

SOLICITUD DE SECUENCIACION

UNIDAD DE SINTESIS Y SECUENCIACION DE DNA (USSDNA) DEL INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA DE LA UNAM

Solicitante: _____ email: _____ Tel. _____

Institución: _____ Dependencia: _____

Líder académico: _____ Fecha de solicitud: _____

NOTA: Nuestro secuenciador automático de DNA lee correctamente alrededor de 700 pares de bases a partir de la base 50, desde el extremo 3' del oligo usado para el proceso de secuenciación.

	SELECCIONE TIPO DE ADN	Tamaño (Kbp)	Nombre de Muestra (4 a 7 caracteres)	Nombre de Oligo y Tm	Kit usado para la purificación del DNA
1	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
2	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
3	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
4	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
5	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
6	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
7	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
8	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
9	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
10	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
11	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
12	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
13	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
14	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
15	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
16	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
17	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____
18	PCR Plásmido	_____	_____	_____	_____

Si notas algo extraño en tus secuencias, por favor infórmalos directamente a la extensión 27712 o email (jay@ibt.unam.mx) para tratar de resolver el problema.

PREPARACION DE LA MUESTRA:

La mezcla DNA/Oligo se debe entregar en un volumen final de 16 μ l, en un tubo eppendorf de tapa plana de 0.2 ml para PCR, sin anotaciones en la tapa. Dicha mezcla debe contener 10 pmolas del oligo elegido para secuenciar [por ejemplo, 1 μ l de solución de oligo 10 μ M (pmol/ μ l)] y 300-500 ng de plásmido si su tamaño es de 3-5 Kb. Si el plásmido es del doble de tamaño, entonces se deben entregar 600-1000 ng. En caso de productos de PCR, éstos se deben purificar por gel y entregar 100-120 ng, mezclados con 10 pmolas de oligo, en el mismo volumen final de 16 μ l. La calidad del proceso de secuenciación depende principalmente de la calidad y cantidad del DNA entregado. Antes de enviar las muestras, se recomienda analizarlas por gel y cuantificarlas por nanodrop. La cuantificación por gel es subjetiva y no debe usarse para estimar la concentración de DNA.

La USSDNA puede adicionar los oligonucleótidos:

m13/pUC -40 FORWARD	5'-GTT TTC CCA GTC ACG TTG TA-3'
m13/pUC REVERSE	5'-TTG TGA GCG GAT AAC AAT TTC-3'
T7 PRIMER	5'-TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG-3'
SK PRIMER	5'-CGC TCT AGA ACT AGT GGA TC-3'
T3 PRIMER	5'-CGC ATT TAA CCC TCA CTA AAG-3'
KS PRIMER	5'-TCG AGG TCG ACG GTA TCG-3'