DNA测序样品准备及注意事项

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **样品类型** | **样本要求** | **注意事项** |
| 菌 | 500-1000ul新鲜菌液及注明抗性 | 可以提供5ml菌液或沉淀菌体直接提取质粒 |
| 质粒 | 浓度要求大于100ng/ul，大于20ul（反应个数多相应增加） | 建议送前鉴定浓度，不要溶于TE，要溶于超纯水。因为TE离子浓度很高，抑制测序反应，建议纯化后溶于15-20ul超纯水中。 |
| PCR已纯化 | 浓度要求大于10ng/ul，20ul左右（反应个数多相应增加） | 建议送前鉴定浓度及条带单一性。低于200bp建议克隆后再测序 |
| PCR未纯化 | 浓度要求大于50ng/ul，大于10l-50 ul（反应个数多相应增加） | 建议送前鉴定浓度。如浓度过低我们会直接停止实验，通知客户重供样。低于200bp建议克隆后再测序 |

**注意事项**：

1. 低拷贝质粒请直接提供质粒（按照质粒的要求）
2. 提供50µl左右的过夜培养的新鲜菌液，装于1.5ml离心管中封口保存，防止交叉污染或泄漏。
3. 条带不单一的PCR产物：浓度需大于10ng/µl，体积大于50uL；
4. 条带单一的PCR产物：浓度需大于10ng/µl，体积大于10uL。

**测序用引物说明**

1. 提供引物的序列，交由我们合成，需另行收费
2. 自备引物时，请提供正确的浓度，自带引物浓度大于5 pmol/μl 10 μl以上，每个反应提供量≥5μl
3. 注意引物长度宜在20个碱基左右，GC含量在50~60%左右。不要使用含有Mix碱基的引物引物，必须经过PAGE纯化，纯度大于90%
4. 泓迅通用引物\*以外的测序引物请自备。

\*详见《泓迅科技通用测序引物表-2015》