

# SERVICE DE SEQUENÇAGE D'ADN / DNA SEQUENCING

## La société BIOFIDAL vous propose ses services pour le séquençage d'ADN

Vous trouverez ci-joint les informations techniques nécessaires à la bonne préparation et expédition de vos échantillons à séquencer.

### • Préparation des échantillons :

- La réaction de séquençage requiert un ADN **très pur**, ne pas envoyer des préparations « faites maison ». Si possible préférer les préparations avec kit de minipreps (de type MN, promega, BIOFIDAL, Qiagen,) ou alors un protocole au PEG qui donne de bons résultats pour les minipreps de plasmides.
- Nous recommandons d'utiliser nos kits de purification sur silice : EZNA Plasmid Miniprep kits (réf : D6943 ) pour vos purifications de plasmides ou les kits EZNA Cycle Pure ou EZNA Gel extraction pour vos purifications de produits PCR ou d'ADN à partir de gels d'agarose. Diluez l'ADN dans l'eau ou un tampon Tris (pH8.0 à 8.5), ne pas resuspendre vos ADN dans du TE (l'EDTA du tampon TE inhibe la réaction de séquençage).
- Vérifiez la qualité des plasmides purifiés ou produits PCR par électrophorèse sur gel d'agarose. Joindre si possible une photo du gel et vérifier la quantité d'ADN sur gel par comparaison avec un marqueur de poids moléculaire (les mesures de concentration par prise de la DO donnent souvent une surestimation de la concentration).

### • Quantités de matériel à expédier :

- **Plasmides – BAC-** : Envoyer un minimum de 2-3µg de plasmide (concentration optimale de **0,2 µg/µl** et minimale de **0,1µg/µl**) dans 15 µl d'eau et 10µg de cosmide, BAC, PAC ou phage dans 25 µl d'eau.
- **Produits de PCR** : Deux solutions :

1/ Envoyez vos produits de PCR amplifiés et purifiés avec la photo du gel d'agarose (minimum de 20 ng / 100 bases de produit PCR ou 200 ng/réaction de séquence à effectuer à la concentration minimale de 20 –40 ng/µl).

2/ Envoyez vos produits de PCR non purifiés. Nous réaliserons la purification de vos produits PCR avant le séquençage, sans aucun coût (la réf SPCR -002 est à indiquer sur le Bon de Cde pour nous notifier que nous devons prendre en charge la purification, mais elle est offert gracieusement)

- **Amorces spécifiques** : Quelque soit le produit à séquencer, joindre 5-10µl d'amorces à 5-10 pmoles/µl (soit 50 à 100 pmoles dans de l'eau). Pour un nombre important de séquence à réaliser avec la même amorce compter 2µl d'amorce par séquence à réaliser.

- **Amorces universelles fournies par BIOFIDAL** :

Pour le séquençage de vos plasmides, nous disposons d'un stock d'amorces universelles que vous n'avez pas besoin de fournir : (vous trouverez sur notre site sous la **rubrique Centre de Téléchargement** la liste complète des amorces que nous tenons à disposition dans nos laboratoires).

### • Modes d'expédition de vos échantillons :

Vous pouvez nous expédier vos échantillons par la poste ou colissimo (surtout utiliser des tubes bien étanches ou paraffiner vos tubes) et utiliser une enveloppe à bulle (les enveloppes papier passent en machines de tri à la poste avec souvent risque d'écrasement des tubes).

Nous tenons à votre disposition des boîtes plastiques que nous pouvons vous faire parvenir sans frais pour protéger vos tubes d'échantillons lors de vos envois. N'hésitez pas à nous contacter pour les demander.

Vous pouvez aussi envoyer vos échantillons par transporteur express (Chronopost, UPS,DHL etc.....)

- **Confidentialité** : Nous garantissons la confidentialité des résultats. Les amorces non-standard, vos échantillons ainsi que et les résultats seront détruits 2 mois après réception (sauf si demande écrite).

- **Commander** : Remplissez et envoyez notre formulaire de commande (fichier pdf word ou excel à télécharger à partir de la **rubrique Centre de Téléchargement**), le **bon de régularisation de votre institut** et les échantillons dans des tubes de 1,5 - 0.5 ml – 0,2 ml ou en microplaques (bien identifiés) à l'adresse ci-dessous. Veuillez préciser si l'ADN possède des qualités particulières (% GC important, répétition ...).

### Adresse d'expédition :

**Biofidal, 170, avenue Gabriel Péri 69120 Vaulx en Velin (France)**

**TEL : 33 (0) 4 37 45 02 96 ; FAX : 33 (0) 4 37 45 02 97**

**Email : [sequencage@biofidal.com](mailto:sequencage@biofidal.com)**

# SERVICE DE SEQUENÇAGE D'ADN / DNA SEQUENCING

## La société BIOFIDAL vous propose ses services pour le séquençage d'ADN

Vous trouverez ici les informations sur le rendu des résultats de séquençage et les logiciels nécessaires à la visualisation et/ou exploitation des résultats :

- **Données fournies** : Séquences (format .text) et chromatogrammes (format scf ou abi) via email (gratuit), enregistrées sur clé USB (5.00 €) ou gravées sur CD-Rom (5.00 €). Impression couleur du chromatogramme (1,00 € /séquence). Nous pouvons aussi vous fournir sur demande des fichiers PDF si besoin
- **Délais** : Les résultats de séquençage jusqu'à 900 bases, obtenus avec les amorces standards, sont disponibles en 48 à 72 h entre la date de réception des échantillons (avant 11h) et celle du départ des résultats par courrier électronique ou postal. Les délais sont garantis sauf problèmes liés à la nature des échantillons du client.
- **Exploitation des résultats** : Les fichiers textes (.seq ou .fa) délivrés peuvent être ouvert avec n'importe quel logiciel de traitement de texte (word, works, notepad, etc.....). Pour visualiser les chromatogrammes couleurs délivrés si vous n'êtes pas équipés de logiciels, nous vous recommandons les logiciels suivants :

### LOGICIELS pour VISUALISATION des Chromatogrammes Couleurs

#### Utilisateurs de PC sous windows :

Le logiciel Chromas Lite gratuit et très facile à télécharger à l'adresse :  
(<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>)

La logiciel Finch TV gratuit et très facile à télécharger à l'adresse :  
(<http://www.geospiza.com/finchtv/>) Finch (<http://www.geospiza.com/finchtv/>)

#### Utilisateurs de Macintosh sous MacOS :

Le logiciel **Edit View 1.0.1** gratuit à télécharger à l'adresse :  
(<http://www.appliedbiosystems.com/support/software>)

### LOGICIELS pour ANALYSES des résultats de séquence

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

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