



Pure bacterial culture থেকে RNA-Seq: sample প্রস্তুতি ও প্রেরণ

নির্দিষ্ট condition-এ bacterial gene expression (DEG, stress, virulence, antibiotic response) বিশ্লেষণের জন্য culture থেকে cell pellet সংগ্রহ, RNAlater-এ সংরক্ষণ ও BD Genomes-এ পাঠানোর নির্দেশিকা।

Pure bacterial culture থেকে RNA-Seq-এর উদ্দেশ্য হলো নির্দিষ্ট condition-এ gene expression profile, differentially expressed genes (DEGs), stress response, virulence, antibiotic response ও metabolic pathway বিশ্লেষণ করা।

সুপারিশকৃত: Pure culture → cell pellet → RNAlater → BD Genomes

বিকল্প: Pure culture → RNA extraction → DNase treatment → high-quality RNA → BD Genomes (আগে আমাদের সঙ্গে নিশ্চিত করুন)

1. Experimental design

- আগে থেকেই group ঠিক করুন, যেমন Control → C1, C2, C3; Treatment → T1, T2, T3।
- প্রতিটি group-এ কমপক্ষে 3টি biological replicate রাখুন।
- সব replicate একই growth condition ও একই growth phase-এ সংগ্রহ করুন।

2. প্রয়োজনীয় materials

Pure bacterial culture, sterile culture tube/flask, RNase-free microcentrifuge tube, RNAlater solution, sterile tips, disposable gloves, ice/cooler, 70% ethanol, RNase decontamination solution, permanent marker ও label।

3. Culture প্রস্তুতি

- নির্ধারিত experimental condition অনুযায়ী culture grow করুন।
- Control ও treatment-এর সব condition একই রাখুন; শুধু experimental variable পরিবর্তন করুন।
- নির্ধারিত growth phase-এ culture সংগ্রহ করুন এবং প্রতিটি replicate আলাদাভাবে process করুন।

4. Cell harvesting ও RNAlater-এ সংরক্ষণ

- প্রয়োজনীয় পরিমাণ culture sterile tube-এ নিয়ে centrifuge করে pellet সংগ্রহ করুন।
- Supernatant সাবধানে ফেলে দিন; pellet যেন নষ্ট না হয়।
- দেরি না করে pellet-এর উপর পর্যাপ্ত RNAlater দিন, যাতে pellet সম্পূর্ণ ডুবে থাকে।
- Cap শক্ত করে বন্ধ করে কয়েকবার আলতোভাবে উল্টে মেশান এবং label আবার যাচাই করুন।

5. সংরক্ষণ ও পরিবহন

- স্বল্পমেয়াদি: 4 °C; দীর্ঘমেয়াদি: -80 °C (জোরালোভাবে সুপারিশকৃত)। বারবার freeze-thaw এড়িয়ে চলুন।
- পাঠানোর সময় cooler box ও ice pack ব্যবহার করুন, রোড এড়িয়ে চলুন এবং যত দ্রুত সম্ভব পাঠান।

6. নিজে RNA extraction করলে (Option B)

Workflow: culture → cell harvesting → total RNA extraction → DNase treatment → RNA quality check → BD Genomes। RNA অবশ্যই intact ও high quality হতে হবে এবং cold chain বজায় রাখতে হবে।

Parameter	লক্ষ্যমাত্রা
A260/A280	প্রায় 1.9–2.1
A260/A230	2.0-এর বেশি হলে ভালো
RIN	7 বা তার বেশি
Genomic DNA	DNase treatment-এর পর নেই

Bacterial total RNA-তে rRNA অনেক বেশি থাকে, তাই library preparation-এর আগে rRNA depletion করা হয়। চূড়ান্ত acceptance criteria library protocol অনুযায়ী ভিন্ন হতে পারে।

7. Sample labeling

প্রতিটি টিউবে লিখুন: Sample ID, bacterial species/strain, treatment/condition, culture medium, growth condition ও phase, সংগ্রহের তারিখ/সময়, replicate। উদাহরণ: **AJ01_Control_R1**, **AJ04_Antibiotic_R1**।

8. গুরুত্বপূর্ণ বিষয়

- ✓ একই strain, একই medium এবং একই growth phase ব্যবহার করুন
- ✓ Control ও treatment একই সময়ে, একই condition-এ process করুন
- ✓ কমপক্ষে 3টি biological replicate রাখুন
- ✓ Antibiotic/stress treatment হলে সঠিক concentration ও exposure time লিখে রাখুন
- ✓ RNase-free materials ব্যবহার করুন; দ্রুত harvest ও preserve করুন
- ✓ Pellet সম্পূর্ণ RNAlater-এ ডুবিয়ে রাখুন; দীর্ঘমেয়াদে -80°C

Questions before sending samples? WhatsApp / phone +880 1308-222824 · bdgenome@yahoo.com ·
bdgenomes.com/guides/bacterial-rna-seq/