

MIGRACIÓN DE FRAGMENTOS EN SECUENCIADOR AUTOMÁTICO

El “Servicio de Secuenciación y Genotipado” ofrece la posibilidad de analizar fragmentos de DNA obtenidos por PCR mediante equipos automatizados de electroforesis capilar y detección por fluorescencia. Los fragmentos de DNA deberán ser, por tanto, amplificados mediante el uso de primers marcados con fluorocromos (ver Tabla 1).

Tabla 1. Filtros / Dye Sets disponibles.

Filtro / Dye Set	Azul	Verde	Amarillo	Rojo	Naranja	Utilidad de la Matriz
A	6-FAM	JOE	TAMRA	ROX ^{s.s.}		Genotipado fragmentos (microsatélites kit equino,...)
C1	6FAM	TET	HEX	TAMRA ^{s.s.}		Genotipado fragmentos
D	6FAM	HEX	NED	ROX ^{s.s.}		Genotipado fragmentos (AFLPs, microsatélites)
F	6FAM	JOE	NED	ROX ^{s.s.}		Genotipado (microsatélites kit bovino, AFLPs, Forense,...)
E5	dR6G	dR110	dTAMRA	dROX	LIZ ^{s.s.}	SNPs
G5	6FAM	VIC	NED	PET	LIZ ^{s.s.}	Genotipado microsatélites y SNPs

¹ Sólo disponible para Genetic Analyzer ABI PRISM 310. Todos los marcadores fluorescentes son compatibles con el equipamiento disponible en el Servicio (Genetic Analyzers ABI PRISM 310, ABI PRISM-3100 Avant y ABI PRISM 3131XL) a excepción de TET para el que sólo se dispone de filtro en el equipo Genetic Analyzer ABI PRISM 310

^{s.s.} Size Standard o marcador de tamaño específico del filtro o dye-set utilizado. Existen diferentes opciones de tamaño en función de la longitud del fragmento más largo a analizar: GeneScan Size Standard ROX-350, ROX-400, ROX-500; GeneScan Size Standard TAMRA-350, TAMRA-500; GeneScan Size Standard LIZ-500 (Consultar con Soporte Técnico de Applied Biosystems para otras opciones de filtros y Size Standards).

CARACTERÍSTICAS DEL SERVICIO OFERTADO

Existen dos modalidades del servicio ofertado:

- a) Remitiendo el amplificado. El servicio realiza los siguientes pasos:
 - i. Preparación de las muestras
 - ii. Electroforesis capilar en secuenciador automático.
 - iii. Detección de fragmentos de DNA por fluorescencia
 - iv. Cuantificación del tamaño de los fragmentos de DNA mediante el uso de estándares internos.
- b) Remitiendo la muestra preparada para ser introducida directamente en el secuenciador automático. Esta segunda modalidad comprende los puntos ii, iii y iv.

Para la preparación de la muestra se deberá seguir el siguiente protocolo:

- Mezclar el amplificado en formamida añadiendo el marcador de tamaño (a modo orientativo: 8,6 μ l HI-DI Formamida + 0.4 μ l Size Standard específico del tipo de fluorocromos utilizados (ver Tabla 1) +1 μ l Producto de PCR)
- Desnaturalización de la mezcla 5 min. a 95°C
- Una vez desnaturalizada conservar inmediatamente a 4°C. Si el envío se va a realizar en un plazo no superior a 24 horas desde su preparación, mantener a 4°C hasta envío; sino, es preferible congelar a -20°C.

ENVÍO DE MUESTRAS

El volumen total preparado se deberá remitir al Servicio en tubos de 0.5 μ l, 0.2 μ l, tiras de 8 tubos de 0.2 μ l o placas de 96 pocillos. Deberá ir acompañado del Formulario de Solicitud correspondiente. Las muestras deberán llevar rotulado su nombre identificativo o añadir una plantilla para la identificación de los pocillos en el caso de placas.

El envío de las muestras puede realizarse por mensajería o mediante entrega personalizada.

PERSONA DE CONTACTO:
 Fernando Rendo Fonet
 Servicio de Secuenciación y Genotipado
 Fac. Ciencia y Tecnología
 Campus de Leioa - UPV/EHU
 Barrio Sarriena s/n, 48940 Leioa
 Tel.: 94 601 55 16
 Fax: 94 601 35 00
 e-mail: fernando.rendo@ehu.es

ENTREGA DE RESULTADOS

El plazo de entrega de los resultados será habitualmente de 24 horas y en ningún caso superará los 3 días.

Los resultados se remitirán en formato electrónico a través de e-mail. El archivo remitido es de tipo ".fsa". Si el usuario no dispone de los softwares de análisis específicos (GeneScan® o Genotyper®, Applied Biosystems), puede descargar de forma gratuita el programa GeneScan View para la visión y lectura de datos de este tipo de archivos (<http://bmr.cribi.unipd.it/>).

TARIFAS

	Miembros de la UPV/EHU	Centros públicos de investigación	Empresas privadas
Remitiendo el amplificado	4€	6€	8€
Solo migrar*	3€	4,5€	6€