**核酸定序核心實驗室 核酸定序服務申請單**

姓名：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 單位主持人：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 單位：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

電話： 電子郵件：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

（電子郵件為寄送報告用，請書寫整齊並確認無誤）

* 樣品類型：

□ double-strand plasmid (0.2~0.5 μg) □ phage or cosmid (2 μg)

□ PCR product (2~3 ng/100bp) □ single-strand DNA (0.25 μg)

* 確認事項：

□ **樣品已經過純化，若未純化而導致儀器受損，必須照價賠償。**

□ 樣品請置於0.2 ml 微量離心管中，以**ddH2O**回溶 (不可溶於含EDTA的buffer中)。

★ 讓技術員外加primer者, 樣品總體積為**5 μl**。(提供M13F / M13R / SP6 /T3 / T7 primer)

★ 自行外加primer者, 請將primer稀釋成3~5 μM，取1 μl加到樣品中，總體積為**6 μl**。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 樣品名稱 | 引子名稱 | 引子自加請打√ | 片段長度(bp) |
| 1 |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |
| 3 |  |  |  |  |
| 4 |  |  |  |  |
| 5 |  |  |  |  |
| 6 |  |  |  |  |
| 7 |  |  |  |  |
| 8 |  |  |  |  |
| 9 |  |  |  |  |
| 10 |  |  |  |  |
| 11 |  |  |  |  |
| 12 |  |  |  |  |
| 13 |  |  |  |  |
| 14 |  |  |  |  |
| 15 |  |  |  |  |
| 16 |  |  |  |  |
| 17 |  |  |  |  |
| 18 |  |  |  |  |
| 19 |  |  |  |  |
| 20 |  |  |  |  |
| 21 |  |  |  |  |
| 22 |  |  |  |  |
| 23 |  |  |  |  |
| 24 |  |  |  |  |

※若欄位不足請再列印新的檢體單，並裝訂在一起，感謝！ 版本日期:108.10.01

總樣本數:­\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 單位主持人簽章：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**國立臺灣大學生物技術研究中心 核酸定序核心實驗室 定序須知**

**聯絡人：黃怡靜 電話：02-3366-5089 聯絡信箱：seq305@gmail.com**

1. **簡易定序流程：**

* 填寫定序申請單 🡪 寄送樣品及申請單 🡪 結果於2-3個工作天後以電子郵件寄送

\*若檢體數目過多或是遇有不可抗拒之外力，則取得結果時間可能延後。

1. **送件方式與地點：**
2. 親送臺大生物技術中心核酸定序核心實驗室3樓305室 或 臺大生科館3樓304室 TechCom實驗室，收件時間為每週一至週五，早上九點至下午四點。如遇國定假日暫停收件。
3. 限時掛號或快遞方式寄送。地址：116臺北市大安區長興街81號三樓305室 黃怡靜 收。
4. **收費標準：**
   1. 臺大校內單位為每一條定序新台幣100元；校外單位則為新台幣150元。
   2. 繳費方式：可以現金或預借收據方式支付服務費。
5. **定序樣品要求：**

為確保定序品質及增加成功率，所有樣品請依以下步驟準備：

1. 送樣品前請先**純化**，確定只有單一序列並無其他干擾物(protein, chromosome DNA, RNA, salt, dNTP, PCR primer, detergent etc.,)，通常使用kit純化會有較好的純度，若未純化而導致毛細管受損，**必須照價賠償**。
2. 將DNA template溶於**5 μl ddH2O**中，請勿溶於任何buffer或是含有EDTA之溶劑內。
3. 確認樣品為單一片段。
4. DNA template quality：A260/280=1.7~1.9
5. DNA template quantity請依照以下範圍：過多或過少都不佳，請跑膠比對marker確認濃度。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 樣品種類 | 含量 | PCR product長度(bps) | 含量 |
| double-strand plasmid | 0.2~0.5 μg | 100~200 | 2~5 ng |
| Phage or cosmid | 2 μg | 200~500 | 5~15 ng |
| Single-strand DNA plasmid | 0.25 μg | 500~1000 | 15~30 ng |
|  |  | 1~2k | 30~60 ng |
|  |  | ≧ 2k | 60~100 ng |

1. Primer quantity：3~5 μM，取**1 μl**

本實驗室免費提供下列通用引子M13F / M13R / SP6 /T3 / T7，若需我們提供，請於委託單中註明。

1. DNA 序列出現GC rich 的序列，請在備註註明您的樣品有GC rich sequence，我們會作特殊處理。
2. **樣品名稱標示方法：**
   1. 因系統轉檔之故，樣品名稱不得超過8個字元，同時不能重複命名。
   2. 樣品命名請使用英文字母與阿拉伯數字，同時字元間不可有空格。符號方面可使用”-“ 和”\_”，但請勿使用其它特殊符號。
3. **樣品排列方式：**

請將樣品依照核酸定序檢體單之填單順序，由上至下並由左至右排列於96孔盤上。另外，同一種primer之樣品請連續排放，中間勿穿插不同種類之primer。

1. **定序收件及結果取得時間表：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 樣品/委託單收件時間 | 結果取得時間 | 備註 |
| 星期一 9:00~16:00 | 星期三~星期四 | 1. 當日時段外的收件視為隔日收件 2. 樣品與委託單須在截止時間前皆送達始算。 3. 檢體數目過多或是遇有不可抗拒之外力，則取得結果時間可能延後。 |
| 星期二 9:00~16:00 | 星期四~星期五 |
| 星期三 9:00~16:00 | 星期五~下星期一 |
| 星期四 9:00~16:00 | 下星期一~星期二 |
| 星期五 9:00~16:00 | 下星期二~下星期三 |

1. 如對本中心提供之核酸定序服務有任何問題或建議，歡迎來信告之。
2. 懇請您將有使用我們的服務所發表的期刊與我們分享，請於發表文章時惠予致謝台大生技中心核酸定序核心，以便於收集統計，做為服務成效評鑑之用。致謝文字參考如下:

**We would like to acknowledge the service provided by the DNA Sequencing Core of** Center for Biotechnology **, National Taiwan University.**

若您的論文已發表，請您將PDF 檔e-mail 給本核心實驗室(seq305@gmail.com)，無限感激。