



RNA-seq解析

微量 RNA の受け入れ始めました。



生物技研

2021年
6月の
サービス
アップ!

| | |
|---------|--|
| 価格(税別) | 40,000円/サンプル ※サンプルが原核生物や <i>Saccharomyces cerevisiae</i> の場合、rRNA除去が必須です(15,000円/サンプル) ※24サンプル以上で数量割引があります。 |
| 納期 | 25営業日 ※データ解析不要(生データ納品)の場合は20営業日 |
| データ量 | 2,000万リード/2 Gb(サンプルが原核生物の場合は1,000万リード/1Gb) |
| 作業内容 | <ul style="list-style-type: none"> ・送付サンプル(トータルRNA)の品質確認^(注1) ・オリゴdTでmRNAを精製、ランダムプライマーでcDNA合成 ・シーケンスライブラリー作製 ・シーケンシング解析(DNBSEQ-G400 100bpペアエンド解析) ・データ解析^(注2) <p>Bowtie2/hisat2ソフトウェアを用いて参照配列にマッピングいたします。 その後、featureCountsを用いてカウントを行った後、TPM正規化を行います。 ※cufflinksを用いた解析も対応可能です。 ※ヒト・マウス・ラット・イヌ・ニワトリ・アナウサギの場合は、リードカウントと正規化の代わりに、融合遺伝子の検出を行うことも可能です。リードカウントと正規化も行う場合は、10,000円(税別)がかかります。</p> |
| 納品物 | <p>以下のデータをDVDやUSB等の記録媒体に保存して納品します。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・報告書 ・シーケンス生データ (fastq形式) ・マッピング (bam形式) とカウント結果 (エクセルファイル) ・参照配列 (fasta形式) と遺伝子アノテーション (gff形式) ・DDBJのデータベース登録に必要なデータ <p>※データ量が多い場合は外付けHDD納品となり、HDD代として別途10,000円(税別)がかかります。お手持ちのHDDを送付いただき、そちらに保存して納品することも可能です。 <HDD納品となる目安> 生データ納品の場合は200Gb、データ解析ありの場合は100Gb</p> |
| ご提供サンプル | トータルRNA1 ug以上 (>50 ng/ul、>20 ul) ※ドライアイスと同梱し、冷凍便を使用して送付ください。 RNA濃度が基準値未満の場合は「微量RNA対応」のオプションをご覧ください。 |
| ご提供情報 | <ul style="list-style-type: none"> ・サンプル情報提供用紙 ・オーダーシート ・データ解析依頼書 <p>お見積時にこれらのファイルをメール添付でお送りしますので、ご記入の上、サンプル送付時に送信ください。</p> <p>参照配列(fasta形式)/遺伝子アノテーション情報(gff形式、gtf形式)は、CD-RやUSBに入れて送付いただくか、ダウンロードできるURLをご連絡ください。 <i>De novo</i> transcriptome assembly の解析をご希望のお客様は、お送り頂かなくても結構です。</p> |

(注1)rRNAの分解が進んでおり、シーケンシング解析を行ってもデータが得られないと判断した場合は、中止させていただきます(この場合のご請求は行いません)。
(注2)*De novo* transcriptome assembly解析の場合、解析方法が通常の解析とは異なります。



Q1.推奨のRNA抽出キットは?

特にごいません。弊社ではQIAGEN社のRNeasyシリーズを使用することが多いです。

Q2.送付の際、バッファーは何でもよい?

滅菌水のほか、TrisやTE、抽出キットの溶出バッファーでも構いません。但し、塩濃度が高いバッファーの場合、QCの電気泳動がうまくいかない可能性がありますので、避けてください。

Q3.RIN値の目安は?

バイオアナライザーのRIN値で7以上が目安です。送付前にお客様側でも品質確認される際は、参考にしてください。

Q4.DNase処理は必要?

ゲノムDNAの混入は望ましくないので、DNase処理をお勧めします。



オプション

RNA-seq解析

| 項目 | 備考 | 価格(税別) | 追加納期 | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---|---|------------------------------------|---|------------------------------------|-------|---------------------|------|------------------------------------|------|-------------|--------------|------|
| RNA抽出 | QIAGEN社のRNeasy等を使用して、トータルRNAを抽出します。 ▼ご提供サンプル量の目安 <table border="1"> <tr> <td>細菌</td> <td>細胞数 1×10^9程度、湿重量 20 mg程度</td> </tr> <tr> <td>酵母</td> <td>細胞数 5×10^7程度、湿重量 25 mg程度</td> </tr> <tr> <td>植物(葉)</td> <td>湿重量 50 mg程度、直径1.5cm</td> </tr> <tr> <td>動物細胞</td> <td>細胞数 1×10^7程度、湿重量 20 mg程度</td> </tr> <tr> <td>動物組織</td> <td>湿重量 20 mg程度</td> </tr> </table> ▼保管温度 ◇核酸保存液を添加する場合 核酸保存液を添加した後、 一晚は冷蔵保管(4℃)し、 翌日に冷凍保管(-20℃)。 ◇核酸保存液を添加しない場合 採取後すぐに-80℃保管。 | 細菌 | 細胞数 1×10^9 程度、湿重量 20 mg程度 | 酵母 | 細胞数 5×10^7 程度、湿重量 25 mg程度 | 植物(葉) | 湿重量 50 mg程度、直径1.5cm | 動物細胞 | 細胞数 1×10^7 程度、湿重量 20 mg程度 | 動物組織 | 湿重量 20 mg程度 | 20,000円/サンプル | 5営業日 |
| 細菌 | 細胞数 1×10^9 程度、湿重量 20 mg程度 | | | | | | | | | | | | |
| 酵母 | 細胞数 5×10^7 程度、湿重量 25 mg程度 | | | | | | | | | | | | |
| 植物(葉) | 湿重量 50 mg程度、直径1.5cm | | | | | | | | | | | | |
| 動物細胞 | 細胞数 1×10^7 程度、湿重量 20 mg程度 | | | | | | | | | | | | |
| 動物組織 | 湿重量 20 mg程度 | | | | | | | | | | | | |
| rRNA除去 | siTOOL社のriboPOOL等を使用して、rRNAを除去します。 | 15,000円/サンプル | なし | | | | | | | | | | |
| 微量RNA対応 | 微量RNA (>1 ng/ul, >20 ul) に対して、ライブラリー調製を行います。 真核生物のみ対応可能です。劣化したRNAではライブラリー調製ができません。 | 20,000円/サンプル | 5営業日 | | | | | | | | | | |
| データ解析 | 発現比較解析 参照ゲノム配列あり iDEGES正規化(Sun et al., BMC Bioinformatics, 2013) 後、 edgeRを用いて発現変動遺伝子を検出致します。 | 1/パターン 50,000円 追加1/パターンごと +10,000円 ※パターンについては下記Q6参照 | なし | | | | | | | | | | |
| | 参照ゲノム配列なし De novo transcriptome assemblyで得られたContigに 対しRSEMを用いてマッピングを行います。その後、 edgeRを用いて発現変動遺伝子を検出致します。 | | | | | | | | | | | | |
| | Volcano プロット | 発現比較解析結果の発現比とp値で作図します。 | | 1/パターン 10,000円 追加1/パターンごと +2,000円 | | | | | | | | | |
| | ベン図 | 発現比較解析の結果、発現上昇または低下した遺伝子の集合関係をベン図で示します。 | | 20,000円 | | | | | | | | | |
| | 主成分分析(PCA) | 遺伝子発現プロファイルの類似性を座標分布で示します。 | | 10,000円 ※3サンプル以上で解析可 | | | | | | | | | |
| | クラスタリング解析 | 遺伝子発現プロファイルの類似性を階層クラスタリングで示します。 | | 10,000円 ※3サンプル以上で解析可 | | | | | | | | | |
| | 相関図作成 | 遺伝子発現プロファイルの類似性を相関図で示します。 | | 10,000円 | | | | | | | | | |
| | ヒートマップ解析 | 遺伝子発現プロファイルを色で表現した可視化グラフを提供します。 | | 20,000円 | | | | | | | | | |
| | パスウェイ解析 | KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) を利用したパスウェイ解析です。 発現変動解析の結果から同定された遺伝子が、どのような代謝系に関わっているのかを可視化させます。 | | 1/パターン 70,000円 追加1/パターンごと +10,000円 | | | | | | | | | |
| Gene Ontology (GO) 解析 | 全遺伝子のGO termと発現比較解析の結果から同定された発現変動遺伝子のGO termについて、出現頻度の比較とFisher検定による有意差検定を行います。発現変動遺伝子の特徴的なGO termを推定することができます。 | 1/パターン 70,000円 追加1/パターンごと +10,000円 | | | | | | | | | | | |
| De novo transcriptome assembly | 参照配列がない非モデル生物の遺伝子カタログ作成を、Trinityを用いて行います。 | 100,000円/生物種 | | | | | | | | | | | |

セットでお得
1/パターン
100,000円
追加パターンの料金は
それぞれ必要です。

**生物技研の
RNA-seq解析
についての
ギモン・シツモン
~ 後編 ~**

Q5.送付時の温度帯は？

- total RNA送付の場合
冷凍便を利用し、必ずドライアイスと同梱してください。
- 生サンプル送付(弊社にRNA抽出もご依頼)の場合
◇ RNAlaterなどの核酸保存液に浸しているサンプル
冷凍便を利用し、ドライアイスは同梱せずに送付してください(核酸保存液は-20℃以下で凍結してしまうため)。
◇ -80℃で保管していたサンプル
冷凍便を利用し、必ずドライアイスと同梱してください。

Q6.発現比較解析などのパターン数って？

例えば、A群・B群・C群があり、A群 VS B群・A群 VS C群の発現比較解析をする場合は2/パターン、総当たりで行う場合は3/パターンとなります。
3群間比較(A群 VS B群 VS C群)も可能ですが、発現比較の発現平均値(A値)と発現比(M値)が算出されないため、MAプロット図の納品はなく、エクセルデータのための納品となります。

参照ゲノム配列の情報がない生物 (非モデル生物)でも RNA-seqのデータを利用することで 参照配列を得ることができます。

RNAseq用ライブラリーを200bpペアエンドリードで解析します。得られたリードをデノボアセンブルすることで発現遺伝子カタログを作成し、参照ゲノムの代わりとしてマッピングに使用します。



RNA-seqデータを利用した 発現遺伝子カタログの作成 (発現比較解析用参照配列の作成)

| | |
|---|---------------|
| ライブラリー調製 & DNBSSEQ 200bpペアエンド解析 (3,000万リード保証) | 50,000円 |
| De novo transcriptome assembly | 100,000円 |
| 合計 | 150,000円 (税別) |

【納期】25営業日