

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

◆解析の予約

前日までにセンタースタッフまで、シーケンズ反応終了後の蛍光色素除去済みのサンプル、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時頃**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するか直接伝えてください。

- ・依頼者名および所属または指導教官名
- ・サンプル名とサンプル数量
- ・BigDye のバージョン (Ver.1.1 もしくは Ver.3.1 (推奨)) および希望する解析方法 (Short,Medium,Long など)

※添付ファイルにて「解析依頼シート」をお送りくださっても結構です。

メールアドレス：kogoe.miki.vz@ehime-u.ac.jp

akiyama.koichi.mu@ehime-u.ac.jp

◆サンプルの準備

1) BigDye Cycle Sequencing Kit ver.3.1 を推奨。

Tomy DigitalBiology 社の QuatumSeq™ でも可

<https://www.digital-biology.co.jp/allianced/products/quantumseq/>

2) 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

特に指定がない場合は LongSeq とします。

3) BigDyeReactionMix 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) サイクルシーケンズ反応終了後、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。

4) シーケンズサンプルを HiDi Formamid 15μl に溶解し、加熱急冷した後、マイクロチューブに入れて管理室へ渡してください。

5) 学内便でサンプルを送付する場合は、チューブからの液漏れが無いようご注意ください。また発送時間によってはセンターに当日到着しない場合があります。

※サンプルは遮光凍結状態で1月程度は保存可能です。

6) アドレスを覚えてもらえればメールで解析結果を送ります。

7) 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、結果を保証の限りではありません。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 なら 1

×希釈バッファーを 7 μ l 加える。

◆解析

【ABI ジェネティックアナライザ 3130 解析依頼シート記入事項】

- ・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）
- ・希望する解析時間（Fast か Standard か）
- ・備考欄に結果送信を希望するメールアドレスをご記入ください

※サンプル数が多い場合は、予約メールに「解析依頼シート」を添付してください。

◆結果の送付

- ・結果送付日は、予約メールの返信の際にご連絡いたします。
- ・結果は 1 サンプルにつき拡張子.ab1 と.seq の 2 つのファイルをお送りいたします。解析が不可能であった場合は.ab1 ファイルのみになります。
- ・なお、印刷での結果送付は行っておりません。

◆料金

- ・料金は 1 サンプルにつき 400 円です。
- ・料金は 3 ヶ月毎に内部取引にて請求いたします。

その他、以下の注意事項をよく読んでご依頼ください。不明な点がございましたら、センタースタッフにお尋ねください。

拡張子.seq のファイルは、配列データです。Word やメモ帳等のソフトで開いてください。

拡張子.ab1 のファイルは、波形データです。Web 上に無償の波形解析ソフト

（ChromasLite や MEGA11 など）が数種類ありますので、適宜ダウンロードしてご利用ください。

DNA シーケンス解析依頼シート

依頼日	年 月 日	備考 (メールアドレス等)
所属		
指導教官名		
依頼者名		
サンプル数量	個	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。
サンプル名		
BigDye のバージョンと 希望する解析機種・解析時間	<input type="checkbox"/> Ver.3.1・ Short <input type="checkbox"/> Ver.3.1・ Medium <input type="checkbox"/> Ver.3.1・ Long <input type="checkbox"/> Ver.1.1・ Short <input type="checkbox"/> Ver.1.1・ Medium <input type="checkbox"/> Ver.1.1・ Long	精度 99.9%領域 Short;350bp(30min) Med;500bp(45min) Long;700bp(120min)