

Custom DNA Sequencing



Hokkaido System Science Co., Ltd.

目次

Bio Total Solution	1
--------------------	---

目次	2
----	---

DNA シーケンス受託解析サービス

1. Single Extension	3
2. Primer Walking	4
3. プレートシーケンス 96	5
4. ユニバーサルプライマーリスト	5
5. 微生物同定	6
6. SNP 解析	6
7. オプションサービス	7
① プライマー設計・合成	7
② PCR 増幅	8
③ シーケンスサンプル精製	8
④ クローニング	8

ご依頼方法	9
-------	---

注意事項・お問い合わせ	10
-------------	----

DNA シーケンス受託解析サービス

品質の高い合成オリゴ技術を活かした迅速なシーケンス解析により、お手元に品質の高いシーケンスデータをお届けいたします。研究室専属のシーケンシング部門としてご活用ください。



1 Single Extension

Single Extension サービスでは、DNA サンプルとプライマーをご提供いただき、DNA サンプルの塩基配列を決定いたします。迅速且つ正確な作業により、2 営業日以内に解析結果をご報告いたします。

▼製品仕様

ご準備いただく物：サンプル、プライマー、ご依頼書、アガロースゲル電気泳動写真

サンプル必要量 (1 反応あたり)

プラスミド	100-300ng/μl 以上、10μl 以上
PCR 産物*	10ng/μl 以上、10μl 以上

プライマー必要量 (1 反応あたり)

カスタム	10μM 以上、10μl 以上
ユニバーサル	P5 参照

サンプルサイズにより、上記よりも高濃度に調整いただく場合もございます。

※ PCR 産物は、PCR 反応後必ず精製を行ってください。

納期：サンプル到着後「2 営業日」以内

※ プライマー合成をご希望される場合「+1 営業日」となります。

※ ご依頼サンプル数によりましては、お時間を頂く場合がございます。

平均解析長：約 500bp ※ サンプルの状態により異なります。

納品：配列データ / 波形チャート

* シーケンス解析の特性上、プライマーの 3' 末端から数十 base 程度の部位の解析は困難になります。

* シーケンス解析の成功率は DNA サンプルの濃度、精製度、塩基組成により異なります。

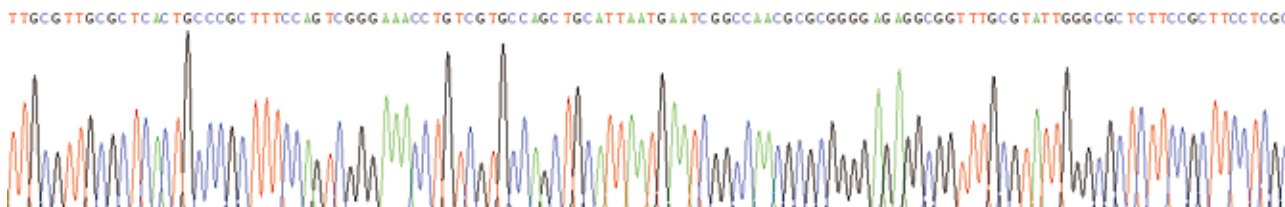
特殊な配列 (ホモポリマー、GC rich、繰り返し配列など) によっては、データが全く得られない場合がございますので、予めご了承ください。

* 当社の通常サイクルシーケンス反応のアニーリング温度は 50°C で行っております。

カスタムプライマーをご提供いただく場合は Tm 値にご注意ください。

* mix primer をご使用される場合、シーケンス解析の成功率は低くなります。

解析難配列はできる限り条件の最適化をいたします。事前にご相談ください。



2 Primer Walking

Primer Walking サービスでは、DNA サンプルをご提供いただき、プライマーウォーキング法により長鎖の塩基配列を決定いたします。

プライマー設計・合成・シーケンス解析・データアSEMBルを含めたサービスです。

解析の目的に合わせて片鎖解析 (SSS)、両鎖解析 (DSS) のいずれかをご選択ください。

▼製品仕様

作業内容：プライマー設計・合成、シーケンス反応、シーケンス解析、データアSEMBル

ご準備いただく物：サンプル、プライマー、ご依頼書、アガロースゲル電気泳動写真

サンプル必要量 (1 反応あたり)

プラスミド	100-300ng/μl 以上、必要量※ ¹
PCR 産物	10ng/μl 以上、必要量※ ²

プライマー必要量 (1 反応あたり)

カスタム	10 μM 以上、10 μl 以上
ユニバーサル	P5 参照

※¹ DNA サンプルの送付量は、ご希望の解析塩基数により異なります。サンプルは 1 回の反応で 1-5 μl 使用いたします。1 回の反応で約 500 塩基解読できるものと仮定し、できる限り多目にご提供ください。

※² PCR 産物は、PCR 反応後必ず精製を行ってください。

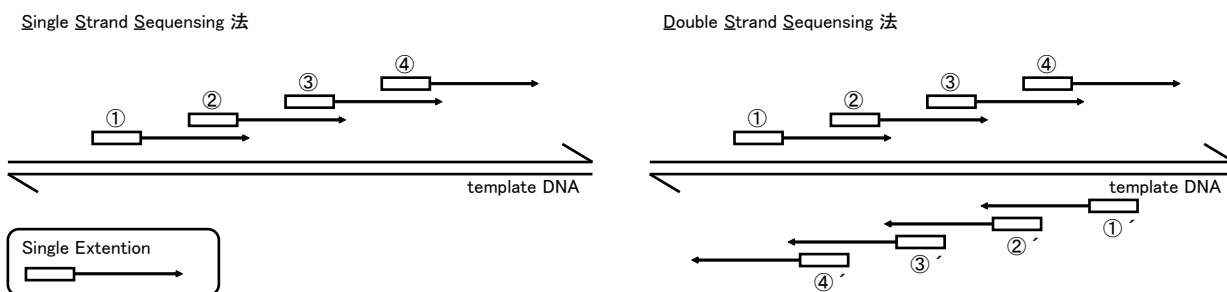
納期：解析希望塩基鎖長により変動いたします。

解析希望塩基鎖長をご指定の上、別途お問合わせください。

納品：合成プライマー、CD-R

[CD-R 収録内容] 配列データ、波形チャート、プライマー情報、アSEMBルデータ

※ 解析の進行に合わせて 1 反応で得られた結果を随時ご報告することも可能です。



※ 1 回のシーケンス反応で解読できる平均鎖長は約 500 塩基です。ご希望の解析塩基鎖長に応じて、必要数の解析を繰り返し実施いたします。

例) 約 3.0kb の Primer Walking (SSS) をご希望の場合、通常、約 6 回 (3,000bp ÷ 500bp/回 = 6 回) のシーケンス反応を実施いたします。

Custom DNA Sequencing

3 プレートシーケンス 96

プレートシーケンス96では、96wellプレート単位で調整いただいたサンプルをご提供いただき、塩基配列を決定いたします。EST解析、Point配列解析などの多解析に最適です。

▼製品仕様

ご準備いただく物：サンプル、プライマー、ご依頼書、サンプルシート、アガロースゲル電気泳動写真

サンプル必要量 (1well/1 反応当たり)

プラスミド	100ng/μl、10μL 以上
PCR 産物	50ng/μl、10μL 以上

プライマー必要量 (1well/1 反応当たり)

カスタム	3.2pmol/μl、5μl 以上 / 反応
ユニバーサル	P5 参照

- ・ サンプルは精製済み鋳型 DNA を 96well プレート単位でご提供ください。
- ・ PCR 産物は、PCR 反応後必ず精製を行ってください。
- ・ 解析用プライマーが 4 種以内 / 1 プレートの場合は、プライマーはチューブでお預かりいたします。
- ・ 解析用プライマーが 4 種 / 1 プレートを超える場合は、鋳型 DNA が整列したサンプルプレートと対応するプライマープレートをご用意ください。
- ・ 1 プレートが 96 サンプル未満の場合でも 1 プレート単位でのお取り扱いとなります。

納期：サンプル到着後 10 営業日

- ・ プレート数・オプションの有無などのご依頼内容によって納期が変動する場合がございます。予めご了承ください。

納品：ABI フォーマットにて波形チャート及び配列データを CD-R にて納品いたします。

- ※ DNA シークエンサ本体・消耗品・試薬に問題があり良好なデータが得られない場合は、再度作業を実施いたします。それ以外の原因（詳細な原因調査は料金に含まれておりません。）にて良好なデータが得られない場合、お客様にご連絡した上で再度シーケンスを実施することも可能ですが、この場合、新規のご依頼扱いとなります。予めご了承ください。
- ※ シーケンス解析の特性上、プライマーの 3' 末端から数十 base 程度の部位の解析は困難になります。
- ※ シーケンス解析の成功率は DNA サンプルの濃度、精製度、塩基組成により異なります。特殊な配列（ホモポリマー、GC rich、繰り返し配列など）によっては、データが全く得られない場合がございますので、予めご了承ください。

4 ユニバーサルプライマーリスト

弊社では、受託シーケンス解析サービスにて無料をご利用いただけるユニバーサルプライマーをご用意しております。必要に応じて、下記リストの中からご選択ください。

T7 promoter	TAA TAC GAC TCA CTA TAG G	SK	CGC TCT AGA ACT AGT GGA TC
T7 terminator	GCT AGT TAT TGC TCA GCG G	KS	TCG AGG TCG ACG GTA TC
T3	AAT TAA CCC TCA CTA AAG GG	SP6	TAT TTA GGT GAC ACT ATA G
M13FW	GTA AAA CGA CGG CCA GT	U-19mer	GGT TTT CCC AGT CAC GAC G
M13RV	GGA AAC AGC TAT GAC CAT G	RV3	CTA GCA AAA TAG GCT GTC CC
M13 P1	GTA AAA CGA CGG CCA GT	RV4	GAC GAT AGT CAT GCC CCG CG
M13 P2	AGT CAC GAC GTT GTA	GL1	TGT ATC TTA TGG TAC TGT AAC TG
M13 P3	CCA GTC ACG ACG TTG TA	GL2	CTT TAT GTT TTT GGC GTC TTC CA
M13 P4	GTT TTC CCA GTC ACG AC	pGEX5' Amersiam	GGG CTG GCA AGC CAC GTT TGG TG
M13 P5	CAG GAA ACA GCT ATG AC	pGEX3' Amersiam	CCG GGA GCT GCA TGT GTC AGA GG
M13 P6	CAC AAT TCC ACA CAA C	BGH-Reverse	TAG AAG GCA CAG TCG AGG
M13 P7	CGC CAG GGT TTT CCC AGT CAC GAC		
M13 P8	AGC GGA TAA CAA TTT CAC ACA GGA AAC		
M13 M4	GTT TTC CCA GTC ACG AC		

5 微生物同定

微生物同定サービスでは、バクテリアサンプルをご提供いただき、16S rRNA 遺伝子上流部（約 500bp）の塩基配列に基づく、バクテリアの簡易同定を実施いたします。

純粋培養された菌体をお送りいただくだけで、短期間で同定結果をご報告いたします。

※ 16S rDNA 全長解析、及び、真菌類（カビ、酵母）につきましては、別途お問い合わせください。

▼製品仕様

作業内容：菌体からの DNA 抽出、16S rDNA 上流部（約 500bp）の増幅、シーケンス解析（両鎖）、データベース検索、近縁種リスト作成

本サービスにおいては、Applied Biosystems 社の下記試薬 Kit を使用しております。

DNA 抽出	PrepMan™ Ultra Sample Preparation Reagent
PCR 増幅	MicroSeq® 500 16S rDNA PCR Kit
シーケンス	MicroSeq® 500 16S rDNA Sequencing Kit

[サービスフロー]



納期：約 1 週間

納品：作業報告書（同定結果）、シーケンスデータ

6 SNP 解析

SNP解析サービスでは、DNAシーケンスにより得られた塩基配列を、予めご提供いただくリファレンス配列と比較することでSNP部位を決定いたします。

既知SNPのタイピングから新規SNPの探索までシーケンシングをベースとしたSNP解析をお引き受けいたします。

▼製品仕様

作業内容：ご希望に応じて、PCR プライマー設計からシーケンス、データ解析まで、様々な工程からの作業をお引き受けいたします。

本サービスにおいては、Applied Biosystems 社の SeqScape® Software を使用して、データ解析を実施しております。

Quality Values（QV 値）を表示可能な最適化されたベースコールアルゴリズムにより、高精度なデータをご提供いたします。

納期：作業内容により変動いたします。別途お問い合わせください。

納品：作業報告書、CD-R 等

[CD-R 収録内容] 配列データ、波形チャート、SNP 情報、リファレンス配列情報 等

7 オプションサービス

弊社シーケンスサービスにおきましては、シーケンスサンプル調整の前処理として、各種オプションサービスをご用意しております。

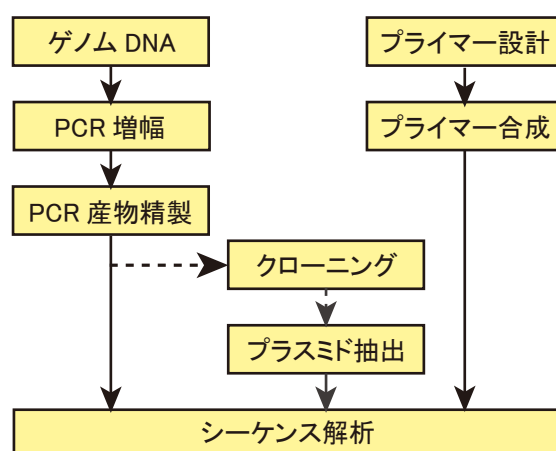
オプションサービスを組み合わせ、サンプル調整からシーケンスまでの一連の解析をサポートいたします。

▼オプションサービス内容

- ① プライマー設計・合成
- ② PCR増幅
- ③ シーケンスサンプル精製
 - ・プラスミド抽出
 - ・カラム精製
 - ・ゲル切り出し精製
- ④ クローニング

納期・納品：作業内容によりことなります。
お気軽にご相談ください。

シーケンスオプション体系



① プライマー設計

ご提供いただいた配列情報をもとに、シーケンス解析に最適なプライマーの設計を行います。

▼PCR 増幅用プライマー設計

ダイレクトシーケンシングを目的とした PCR 増幅用プライマーを設計いたします。
事前に解析したい領域、生物種情報、対象遺伝子のアクセッション No. 等をお知らせください。

納期：約 1 週間

▼シーケンス用プライマー設計

シーケンス解析結果、または近隣の配列情報をもとに、シーケンス用プライマーを設計いたします。
一部の既知配列をもとにウォーキングを行いたい場合などに便利です。

納期：2 営業日

※ ご依頼本数が多本数の場合は、別途納期をいただく場合がございます。
10 本を超える場合は、ご相談ください。

② PCR 増幅

シーケンス解析の前処理として、目的領域の PCR 増幅を行います。

▼製品仕様

ご準備いただく物：精製済みのゲノム DNA、プライマーセット※、増幅確認済み PCR 条件

※ プライマーの設計・合成が必要な場合は、弊社にてお引き受けすることも可能です。

使用試薬：増幅に用いる Taq polymerase は、弊社販売の LaboPass™ Products Taq polymerase 試薬キットを使用いたします。

納期：プライマーの有無、検体数等により変わります。ご依頼時にご相談ください。

③ シーケンスサンプル精製

弊社販売の LaboPass™ Products DNA Purification 試薬キットを利用し、サンプルの精製を行います。

▼プラスミド抽出

大腸菌からプラスミドの抽出を行います。

▼PCR 産物精製

カラム精製：残存プライマーや dNTP の除去を目的とした簡易精製です。

ゲル切り出し精製：目的産物のバンドをゲルから切り出して精製いたします。

納期：3 営業日

※ 精製後の収量はご提供いただくサンプルに依存します。同一サンプルで複数回の解析を予定される場合は、サンプル残量によりましては、再度精製料金を追加させていただく場合がございます。

※ サンプル数、解析の状況により別途納期をいただく場合がございます。

④ クローニング

ご希望の DNA 断片をご指定のプラスミドベクターに挿入し、塩基配列を確認いたします。

▼製品仕様

ご準備いただく物：DNA 断片、プラスミドベクター、インサートの予想配列、ベクター情報

※ クローニング後、シーケンス解析を実施するクローン数は、事前にご指定ください。

※ 制限酵素処理、PCR 増幅、逆転写反応等、DNA 断片の調整からお引き受けする事も可能です。

納期：3 週間～

※ インサート長やご希望の作業内容により変わります。ご依頼時にご相談ください。

ご依頼方法

依頼書をダウンロード

ステップ①

ご依頼書を弊社 HP (URL : <http://www.hssnet.co.jp>) よりダウンロードしていただき、必要項目にご記入の上、添付ファイルとして E-mail を seq@hssnet.co.jp まで送信ください。

ご注文 (E-mail)

ステップ②

依頼書送付後、必要項目をご確認の上、

- サンプル
- プライマー
- 電気泳動写真
- ご依頼書

以上 4 点を合わせて、下記まで送付ください。ご送付の際は、「**シーケンスサンプル在中**」と明記いただけますよう、お願いいたします。

サンプル送付

サンプル送付先	〒001-0932 北海道札幌市北区新川西 2 条 1 丁目 2-1 北海道システム・サイエンス株式会社 シーケンスチーム 宛 TEL : 011-768-5901/FAX : 011-768-5951	
お問い合わせ先	TEL : 011-768-5901 E-mail : seq@hssnet.co.jp	FAX : 011-768-5951 URL : http://www.hssnet.co.jp

サンプル到着日 (受注日)

- ※ 土・日・祝日のサンプルの受取は行っておりません。予めご了承ください。
- ※ サンプル送料は、実費お客さまのご負担となります。
- ※ お預かりした DNA サンプル・プライマーの保管・返却は行っておりません。予めご理解・ご了承ください。

注意事項（シーケンスサービス共通）

○ サンプル送付に関して

- * ご依頼書は、必要事項をご記入の上 E-mail にて seq@hssnet.co.jp まで送付ください。FAX によるご注文は文字が不明瞭となりますのでご注意ください。
- * サンプルは、冷蔵便もしくは冷凍便にてお送りください。
- * 不慮の事故による液量の損失、コンタミネーションを防ぐ為、サンプル送付の際は、必ず破損を防ぐ処置を講じてください。
- * 0.2ml や 0.5ml チューブでは、輸送の際にチューブの破損が多く見られます。チューブにてご提供いただく場合は 1.5ml チューブでの送付をお願いいたします。
- * 弊社の誤りに起因する紛失・破損に関するクレーム以外の輸送時等に生じた損失・損害等については、責任を負いかねますので予めご了承ください。
- * サンプル到着後、受け取り確認と予定納期を E-mail にてご連絡します。サンプル送付後、返答がない場合はお手数ですがご一報ください。
- * シーケンス解析で使用したサンプル・プライマーの保管及び返却は行っておりません。原則として、シーケンス解析終了後破棄させていただきますので予めご了承ください。
- * 土・日・祝日はサンプルの受け取りを行っていません。

○ その他

- * 製品の規格仕様・サービス内容などにつきまして、予告なしに変更することがあります。
- * 受注後、実作業に入ってからキャンセルはサービスの仕様上お受けいたしかねます。
- * ご依頼いただくサンプルは、文部科学省の「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」（カルタヘナ法）における P1、P2 レベルのサンプルに限らせていただきます。
- * 血液、体液、抽出された組織、病原性菌体、感染性ウィルスパーティクル等の受け入れは弊社では行っていません。サンプルは DNA の状態まで調整していただきますようお願いいたします。
- * 個人情報に関わるサンプルは、解析依頼元の倫理委員会等で遺伝子解析研究に用いられることの承認が得られており、かつ解析依頼元で匿名化されたものに限定させていただきます。
- * 本受託解析サービスは、試験研究を目的にご利用ください。その他の目的（医療品・食品の製造・品質管理や医療診断など）には使用しないでください。
- * 本受託解析サービスにより得られた結果が原因となり生じた損失・損害等について、サービスの仕様上、責任を負いかねます。
- * ご提供・ご指示いただくサンプルや手法から生じる工業所有権・安全性などの問題については、一切責任を負いかねます。

お問い合わせ

項目	ご相談例	担当部署
請求書、お支払いに関して	・ 全製品の請求書、お支払いに関するお問い合わせ	受注管理（請求） 0120-613-190（代表）※ 011-768-5903（直通）
シーケンス	<ul style="list-style-type: none"> ・ シーケンス解析サービスに関する注文方法やサンプルの送付方法等について ・ シーケンス解析、SNP 解析、微生物同定サービスに関する技術相談 ・ 長鎖のシーケンス等の技術相談 ・ シーケンス解析データに関するお問い合わせ 	シーケンスチーム 0120-613-190（代表）※ 011-768-5903（直通）

※代表番号より、各担当部署へお取次ぎいたします。



北海道システム・サイエンス株式会社

Hokkaido System Science Co., Ltd.

URL : <http://www.hssnet.co.jp>

本 社

〒001-0932 札幌市北区新川西2条1丁目2-1

TEL : 011-768-5901 FAX : 011-768-5951

E-mail: seq@hssnet.co.jp

全国拠点: 札幌、つくば、東京、関西、福岡

販売代理店