DNA测序样品要求（Sanger）

|  |  |
| --- | --- |
| **模板** | **要求** |
| 未纯化PCR产物 | 片段大于200 bp； |
| 提供 30 μl以上的PCR扩增产物(浓度大于100 ng/μl)； |
| 取3 μl样品，能够清晰的检测出目的条带； |
| 自带引物。 |
| 已纯化PCR产物 | PCR产物溶于双蒸水中(请勿溶解在TE溶液中)； |
| 浓度大于100 ng/μl，体积大于20 μl，长片段需适当增加提供量； |
| 电泳检测条带单一明亮； |
| 自带引物。 |
| 质粒 | 需提供20 μl以上质粒, 浓度大于100 ng/μl,质粒溶于双蒸水中(请勿溶解在TE溶液中)； |
| 建议用相关试剂盒提取质粒； |
| 如有可能，同时提供200 μl含有相应质粒的菌液备用； |
| 需注明载体全称和插入目的片段长度及测序要求。 |
| 菌样 | 说明载体、抗性类型；我们提供氨苄青霉素和卡那霉素两种抗生素；其余类型抗生素需自备并附使用说明； |
| 应为高拷贝质粒，对于低拷贝质粒，请直接提供约1 μg纯化质粒； |
| 提供200 μl以上过夜培养（12 h）的新鲜菌液，于EP管中封口保存，防止交叉污染或渗漏； |
|  |
| 大量样品测序，建议在一次性塑料培养皿固体培养基上穿刺培养； |
| 建议尽量提供穿刺培养或斜面培养的菌种（装在EP管中）。 |
| 自带引物 | 浓度不低于10 pmol/μl(即10 μmol/L)，体积10 μl以上，并请注明浓度； |
| 随机引物（RAPD引物）、简并引物、长度不足15 bp或大于30 bp引物、有特殊标记的引物或不纯的引物均不能用于测序； |
| 尽可能提供引物全序列、PCR退火温度等信息，以供参考。 |
| 免费提供的通用引物 | M13+[M13-47], M13-[M13-48], M13(-20), M13(-26), T7promoter, T7 terminator, SP6, T3, BGH, |
| 5'/3'AOX, α-factor, -96gⅢ, pBV220+/-, pEGFP-N5'/3', pEGFP-C5',3', pCMV5-F/R, pQE30+/-, 5'/3'AD, |
| pGEX5'/3', pGL3+/-, 27F, 1492R, CMV, U6promoter, S-Tag等通用引物。 |
| 如您需要的引物不在此列，请电话咨询或自带引物，如需生工合成，请注明。 |

温馨提示

1. 对于穿刺培养菌、以及抽干的质粒可以采用常温运输。
2. 对于甘油菌、溶解保存的质粒、PCR已纯化和未纯化产物建议冷藏运输。