

仕 様 書

調達物品の名称 及び数量	マウス由来 DNA サンプルのウルトラロングリードシーケンシング解析一式
納期	2025 年 3 月 26 日
納入場所	〒732-0815 広島県広島市南区比治山公園 5 番 2 号 公益財団法人放射線影響研究所 TEL:082-261-3131 FAX:082-261-3135
項 目	要 求 仕 様
1. 概 要	マウス由来組織より DNA 抽出、ライブラリー調製を行い、オックスフォード・ナノポア社のシーケンサーを用いてウルトラロングリード法により塩基配列の解析データを得る。
2. 作業内容	<p>(1) 要求者が送付したマウス由来組織 4 検体から、ウルトラロングリード解析用 DNA 抽出キットを用いて、DNA を調製する。</p> <p>(2) 得られた DNA を用いてウルトラロングリード用ライブラリー調製キット (Oxford Nanopore Technologies (SQK-ULK114)) を用いてライブラリーを作成する。マウス由来組織 1 検体分の DNA あたり 1 フローセル分のライブラリーを作成する。合計でマウス由来組織 4 検体分の DNA から 4 フローセル分のライブラリーを作成する。</p> <p>(3) 得られたライブラリーを用いて、オックスフォード・ナノポア社の PromethION シーケンサーと R10.4.1 フローセル (FLO-PRO114M) を用いて 4 フローセル分のシーケンスを行う。1 つのフローセル当たり 30 GB 以上のロングリードの塩基配列データ (POD5 ファイル) を得る。</p> <p>(4) POD5 ファイルより、Guppy version 6.3 以降または dorado を用いて、Super accuracy model (sup) によりベースコールされた配列データ (fastq ファイル) を得る。</p> <p>(5) pod5 ファイルより megalodon または dorado を用いて、Super accuracy model (sup) により CpG の 5mC を含むベースコール、マウス参照ゲノム配列 (GRCm38/mm10) へのマッピング、フェージング解析を行う。メチル化状態とフェージング情報を含む bam ファイルを作成する。</p> <p>(6) 上記 (1) を実施するに当たって、まず要求者が送付した 1 検体分のマウス由来組織からの DNA 抽出とライブラリー調製、PromethION シーケンサーを用いて 1 フローセル分のシーケンスを行い、その実施状況を報告すること。PromethION シーケンサーにより出力される結果がフローセル当たり 30 GB に達しなかった場合には、担当者と協議のうえ対応を決定すること。</p>
3. 納品物	(1) 塩基配列データ (fast5 ファイルまたは pod5 ファイル、fastq ファイル)、マッピング結果ファイル (bam ファイル)。

	<p>(2) シーケンス解析結果の報告書(PDF ファイル)</p> <p>(3) 上記はハードディスクまたはクラウド(納品を証明する書類を提出する)で納品するものとする。</p> <p>(4) 業務完了報告書</p>
4. 納入完了の確認方法	上記の仕様内容を満たしていることを要求者により確認する。
5. その他	<p>(1) 実施者は PromethION システムについて、その開発・販売元である Oxford Nanopore Technologies 社より認定サービスプロバイダーの資格を取得し、同システムを用いた受託サービスの許諾を受けていること。</p> <p>(2) サンプルの受け渡し方法等については、担当者と別途打合せを行う。</p> <p>(3) 本業務で得られた情報は、無断で使用・公開したり、第三者への提供を行わない。</p> <p>(4) サンプルの品質確認や作業過程において問題が生じた場合は速やかに担当者に報告し、対策を協議すること。</p> <p>(5) 作業内容に変更がある場合には、担当者と別途打合せを行うこと。</p> <p>(6) 解析結果に関わる知的所有権はすべて発注者側に帰属する。</p> <p>(7) 本仕様書に定めのない事項に際し疑義が生じた場合は、その都度担当者と協議のうえ業務を遂行し、軽微なものについてはその指示に従う。</p> <p>(8) 当研究所は受託者に対し、委託業務の実況等に関し、随時に書面または口頭による報告を求めることができる。</p> <p>(9) 解析にかかる費用や送料にかかる費用等、本業務実施に要する全ての費用を含むものとする。</p>