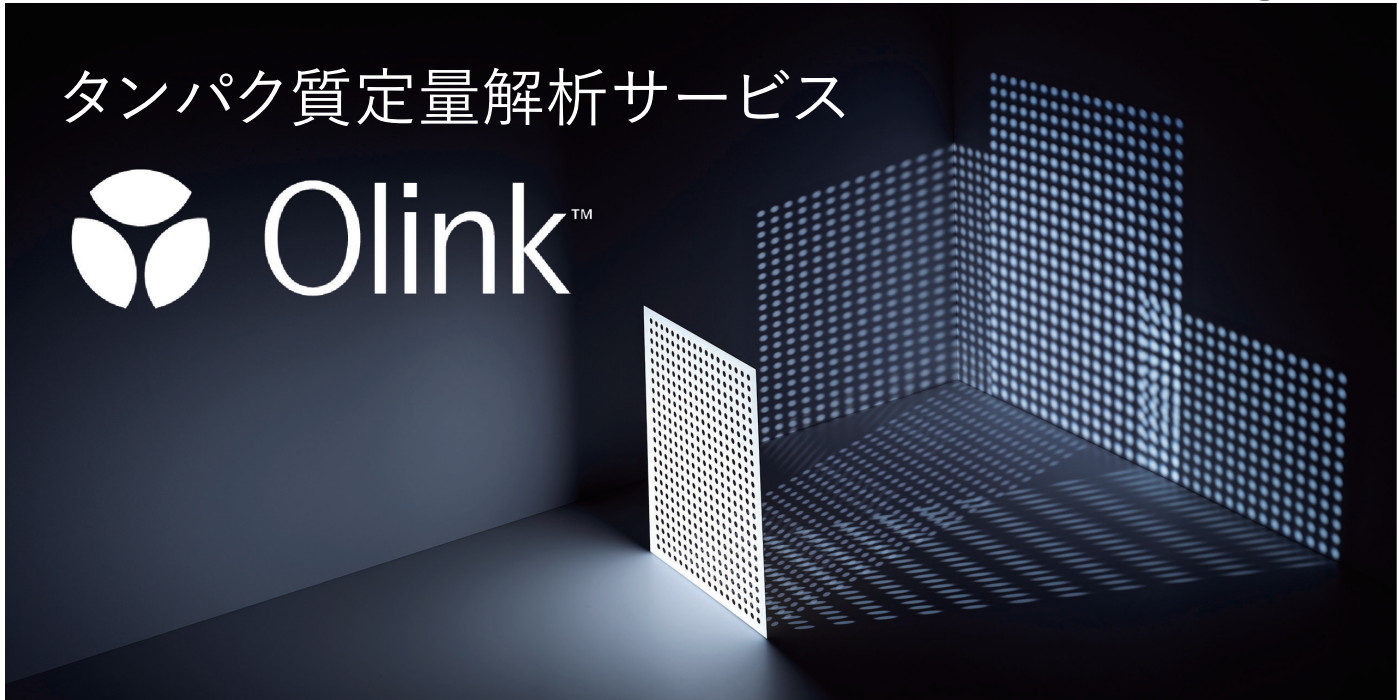


タンパク質定量解析サービス



Introduction

本サービスは、オーリンクプロテオミクス株式会社が提供するProximity Extension Assay (PEA法) をベースとした高感度なタンパク質定量解析です。血清・血漿などの微量検体に対して、多数のタンパク質（現在、約3000種類）の発現値を次世代シーケンサーでリードアウトする革新的な技術です。本技術によって、従来測定法では困難とされていた、微量の血清・血漿を用いたタンパク質の網羅的定量解析が可能となります。本サービスでは、血清・血漿を用いた網羅的バイオマーカー探索やゲノム情報とタンパク質情報を統合したマルチオミックス解析など、広範な研究をサポートいたします。

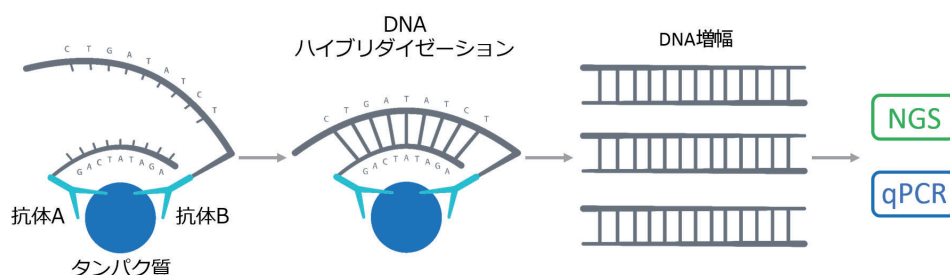
Olink®の特徴

PEA法による特異性の高いイムノアッセイと次世代シーケンサーを組み合わせ、高感度でハイスループットな解析を実現しました。Olink® Explore 3072の使用により最大約3000種類のタンパク質を同時に定量できます。

Proximity Extension Assay (PEA法)

抗体の交差反応性を排除するため、標的タンパク質に対して、2種類の特異的な1本鎖DNAタグ付き抗体を用いてイムノアッセイを行います。2種類の特異的な抗体が正しく標的タンパク質を認識した場合のみ、それぞれの抗体に付加している1本鎖DNA同士がハイブリダイズし、2本鎖DNAが形成されます。次に、この2本鎖DNAを鋳型にしてPCRを行います。最後に、増幅したDNA断片をリアルタイムPCRや次世代シーケンサーで検出し、標的タンパク質の発現量を定量解析します（図1）。オーリンクプロテオミクス社で提供しているタンパク質パネルOlink® Explore 3072（心臓代謝疾患、炎症性疾患、神経疾患、腫瘍性疾患の4領域、各2種類のパネル）を用いることで、最大約3000種類のタンパク質を同時に測定します。

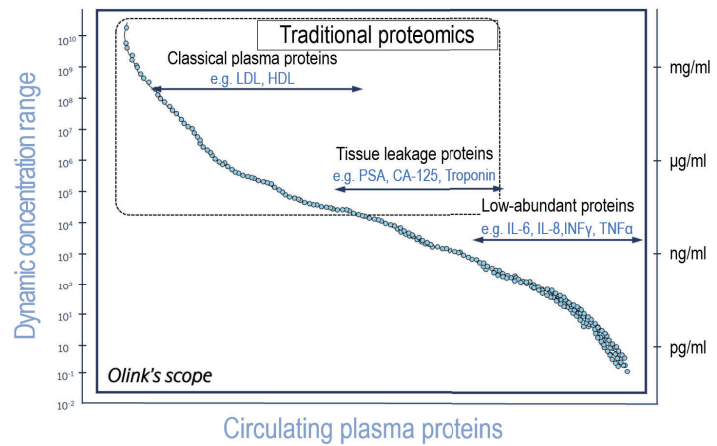
図1. PEA法の概要



広範囲の濃度でタンパク質の定量解析が可能

PEA法ではDNAタグ付き抗体を使用することで従来法より高い特異性を示します。また、PCRによるDNA断片の増幅によって検出感度を高めます。その結果、質量分析法では測定が困難であったサイトカインやケモカインなどの低濃度タンパク質の検出も可能です(図2)。さらに、高濃度のタンパク質は抗体反応に最適化されたサンプル希釈率を用いて測定することで、広範な濃度のタンパク質を解析できます。

図2. Olink® Exploreがカバーする血漿タンパク質の濃度範囲



Olink® Explore 3072

心血管代謝疾患

Olink® Explore 384 Cardiometabolic
Olink® Explore 384 Cardiometabolic II

神経疾患

Olink® Explore 384 Neurology
Olink® Explore 384 Neurology II

炎症性疾患

Olink® Explore 384 Inflammation
Olink® Explore 384 Inflammation II

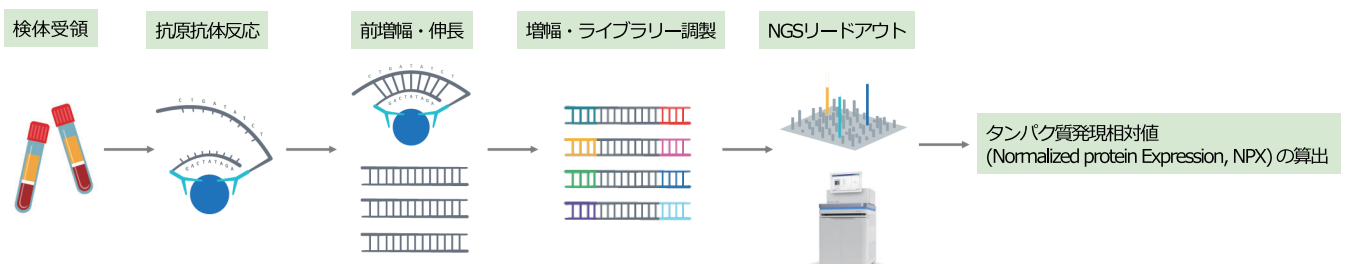
腫瘍性疾患

Olink® Explore 384 Oncology
Olink® Explore 384 Oncology II

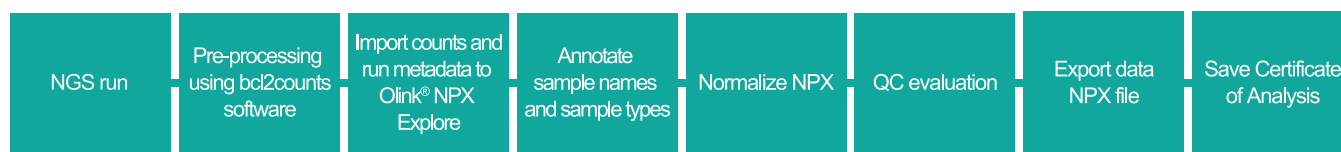
パネル中のタンパク質概要

- 血液中の分泌タンパク質: 「The Blood Atlas」から選出
- 組織特異的な血液バイオマーカー: 主要27臓器の漏出タンパク質
- 炎症性タンパク質: PubMedの抄録3,500万件からテキストマイニングでピックアップ
- 薬剤標的タンパク質: 既存薬と現在進行中の治験候補
- 質量分析によって同定された血液中のタンパク質
- パネル1枚あたり約360種類のタンパク質が測定可能

Olink® Exploreの解析フロー



Olink® Exploreのデータ取得フロー



NPX output file

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	SampleID	Sample_Type	Index	OlinkID	UniProt	Assay	MissingFreq	Panel	Panel_Lot_Nr	PlateID	QC_Warning	LOD	NPX	Normalization	Assay_Warning	ExploreVersion
2	1	SAMPLE		1 O1D20793	A1E959	ODAM	0.4886	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.2995	0.8052	Plate control	PASS	3.0.5
3	1	SAMPLE		1 O1D20805	Q8WTV0	SCARB1	0.9432	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.0477	0.3381	Plate control	PASS	3.0.5
4	1	SAMPLE		1 O1D20821	Q8N2G4	LYPD1	0.05	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.3416	0.5375	Plate control	PASS	3.0.5
5	1	SAMPLE		1 O1D20833	P26440	IVD	0.5114	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.6391	0.8153	Plate control	PASS	3.0.5
6	1	SAMPLE		1 O1D20837	Q9Y6E0	STK24	0.6591	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	1.1173	1.3815	Plate control	PASS	3.0.5
7	1	SAMPLE		1 O1D20841	Q02643	GHRHR	0.6477	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.3262	0.4926	Plate control	PASS	3.0.5
8	1	SAMPLE		1 O1D20843	Q16864	ATP6V1F	0.2386	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.4764	1.2233	Plate control	PASS	3.0.5
9	1	SAMPLE		1 O1D20845	Q96PP9	GBP4	0.5227	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.4042	1.2199	Plate control	PASS	3.0.5
10	1	SAMPLE		1 O1D20855	Q9H0C8	ILKAP	0.2159	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.2627	0.6884	Plate control	PASS	3.0.5
11	1	SAMPLE		1 O1D20872	P49789	FHIT	0.3068	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.7624	1.52	Plate control	PASS	3.0.5
12	1	SAMPLE		1 O1D20877	P61244	MAX	0.3977	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.7716	1.1542	Plate control	PASS	3.0.5
13	1	SAMPLE		1 O1D20883	Q8WUW1	BRK1	0	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	-0.3105	0.6888	Plate control	PASS	3.0.5
14	1	SAMPLE		1 O1D20890	Q92917	GPKOW	0.2955	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.0978	0.3338	Plate control	PASS	3.0.5
15	1	SAMPLE		1 O1D20892	Q9UHV9	PFND2	0.3977	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.4088	1.0001	Plate control	PASS	3.0.5
16	1	SAMPLE		1 O1D20896	O95994	AGR2	0.5909	Neurology	B04414	Plate_layo	PASS	0.2051	0.9598	Plate control	PASS	3.0.5

Olink® 独自のタンパク質発現相対値Normalized Protein Expression (NPX) (log2スケール)がタンパク質ごとに算出されます。

検体条件・提出方法

- 検体：血清・血漿 100 µL、その他のサンプル種については、別途ご相談ください。
- ご提出方法：Olink®では、96ウェルプレートに検体をランダムに配置してアッセイを行います。そのため、あらかじめ検体を96ウェルプレートにランダムに配置した状態で、冷凍送付してください。ランダム化の方法については、発注時にお問合せください。弊社でのランダム化をご希望される際は、別途費用がかかります。

納品物

- 解析報告書 (Olink® NPX Exploreより出力されたAnalysis Reportを含む)
- データHDD/USB/DVD-R：NPX output file (.csv形式)

データ解析(オプションサービス)

- オプション解析例：タンパク質発現解析

統計解析を用いた群間のタンパク質発現比較、発現変動が上位のタンパク質の抽出、クラスタリング、パスウェイ解析、データの可視化(散布図、クラスタリングなど)がご利用いただけます。

算出されたタンパク質の発現変動値と統計値の一例

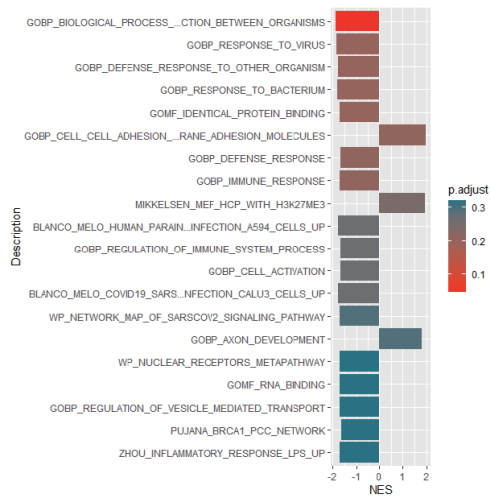
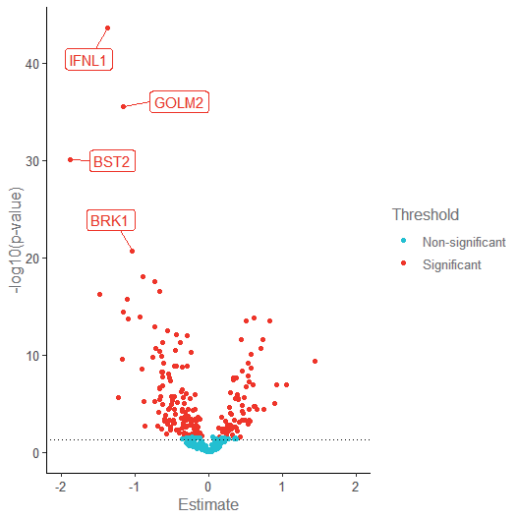
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
1		Assay	OlinkID	UniProt	Panel	estimate	0	1	statistic	p.value	parameter	conf.low	conf.high	method	alternative	Adjusted_p	Threshold
2	1	IFNL1	O1D20795	Q8IU54	Neurology	-1.376207	-0.31746	1.058746	-17.8539	2.50E-44	214.9237	-1.52814	-1.22427	Welch Twctwo.sided		9.18E-42	Significant
3	2	GOLM2	O1D21044	Q6P4E1	Neurology	-1.157844	-1.39863	-0.24078	-19.0676	3.09E-36	107.2463	-1.27822	-1.03747	Welch Twctwo.sided		5.66E-34	Significant
4	3	BST2	O1D21029	Q10589	Neurology	-1.883877	-0.78426	1.099614	-15.4016	8.31E-31	126.6266	-2.12593	-1.64183	Welch Twctwo.sided		1.02E-28	Significant
5	4	BRK1	O1D20883	Q8WUW1	Neurology	-1.037034	-0.53668	0.500354	-11.578	1.97E-21	123.2711	-1.21433	-0.85974	Welch Twctwo.sided		1.81E-19	Significant
6	5	TNFSF14	O1D20953	Q43557	Neurology	-0.896498	-0.57996	0.31654	-10.7684	8.36E-19	107.9438	-1.06152	-0.73148	Welch Twctwo.sided		6.13E-17	Significant
7	6	ARSA	O1D21138	P15289	Neurology	-0.732883	-1.01402	-0.28114	-10.43	2.83E-18	113.6607	-0.87208	-0.59368	Welch Twctwo.sided		1.73E-16	Significant
8	7	SMPD1	O1D21028	P17405	Neurology	-0.669812	-1.44749	-0.77768	-10.0893	3.08E-17	107.4105	-0.80141	-0.53821	Welch Twctwo.sided		1.62E-15	Significant
9	8	CXCL11	O1D21042	Q14625	Neurology	-1.47845	-0.25286	1.225592	-10.1797	6.18E-17	95.90468	-1.76674	-1.19016	Welch Twctwo.sided		2.84E-15	Significant
10	9	MAD1L1	O1D20904	Q9Y6D9	Neurology	-1.10575	-0.0643	1.041452	-9.7804	1.89E-16	105.0959	-1.32992	-0.88158	Welch Twctwo.sided		7.71E-15	Significant



データの可視化、パスウェイ解析など

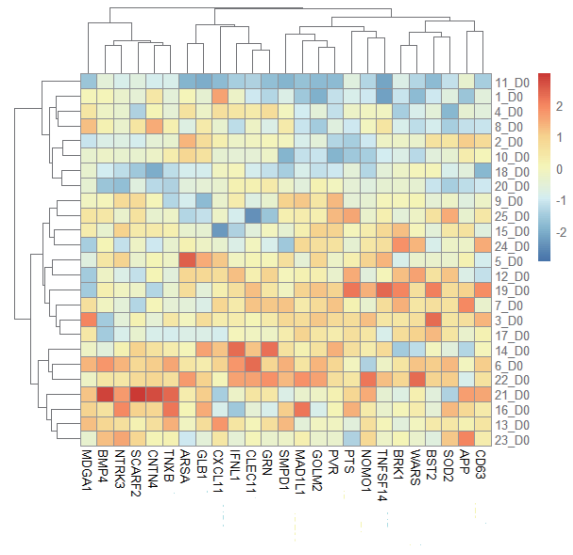
解析例1

発現変動解析のVolcano plot (散布図)



解析例2

発現変動解析のクラスタリング+ヒートマップ



解析例3

パスウェイ解析

GSEAツールを用いたPathway enrichment解析を行い、上位20term(pathway)を表示した。

上記のほか、お客様のご要望に沿ったバイオインフォマティクス解析をご用意しておりますので、ご相談ください。

価格

- 価格は下記のお問い合わせ先までお問い合わせください。

お問い合わせ先

販売代理店

株式会社理研ジェネシス 営業部

〒141-0032 東京都品川区大崎1-2-2
アートヴィレッジ大崎セントラルタワー8F

電話でのお問い合わせ

03-5759-6042

Webでのお問い合わせ

info2@rikengenesi.jp

・本サービスは研究用です。診断目的には使用できません。
 ・本サービスの結果に起因して生じた損失・損害等については、サービスの仕様上、責任を負いかねます。
 ・記載の会社名および製品情報は、弊社または各社の商標または登録商標です。