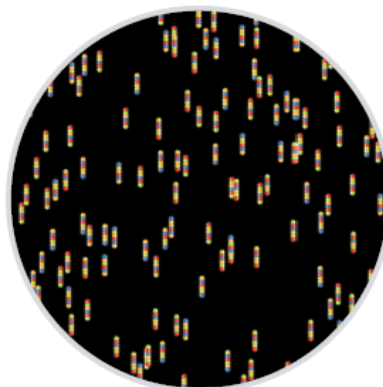
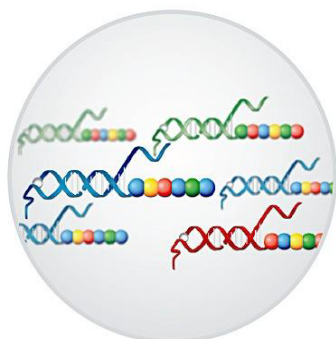


NanoString® Technologies

デジタルオミックスアナライザー

nCounter® Analysis System



Digital Genomics *for* Pathway-based Translational Research

nanoString
TECHNOLOGIES

AS ONE アズワン株式会社

nCounter® Analysis System とは・・・

nCounter® Analysis Systemは、米国 NanoString® Technologies社が開発した新しい発想に基づいた遺伝子発現解析システムです。特殊な蛍光分子バーコードを持つ配列特異的なプローブを用いることで、最大800種類の標的配列のデジタル検出（カウント）を行います。

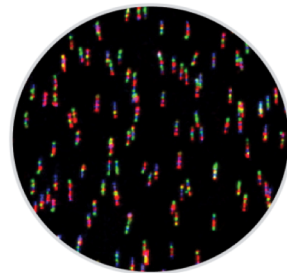
システムはフレキシブルで、基本の遺伝子発現解析の他にも様々なアプリケーションに対応します。試薬キットの変更のみで、miRNA発現解析や融合遺伝子発現解析を含む遺伝子発現解析、コピーナンバー解析やSNV解析などのDNA解析、また、合成DNAタグを付加したNanoString社独自の抗体を用いることで、タンパク質の検出も可能です。これにより、DNA・RNA・タンパク質の同時検出が可能となりました。

nCounter® Analysis Systemは、新規発見や仮説の検証といった基礎分野の研究からパスウェイに基づくトランスレーショナル研究にと幅広く威力を発揮します。

nCounter® の特徴

● ダイレクトデジタル カウント：

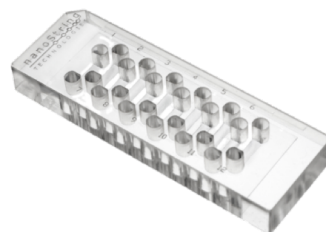
nCounter®は対象の核酸分子を1カウント=1分子の個数単位でカウントします。従来のようなシグナル比で定量するアナログ方式に比べクリアで再現性の高いデータが得られます。2倍に満たないわずかな変化量も検出でき、ダイナミックレンジが広いこともデジタルカウントの特徴です。



● 最大 800遺伝子を同時カウント、Multiplex 解析も可能：

1つのチューブに含まれる最大 800遺伝子を同時にデジタルカウントします。調べたい遺伝子が少ない場合には、96遺伝子、96サンプルまでのマルチプレックス解析*も可能です。

*別途PlexSet™用に設計したプローブおよび試薬が必要です。



● PCR増幅不要のダイレクトカウント、FFPEサンプルにも対応：

基本的にPCRを使用しないため、増幅の偏り問題を回避することができます。核酸の分解が予想されるホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織から調製したサンプルにおいても良好な結果が得られます。



● 正確で高い再現性：

ダイレクトデジタルカウントによって再現性の高いデータが得られますので、離れた施設とデータ共有・比較が必要な国際研究チームにも採用されています。

● シンプルなサンプル調製：

nCounter®によるカウントは、基本的にtotal RNA または細胞粗抽出液 (Cell Lysate) からスタートします。ダイレクトカウントが可能ですので、従来のような 逆転写反応(RT)やDNA Libraryの作製を必要としません。



● 簡単操作：

システムは自動化されており、難しい手技を必要とする工程は装置が自動で行います。セットアップ等の操作は簡単で実験者によって極力差が出ないように設計されています。

● 論文多数：

nCounter®のデータ掲載論文は2018年8月までに2,000報を超えています。論文リストはNanoString®社の Webサイトでご確認いただけます。



nCounter®でできること

nCounter® Analysis Systemは、操作がシンプルかつデータの再現性が高く、FFPEサンプルにも対応するフレキシブルさを持ち合わせており、基礎研究はもちろん、実用化を目指したトランスレーショナルリサーチにも対応します。

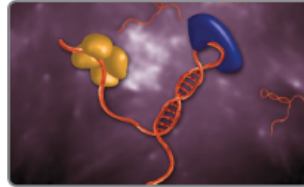
全てのアプリケーションは試薬キットを変更するだけで対応できるので、共通機器としての運用にも適しています。

RNA Analysis



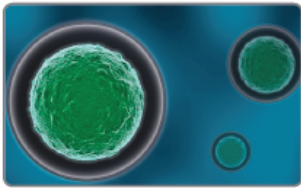
遺伝子発現解析

- ・最大800遺伝子を同時にカウント
- ・逆転写、増幅、酵素反応不要
- ・組織、細胞、FFPE抽出液、血液ライセートからの解析が可能



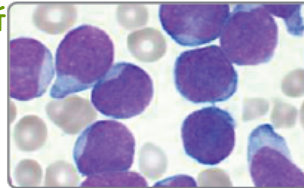
lncRNA 発現解析

- ・lncRNAの高精度デジタル定量
- ・増幅せずに最大800のlncRNAをシングルチューブで同時にカウント
- ・FFPE、細胞ライセートから解析可能



微量RNAによる遺伝子発現解析

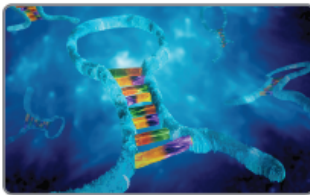
- ・最大800遺伝子まで解析
- ・カスタムパネルにも対応可能
- ・最少の増幅で解析可能
- ※微量RNAによるアッセイでは逆転写、PCR増幅を行います



Fusion Gene 発現解析

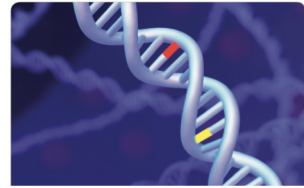
- ・LungおよびLeukemiaの既製品パネルがラインナップ
- ・転座パートナーとバイオマーカーのCodeSetを含みます
- ・手動操作は1反応あたり15分程度

miRNA Analysis



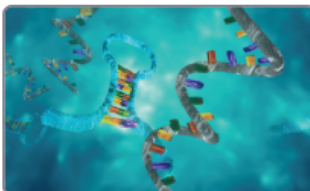
miRNA 発現解析

- ・miRNAトランスクリプトームをマルチプレックスに解析
- ・miRNAの探索とバリデーション
- ・わずかな違いのmiRNAファミリーも特異的にカウント



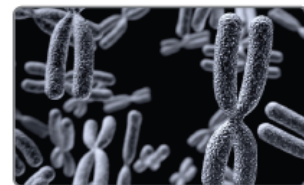
SNV解析

- ・Solid TumorおよびHemeの既製品パネルがラインナップ
- ・簡単な操作
- ・3D Biologyへの対応



miRGE 発現解析

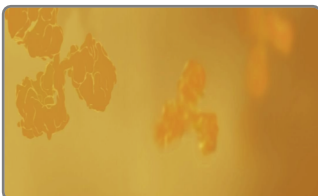
- ・miRNAとmRNAの両方の発現を同時にプロファイル
- ・逆転写、増幅の必要はありません。
- ・FFPEを始め様々なサンプルに対応



コピーナンバー (CNV) 解析

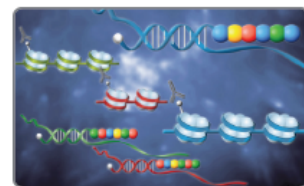
- ・1反応で800サイトまでのマルチプレックス解析
- ・簡単な操作
- ・正確なマルチアレルCNV解析

Protein Analysis



タンパク質発現解析

- ・タンパク質の発現をマルチプレックスに解析
- ・細胞表面、シグナリング、がん免疫関連タンパク質の抗体カクテルパネルがラインナップ
- ・3D Biologyへの対応



ChIP-String 発現解析

- ・1反応で800サイトまで解析
- ・簡単な操作

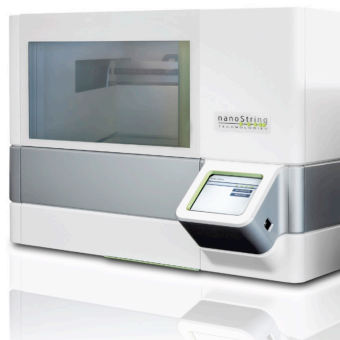


nCounter® MAX/FLEX

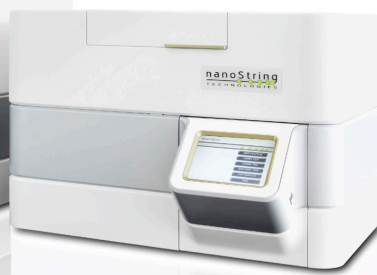
制御用PC不要の2ユニット構成

nCounter® MAX/FLEXシステムは、Prep StationとDigital Analyzerの2つのユニットから構成されています。いずれも内蔵のタッチスクリーンで操作します。別途の制御用PCを必要としません。

nCounter® Prep Station



nCounter® Digital Analyzer



シンプルで簡単な操作

操作はウィザードによって画面に表示されるので、指示に従ってタッチするだけで操作できます。スクリーンはグローブを装着したままでも操作可能です。

装置

Prep Station

標的配列とハイブリダイズしたプローブの精製と読み取りカートリッジへの固定化を全自動で行います。

Digital Analyzer

カートリッジ上に固定された分子バーコードの蛍光の読み取りとカウントを行い、データを出力します。カートリッジは、6枚までセットが可能です。

試薬類

Master Kit

サンプルの処理に必要な消耗品と試薬類がパックされたものです。各パネルに共通のキットになります。

CodeSets

標的配列の核酸にハイブリダイズする分子バーコードプローブです。様々な既成パネルがあります。

nCounter® MAX/FLEX 測定ワークフロー

シンプルかつユーザーフレンドリーな操作プロセス

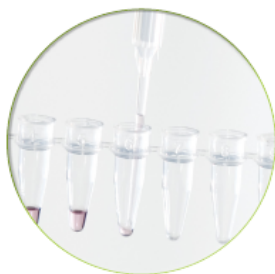
nCounter® システムは、サンプルのセットからデータの取得まで、わずか3ステップで1 Molecule = 1 Countの測定を行います。1回のアッセイは24時間以内で完了します。

Step 1 ハイブリダイゼーション

Step 2 サンプルプロセス

Step 3 デジタルデータ取得

手操作時間は
15分程度



nCounter® Prep Station



Prep Stationのセットアップ

ハイブリダイゼーション後のサンプルとMaster kitをセットし、モニターに表示される通りに設定してスタート。3時間ほどで1枚のカートリッジを作製。

nCounter® Digital Analyzer



Digital Analyzerのセットアップ

Prep Stationで作製したサンプルを固定化したカートリッジをセットしてスタート。最長で、5時間ほどのスキャンング。

プロセス

ハイブリダイゼーションの
セットアップ

専用チューブにバッファー、CodeSets、サンプルを添加し16時間以上のインキュベート。

操作時間

5分

5分

5分

スケジュール

1日目

2日目

nCounter® SPRINT Profiler

1ユニットからなる基礎研究用モデル

nCounter® SPRINT Profilerは、SPRINT Cartridgeを採用することで、ハイブリダイズしたターゲットとプローブの精製から、蛍光分子バーコードの読み取りまでを全自動で行います。内蔵のタッチスクリーンモニターで全ての操作が可能です。あるいは、同じネットワーク上にあるPCのインターネットブラウザからも制御が可能です。

nCounter® SPRINT Profiler



試薬類

Reagent Pack

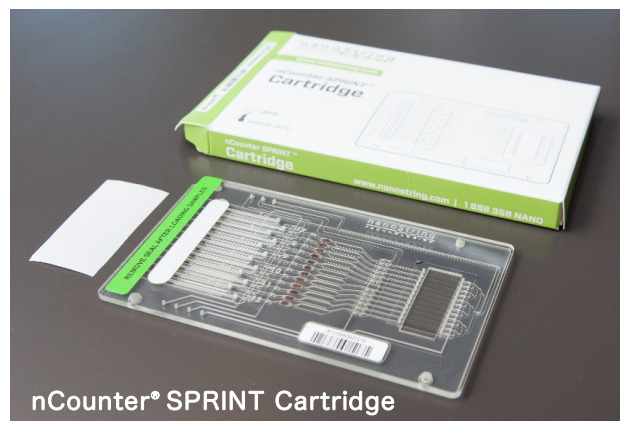
基本的なサンプル処理に必要な共通試薬がパックされたキットです。

CodeSets

標的配列の核酸にハイブリダイズする分子バーコードプローブです。様々な既成パネルがあります。

SPRINT Cartridge

ハイブリダイゼーション後のサンプルの精製からスキャンまでをこのカートリッジ上で行います。



nCounter® SPRINT Cartridge

nCounter® SPRINT Profiler 測定ワークフロー

シンプルかつユーザーフレンドリーな操作プロセス

nCounter® システムは、サンプルのセットからデータの取得まで、わずか2ステップで 1 Molecule = 1 Count の測定を行います。1回のアッセイは24時間以内で完了します。

Step 1

ハイブリダイゼーション

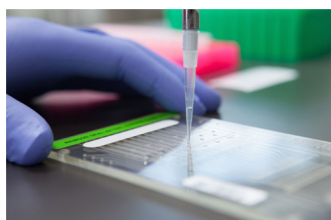
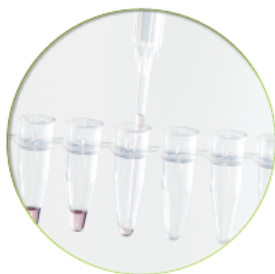
Step 2

サンプルプロセス & デジタルデータ取得

SPRINT Cartridge

nCounter® SPRINT Profiler

手操作時間は
20分程度



プロセス

ハイブリダイゼーションの
セットアップ

カートリッジへのアプライ

SPRINT Profilerへのセット

PCRチューブにバッファー、
CodeSets、サンプルを添加し
16時間以上のインキュベート。

ハイブリダイゼーション後のサンプルを
カートリッジへアプライ。

カートリッジをセットしてスタート。
精製からスキャンまで全自動で行い
ます。運転時間は6時間ほど。

操作時間

5分

15分

スケジュール

1日目

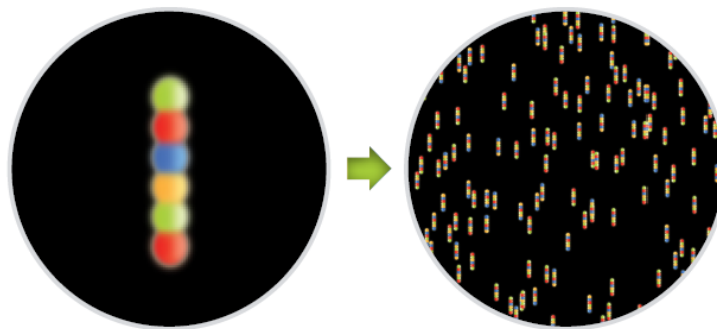
2日目

1 Count = 1 Molecule の革新的なケミストリー

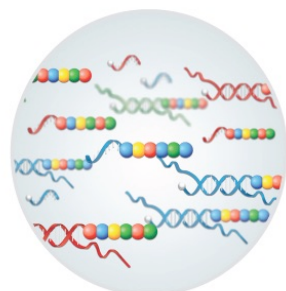
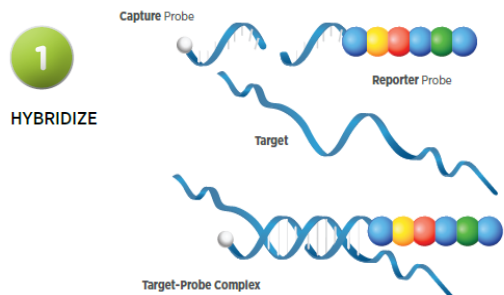
nCounter® Analysis Systemで採用されているNanoString社の特許技術である蛍光分子バーコード技術は、逆転写やPCR等の酵素反応を介さず、シングルチューブで高度なマルチプレックス反応と1分子ダイレクト検出を可能にしました。

Molecules That Count®

蛍光分子バーコードを持ったそれぞれのプローブは、標的分子1分子に対応しています。プローブは標的核酸に直接ハイブリダイズし、プローブの持つカラーコードの配列パターンの数を読み取ることで、標的核酸の発現量を数値化します。

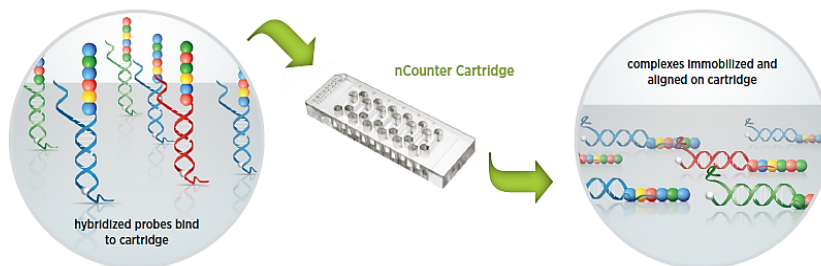
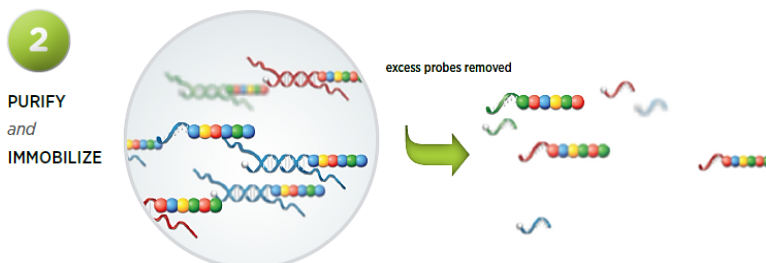


1分子のバーコードが対応する個々の標的核酸にハイブリダイズして種類と数を検出



solution phase hybridization

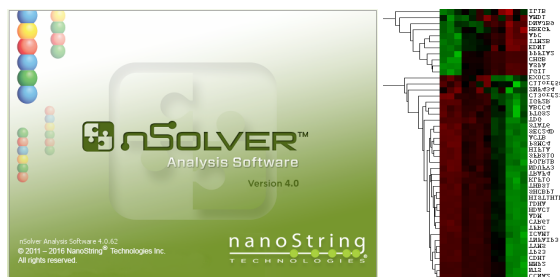
ハイブリダイズのステップではサンプルとCodeSetをミックスして約16時間のインキュベーションを行います。



Prep Station 内で標的配列とハイブリダイズした CodeSetのみを精製します。精製された CodeSet は nCounter® 解析用カートリッジに移され、表層に固定後、すべて一定の向きに整列されます。

3
COUNT

Barcode	Counts	Identity
	3	XLSA
	2	FOX5
	1	INSULIN



デジタルアナライザーは、カートリッジに固定されたCodeSetのカラーバーコードの並びと数をスキャンし、各標的配列のカウント結果を数で表示します。従来法で見られるシグナル強度による出力と異なるデジタル出力を実現しています。

得られたカウントデータは、付属の解析ソフトウェアである nSolver™ を使用して、データ QC・ノーマライゼーション・データ出力 (CSV 形式等)を行うことができます。また、データ解析 (heat map, box plot, scatter plot, violin plotの作図など) を簡単に行うことができます。

nCounter®のパフォーマンス



nCounter® Gene Expression Analysis

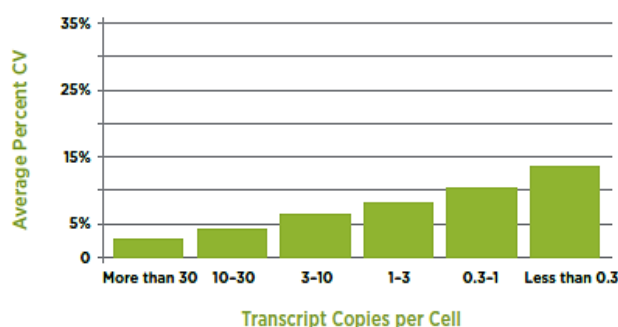
nCounter® システムの Gene Expression パネルは、**最大800遺伝子**の発現解析を**シングルチューブで同時**に行うことが可能です。そのデータは**再現性が高く**、**ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織由来のRNAサンプル**だけでなく、**組織や血液のライセート**からでも解析が可能です。

パネルは、がん・免疫・神経などの研究テーマに着目した**既製品パネル**と、ターゲットをご指定いただく**カスタムパネル**の2種類に分けられます。デザインは、NanoString社のインフォマティクス担当者が承ります。



広いレンジにおけるカウント正確性

Percent CV by Expression Level

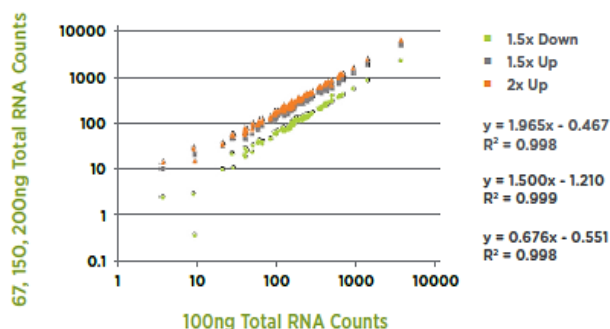


標的遺伝子を発現量で分類し、各グループでのCV値を求めた結果

遺伝子発現の結果は標的遺伝子の発現量に依存して、バラツキを表すCV値が変化します。nCounter®解析では、1細胞あたり1コピー程度の発現量を示す標的遺伝子では、10%未満のCV値をもって検出することができました。さらに、1細胞あたり0.3から1コピー程度の標的遺伝子でもCV値は15%未満でした。発現量の多い遺伝子では、CV値はさらに小さな値を示しました。

わずかな発現量の違いを検出

Fold Change (FC) Accuracy Across Expression Levels

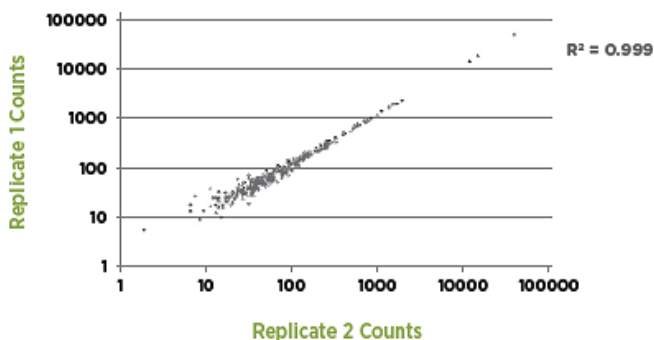


わずかな発現量の違いが検出できることを示した例

同一のRNAサンプルを67 ng、100 ng、150 ng、200ngとインプット量を変化させ、nCounter®で測定しました。100 ngインプット時の測定結果と67 ng (1.5x Down)、150 ng (1.5x Up)、200 ng (2x Up)インプット時の測定結果の相関性を検証しています。この結果は、インプット量に関わらず発現量の高い相関性も保ち、わずかな発現量の違いも検出可能であることを示しています。

優れた感度、再現性、そして広いダイナミックレンジ

nCounter Assay Technical Replicates

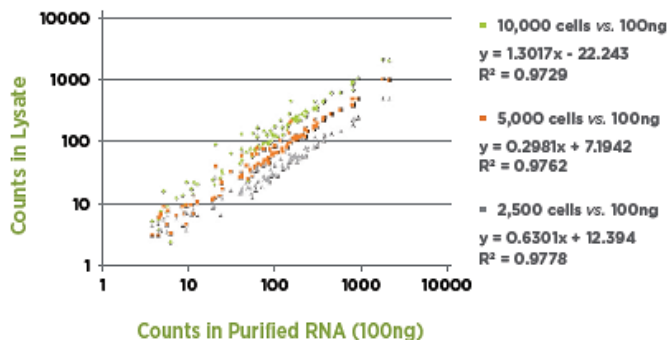


広いダイナミックレンジ (10-50,000 カウント) での再現性の例

同一のトータルRNAサンプルを2つに分け、それぞれ独立にnCounter®を用いて測定しました。それぞれの測定結果の相関性を検証しています。nCounter®は高発現から低発現の遺伝子まで同時に解析する場合でも、広いダイナミックレンジを持って、優れた感度で正確に発現量の測定が可能ですことを示しています。

cell lysateからでもトータルRNAからでも解析可能

High Correlation - Crude Lysates & Purified RNA



細胞粗抽出液 (cell lysate) でのカウント例

2,500、5,000、10,000細胞より調製した細胞粗抽出液 (cell lysate) あるいは精製Total RNA 100 ngをインプットとしてnCounter®で各遺伝子の発現量を測定しました。得られたカウント値の相関性を検証したところ、Total RNAと細胞粗抽出液の結果には高い相関性が認められました。この結果は、nCounter®では細胞粗抽出液をインプットとしても正確に発現量の測定が可能であることを示しています。

解析を始めやすい既成パネル製品

nCounter®システム用の既成パネルは、重要なパスウェイやご希望の多い分野の遺伝子セットが収録され、これから解析を始めるユーザーにも使いやすい仕様となっています。

研究の進展に応じて、パネルのラインナップおよび内容は更新されます。

Gene Expression Panels

製品名	収録遺伝子数
PanCancer IO 360™ (Human/Mouse)	770
nCounter® Breast Cancer 360™ (Human)	770
nCounter® PanCancer Pathways (Human/Mouse)	770
nCounter® PanCancer Immune Profiling (Human/Mouse)	770
nCounter® PanCancer Progression (Human)	770
nCounter® Immunology (Human: V2/Mouse: V1)	Human 594 Mouse 561
nCounter® NHP Immunology (Human and Non-human primate)	770
nCounter® Inflammation V2 (Human/Mouse)	Human 255 Mouse 254
nCounter® Myeloid Innate Immunity V2 (Human/Mouse)	770
nCounter® Autoimmune Profiling (Human/Mouse)	770
nCounter® Autoimmune Discovery (Human)	770
nCounter® Neuropathology (Human/Mouse)	770
nCounter® Neuroinflammation (Human/Mouse)	770
nCounter® Stem Cell (Human)	199
nCounter® Kinase V2 (Human)	536
nCounter® Reference (Human)	18
nCounter® Customer Assay Evaluation (Human)	48

nCounter® miRNA Expression Panels

製品名	ターゲット数
nCounter® miRNA Expression Assay Kits (Human: v3/Mouse: v1.5/Rat: v1.5)	Human 800 Mouse 611 Rat 423

nCounter® DNA CNV Assays

製品名	ターゲット数
nCounter® v2 Cancer CN Assay (Human)	87
nCounter® Karyotype Panel (Human)	338

nCounter® Vantage 3D™ RNA Panels

製品名	収録遺伝子数
Adaptive Immunity (Human)	192
Innate Immunity (Human)	192
Cancer Metabolism (Human)	192
Intracellular Signaling (Human)	192
Cellular Profiling (Human)	192
Wnt Pathways (Human)	192
DNA Damage and Repair (Human)	192
MAPK-PI3K Pathways (Human)	192
Heme (Human)	192

nCounter® Vantage 3D™ Gene Fusion Panels

製品名	ターゲット数
Lung Gene Fusion (Human)	63
Leukemia Gene Fusion (Human)	42

nCounter® Vantage 3D™ DNA SNV Assays

製品名	ターゲット数
DNA SNV Solid Tumor (Human)	104
DNA SNV Heme (Human)	141

nCounter® Vantage 3D™ Protein Assay

製品名	ターゲット数
Protein Immune Cell Profiling (Human)	30
Protein Immune Cell Signaling (Human)	26
Protein Solid Tumor panel for Lysate (Human)	28
Protein Solid Tumor panel for FFPE (Human)	26
Heme Panel for Lysate (Human)	34
Heme Panel for FFPE (Human)	35

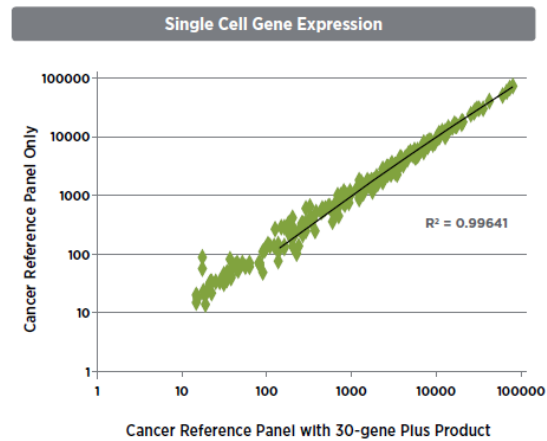
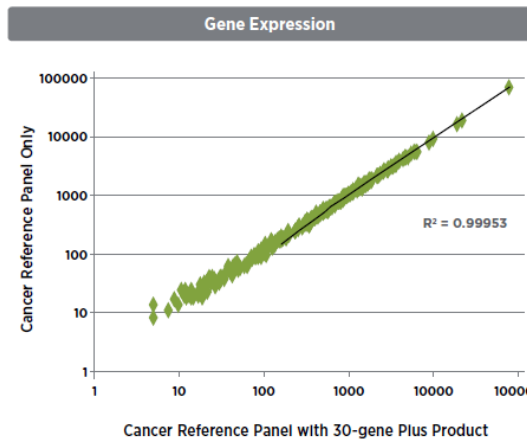
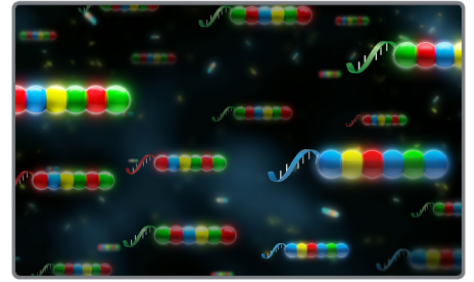
※カスタムデザインパネルの作製も承ります。別途ご相談ください。

標的遺伝子の追加とカスタムパネル



nCounter® Panel-Plus & CodeSet-Plus

nCounter®システムのGene Expression Panelsには、カスタムプローブを追加することが可能です。既製品パネルにはPanel-Plus、カスタムパネルにはCodeSet-Plusをご指定ください。それぞれ最大30遺伝子（ターゲット）までの追加が可能です。



Cancer Reference Panelに30遺伝子 (Panel-Plus)を追加した際のパフォーマンス

左は通常の遺伝子発現解析、右はシングルセル遺伝子発現解析を行った例。両者ともPanel-Plusの使用の有無に関わらず、遺伝子発現に強い相関がみられます。



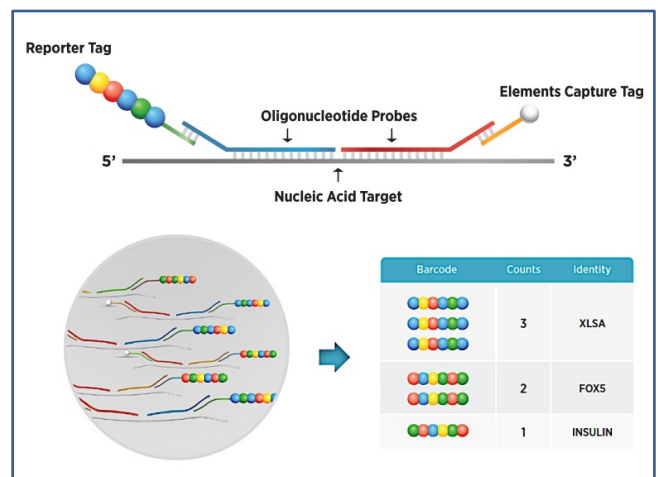
nCounter Elements™

nCounter Elements™は、NanoString社の特許技術である蛍光分子バーコードと標的配列に結合するオリゴDNAプローブを分離させた新しいケミストリーです。Vantage®シリーズはElements™ケミストリーを採用しています。

Elements™ケミストリーを用いたカスタムパネルの場合には、パネル内のプローブの組み合わせが容易に変更できるなど、フレキシブルなアッセイの設計が可能です。

【特徴】

- ・シングルチューブで、192プレックスの遺伝子発現解析が可能
- ・12、24、36遺伝子（ターゲット）までの追加が可能
→ 最大228プレックスまでの遺伝子発現解析が可能
- ・FFPE組織、細胞粗抽出液等のクルードなサンプルからでも解析が可能



nCounter Element™ の構造 (上) とワークフロー(下)

スタンダードなCodeSetとは異なり、標的配列を認識するプローブ部分と、レポーター部およびキャプチャー部が分離されています。プローブ、レポータータグ、キャプチャータグの結合は、ターゲットへのハイブリダイゼーション時に同時に行われます。

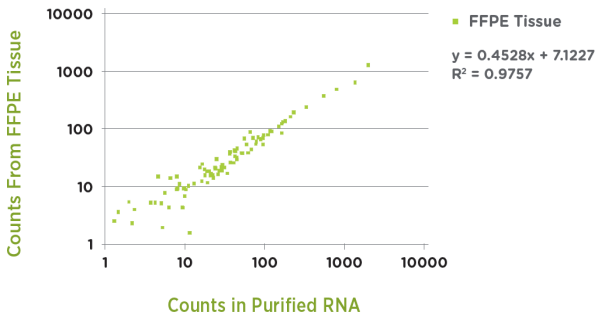
クールドなサンプルに対応

nCounter® Analysis Systemの検出原理はハイブリダイゼーションベースですので、基本的に逆転写反応、酵素反応、PCR増幅やライブラリー調製を必要としません。発現解析の反応系に供するサンプルとしては、トータルRNA、細胞または血液の粗抽出液（Lysate）の使用が可能です。さらに、PCRやマイクロアレイなど、従来法では解析が困難とされているホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織切片由来のサンプルからでも、非常に再現性の高いデータが得られます。nCounter®は、作業時間の短縮、コスト削減につながり、研究の効率化を実現します。



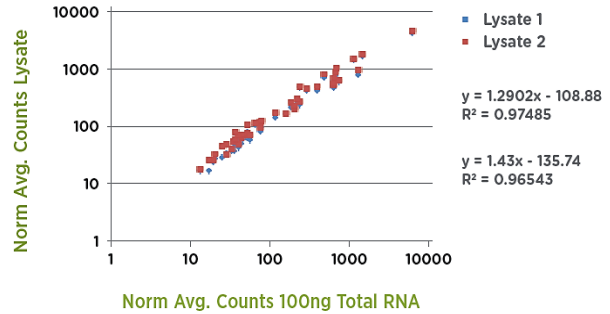
FFPE 組織切片から調製したライセートでもOK

High Correlation – FFPE-derived and Purified RNA



全血から調製されたセルライセートにも対応

Correlation of Matched Total RNA and Blood Lysate

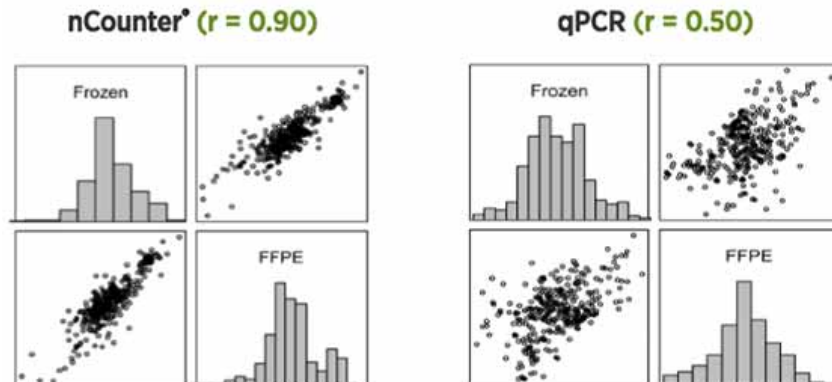


FFPE組織から調製したサンプルでのカウント例

FFPE組織切片から調製されたRNAでのカウント結果とフレッシュな組織から調製されたRNAにおけるカウント結果の比較。この結果は、FFPEから調製したRNAサンプルでも良好なカウント結果が得られることを示しています。

全血より調製した粗抽出液中の標的RNAをカウントした例

PAXgene™で調製した全血細胞の粗抽出液（lysate）と精製したトータルRNAの各々に含まれる標的RNAをカウントした結果。独立した2検体におけるカウント結果は、精製したトータルRNAから得られたカウント結果と高い相関性を示しました。この結果はnCounter®はPAXgene™で調製した全血細胞のlysateからも良好なデータが得られることを示しています。
*PAXgene™はQIAGEN社の登録商標です



Reis, P.P. et al., *BMC Biotechnology*; May 9, 2011

FFPEサンプルおよびFresh-Frozenサンプルから調製した検体をnCounterとqPCRそれぞれで解析した例

口腔癌由来のfresh-frozenサンプルとFFPEサンプルをnCounter（左）およびqPCR（右）により遺伝子発現のプロファイル解析し、その結果を比較しました。qPCRの場合、両者の相関係数は0.5であったのに対し、nCounterでは、0.9でした。これはnCounterではサンプルの状態に左右されずに再現性の良い結果が得られることを示しています。

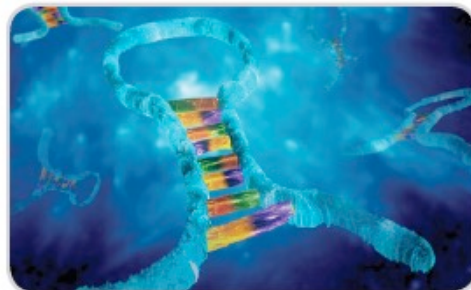
miRNAの発現解析およびコピーナンバー解析



nCounter® miRNA Expression Assay

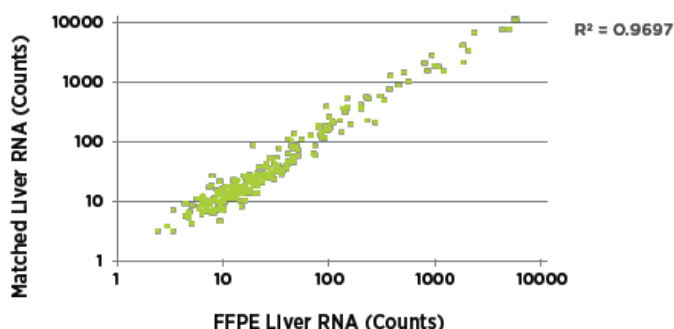
【特徴】

- ・ 特異性と感度の高いmiRNA プロファイルが可能。
- ・ データベース (miRBase) に登録の800種類のmiRNAに対応
→ 遺伝子リストでご確認いただけます。
- ・ nCounter®によって精製、データ取得が自動化され、難しい手技を必要と
しません。
- ・ PCRによる増幅をせずにダイレクトカウントが可能です。
- ・ FFPEサンプルから調製したサンプルからでもmiRNAのカウント可能です。



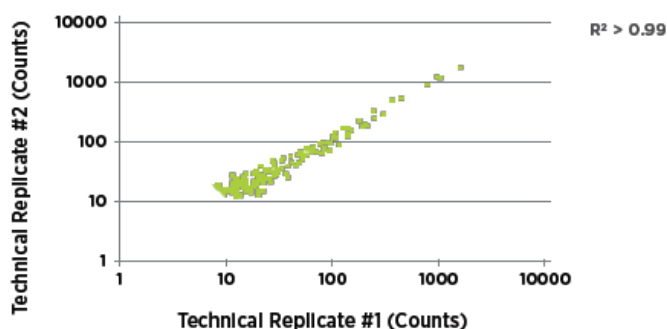
FFPE Samples

High Correlation - FFPE-derived and Purified RNA



Assay Reproducibility

nCounter Assay Technical Replicates



FFPE組織由来のサンプルからmiRNAアッセイを行った例

FFPE (ホルマリン固定パラフィン包埋) 組織切片では、RNAの分解が進んでいるため、遺伝子発現解析が難しいとされています。nCounterでは、FFPE組織由来のRNAからでも再現性良くmiRNAアッセイが可能です。肝臓のFFPE組織切片と対照として凍結切片を用いてmiRNAアッセイを行いました。その結果、検出された全てのmiRNAにおいて2つのサンプル間で高い相関性 ($R^2 > 0.96$) を示しました。

miRNAアッセイの再現性

Human v2 miRNA expression assay キットを用いて、ヒトのtotal RNAサンプルを繰り返し解析しました。カウントはそれぞれ別々に行い、2回のカウント結果の相関性を検証した結果、相関係数 (R^2) は0.99以上でした。



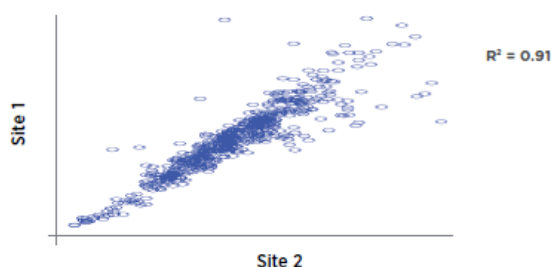
nCounter® Copy Number Variation (CNV) CodeSet

【特徴】

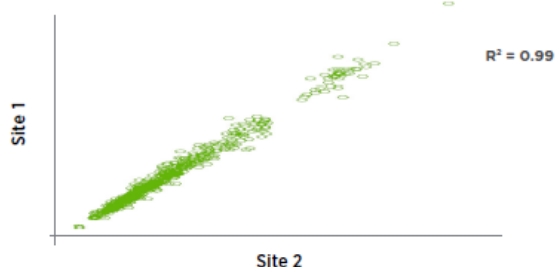
- ・ 最大800のターゲット領域へのマルチプレックス解析。
- ・ 精度の高いマルチアレリックCNV解析が可能。
- ・ 非常に高い再現性。
- ・ 簡単な操作。



Microarray



nCounter®



CNVアッセイを異なる2つのプラットフォームで行った比較

異なる2人のユーザーが、それぞれのラボでマイクロアレイ (左) とnCounter (右) を用いてCNVアッセイを行いました。それぞれの結果をスクタープロットに図示したところ、nCounterの再現性の高さが示されました ($R^2=0.99$)。

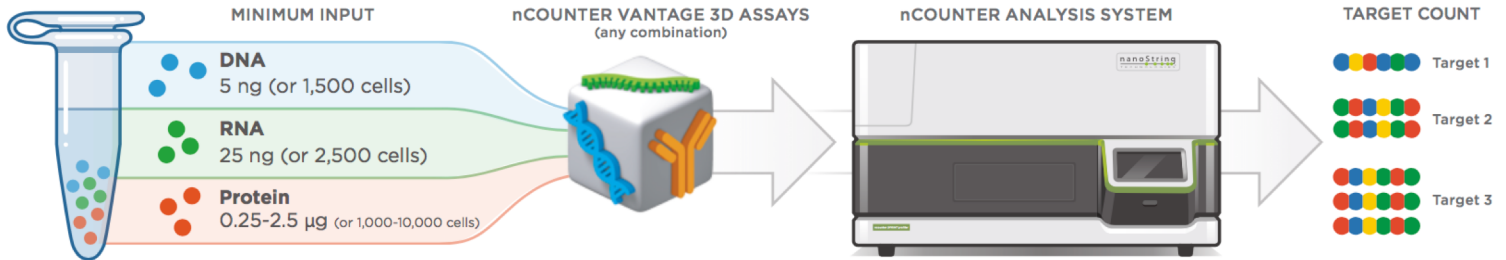
RNA・DNA・タンパク質の同時解析



時代は3D Biology®へ

特殊な分子バーコードを持つ配列特異的なプローブは、RNAのみでなく、断片化・変性させたDNAにもハイブリダイズさせることが可能です。コピーナンバー解析やSNV解析などのDNAをターゲットとしたアプリケーションにも対応します。また、合成DNAタグを付加したNanoString社独自の抗体を用いる新しい技術により、タンパク質の検出も可能となりました。これにより、DNA・RNA・タンパク質の同時検出にも対応します。

RARE SAMPLE



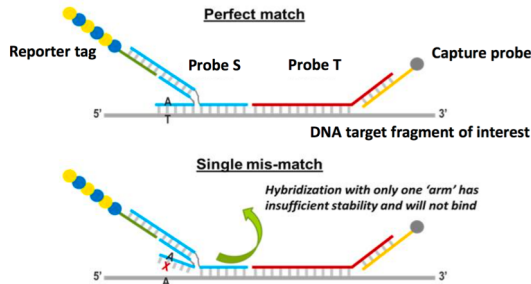
抗体の標識



DNAタグを付加したNanoString抗体

タンパク質の検出に使用する抗体には、合成DNAタグが付加されています。このDNAタグはUV照射により遊離させることが可能です。遊離したDNAタグを蛍光分子バーコードを持つプローブにより特異的に検出し、タンパク質の発現量の解析を行います。

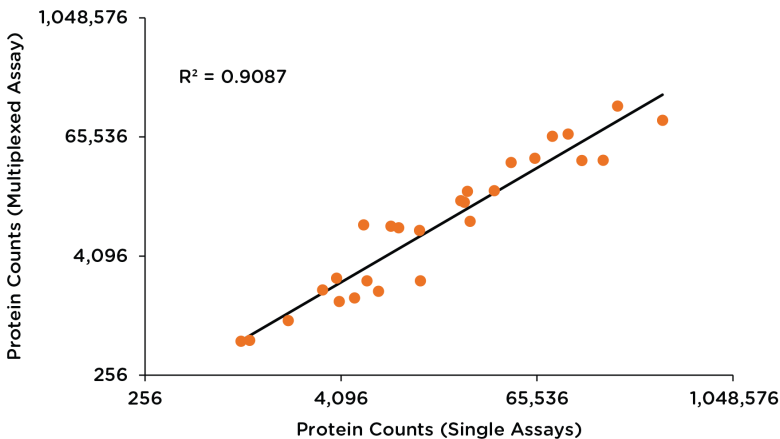
SNV解析



Vantage 3D SNVプローブの構造

Probe Sは短い2本のアームによりターゲットDNA配列を認識します。この時、片方のアームにミスマッチが存在すると、Probe Sはターゲット配列にハイブリダイゼーションすることができません。それぞれのターゲットにつき、referenceおよびvariant配列のプローブで解析を行います。

タンパク質パネルのバリデーション



Vantage 3D Protein Immune Cell Profilingパネルの例

Vantage 3D Protein Immune Cell Profiling for cell suspensions/パネルの30種類の抗体を全て作用させた場合と、個別に作用させた場合でのカウント値の比較を行っています。この結果は、それぞれの抗体が干渉していないことを示しています。NanoString社のタンパク質パネルは、このようなバリデーションの取れた抗体を使用していることも特徴的です。

Multi-Analyte Assays

製品名	ターゲット数
RNA:Protein Immune Cell Profiling for cell suspensions (Human)	RNA 770 Protein 30
RNA:Protein Immune Cell Signaling for cell suspensions (Human)	RNA 770 Protein 26
RNA:Protein Solid Tumor for Lysate (Human)	RNA 770 Protein 28
RNA:Protein Solid Tumor for FFPE (Human)	RNA 770 Protein 26
SNV:Fusion Lung for FFPE (Human)	DNA 104 RNA 63
DNA:RNA:Protein Solid Tumor for Lysate (Human)	DNA 104 RNA 192 Protein 28
DNA:RNA:Protein Solid Tumor for FFPE (Human)	DNA 104 RNA 192 Protein 26
DNA:RNA:Protein Heme for Lysate (Human)	DNA 141 RNA 192 Protein 34
DNA:RNA:Protein Heme for FFPE (Human)	DNA 141 RNA 192 Protein 35
DNA:Fusion:Protein Lung for Lysate (Human)	DNA 104 RNA 63 Protein 28
DNA:Fusion:Protein Lung for FFPE (Human)	DNA 104 RNA 63 Protein 26

Vantage 3D™パネル

Vantage 3D™では、DNA、RNA、タンパク質それぞれのパネルから1つずつを組み合わせて解析が可能です。Vantage 3D™パネルのラインナップについては、8ページに掲載しています。

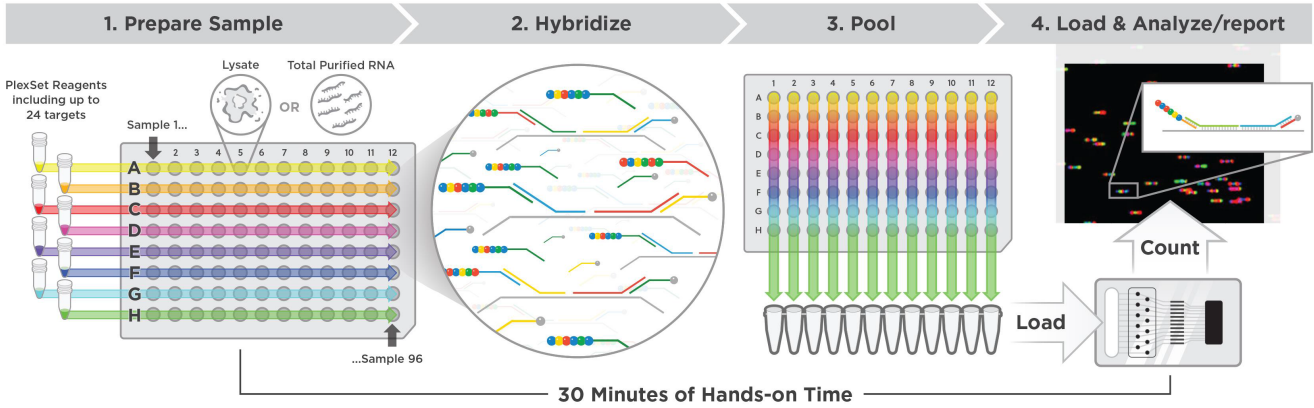
同時に96検体の解析が可能に！



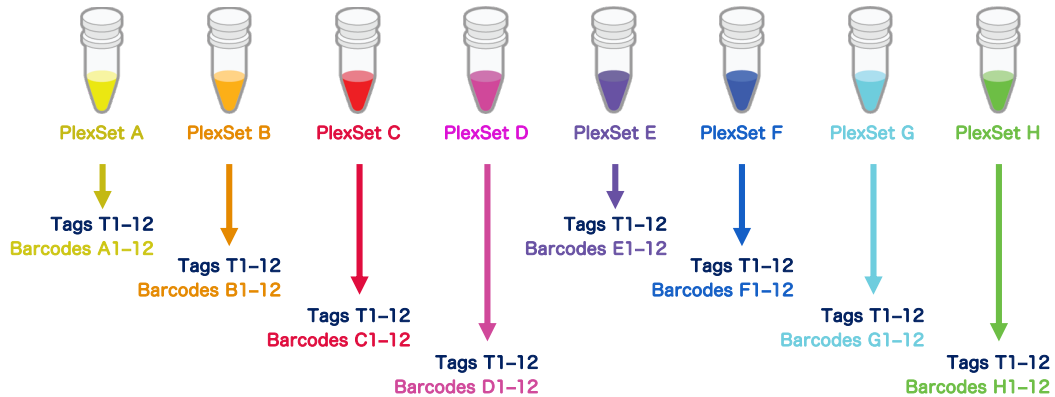
PlexSet™ アッセイ

nCounter®による通常の遺伝子発現解析は、1ランにつき12検体の処理を行いますが、PlexSet™ Reagentを使用することで、従来までの解析と同様にシンプルな操作で多検体（96検体）の処理が可能となります。同時に測定可能な遺伝子数は、12、24、48、72、96遺伝子から選択ができます。細胞粗抽出液からの測定が可能なnCounterの特徴を生かした“Lyse-and-go”プロトコルでは、RNAの精製なしに96検体、96遺伝子までの解析ができ、Hands-on-timeの短縮とコストの削減が見込めます。

PlexSet™のワークフロー



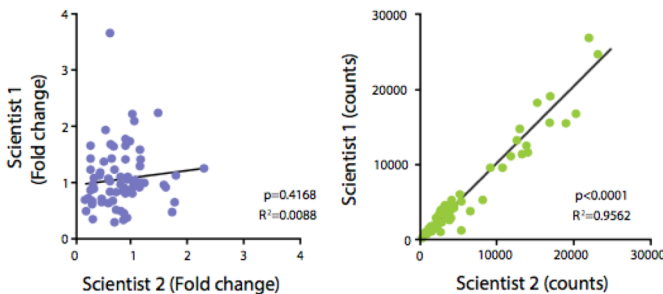
PlexSet Reagentsの構成



PlexSet™ Reagentsの構成

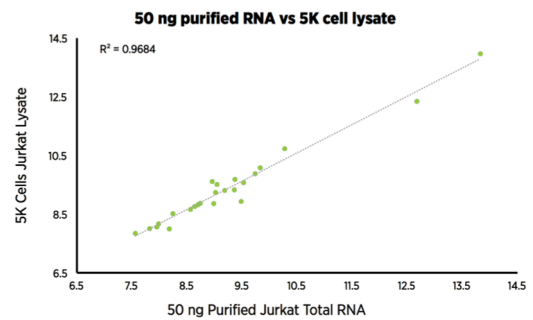
上記の例では、96検体、12遺伝子を解析する場合を示しています。それぞれで同じプローブ（Tags T1-12）を用いていますが、各行で異なるパターンの蛍光分子バーコードを使用するため、列ごとに混合してもそれぞれの検体がデータ解析時に区別できるようにしています。

nCounter®の優れた再現性をリアルタイムPCRの代わりに



qPCRとnCounterの再現性の例

異なる2人の実験者がqPCR (左)あるいはnCounter (右) を用いて遺伝子発現解析を行いました。qPCR では実験者の経験の違いなどにより結果に差が生じやすいのに対し、nCounterでは実験者に関わらず高い相関性が見られます。



Lyse-and-Goプロトコル

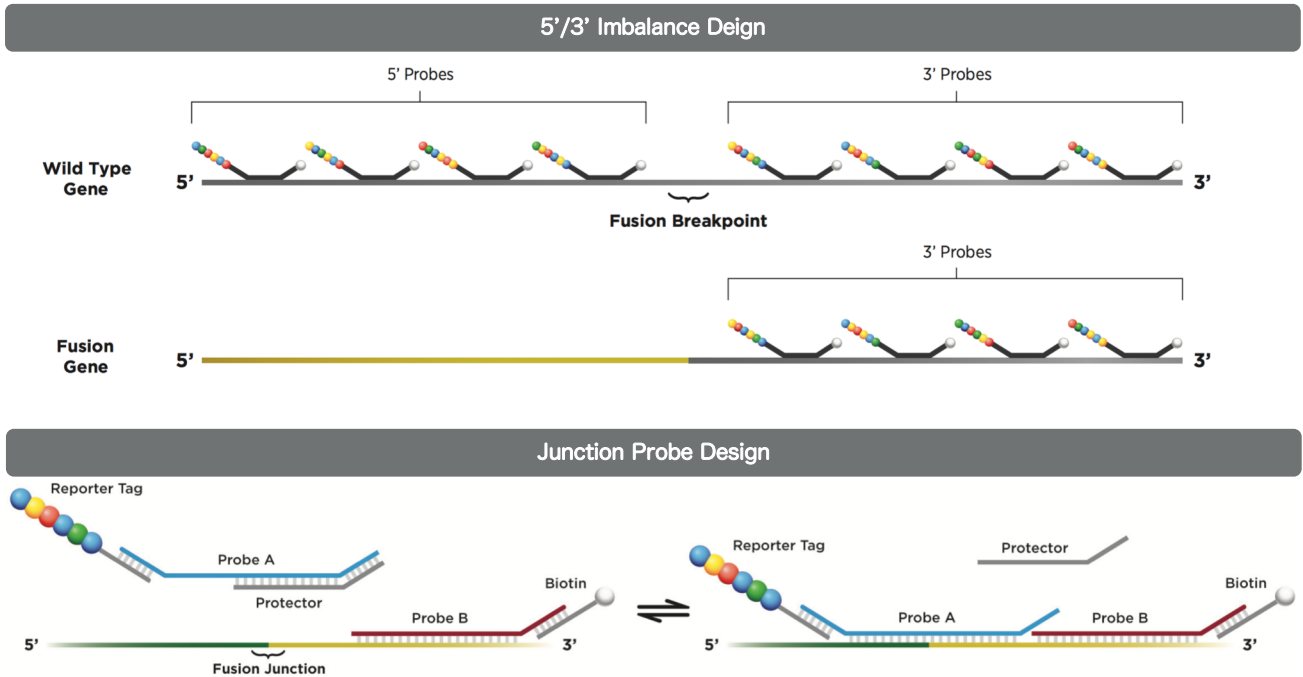
細胞粗抽出液（縦軸）あるいは精製Total RNA（横軸）を入力サンプルとしてnCounter解析を行いました。両者の結果には高い相関があることがわかります。細胞粗抽出液がinputサンプルとして使用可能なので、RNA抽出などの時間とコストの削減が望めます。

融合遺伝子の検出および微量RNAからの遺伝子発現解析

融合遺伝子の検出

染色体構造の変化は、融合遺伝子の発現を促し腫瘍形成の初期段階において重要なイベントとなる場合があります。nCounter® Gene Fusionパネル（8ページに掲載）を用いることで、nCounter®システムで融合遺伝子の発現解析が可能です。Elements™ケミストリーのプローブを用いて、5'/3' Imbalance DesignあるいはJunction Probe Designで融合遺伝子を検出します。FFPEサンプルから調製したTotal RNAをinputとすることも可能です。カスタムパネルの作製も承ります。

融合遺伝子検出用プローブの種類

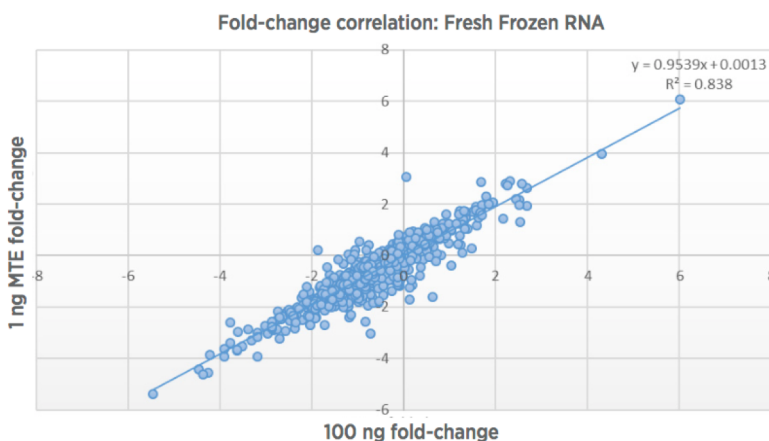


融合遺伝子検出用プローブの種類

Elements™ケミストリーのプローブを用いて、5'/3' Imbalance Design（上部）あるいはJunction Probe Design（下部）で融合遺伝子の検出を行います。5'/3' Imbalance Designでは、Fusion eventを対象とし探索の意味合いの強いものであるのに対して、Junction Probe Designでは、特定の融合遺伝子を検出します。Junction Probe Designでは、NanoString社独自のToehold Technology (Protector Probe) を採用することで、プローブの標的配列に対する特異性を高めています。

nCounter® Low RNA Input Kit

nCounter® Low RNA Input Amplification Kitを用いることで、少量のサンプルからnCounter解析が可能となります。最大800遺伝子までの発現解析が、わずか1 ngのTotal RNAから行うことができます。通常の推奨input量が300 ngのTotal RNAであるFFPE組織由来サンプルでは、10 ngからの解析が可能です。パネル毎にデザインされたMultiples Target enrichment (MTE) primerとnCounter® Low RNA Input Kitを用いて標的配列を含む領域の増幅を行います。



Low RNA Inputキットと通常解析との比較

100 ngのTotal RNAあるいは、MTE処理をした1 ngのTotal RNAをinputサンプルとしてnCounter解析を行いました。両者の結果には高い相関があることがわかります。

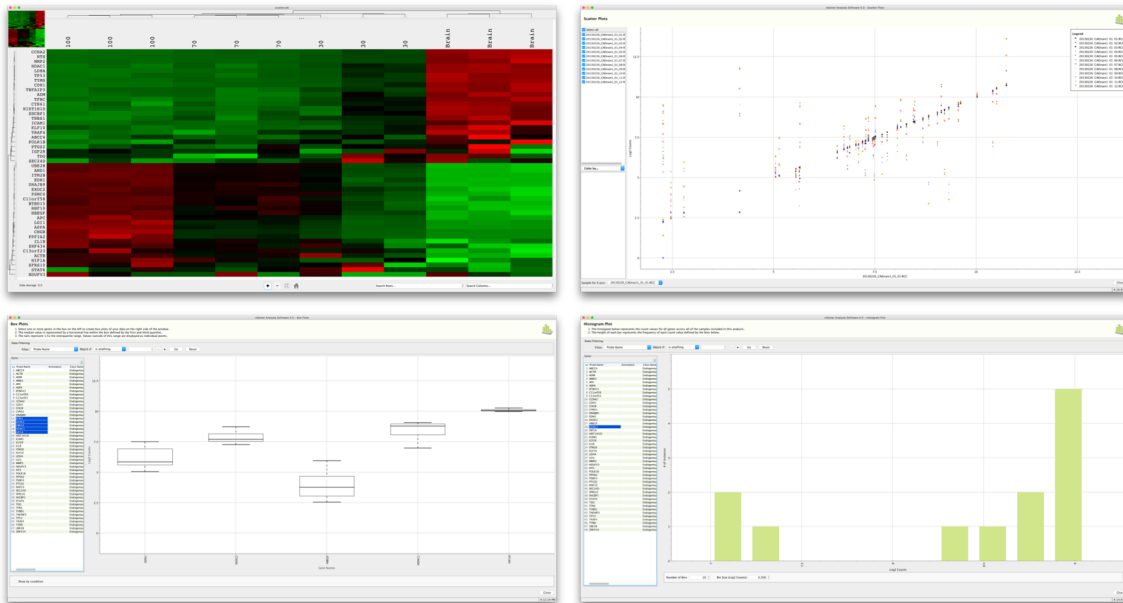
nSolver™ Analysis Software

nCounterから出力されるデータは、CSV (Comma Separated Values)形式の非常にファイルサイズの小さなものです。別途データ保存用のサーバーなどの設置は必要ありません。付属のデータ解析ソフトであるnSolver™ Analysis Softwareを用いることで、データのQC (Quality Check)やNormalizationなどを行うことができ、ヒートマップやScatter plotなどの描画も簡単に行うことが可能です。nSolver™ Analysis SoftwareではnCounterにより取得したデータを、サードパーティの解析ソフトであるIngenuity® IPA®やParteck Genomics Suite™などに対応した形式で出力することが可能です。

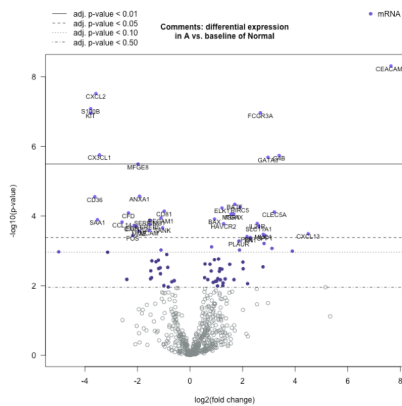


【特徴】

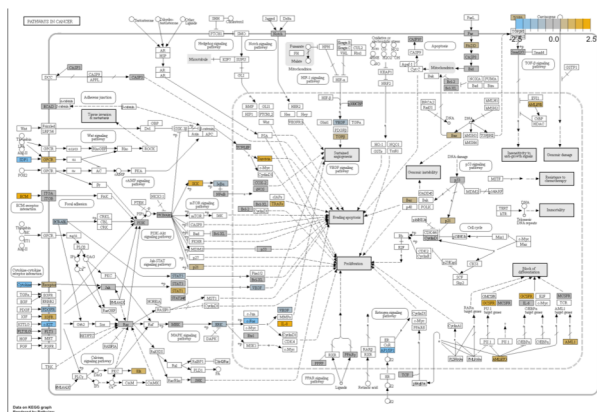
- ・ データQC
- ・ Normalization
- ・ データ出力
- ・ Heat Map解析
- ・ Scatter Plot解析
- ・ Box Plot解析
- ・ Violin Plot解析
- ・ Histogram解析 など



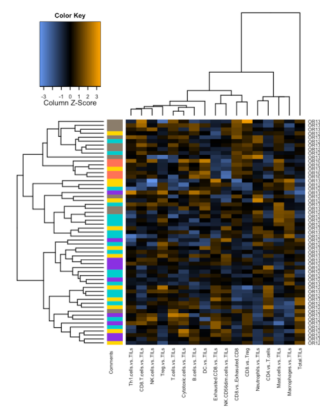
nCounter® Advanced Analysis Plug-in



Volcano plot



Pathview



Cell Type Profiling

nSolver™ Analysis SoftwareにnCounter Advanced Analysis Plug-inを導入することで、Volcano plot (左)、Pathview (中央)、Cell Type Profiling (右)解析などを簡単な操作で行うことが可能です。

有償データ解析サービス

PanCancer IO 360™パネルやnCounter® Breast Cancer 360™パネルでは、データ解析サービス（有償）をご利用いただくことで、Signature解析などを行うことが可能です。その他のパネルでは、Advanced Analysisをデータ解析サービス（有償）として承ります。データ解析を加速することで、プロジェクトの進展にお役立てください。詳細は、弊社担当までお問い合わせください。

nCounter 掲載論文

Geiss G., et al., "Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs." [Nature Biotechnology](#), (2008).

Tagliafierro L., et al., "Gene Expression Analysis of Neurons and Astrocytes Isolated by Laser Capture Microdissection from Frozen Human Brain Tissues." [Mol. Neuroscience](#), (2016).

Greenham K., et al., "Temporal network analysis identifies early physiological and transcriptomic indicators of mild drought in Brassica rapa." [eLife](#), (2017).

Chang K.T.E., et al., "Development and Evaluation of a Pan-Sarcoma Fusion Gene Detection Assay Using the NanoString nCounter Platform." [J. Mol. Diag.](#), (2017).

Danaher P., et al., "Gene expression markers of Tumor Infiltrating Leukocytes." [Journal for immunotherapy of cancer](#), (2017).



Ayers M., et al., "IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade." [The Journal of Clinical Investigation](#), (2017).

Ganguly D., et al., "The Critical Role That STAT3 Plays in Glioma-Initiating Cells: STAT3 Addiction in Glioma." [Oncotarget](#), (2018).



※論文リストは、下記URLよりご確認ください。随時更新中です。
<https://www.nanostring.com/scientific-content/publications>

主な仕様

モデル	nCounter SPRINT	nCounter MAX	nCounter FLEX
外観			
用途	研究用	研究用 (コアラボ)	研究・診断開発
Prep Stationの増設	不使用	可能	
FDA承認	-		承認済み
解析方式	CodeSet方式		
精製方法	磁性ビーズ		
蛍光励起光源	LED		
蛍光検出法	CCDカメラ		
PC、ソフトウェア	本体内蔵、タッチスクリーン操作		
1ラン (12検体) 所要時間	6時間	Prep Station: 3時間 Digital Analyzer: 5時間	
本体サイズ (W×D×H)	91×76×53cm	Prep Station: 89×67×63cm Digital Analyzer: 66×66×48cm	
電源	100-240VAC、50/60Hz、600VA	100-240VAC、50/60Hz、610VA	
重量	82kg	Prep Station: 120kg Digital Analyzer: 68kg	
システム構成	nCounter SPRINT本体、nSolver解析ソフトウェア	Prep Station本体、Digital Analyzer本体、nSolver解析ソフトウェア	

仕様は予告なく変更される場合がありますので、ご了承ください。

【総販売元】

 **アズワン株式会社**

バイオサイエンスグループ

E-mail : BIO@so.as-1.co.jp

HP : <https://axel.as-1.co.jp/contents/bio>

<本社>

〒550-8527 大阪府大阪市西区江戸堀2-1-27
 TEL : 06-6447-8633 FAX : 06-6447-8683

<東京オフィス>

〒104-0032 東京都中央区八丁堀2-23-1
 TEL : 03-6222-0180 FAX : 03-6222-0270

■ ご用命は信用ある代理店へ