

エピゲノム解析・トランスクリプトーム解析を用いた共同研究について

(ver. 1.0:2011.4.15)

理化学研究所は、文部科学省最先端研究基盤事業「[植物科学最先端研究拠点ネットワーク](#)」の研究支援の1つとして、次世代シーケンサーを用いたエピゲノム解析・トランスクリプトーム解析を行います。

本研究支援は共同研究として行わせて頂きます。以下の注意点をよくお読みいただいた上で、お問い合わせ下さい。

使用機器

次世代シーケンサー：[Applied Biosystems SOLiD™4 システム](#)

解析内容

高精度なゲノム配列データを有する植物種における、トランスクリプトーム解析およびエピゲノム解析

例) RNA-Seq および ChIP-Seq による転写因子の結合部位同定など

利用する上での注意点

基本的には理研にサンプル(DNA, RNA)をお送りいただいて、理研側でシーケンス用のライブラリー調製から解析までを行います（詳細は打ち合わせ時にてご相談）。

*受付出来ないサンプル

実験上の理由：必要量を満たしていないサンプル、不純物等の混入で質の良くないものなど

測定時間上の理由：サンプル数があまりに多く、且つ、測定結果が必要な期限がこちらの解析スケジュールと合わない場合

共同研究に不向き：論文化できない、目的が明確でないなど

利用の流れ

① 事前打ち合わせ

アプリケーションの種類、サンプル数、使用する試薬・消耗品および納期の確認など

② 申請書の提出、審査

③ 解析の詳細打ち合わせ

④ 解析依頼サンプルの送付

送付方法：持ち込みまたは宅配便（冷凍）など

⑤ 解析結果の解釈

データ解釈のフィードバック、論文化の相談など

⑥ 論文発表のちデータ公開

解析の流れ(詳細は後述)

① 核酸抽出

② フラグメントライブラリー調製

③ ビーズ調製

④ WFA ランで調製したビーズの質と正確な数を確認

⑤ Sequence ラン

⑥ データ解析

費用負担

解析に使用する分のシーケンス試薬・消耗品のご負担は、利用者側でお願い致します。アプリケーションの種類により内容が異なりますので、詳細は打ち合わせの際にご相談という形になります。

また、サンプル送付にかかる費用も各自ご負担下さい。

Authorship

解析結果を用いた発表をする場合は、関原明 (e-mail: mseki@psc.riken.jp) に、事前(論文および学会発表要旨投稿前)にご連絡いただくようお願い致します。

また、石田順子 (Ishida Junko)、諸澤妙子 (Morosawa Taeko)、関原明 (Seki Motoaki)、その他解析に貢献した者(実験内容による)も共著者に加えて下さるようお願い致します。

納期

機器の不調・故障やサンプルの混雑状況によって異なります。

〇〇SOLiD4 を用いた解析の流れ〇〇

参照 [Overview of SOLiD Sequencing Chemistry](#)

① 核酸抽出

基本的には利用者側で調製を行って頂きます（内容によっては応相談）

② フラグメントライブラリー調製

<ゲノム DNA を用いた例>

*RNA-Seq, ChIP-Seq の場合は方法が異なります

超音波破碎機で平均 165bp 長に DNA を切断

↓

シーケンス時に必要なアダプター配列を DNA 断片の両端に結合

↓

電気泳動で特定の領域(165bp+アダプター)を切り出す

↓

PCR で増幅（サイクルは最小限に抑える）

↓

Agilent 2100 Bioanalyzer で fragment の長さを確認

TaqMan probe を用いた qPCR で定量する

③ ビーズ調製

②で作製したライブラリーの各フラグメントを、マイクロビーズに結合させる

EZ Bead Emulsifier : PCR mix, template DNA, MicroBeads を油膜に包む

↓

(エマルジョン作製)

EZ Bead Amplifier : エマルジョンごと PCR にかける (ePCR)

↓

EZ Bead Enricher : 増幅した DNA をもつビーズのみ回収する

↓

3' 端に修飾反応を行い、スライドガラスに結合させる

④ WFA(Work Flow Analysis)ラン

作製したビーズのごく少量をスライドガラスに固定し、配列の最初だけランを行う

↓

結果からビーズの質を確認し、正確な濃度を計算する

⑤ Sequence ラン

④の WFA で計算した濃度から必要なビーズ量を求め、スライドガラスに固定しランを行う

⑥ データ解析

解析内容により異なりますので、詳細は打ち合わせを通して進めることになります。

以上

連絡先：理化学研究所 植物科学研究センター 植物ゲノム発現研究チーム
関 原明(mseki@psc.riken.jp)