

E-EXP-04	Fiche prestation	Date : 23/03/20 Version 5
	<h2>Déplétion des ARN ribosomiques</h2>	Page 1/3

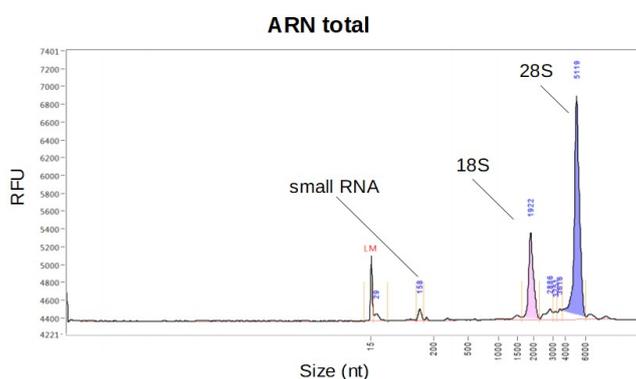
La déplétion permet d'éliminer les ARN ribosomiques d'un échantillon. Cette technique peut être utilisée pour (entre autre) la construction des banques RNAseq.

La plateforme MGX propose de réaliser la déplétion des ARN ribosomiques à l'aide du kit Truseq stranded total RNA d'Illumina qui inclut dorénavant cette étape à la construction des banques pour les échantillons provenant d'Homme/Rat/Souris ou de plantes (feuilles/graines/racines). Pour toutes autres espèces, il faut prendre contact avec la plateforme pour connaître les solutions techniques disponibles.

Prestation proposée

À partir des échantillons fournis par le client, le plateau technique réalise les étapes de :

1. Contrôle et validation de l'échantillon sur Fragment Analyzer (Agilent).

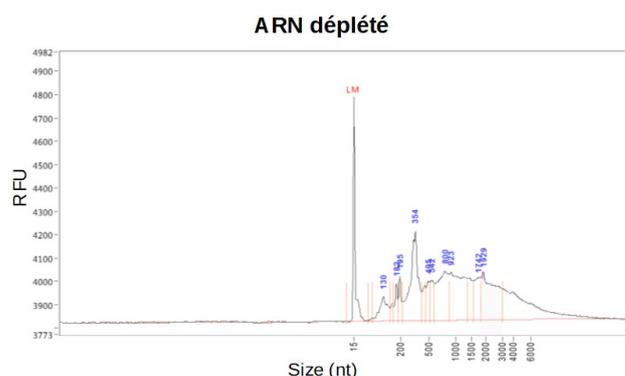


2. Déplétion :

- Capture des ARN ribosomiques sur billes Ribo-Zero
- Récupération du surnageant
- Purification des ARN



3. Validation de la déplétion et quantification sur Fragment Analyzer (Agilent)



Séquençage :

Le séquençage est réalisé sur Novaseq (Illumina)/Miniseq (Illumina) par la méthode de Sequence By Synthesis (SBS) ou Minion (Oxford Nanopore).

E-EXP-04	Fiche prestation	Date : 23/03/20 Version 5
	Déplétion des ARN ribosomiques	Page 2/3

Cf fiche EXP-50 Séquençage Illumina sur Novaseq.
EXP-51 Séquençage Illumina sur Miniseq.
EXP-52 Séquençage sur MinION.

Matériel initial

Il est important d'éviter toute dégradation des ARN, la qualité du résultat final étant très fortement liée à la qualité des échantillons initiaux.

Type	Type d'acide nucléique
Quantité	2 µg
Concentration	100 ng/µl dans 20 µl
Particularités	ARN traité à la DNase, ratio 28s/18s>1,6

Les tubes doivent être bien identifiés et correspondre aux informations notées sur la fiche échantillon dont une version vierge sera envoyée par le plateau technique.

Contrôle qualité

Tout au long de l'expérimentation, des tests sont réalisés par le personnel habilité pour valider ou non les différentes étapes. Ces tests sont les suivants :

Quantité d'échantillons	
Dosage échantillon	2 µg
Qualité des échantillons	
Qualité ARN	RIN ≥ 8 et/ou ratio 28S/18S≥1,6
Efficacité de la déplétion	
Présence pic ARN ribosomique	pas ou faible

Dans la mesure où le plateau technique constate que l'un des contrôles qualité donnés ci-dessus n'est pas rempli, le client sera contacté le plus rapidement possible pour déterminer avec lui la meilleure solution à apporter au problème.

Gestion du projet

Tout au long de l'expérimentation, vous pourrez suivre l'avancement du traitement de vos échantillons sur notre gestionnaire de projet (connexion sécurisée avec login et mot de passe) : les différentes étapes du traitement seront validées par l'opérateur séquençage au fur et à mesure de l'avancement.

E-EXP-04	Fiche prestation	Date : 23/03/20 Version 5
	Déplétion des ARN ribosomiques	Page 3/3

Conditions et durées de conservation des échantillons et des données

Les échantillons d'ADN/ARN sont conservés à 20°C/80°C dans nos congélateurs, avec un système de congélateur de secours en cas de problème.

Une fois l'analyse réalisée et les données transférées au client, les reliquats d'échantillon et les banques produites seront éliminés.