

CHECK-LIST PLATEFORME SEQUENCAGE-GENOTYPAGE 2018 : Microsatellites et Séquences Sanger

Pour accéder à la plateforme il faut au préalable avoir rempli une **fiche d'accueil de projet 2018-2** qui devra être validée par le responsable du plateau.

Accueil de la plateforme : entre 8h45 et 9h30 ou entre 16h et 17h.

En cas d'absence imprévue du personnel, veuillez laisser votre feuille de route sur clef USB et votre plaque dans le frigo sur l'étagère « plaques à passer ».

Les demandes de réservations : par mail (genseq-contact@umontpellier.fr)

le **vendredi matin** pour la semaine suivante.

Lors de ces réservations, indiquer :

- 1- Le nom d'utilisateur, celui du laboratoire et du responsable si vous avez plusieurs projets/responsables.
- 2- Le type d'analyse : séquences ou microsatellites.
- 3- La taille en pb des fragments : 400, 700, 850pb ou 1000pb pour les séquences ; 400pb ou 500pb pour les microsatellites.
- 4- Le nombre d'échantillons à passer : multiple de 24.
- 5- Purification de vos séquences par le robot ? Quel jour ?
- 6- Le jour, matin ou soir, à partir duquel vous pouvez apporter vos échantillons.

Préparation des plaques d'analyses de fragments (microsatellites) :

Seules les plaques semi-jupées compatibles avec les instruments doivent être utilisées.

- 1- Diluer les PCR dans l'eau 20 à 200 fois.
- 2- Préparation plaque de dépôt : 1 à 3µl de **PCR diluée** + 15µl formamide HiDi + 0,2µl marqueur de taille.
- 3- Electrophorèses sur le 24 capillaires :
Pas de puits vides par série de 3 colonnes de 8 puits (3, 6, 9 ou 12 colonnes).
- 4- Les puits (multiple de 24) contiennent suffisamment de Hi-Di formamide.
- 5- **Pas de bulles** dans les puits sinon pulse.
- 6- Inscrire sur plaque : votre nom, nom du laboratoire et le "Nom_de_plaque".
- 7- Mettre un septa.

Préparation des feuilles de route:

- 1- Utiliser le modèle adapté.
- 2- **Lire la notice avant de le remplir.**
- 3- Si vous avez besoin d'un formatage de 4 plaques 96 puits en une plaque 384 puits, renseigner aussi la colonne « Commentaires » avec le nom de votre multiplex par exemple, afin de différencier des noms identiques d'échantillons présents sur plusieurs plaques 96 puits.

N'oubliez pas de venir récupérer vos plaques passées.

Service de séquençage : après accord du plateau et prise de rendez-vous

- 1- Apporter la photo du gel des PCR à séquencer,
- 2- Fournir la ou les amorces à 10µM (40µl pour 96 échantillons),
- 3- Déposer 11µl de produit de PCR dans une plaque semi-jupée, remplir la plaque par colonne, 8 échantillons au minimum par amorce.
- 4- Envoyer le fichier « Demande Service Sequencage ».

genseq-contact@umontpellier.fr

Tél. : 04 67 14 46 89.