

Ecoli NightSeq®

Préparation de l'échantillon

Matériel de départ

• Colonie d'*E. coli*

Cultivez votre *E. coli* sur des plaques d'agar suffisamment longtemps pour avoir un diamètre de colonie d'au moins 1 mm. Cela permet d'obtenir une densité cellulaire élevée et est une condition préalable pour un séquençage fiable.

• 5 µl d'une suspension bactérienne

(par exemple, culture liquide LB).

• 1 µl d'ADN plasmidique (si les concentrations sont extrêmement faibles)

Outre *E. coli*, d'autres bactéries Gram-négatives peuvent également être séquencées (par ex. *Pseudomonas aeruginosa* tué par la chaleur). Veuillez demander des détails.

Procédure

1. Centrifuger brièvement le tube/plaque¹ pour éviter la présence de liquide sur le couvercle/feuille. Retirez délicatement la feuille d'étanchéité des plaques.

2. Portez des gants de protection et utilisez un cure-dents² pour prélever la plus grande partie possible de la colonie d'*E. coli* et l'inoculer dans nos tubes/plaques. Faites tourner le cure-dent pendant quelques secondes pour transférer autant de cellules que possible dans le liquide.

Dans le cas d'une suspension bactérienne/plasmide, utilisez une pipette pour ajouter les volumes spécifiques.

Pour les plaques : Veuillez remplir les plaques en **ordre vertical** (pas horizontal !) et **évit**ez les **puits vides** entre des puits pleins.

3. **Pour profiter pleinement de l'avantage du temps, créez un réplica juste après :** Utilisez le même cure-dent pour inoculer un milieu LB contenant des antibiotiques pour produire une culture d'une nuit (ou l'ensemencer sur une nouvelle plaque de gélose). L'autocollant supplémentaire fourni peut être utilisé pour étiqueter votre réplica.

4. Connectez-vous à notre boutique en ligne à l'adresse www.microsynth.com pour passer votre commande pour le service Ecoli NightSeq®.

5. Enfin, mettez votre/vos échantillon(s) dans un sac en plastique transparent et déposez-le dans la boîte de dépôt d'échantillons la plus proche. Aucune incubation n'est nécessaire.

6. Vos résultats de séquençage seront disponibles le jour ouvrable suivant avant 14 heures pour les tubes et à partir de 15 heures pour les plaques.

¹ Les tubes et les plaques sont livrés avec les étiquettes code-barres.

² Ou un objet similaire pouvant être utilisé à cette fin, comme un embout de pipette, etc.

Il suffit de coller une **étiquette à code-barres rouge** sur votre tube/plaque d'échantillon comme indiqué sur l'image. Veuillez ne pas coller d'autocollant sur le couvercle et ne l'emballez pas avec du parafilm !

Remarque : Ne jamais faire de prémélange avec l'amorce. Joignez un tube séparé d'amorce spécifique (aliquotes de 10 µM).



Support à la clientèle

Microsynth France SAS

170 Av. Gabriel Péri

69120 Vaulx-en-Velin

France

Phone: +33 4 37 45 02 96

Email: info@microsynth.fr