

サンプルの調製について

広島大学 自然科学研究支援開発センター 遺伝子実験部

2019年11月

<依頼測定>

1. 泳動+解析の場合 (300円/1サンプル)

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。反応済みのサンプルは、精製・乾燥後、遮光してお持ち下さい。BigDye X Terminator やスピнкаラム等で精製される場合にはご相談ください。

2. 精製+泳動+解析の場合 (500円/1サンプル)

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。反応後のサンプルチューブをそのまま氷冷してお持ち下さい。

3. 反応+精製+泳動+解析の場合 (1000円/1サンプル)

カスタムシーケンスプライマーを使用する場合は、濃度を $5\mu\text{M}$ に調整したものをDNAサンプルと同時にご持参もしくは送付下さい。DNAサンプルは、PEG沈澱、カラム精製、超遠心分離などによって精製し、アガロース電気泳動または OD_{260} 値を測定するなどして濃度と純度をご確認ください。DNAサンプルおよびプライマーは、TEではなく H_2O に溶かし、濃度と量はなるべく以下のように調製して下さい。二次構造が予想される場合には専用キットを使用しますのであらかじめお知らせください。

	濃度	1サンプルあたりの必要量	精製方法
プラスミドDNA	200ng/ μl	5~10 μl	PEG沈澱、簡易カラム精製もしくは塩化セシウム-臭化エチジウム超遠心分離によって精製したもの。
PCR産物	50ng/ μl	5~10 μl	PCRプライマーおよび遊離ヌクレオチド除去のため、簡易カラム精製かアガロースゲル抽出を行ったもの。
プライマー	5 μM (5pmol/ μl)	5~10 μl	—

以下のプライマーは当方で準備しています。配列をご確認の上ご指定ください。これら以外の個別カスタムプライマーによる配列決定を希望される場合には、サンプルとともにプライマーをこちらにお送り下さい。

プライマー	配列	ベクター
M13 Forward	5'-GTTGTAACGACGGCCAGT-3'	・pUC、pBlue、pGEM系などのプラスミドベクターに共通
M13 Reverse	5'-GGAAACAGCTATGACCATGA-3'	・pGEM系などのプラスミドベクターに共通
SP6	5'-CATACGATTTAGGTGACACTATAG-3'	・pBlue、pGEM系などのプラスミドベクターに共通
T3	5'-AATTAACCCTCACTAAAGGG-3'	
T7	5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3'	

4. シェアランの場合 (2800円/1ラン：16サンプル)

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。反応済みのサンプルは、精製・乾燥後、遮光してお持ち下さい。詳細は「セルフランサンプル調製法」をお読みください。フラグメント解析の場合には事前にご相談ください。

<相互利用>

5. セルフランの場合 (2000円/1ラン：16サンプル)

セルフランを行う前には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。反応済みのサンプルは、精製後、遮光してお持ち下さい。詳細は「セルフランサンプル調製法」をお読みください。フラグメント解析の場合には事前にご相談ください。

◎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。通常は必ず DNA シーケンススタンダードを作成し、同時に解析することで一連のシーケンス作業に問題がないかを確認めます。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。セルフランの場合には再泳動を行っていただきます。

・データの納期は、サンプル DNA 受け入れから1週間以内としますが、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(at)hiroshima-u.ac.jp (at)を‘@’に修正してお送りください。

内線：4630 (彦坂/山口)