

scATAC-seq Service Guidelines **scATAC-seq 解析 サービスガイドライン**

scATAC-seq (Single-Cell Assay for Transposase-Accessible Chromatin using sequencing) allows for assessing genome-wide chromatin accessibility at the single-cell level. The technology is based on the use of the hyperactive transposase Tn5 which cuts exposed open chromatin and simultaneously ligates adapters for subsequent amplification and sequencing. Coupled to BioRad ddSEQ Single-Cell Isolator, this technology allows genome-wide open chromatin sequencing of 500 - 5000 droplet isolated single nuclei.

scATAC-seq 解析は、高活性 transposase Tn5 が露出したオープンクロマチンを切断すると同時に増幅および配列決定のためのアダプターを連結することで、単一細胞レベルでのゲノムワイドなクロマチンアクセシビリティの評価を可能にします。BioRad の ddSEQ Single-Cell Isolator を用いて微小液滴内に単離した核を封入することで、500-5,000 個の液滴からゲノムワイドなオープンクロマチンシーケンス解析が可能になります。

In order to maximize results, we provide strict guidelines for sample preparation (cell collection).

結果を最大化するため、サンプル採取に関するガイドライン(別紙「Single Cell ATAC-seq 解析 サンプル調製・送付ガイドライン」)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. 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。

また、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 サンプル追加してください。

scATAC-seq workflow

scATAC-seq 解析内容

Cells will be prepared by the customer according to Diagenode's sample preparation guidelines. Diagenode recommends to perform the experiment at least on two biological replicates.

弊社のサンプル調製手順(別紙「Single Cell ATAC-seq 解析 サンプル調製・送付ガイドライン」)に従って、サンプルをご準備ください。実験では少なくとも 2 検体での解析が推奨されます。

OPTIMIZATION ON TEST SAMPLES

(2 test samples requested per cell line/tissue type)

テスト用サンプルによる最適化

(テスト用サンプルは細胞株/組織タイプ毎に 2 サンプル必要)

1. Sample QC

- Cell counting
- Cell viability assay

2. Nuclei isolation

- Nuclei isolation: testing 2 lysis conditions
- QC: Nuclei counting and microscopic evaluation

GUIDELINES

scATAC-SEQ ON SAMPLES OF INTEREST

解析用サンプルを用いた scATAC-seq 解析

1. Sample QC

- Cell counting
- Cell viability assay

2. Sample tagmentation

- Nuclei isolation
- QC: Nuclei counting and microscopic evaluation
- Tn5 digestion

3. Droplet encapsulation and library preparation

- Isolate single nuclei by encapsulation
- Library preparation: single nuclei barcoding, sample indexing and amplification
- Library purification
- QC on the scATAC-seq library: DNA concentration and analysis of library profile
- Libraries pooling

4. Deep sequencing

- Samples are sequenced on an Illumina® platform.
- Sequencing depth will be adjusted to project dependent criteria (25-50K raw reads/cell on average).

5. Bioinformatic analysis

- Quality check.
- Debarcoding.
- Alignment to reference genome.
- Bead filtration
- Bead deconvolution
- Identification of enriched regions (peak calling).
- Generation of cells-by-peaks count matrix.

Provided files:

納品データ

- Reports with sequencing statistics and cell encapsulation efficiency.
- Raw data in FASTQ format.
- FastQC reports.
- Alignment files in BAM format.
- Peak files in BED format.
- Count matrix in csv and sparse mtx format.

GUIDELINES

Additional analysis on request: 追加解析オプション

- **Cell classification:** Identification of cells subpopulations by unsupervised clustering (using Seurat/Signac).
- **Differential accessibility analysis:** Identification and annotation (human, mouse, rat, drosophila) of differentially accessible regions between cell subpopulations.
- **Gene ontology terms analysis:** Enrichment analysis on genes associated with differentially accessible regions between cell subpopulations. Gene Ontology terms that are overrepresented in differentially accessible regions may indicate the underlying biological processes involved.
- **Pathway analysis:** Identify biochemical pathways in which genes associated with differentially accessible regions between cell subpopulations may be overrepresented.
- **Visualization of specific genomic regions:** Visualization of results (i.e. sequencing data, peaks) at specific genomic regions (e.g. genes, promoters) for each cell subpopulations in publication-ready images (human, mouse, rat).

Additional information

その他の注意事項

For sample preparation and sample shipment it is mandatory to follow Diagenode's guidelines. If customer samples do not meet Diagenode's quality requirements, any additional QC of new samples will be charged to the customer. Any delay in sample shipment to Diagenode's facilities might result in delaying customer's project.

サンプル調製・送付については必ず弊社のガイドライン(別紙「Single Cell ATAC-seq 解析 サンプル調製・送付ガイドライン」)に従ってください。ご提供いただいたサンプルの品質が基準に満たない場合、再度新しいサンプルをご提供いただき追加の品質確認を行います。再提供および品質確認にかかる追加料金はお客様負担となります。弊社施設へのサンプル提供の遅れは、納期に影響する可能性がございます。

Generated files will be available for download during 1 month and stored for an additional period of 3 months on Diagenode's servers. Additional long-term storage of data is available upon request. This offer includes a one hour call to walk you through the results if needed.

解析結果データは弊社 WEB サイトよりダウンロード可能です。解析終了後、Diagenode SA (ベルギー) よりログイン及びダウンロード方法についてご連絡いたしますので、1 か月以内にダウンロードをお願いいたします。また、予備期間として 3 か月間はサーバー上に保存されていますが、それ以降は削除されますので、長期間の保存を希望される場合は早めにご連絡ください。必要であれば解析結果について Diagenode SA(ベルギー) の担当者として 1 時間通話することもできます(アポイントメント後、英語でのご説明となります)。

Original samples are stored at Diagenode during 12 months after project completion, but will be discarded once this time is exceeded. Return shipment of samples is available upon request.

お客様からお預かりしたサンプルは弊社施設にて解析終了から 12 か月間保管した後、順次廃棄いたします。お客様のご要望に応じて、サンプルのご返却も可能です(追加費用がかかります)。

Any additional service which is beyond the current project scope will be charged to the customer.

ご依頼いただいた内容の範囲外となる追加サービスの料金はお客様負担となります。