス/キット
	Human Expanded プロモーター, 2アレイ セット, 244K	244K	5	10
	Mouse Expanded プロモーター, 2アレイ セット, 244K	244K	5	10
	Yeast Whole genome array 1アレイセット	244K	5	5
	Yeast whole genome 4x44K 1アレイセット	4 x 44K	20	5
	Human CpG Island array  1アレイセット	244K	5	5

その他、モデル生物種のアレイも発売中

シングルスライドでの購入も可能



# アジレントの高解像度ChIP-on-chipアレイの特長

● ● ● ● 高品質プローブを搭載し  
● ● ● ● 生データのプロットで  
● ● ● ● 転写因子の結合部位を確認

● ● ● ● ChIPからデータ解析まで  
● ● ● ● プロトコールと解析ツールを  
● ● ● ● トータルで提供

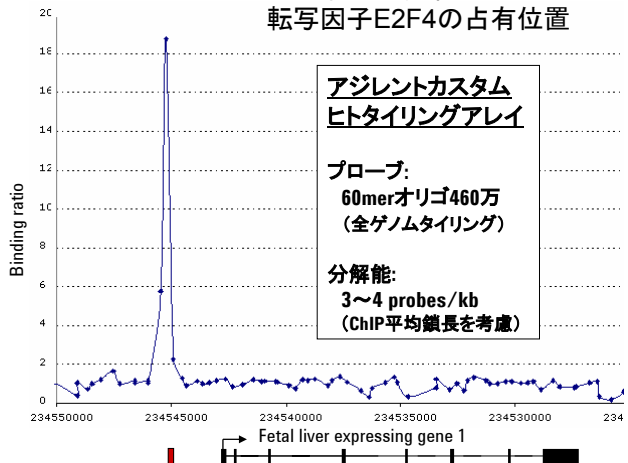
● ● ● ● 設計済みのマスタープローブから  
● ● ● ● カスタムアレイを  
● ● ● ● 容易に作成

転写ネットワ  
クの解明を目指  
す研究者に、本  
当に信頼できる  
ツールを提供

# ホモロジー、Tm、2次構造の基準を パスするプローブのみ搭載

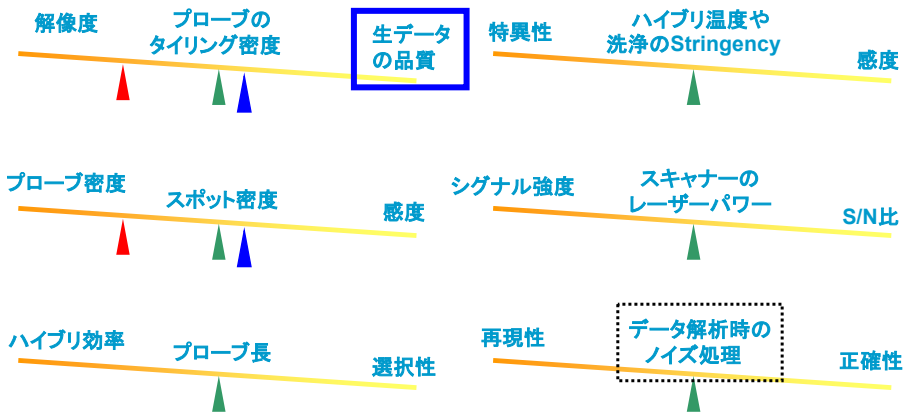
**ノイズ除去不要**  
各プローブの結合  
比 (IP/input) を  
染色体毎に並び替  
えたプロットから  
結合イベントを直  
に判断

データ例: ヒト肝細胞における  
転写因子E2F4の占有位置



Lee et. al., Cell 2006  
(全ゲノムタイリングアレイ)  
Boyer et. al., Cell 2005  
(プロモータアレイ)

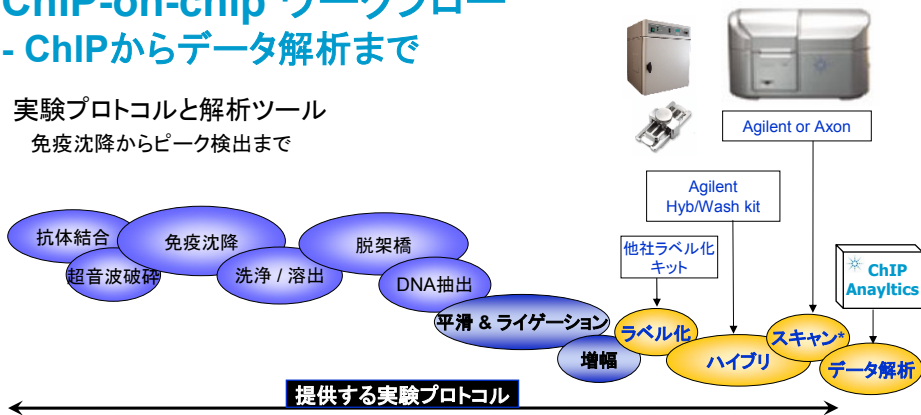
# マイクロアレイの様々なトレードオフ



過度な高密度化とプローブの品質は、両立が困難

# ChIP-on-chip ワークフロー - ChIPからデータ解析まで

実験プロトコルと解析ツール  
免疫沈降からピーク検出まで

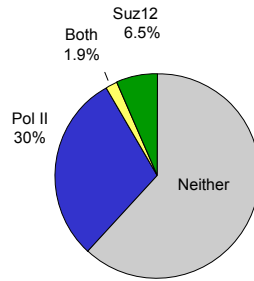
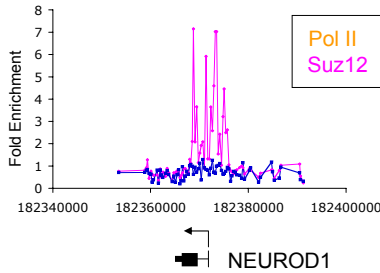
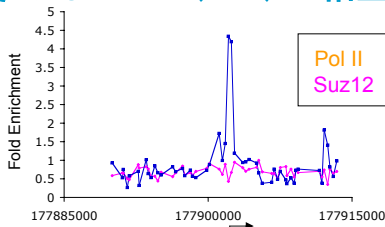


購入前に実験プロトコルを確認いただくことができます。  
ただし、プロトコルの使用にあたっては、最新バージョンをアプリケーション担当よりお受け取りください。

サポート範囲  
ラベル化からデータ解析まで

\* Axonスキャナによるスキャン条件につきましてはサポートできません。

## ChIP-on-chip解析例 : Pol II と Suz12 が結合した遺伝子はそのほとんど(98%)が相互に排他的である



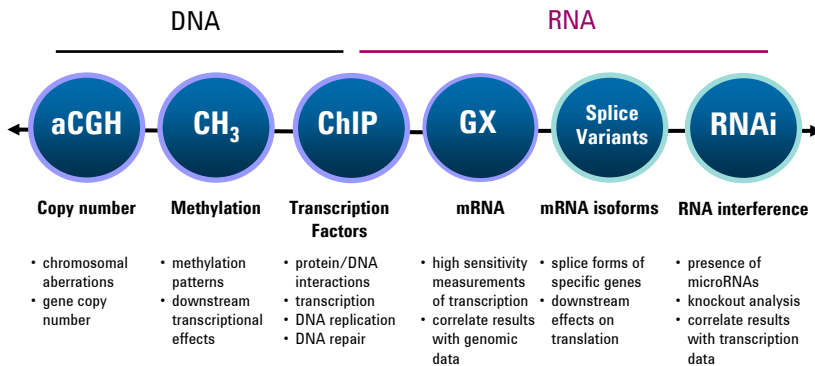
Lee et. al., Cell 2006

特集「知っておきたい最新チップ事情」  
 (『細胞工学』10月号, 2006)に  
 解説記事を掲載

Agilent Technologies

## ひとつのプラットフォームで複数のアプリケーションをサポート

### オミックス研究の加速に向けて



発売中のアプリケーション

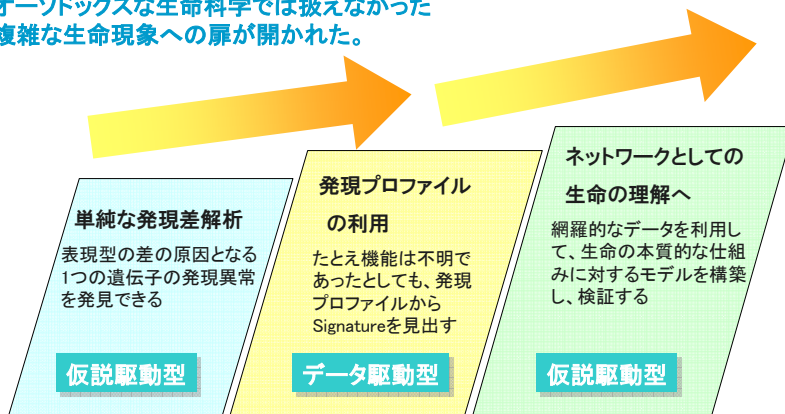
開発中のアプリケーション

Agilent Technologies

# 次世代のマイクロアレイ研究の要件

## 本格的なオミクス研究へ

本格的なオミクス時代の到来により、  
オーソドックスな生命科学では扱えなかった  
複雑な生命現象への扉が開かれた。



## アジレントのカタログアレイ

### 遺伝子発現

- ・ヒト 4x44K
  - ・マウス 4x44K
  - ・ラット 4x44K
- 近日発売 受注生産4x44Kアレイ
- ・イヌ、ニワトリなど  
モデル生物10種類

### aCGH

- ・ヒト 244K, 2x105K
- ・マウス 244K, 2x105K
- ・ラット 244K, 2x105K  
(近日発売予定)

### ChIP-on-chip

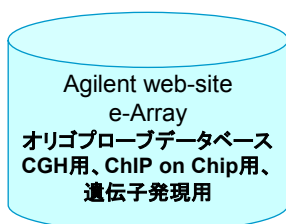
- ・ヒトプロモーター 244K
- ・マウスプロモーター 244K
- ・Yeast全ゲノムタイリング 244K, 4x44K
- ・ヒトCpGアイランド 244K
- ・その他モデル生物 5種類(受注生産)

## アジレントのカスタムアレイ

Agilent e-Array <http://earray.chem.agilent.com/earray/login.do>

製造費のみで、カスタムアレイの作成が可能！

### 1. プローブを選ぶ



### 2. フォーマットを選ぶ



### 3. カスタムアレイ デザイン完成



しかも  
2枚から  
オーダー可能！

# カスタムアレイ！

- Go wherever your research takes you

いよいよ！遺伝子発現を  
含む全てのカスタムアレイの  
設計費が無料になります。



GE Probe Design

Select Design Methodology

- Base Composition Methodology
- Tm Matching Methodology



カタログアレイと同等の製造費  
のみでカスタムアレイを入手可能に。

Agilent Technologies

## マイクロアレイ実験を成功させるために

- アジレントのサポート体制をさらに充実

遺伝子発現 操作実習トレーニング

2日間 月1~2回  
有償、ただしアレイ購入者は無料

aCGH 操作実習トレーニング

2日間 隔月 定期開催  
有償、ただしアレイ購入者は無料

ラベル化からハイブリ、スキャン、基本的なデータ解析まで実際のサンプルを使用した実習です。

**基礎から学ぶDNAマイクロアレイ実験計画とデータ解析**

1日間 月1回  
遺伝子発現操作実習に引き続き実施 (11月より)

Feature Extraction Softwareトレーニング

1日間 隔月 定期開催

GeneSpring フリーデモ&QAセッション

月1~2回 無料

GeneSpring GX ベーシック・トレーニング

2日間 月1~3回 有償

GeneSpring GX アドバンス・ワークショップ

1日間 約月1回 有償

GeneSpring GX プログラミング・ワークショップ

1日間 年3回 有償

一人一台コンピューターを使ったハンズ・オン・トレーニングです。

Agilent Technologies

