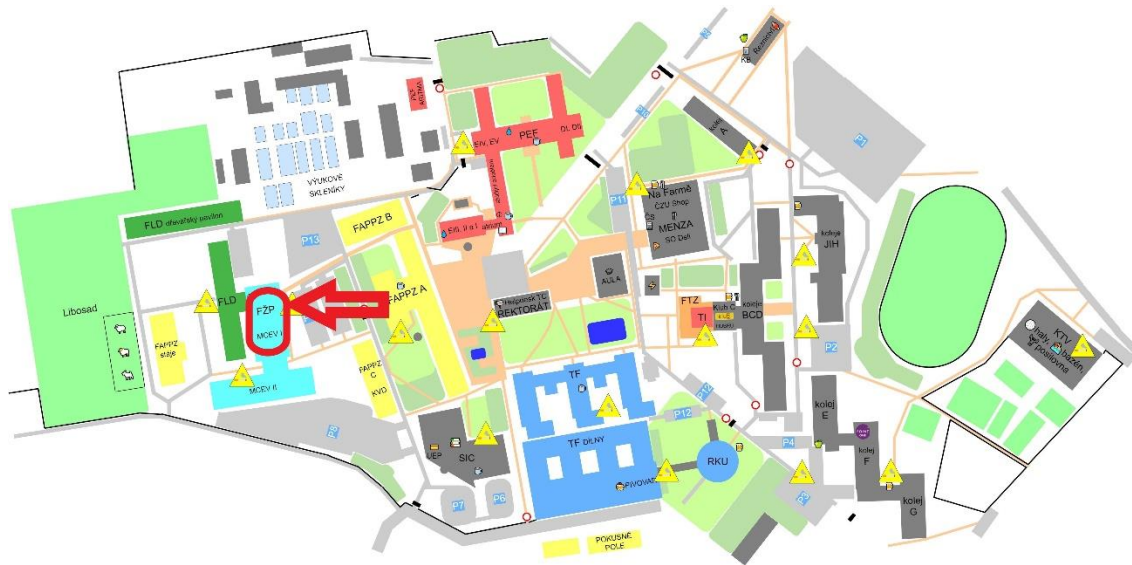


Laboratoř molekulární genetiky, FŽP

Z014 (přízemí) budova MCEV I. (po-st 9:30 – 15)



V případě že požadujete sekvenování donesete:

- PCR produkt v koncentraci 20-80 ng/ul

(Kvalitu PCR produktu ověřte elektroforetický nebo přeměřením koncentrace DNA)

- Sekvenační primer v koncentraci 2,5 uM (3 ul na reakci)

Na email: hrdlickovaalena@fzp.czu.cz pošlete tabulku s rozpisem vzorků v desce/stripu/zkumavkách, sekvenci primeru a foto gelu s PCR produkty

Pro fragmentační analýzu donesete:

- PCR produkt s mikrosatelitovými primery značenými FAM, NED, PET, VIC

Ceník pro služby sekvenátoru ABI 3500:

Sekvenování PCR do 500 bp

Výsledek do 2-3 pracovních dní

Cena 92 Kč / reakci (včetně přečištění PCR produktu)

Minimální počet 8 vzorků

Fragmentační analýza PCR s mikrosatelitovými primery značenými FAM, NED, PET, VIC

Výsledek do 1 pracovního dne

Cena 50 Kč / reakci (včetně LIZ-500)

Minimální počet 8 vzorků

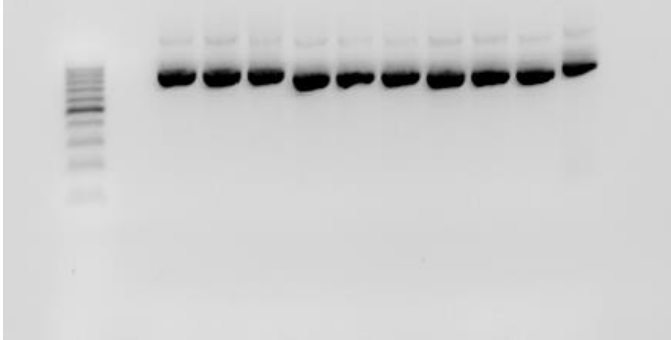
Sangerovo sekvenování

V naší laboratoři možno ověřit kvalitu PCR produktu:

a/ fluorometr (qubit) dle ceníku

b/ gel dle ceníku

příklad jak silný má být band použitelného PCR produktu:



1. Přečištění PCR pomocí magnetických partikulí AMPure od dimerů primerů, zbytků genomické DNA a jiných kontaminací které by mohly ovlivnit sekvenační reakci.
2. Sekvenační reakce s BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit
3. Přečištění enzymatické reakce MCLab Big Dye Sequencing Clean Up Kit
4. Kapilární elektroforéza probíhá na 50 cm kapiláře v prostředí polymeru POP7

Fragmentační analýza (SSR – mikrosatelity)

1. Denaturace v prostředí deionizovaného formamidu
2. Kapilární elektroforéza za přítomnosti velikostního standardu Gene Trace LIZ – 500

Sekvenátor prochází 1x ročně celkovou údržbou servisním technikem, podléhá pravidelné údržbě a kalibracím provedeným zaškoleným personálem, je k němu veden provozní deník včetně evidence a řešení troubleshootings. Zacházení se strojem, stejně jako provoz celé laboratoře odpovídá kritériím akreditovaných laboratoří.

Podrobný protokol metod na vyžádání