

## Prestations Genoscope : pré-requis

Pour une meilleure efficacité dans notre travail, nous souhaitons recevoir des matériels préparés et vérifiés dans les conditions suivantes :

### I- Clonage :

Indiquer les caractéristiques du génome étudié (taille, %G-C)

1- Construction de banque de BACs, miniBACs ou fosmidés : **100µg**/banque  
Fournir une vingtaine de plugs Low-Melting Point de culots cellulaires ; la densité de chaque plugs doit être voisine de  $1 \text{ à } 5 \times 10^8$  cellules.

2- Construction de banque de plasmides : **50µg minimum**/ banque.  
L'ADN génomique est fourni en solution dans du TE 1X accompagné des photos des digestions par Sau3A et HindIII

3- Traitement de ligations :

Indiquer

- \* les résultats de titration
- \* le pourcentage de recombinants (ratio blanc/bleu dans le cas de lacZ)
- \* les caractéristiques du clonage : nom du vecteur, site de clonage, taille de l'insert,

### II- Sous-clonage : à partir de BACs, fosmidés, cosmides

Fournir :

- \* l'ADN de référence
- \* une photo du fingerprint et le nom des enzymes utilisés.
- \* les caractéristiques du clonage : nom du vecteur, site de clonage, souche hôte, taille de l'insert

### III- Repiquage :

\* à partir de produit de ligation :

Indiquer :

- \* les résultats de titration
- \* le pourcentage de recombinants (ratio blanc/bleu dans le cas de lacZ)
- \* les caractéristiques du clonage : orienté ou non, nom du vecteur, adaptateurs, site de clonage, taille de l'insert.

\* à partir d'une suspension de clones transformants

Indiquer :

- \* le pourcentage de recombinants (ratio blanc/bleu dans le cas de lacZ) ;
- \* l'efficacité de la transformation
- \* les caractéristiques du clonage : nom du vecteur, site de clonage, souche hôte, taille de l'insert

**Important** : si la souche n'est pas T1 résistante, fournir un aliquot de la souche utilisée (test phages).

## Prestations Genoscope : pré-requis

### IV-Séquençage « Sanger » :

à partir de clones répartis en plaques de microtitration Génétix format 384  
(Référence X7001 chez Proteigene)

**Important** : remplir les puits à **70µl** et assurer l'ensemble plaque + couvercle à l'aide de **film étirable** (type Saran) : **ne pas utiliser de pad ni de parafilm**

\* Faire une livraison unique et l'accompagner de la liste des plaques avec leur nomenclature. En cas de discordance entre la liste et la nomenclature réelle des plaques, la liste sera corrigée en conséquence.

\* Fournir une copie de la banque mère en plaques 384, complètes. Le cas échéant, signaler les puits vides connus.

\* Toutes les plaques d'une même banque doivent être homogènes en vecteur, site de clonage et souche hôte

\* Préciser le mode de conservation :

\* Milieu :

2YT

autre .....

\* Antibiotique : .....

\* Concentration en glycérol : maximum 7.5%

\* Souche hôte : **E.coli DH10BT1 résistante**

**Important** : si la souche n'est pas T1 résistante, fournir un aliquot (test phages).

\* Donner les caractéristiques techniques de chaque banque : clonage orienté ou non, nom du vecteur, adaptateurs, site de clonage, taille de l'insert

### V- Séquençage « haut débit » :

\* Fournir 20µg minimum d'ADN en solution dans du TE 1X

\* Préciser : type (cdna,srna,pcr,BACs...), adaptateurs ( taille, séquence), taille estimée(Mb,kb,pb),quantité, concentration, volume, particularités connues(ex : %G-C)

Si ces pré-requis vous posent problème, merci de contacter :

Patrick Wincker/Julie Poulain

Tel : 01 60 87 25 68/01 60 87 25 67

e-mails : pwincker@genoscope.cns.fr  
poulain@genoscope.cns.fr