**REALGENE DNA样品信息提交单**

**重要提示**

* 请认真阅读并详尽填写《REALGENE DNA样品信息提交单》，“☆”为客户必填内容，若没有填写必须填写项，因为信息疏漏造成的后果由客户承担。
* 样品提取可以参照《常见微生物取样及提取建议》；样品运输前，请仔细阅读本信息单中***送样要求、样品保存及运输指南***，并按要求做好样品的前处理和运输前准备。
* 我们收到样品和登记单后，2个工作日内会完成样品信息核对并将样品信息反馈单发给项目联系人。

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **编号** | ☆**样品名称** | ☆**浓度** | ☆**体积** | ☆**纯度** | ☆**数量** | ☆**是否需要提取** | **物种** | **样品保存介质** | **是否经过RNase处理** | **提取方法** | **是否经过特殊处理** | **样品类型** | **备注** |
| **（ng/μl）** | **（μl）** | **ODOD260/280** |
| 01 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 02 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 03 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 04 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 05 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 06 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 07 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 08 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 09 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 10 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

* 请将此登记单电子版填写完整后发至收样组邮箱: [sample@realbio.cn](mailto:sample@realbio.cn)，或直接发给负责该项目的销售，另外打印一份随同样品一起运输，以便我们在系统中正确录入您的样品和实验信息。

“☆”为客户必填内容。

**注1：选项中“其他”项，请客户详述。**

**注2: 由于系统和程序的要求，样品名称只能包含字母，数字和“-”，且不能以数字开头，名字长度不能超过8个字符。如果以中文命名，则结题报告中默认更改为拼音；如果以数字开头，则结题报告默认添加一个字母。罗马数字I , II , III ,IV等及ASCII码中的空格, @ , \* , + , / , # , $ , ！, & , % , △,①, > ,<等也不能使用。为了保证实验报告中样品名称与分析报告中样品名称一致，建议客户样品命名一次性符合后期分析要求。**

**备注说明**

1. **DNA送样要求**
2. **16S/ITS：**

**单次建库送样要求**：c≥5ng/μl（Qubit）或c≥10ng/μl（NanoDrop）；m≥200ng；浓度以Qubit质检结果为准，建议送2次建库的量，即500ng。OD260/280在1.8-2.0之间；OD260/230在1.8-2.0之间。

1. **（Meta/单菌）小片段文库：**

**单次建库送样要求**：c≥100ng/μl；m≥2.5μg；浓度以Qubit质检结果为准，建议送2次建库的量，即5μg。OD 260/280在1.8-2.0之间；OD260/230在1.8-2.0之间。

1. **大片段：**

**（1）2-4K、5-6K：单次建库送样要求：**c≥110ng/μl；m≥20μg；浓度以Qubit质检结果为准，建议送2次建库的量，即40μg。OD260/280在1.8-2.0之间；OD260/230在1.8-2.0之间。

**（2）8-10K：单次建库送样要求**：c≥110ng/μl；m≥30μg；浓度以Qubit质检结果为准，建议送2次建库的量，即60μg。OD260/280在1.8-2.0之间；OD260/230在1.8-2.0之间。

**（3）20K**: **单次建库送样要求**：c≥133ng/μl；m≥50μg；浓度以Qubit质检结果为准，建议送2次建库的量，即100μg。 OD260/280在1.8-2.0之间；OD260/230在1.8-2.0之间。

**（3）PCR free（DNA<800bp）：单次建库送样要求：**c≥30 ng/μL；m≥10μg；浓度以Qubit质检结果为准，建议送2次建库的量，即20μg。 OD260/280在1.8-2.0之间；OD260/230在1.8-2.0之间。

**（4）5-6K和PCR free：单次建库送样要求**：c≥110ng/μl；m≥25μg；浓度以Qubit质检结果为准，建议送2次建库的量，即50μg。 OD260/280在1.8-2.0之间； OD260/230在1.8-2.0之间。

1. **SMRT cell DNA 文库：**

**单次建库送样要求：**c≥110ng/μl；m≥30µg（Nanodrop检测）或m≥10µg（Qubit检测），Nanodrop所测浓度与Qubit所测浓度比值≤2；OD260/280在1.8-2.0之间；OD260/230在1.8-2.2之间。用Rnase处理过，无RNA污染。

1. **样品等级评定标准**

**Level A：**A类样品，指的是质量满足建库测序要求，且总量可以满足2次或者2次以上建库需要的样品。

**Level B：**B类样品，指的是质量满足建库测序要求，且总量可以满足1次但不足2次建库需要的样品。

**Level C：**C类样品，指的是质量不完全满足建库测序要求，可以风险建库并测序但不保证建库成功和测序质量的样品。

**Level D：**D类样品，指的是质量完全不满足建库测序要求，不建议使用的样品。

**注意事项：**

a. 如果样品不符合B级或以上标准，且不能得到更多的样本，请在送样前与锐翌基因项目管理或销售联系。

b. 根据实验条件，如果样品体积低于15μL，锐翌基因将可能在检测之前稀释原始样品，如果样品未保存在1.5/2.0ml的EP管中，锐意基因将可能把样品转移入新管后检测。

c. 因质检需要一定的样本量，客户寄送的样本量必须高于各产品B类（Required）标准至少200ng以上，若进行位点验证则还需多送200ng。

\*样品质量以锐翌基因的质检结论为准，客户需理解，检测结果可能会由于检测地点，仪器设备和操作者等不同造成固有差异。强烈建议根据level A（Strongly Recommended）标准制备样品，否则很可能会导致大量样本质检未能达标，延误项目进展。

1. **DNA 样品文库构建风险**
2. **样品量不足**：可能导致（1）文库构建失败；（2）文库产量低不能上机测序或测序数据量不足；（3）影响文库随机性；（4）导致数据产量和覆盖度偏低；（5）ChIP样品存在 adapter 污染率偏高。
3. **样品降解（尤其基因组样品）**：影响覆盖均一性和随机性；可造成 duplication 偏高等。
4. **含有有色杂质，不溶性杂质，蛋白质或 RNA 的 DNA 样本：**可能造成文库构建失败，建议纯化后送样。
5. **NanoDropTM定量结果只会作为参考而不会用于总量计算**：因为NanoDropTM是基于紫外吸收峰 OD 值进行定量，包括 DNA、RNA、蛋白质、盐离子或其他有机物质等在 260 nm 均有一定吸收值，容易造成读数偏高，所以NanoDropTM或分光光度计等浓度定量结果可能比 Qubit®定量高出 2-10 倍；而 Quant-iTTM dsDNA HS (或 BR) Assay Kit 是通过特异性嵌合到双链 DNA 的荧光染料进行定量，定量结果更为准确。
6. **Meta 样品：**Meta 样本往往因为腐殖酸多，酶抑制因子多，菌群结构复杂导致核酸抽提时，得率和纯度相对较低，此外还需考虑抽提方法对菌群的覆盖程度。考虑到该样品的特殊性，锐翌基因对 OD 严格的要求，允许轻微的蛋白和 RNA 污染，但也请接受建库成功率略低于常规物种的事实。
7. **OD260/OD280和OD260/OD230是核酸纯度的指示值**：纯度好的DNA，在pH7-8.5 下OD260/OD280的比值应该在1.8-2.0之间；如果比值低于1.8，表示可能有蛋白质、多糖或者酚类等物质残存；如果比值高于1.8，表示存在异硫氰酸或RNA的残存。纯核酸在pH7-8.5 下，OD260/OD230应该在2左右，如果比值低于1.8，则表示存在碳水化合物、盐（胍盐）等污染。为了保证测序的真实性，对文库质量要求较高，因此建库使用的酶为高保真酶，高保真酶的碱基错配率低，同时酶对PCR反应体系中的离子浓度要求较高，离子浓度的偏差可能会导致PCR条带扩增不出来，导致建库失败；另外腐殖酸、酚、乙醇等物质的残留也会抑制PCR反应的进行，导致建库失败。

注：被锐翌基因归类为C＆D水平的样品，如果客户仍要求继续项目，则由客户承担相应的风险，包括但不限于文库构建失败，测序失败等。

1. **样品保存及运输指南**

**样品保存：**

1. 纯度：ODOD260/280在1.8~2.0之间，ODOD260/230≥2.0；
2. 样品完整无降解；
3. 建议使用1.5 mL Eppendorf 管装载样品（其他保存管易破裂且不利于后续实验开展）；
4. DNA样品溶于双蒸水，-20℃保存；

**样品运输：**

1. 干冰运输：
2. 样品管壁外表名称请注意使用mark笔等表明，因标签运输过程易掉，切记直接以标签一种形式标记。
3. DNA样品请用干冰或冰袋运输，干冰运输不超过72h；
4. 干冰运输应采用壁厚且质量完好的泡沫箱，保存于已编号的冻存管，用塑料袋包装后买入干冰，泡沫箱应严封密闭，并标明轻取轻放以保证安全运输；
5. 如委托快递公司运输，请及时跟踪并保持联系；
6. 冰袋运输：
7. 确保24h内送达；
8. 保存于TRizol中的细胞样本或经过匀浆的组织样本；
9. 用于抽提DNA的新鲜抗凝血全血样本。

注：为防止EP管在运输过程中受到挤压破裂，导致样品损失，最好将EP管装在50 mL离心管或其他支撑物中，里面还可以添加棉花等固定（切勿在50 mL管内或其他支撑物内加入液氮等危险品）。

用乙醇沉淀的DNA样品，可常温运输；对于任何其它类型的DNA样品，应用干冰在72小时内或冰袋在24小时内运输。

1. **寄送地址**

**浙江省杭州市西湖区三墩镇振华路200号瑞鼎大厦B座1616**

**邹文霞收**