

Research Support



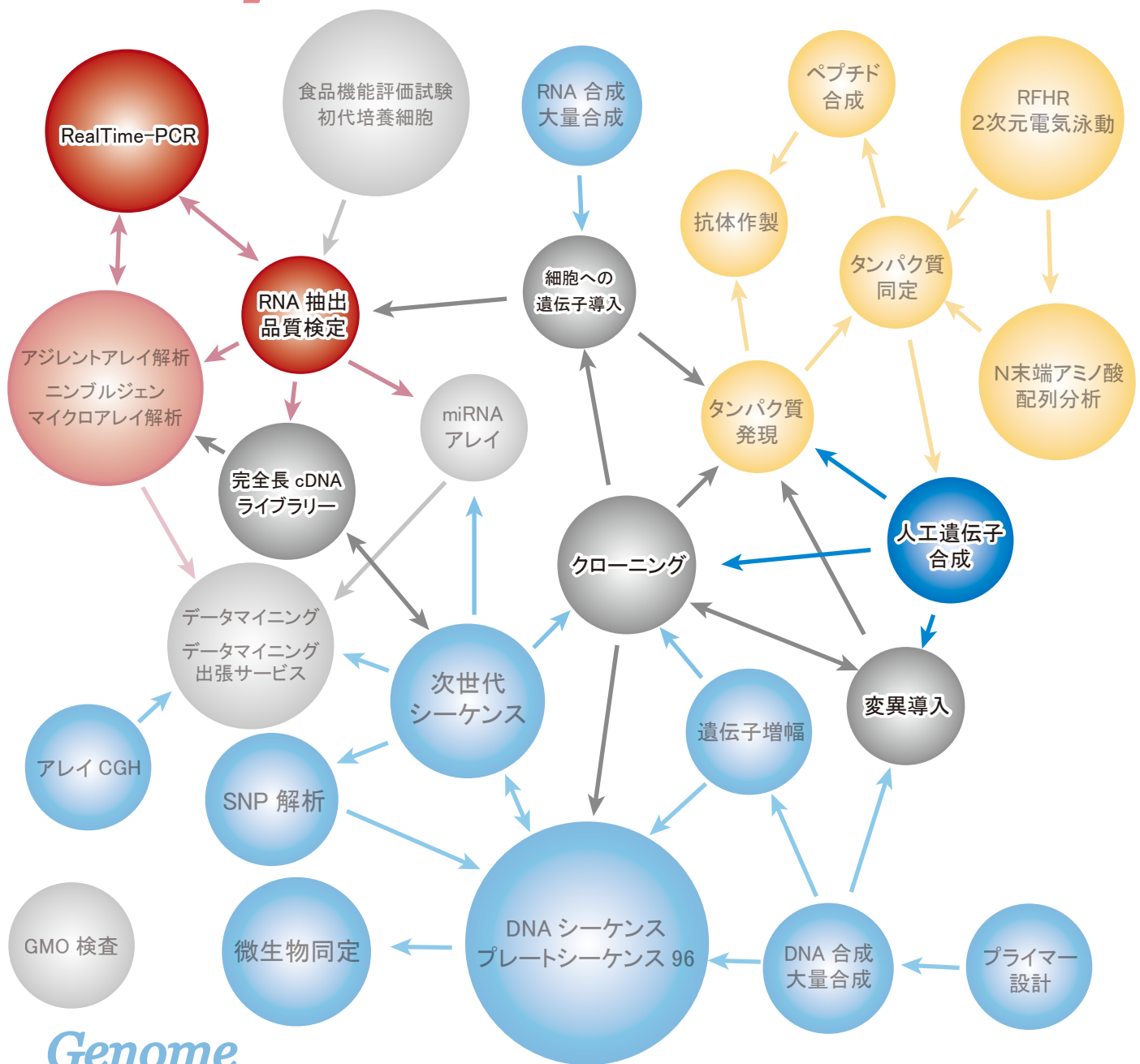
Hokkaido System Science Co., Ltd.

Bio Total Solution

弊社では、バイオ研究の各分野において、各種サービスを取り揃えております。ご研究内容に合わせて、トータルなサポートが可能です。

Transcriptome

Proteome



Bio Total Solution

目次

完全長cDNAライブラリー

クローニング変異導入

人工遺伝子リアルタイムPCR

細胞アッセイご依頼方法

注意事項お問合わせ

目次

Bio Total Solution	1
目次	2
完全長 cDNA ライブラリー作製サービス	3 - 4
クローニングサービス	5
変異導入サービス	6
人工遺伝子合成サービス	7
リアルタイム PCR 解析サービス	8
細胞アッセイサービス	9
ご依頼方法	10
注意事項・お問い合わせ	10

完全長 cDNA ライブラリー作製サービス

ベクターキャッピング法 (V-キャッピング法 ※参考文献1)により、高い完全長率の cDNA ライブラリーを、少量の Total RNA より作製してお届けするサービスです。

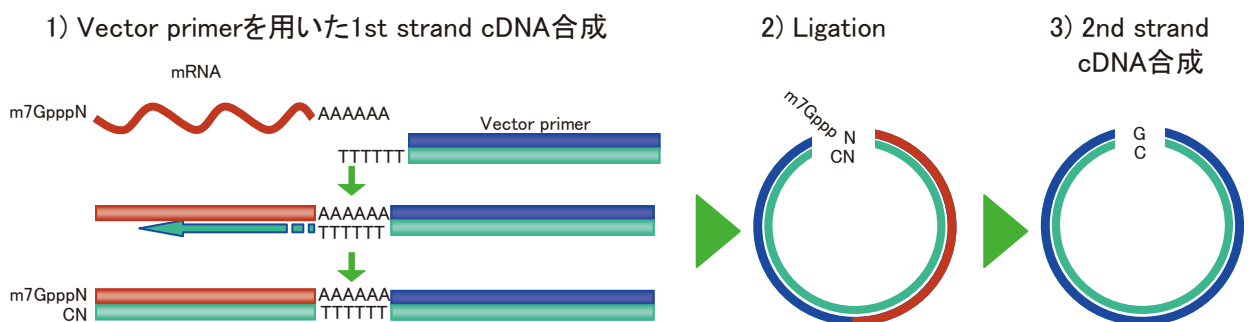
遺伝子の発現プロファイル解析や機能解析、また新規遺伝子の探索など、トランスクリプトーム解析の強力なツールとしてご活用ください。

▼製品仕様

精製済み Total RNA をご提供いただき、ベクターキャッピング法 (V-キャッピング法) を用いた cDNA ライブラリー作製を行います。作製したライブラリーのうち、96 クローンの塩基配列を同定し、インサート率および完全長率を算出、お客様にご納得いただいた上でご購入いただきます。

- ・ 高い完全長率 (最大 95%)
- ・ 少量の Total RNA (μg オーダー) よりライブラリー作製が可能
- ・ 各遺伝子の発現量を反映したライブラリーが作製可能
- ・ 長鎖クローンの取得効率が高い (※参考文献2)
- ・ 転写開始点の判別が可能 (キャップ構造由来の G での判定)

[ベクターキャッピング法] 国立身体障害者リハビリテーションセンター研究所 加藤誠志先生 開発



シンプルかつ効率的な方法により、少量の Total RNA から高い完全長率のライブラリー構築を実現！

[参考文献]

1. Kato, S., Ohtoko, K., Ohtake, H. and Kimura, T. 2005, Vector-Capping: A Simple Method for Preparing a High-Quality Full-Length cDNA Library. DNA Res., 12,53-62.
2. Oshikawa, M., Sugai, Y., Usami, R., Ohtoko, K., Toyama, S. and Kato, S. 2008, Fine Expression Profiling of Full-length Transcripts using a Size-unbiased cDNA Library Prepared with the Vector-capping Method. DNA Res., 15(3),123-136.

[サービスフロー]



- 作業内容：
- ・ Total RNA の品質検定、検定結果のご報告
 - ・ 完全長 cDNA ライブラリーの作製
 - ・ 96 クローンのシーケンス解析
 - ・ BLAST 検索による完全長判定およびインサート配列の同定
 - ・ 同定結果ご報告ならびにライブラリー溶液納品

ご準備いただく物：Total RNA（抽出・精製：QIAGEN 社 RNeasy シリーズ推奨）

必要サンプル量：

種類	サンプル量	サンプル濃度
Total RNA	25 μ g 以上（RNeasy で精製済み） 40 μ g 以上（その他精製法）	100ng/ μ l 以上

- ※ サンプルは Nuclease Free Water に溶解してください。
- ※ DEPC 処理水は酵素反応を阻害する場合がございます。Total RNA を Nuclease Free Water に溶解してください。
- ※ サンプルは電気泳動で RNA の分解が無いことを確認してください。（電気泳動写真を添付してください）
- ※ サンプル量が上記に満たない場合でも作製は可能ですが、必ず予めご相談ください。
- ※ サンプルお預かり後、弊社において、バイオアナライザ（AgilentTechnologies）を使用し、サンプル受け入れ検査を行います。
- ※ RNA サンプルに分解が見られた場合、解析中止もしくはサンプルの再提出をお願いすることがあります。（再提出分まで RNA 品質検定は無償対応）予めご了承ください。

サンプル送付形態：①Nuclease Free Water 溶液（DEPC 処理水は不可）
または、②エタノール混合溶液（エタノール終濃度、80%塩を含まない）

納期：サンプル到着より 30 営業日（約 1.5 ヶ月）

※ サンプル数に応じて、納期を多くいただく場合がございます。複数サンプルでご依頼いただく場合は、ご相談ください。

納品：・ 完全長 cDNA ライブラリープラスミド溶液

- ・ 96 クローンのプラスミド DNA（96 ウェルプレートにて納品）
- ・ CD-R（内容は以下の通りです）

- ① cDNA ライブラリー作製結果報告書
- ② 5' 末端塩基配列データ（96 クローンの波形、テキストデータ）
- ③ BLAST 検索、ORF 検索結果（完全長の判定）の Excel データ

※ 上記①cDNA ライブラリー作製結果報告書の内容のうち、ライブラリーデータ（ライブラリーサイズ、インサート率、完全長率および平均インサートサイズ）をお客様にご提示し、ご購入の同意をいただいたのち、納品となります。

※ 形質転換体（大腸菌グリセロールストック）をご希望される場合は、ご相談ください。

サンプル送付方法：ご提供いただくサンプルは必ずドライアイスと同梱し、**冷凍便**にてご送付ください。

※ ライブラリーデータをご確認の結果、購入のご契約をいただけない場合、データ提出までの作業料をいただきます。

※ サンプルは、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」（通称：カルタヘナ法）で規定する、核酸供与体クラス1および2由来の RNA に限らせていただきます。

※ ヒト臨床サンプルにつきましては、下記の基準を満たしていることをご確認の上、ご注文ください。

1. お客様のご所属機関の倫理審査を経て、承認が得られていること
2. インフォームド・コンセント（サンプル提供者の同意）が得られていること
3. 連結不可能匿名化（個人情報電子記録等から遡って得られない）がなされていること

クローニングサービス

クローニングサービスでは、ご希望のベクターに目的遺伝子を挿入したクローン作製を承ります。クローニングは TA クローニング、あるいは、制限酵素で処理を行い、ご希望のベクターにクローニングいたします。また、DNA シーケンスを行い塩基配列確認済みのプラスミドをお届けします。

▼製品仕様

- PCR ~クローニング：ご提供いただいた遺伝子を鋳型に PCR を行い、ご提供いただくベクターに挿入いたします。鋳型となる遺伝子をお持ちでない場合には別途人工遺伝子合成にて目的の遺伝子を合成する事も可能です。
- TA クローニング：精製済み PCR 産物をお預かりし、T-vector にクローニングいたします。また、未精製の PCR 産物についても精製からご対応いたします。
- ベクター載せ換え：お手持ちのプラスミドから目的遺伝子を切り出し、ご希望の発現ベクター等に再クローニングいたします。

ご準備いただく物：

- ・ 鋳型 DNA もしくは RNA
- ・ クローニングに使用するプライマー、又は、プライマー配列*
- ・ 遺伝子名（公共データベースアクセッション番号）
- ・ クローニング領域の情報
- ・ ベクター（2 μ g 以上）

* プライマー配列をご指定していただければ、弊社にてプライマーを合成いたします。（別途料金）プライマーデザインなども承っております。

必要サンプル量：

種類	サンプル量	サンプル濃度
Total RNA	10 μ l 以上	1 μ g/ μ l 以上
鋳型 DNA	10 μ l 以上	100ng/ μ l 以上

- * サンプルは Nuclease Free Water に溶解してください。
- * DEPC 処理水は酵素反応を阻害する場合がございます。Total RNA を Nuclease Free Water に溶解してください。
- * サンプルは電気泳動で RNA の分解が無いことを確認してください。（電気泳動写真を添付してください）
- * サンプル量が上記に満たない場合でも作製は可能ですが、必ず予めご相談ください。
- * サンプルお預かり後、弊社において、バイオアナライザ（Agilent Technologies）を使用し、サンプル受け入れ検査を行います。
- * RNA サンプルに分解が見られた場合、解析中止もしくはサンプルの再提出をお願いすることがあります。（再提出分まで RNA 品質検定は無償対応）予めご了承ください。

納期：3 週間～ ※ 送付量が足りない場合は、納期が延びる可能性がございますので、ご了承をお願いいたします。

納品：プラスミド（100ng/ μ l 以上の濃度を 20 μ l）、シーケンス解析データ（txt.PDF）、作業報告書、グリセロールストック（1ml 程度、ご希望の場合のみ）

サンプル送付方法：サンプルはドライアイスを充分量同梱し、**冷凍便**にて必ず凍結状態でお送りください。

- * 1 kbp 以上のインサートのシーケンスに関しては、プライマーウォーキングになるため、シーケンス解析料金が加算されます。
- * ご送付いただいたプライマー、プラスミド等は使い切らないかぎり全て返送いたします。
- * 血液、体液、組織、病原性菌体、感染性ウイルス等はお取り扱いできません。
- サンプルは精製 DNA もしくは精製 RNA（cDNA クローニングをご希望の場合）の状態でご送付ください。
- * 目的遺伝子の配列が既知の場合は、配列データ（txt）と、その遺伝子の由来の情報をお知らせください。
- * 目的遺伝子の配列が未知の場合（ホモログをクローニングする）は別途料金がかかります。

変異導入サービス

変異導入サービスは、ご提供いただいたプラスミドのご指定の箇所に、塩基置換・欠失・挿入などの変異を導入するサービスです。

▼製品仕様

- プラスミドと配列情報のみご提供いただき、変異導入プラスミドを作製いたします。
- 変異導入箇所周辺の両鎖シーケンス解析により変異を確認いたします。
- 1箇所につき、連続10塩基までの変異導入が可能です。
変異箇所が複数の場合でも、変異箇所が近接している際には、1箇所としてお引き受け可能な場合もあります。
- そのほか、変異導入した遺伝子の別のベクターへの載せ換え、プラスミドの大量抽出、ご指定箇所の追加シーケンス解析なども別途対応可能です。ご相談ください。

ご準備いただく物：・プラスミド DNA (1 μ g 以上)

- ※ 送付量が足りない場合は、納期が延びる可能性がございますので、ご了承をお願いいたします。
- ※ サンプルは精製 DNA の状態でご送付ください。

納期：約4週間～

- ※ 出来次第納品させていただきます。詳細についてはお問合わせください。

納品：・プラスミド (保証量 5 μ g)

- ・シーケンス解析データ (txt.PDF)
- ・作業報告書
- ・大腸菌グリセロールストック (1ml 程度、ご希望の場合のみ)

サンプル送付方法：ご提供いただくサンプルは保冷剤を充分量同梱し、**冷蔵便**でお送りください。

- ※ シーケンス解析はご希望が無い限り両鎖で行います。
- ※ 1.2 kbp 以上のプラスミドは変異導入効率が低下しますので、受注できない場合がございます。
- ※ ご依頼によっては、最後までサービスをさせていただく事ができない場合がございます。
このような場合は、そのステップまでの料金をいただきます。

人工遺伝子合成サービス

人工遺伝子合成サービスは、120塩基対以上のDNA塩基配列を人工的に合成するサービスです。また、各宿主におけるタンパク質発現に最適な配列の再設計も行うことが可能です。合成した人工遺伝子は全塩基配列を確認し、ベクターに組み込んでご提供いたしますので、そのまま各種実験にご使用いただけます。オプションでご希望のベクターに組み込むこともできます。

▼製品仕様

- サービス内容：
- ・ お送りいただいたDNA塩基配列通りに2本鎖DNAを人工的に合成します。
 - ・ 合成したDNAはベクターに挿入してお届けいたします。
オプションでご希望のベクターに組み込んでお届けすることも可能です。
 - ・ タンパク質発現系に合わせたコドンの最適化も可能です。

- ご依頼用途：
- ・ ユニークなタンパク質発現 / タンパク質発現率向上
 - ・ 目的クローンのライブラリーが無い場合、入手困難な場合
 - ・ プロモータ領域・エンハンサー領域など発現調節部位の最適化
 - ・ 転写調節配列の新設
 - ・ 制限酵素サイトの導入 / 削除
 - ・ 3個以上の塩基を変異導入したDNA作製
(変異導入サービスより割安な場合があります)

納期：約2ヶ月～
※ ご依頼いただく塩基配列や鎖長により異なります。

- 納品：
- ・ プラスミドDNA (約5 μ g)^{※1}
 - ・ シーケンス解析データ (txt.PDF)
 - ・ アセンブルデータ、ホモロジーデータ
 - ・ プライマー (インサートの解析に使用したインナープライマー)^{※2}

※1 目的のDNA断片が挿入されたpUCベクター約5 μ gを納品します。
尚、収量はNanoDrop (ND-1000 Spectro photometer) を用いたO.D.による保証となりますので予めご了承ください。
※2 ユニバーサルプライマーは含まれておりませんので予めご了承ください。

- オプション：
- ・ プラスミドの大量調製 (50 μ g<)
 - ・ ベクター載せ換え
 - ・ 変異導入遺伝子作製

- 関連商品：
- ・ タンパク質発現～タンパク精製
 - ・ 抗体作製
- ※その他各種ご要望に対応いたします。

リアルタイム PCR 解析サービス

リアルタイム PCR 解析サービスでは、SYBR® Green I を用いたインターカレーター法によるリアルタイム PCR の解析を行っております。プライマー設計からリアルタイム PCR 測定・解析までトータルでサポートいたします。

▼サービス内容

① プライマーの設計・合成

遺伝子名や GenBank の Accession No. からインターカレーター法によるリアルタイム PCR 用のプライマーを設計し合成を行います。設計困難な配列につきましては、設計をお断りする場合がございますので、予めご了承ください。

② PCR 産物の増幅確認と検量線の作成

合成プライマーを用いて、リアルタイム PCR での増幅を確認いたします。
Total RNA サンプルを逆転写し、鋳型を段階希釈して、検量線を作成いたします。

③ リアルタイム PCR 測定および発現定量解析

リアルタイム PCR 測定を行い、得られたデータを相対定量法にて解析いたします。
6 種類のハウスキーピング遺伝子（対応生物種：Human、Rat、Mouse）をご用意しておりますので、最適な遺伝子をご選択いただくことが可能です。

必要サンプル量：

種類	サンプル量	サンプル濃度	OD260/280
Total RNA	1 μg 以上	100ng/μl	1.8 ~ 2.1

- ※ サンプルは Nuclease Free Water に溶解してください。
- ※ DEPC 処理水は酵素反応を阻害する場合がございます。Total RNA を Nuclease Free Water に溶解してください。
- ※ サンプルは電気泳動で RNA の分解が無いことを確認してください。（電気泳動写真を添付してください）
- ※ サンプル量が上記に満たない場合でも解析は可能ですが、必ず予めご相談ください。
- ※ サンプルお預かり後、弊社においてバイオアナライザ（Agilent Technologies）を使用したサンプル受け入れ検査を行います。
- ※ RNA サンプルに分解が見られた場合、解析中止もしくはサンプルの再提出をお願いすることがあります。（再提出分まで RNA 品質検定は無償対応）予めご了承ください。

推奨の RNA 抽出方法：RNA 抽出は QIAGEN 社 RNeasy シリーズをご利用ください。

フェノール系の試薬を使用して抽出した場合、反応に影響を及ぼす可能性がございます。

フェノール系の試薬を使用して抽出した RNA サンプルにつきましては精製をお願いする場合がございます。予めご理解・ご了承ください。

また、組織・細胞からの RNA 抽出も承っております。

納期：4 週間～ ※ 送付量が足りない場合は、納期が延びる可能性がございますので、ご了承をお願いいたします。

納品：数値データ (Excel file)、グラフ、作業報告書

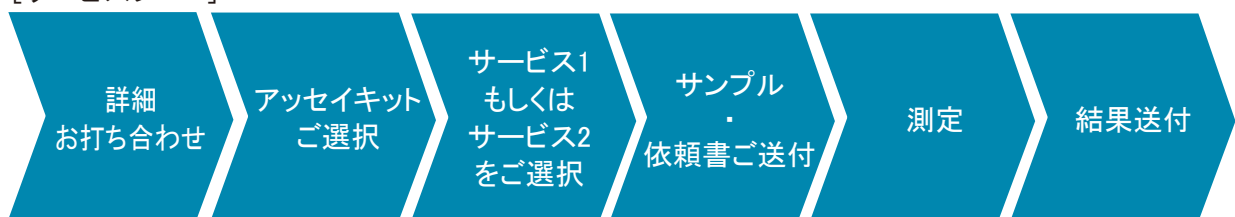
サンプル送付方法：サンプルはドライアイスを充分量同梱し、**冷凍便**にて必ず凍結状態でお送りください。

細胞アッセイ解析サービス

細胞アッセイ解析サービスでは、細胞と細胞に作用させる物質をお送りいただくだけで、ELISA 法による測定結果をお届けいたします。6 ウェルプレートにて4プレート分（24 well）培養いたします。作用させる物質の種類、コントロールの有無、N 数などお客様のご要望に合わせて測定いたします。

▼製品仕様

[サービスフロー]



- ① 弊社でご用意しておりますアッセイキットは下記の通りです。アッセイに用いるキットを下記よりご選択ください。

[アッセイキット]

転写因子：HIF, ERalpha, AP1, p53, GR, Stat1, MEF2, Sp1, GATA1, PPARgamma, PPARalpha
アディポカイン：Resistin, Leptin, esRAGE

- ② 細胞に作用させるサービスは下記の2サービスがございます。目的にあったサービスをご選択ください。

サービス1：細胞にペプチドなどの物質を作用させる。

- ・ペプチドなどの生理活性物質と細胞をご提供いただき、培養条件、作用物質の濃度や作用時間等をご指定いただきます。

サービス2：発現ベクターや siRNA などをトランスフェクトする。

- ・発現ベクターや siRNA など細胞へ導入する物質と細胞をご提供いただき、培養条件や破碎のタイミング等をご指定いただきます。

ご用意いただく物：サービス1 …… 細胞、ペプチドなど

サービス2 …… 細胞、発現ベクターや siRNA など

※ 必要量はアッセイする条件により異なりますので条件をお打ち合わせさせていただき、必要量をご案内いたします。

※ 発現ベクターをご提供いただく場合には配列データを添付していただきます。

オプション：発現ベクターの構築、siRNA の合成、初代培養細胞関連、ペプチド合成、siRNA 関連製品、miRNA 関連製品、DNA・RNA 合成、クローニング、変異導入サービス、人工遺伝子合成、RNA 抽出・精製、リアルタイム PCR 解析、アジレントアレイ解析

納期：1.5ヶ月～

※ 納期は実作業に入ってからのもので、細胞の状態などによって変動いたしますので予めご了承ください。

※ タンパク質の発現が確認できない場合には作業を中断させていただく場合がございます。この場合、作業料金が発生いたしますので、予めご了承ください。

納品：ELISA の測定結果を報告書として E-mail にて納品いたします。

サンプル送付方法：ご提供いただくサンプルは保冷剤を充分量同梱し、**冷蔵便**でお送りください。

ご依頼方法



ステップ①

依頼書を弊社 HP (URL : <http://www.hssnet.co.jp>) よりダウンロードしていただき、必要項目にご記入の上、添付ファイルとして E-mail を bio@hssnet.co.jp まで送信ください。

ステップ②

依頼書送付後、サンプル送付方法をご確認の上、右記まで送付ください。送付の際には、「**〇〇サンプル在中**」と明記いただけますよう、お願いいたします。

サンプル送付先

〒001-0932
 北海道札幌市北区新川西 2 条 1 丁目 2-1
 北海道システム・サイエンス株式会社
 バイオ製造チーム 宛
 TEL : 011-768-5901/FAX : 011-768-5951

- ※ 土・日・祝日のサンプルの受取は行っておりません。予めご了承ください。
- ※ サンプル送料は、実費お客さまのご負担となります。
- ※ 輸送時のトラブルに関し、弊社はその責任を負いかねます。
- ※ お預かりしたサンプルの保管・返却は基本的に行っておりません。予めご理解・ご了承ください。

注意事項

- * 製品の規格仕様・サービス内容などにつきまして、予告なしに変更することがございます。
- * 納期は実作業に入ってからのものであります。
- * 受注後、実作業に入ってからキャンセルはサービスの仕様上お受けいたしかねます。やむを得ない場合は実作業分の料金をご請求させていただきます。
- * ご依頼いただくサンプルは、以下の規定レベルに限定させていただきます。また、感染性のあるサンプル (HCV、HIV など) の受け入れは行っておりません。
 - 文部科学省「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(カルタヘナ法)における P1 レベル
 - 文部科学省「組換え DNA 実験指針」に規定される P1,P2 レベル
 - ※「組換え DNA 実験指針」については http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/seimei/dna.htm をご参照ください。
- * ヒト臨床サンプルの場合はインフォームドコンセントを得ていることをご確認ください。
- * GC リッチ、繰返し構造等、特種な構造をとっている可能性のあるプラスミドの場合はあらかじめお知らせください。
- * 本サービスは、試験研究を目的にご利用ください。その他の目的 (医療品・食品の製造・品質管理や医療診断など) には使用しないでください。
- * 本サービスにより得られた結果が原因となり生じた損失・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。
- * ご提供・ご指示いただくサンプルや手法から生じる工業所有権・安全性などの問題については、一切責任を負いかねます。
- * 1 回目の RNA 品質検査において、弊社受け入れ基準に満たなかった場合の RNA サンプル再送分についての RNA 品質検査 (2 回目) は無償となります。3 回目の RNA 品質検査からは有償となりますので、予めご了承ください。
 なお、サービスを中止される場合は RNA 品質検査の回数にかかわらず、実作業分の料金をご請求させていただきます。

お問い合わせ

項目	担当部署	お問い合わせ先
請求書、お支払いに関して	業務チーム	0120-613-190 (代表)※ 011-768-5903 (直通)
研究支援に関して	バイオ製造チーム	0120-613-190 (代表)※ E-mail : bio@hssnet.co.jp

※代表番号より、各担当部署へお取次ぎいたします。



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

本 社

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

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

E-mail: bio@hssnet.co.jp

全国拠点: 札幌、つくば、東京、関西、福岡

販売代理店