



Departamento de Ecología, Genética y Evolución

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires
Int. Güiraldes 2620
Ciudad Universitaria - Pab. II, 4° Piso
1428 Ciudad de Buenos Aires
Argentina
Tel: +54 1 576-3349
Fax: +54 1 576-3333
Commutador: 576-3300 al 39 Int.: 219

SERVICIO DE SECUENCIACIÓN Y GENOTIPIFICADO INSTRUCTIVO: SECUENCIACIÓN

CÓMO CONTACTARNOS

Responsables de la Unidad de Secuenciación

Dra. Viviana Confalonieri

Grupo de Investigación en Filogenias Moleculares y Filogeografía (GIFF) - Dpto. de Ecología, Genética y Evolución - Laboratorio 60
Pabellón II - Ciudad Universitaria - Universidad de Buenos Aires

Dr. Esteban Hasson

Evolución - Depto. de Ecología, Genética y Evolución - Laboratorio 43
Pabellón II - Ciudad Universitaria - Universidad de Buenos Aires

Encargada del Servicio

Dra. B. Xoana Granata

e-mail: secuenciador@ege.fcen.uba.ar

Entrega y recepción de muestras

Entrega personal

Las muestras se recibirán jueves y viernes de 11:00 a 12:30hs y de 14:00 a 16hs en el laboratorio 109, 4° piso, Pabellón II, Ciudad Universitaria.

Envío por correo

Unidad de Secuenciación – Dpto. de Ecología, Genética y Evolución - Laboratorio 109. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Intendente Güiraldes 2160, Ciudad Universitaria, Pabellón II, 4° Piso, 1428, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Por favor, comunicar por e-mail el envío de las muestras por correo para su seguimiento

Condiciones de recepción de las muestras para Secuenciación

TEMPLADO

- Los productos de PCR a secuenciar deben estar purificados y cuantificados de la manera más precisa posible. La concentración requerida por el servicio dependerá del tipo y tamaño de templado (ver Tabla).
- Deben ser entregadas en un paquete (bolsita, caja, etc.) que contenga los datos del usuario y la misma fecha que figura en la planilla correspondiente (Formulario Secuenciación).
- La planilla solamente debe ser enviada vía e-mail a secuenciador@ege.fcen.uba.ar. *No es necesario traer una copia impresa.*
- Por cada reacción de secuenciación deben enviarse entre 5 y 10µl de muestra, en microtubos de 1,5ml.
- Tener en cuenta que una reacción de secuenciación es la sumatoria de un templado (producto de PCR o plásmido) y un primer, sea este forward o reverse. Entonces, si la misma muestra se secuencia en ambos sentidos, eso constituye dos reacciones de secuenciación.

Concentración necesaria según tipo y tamaño de templado

Templado (pb)	Concentración (ng/µl)
<i>Producto PCR</i>	
100-200	3-5
200-500	5-15
500-1000	15-25
1000-2000	25-40
mayor a 2000	50
<i>Plásmidos</i>	100

El éxito de la reacción de secuenciación depende en mayor medida de una cuantificación correcta. El servicio no se hace responsable si falla la reacción por este motivo.

PRIMERS

- Deben enviarse por separado en microtubos de 1,5ml. Rotular la tapa del microtubo con el nombre del primer de acuerdo a la nomenclatura empleada en la planilla correspondiente.
- Por cada reacción de secuenciación deben enviarse al menos 2 µl de primer en una concentración de 5 uM o 20 ng/µl.
- Si el primer se usa para más de una reacción se debe enviar un volumen suficiente para todas las reacciones solicitadas, considerar 2µl de primer por cada reacción.

CÓMO COMPLETAR EL FORMULARIO SECUENCIACIÓN

- Completar los campos referidos al usuario:

1	A	B	C	D	E	F
2	Responsable del Grupo:					
3	Fecha:					
4	Usuario:					
5	Institución:					
6	e-mail:					
7					TEMP	
8						
9	Reaccion No.	Muestra	Tipo de muestra	Tamaño (pb)		
10						

Selecione de la lista desplegable y arrastre hacia abajo

- Completar los campos referidos a las muestras y primers:

Reacción No.	Muestra	Tipo de muestra	TEMPLADOS			PRIMER		
			Tamaño (pb)	Método Purificación	Cuantificación (ng/μl)	Primer	Condición	Tm
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								

Selecione de la lista desplegable y arrastre hacia abajo

Selecione de la lista desplegable y arrastre hacia abajo

- En la columna “muestra” debe figurar el nombre del templado y debe corresponderse con el rótulo en el tubo.
- En la columna “tipo de muestra” debe figurar si se trata de un producto de PCR o un plásmido. Para completar dicha columna, emplear el menú desplegable que aparece al posicionarse en la celda y seleccionar la opción que corresponda:

TEMPLADOS			
Muestra	Tipo de muestra	Tamaño (pb)	Método
	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;"> Tipo de muestra <ul style="list-style-type: none"> PCR Plásmido </div>		

Selecione de la lista desplegable y arrastre hacia abajo

- En la celda “condición” debe seleccionar del menú desplegable si el primer indicado está almacenado en el Servicio (seleccione: “almacenado”) o si dicho primer está siendo enviado junto con las muestras (seleccione: “nuevo”):

PRIMER		
Cuantificación (ng/μl)	Primer	Condición
		<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;"> Condición <ul style="list-style-type: none"> Almacenado Nuevo </div>

Selecione de la lista desplegable y arrastre hacia abajo

- Si usted va a necesitar más reacciones de las que aparecen en la planilla, simplemente agréguelas a continuación. No hay límite de reacciones.

RESULTADOS

- El plazo de entrega de resultados es de una semana, de viernes a viernes. Es decir, todas las muestras recibidas entre jueves y viernes serán procesadas de forma de recibir los resultados para el viernes de la semana siguiente a su entrega.
- La entrega de resultados queda sujeta a feriados, vacaciones y demás circunstancias que puedan alterar el funcionamiento del Servicio. Estas excepciones serán debidamente avisadas por e-mail a los usuarios.
- Serán enviados vía e-mail en formato .abi y .phd, en un archivo adjunto comprimido (zip/rar).

Los resultados no serán enviados hasta que el pago del servicio no haya sido debidamente realizado.

REPETICIONES

- Se contemplarán casos, donde por fallas propias del Servicio, sea necesario realizar la reinyección de muestras.
- Si la falla en la reacción de secuenciación se debe a que la muestra estuviera subcuantificada, sobrecuantificada, contaminada, o cualquier otra circunstancia ajena al Servicio, la repetición de la misma quedará a cargo del usuario, es decir, si usted decide repetir esta reacción deberá ser abonada nuevamente.

CONSERVACIÓN DE MUESTRAS Y PRIMERS

- Los templados podrán ser almacenados en el Servicio durante un periodo no mayor a tres meses.
- Los primers podrán ser almacenados en el Servicio durante un periodo no mayor a un año.
- En ambos casos, el usuario deberá especificar su deseo de almacenar sus muestras y primers, de lo contrario serán descartados luego de entregados los resultados correspondientes. Para esto, deberá emplear las celdas del Formulario Secuenciación correspondientes, seleccionando del menú desplegable la opción que corresponda:

G	H	I	J
USFCEyN			
	Almacenar muestras?		
	Almacenar primers?	Sí No	
			Seleccione de la desplegable y añ hacia abajo

G	H	I	J
USFCEyN			
	Almacenar muestras?		
	Almacenar primers?	Sí No	
			Seleccione de la desplegable y añ hacia abajo

- Si el usuario necesita obtener de vuelta sus propias muestras, deberá aclararlo y retirarlas por el Servicio.