Séquençage des ARNs (RNA-seq, TSS mapping, miRNA-seq) et de produits d’immuno-précipitation de la chromatine (ChIP-seq)

**Code projet (interne à PF2) : SLX**

## Titre du projet

## Responsable du Projet

*Préciser le coordinateur du projet si plusieurs laboratoires sont impliqués*

Nom:      Prénom:

Laboratoire:

## Contrôle qualité du materiel génétique

**IMPORTANT - A LIRE ATTENTIVEMENT**

Les ARNs, ADNs et librairies doivent passer les **critères qualité** détaillés ci-dessous. La concentration des librairies est évaluée par spectrofluorométrie (QuBit Invitrogen). Si ce **contrôle** n’est pas réalisé à la plate-forme, les profils et quantifications doivent nous être transmis. En cas de qualité ou de quantité insuffisante par rapport aux critères indiqués ci-dessous, une discussion technique précise sera nécessaire pour évaluer si le projet peut être pris en charge.

### Qualité

#### ARN : Le profil de migration obtenu pour chaque ARN ne doit mettre en évidence aucun signe de dégradation (les RNA Integrity Numbers doivent être validés avec la plate-forme).

#### ADN immuno-précipité : Les fragments doivent être majoritairement compris entre 100 et 500 nucléotides.

### Quantités

#### ARN : RNASeq,directionnel : 0,1 à 2 µg d’ARN total; RNAseq non directionnel : au moins 10 pg d'ARN total; miRNA seq : 10-50 ng de miRNA obtenus à partir de 1 à 10 µg d’ARN total (selon la proportion de miRNA présents) ; Séquence des sites d’initiation de la transcription (mapping +1) : 7-10 µg d’ARN total

#### ADN : ChiPseq: la quantité optimale est de 50 ng total ou plus d'ADN immunoprécipité. En dessous de 10 ng, les résultats sont aléatoires et ne peuvent en aucun cas être garantis.

### Description technique du projet (à discuter avec la plate-forme)

#### Quel type de séquençage souhaitez vous utiliser ?

|  |  |
| --- | --- |
| Séquençage des transcrits codants (mRNA-seq directionnel) |  |
| Séquençage des transcrits codants et non codants (RNA-seq directionnel) |  |
| Séquençage de produits d’immuno-précipitation (ChIP-Seq) |  |
| Séquençage des miRNAs |  |
| Etude des sites d’initiation de la transcription (mapping +1) |  |
| Autres |  |

#### Quels paramètres de séquençage souhaitez vous ?

|  |  |
| --- | --- |
| Run | Single  Paired-Ends |
| Longueur des lectures | 65 bases  100 bases |
| Nombre d’échantillons |  |
| Multiplexage | échantillons par canal |

#### Certaines populations d'ARN doivent-elles être éliminées avant la construction des librairies ?

|  |  |
| --- | --- |
| **Populations d’ARN** |  |
| *rRNA* | *Oui - Non* |
| *rRNA mitochondriaux* | *Oui - Non* |
| *mRNA globine* | *Oui - Non* |
| *Autres (préciser) :* | *Oui - Non* |

### Description de vos échantillons

Nous vous demandons de nous faire parvenir un tableau Excel décrivant l’ensemble de vos échantillons, leurs caractéristiques et tous les éléments nécessaires à l’analyse des résultats.

L’exemple ci dessous est un modèle à compléter selon vos spécificités.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Nom Echantillon | Souche | Traitement | Réplicat | Date préparation ARN | Concentration (ng/µl) | Ratio 260/280 | RIN | Etc… |
| *Toto* | *Tata* | *blague* | *1* | *2015* | *100* | *1,8* | *8,3* |  |
| *Titi* | *Tata* | *blague* | *2* | *2015* | *120* | *1,75* | *8,2* |  |

Date de disponibilité des acides nucléiques ou des librairies ?

## Etapes du projet prises en charge par l’équipe demandeuse

|  |  |
| --- | --- |
| **Etapes** | **Prise en charge** |
| Préparation des librairies | Oui - Non |
| Alignement des lectures | Oui - Non |
| Analyse statistique | Oui - Non |
| Mise en place d’un outil de visualisation des données | Oui - Non |

## Moyens humains de l'équipe demandeuse pour la réalisation de ce projet

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Nom** | **Prénom** | **Statut** | **Degré d’implication dans le projet** |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |