

Quantité requise

Type de librairies	Matériel	Kit utilisé	Quantité de matériel	Volume approx.	Évaluation de la qualité par l'utilisateur
Whole-genome seq	ADNg	KAPA Library preparation	100 ng- 1 µg*	55 µl	L'ADNg doit être mis sur gel d'agarose 1% pour confirmer l'intégrité. Une photo du gel doit être envoyée. Voir plus bas pour un exemple d'ADNg de haute qualité.
PCR-free	ADNg	Illumina PCR-free	1 µg pour insert de 350 pb ; 2 µg pour insert de 550 pb	55 µl	
Capture d'exome	ADNg	KAPA Library preparation; NimbleGen exome capture	100 ng- 1 µg*	55 µl	L'ADNg doit être mis sur gel d'agarose 1% pour confirmer l'intégrité. Une photo du gel doit être envoyée. Voir plus bas pour un exemple d'ADNg de haute qualité.
Methyl-Seq	ADNg	Agilent SureSelectXT Human Methyl-Seq	2-4 µg	55 µl	L'ADNg doit être mis sur gel d'agarose 1% pour confirmer l'intégrité. Une photo du gel doit être envoyée. Voir plus bas pour un exemple d'ADNg de haute qualité.
ChIP-Seq	ADN ChIP-enrichi	KAPA Library preparation	1-5 ng*	~55 µl	L'analyse par qPCR est fortement recommandée pour confirmer l'enrichissement. L'ADN de l'input et du ChIP doit être mis sur gel d'agarose 1% et doit être envoyé afin de confirmer une bonne fragmentation (200-600pb)
criblage de CRISPR	amplicon de PCR	PCR amplicons with custom primers	5-50 ng/µl	10 µl	Vous pouvez mettre vos amplicons de PCR sur gel d'agarose pour s'assurer de la longueur du produit.
PCR-Seq	amplicon de PCR	Nextera, Miseq only	5-50 ng/µl; > 300 pb	10 µl	Vous pouvez mettre vos amplicons de PCR sur gel d'agarose pour s'assurer de la longueur du produit.
mRNA-Seq	ARN total	KAPA stranded RNA-seq Library preparation	500 ng-4 µg*	55 µl	
rRNA-déplété RNA-Seq	ARN total	Ribo-Zero; KAPA Library prep	1-5 µg	55 µl	
miRNA/smallRNA-Seq	ARN total	SeqMatic	10-100 ng ARN total ou miRNA isolé	15 µl	Il est critique de ne pas utiliser des colonnes de purification qui enlèvent les fragments de <100nt. Soyez certain que l'isolation de l'ARN garde les micro et les petits ARN (e.g MirVana)
smallRNA-Seq	ARN total	Illumina TruSeq SmallRNA	1 µg ARN total ou 10-50 ng smallRNA isolé	15 µl	Il est critique de ne pas utiliser des colonnes de purification qui enlèvent les fragments de <100nt. Soyez certain que l'isolation de l'ARN garde les micro et les petits ARN (e.g MirVana)
Capture de lncRNA	ARN total	KAPA stranded RNA-seq; NimbleGen lncRNA capture	100ng- 1ug	55 µl	

*La quantité peut être beaucoup plus faible mais la complexité sera atteinte. Aussi, aucun backup ne sera gardé au cas d'un échec de la librairie ou d'un séquençage. Par contre, des librairies d'ARNm réussies ont été faites avec aussi peu que 10ng d'ARN total. Des librairies de ChIP-seq ont été réussies à partir de 250 pg d'ADN ChIP. L'ADNg de haute qualité peut être utilisée à 1-10ng.

Tous les échantillons doivent être ressuspendu dans de l'eau nucléase-free. Les échantillons doivent être soumis dans des tubes 1.5ml clairement identifiées avec le nom de l'échantillon et le numéro de projet DSP.

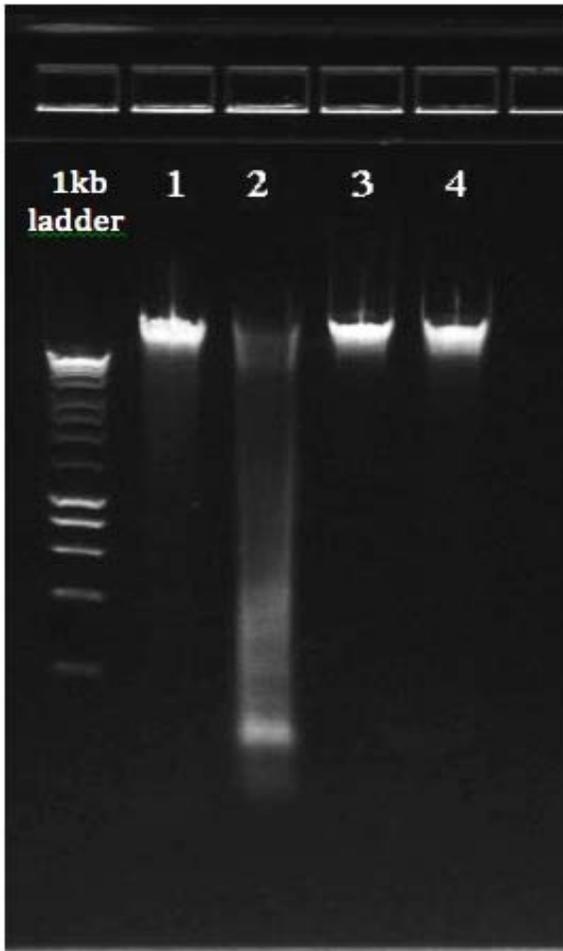
Qualité requise

Pour l'ARN, un RIN>8 est fortement suggéré pour s'assurer d'une bonne qualité (pour les plantes et les tissus FFPE, le RIN peut être plus faible). Les librairies provenant d'ARN partiellement dégradé doit être préparé avec un protocole de déplétion ribosomale pour éviter les biais en 3' d'un enrichissement polyA. Au nanodrop, le ratio 260/280 doit être autour de 1,8-2,1 et le ratio 260/230 au dessus de 1,5. Des valeurs à l'extérieure de ce spectre indique une contamination.

Pour l'AND, le gel d'agarose doit montrer un AND de haute qualité. Au nanodrop, le ratio 260/280 doit être autour de 1,8-2,0 et le ratio 260/230 au dessus de 2,0

Notez que le nanodrop surestime fréquemment la concentration d'AND et d'ARN.

Tous les échantillons doivent passer un contrôle de qualité sur le nanodrop, QuBit et BioAnalyzer. Les librairies sont quantifiées au QuBit, mises sur BioAnalyzer, diluées à 10nM et normalisées par quantification qPCR de KAPA.



Les colonnes 1, 3 et 4 présentent de l'ADNg de haute qualité.
La colonne 2 montre des signes de dégradation

Lane 1, 3, 4 shows high quality gDNA.
Lane 2 shows signs of degradation.