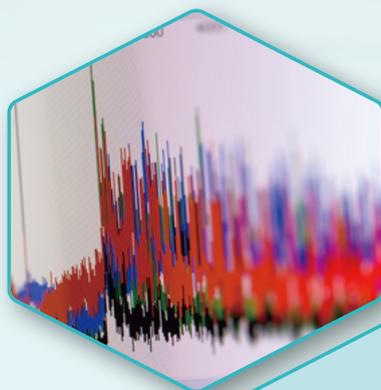


ID3EAL™ miRNA Profiling Solutions

高感度・高特異的な RT-qPCR システム



Class-leading Performance - ID3EAL テクノロジー

ID3EAL (アイディール) テクノロジー ~課題への挑戦~

マイクロRNA (miRNA) は 21-25 塩基長の小さな RNA であり、ヒトで 1,000 以上の分子が存在します。その miRNA を定量的に検出する手法としては、RT-qPCR 法が広く用いられています。miRNA には 1 塩基差程度の相同性の高い配列が複数存在するため、類似した miRNA を正確に区別する RT-qPCR を行うには、特異的なプライマーの設計が必要となります。しかし、miRNA は圧倒的にサイズが小さいため、個々の miRNA に特異的なプライマーを設計するには技術的な課題がありました。しかし弊社の特許技術 ID3EAL テクノロジーなら、その課題を克服することができます。ID3EAL の独自のアルゴリズムを用いて設計された RT プライマーは、すべての miRNA それぞれに特異的にデザインされており (Table 1)、ステムループ構造を有することで成熟した miRNA のみを識別します (Figure 1. A)。qPCR ステップにおけるプライマーも miRNA ごとに設計されており、RT プライマー配列が付加された cDNA を鋳型として qPCR 反応を行うことで (Figure 1. B)、高い特異性と再現性を実現します。

	RT PRIMER	qPCR FORWARD PRIMER	qPCR REVERSE PRIMER
ID3EAL™	Specific	Specific	Specific
Vendor A	Specific	Specific	Universal
Vendor B	Universal	Specific	Specific
Vendor C	Universal	Specific	Universal

Table 1. 他社 RT-qPCR システムとのプライマータイプ比較。弊社のプライマーはすべてターゲット miRNA に特異的な配列で設計されている。

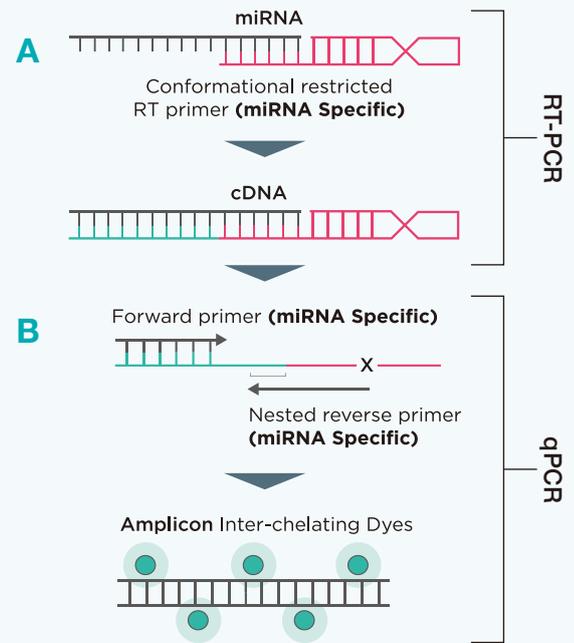


Figure 1. ID3EAL テクノロジーを用いた RT-qPCR システム。RT プライマーのステムループ構造により成熟 miRNA だけと結合する (A)。cDNA には RT プライマーの配列が付加され、qPCR ステップでは RT プライマー配列をターゲットに含む Nested reverse primer と、miRNA 配列に特異的な Forward primer を用いることで高感度・高特異性を実現した (B)。

困難な miRNA も安定した検出

ID3EAL テクノロジーによる RT-qPCR は、増幅が難しいとされる AT 含有率の高いテンプレートにおいても、他社製品と比べ低い Ct 値で検出することができます (Table 2)。また、各プライマーは検証実験で有効性を確認した後、ISO13485 取得の弊社工場から出荷し、Ct 値のばらつきが少なく常に安定した検出パフォーマンスを発揮します。

	% AT	MiRXES	Vendor D	Vendor E	Vendor F
hsa-miR-27a-5p	45%	12.6	16.5	18.1	N/A
hsa-miR-500a-5p	52%	12.5	16.3	19.8	15.8
hsa-miR-30e-3p	55%	13.1	14.8	17.2	14.5
hsa-miR-215-5p	62%	12.8	16.0	19.5	15.6
hsa-miR-32-3p	73%	13.0	21.1	21.2	N/A

Table 2. AT 含有率の高い miRNA を増幅した際の Ct 値の比較。他社に比べ低い Ct 値で安定したパフォーマンスを示した。

優れた特異性

ID3EAL テクノロジーは、高い相同性をもつ miRNA ファミリーを識別することが可能です。RT および qPCR 用の 3 つの特異的プライマーを用いることで、1 塩基程度の違いしか持たない let-7 miRNA ファミリーの各アイソフォームを特異的に識別することができます (Table 3)。今まで検出が難しかった miRNA の検出も可能にし、お客様のバイオマーカー探索をより加速させることができます。

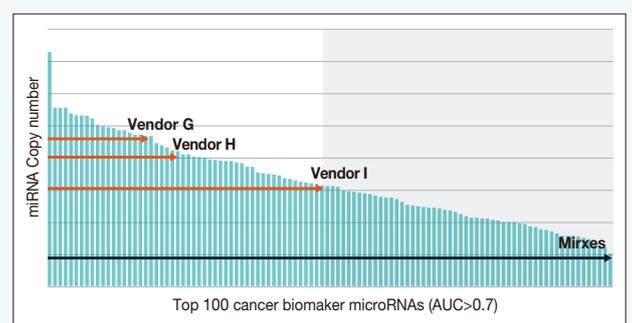
Target	Assay relative detection								
	let-7a	let-7b	let-7c	let-7d	let-7e	let-7f	let-7g	let-7i	miR-98
UGAGGUAGUAAGGUUGUAUAGUU let-7a	100.00%	0.00%	0.10%	1.20%	0.00%	0.50%	0.00%	0.00%	0.00%
UGAGGUAGUAAGGUUGUGUGUU let-7b	0.00%	100.00%	2.20%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
UGAGGUAGUAAGGUUGUAUGUU let-7c	0.80%	1.60%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
AGAGGUAGUAAGGUUGCAUAGUU let-7d	0.40%	0.00%	0.10%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU let-7e	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
UGAGGUAGUAAGAUUGUAUAGUU let-7f	0.10%	0.00%	0.00%	0.00%	0.10%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%
UGAGGUAGUAAGUUUGUACAAGUU let-7g	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%
UGAGGUAGUAAGUUUGUCUGUU let-7i	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%
UGAGGUAGUAAGUUUGUAUUGUU miR-98	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%

Table 3. ID3EAL RT-qPCR プライマーによる相同性の高い let-7miRNA ファミリーの検出率。もっとも識別成績が悪かった let-7b と let-7c の間でも僅か 2.2% だった。Assay relative detection: それぞれの miRNA 由来の cDNA を鋳型にした際のターゲットプライマーとミスマッチプライマーそれぞれから得られた qPCR の Ct 値の差より計算した。

コピー数の少ない miRNA も高感度に検出

ID3EAL RT-qPCR システムでは、通常 100 ng 程度の RNA サンプルで解析が行え、さらに最少 "1 pg" の RNA からアッセイを行った実績もあります。miRNA 解析には微量とされる血清 200 μL を用いて弊社内で行った miRNA 検出試験では、他社プラットフォームは比較的存在率の高い miRNA を 100 種類程度検出したのに対し、ID3EAL RT-qPCR プライマーでは僅かしか存在しない新規 miRNA を含む 450 種類以上の miRNA を検出することができました (Figure 2)。

Figure 2. 他社プラットフォームと ID3EAL RT-qPCR プライマーの miRNA 検出性能の比較。ID3EAL RT-qPCR プライマーは血中存在率の低い miRNA 検出に強みを持っている。



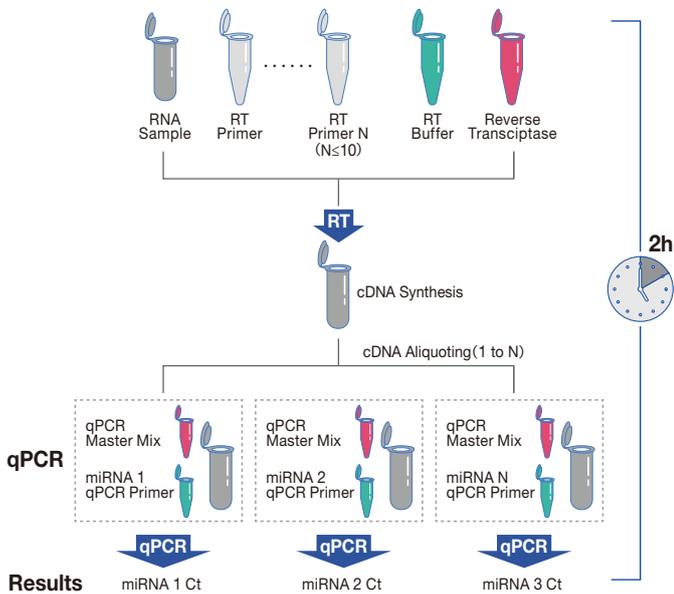
ID3EAL miRNA Assay 製品

効率的プロトコールによる迅速なアッセイをご自身で行うことができます。
製品タイプは 2 種類ございます。

ID3EAL Individual miRNA Assays

個々の miRNA に対するプライマー

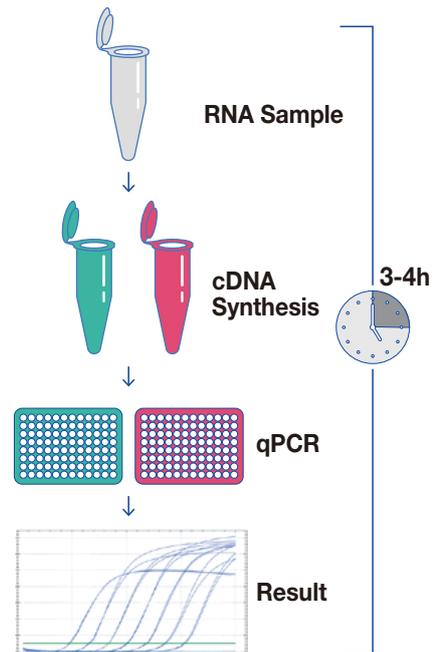
- 幅広い生物種に対応し、合計 80,000 点以上の RT および qPCR プライマーの中から選択可能。
- ヒト、マウス用のプライマーは miRBase 21, 22 の配列を基に設計された個別のプライマー。
- 他の生物種や miRBase 以外のデータベースから得られた配列などのカスタムプライマー作成も可能。
- ノイズを軽減し S/N 比を向上させた最適化された ID3EAL マスターミックス。
- 主要なリアルタイム PCR 機器に対応。



ID3EAL miRNA Knowledge Panel

疾患に関連した 3 種類のパネルキット

- Biofluid、Cancer、PanoramiR の 3 種類のパネルをご用意。
- エキスパートが厳選した 176 ~ 376 種類の miRNA をパネル化。
- 検証済みマルチプレックス RT プライマーセット。
- Ready-to-use の qPCR パネルにより作業時間短縮を実現。
- Spike in control やプレート間キャリブレーターを付属。
- 96well・384well プレートフォーマットをご用意。
- 主要なリアルタイム PCR 機器に対応。



Knowledge Panel kits

品名	ターゲット miRNA	包装
ID3EAL PanoramiR miRNA Knowledge Panel	心臓、代謝、神経、呼吸器、消化器、生殖器等の疾患に関連する 376 種	384 well (12 Sample)
ID3EAL Cancer miRNA Knowledge Panel	主要ながん遺伝子・がん抑制遺伝子とそのシグナル伝達経路に関連深い 352 種類	96 well plate (12 or 24 Sample) 384 well plate (12 or 24 Sample)
ID3EAL Biofluid miRNA Knowledge Panel	20,000 検体以上のヒト血清、血漿、尿サンプルなどの自社データから厳選した 176 種	96 well plate (12 or 24 Sample) 384 well plate (12 or 24 Sample)

References

1. Mestdagh, P. et al. Evaluation of quantitative miRNA expression platforms in the microRNA quality control (miRQC) study. Nat Methods 11, 809–815 (2014).
2. Wan G. et al. High-performance quantification of mature microRNAs by real-time RT-PCR using deoxyuridine-incorporated oligonucleotides and hemi-nested primers. RNA 16, 1436-1445 (2010)

ID3EAL miRNA プロファイリングサービス

弊社のサービスは、プロジェクトコンサルティングから研究デザインサポート、miRNA発現解析実験、バイオマーカー同定、パスウェイ解析、研究結果報告まで、マイクロRNA解析に関する研究・開発を包括的にサポートいたします。また、サービスでしか実施できない700種類のmiRNAを測定できるラージパネルをご用意しております。サービスをご活用いただくことで、お客様の研究をより効率的に推進することができます。



Premium 700 プロファイリングサービス

プロファイリングサービスでのみ実施可能なラージプロファイリングパネルです。弊社のデータベースから厳選した700種類のmiRNAを検出・定量(コピー数)します。バイオマーカーの網羅的な探索に最適です。



PanoramIR パネルプロファイリングサービス

High-impact論文、miRBase22、HMDD3.2、TCGAから厳選した、心臓、代謝、神経、呼吸器、消化器、生殖器等の疾患に関連する376種類のmiRNAを検出します。



Cancer パネルプロファイリングサービス

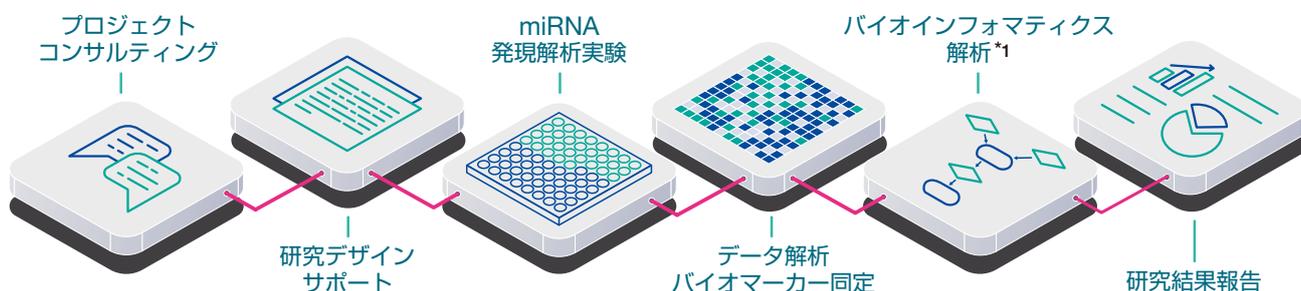
各種癌・miRNAに関する論文より厳選した、主要ながん遺伝子・がん抑制遺伝子とそのシグナル伝達経路に関連深い352種類のmiRNAを検出します。



Biofluid パネルプロファイリングサービス

20,000検体以上の健康者および様々な疾患患者の血清、血漿、尿サンプルから得られた社内データをもとに厳選した176種類のmiRNAを検出します。

プロファイリングサービスの流れ



*1: 別途費用が掛かります。

プロファイリングサービス^{*2}

品名	最低オーダーサンプル数 ^{*3}	キット販売の有無	絶対コピー数定量	納期目安
ID3EAL miRNA Premium700 Profiling Service	72	無	有	4-8週間
ID3EAL miRNA PanoramIR Panel Profiling Service	12	有	無	4-8週間
ID3EAL miRNA Cancer Panel Profiling Service	12	有	無	4-8週間
ID3EAL miRNA Biofluid Panel Profiling Service	12	有	無	4-8週間

*2: ご提出いただくサンプル種類やプロジェクト内容によってはさらに追加のサービスが必要になる場合がございます。

*3: 最低オーダーサンプル数以上からご注文いただけます。

特別な明示が無い限り、MiRXESの製品は研究目的にのみ提供され、治療・診断・検査に用いることは出来ません。本広告に記載されている商品名等は、特に記載はなくても各社の商標、または登録商標です。

MiRXES Japan 株式会社
mirxesjapan.com

販売代理店

〒101-0051 東京都千代田区神田神保町 2-11-15 住友商事神保町ビル2階
TEL: 03-4530-3165 お問い合わせ: mirxesjapan.com/contact/