

関係各位

共同実験機器施設：分子生物・生化学系

担当：吉良・藪中（内線 3976）

## DNA シーケンス解析に関して

共同実験機器施設(16階)では、研究支援の一環として DNA シーケンス解析を依頼業務として実施しております。ご依頼の際は下記の要領に沿ってお願いいたします。

### <概要>

#### DNA シーケンス解析

テンプレート DNA とプライマーをお預かりし、シーケンス解析を行います。

DNA シーケンス反応・精製と泳動・解析の同時依頼となります。

#### DNA シーケサー泳動支援

##### ・シーケンス反応後精製

シーケンス反応済みのサンプルをお預かりし、エタノール沈殿による精製をします。

##### ・泳動・解析

精製済みサンプルの泳動・解析を行います。

### <依頼内容>

#### ・DNA シーケンス反応・精製

テンプレート DNA（プラスミドまたは PCR 産物）とプライマーは、下表を参考にして準備してください。（ピペティングが出来るように多めに準備してください）

1 反応あたりの必要量は下記のとおりです。

サンプル	必用量	注意点	
プライマー	3.2 pmol	・シーケンスグレード ・濃度は 1.6 uM 以上 ・Tm 値は 50°C 以上を推奨	
テンプレート DNA	プラスミド DNA	150~300 ng	・必要量が 10ul 以下に溶けている事 ・純度検定：260/280>1.6
	PCR 産物		
	100~200 bp	1~3 ng	・必要量が 10 ul 以下に溶けている事
	200~500 bp	3~10 ng	・切出し精製を推奨
	500~1,000 bp	5~20 ng	・電気泳動像の推定濃度でも可 (又は写真持参)
1,000~2,000 bp	10~40 ng		
>2,000 bp	20~50 ng		

### ・DNA シーケンス反応後精製

シーケンス反応後の反応溶液を持参してください。  
エタノール沈殿による精製を行います。

### ・泳動・解析

エタノール沈殿精製後、乾燥させた状態のサンプルを持参してください。  
解析装置を選択してください。

装置名		310	3130xl
1RUN あたり	サンプル数	1	16
	泳動時間	2.5 時間	2.5 時間
解析長		600～700bp	800～1,000bp
検出感度		低い	高い
特徴		弱い反応は解析できない場合がある	弱い反応でも良好に解析することができる

### <依頼方法>

下記①～④を依頼者本人（共同実験機器施設利用登録者）が 16 階共同実験機器施設まで持参してください。

- ① DNA シーケンス解析依頼申込書
- ② サンプル情報
- ③ テンプレート DNA とプライマー
- ④ データ保存用 USB メモリスティック（返却時でも結構です）

### <データの返却について>

原則としてお預かり後 2 日（休日を除く）です。詳しくは職員までお尋ねください。  
再解析が必要と思われる場合は、依頼者と相談のうえ行います。

### <依頼業務料について>

依頼業務料は四半期ごとに下表に従って請求いたします。

依頼内容	料金
DNA シーケンス反応・精製	500 円/サンプル
DNA シーケンス反応後精製	10 円/サンプル
泳動・解析（310）	240 円/RUN
泳動・解析（3130xl）	3,200 円/RUN



サンプル情報

受付番号

所属

氏名

	テンプレートDNA		プライマー		260/280	Plasmid DNA or PCR産物	サイズ (PCR産物の場合)
	名前	濃度 (ng/ul)	名前	濃度(Tm)			
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
17							
18							
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							
32							