

がんメタボローム研究推進支援事業
RNA-seqデータ取得及びデータ解析委託 委託内容

No.	業務内容	メーカー	型番・型式等	数量	単位
1	RNA-seqデータ取得及びデータ解析	Rhelixa		1	式
	(以下内訳)				
	RNA抽出		AAA002	5	サンプル
	RNA-seqまるっとキャンペーン (ライブラリー調整+シーケンス+ベークアップ解析)		RNS001M	5	サンプル
	RNA-seqスタンダード解析 DEG解析		RNS005	1	式
	RNA-seqスタンダード解析 IPA解析 (アカデミア向け)			1	式

がんメタボローム研究推進支援事業 RNA-seq データ取得及びデータ解析委託 仕様書

1. 作業概略

1-1) 作業内容：真核生物 RNA-seq 【データ取得+データ解析】

1-2) 受入サンプルまたはデータ形式：凍結細胞

1-3) 生物種：Mus musculus

1-4) サンプル数（実験群）：5 サンプル

1-5) リファレンスゲノム：mm10

2. データ取得仕様

2-1) 利用機器：Illumina NovaSeq 6000

2-2) 取得リード長：PE150 (150bp×2 paired-end)

2-3) 取得データ量：4 G bases per sample

2-4) 取得リード数：26.7 M reads per sample
(13.3M pairs)

2-5) アプリケーション：RNA-seq (Poly-A 選択法, Strand-specific)

2-6) 利用試薬：NEBNext® Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module

および NEBNext® Ultra™ Directional RNA Library Prep Kit for Illumina

3. 作業手順

3-1) 組織または細胞に適したキットおよび機器を用いて、核酸を抽出する。

3-2) BioAnalyzer を用いて、total RNA サンプルの品質確認を行う。

3-3) クオリティチェックをパスしたサンプルについて、シーケンスライブラリーを作製する。

3-4) シーケンスランを行う。

3-5) プログラム FastQC を用いて、シーケンスリードの品質確認を行う。

3-6) プログラム Trimmomatic を用いて、シーケンスリードのトリミングを行う。

3-7) プログラム HISAT2 を用いて、リファレンスゲノムへのマッピングを行う。

3-8) プログラム featureCounts を用いて、各遺伝子の Raw リードカウントを計算する。

3-9) プログラム featureCounts を用いて算出した Fragments カウントを元に各遺伝子の発現量 (FPKM および TPM) を計算する。

3-10) サンプル間でデータ傾向の相関評価、クラスタリング解析および PCA 解析を行う。

3-11) プログラム DESeq2 または edgeR を用いて発現変動遺伝子を抽出する。

3-12) プログラム IPA を用いて、発現変動遺伝子のパスウェイ解析を行う。

4. 納品物

4-1) 作業完了報告書 .pdf (4-2)から 4-19)までを含む)

4-2) raw fastq：*.fastq.gz

4-3) trimmed fastq：*.paired.fastq.gz

- 4-4) マッピング後リードデータ： *.mapped.bam
- 4-5) bigWig データ： *.bw
- 4-6) FPKM 値リストデータ（タブ区切りのテキストデータ）
- 4-7) FPKM-UQ 値リストデータ（タブ区切りのテキストデータ）
- 4-8) Raw reads count 値リストデータ（タブ区切りのテキストデータ）
- 4-9) TPM 値リストデータ（タブ区切りのテキストデータ）
- 4-10) 系統クラスタリングデータ(dendrogram) .png ファイル
- 4-11) 相関データ(pairs plot) .png ファイル
- 4-12) PCA クラスタリングデータ .png ファイル
- 4-13) ヒートマップデータ .png ファイル
- 4-14) DEG 遺伝子リストデータ（タブ区切りのテキストデータ）
- 4-15) DEG 後ヒートマップ.png
- 4-16) Volcano plot.html
- 4-17) MA plot.html
- 4-18) IPA Read Only License
- 4-19) IPA Read only license データ確認手順.pdf

5. 納入形式

- 5-1) 紙媒体（作業完了報告書）
- 5-2) 記録媒体（データを格納した USB メモリまたはハードディスクドライブ）

6. 納入場所

山形県鶴岡市覚岸寺字水上 256-2 C-6

国立がん研究センター・鶴岡連携研究拠点がんメタボロミクス研究室 牧野嶋まで

7. 納品期日

令和3年12月28日