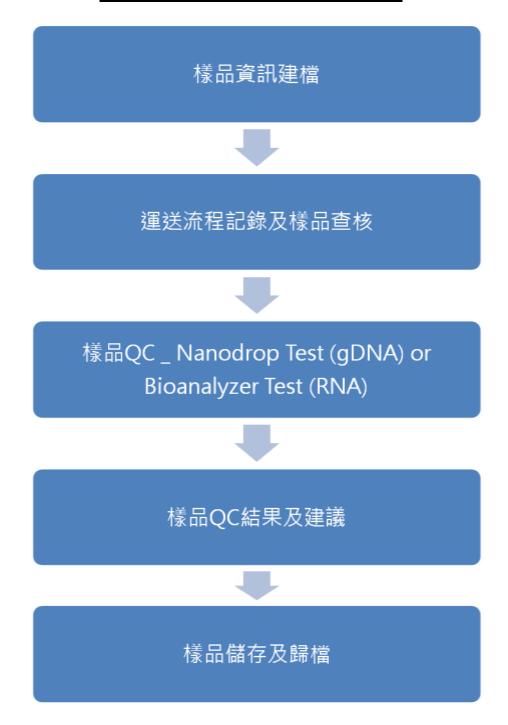
# 源資國際生物科技 NGS服務樣品 QC 報告書

## 目錄

- · NGS 服務樣品收件流程
- 樣品資訊說明
- 樣品運送過程報告
- 樣品 QC 報告內容及結果說明

# NGS 服務樣品收件流程



## NGS 服務樣品資訊說明

## 客戶資訊

客戶名稱:Dr.楊姗樺

單位: 台大漁科所

連絡電話:02-3366-2883

**E-mail:** mushroom0512@gmail.com

## 樣品資訊

收件日期:2022/11/24

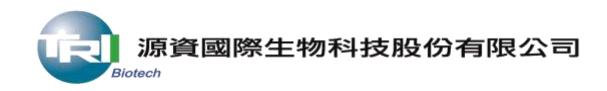
專案名稱:16S V6-V8 metagenome

樣品種類:DNA

樣品數量: 6

運送方式: 業務取回

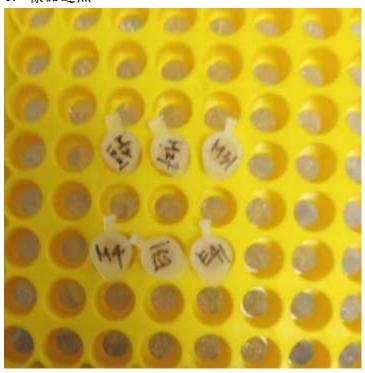
附註:



## NGS 服務樣品運送過程報告

#### 樣品送達實驗室時狀態

1. 樣品近照



# 樣品 QC 報告內容及結果說明

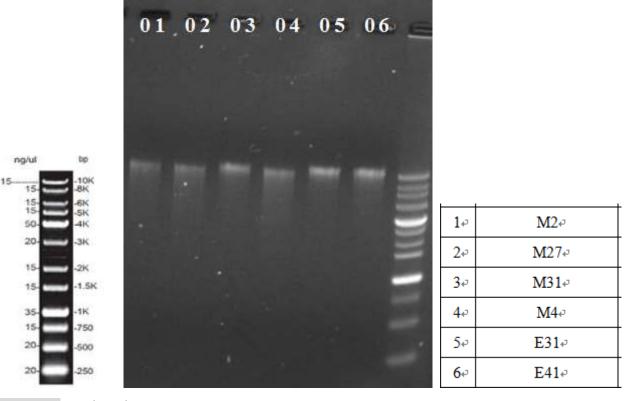
測試內容: DNA QC

測試方法: QuantiFluor® dsDNA System

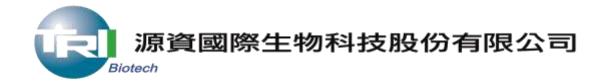
	樣品名稱	樣品	Nanodrop	Nanodrop濃度	Qubit 濃	體積	備註
		種類	A260/A280	(ng/µl)	度(ng/μl)	(µl)	
1	M2	DNA	-	-	276	-	V6-V8
2	M27	DNA	-	-	223	-	V6-V8
3	M31	DNA	-	-	264	1	V6-V8
4	M4	DNA	-	-	227	-	V6-V8
5	E31	DNA	-	-	221	-	V6-V8
6	E41	DNA	-	-	263	-	V6-V8

測試方法: 1.2% Agarose Gel

● 各取產物 10ng 跑膠



結果說明:繼續後續 PCR。



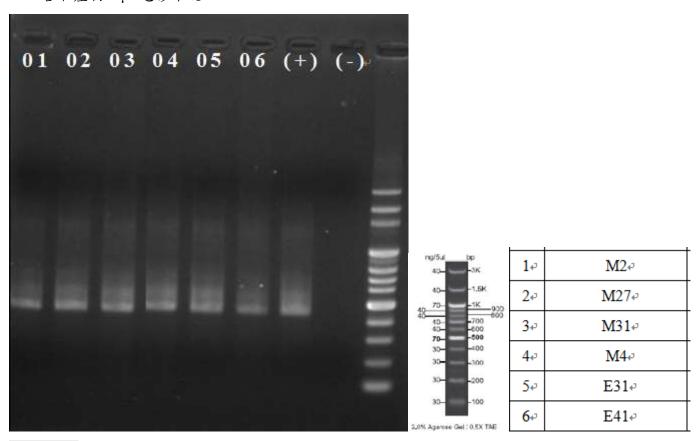
測試內容: 16S-V6-V8 PCR 實驗 測試試劑: KAPA HiFi PCR kit DNA input: 2 ng/25µl reaction

1 0 1							
PCR condition							
Initiation	94°C	5 min					
Denaturation	94°C	30 sec					
Annealing	52°C	20 sec	30 cycles				
Extension	72°C	45 sec					
Final extension	72°C	10 min					

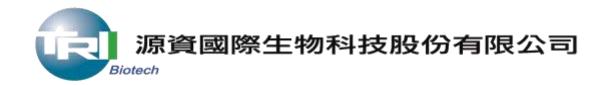
Region	Primer	Sequence (5'→3')	Amplicon size	
V6-V8	968F AACgCgAAgAACCTTAC		422 hm	
	6-V8 1391R ACgggCggTgWgTRC	ACgggCggTgWgTRC	423 bp	

#### 測試方法: 2 % Agarose Gel

● 各取產物3µl 跑膠確認。



結果說明: 樣本皆有目標產物。



#### 測試內容: 16S Barcoding PCR

- 取 11/24\_PCR 產物進行 Barcoding PCR 及後續建庫實驗。
- DNA input: 10ng(Qubit 濃度) / 25 μl reaction

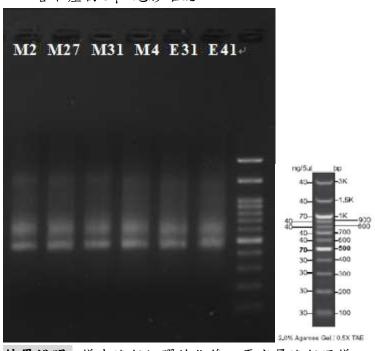
PCR condition						
Initiation 94°C 5 min						
Denaturation	94°C	30 sec				
Annealing	52°C	20 sec	5cycles			
Extension	72°C	45 sec				
Final extension	72°C	10 min				

#### 1129-Mix17

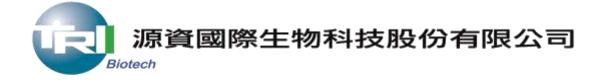
	Sample	F Primer	Sequences	R Primer	Sequences
1	M2	968F-A01	CACgTCTAAACgCgAAgAACCTTAC		
2	M27	968F-B01	AgCTAgTg AACgCgAAgAACCTTAC		
3	M31	968F-C01	ACTATCgCAACgCgAAgAACCTTAC	1201D	A Casa Cas TaWa TDC
4	M4	968F-E01	ACTCTCCAAACgCgAAgAACCTTAC	1391R	ACgggCggTgWgTRC
5	E31	968F-F01	CgTCCATTAACgCgAAgAACCTTAC		
6	E41	968F-G01	AgCCgTAAAACgCgAAgAACCTTAC		

#### 測試方法: 2 % Agarose Gel

● 各取產物3µl 跑膠確認。



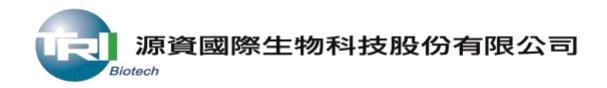
**結果說明:** 樣本進行切膠純化後,再定量進行混樣。



測試內容: Barcoding PCR 產物純化 測試方法: QuantiFluor® dsDNA System

	樣品名稱	Sample Quality Control					
		樣品種 類	QC 方法	A260/A280	濃度(ng/μl)	Total Amount (ng)	備註
1	M2	DNA	Qubit	-	8.26	165.2	
2	M27	DNA	Qubit	-	7.7	154	
3	M31	DNA	Qubit	-	8.22	164.4	
4	M4	DNA	Qubit	-	8.02	160.4	
5	E31	DNA	Qubit	-	9.04	180.8	
6	E41	DNA	Qubit	-	8.26	165.2	

結果說明: 樣本定量後,再進行混樣建庫。

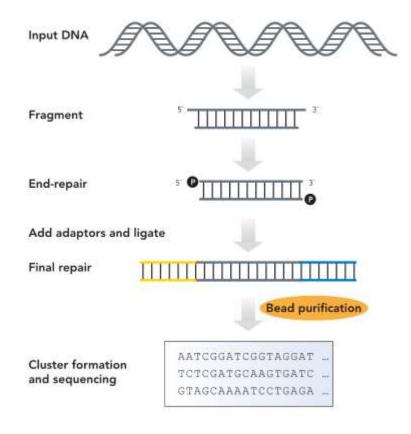


# Library QC 報告及結果說明

#### Material

- 1. Celero DNA-Seq System (1-96)
- 2. QuantiFluor® dsDNA System
- 3. ABI PowerUp SYBR Green Master Mix

#### Workflow of Library Preparation for MiSeq



測試內容: Library QC

測試方法: ABI PowerUp SYBR Green Master Mix

各切膠純化樣本等量混合後,再進行建庫。

Samp Nam		Index 1	Index 2 Sequence	Library Amplification cycles	Qubit assay Final Library Conc. (ng/ul)	qPCR assay Final Library Conc. (nM)	Total Volume (ul)	
1129-M	ix17 124	ATCCTGTC	ACGAGATG	_*	_*	10.81	20	

\*此樣本為 PCR-free 的製備方式,library 有效濃度決定於 adapter ligation 的效率,故一般 dsDNA 之定量法無法測得實際有效濃度,

#### QC 標準:

以 qPCR 測得濃度為有效濃度, 濃度需求以一個完整的 Run 計算

Library conc.: 2x250 > 0.5nM;  $2x300 > 1nM \circ$ 

測試結果說明: Library 濃度符合上機標準。

