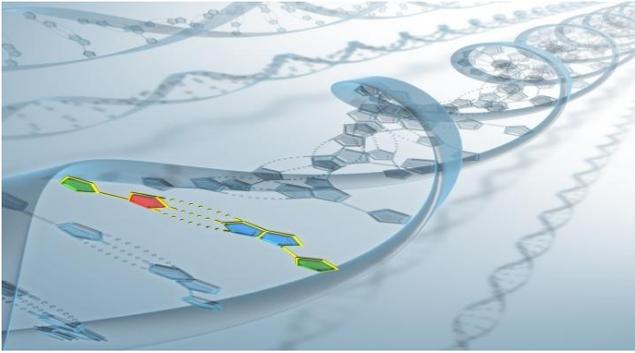




SERVICES DE SEQUENCAGE





Biofidal est en mesure de mener tout type de projet de séquençage à façon et d'adapter ses compétences et savoir faire aux besoins de ses clients. Pour cela, nous avons optimisé les protocoles afin d'avoir des résultats de plus haute qualité tout en entretenant un contact personnalisé avec nos clients.

Le service de séquençage met à votre disposition une plate-forme robotisée à haut débit qui comprend des séquenceurs capillaires de dernière génération : MEGABACE 1000 (96 capillaires) et ABI 3130XL (16 capillaires)

Biofidal est également équipé de l'ensemble du matériel de biologie moléculaire standard.

SEQUENCAGE D'ECHANTILLONS

Nous proposons :

- La purification des produits de PCR sur colonne (1 bande) et sur gel d'agarose (plusieurs bandes).
- L'extraction d'ADN plasmidique par Mini prep, ou Midi prep.
- Le séquençage d'échantillons (produits PCR ou Plasmides) en 1 ou 3 essais. Pour la référence 3 essais, nous proposons trois longueurs de lecture (350, 550 ou 850 bases), des séquences corrigées ou non corrigées, des séquences simple brin ou double brin avec alignement.
- Le séquençage d'ADN génomique, d'extrémités de BAC et de cosmide.
- Le séquençage d'ADN difficile
- La marche sur ADN
- La stratégie Shotgun.

NOS ENGAGEMENTS

CONTROLE DE VOS ECHANTILLONS

Dosage par D.O. ou par gel à réception de vos échantillons afin de les caractériser de manière qualitative et quantitative. Protocole analytique adapté en fonction de leurs spécialités.

Accusé de réception de vos commandes par e-mail.

CONTROLE DES RESULTATS

Tous les chromatogrammes sont analysés avec le logiciel Sequence Analyser ou Phred 20. Lorsque les séquences ne répondent pas aux critères de qualité :

2^{ème} essai : re-séquençage avec optimisation de la réaction

3^{ème} essai : nous vous contactons afin de déterminer un protocole pertinent pour obtenir le résultat escompté.

ECOUTE CLIENT

Vous êtes en liaison directe et permanente avec notre responsable de laboratoire grâce à une HOTLINE pour toute question technique. Nous pouvons établir un cahier des charges techniques adapté à vos exigences pour la réalisation de prestations spécifiques.

DELAI PERFORMANT

L'ensemble de nos prestations est réalisé sur notre site de LYON. Notre organisation nous permet de traiter vos échantillons dans des délais très courts.

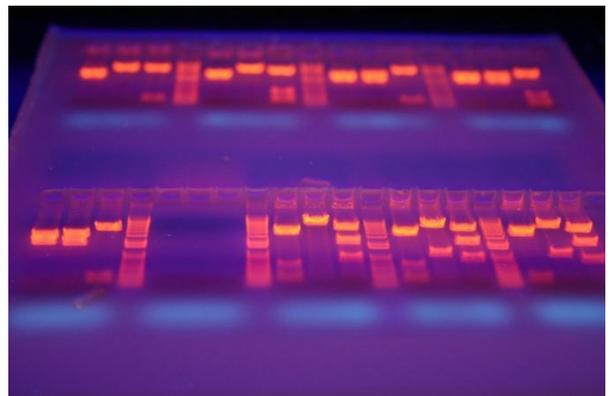
Délai de 24 H pour le séquençage d'échantillon d'ADN purifié.

CONFIDENTIALITE DES RESULTATS

- Création d'un compte personnel avec accès sécurisé sur notre serveur FTP (consultation en temps réel de vos résultats d'analyses).
- Téléchargement sécurisé.
- Possibilité d'envoi des résultats par e-mail.

TRACABILITE

- Identification unique de votre commande et de vos échantillons.
- Conservation de vos échantillons identifiés (3 mois).



Séquençage Simple Brin One Shot

- Séquençage d'ADN **simple brin** avec lecture supérieure à 700 bases
- Evaluation automatique Phred de la qualité
- Séquençage traité en **1 essai**
- Délai de **24** à **48** heures après réception des échantillons

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence
500 ±100 bases	Simple brin	SSBN LCM
800 ±100 bases	Simple brin	SSBN LCL

Séquençage Simple Brin One Shot plaque 96 puits

- Séquençage d'ADN **simple brin** avec lecture supérieure à 700 bases
- Evaluation automatique Phred de la qualité
- Séquençage traité en **1 essai**
- Délai de **48** à **72** heures après réception des échantillons

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence
800 ±100 bases	Simple brin	SSBN LC96

Pour le séquençage de produits PCR ou clones plasmidiques identiques, à séquencer avec la même amorce. Nous acceptons un maximum de 4 amorces différentes par plaque 96 puits afin de bénéficier du tarif préférentiel « Plaque 96 puits ».

Séquençage Simple Brin Optimisé

- Séquençage d'ADN **simple brin** avec lecture supérieure à 700 bases
- Evaluation automatique Phred de la qualité
- Séquençage traité en **plusieurs essais***
- Délai de **24** à **48** heures après réception des échantillons

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence
300 ±100 bases	Simple brin	SSBC 350
500 ±100 bases	Simple brin	SSBC 550
800 ±100 bases	Simple brin	SSBC 750

*En cas d'échec, répétition du séquençage avec optimisation et si possible choix d'un autre protocole.



Séquençage Double Brin Optimisé

- Séquençage d'ADN **double brin** avec lecture supérieure à 700 bases
- Evaluation automatique Phred de la qualité
- Séquençage traité en **plusieurs essais***
- Délai de **24 à 48** heures après réception des échantillons

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence
300 ±100 bases	Double brin	SDBC 350
500 ±100 bases	Double brin	SDBC 550
800 ±100 bases	Double brin	SDBC 750

Cette prestation inclut les 2 séquences sens et antisens des 2 brins de l'ADN, la correction manuelle des séquences, l'alignement avec des logiciels d'édition et la création d'une séquence consensus.

*En cas d'échec, répétition du séquençage avec optimisation et si possible choix d'un autre protocole.

Marche sur ADN 1X

- Séquençage d'ADN **simple brin** par marche
- Corrections manuelles des séquences
- Redondance d'une fois
- Assemblage et reconstitution complète de la séquence avec création d'une séquence consensus simple brin.
- Délai de réalisation : **1,5 à 2 Kb** par semaine

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence
1X single strand DNA walking	Simple brin	1X WALK

Cette prestation permet d'obtenir la séquence complète d'un insert de taille importante (PCR ou clones) avec une remarquable précision (99 %). Ce service inclut également le design et la synthèse des amorces internes pour le séquençage.

Marche sur ADN 2X

- Séquençage d'ADN **double brin** par marche
- Corrections manuelles des séquences
- Redondance de 2-3 fois
- Assemblage et reconstitution complète de la séquence avec création d'une séquence consensus double brin.
- Délai de réalisation : **1,5 à 2 Kb** par semaine

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence
2X single strand DNA walking	Double brin	2X WALK

Cette prestation permet d'obtenir la séquence complète d'un insert de taille importante (PCR ou clones) avec une remarquable précision (99 %). Ce service inclut également le design et la synthèse des amorces internes pour le séquençage.

Informations techniques et générales

Les amorces universelles sont fournies gratuitement

Liste non exhaustive des amorces universelles

Nom de l'amorce	Séquence (5' — 3')
M13-20 (fwd)	TGT AAA ACG ACG GCC AGT
M13 -47 (fwd)	CGC CAG GGT TTT CCC AGT CAC GA
M13 -30 (rev)	CAC ACA GGA AAC AGC TAT GAC CA
M13 -48 (rev)	AGC GGA TAA CAA TTT CAC ACA GGA
T3	CAATT AAC CCT CAC TAA AG
T7	TAAT ACG ACT CAC TAT AGG
KS	CGA GGT CGA CGG TAT CG
SK	TCT AGA ACT AGT GGA TC
SP6	GAT TTA GGT GAC ACT ATA G
PQE-3/4 forw	GAA TTC ATT AAA GAG GAG AAA
PQE-rev	CAT TAC TGG ATC TAT CAA CAG G
T7-Terminator	TAT GCT AGT TAT TGC TCA GCG G
pET-upstream	CGA TGC GTC CGG CGT AGA GG
S-Tag	CGA ACG CCA GCA CAT GGA CA
pGEX-5'	GGG CTG GCA AGC CAC GTT TGG TG
pGEX-3'	CCG GGA GCT GCA TGT GTC AGA GG
BGH reverse	TAG AAG GCA CAG TCG AGG
pBAD forward	ATG CCA TAG CAT TTT TAT CC
pBAD reverse	CTG TAT CAG GCT GAA AAT CT
pCMV for	CGC AAA TGG GCG GTA GGC GTG

S'agissant des amorces non standard à synthétiser, nous pouvons réaliser la synthèse d'après votre séquence (référence SYNT-001).

Quantité d'amorce nécessaire pour vos échantillons :

Fournir les amorces spécifiques à la concentration de 10µM (10pmoles/µl) et prévoir un volume minimum de 2µl/séquence à réaliser avec cette amorce.

Vous pouvez fournir un grand volume que nous stockerons pour une amorce amenées à être utilisée plusieurs fois pour éviter de la joindre à chaque commande.



Informations techniques sur nos services de séquençage de l'ADN :

Pour avoir plus d'informations techniques sur le séquençage et savoir comment préparer vos échantillons avant expédition vous pouvez télécharger la brochure que nous avons rédigé pour vous sur notre site www.biofidal.com, dans la rubrique « **Centre de téléchargement** ». Vous trouverez néanmoins ci-dessous un résumé des informations principales à connaître pour préparer vos envois.

Préparation des échantillons :

La réaction de séquençage requiert un ADN très pur, ne pas envoyer des préparations « faites maison ». Si l'échantillon doit être repurifié, un supplément de 2,00 €HT / séquence sera facturé (EADN-002). Nous recommandons d'utiliser des kits de mini-prep (lyse alcaline + colonnes de silice). Diluez l'ADN dans l'eau et vérifiez l'intégrité des plasmides par électrophorèse sur gel d'agarose. Joindre si possible une photo du gel et vérifier la concentration d'ADN par mesure de la DO 260 nm.

• Plasmides – BAC :

Envoyer un minimum de 2 µg de plasmide (concentration optimale de 0.2 µg/µl et minimum de 0.1 µg/µl) dans 10-20 µl d'eau et 4-5µg de cosmide, BAC, PAC ou phage dans 25-50 µl d'eau.

• Produits de PCR : (deux solutions) :

1/ Envoyez vos produits de PCR purifiés avec la photo du gel d'agarose (minimum de 20 ng / 100 bases de produit PCR) : pour des PCR de 300 à 600 pb fournir environ 120 à 200 ng soit 6 à 10µl à la concentration moyenne de 20ng/µl, pour des PCR de 700 à 1200 pb fournir environ 300 à 500 ng soit 15µl à 25µl à 20ng/µl (Conc minimale).

2/ Envoyez vos produits de PCR non purifiés. Nous réaliserons la purification de vos produits PCR, sans aucun surcoût (réf SPCR -002). Fournir les même quantités et concentrations que pour les produits PCR purifiés.

Téléchargement

Vous trouverez sur notre site www.biofidal.com dans la rubrique « **Centre de Téléchargement** » tous les liens web utiles pour télécharger gratuitement des logiciels et outils pour l'édition et/ou l'analyse des résultats de séquençage de l'ADN que nous vous envoyons.

Chromas: (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>)

Finch: (<http://www.geospiza.com/finchtv/>)

Bioedit: (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>)

Staden package: (<http://staden.sourceforge.net/>)



Internet : www.biofidal.com

e-mail : www.info@biofidal.com

**BIOFIDAL
170, Avenue Gabriel Péri
69120 VAULX-EN-VELIN
France**

TEL : +33 4 3745 0296 – Fax : +33 4 3745 0296