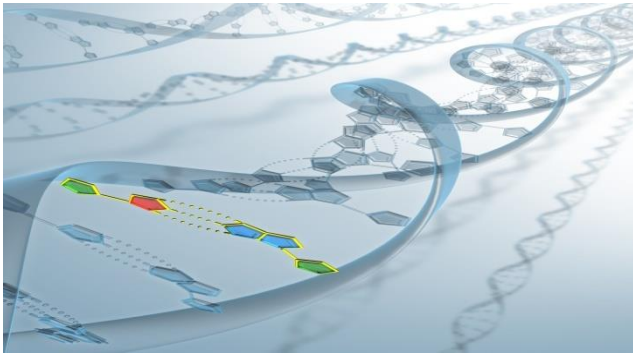




bio**fid**al

**SERVICE DE SEQUENÇAGE
D'ADN TYPE SANGER**



Biofidal peut mener tout type de projet de séquençage à façon grâce aux compétences et savoir-faire de ses équipes dans le domaine du Séquençage Capillaire Sanger. Notre expérience de près de 20 ans est au service de vos demandes. Nos protocoles ont été optimisés afin de vous rendre des résultats de plus haute qualité. **Ecoute, proximité et adaptabilité** sont nos atouts majeurs pour répondre efficacement à vos attentes.

Le service de séquençage met à votre disposition une plate-forme robotisée à haut débit qui comprend des séquenceurs capillaires de dernière génération : ABI 3130XL de 16 capillaires et ABI 3730XL de 96 capillaires.

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

NOS SERVICES

Nous proposons :

- La purification GRATUITE des produits PCR par méthode ExoSap-iT (1 bande) avant séquençage
- La purification des produits de PCR sur colonne après séparation sur gel d'agarose (PCR aspécifique qui présente plusieurs bandes)
- L'extraction d'ADN plasmidique par mini prep ou midi prep
- Le séquençage d'ADN génomique, d'extrémités de BAC et cosmides
- Le séquençage d'ADN difficile
- La marche sur ADN pour les longs inserts
- La stratégie Shotgun.

NOS ENGAGEMENTS

CONTROLE DE VOS ECHANTILLONS

Dosage au Qubit ou vérification au QIAxcel (Qiagen) à réception de vos échantillons afin de les caractériser de manière qualitative et quantitative. Protocole analytique adapté en fonction de leurs spécificités.

Ce QC est gratuit et non facturé et ne peut être fait que sur une fraction de votre commande si elle est importante, d'où l'importance de le faire aussi de votre côté pour qualifier vos échantillons avant envoi.

N'hésitez pas à nous communiquer tout résultat de QC dont vous pourriez disposer, cela est dans l'intérêt d'une meilleure réussite de vos séquençages.

CONTROLE DES RESULTATS

Tous les chromatogrammes sont analysés avec le logiciel Sequencing Analysis V6.0 qui inclut le 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.

** pour le séquençage OPTIMIZED

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.

La création d'un compte client **LIMS_BIOFIDAL** vous permet d'accéder et de suivre le statut de vos commandes jusqu'à la mise en ligne de vos séquences.

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.

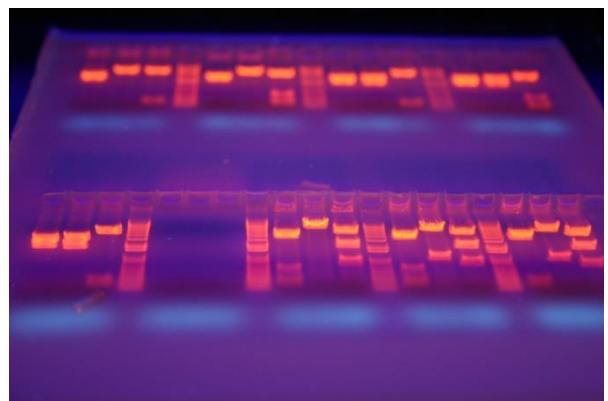
Délai de 24H pour le séquençage d'échantillons d'ADN purifiés.

CONFIDENTIALITE DES RESULTATS

- Création d'un compte personnel avec accès sécurisé sur notre page web dédiée : <https://lims.biofidal.com>
- Consultation en temps réel de l'état d'avancement de votre demande
- Téléchargement sécurisé
- Possibilité d'envoi des résultats par e-mail sur demande.

TRACABILITE

- Identification unique de votre commande
- Conservation de vos échantillons identifiés sur 2 mois pour d'éventuelles demandes complémentaires.



Séquençage Simple Brin One Shot

- Séquençage d'ADN **simple brin** avec lecture supérieure à 900 bases
- Evaluation automatique Phred de la qualité
- Séquençage traité en **1 essai**
- Echantillons fournis en tubes individuels ou en barrettes de 8 puits 0,2 ml (si séries < à 24)
- Délai de livraison des résultats de **24** heures après réception des échantillons

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence	Prix unitaire €HT
1000 ± 100 bases	Simple brin	SSBN-LCL	<i>De 3,50 à 5,00 selon volume</i>

Séquençage Simple Brin One Shot plaque 96 puits

- Séquençage d'ADN **simple brin** avec lecture supérieure à 900 bases
- Evaluation automatique Phred de la qualité
- Séquençage traité en **1 essai**
- Echantillons fournis en plaques PCR ou en barrettes de 8 puits 0,2 ml (si séries > à 24)
- Délai de livraison des résultats de **24 à 48** heures après réception des échantillons

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence	Prix unitaire €HT
1000 ± 100 bases	Simple brin	SSBN-96	<i>De 2,50 à 4,50 selon volume</i>

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 ». Sinon, nous fournir une plaque « miroir » des amorces si plusieurs amorces différentes doivent être utilisées pour le séquençage de la plaque 96 puits.

Séquençage Double Brin Optimisé

- Séquençage d'ADN **double brin** avec lecture supérieure à 800 bases
- Evaluation automatique Phred de la qualité
- Séquençage traité en **plusieurs essais***
- Délai de livraison des résultats de **24 à 48** heures après réception des échantillons

Longueur de lecture	Type de séquençage	Référence	Prix unitaire €HT
800 ± 100 bases	Double brin	SDBC-750	<i>Sur devis</i>

Cette prestation inclut les 2 séquences sens et anti-sens 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.

Informations techniques et générales

Les amorces universelles sont fournies gratuitement.

Liste non exhaustive des amorces universelles :

Nom de l'amorce	Séquence (5' → 3')
Glprimer1	TGTATCTTATGGTACTGTAAC TG
Glprimer2	CTTTATGTTTTGGCGTCTCCA
M13-For	GTA AACGACGGCCAGT G
M13-For(-40)	GTTTTCCAGTCACGAC
M13-Rev	GGAAACAGCTATGACCATG
M13-Rev (-48)	AGCGGATAACAATTTACAC
M13/pUCR-FW	CCCAGTCACGACGTTGTA AACG
pGEX-3	GAGCTGCATGTGTCAGAGG
pGEX-5	GGCAAGCCACGTTTGGTG
pJET1.2-For	CGACTCACTATAGGGAGAGCGGC
pJET1.2-Rev	AAGAACATCGATTTTCCATGGCAG
SeqL-A-ATTL1	GCGAGAGTAGGGAACTGC
SeqL-B-ATTL2	AACATCAGAGATTTTGAGACAC
Sp6-Prom	GATTTAGGTGACTATAG
SV40-pArev	CCTCTACAAATGTGGTATGG
SV40-Prom	GCCCTAACTCCGCCATCC
T3-Prom	ATTAACCTCACTAAAGGGA
T7-Prom	TAATACGACTCACTATAGGG
T7-Term	GCTAGTTATTGCTCAGCGG
V5-Rev	ACCGAGGAGAGGGTTAGGGAT

S'agissant des amorces non standards à synthétiser, nous pouvons réaliser la synthèse d'après votre séquence (référence SYNT-001 : à partir de 2,50€HT).

Quantité d'amorce nécessaire pour vos échantillons :

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

Vous pouvez fournir un grand volume (100 µM) que nous stockerons jusqu'à 3 mois pour une amorce amenée 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 <http://www.biofidal.com> dans la rubrique « **Download Center** ». Vous trouverez néanmoins ci-dessous un résumé des informations principales à connaître pour préparer vos envois.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

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 0,95€HT par séquence sera facturé (ref EADN-002) Nous vous recommandons d'utiliser des kits de mini-prep (lyse alcaline + colonnes de silice). Diluer l'ADN dans l'eau et vérifier 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 :

Type	Conc ng/µl	Vol µl	Qté µg
Plasmide	50 à 200	5 à 10	0,2 à 2
Cosmide	100 à 400	5 à 10	0,5 à 4
Clone BAC	200 à 1000	5 à 10	2 à 10

• Produits de PCR : Bruts ou purifiés avec la photo du gel d'agarose

Type	Conc ng/µl	Vol µl	Qté µg
100 – 200 bp	2 à 4	5 à 10	10 à 40
250 – 500 bp	2 à 4	5 à 10	10 à 40
550 – 800 bp	5 à 10	5 à 10	25 à 50
1 – 3 kb	10 à 20	5 à 10	50 à 100
5- 10 kb	20 à 40	5 à 10	100 à 400
20 kb	50 à 80	10 à 20	500 à 1000

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

TELECHARGEMENT

Vous trouverez sur notre site <http://www.biofidal.com> dans la rubrique « **Download Center** » 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>



Site web : www.biofidal.com
E-mail : info@biofidal.com

170, Avenue Gabriel Péri
69518 VAULX-EN-VELIN Cedex
FRANCE

TEL : +33 (0) 4 37 45 02 96 – Fax : +33 (0) 4 37 45 02 97

Janvier 2020

