

ATAC-seq 受託サービスガイドライン

ATAC-seq (Assay for Transposase-Accessible Chromatin using sequencing) では、ゲノムワイドなクロマチンアクセシビリティの評価をすることが可能です。この技術はトランスポザーゼ Tn5 を利用して、露出したオープンクロマチンの切断と、その後の増幅とシーケンスのためのアダプターライゲーションを行います。

最良の結果を提供するため、サンプル調製（細胞採取）にはガイドライン（別紙「ATAC-seq 受託サービスサンプル提出ガイドライン」）を厳守してください。

1 サンプルあたり、500,000~1,000,000 細胞 / サンプル（最低 200,000 細胞*）のご準備をお願いします。細胞生存率は、採取時に 95% 以上であることが推奨となります。核の単離の最適化には、追加で 2 サンプル（500,000 - 1,000,000 細胞 / サンプル）が必要となります。

*こちらの最小細胞数/サンプルが得られない場合は、ご相談ください。

ATAC-seq ワークフロー

細胞は、Diagenode 社のサンプル調製ガイドライン従ってお客様にて調製していただきます。Diagenode 社では、2 サンプル以上での生物学的反復* *で実験を行うことを推奨しています。

* *複数のサンプルからも同じような結果が得られるという外部妥当性の指標のこと

◆テストサンプルでの最適化（各細胞株／組織につき、2つのテストサンプルをご準備ください。）

1. サンプル QC

- 細胞数のカウント
- 細胞生存率判定

2. 核の単離条件の最適化

- 核の単離：2つの溶解条件でテスト
- QC：核の計測と顕微鏡での評価

◆対象サンプルでの ATAC-Seq

1. サンプル QC

- 細胞数のカウント
- 細胞生存率判定

2. サンプルのタグメンテーション

- 核の単離
- QC：核の計測と顕微鏡での評価
- 核の溶解
- Tn5 の消化

3. ライブラリーの準備

- ライブラリーの増幅
- ライブラリーの精製
- ATAC-seq ライブラリーの QC : DNA 濃縮とライブラリークオリティチェック
- ライブラリーのプーリング

4. ディープシーケンス

- サンプルは Illumina シーケンサーを使用して、ペアエンド 2x50 bp でシーケンスされます。
- 平均 4,000 万リード

5. バイオインフォマティクス解析

- クオリティチェック、リファレンスゲノムとのアライメント、濃縮領域の同定（ピークコール）を含みます。

◆納品データ：

- o シーケンス解析レポート
- o FASTQ 形式の生データ
- o FastQC レポート
- o BAM 形式のアライメントファイル
- o BED 形式のピークファイル

◆ご要望に応じて追加解析も可能です：

- **Differential binding analysis** : サンプル間で異なるクロマチンアクセシビリティの同定とアノテーションを行います (ヒト、マウス、ラット、ショウジョウバエ)。

納品データ：

- o Differential accessibility analysis とプロットの Summary を含むレポート
- o 異なるアクセシビリティ部位またはユニークなピークと、アノテーション領域の詳細を含むファイル：ヒト、マウス、ラット、ショウジョウバエのイントロン、エクソン、プロモーター領域、1 ~ 5 kb の上流 TSS 領域、遺伝子間領域

- **Annotation in genomic regions** : ATAC-Seq ピークのアノテーション：ヒト、マウス、ラット、ショウジョウバエのイントロン、エクソン、プロモーター領域、1 ~ 5 kb の上流 TSS 領域、遺伝子間領域

- **Gene ontology terms analysis** : 遺伝子セットのエンリッチメント解析。オープンクロマチン領域やアクセシビリティの異なる領域で過剰発現している Gene Ontology は、潜在的な Biological Process に関連づけられている可能性があります。

- **Pathway analysis** : オープンクロマチン領域またはアクセシビリティの異なる領域に関連する遺伝子が過剰に発現している可能性のある生化学的経路を同定します。

- **Visualization of specific genomic regions** : 特定のゲノム領域（遺伝子、プロモーターなど）の結果（シーケンスデータ、ピークなど）を、論文に掲載可能な画像で可視化します（ヒト、マウス、ラット）。

◆その他の注意事項

サンプル調製・送付については必ず Diagenode 社のガイドライン (別紙「ATAC-seq 受託サービスサンプル提出ガイドライン」) に従ってください。ご提供いただいたサンプルの QC が基準に満たない場合、再度新しいサンプルをご提供いただき、追加の QC を行います。ただし、再提供および QC にかかる追加料金はお客様負担となります。サンプル提供が遅れますと、納期に影響する可能性があります。

解析結果データは、Diagenode WEB サイトよりダウンロード可能です。解析終了後、Diagenode SA (ベルギー) よりログイン及びダウンロード方法についてご連絡いたしますので、1 ヶ月以内にダウンロードをお願いいたします。また、予備期間として 3 ヶ月間はサーバー上に保存されていますが、それ以降は削除されますので、長期間の保存を希望される場合は早めにご連絡ください。

お客様からお預かりしたサンプルは、Diagenode 施設にて解析終了から 4 ヶ月間保管した後、順次廃棄いたします。お客様のご要望に応じて、サンプルのご返却も可能です（追加費用がかかります）。

ご依頼いただいた内容の範囲外となる追加サービスの料金はお客様負担となります。