


N°: 20200109_RT01 Version : 01 Date : 15/01/2020	Recommandation Technique PFMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Valeur seuil du RIN	
Demandeur	AURAGEN	
		Page 1/4

1 OBJET

Détermination d'une valeur seuil du RIN (RNA Integrity Number) acceptable pour qualifier l'intégrité des ARN d'un échantillon pour obtenir un résultat de séquençage fiable.

Réponse à la demande émanant de la plateforme AURAGEN en date du 20/12/2019.

2 DOMAINE D'APPLICATION

Cette recommandation s'applique aux échantillons d'ARN issus de tissus frais ou congelés à des fins d'utilisation en séquençage transcriptomique.

Cette recommandation ne s'applique pas aux échantillons extraits à partir de tissu fixé (ex : FFPE).

La valeur du RIN est donnée par les appareils de la société Agilent.

Pour information : on peut trouver d'autres métriques telles que le RQI (RNA Quality Indicator : Bio-Rad), RQS (RNA Quality Score : PerkinElmer), RQN (RNA Quality Number : Agilent) utilisées sur d'autres types d'appareils.

3 DÉFINITION


Le RIN est une valeur obtenue à partir d'un algorithme basé sur plusieurs paramètres de migration électrophorétique (intensité et aire du signal, rapport, ...) des différentes régions et pics des ARN totaux comme la région 5s, la région précurseur, les pics 18s et 28s, etc.

Cette valeur a été proposée par la société Agilent dans le but de standardiser et de faciliter le contrôle de l'intégrité des échantillons ARN intra et inter laboratoires.

L'échelle de valeurs est comprise entre 1 et 10.

4 RÉSUMÉ

Valeur	Recommandation
RIN \geq 8	Recommandé
$7 \leq$ RIN <8	Possible
$5 \leq$ RIN <7	Possible avec précaution
RIN < 5	Non recommandé

N°: 20200109_RT01 Version : 01 Date : 15/01/2020	Recommandation Technique PFMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Valeur seuil du RIN	
Demandeur	AURAGEN	
		Page 2/4

5 RÉPONSE

5.1 Préambule et limites

La valeur du RIN est un des critères permettant d'évaluer la qualité de l'échantillon mais il faut prendre en compte aussi la concentration et les rapports de densité optique.

Pour rappel :

- La valeur du RIN ne donne pas d'information directe sur la présence d'inhibiteur de réaction d'amplification ou sur la présence de traces de solvants.
- Selon Agilent, une concentration inférieure à 25 ng/μL ne permet pas d'obtenir une valeur de RIN fiable.
- Il est nécessaire de traiter les échantillons à la DNase afin d'éviter les artéfacts de dosage et de purifier par passage sur colonne les échantillons après traitement.

Pour information, il semble que les valeurs seuils du RIN recommandées dépendent des protocoles choisis et des fournisseurs.

5.2 RIN ≥ 8


Tout échantillon avec une valeur de RIN supérieure à 8 et possédant les critères qualités cités ci-dessus (rapports de DO, concentration) est qualifié pour le séquençage.

Cette valeur est recommandée par les fournisseurs de librairies de séquençage pour les ARNm et sur le retour d'expérience du CNRGH (Centre National de Recherche en Génomique Humaine).

5.3 $7 \leq \text{RIN} < 8$

Tout échantillon avec une valeur de RIN comprise entre 7 et 8 et possédant les critères qualités cités ci-dessus (rapports de DO, concentration) est utilisable pour le séquençage.

Cette valeur est basée sur le retour d'expérience du CNRGH avec les protocoles d'Illumina, TruSeq Stranded mRNA-seq et TruSeq stranded total RNA GOLD sur plusieurs centaines d'échantillons.

N°: 20200109_RT01 Version : 01 Date : 15/01/2020	Recommandation Technique PFMG 2025	 CRefIX France Médecine Génomique 2025
Sujet	Valeur seuil du RIN	
Demandeur	AURAGEN	
		Page 3/4

5.4 $5 \leq \text{RIN} < 7$

Tout échantillon avec une valeur de RIN comprise entre 5 et 7 et possédant les critères qualités cités ci-dessus (rapports de DO, concentration) peut être considéré comme utilisable pour le séquençage moyennant des précautions supplémentaires.

En effet ces valeurs indiquent une dégradation partielle des ARN et selon le CNRGH, cette dégradation a un impact sur la qualité des résultats de séquence (rendement de préparation des librairies plus faible, risque d'échec de la préparation de librairie plus important, taux de duplicata plus élevé, taille des inserts plus petite, etc.).

Il faudra vérifier :

Avant de préparer la librairie :

- Le profil de migration ;
- Les dosages ;
- Le type d'extraction utilisée.

Avant le dépôt sur séquenceur :

- Le rendement et le profil des librairies selon les recommandations des fournisseurs.

5.5 $\text{RIN} < 5$

Tout échantillon avec une valeur de RIN inférieure à 5 et possédant les critères qualités cités ci-dessus (rapports de DO, concentration) est considéré comme non utilisable selon le retour d'expérience du CNRGH.

6 RÉFÉRENTIELS


Les recommandations sont en adéquations avec celles de l'International Agency for Research on Cancer: "RNA is considered to be of high quality when the RIN value is ≥ 7 . RNA with RIN values of 5 and 6 may be considered acceptable".

- Common minimum technical standards and protocols biobanks dedicated to cancer research, IARC technical publication no. 44, 2017.
- MIQE Guideline, 2009.

7 DOCUMENTS, PROTOCOLES

DOCUMENTS

- RNA Integrity Number (RIN) Standardization of RNA Quality control, 2004.
- "The RIN: An RNA integrity number for assigning integrity values to RNA measurements". Schroeder et al., 2006.

N°: 20200109_RT01 Version : 01 Date : 15/01/2020	Recommandation Technique PFMG 2025	 France Médecine Génomique 2025
Sujet	Valeur seuil du RIN	
Demandeur	AURAGEN	
Page 4/4		

- “Towards standardization of RNA quality assessment using user-independent classifiers of microcapillary electrophoresis traces” Imbeaud et al., 2005.
- “Comparison of relative mRNA Quantification models and impact of RNA integrity real time RT-PCR”, Fleige et al., 2006.

PROTOCOLES

- Illumina, Truseq Stranded mRNA (Document # 1000000040498 v00).
- Illumina, TruSeq Stranded Total RNA (Document # 1000000040499 v00).
- Agilent, SureSelect Strand-specific RNA Library Prep for Illumina Multiplexed Sequencing (mRNA) (Protocol Version E0, March 2017).

8 LIMITE DE LA RECOMMANDATION

Cette recommandation est issue des différents fournisseurs, de la littérature et de l’expérience du CNRGH.

9 HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

<i>Version</i>	<i>Date</i>	<i>Nature de la modification</i>
V01	15/01/2020	Revue et correction
V00	09/01/2020	Création

10 VALIDATION DU DOCUMENT

RÉDACTEURS	RELECTEURS
Nom : Alice Moussy, Edouard Turlotte	Nom : Violette Turon, Jean-François Deleuze, Anne Boland, Robert Olaso, Delphine Bacq
Fonction : Ingénieur Chercheur	Fonction :
Date : 15/01/2020	Date : 16/01/2020
Visa :	Visa :