

DNA シークエンス受託解析－SeqStudio Genetic Analyzer での解析

SeqStudio Genetic Analyzer での受託解析を下記の要領で行います。

記

ADRES（樽味）管理室まで、シーケンス反応終了後の蛍光色素除去処理済みのサンプル、あるいは、フラグメント解析の反応後、処理済みサンプルを **14 時まで** に持ってきてください。センタースタッフに以下の事項をメール (kobayasi@agr.ehime-u.ac.jp) するか、直接伝えてください。

サンプルはスタッフが専用プレートに分注します。マイクロチューブ等にいったものをお渡しください。

- ・所属および指導教官
- ・依頼者名
- ・サンプル名と数量（チューブにサンプル名を明記：できるだけ簡単な記号や数字で）
- ・BigDye のバージョン（Ver.1.1 か Ver.3.1 か；Ver.3.1 推奨）
- ・希望する解析方法（Short, Medium, Long など）

その他、以下の注意事項をよくよんでご依頼ください。

わからないことがありましたら、ADRES（樽味）スタッフにお尋ねください。

- 1) SeqStudio Genetic Analyzer による解析はプログラムによって時間と読める長さが以下の通り、

SortSeq（解析時間 30 分）_350bp

MediumSeq(解析時間 45 分)_500bp

LongSeq(解析時間 120 分)_700bp

特に指定が無い場合は、LongSeq とします。

- 2) BigDye Cycle Sequencing Kit ver.3.1 推奨。

- 3) BigDye ReactionMix は専用の希釈液にて **16** 倍以上希釈し反応を行ってください。

濃度が高いとキャピラリーの寿命が短くなり、その後のサンプルの解析に悪影響が出ます。

- 4) サイクルシーケンス反応終了後、アプライドバイオシステムズジャパンの推奨するプロトコルに従って蛍光色素除去を行ってください。エタチンメイト等の沈殿補助剤は使用しないでください。

- 5) シークエンスサンプルを、HiDi Formamid 15 μ l に溶解し、加熱急冷した後、マイクロチューブに置いて ADRES(樽味)管理室へ渡してください。サンプルプレートへの分注は、スタッフが行います。

- 6) アドレスを覚えてもらえればメールでファイルを送ります。

- 7) フリーのソフトウェア (Chromas Lite: http://technelysium.com.au/?page_id=13 など) を自身のパソコンにダウンロードして使用ください。解析結果を表示することができます。再解析はセンターのパソコンでなければできません。

以上

ReactionMix の希釈

希釈は専用の ABI 5X Sequencing Buffer など市販品をお使いください。下記のようなバッファーを使って希釈することもできますが、結果を保証するものではありません。H₂Oでの希釈では長いシーケンス解析はできません。

80mM Tris-HCl(pH9)-2 mM MgCl₂

ReactionMix 8 μ l 加えるところを減らした分だけ加える。ReactionMix を 1 μ l (8 倍希釈) なら 7 μ l 加える。

SeqStudio Genetic Analyzer 解析依頼シート

依頼日	年 月 日	備考
所属		
指導教官名		
依頼者名		
データ送付先 E-mail		
サンプル数量	個	
サンプル名		※サンプルが多い場合は、別途サンプル名を記載した Excel ファイルをお送りください。
BigDye のバージョンと 希望する解析機種・解析時間	☐ BigDy Ver.3.1・Short ☐ BigDy Ver.3.1・Medium ☐ BigDy Ver.3.1・Long ☐ BigDy Ver.1.1・Short ☐ BigDy Ver.1.1・Medium ☐ BigDy Ver.1.1・Long	精度 99.9%領域 Short : 350bp (30min) Medium : 500bp (45min) Long : 700bp (120min)