GUIDELINES

Single Cell ATAC-seq Samples Preparation Guidelines
Single Cell ATAC-seq 解析 サンプル調製・送付ガイドライン
細胞サンプル用

Single Cell ATAC-seq 解析は Diagenode SA(ベルギー)で実施します。
弊社にて事前に細胞サンプルの品質チェックを行いませんので、下記ガイドラインに沿って調製した細胞サンプルを送付してください。
(株)ダイアジェノード連絡先:info.jp@diagenode.com

In order to maximize results, we provide strict guidelines for sample preparation (cell collection).
結果を最大化するため、細胞採取に関する本ガイドラインを厳守してください。

We request 200.000 - 1.000.000 cells / sample of interest to be processed. Cell viability should be higher than 95% when collected.
If cells are treated with a drug that might induce cell death or if cell viability is inferior to 95% when collected, additional DNAse treatment will be needed. In that case, please inform our services team, so they can provide you with the detailed protocol for sample preparation. **Two additional test samples (200.000 – 1.000.000 cells / test sample) are required to perform the nuclei isolation optimization.**

解析に必要な細胞数は 1 サンプルあたり 200,000-1,000,000 個で、回収時の細胞生存率は 95%以上です。
細胞死の原因となりうる薬剤を使用する場合や、回収時の細胞生存率が 95%を下回る場合は、DNase 処理が必要となります。その場合はサンプル調製のための詳細プロトコールを送付いたしますのでご連絡ください。**核の単離を最適化するために、解析用サンプルとは別にテスト用サンプル(1 サンプルあたりの細胞数 200,000-1,000,000 個)を 2 サンプル用意してください。**

Material :
材料

- PBS
  リン酸緩衝生理食塩水
- Trypsin (in case of adherent cells)
  トリプシン(接着細胞の場合)
- Cell media
  細胞培地
- Serum
  血清
- Cryopreservative reagents (specific to the cell type)
  細胞凍結保存液(各細胞型に適したもの)
- Cryogenic storage vials
  凍結保存用バイアル(クライオチューブ)
- Slow cooling system
  凍結プログラムフリーザー

GUIDELINES

Protocol :
手順

- Keep slow cooling system such as Mr. Frosty container at 4°c for 1 hour before use.
  凍結プログラムフリーザー(Mr. Frosty container 等)を使用する1時間前に 4℃にしておく。

- For cells that are in suspension, collect them and count them (cell counter). For Adherent cells, detach them enzymatically with trypsin, collect them in growth media supplemented with serum (for trypsin inactivation) and count them.
  浮遊細胞の場合、細胞を収集し細胞数を数える(セルカウンター)。
  接着細胞の場合、トリプシン処理で細胞を剥がし、(トリプシン不活化のため)血清を含む増殖培地中に移してから細胞数を数える。

- Centrifuge them at 500 g for 5 minutes to pellet the cells and remove the supernatant.
  遠心(500× g, 5 分間)し、上清を除去する。

- Resuspend the cells in cryopreservative medium (which should be adapted to specific cell requirement) so cell concentration is between 2 million and 4 million cells/ml. Transfer the cells in 1.5 ml cryogenic storage vials. Place vials on wet ice or in a 4°C refrigerator, and start the freezing procedure within 5 minutes.
  細胞凍結保存液(各細胞型に適したもの)を加え、細胞濃度が 2,000,000-4,000,000 cells/ml になるように細胞を再懸濁し、1.5 mL 凍結保存用バイアル(クライオチューブ)に移す。バイアルは氷上または 4℃の冷蔵庫内に置き、5 分以内に次の凍結工程に進む。

- Freeze the cells using a slow cooling system such as Mr. Frosty container (cells should be frozen slowly at 1°C/min). Keep the cells at -80°c until shipment.
  凍結プログラムフリーザー(Mr. Frosty container 等)を用いて、毎分-1℃の速度でゆっくりと細胞を凍結する。細胞は-80℃保存する。

- Ship cells on dry ice.
  サンプルを輸送する際にはドライアイスを同梱してください。

GUIDELINES

- サンプル容器は 1.5 mL 凍結保存用バイアル(クライオチューブ)を使用し、油性マジックでサンプル番号を明記してください。ラベルを貼付する場合は剥がれないようにご注意ください。
- 弊社よりお送りした「サンプル ID シート」ファイルに表記サンプル名とすべての関連情報を記入してください。
- 必要事項を記入した「サンプル ID シート」を印刷して、サンプルと同梱してお送りください。また、「サンプル ID シート」を info.jp@diagenode.com に電子メールで送信してください。
- 土・日・祝日はサンプルの受け取りを行っておりません。休日を挟まないように平日午前着指定で下記の住所へお送りください。
  - サンプル送付先:

    株式会社ダイアジェノード

    エピジェネティクス受託解析サービス係 行

    〒930-0834 富山県富山市問屋町 1-8-7　富山営業所

    TEL 076-482-3110

  - ※サンプルは、容器破損が起こらないように梱包してください。
  - ※ドライアイスを同梱し、冷凍便でお送りください。
  - ※平日着でお送りください。発送は元払いでお願いしています。