Sanger 定序樣品需求說明

菌體定序

樣品：Bacterial Colony (B)、Liquid Culture (L)

1. 樣品名稱請用阿拉伯數字或是英文字母，字元間不可以有空白，符號可使用-或_。
2. 定序引子可選用本公司免費 Universal Primer，或自備提供(單次定序體積需 5 µL，濃度為 5 µM 或 5 pmol/µL)。
3. 請標明菌種所含之載體/質體名稱與功能類型，以及篩選抗生素種類。*(例. pET-28a Expression vector, Kanamycin)*
4. 請提供 3–5 mL 且 24 小時內含抗生素培養之新鮮菌液，請 **4°C 低溫運送**(切勿冷凍)，以確保質體純化品質。

質體定序

樣品：Plasmid (D)，濃度> 0.1 µg/µl，單次定序反應請至少提供 10 µL。

1. 樣品名稱請用阿拉伯數字或是英文字母，字元間不可以有空白，符號可使用-或_。
2. 定序引子可選用本公司免費 Universal Primer，或自備提供(單次定序體積需 5 µL，濃度為 5 µM 或 5 pmol/µL)。
3. 請註明質體純化所使用的試劑廠牌*(例. QIAGEN)*或方法*(例.* Column 純化*)*，並標示 DNA 濃度(單位：ng/µL)。
4. 請附上標有樣品與 Marker 之電泳圖照片，並註明各自的上樣量(單位：µL)。

PCR 產物定序

樣品：PCR Product (P)，濃度> 0.05 µg/µl，單次定序反應請提供 20-50 µL。

1. 樣品名稱請用阿拉伯數字或是英文字母，字元間不可以有空白，符號可使用-或_。
2. 定序引子可選用本公司免費 Universal Primer，或自備提供(單次定序體積需 5 µL，濃度為 5 µM 或 5 pmol/µL)。
3. 請註明樣品為「未純化」、「已純化」或「Gel(未純化)」。若樣品已完成純化，請註明所使用的純化方式。
4. 請附上標有樣品與 Marker 之電泳圖照片，並註明各自的上樣量(單位：µL)。
5. 請標示引子的 GC content、濃度、Tm 值(建議 primer Tm = 50–55°C)，以及 PCR 反應時的 annealing temp.。
6. 若 PCR 產物為非單一片段，**請客戶自行切膠**並提供膠體(本公司僅提供膠體純化，不提供切膠服務)。

   切膠時請務必使用藍光(Blue Light)操作；強烈建議避免使用 UV(紫外線)，因特殊序列(如 High GC、Hairpin 或二級結構)即使僅受 UV 照射數秒，亦極易導致 DNA 斷裂損傷，造成後續定序失敗。

   此外，單次送件之膠體重量需 < 200 mg，過量將影響純化品質。

SR01-3 (院內規格)

1. 樣品名稱請用阿拉伯數字或是英文字母，字元間不可以有空白，符號可使用-或_。
2. 本公司亦提供 T7p、T7t、SP6、M13F(-20)、M13R(-24)及 BGHR，共 6 種免費引子添加服務。
3. 樣品品質 A260/A280 應介於 1.8～2.0；請勿回溶含 EDTA 的溶液中。
4. 樣品請先純化，若未純化而導致毛細管受損，必須照價賠償。
5. 樣品量需求請參考下表，單次反應需包含 5 pmole 單股引子，**總體積 >7.5 µL**。

	Plasmid DNA	PCR Product (請依片段長度級距)				
		100 ~ 200 bp	200 ~ 500 bp	500 ~ 1000 bp	1000 ~ 2000 bp	> 2000 bp
所需樣品量	0.5-0.75 µg	2-3 ng	3 ~ 10 ng	5 ~ 20 ng	10 ~ 40 ng	40 ~ 100 ng

6. 報告皆會提供 ABI 上機標準品做為比對，故不提供重做服務，另外解結構試劑為統一規格，需額外收費並無重做服務。

直接上機

1. 樣品名稱請用阿拉伯數字或是英文字母，字元間不可以有空白，符號可使用-或_。
2. 樣品品質 A260/A280 應介於 1.8～2.0；樣品無須回溶，避光冷凍及可送件。
3. 樣品請先純化，若未純化而導致毛細管受損，必須照價賠償。
4. 單次定序反應**請至少提供 10 µL** 的樣品。
5. 報告皆會提供 ABI 上機標準品做為比對，故不提供重做服務。

Primer Walking

- **本服務僅接受長度 <10 kb 的片段進行引子設計與定序。**
- **必須先於本公司進行首輪定序（拿到第一個定序結果）後，本公司才會依據該實際序列的產出，進行後續的引子設計與 Walking 服務。**

1. 樣品名稱請用阿拉伯數字或是英文字母，字元間不可以有空白，符號可使用-或_。
2. 每 1 kb 目標序列請至少提供 1–2 µg DNA 樣品；若片段長度未知，請至少提供 10 µg。
3. 請提供起始定序的引子(濃度至少 5 µM、體積至少 10 µl)，或提供相關序列，由基龍米克斯協助設計與合成。
4. 若您的序列中含有重複片段（Repetitive sequence）、高 GC 區（High GC）、或特殊二級結構（Hairpin），**請務必於送件時事先告知**。

STR

- 本公司使用的 DyeSet 螢光試劑組為 DS-33，可分析 6FAM、VIC、NED、PET、LIZ 共五種螢光。
- 本公司使用的常備標準品為 LIZ500 與 LIZ600，可擇一使用；若客戶自備標準品，將不提供分析服務。
- 固定每周二及周四上機

1. 樣品名稱請用阿拉伯數字或是英文字母，字元間不可以有空白，符號可使用-或_。
2. 單次反應**請至少提供 5 µL** 的樣品。
3. 請附上標有樣品與 Marker 之電泳圖照片，並註明各自的上樣量（µL）。

※ 送件注意事項：

1. 待測樣品請分別置於 1.5 mL Eppendorf 管或 0.2 mL PCR Tube 中，並以宅急便冷藏方式寄送至本公司。
2. 若要自行提供定序用的單股 Primer，**請將 Forward Primer 與 Reverse Primer 分開存放，切勿混合！**
3. 若已知待測樣品具有特殊結構（如 GC-rich 或 Homopolymeric regions），請於備註欄註明，以利後續分析。
4. 若需於定序完成後取回 Plate 或純化所得之 DNA 樣品，請於備註欄註明。樣品及引子之**保存期限為一個月**。
5. 定序結果將以電子郵件寄送，請務必確認填寫之電子郵件地址正確無誤。
6. 如對實驗流程或定序結果有任何疑問，歡迎透過電子郵件或電話與本公司技術人員聯繫。

〈附件〉免費定序引子清單 Sequencing Primer List

編號	Primer 名稱	Primer 序列
1	M13F (-40)	CAGGGTTTTCCCAGTCACGAC
2	M13R(-48)	AGCGGATAACAATTTCACACAGG
3	M13F(-20)	GTAAAACGACGGCCAGT
4	M13R(-24)	AACAGCTATGACCATG
5	T7P	TAATACGACTCACTATAGGG
6	T7T	GCTAGTTATTGCTCAGCGG
7	SP6	ATTTAGGTGACACTATAGAA
8	T3	GCAATTAACCCTCACTAAAGGG
9	BGHR	TAGAAGGCACAGTCGAGG
10	PQEF	GGCGTATCACGAGGCCCTTTCG
11	PQER	CATTACTGGATCTATCAACAGG
12	PGEX5	GGGCTGGCAAGCCACGTTTGGTG
13	PGEX3	CCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGG
14	S-tag	CGAACGCCAGCACATGGACA
15	PEGFP-C5	ATCACATGGTCCTGCTGGAGTTC
16	PEGFP-C3	TTTATGTTTCAGGTTCAGGGG
17	PEGFP-N5	TAGGCGTGTACGGTGGGAGG
18	PEGFP-N3	GACACGCTGAACTTGTGGCCG
19	RV primer3	CTAGCAAAATAGGCTGTCCC
20	RV primer4	GACGATAGTCATGCCCCGCG
21	M13-26.R	CAGGAAACAGCTATGAC
22	5'-AOX	GACTGGTTCCAATTGACAAGC
23	3'-AOX	GCAAATGGCATTCTGACATCC
24	pCMV-CMV 24	ACAAGGCTGGTGGGCACTGGAGTG
25	TAF	CAAGGCGATTAAGTTGGGTA
26	TAR	TGGAATTGTGAGCGGATAACA
27	u6 promoter	TACAAAATACGTGACGTAG
28	CMVIE	TGTACGGTGGGAGGTCTA
29	PDNR-F	CATTATACGAAGTTATCAGTCGA
30	PDNR-R	AACAGCTATGACCATGTTCA
31	pCMV-CMV 30	TTTCCAAAATGTCGTAATAACCCCGCCCC
32	α-factor	TACTAATGCCAGCATTGCTGC
33	5'AD	AATACCACTACAATGGATGATG
34	3'AD	GAGATGGTGCACGATGCACAGT
35	PcDNA3.1F	CTAGAGAACCCACTGCTTAC

編號	Primer 名稱	Primer 序列
36	GLP1	TGTATCTTATGGTACTGTAACTG
37	GLP2	CTTTATGTTTTTGGCGTCTTCC
38	3'BD	TAAGAGTCACTTTAAAATTTGTATC
39	BAC1	AACCATCTCGCAAATAAATA
40	BAC2	ACGCACAGAATCTAGCGCTT
41	pCMV-F	TCTAAAAGCTGCGGAATTGT
42	pCMV-R	TCCAAACTCATCAATGTATC
43	malE	GGTCGTCAGACTGTCGAT
44	SK	GCTCTAGAACTAGTGGATC
45	KS	TCGAGGTCGACGGTATCG
46	Nus-tag	GAAAAAGCCGGAGCACTGATTATG
47	CMV-taq-T3	ATTAACCCTCACTAAAGGGA
48	PLNCX5'	AGCTCGTTTAGTGAACCGTCAGATC
49	PLNCX3'	ACCTACAGGTGGGGTCTTTCATTCCC
50	PCS-T7	AATACGACTCACTATAG
51	Coil Down Primer	TTCACTTCTGAGTTCGGCATG
52	Pinpoint Primer	CGTGACGCGGTGCAGGGCG
53	GAL1	AATATACCTCTATACTTTAACGTC
54	EmGFP	GCATGGACGAGCTGTACAAG
55	EmGFP(Reverse)	CTCTAGATCAACCACTTTGT
56	SV40-PRO	CCAGAAGTAGTGAGGAGG
57	SV40-Pa	ATTGGATCTCCATTCGCC
58	DsRed1-C	AGCTGGACATCACCTCCCACAACG
59	pB42ADF	CCAGCCTCTTGCTGAGTGGAGATG
60	pB42ADR	AAGCCGACAACCTTGATTGGAG
61	P24990	TCATCGGAAGAGAGTAG
62	P31430 (pGilda 3')	CGTTTTAAAACCTAAGAGTCAC
63	F	CATGGTATGGCTAGCATGAC
64	R	CAGGCTGAAAATCTTCTCTC
65	P5'	TGCGTACTGCGGTGATCAAC
66	P3'	CTGCAAGGCGATTAAGTTGG
67	pTRC99C-F	TTGCGCCGACATCATAAC
68	pTRC99C-R (PBV220R)	CTGCGTTCTGATTTAATCTG
69	(5`BD)Gal4-DNA-BD-sequence primer	TCATCGGAAGAGAGTAG
70	LKO_shRNA-F	ACAAAATACGTGACGTAG
71	LKO_shRNA-R	CTGTTGCTATTATGTCTAC
72	Polyhedrin-F	AAATGATAACCATCTCGC
73	GUS5`-2	GTAACGCGCTTTCCCACCAACGCT

編號	Primer 名稱	Primer 序列
74	B-globin-intron-F	CTGGTCATCATCCTGCCTTT
75	B-globin-intron-R	TTTGCCCCCTCCATATAACA
76	B-globin-pA-R	TTTTGGCAGAGGGAAAAAGA
77	pGilda-5`	CGTCAGCAGAGCTTCACCATTG
78	pJET-reverse	ACAGCCTGAAAATCTTGAG
79	SV40 polyA-EGFP	TGTAACCATTATAAGCTGCA
80	SV40 polyA-EGFP-R	TGCAGCTTATAATGGTTACA
81	B-globin	ACAGCTCCTGGGCAACG

版本內容更新記錄一覽表

Revision History (Description)	Version	Date
Initial release.	2026_V1	Nov 2026