

RNA-seq 受託サービスガイドライン

最良な結果を得るためには、高品質の RNA を単離する必要があります。RNA 抽出および精製には Qiagen 社のキットを用いることが Diagenode 社の推奨です。

サンプル要件:

- mRNA-seq サービス: Total RNA 10 ng 以上
- Total RNA-seq サービス (Long non-coding RNA を含む全トランスクリプトーム解析): Total RNA 10 ng 以上 (ヒト、マウス、ラット)

RNA-seq サービスのワークフロー

n=3 の生物学的反復を推奨します。

1. RNA QC

濃度と RIN 値 (RNA Integrity Number) の測定を行います。

2. ライブラリー調製

- mRNA-seq では poly-A セレクションを行い、Total RNA-seq (lncRNAを含む) では rRNA 除去を行います。
- ストランド特異的ライブラリーを調製します。
- ライブラリー調製後、QC (定量とサイズ分布の確認) を行います。

3. シーケンス

- Illumina シーケンサーを使用して、ペアエンド 2x50 bp でシーケンスを行います。
- 他のリード形式でのシーケンスをご希望される場合は、お問い合わせください。

mRNA-seq: 2,500-3,000 万リード/ サンプル

Total RNA-seq: 4,500-5,000 万リード/ サンプル

4. バイオインフォマティクス解析

リファレンスゲノムへのアライメント、既知の遺伝子発現や転写産物の定量を含みます。

納品データ:

- シーケンス解析レポート
- FASTQ 形式の生データ
- FastQC レポート
- BAM 形式のアライメントファイル
- 正規化されていないリードカウントのマトリクス
- DESeq2 で正規化されたリードカウントのマトリクス

これらのファイルは 1 ヶ月間ダウンロード可能です。
これらの解析のみをご依頼いただいております場合には、
解析終了後、データは 12 ヶ月間保存されます。
12 ヶ月を超える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。

5. ご要望に応じた追加のバイオインフォマティクス解析

- **Differential expression:** サンプル間の遺伝子および/または転写産物の発現変動遺伝子解析
- **Gene ontology terms analysis:** 発現変動遺伝子セットの解析。発現変動遺伝子に含まれる遺伝子オントロジー (GO) term は、その根底にある生物学的プロセスを示している可能性があります。
- **Pathway analysis:** 発現変動に関連する遺伝子が過剰発現している可能性のある生化学的経路を同定します。

6. その他の注意事項

サンプル調製・送付については必ず Diagenode 社のガイドラインに従ってください。ご提供いただいたサンプルの QC が Diagenode 社の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、再提供および再 QC にかかる追加料金はおお客様負担となります。サンプルの提供が遅れますと、納期に影響する可能性があります。

解析結果は、Diagenode WEB サイトよりダウンロード可能です。解析終了後から 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。ただし、ご返却には追加の費用がかかります。

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。