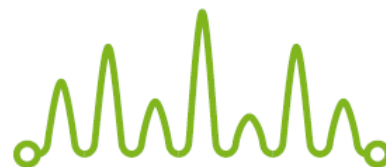


# StandardSeq

## Jak připravit vzorky



Vzorek je templát smíchaný v jedné zkumavce / jamce se sekvenačním primerem, nebo templát samotný, pokud požadujete některý z našich univerzálních primerů. Templát je PCR produkt nebo plazmid.

Počet objednaných vzorků = počet zaslaných zkumavek nebo počet obsazených jamek destičky.

Veškeré templáty musí být přečištěny (plazmidy např. na kolonkách či jinou běžnou metodou kompatibilní se sekvenováním, PCR produkty např. enzymaticky pomocí Exo-SAP či jiným způsobem) nebo alespoň přesráženy etanolem a rozpuštěny ve vodě (HPLC-kvality). Rozpuštění v pufrch (TE apod.) spíše nedoporučujeme.

### Pokud používáte vaše vlastní primery, smíchejte:

Templát		Váš primer	Celkový objem
PCR produkt < 500 bp	50 ng	Přidejte 25 pmol vašeho primeru (5 $\mu$ l 5 $\mu$ M roztoku primeru)	10 $\mu$ l
PCR produkt 500 – 1000 bp	100 ng		
PCR produkt > 1000 bp	200 ng		
Plazmid	500 ng		

### Chcete-li použít naše univerzální primery, připravte templát takto:

Templát	Množství	Celkový objem
PCR produkt < 500 bp	50 ng	5 $\mu$ l
PCR produkt 500 – 1000 bp	100 ng	
PCR produkt > 1000 bp	200 ng	
Plazmid	500 ng	

Pokud nemáte požadované množství templátu k dispozici, můžete snížit celkový objem zasílaných vzorků při dodržení koncentrace templátu i primeru. Např. pokud máte k dispozici pouze 30 ng PCR produktu o velikosti 400 bází, použijte 3  $\mu$ l tohoto templátu a 3  $\mu$ l 5  $\mu$ M roztoku primeru. Celkový objem v tomto případě bude 6  $\mu$ l. Upozorňujeme, že v takovýchto případech nemůžeme garantovat opakování sekvenace v případě, že první sekvenační reakce z jakýchkoliv důvodů selže.

Minimální celkový objem templát + primer, který můžete zaslat, jsou 4  $\mu$ l.

Doporučujeme používat 8-zkumavkové stripy s individuálními víčky (např. Eppendorf 0030124359) nebo 96-jamkové destičky. Nepoužívejte parafilm. Prosíme o jednoduché značení zkumavek nejlépe číslem označujícím pořadí vzorku v objednávce.