

# サンガー解析利用の発展サービス

- お見積もりやお問い合わせは下記まで  
Molgen.Japan@genewiz.com



## ■ 核酸 (gDNA/RNA) 抽出

細胞ペレット、新鮮凍結組織、全血、唾液、綿棒、植物、細菌、カビ、酵母等。  
サンガー法を利用した解析サービスでご提出いただく様々なサンプルからの核酸抽出を承ります。



## ■ 細菌および真菌種の同定

クローン化された細菌・真菌種の16S/ITS rRNA配列、それぞれ1.5 Kb、0.6 KbをPCR増幅、全長をDNAサンガーシーケンスにより解析します。細菌ペレット等からのDNA抽出も承ります。



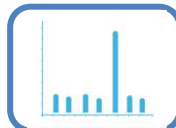
## ■ カスタムSNP解析

ご希望のSNPをシーケンシングにより解析。PCR増幅用のプライマー設計および合成、PCR増幅とその後の精製からダイレクトシーケンシングとレポート作成まで、フルサポートのサービスです。各種サンプルからのゲノムDNAおよびRNA抽出も承ります。



## ■ シーケンシングハイブリドーマ

ハイブリドーマ細胞からモノクローナル抗体の重鎖と軽鎖を含む可変領域および定常領域をクローニング、シーケンス解析します。さらにクローニングした抗体配列をプラスミドの状態での納品も可能。ご提出のサンプルは精製済みのRNAのほか、細胞ペレット等からのRNA抽出も承ります。



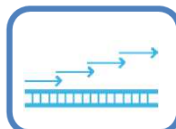
## ■ 細胞株検証

ショートタンデムリピート (STR) を利用した細胞株検証を行い、ご提出の細胞株がリファレンスのSTRデータベースに一致しているかを確認。



## ■ CRISPRゲノム配列検証

ゲノム編集後のジェノタイプングでお困りではありませんか？ゲノムDNAあるいは対象領域のアンプリコンをご提出、ゲノム編集後の配列を確認します。編集後のゲノムがヘテロの場合にはアンプリコンをクローン化して配列解析も可能。両アリの配列を個別に確認可能です。



## ■ プライマーウォーキング

作成したプラスミドの配列検証、配列不明プラスミドの配列確認

# 次世代シーケンシング/遺伝子合成受託サービスとの相互利用



## 二本鎖DNA合成の配列確認

- 人工遺伝子合成の二本鎖DNA合成サービスFragmentGENEによりサブクローニング用のインサートを準備、これによりPCR増幅等の作業にかかる時間を節約
- ベクターにサブクローニング、サンガーシーケンス解析サービスで配列を確認



## 多型の確認検証

- 全ゲノムシーケンシングあるいは全エクソームシーケンシングにより塩基置換や挿入欠失を同定
- 対象領域をPCR増幅、サンガーダイレクトシーケンス解析により多型を検証

## DNA解析サンプルの準備と梱包方法

- サンプル調製は弊社ウェブサイトの『サンプル調製ガイドライン』参照
- 8連チューブあるいは96ウェルプレートで提出 (8サンプル未満でも8連チューブは切り取らず使用、40サンプル以上の場合プレート推奨)
- サンプルチューブにはご登録メールアドレスの最初の2文字とサンプル番号を記入
- プライマー送付には1.5 mlチューブを使用、プライマー名と濃度を記載
- 輸送中にサンプル溶液の漏出を防ぐよう、サンプルをご用意、梱包
- 60-で始まるご注文番号の記載されたオーダーレシートを同梱、印刷できない場合はご注文番号を明記

## サンプルの発送方法

- 未反応のDNAサンプル (プラスミド、PCR産物) は基本常温輸送
- Read-to-loadサンプルは乾燥後、遮光、保冷剤同梱で常温発送
- 大腸菌クローン、グリセロールストックは内面左下ページを参照
- DropBoxによる無料回収は、都内周辺およびその他一部地域で展開、ご利用状況により地域を拡大予定
- DropBoxのご利用できない地域では、発送先貼付済みのコンパクトボックスを無償配布、6反応以上で送料無料 (着払い)、6反応未満の場合は元払いにて発送、Read-to-loadサンプルは16反応以上で送料無料
- 発送先住所は下記左、弊社日本ジーンウィズ宛

©2021 GENEWIZ Inc. 本サービスは研究用のみに使用できます。診断目的に使用することはできません。当印刷物に記載されている会社名および商品名などは、各社の商標または登録商標です。表示価格は税込価格です。記載の内容は、2021年5月現在のものです。

## 日本ジーンウィズ株式会社

〒142-0043 東京都品川区二葉二丁目9番15号  
NFパークビルディング 4階  
TEL. 03-6628-2950 FAX. 03-6628-2951  
E-mail. DNASeqJP@genewiz.com

取扱店・代理店 記入欄

GA001BR-R3-2105TC



# 日本ジーンウィズの サンガーシーケンス解析 受託サービス



## 豊富なサービスオプション

- 本社GENEWIZの本拠地、北米トップシェア  
- 国内ラボ実施、最短納期、お手頃料金でご提供

- ❖ Pre-Mixed  
テンプレートとプライマーを混合して提出、お得な標準サービス
- ❖ Pre-Defined  
テンプレートとプライマーを別々に提出、混合は弊社にお任せ
- ❖ Custom  
煩雑なテンプレートの調整やプライマーの添加などすべてお任せ
- ❖ 大腸菌クローン **NEW!**  
(寒天培養プレート)
- ❖ グリセロールストック
  - サンプル到着後、**原則24時間**以内に解析データ納品
  - 煩雑なミニプレ、プレミックス作業なし
- ❖ 特殊プロトコルの適用
  - GC-rich
  - ヘアピン配列
  - shRNA
  - その他解析困難な配列
- ❖ AAV-ITRシーケンス解析 **NEW!**
- ❖ サンガー解析の応用
  - SNP解析
  - 16S/ITS 細菌・真菌種同定
  - ハイブリドーマシーケンス
  - 細胞株検証 (STR)
    - .....など、裏面参照ください
- ❖ 精製済みおよび未精製のPCR産物いずれも可
  - gDNAのジェノタイプング
  - mRNAの配列確認
- ❖ 配列解析が非常に困難なアデノ随伴ウイルスのInverted Terminal Repeat領域の解析に対応したサービスが登場
- ❖ 納期は要お問合せ

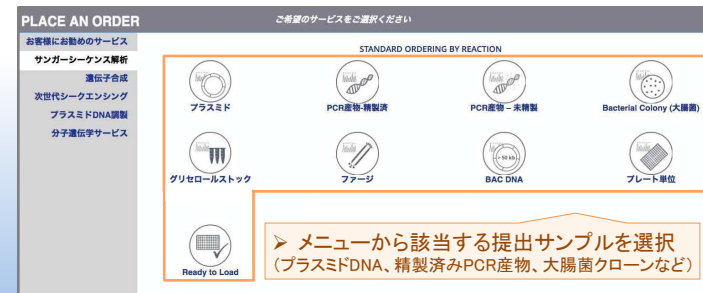
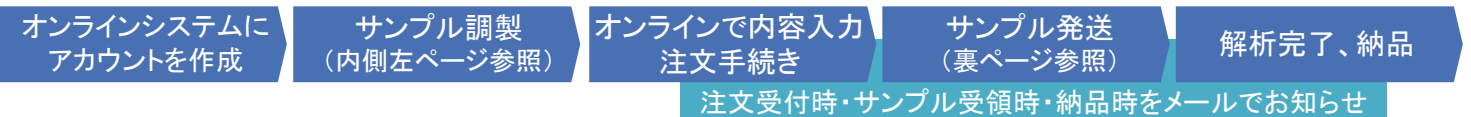
## 充実のサービス

- お得なPre-Mixedオプションでもワンランク上のサービスが標準です  
- 解析・納品後もしっかりサポート、再解析サービスも充実

- ❖ 週6日、土曜日も解析
  - 原則、月～土曜日の週6日間解析実施
  - 祝日・お盆もラボ稼働 (詳しくはラボカレンダー参照)
  - 土曜日の14時までに受領したサンプルは土日で解析、納品
- ❖ 充実の再解析サービス
  - 結果不良の場合は半額で再解析
  - サンプルの再提出は不要
  - 特殊プロトコルの選択も可能
  - テンプレートの希釈 (1/2) も可能
- ❖ ユニバーサルプライマー
  - お得なPremixedでも追加料金なし
  - ユニバーサルプライマー検索ツールが利用可能
  - 29種類のユニバーサルプライマー
  - テンプレートのみご提出
- ❖ 親切な料金設定
  - 1サンプルでもお得な料金設定
  - 半プレート以上ならもっとお得
  - バルクディスカウント適用
- ❖ テクニカルサポート
  - プロジェクト規模にかかわらず、スペシャリストが解析結果についてのご相談に対応。再解析に関するご相談も可能。
- ❖ 最短でサンプル受領の当日に解析完了、オンラインで納品
  - お客様のアカウントに結果をアップロード
  - 解析ソフトがなくてもブラウザで波形データ・配列データの確認が可能 (納期は到着時間、サンプル数、ご注文内容により変動)

## ご利用までの流れ

- オンライン登録の手順は下記ページをご参照  
[https://web.genewiz.com/hubfs/Japan%20Assets/CLIMS\\_Registration\\_Procedure.pdf](https://web.genewiz.com/hubfs/Japan%20Assets/CLIMS_Registration_Procedure.pdf)



メニューから該当する提出サンプルを選択 (プラスミドDNA、精製済みPCR産物、大腸菌クローンなど)

サービスの種類を選択 (Pre-Mixed, Pre-Definedなど)  
ユニバーサルプライマー使用時はこちらに入力  
特殊プロトコル適用希望の場合はこちらから選択

# 選べるサンプル提出形態

- Pre-Mixed (テンプレートとプライマーを混合して提出)がお得で標準  
 - 反応済みサンプルからテンプレート・プライマーの個別提出まで対応

サービスの種類	概要	サンプル提出要件	参考価格 (税込/反応)
AAV-ITR Sequencing	○ アデノ随伴ウイルス (AAV) の高難度の末端逆位反復配列 (ITR) 領域のシーケンス解析	- ウイルスプラスミド 300ng/μL (最低200ng/μL) を10μL × 2セット以上を提出 - プラスミド溶液の260/230 が1.8-2.2 であること - プライマー 5pmol/μL (5μM) を5μL/反応 × 2セットとして提出 - プライマーはITR 領域から150bp ~ 350bp の領域に設定 - プラスミドとプライマーを個別のチューブで提出 - 各チューブにはサンプル名、濃度情報を明記	3,300円 1反応
Ready To Load	○ シーケンシング反応と精製を行なったサンプルを送付 ○ キャピラリー泳動のみ依頼	- BigDye Terminator v3.1/v1.1 Cycle Sequencing キット使用、反応後精製 - アルコール精製、ビーズ精製のいずれの精製方法のサンプルも受入可能 - 送付いただくサンプルの容量は必ず20μL以上とし、アルミホイル等で遮光、保冷剤同梱で常温輸送可	385円 1 - 47 275円 > 48
Pre-Mixed	○ テンプレートとプライマーをガイドラインに従いあらかじめ混合 ○ 料金もお得な標準サービス	□ 対象サンプル: プラスミドDNAおよび精製済みPCR産物 □ 総分量: 15 μl (再解析反応分を含む) □ プライマー: 25 pmol (5 μMストック溶液の場合、5 μl/反応) □ テンプレート: プラスミドDNAの場合、1,000 bpあたり 100 ng/反応 PCR産物の場合、100 bpあたり 2 ng/反応 * ユニバーサルプライマー利用の場合、必要量のテンプレート10μlのみ提出	715円 1 - 47 440円 48 - 93 385円 > 94
Pre-Defined	○ 規定濃度のテンプレートとプライマーを別々のチューブで送付	□ 対象サンプル: プラスミドDNAおよび精製済みPCR産物 □ プライマー: 25 pmol (5 μMストック溶液の場合、5 μl/反応) □ テンプレート: プラスミドDNAの場合、40-100 ng/μl 溶液を10 μl/反応 PCR産物の場合、2-40 ng/μl 溶液を10 μl/反応	1,100円 1 - 47 880円 48 - 93 660円 > 94
Custom	○ 濃度の測定も全てお任せ	□ 対象サンプル: プラスミドDNA、精製済み/未精製PCR産物 □ プライマー: 5 μMストック溶液の場合、5 μl × 反応数の1.2倍程度 □ テンプレート: 未希釈のテンプレート溶液10 μl × 反応数の1.2倍程度	1,650円 1 - 47 1,540円 48 - 93 1,320円 > 94

**サンプル調製例 全長4.5 Kb\*のプラスミドDNAの場合**  
 \* 必要なテンプレート量はインサートのサイズではなく、プラスミドDNA全長のサイズに基づきます。全長20 Kbを超えるプラスミドDNAの場合はBAC DNAオプションが推奨されます。  
 \* PCR産物をテンプレートとして用いる時は、シングルバンドの産物で、余剰のプライマー/dNTPsを精製除去しておく必要があります。PCR産物未精製を選択いただき、ご依頼も可能です。  
 \* 4 Kbを超えるPCR産物の場合は、プラスミドDNAとして必要テンプレート量を計算してください。  
 プライマー (5 μMストック): 5 μl (25 pmol相当)  
 テンプレート (100 ng/μlの場合): 4.5 μl (450 ng相当)  
 スクレアーゼフリー水: 5.5 μl (総量15 μlに調整)

# 多彩な追加オプション - 大腸菌プレートからのプラスミドDNA直接増幅によるシーケンス解析など

\* 本表示価格は税別、「追加料金」は、各オプションにPre-Mixedの料金が別途必要となります。

サービスオプション	概要	参考価格 (税込/反応)
PCR産物の精製	未精製PCR産物をご提出。酵素法による精製を行い、シーケンシング用テンプレートをご用意。サービス種別は『Custom』、必要提出量は精製済みPCR産物の場合と同量。テンプレート量を見積るために電気泳動画像をご注文時に提出を推奨	385円 1 - 47 330円 48 - 93 275円 > 94 (*追加料金)
解析困難な配列に特殊プロトコル	ヘアピン、GCリッチな配列など、解析困難なテンプレートに特殊プロトコルを適用可能なサービス種別は、『Pre-Mixed』『Pre-Defined』『Custom』のいずれも可能。ご注文時に『特殊プロトコル』から、GC-rich、RNAi、Hairpinから該当するものを選択。不明な場合は、Difficult Templateを選択。標準プロトコルとの比較は、右頁『再解析オプション』参照	495円 1 - 47 440円 48 - 93 385円 > 94 (*追加料金)
大腸菌クローン (寒天培養プレート) グリセロールストック	Rolling Cycle Amplification (RCA)法によるプラスミドDNAの直接増幅とシーケンス解析。低コピープラスミドDNA、宿主大腸菌に有害な配列を含むプラスミドDNAのシーケンス解析、あるいはゲノムDNAのメチル化解析にも利用可 (Primerの設計はお客様となります) * 大腸菌クローン: 提出材料は大腸菌プレート。解析ご希望のコロニーに丸印と番号。プレートは返却しないためあらかじめレプリカのご用意が必要。コロニーのランダムピックアップも可能 * グリセロールストック: 10-15 μlのグリセロールストックをご提出。	935円 1 - 47 825円 48 - 93 770円 > 94 (*追加料金)

## \*1 サンプル情報事前提供のお願い (カルタヘナ法対応が必要)

遺伝子組み換え生物 (組み換え大腸菌等) をご提出の場合は、カルタヘナ法 (遺伝子組換えに関する規制法) に基づくサンプル情報のご提出が必要となります。サンプル発送前に下記フォームのご提出をお願いします。



提出先: [DNASeqJP@geneviz.com](mailto:DNASeqJP@geneviz.com)  
 提出フォーム: [https://web.geneviz.com/hubfs/Japan%20Assets/SampleSubmissionSheet\\_CartagenaRegulation\\_GWJP\\_MSW.xls](https://web.geneviz.com/hubfs/Japan%20Assets/SampleSubmissionSheet_CartagenaRegulation_GWJP_MSW.xls)

## \*2 大腸菌クローン/グリセロールストック提出時、持出時の梱包方法は三重梱包必須

- チューブ/プレートをパラフィルムで密閉、ペーパータオルなどで包み (緩衝材・吸収剤として)、ジップ付きのプラスチックバッグに入れたものを強固な外装容器に入れてください。外装には、『取扱注意』と記載。
- 航空便利用の場合、IATA指定のUN3245ラベル (遺伝子組換え体用) を貼付。
- 大腸菌クローンは冷蔵輸送、グリセロールストックはドライアイス同梱輸送。

# よくあるご質問

- Q1. サンプルは常温発送でも大丈夫ですか?**  
 A1. はい。詳細は裏面の『サンプル発送』をご参照下さい。
- Q2. ゲノムDNAはテンプレートとして提出できますか?**  
 A2. できません。解析対象の領域をPCRで増幅してご提出ください。PCR産物のダイレクトシーケンス解析をします。増幅作業あるいはPCR増幅に使用するプライマー設計・合成からもご依頼可能です。詳細は裏面をご参照下さい。

- Q3. どれくらいの長さまで配列を読めますか?**  
 A3. 通常800 bp、最長1,000 bp程度まで解析可能です。ただし、サンプルの品質や解析される配列に依存します。
- Q4. 100 bpより短いPCR産物ですが、解析可能ですか?**  
 A4. 最低でも200 bp以上、推奨500 bp以上となります。
- Q5. 数kbから数十kbの長い配列で未知領域を含むDNAを解析したいのですがどうすれば良いでしょうか?**  
 A5. プライマーウォーキングを適用、あるいは長さによって次世代シーケンシングを使用しより効率よく配列を決定することが可能です。詳細はお問い合わせください。

- Q6. 提出したサンプルはどれくらい保管してもらえますか?**  
 A6. 通常は受領後一週間保管します。テンプレート・プライマーを次回以降もご使用予定の場合は、ご注文時に『注文に関するコメント』にその旨ご記入ください。
- Q7. 抽出したプラスミドDNA量が規定量に達していません。シーケンスを行なってもらえますか?**  
 A7. はい、失敗するリスクをご理解・ご了承いただいた上で実施します。濃度が少ないことを注文時コメント欄にご記入ください。また提出分量は半量の7.5 μl としてください。
- Q8. シーケンスプライマーの設計の基準を教えてください。**  
 A8. 解析希望の領域から100 bp程度はなれた領域。18-24塩基、Tm56-60度 (GC含量45-55%) のオリゴDNA

# お得な再解析オプション - 再泳動ではなく、全てシーケンス反応からの再解析

- シーケンス結果が不良判定の場合、ご注文反応数に応じた無料再解析 (トラブルシューティング)
- サンプルの再送は不要
- テンプレート濃度、解析プロトコルの変更も可能 (半額再解析)

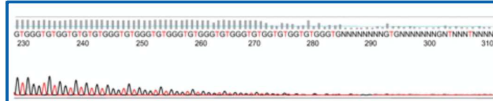
Are you satisfied with this order? (5) 無料レポートの回数 2  
 提出済みのサンプル結果  
 注: All Sanger Sequencing Results are accessible for 2 years after which time the data will no longer be available

Reaction	ウェル	サンプル	QS	CRL	失敗の原因	配列ファイル	Phd.1 File	レポート	サンプルステータス
GT01	A1	AA-09-BB	56	518				選択してください	1
GT02	B1	AA-10-BB	54	532	(2)			選択してください	2
GT03	C1	AA-11-BB	56	509				選択してください	3
GT04	D1	AA-12-BB	54	499				選択してください	4
GT05	E1	AA-13-BB	53	548				選択してください	5
GT06	F1	AA-14-BB	56	508				選択してください	6
GT07	G1	AA-15-BB	56	341				選択してください	7
GT08	H1	AA-16-BB	43	499	Non-specific (4)			選択してください	8

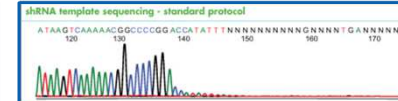
注: All Sanger Sequencing Results are accessible for 2 years after which time the data will no longer be available

Reaction	ウェル	サンプル	QS	CRL	失敗の原因	配列ファイル	Phd.1 File	レポート	サンプルステータス
GT01	A1	AA-09-BB	56	518				選択してください	1
GT02	B1	AA-10-BB	54	532				選択してください	2
GT03	C1	AA-11-BB	56	509				選択してください	3
GT04	D1	AA-12-BB	54	499				選択してください	4
GT05	E1	AA-13-BB	53	548				選択してください	5
GT06	F1	AA-14-BB	56	508				選択してください	6
GT07	G1	AA-15-BB	56	341				選択してください	7
GT08	H1	AA-16-BB	43	499	Non-specific (4)			選択してください	8

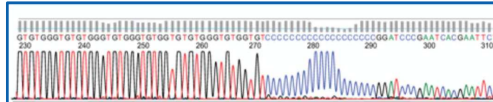
## 標準プロトコル (GCリッチ配列)



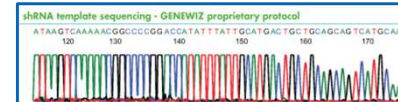
## 標準プロトコル (ヘアピンループ配列)



## 特殊プロトコル適用



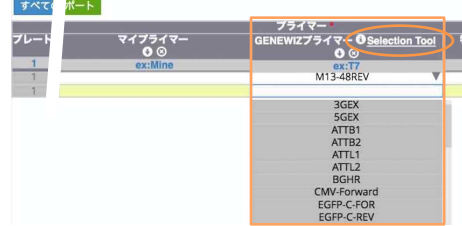
## 特殊プロトコル適用



# ユニバーサルプライマー提供 - お得なPre-Mixedサービスでも追加料金なしで混合からお任せ

プライマー名	長さ (nt)	配列 (5' - 3')
T7	20	TAATACGACTCACTATAGGG
T7 Term	19	GCTAGTATTGCTCAGCGG
T3	20	ATTAACCCCTCACTAAAGGGA
SP6	19	GATTTAGGTGACCTACTAG
U6	20	GACTATCATATGCTATCCG
BGHR	18	TAGAAGCAGCATGCTGAGG
M13F	16	GTAACGACGCGCCAG
M13R	17	CAGGAACAGCTATGAC
M13-40FOR	17	GTTTCCCAGTCACGAC
M13-48REV	20	CGGATAACAATTCACACAG
CMV-Forward	21	CGCAATGGGCGGTAGGCGTG
5GEX	23	GGGCTGGCAAGCCACGTTGGTG
3GEX	23	CCGGAGCTGCATGTGTCAGAGG
pFastBacF	20	GGATTATTCATACCGTCCCA
pFastBacR	20	CAATGTGGTATGCTGTGATT
pBAD Forward	20	AAGCCATAGCATTTTTATCC
pBAD Reverse	18	GATTTAATCTGTATCAGG
EGFP-C-For	22	CATGGTCTGCTGGAGTTCGTG
EGFP-C-REV	17	GTTCCAGGGGAGGTTGTG
EGFP-N	21	CGTCGCGCTCAGCTCGACCA
SV40pA-R	20	GAAATTTGTGATGCTATTGC

- 29種のジーンウィズユニバーサルプライマーをご用意 (2019年6月現在)
- Pre-Definedだけでなく、**Pre-Mixedサービスでも追加料金不要!**
- Pre-Mixedでご依頼の場合は必要量のテンプレートのみ10 μlを送付



- GENEWIZプライマーのプルダウンメニューより、ご希望のプライマーを選択
- 『Selection Tool』も便利、こちらをクリック、ベクター配列を入力するだけで利用可能なユニバーサルプライマーを一覧表示

プライマー名	長さ (nt)	配列 (5' - 3')
ATTB1	20	GTTTGACAAAAAGCAGGC
ATTB2	24	CCCTTTGTACAAGAAAGCTGGGT
ATTL1	24	CGCGTTAGCAGTACGATCTC
ATTL2	20	CATCAGAGATTTTGAGACAT
ITS1	19	TCCGTAGGTGAACCTGCGG
ITS4	20	TCCTCCGCTATTGATATGC
PJET1-2F	23	CGACTCACTATAGGGAGAGCGGC
PJET1-2R	24	AAGAACATCGATTTTCCATGGCAG

**『ご相談ください!』**  
 ご満足いただける結果を得られない場合、またはどのようにしたら結果を改善できるかなど、Ph.D.レベルの専任スタッフがお答えします。  
 メール: [DNASeqJP@geneviz.com](mailto:DNASeqJP@geneviz.com)  
 電話: 03-6628-2950

- (A6続き) また、シーケンスプライマーとしてオリゴDNA合成をシーケンス注文時に別途発注することも可能です。
- Q7. 抽出したプラスミドDNA量が規定量に達していません。シーケンスを行なってもらえますか?**  
 A7. はい、失敗するリスクをご理解・ご了承いただいた上で実施します。濃度が少ないことを注文時コメント欄にご記入ください。また提出分量は半量の7.5 μl としてください。
- Q8. シーケンスプライマーの設計の基準を教えてください。**  
 A8. 解析希望の領域から100 bp程度はなれた領域。18-24塩基、Tm56-60度 (GC含量45-55%) のオリゴDNA

- Q9. ATリポートを含む配列がきれいに読めていませんでした。なぜですか? どうすれば良いですか?**  
 A9. リポート配列では、DNAポリメラーゼによる読み飛ばし、重複合成のため、配列が解析不良となることがあります。反対側からも解析することが推奨されます。
- Q10. オンラインでのデータ保存期間はどれくらいですか?**  
 A10. 通常納品後2年間オンラインで閲覧可能です。念のため、お使いのPCやハードディスクにコピー、保存ください。
- Q11. サンガーシーケンス解析の納品物を教えてください。**  
 A11. 配列のテキストデータ (\*seq) と波形データ (\*ab1)、

- (A11続き) 波形データ (\*ab1)、Phredデータ、QCLレポート
- Q12. 波形データを表示できるプログラムを教えてください。**  
 A12. GeneStudio (Win)、4peaks (Mac)、FinchTV (Win/Mac) などのフリーソフトがあります。詳細は弊社ウェブサイトより『リソース』をご参照ください。
- Q13. AAV-ITRの納期はどれくらいですか?**  
 A13. 5営業日~の短納期でデータ納品可能 (解析は弊社中国ラボにて実施。納期は中国ラボにサンプル到着してからの日数です)