

5. セルフ・ランの場合 (3,000円/1 ラン : 16サンプル)

このたび当方ではABIジェネティックアナライザを一台増設しましたので、旧機を「セルフ・ラン」方式による共同利用機として試験的に開放します。ただし、50cm キャピラリーで泳動しますので、解析時間60~90分 (1ラン) 解読鎖長は 500b ~ 600b です。利用される方は初回のセルフ・ランを行う前に必ず講習を受けてください。

- ・ 酵素反応には、Applied Biosystems 社の BigDye Terminator v3.1/1.1 Cycle Sequencing Kit をご使用下さい。
- ・ 波形データとテキストデータは泳動終了後~翌日にメールでお送りします。

● 利用講習申し込み方法

cgswww@hiroshima-u.ac.jp 宛に「3130xl利用講習希望」の件名で (1)受講者氏名、(2)受講者所属・身分、(3)利用申請者 (実験責任者)、(4)利用申請者所属、(5)受講希望日時を記入してメールをお送りください。確認のメールを返送します。

- 利用できる時間 : 月~金, 9時~15時

● 利用方法

1. 「研究機器の予約」 (<http://www.hiroshima-u.org/0800kikiyoyaku.htm>) のページで、使用時間の予約をする。
2. 利用予定日の前日までに「DNA塩基配列決定サービス 申し込みフォーム」 (<http://www.hiroshima-u.org/0901dnaform.htm>) のページに必要事項 (利用予定時間も含む) を入力し、依頼内容を送信する。
3. 担当者からの受付メールを確認し、当日泳動する。

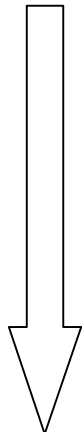
● その他注意点

原則として、技術員 (彦坂) の勤務時間内で、講習を受けた方のみの利用とさせていただきます。不適切な操作が原因で機器が使用不能になった場合には、修理費等の負担をお願いすることになります。機器は細心の注意を払ってご利用くださるようお願いいたします。

● セルフ・ラン用サンプル調製法

・ 酵素反応には、Applied Biosystems 社の BigDye Terminator v3.1/1.1 Cycle Sequencing Kit をご使用下さい。

- 1) 酵素反応後の精製・乾燥済みサンプルに、Hi-Di Formamide (ABI: P.N.4311320) を 20 μ l 加えて溶かします (注1)。
- 2) 95 $^{\circ}$ C で 2 分加熱後、氷中で 5 分急冷します。
- 3) 2) のサンプル溶液を当方指定の 96 ウェルプレートに 10 μ l ずつ入れてください。入れる順番は、A1 \rightarrow H1 の方向へお願いします (下図参照)。



行/列	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	サンプル 1	サンプル 9	・									
B	サンプル 2	サンプル 10	・									
C	サンプル 3	サンプル 11	・									
D	サンプル 4	サンプル 12										
E	サンプル 5	サンプル 13										
F	サンプル 6	サンプル 14										
G	サンプル 7	サンプル 15										
H	サンプル 8	サンプル 16										

- 4) 再泳動に備えて、残りのサンプル溶液は-20 $^{\circ}$ C で保管してください。
- 5) プレートはセプタでカバーし、氷冷して、センターの 3 階、研究室 3 までお持ち下さい (注2)。

●その他

(注1) Hi-Di Formamide は、一回で使い切る量をチューブに小分けして-20 $^{\circ}$ C で凍結保存してください。何度も凍結融解を繰り返すと蟻酸が生じ、泳動条件が悪化します。

(注2) Hi-Di Formamide に溶解したサンプルを保存する場合には、-20 $^{\circ}$ C でお願いします。保存後 1 ヶ月程度は解析可能なピークが得られます。

*XTerminator で精製する場合には、ご相談ください。

◎お願い

・DNA サンプルやカスタムプライマーの純度、配列の特殊性によってはシーケンスが決定できない場合があります。この場合、当方では責任を負いかねますのでご了承下さい。また、通常の解析においても配列中に不確定塩基(N)が生じる場合がありますが、それ以上の解析は致しかねます。

・DNA サンプルやプライマーの良否に関わらず、停電や機器異常等によるトラブルについては無料で再度シーケンス作業を行います。

・データの納期は、泳動の翌日としますが、場合によっては多少の遅延がでることがありますので、ご容赦下さい。

◎その他

センター登録、サービス内容等に関するご質問は以下にお問い合わせ下さい。

E-mail:cgswww@hiroshima-u.ac.jp

内線：3060（彦坂）または 6273（北村・田中）