

お客様各位

## 次世代シーケンス Total RNAサンプルに品質検定つきまして

謹啓

時下ますますご清栄のこととお慶び申し上げます。  
 この度は、弊社次世代シーケンス解析サービスをご利用いただき、誠に有り難うございます。  
 弊社では、貴重なサンプルをお預かりしての解析で確実にデータを出すため、またスムーズに解析を進めるため、解析に問題のない質・量のTotal RNAを予めご用意下さいます様ご協力をお願いいたしております。

つきましては、Total RNAサンプルの品質検定には、下記推奨法もしくは同等の方法にて分解の少ない十分量のサンプルのご用意をお願い致します。  
 お忙しい中大変恐縮ではございますが、何卒ご協力のほど、宜しくお願い申し上げます。

敬白

### 弊社推奨 Total RNA品質検定法

Total RNAサンプルの品質検定には1)分光光度計での測定、および3)Agilent 2100 BioAnalyzerでの測定を推奨いたしておりますが、BioAnalyzerがお手許にてご利用できない場合は代替法として2)アガロースゲル電気泳動でご確認ください。

#### 1)分光光度計での測定

分光光度計での測定にてサンプルの純度 (A260/A280 ratio, A260/A230 ratio) および濃度が下記基準を満たしていることをご確認ください。

純度: A260/A280, A260/A230	ともに 1.8
濃度: mRNA-Seq (Roche GS FLX)	100ng/ul以上
mRNA-Seq (Illumina HiSeq)	40ng/ul以上
small RNA-Seq (Illumina HiSeq)	200ng/ul以上

#### 2)アガロースゲル電気泳動

サイズマーカーと共にサンプルの変性アガロースゲル電気泳動を行い、EtBr等で染色後、下記をご確認下さい。  
 (ただし、生物種によってはこの限りではありません。ご不明な点をご相談下さい。)

- 1) 28S / 18S rRNAのバンドがシャープに認められる
- 2) 28Sの方がバンドが濃い
- 3) バンド間・低分子領域にスミアがない

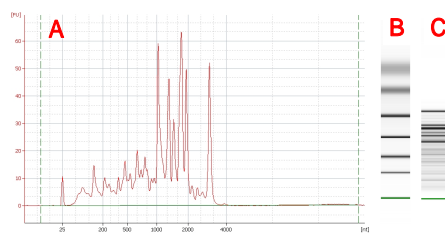
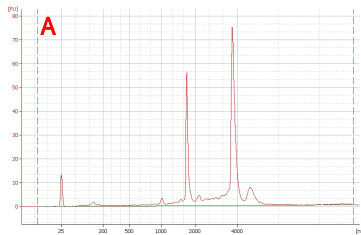
#### 3) Agilent 2100 BioAnalyzer

サンプルのRIN(RNA Integrity Number)の値が8.0以上、28S/18SRNAの値が1.4以上であることをご確認ください。

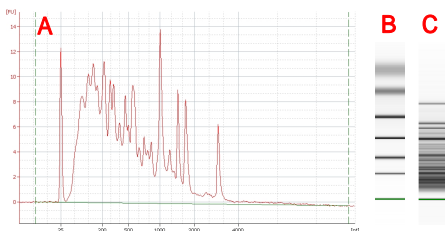
生物種によっては(rRNAのサイズによって)RIN値が算出されない場合がございます。その際は、rRNAのピークがシャープである(細くて高い)事、またバックグラウンドピークが少ないことをご確認ください。  
 (別途、測定機器が必要です。詳細はメーカーカタログ等をご確認下さい。)

### RNA品質検定の例 (Agilent BioAnalyzerデータおよびゲルイメージ)

分解の無いRNA です。 28S rRNA と18s rRNA のピークがはっきり現れています。 28S rRNA のピークが低くなりベースラインが乱れています。



著しく分解されたRNA です。  
 分解物のため、ピークが低分子側にシフトしています。



A : サンプルのエレクトロフェログラム  
 B : マーカーのゲル電気泳動イメージ  
 (下から200,500,1000,2000,4000bp)  
 C : サンプルのゲル電気泳動イメージ

ご不明な点がございましたら、弊社担当(下記)までお問い合わせ下さい。

北海道システム・サイエンス株式会社  
 ライフサイエンス本部 解析部  
 次世代シーケンス解析サービス担当  
 TEL : 011-768-5903  
 E-mail : seq@hssnet.co.jp