

仕 様 書

1. 業 務 名 次世代シーケンサーを用いたカラマツ、グイマツおよびハイブリッドカラマツの遺伝子発現解析業務 一式
2. 業務概要 次世代シーケンサー（イルミナ社 NovaSeq6000）を用いて、カラマツ、グイマツ、ハイブリッドカラマツの針葉に関する遺伝子発現解析を行う。
3. 作業内容 提供サンプル：total RNA（54 検体）

I. 品質検査

下記項目について、提供する RNA の品質検定を行うこと。

- (1) RiboGreen 試薬を使用し、Perkin Elmer ARVO x 2 を用いて濃度測定
- (2) Agilent BioAnalyzer または Tapestation での測定による品質確認
RNA の品質検定における合格の基準は下記の通りとする。
 1. RNA 量 1 μ g 以上
 2. RNA 濃度 20ng/ μ l 以上
 3. RIN 値 7.0 以上
 4. rRNA 比 1.0 以上

II. シーケンスライブラリーの作製及び品質確認

RNA の品質検定に合格したサンプルについては、以下の項目について次世代シーケンサーによるシーケンス解析のためのライブラリーの作成と調整を行うこと。

- (1) イルミナ社 TruSeq stranded mRNA ライブラリー調整キットを用いたライブラリーの作成及び調整
- (2) Agilent バイオアナライザーまたは Tapestation によるライブラリーのサイズ確認
- (3) 定量的 PCR によるライブラリーの定量

III. 次世代シーケンサーによるデータ取得

イルミナ社 NovaSeq6000 を使用し、下記の条件でシーケンス解析を行うこと。

- (1) シーケンス方法 : ペアエンドシーケンス
- (2) 検体数 : 54 検体
- (3) 所得データ量 : 各 4Gbp \times 54(検体)
- (4) 読み取り塩基長 : 100 塩基(両鎖解析)/1 リード

IV. データ解析

上記III. で得られた解析生データについては、下記に挙げる情報処理を実施すること。

- (1) Bcl ファイルを bcl2fastq で Fastq ファイル(生データ)に変換する。
- (2) 生データの概要を作成する。(総塩基数、リード数、GC(%), Q20(%), Q30(%)等)

4. 納品データ

成果物として、上記IIIにより得たデータを新規 HDD に入れてウイルスチェックを行なった上で納入する。また、納入にあたっては、書面により、その旨を報告する。

5. 納品場所 北海道江別市文京台緑町 561-1
国立研究開発法人 森林研究・整備機構
森林総合研究所林木育種センター
北海道育種場

6. 納 期 令和元年12月26日(木)

7. その他

- 1) サンプルは、解析受託機関の担当者又は代理人が直接引き取り預かること。
- 2) サンプルの品質チェックを行い、サンプルに問題が有り、再チェックを行う必要が有る場合は、1回までは無料とする。また、業務実施に際して疑義が生じた場合は、森林総合研究所林木育種センター北海道育種場担当者に速やかに連絡し、その指示に従うこと。
- 3) サンプルに問題があった状態で実験を行い、製作したライブラリーの品質が依頼するメーカーの基準に満たない場合、2回目のライブラリー製作には別途契約を行う。
- 4) サンプルに問題有り、依頼するメーカーの基準に適合していない状態で、担当者の同意の下で実験を行った場合、その実験結果についてメーカーは責任を負わないこととする。
- 5) 解析受託機関はイルミナ社 **Propel** 認証を受けていること
- 6) 業務期間中、解析内容に関して協議が必要になった場合は解析を担当する技術者若しくは代理人が翌営業日までに来所し、打ち合わせを行うこと。

以上