



## PacBio-Sequel 测序样品要求及注意事项

为保证获得高质量的测序结果，请仔细阅读本说明并严格按照要求准备样品，这将帮助您得到最佳的测序数据和结果。如果所递交的样品质量不能符合下述要求，您的样品将不被处理并将被通知退回。接到我们的退回通知后，请到测序中心取回您的样品。通知一个月后未被领取的退回样品我们将不再保留。

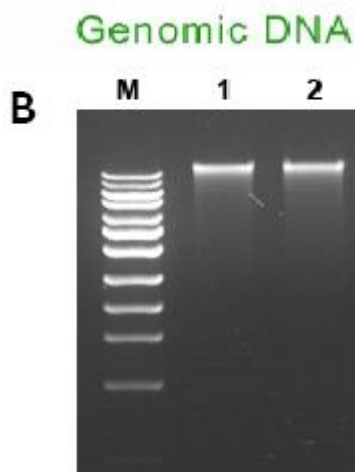
### 一、 样品信息单

所有样品必须随同《样品信息单-Sequel》一起递交，请联系中心的工作人员( 62744052，sequencing@pku.edu.cn )索取表格。请详细填写信息单上所要求的各项样品信息及您的测序要求，并发送至 sequencing@pku.edu.cn，同样品一起递交至 BIOPIC 高通量测序中心实验室。

### 二、 genomic DNA 样品要求

内容	样品要求
DNA 质量	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 双链 DNA</li> <li>• 琼脂糖电泳，主带应在λ-Hind III digest DNA marker 最大条带 23 Kb 以上且主带清晰，无弥散 ( 参见下图 B )</li> <li>• 未经反复冻融</li> <li>• 未暴露于高温 (&gt;65° C)</li> <li>• 未暴露于高低 pH (&lt;6 or &gt;9)</li> <li>• 无颗粒物</li> <li>• 无 RNA 污染</li> <li>• 未暴露于 UV 和染料</li> <li>• 无螯合剂，二价金属阳离子，变性剂和洗涤剂</li> <li>• 去除 DNA 链上多糖等物质</li> </ul>
DNA 纯度	ND260/280     1.8-2.0 ND260/230     2.0-2.2 Qubit/ ND     >0.5 or <2
建议总量/(最低量*)	20/ (10) µg
建议浓度/(最低浓度*)	200 / (100) ng/µl

\*最低量或浓度仅以 Pico Green (Qubit)检测结果为准，建库有一定风险。在样品量充足的情况下请按建议量提交样品。上述样品量的要求为一次样品制备所需量，如需多次制备样品，请按照制备次数计算样品总量。



为保证提交样品的质量，请随样品提供电泳胶图、Nanodrop 的样品检测结果。请注意，样品质量直接决定样品建库及测序结果，如不符合上述要求会导致测序失败。我们将通知退回不符合上述要求的样品，如特殊要求仍要建库测序，需填写《高通量测序平台免责声明》，自行承担建库或测序失败的后果及费用。

### 三、 样品保存及运输

请将制备好的 genomic DNA 保存在 EB buffer 或超纯水中，置于 1.5 ml 低吸附管（如 Eppendorf LoBind Tube 或 Ambion Non-stick Tube）内。低吸附管使用封口膜封好，并用记号笔或标签清晰、准确地标记样品编号、日期、PI 姓名首字母缩写，内容应与《样品信息单》一致。如需长期保存，请置于-80℃低温冷冻箱内。但为防止样品降解对测序的影响，我们接受的 DNA 样品冻存时间不超过三个月。运输中请使用足量的干冰或保冷制品，并选用较快的运输方式，以降低运输过程中样品降解的可能性。

请将样品递交至：北京大学生物动态光学成像中心测序实验室（综合科研楼 337）。

### 四、 样品备份

我们建议您对递交的每一份样品在您实验室留有足量的备份。深度测序技术流程复杂，在建立测序文库，上机测序过程中可能因不可控因素而出现失败导致样品损失，所以请确保测序失败后仍有足够量样品作再次测序。对于特别珍贵的样品（如古人类 RNA，珍稀生物样品等），请与测序实验室的工程师联系做特殊处理。

### 五、 测序结果

测序一般需要三周左右的时间。完成后您会收到 seq.account@pku.edu.cn 发出的邮件通知您测序已完成，请您及时来拷贝碱基序列数据（bam 格式）。我们会在保存数据 2 个月之后删除，请您保存好自己拷贝的原始数据以免造成数据丢失。



## 六、 数据分析

请在收到拷取数据的邮件通知后邮件联系 [seq.bioinfo@pku.edu.cn](mailto:seq.bioinfo@pku.edu.cn) 咨询数据分析内容。

## 七、 预付款规定

从 2012 年 6 月 1 日起测序服务实行预付费制度。具体规定如下：

请需要高通量测序的老师估计一下要开展的测序项目大约的花费，尽快将预支款存入设备部测序账户（我们建议一次存入约3个月的费用）。我们根据付费情况，安排已经预付费用的样品优先上机，并在测序完成后及时由测序收费邮箱 [seq.account@pku.edu.cn](mailto:seq.account@pku.edu.cn) 通知已完成测序样品收费情况，包含此次测序花费和预支账户余款。收到email后您就可以及时拷取数据。预付款余款接近0时，请您尽快补足下一笔预付款，以免影响您的样品及时上机。预付款不足的样品将无法上机，对此我们十分抱歉。