

Economy Run

Quantités et concentrations des échantillons pour les tubes et les plaques

Echantillons ADN	Concentration	Volume	Schéma de pipetage pour l'option premix
Plasmide ¹	40–100 ng/μl	Chaque échantillon d'ADN doit avoir un volume de 12 μl + 3 μl pour chaque réaction supplémentaire.	12 μl d'ADN + 3 μl de solution d'amorce de séquençage (20 μM) ³
Produits PCR ²	Règle générale: 1.5 ng/μl per 100 bp		
Longueur 100 - 400 bp	2 - 6 ng/μl		
Longueur 401 - 900 bp	4 - 17 ng/μl		
Longueur 901 - 2000 bp	12 - 70 ng/μl		
Amorce (prémélangée)	4 pmol/μl = 4 μM		
Amorce (séparé)	10 pmol/μl = 10 μM		

¹ La concentration optimale pour les plasmides est de 80 ng/μl.

² Peu importe que la PCR soit purifiée ou non purifiée

³ L'ajout de 3 μl d'une solution d'amorçage de 20 μM au lieu de 10 μM de solution d'amorçage à 12 μl de solution de gabarit ADN (premixed option) donne généralement des résultats de séquençage plus solides

Remarques:

- Lorsque vous envoyez des produits PCR ou des plasmides en plaques, nous vous recommandons fortement de mesurer la concentration d'un sous-ensemble aléatoire d'échantillons. Il est très important que tous les échantillons respectent les concentrations requises.
- Si vous souhaitez que Microsynth ajoute votre amorce de séquençage, veuillez à nous envoyer une quantité suffisante de votre solution d'amorce (au moins 20 μl pour une solution de 10 μM ; veuillez considérer que chaque réaction de séquençage consomme 3 μl).
- Les échantillons d'ADN et les amorces pour le séquençage des réactions sont dissous de préférence dans de l'eau pure. Alternativement, 10 mM Tris-HCl (pH 8) avec un maximum de 0,5 mM EDTA peuvent être utilisés pour une meilleure stabilité à long terme de l'ADN. **Le tampon TE (10 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA) peut causer des problèmes de séquençage.**
- Vos échantillons sont conservés pendant 4 jours (tubes) ou 1 mois (plaques) tandis que vos amorces de séquençage spécifiques seront conservées dans notre laboratoire de séquençage pendant 4 mois (10 mois si elles sont placées sur la liste des amorces personnalisées).
- La synthèse de l'amorce de séquençage directement chez Microsynth est possible (veuillez sélectionner l'option "order now" en passant votre commande de séquençage).

Tubes : Préparation des échantillons

Plasmides purifiés ou produits PCR

Les plasmides purifiés ou les produits PCR peuvent être envoyés à température ambiante (RT) dans des tubes de 1,5 ml.

Produits PCR non purifiés

Les produits PCR peuvent être envoyés directement après amplification PCR (bandes simples) dans leur réaction buffer à température ambiante (RT) dans des tubes de 1,5 ml. Des frais supplémentaires seront appliqués pour la purification PCR initiale à Microsynth.

Remarques: Lorsque vous préparez vos échantillons (ou les amorces de séquençage), assurez-vous que vos échantillons soient placés dans des tubes de 1,5 ml. Les tubes à bouchon à vis sont les tubes les plus robustes et les plus sûrs (pas d'ouverture accidentelle du couvercle). Si vous utilisez des tubes à bouchon à pression, nous vous recommandons d'utiliser des tubes Safe-Lock/Safe-Seal (moins de risque d'ouverture accidentelle du couvercle). Veuillez noter que Microsynth ne peut pas traiter des tubes échantillons de 2 ml,

0,5 ml et 0,2 ml. Notre processus hautement automatisé de préparation des échantillons nécessite l'utilisation de tubes de 1,5 ml. Il suffit de coller **les étiquettes de code-barres vertes prépayées ou bleues non prépayées** sur vos tubes échantillons. Veuillez ne pas coller d'autocollants sur le couvercle de vos tubes et ne pas les envelopper dans du parafilm.

Plaques : Préparation des échantillons

Plasmides purifiés ou produits PCR

Les plasmides purifiés ou les produits PCR peuvent être envoyés à température ambiante (RT) dans la plaque 96 puits. Nous recommandons de vérifier la qualité des échantillons PCR sur un gel d'agarose (un sous-ensemble aléatoire peut être suffisant ; au moins un échantillon par paire d'amorces PCR) avant expédition.

Produits PCR non purifiés ou cellules *E. coli**

Les réactions PCR peuvent être envoyées directement après amplification PCR dans leur réaction buffer à température ambiante (RT) dans la plaque 96 puits. Veuillez sélectionner le type d'ADN "PCR non purifiée". Nous recommandons de vérifier la qualité des échantillons PCR sur un gel d'agarose (un sous-ensemble aléatoire est suffisant ; au moins un échantillon par paire d'amorces PCR) avant expédition.

Si vous nous envoyez des cellules d'*E. coli*, nous vous recommandons de les expédier dans la plaque 96 puits dans le milieu Luria Broth (LB) à RT. Veuillez vous assurer que vos cellules sont incubées dans 50 µl LB medium (contenant les antibiotiques appropriés) pendant au moins 3-4 heures avec agitation douce à 37° C avant expédition. S'il n'y a pas d'incubateur disponible dans votre laboratoire, veuillez nous le faire savoir. Nous effectuerons ensuite une incubation plus longue sur notre site.

* disponible uniquement pour le Economy Run Plus et (moyennant un supplément) le Economy Run non prépayé.

Remarques: L'expédition en toute sécurité de cultures liquides ou de solutions nécessite une bonne étanchéité de votre plaque 96 puits. Il est recommandé de sceller votre plaque 96 puits avec des bandes à 8 bouchons, des nattes à 96 bouchons ou du thermoscellage.

Remplir le formulaire de commande en ligne pour les tubes et les plaques

Avant d'expédier vos échantillons de séquençage à Microsynth, veuillez procéder comme suit pour remplir votre formulaire de commande :

1. Entrez dans notre webshop sur www.microsynth.com (cliquez sur "SHOP")
2. Cliquez sur „**Sanger Sequencing**“ dans la zone verte de Analysis Services.
3. Cliquez sur le service **Economy Run** souhaité et suivez les instructions
4. Remplissez le formulaire de commande et envoyez votre commande.
5. Emballez vos échantillons dans un sac en plastique transparent (important : un sac par commande) **il n'est pas nécessaire de joindre une version imprimé du formulaire de commande pour les tubes mais il est nécessaire pour les plaques.**
6. Déposez votre paquet d'échantillons dans la boîte de dépôt Microsynth la plus proche (si disponible dans votre région) ou utilisez nos enveloppes prépayées pour l'envoi du courrier.

Support à la clientèle

Microsynth France SAS

170 Av. Gabriel Péri

69120 Vaulx-en-Velin

France

Phone: +33 4 37 45 02 96

Email: info@microsynth.fr