

DNA シーケンス解析サンプルの調製方法についてのご案内

Ready-to-Load サンプル

【Ready-to-Load】は、お客様がご自身でシーケンス反応、精製、乾燥までの工程を実施していただいたサンプルを弊社へお送りいただき、弊社の DNA シーケンサーを利用して泳動（2H モードがデフォルトです）、データ取得、データ QC を実施させていただきますサービスとなります。なお、シーケンス反応は BigDye Terminator v3.1/v1.1 Cycle Sequencing kit をご利用いただいたサンプルのみに対応しております。なお、サンプル発送時には、乾燥状態のサンプルを遮光していただき、保冷剤同梱の常温輸送で弊社までご発送ください。ご発送時には午前着の指定をしていただきますようお願いいたします。

○96 well plate へのサンプル調製について：96 well plate を利用して DNA template を送付いただく際に、**1 plate あたり 94 サンプルまで**としてください。

○テンプレート DNA のサイズについて：配列解析の対象とする領域の長さではなく、テンプレート DNA の全長の長さとなります。

例：pUC57 (2710bp)のマルチクローニングサイトに 1000bp の DNA フラグメントが挿入されている場合は、3710bp がテンプレート DNA の長さとなります。

ご注意いただきたいこと

シーケンス反応後のサンプルの精製に“BigDye XTerminator™ Purification Kit”をご利用のお客様におきましては、以下のプロセスを必ず実施していただき、弊社へご発送いただくサンプルをご準備ください。上記キットに含まれるビーズが DNA シーケンサーに Load された場合、キャピラリーに対する悪影響となるため、ご協力をお願いいたします。

シーケンス反応後のサンプル 10 μ L に対し、キット付属の SAM 溶液 45 μ L および XTerminator 溶液 10 μ L を添加し、全量 65 μ L に調製していただけます。調製していただいたサンプルをキットの説明書に従いミキサーを用いた攪拌処理後に、**2 回の遠心分離により完全にビーズを取り除いていただけます**。具体的には以下のフローをご確認ください。精製状態が悪いと判断されたサンプルにつきましては、解析を実施させていただけない場合がございます。

攪拌処理後のサンプル

↓ 遠心分離 (Swinging-bucket centrifuge) 1000Xg, 5 min

ビーズを吸引しないよう Sup.を 45 μ L 回収し、新しい tube へ移します。

↓ 遠心分離 (Swinging-bucket centrifuge) 1000Xg, 5 min

ビーズを吸引しないよう Sup.を 20 μ L 回収し、新しい tube へ移します。

↓ 弊社サンプル発送ガイドラインに従ったラベルを Plate / Tube へご記入いただけます。

↓ アルミホイル等で完全に**遮光**してください。

調製いただいたサンプルならびに Order Receipt を弊社宛にご発送いただけます。

※午前着指定、保冷剤同梱の常温輸送

【その他のご案内】

1) サンプルの発送に 1.5mL チューブをご利用いただく場合

1.5mL チューブのキャップがしっかりと閉じていることを確認後に、梱包するようお願いいたします。なお、1.5mL チューブの上部にパラフィルムの貼付を推奨いたします。お客様のご注文内容とサンプルの照合が可能となるよう Order Receipt に対応するサンプル番号をご記載ください。プライマーの場合は、プライマー名をご記載ください。

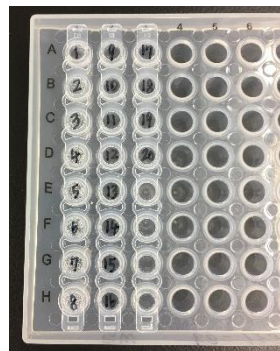
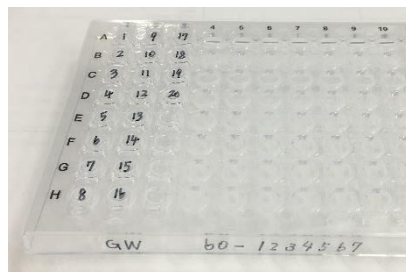
2) サンプルの発送に 8 連チューブをご利用いただく場合

切断した 8 連チューブでのサンプル発送は、サンプルが漏れてしまう可能性ならびにコンタミネーションの可能性のあることからお控えいただきますようお願いいたします。お客様のご注文内容とサンプルの照合が可能となるよう Order Receipt に対応するサンプル番号をご記載ください。

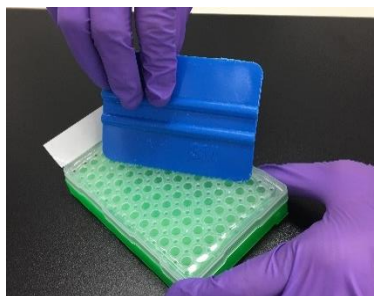
3) サンプルの発送に 96-well plate をご利用いただく場合

ノンスカートタイプは配送中に湾曲してしまう可能性があるため、セミスカート、フルスカートタイプのご使用を推奨いたします。サンプルに不具合が生じないよう緩衝材等のご使用をお願いいたします。なお、96-well plate には下の画像のように、**8 連チューブのキャップ**もしくは**圧着式のプレートシール**をご利用いただき、サンプルが漏れたり、クロスコンタミすることのないようご対応ください。お客様のご注文内容とサンプルの照合が可能となるよう Order Receipt に対応するサンプル番号ならびに追跡番号 (Tracking #) をご記載ください。

8 連チューブのキャップをご利用の場合は、下図のようにウェル A から H までしっかりとキャップがはまっていることをご確認くださいませようお願いいたします。



プレートシールをご利用の場合は、シーリングゴームを用いて、プレートシールをサンプルが漏れることのないようにしっかりと貼付してください。ウェルの上部とシールの間に気泡が確認できなければ良い状態と考えられます。



- 4) 弊社にてお客様のサンプルの受領時にサンプルの状態を確認させていただいております。不具合等があった場合は、お客様へ適宜ご連絡させていただき、解析実施について確認をさせていただいております。配送中のサンプルの品質低下・損失・漏出につきましては、弊社では責任を負いかねますのでサンプルのご発送状態につきましては、発送前に十分にご確認をお願いいたします。なお、6 反応以上のご注文として着払いにてサンプルをご発送いただいたお客様におきましても、配送中の不具合によるサンプルの再発送は元払でのご対応とさせていただいておりますので、ご了承ください。
- 5) 弊社はカルタヘナ法を順守いたします。内容物が組み換え遺伝子に該当する場合には、カルタヘナ法に従った輸送をお願いいたします。
カルタヘナ法に関しまして、ご不明な点がありましたら、お取引代理店、または弊社までお問合せください。

【注意事項】

サンプル発送時に Order Receipt の同封をお願いいたします。ご注文を清算いただいた時に表示される、Order Receipt (Tracking No. ならびにバーコードが含まれたシート) を印刷し、ご提出いただくサンプルと同封して送付してください。

基本的にサンプルの発送は常温の配送で構いません。配送にかかる日数が 2 日以上の場合は、保冷剤同梱の常温便のご利用をお勧めいたします。

1 回のご注文のサンプル数が 6 サンプル未満の場合は、**元払い**にてサンプルの発送をお願いいたします。

1 回のご注文のサンプル数が 6 サンプル以上の場合は、**着払い**にてサンプルの発送をお願いいたします。弊社が送料を負担いたします。

なお、**複数のご注文**をいただいた場合には、合計のサンプル数が 6 サンプル以上であれば**着払い**にてサンプルをご発送いただけます。

シーケンス反応の特性により、ご指定いただいたプライマーの 3' 末端から数十 bp の解析データの正確性は低くなります。

弊社が提供する DNA シーケンス解析サービスは研究目的のみにご利用いただけます。

弊社が提供する DNA シーケンス解析サービスは、配列解析を保証するものではありません。お客様からご送付いただいたサンプルの状態や、困難配列（繰り返し配列や GC リッチ配列等）の場合には、解析が困難となる場合がございます。

ご注文時に特殊プロトコルの指定欄にて困難配列の種別をご選択いただくことで、困難配列に対する Alternative Protocol を適用（追加料金が発生いたします）したシーケンス解析をご利用いただくことが可能です。本サービスにつきましては、配列解析を保証するものではありませんことをご了承ください。

お客様から送付いただいたサンプルは 1 週間保管の後、順次破棄させていただきます。

ご質問ならびにお問い合わせは、下記連絡先までご連絡をお願いいたします。

日本ジーンウィズ株式会社 遺伝子シーケンス解析 サービス宛

TEL : 048-483-4980 / FAX : 050-3730-9242

Email : Sanger.Japan@genewiz.com