Arcturus PicoPure Extraction作業紀錄表

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 病患姓名 |  | 病歷號 |  | 分子病理號 |  |

1. 組織切片作業: 操作人員/日期﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   1. 標示：操作人員於空白玻片霧面處標示檢體的分子病理號以及病理號: 。
   2. 開啟病理切片漂浮槽(編號: )，溫度設定為40℃；使用時間\_\_\_\_:\_\_\_\_，共\_\_\_\_時\_\_\_分鐘。
   3. 以石蠟切片機切取4 ~ 6μm厚度的蠟片，放置於40℃的漂浮水槽內，讓蠟片展開。
   4. 以玻片或Eppendorf將蠟片撈起並甩掉多餘的水份；檢體採集時間\_\_\_\_點\_\_\_\_分。
   5. 置於室溫下使其完全乾燥。
2. 切片脫蠟作業: 操作人員/日期﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   1. Xylene脫蠟：□第一次浸泡於Xylene、3分鐘，□第二次浸泡於Xylene、3分鐘，□第三次浸泡於Xylene、3分鐘。
   2. 100% Ethanol脫蠟：□第一次浸泡於100% Ethanol、3分鐘，□第二次浸泡於100% Ethanol、3分鐘，□第三次浸泡於100% Ethanol、3分鐘。
   3. 將組織切片立放於室溫下乾燥。
3. 捲片脫蠟作業:
   1. 於Eppendorf中加入1 mL Xylene，上下搖晃混和均勻後，離心14000rpm、1分鐘。
   2. 移除上清液，再加入1 mL Xylene，上下搖晃混和均勻後，離心14000rpm、1分鐘。。
   3. 移除上清液，接著加入1 mL 100% Ethanol，上下搖晃混和均勻後，離心14000rpm、1分鐘。
   4. 移除上清液，再接著加入1 mL 100% Ethanol，上下搖晃混和均勻後，離心14000rpm、1分鐘。
   5. 移除上清液，在室溫下打開蓋子、乾燥30分鐘，可依照沉澱物的體積大小延長乾燥的時間。
   6. 接著將沉澱物移至已標示分子病理號的PCR tube中
4. 核酸萃取作業: 操作人員/日期﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   1. 標示：使用簽字筆於微量離心管上標示檢體的分子病理號。
   2. 開啟ABI 2720 Thermal Cycler(編號： ) ；使用時間\_\_\_\_:\_\_\_\_，共\_\_\_\_時\_\_\_分鐘。
   3. 準備Arcturus PicoPure Extraction Kit(Lot. No.\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_、Exp date\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_)。
   4. 從中取出1管含有Proteinase K 粉末的試管以及1管DNA Reconstitution buffer，將含有Proteinase K 粉末的試管利用迷你微量離心機spin down。
   5. 取155μL 的DNA Reconstitution buffer加入Proteinase K試管中，反覆Pipetting使Proteinase K完全溶解。
   6. 取25μL Proteinase K溶液到已標示分子病理號的微量離心管中。
   7. 接著按照病理醫師圈選的腫瘤組織位置，於空白切片上加上3 ~ 5μL ddH2O，將組織刮除到已標示分子病理號的微量離心管中，使已刮除的組織跟Proteinase K溶液混合均勻。如果是捲片可跳過此步驟。
   8. 於ABI 2720 Thermo cycler，選擇DNA extraction program，按下Run。
   9. 確認反應條件無誤後，按下Run。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Step | 溫度 | 時間 | Cycle |
| 1 | 65℃ | 30秒 | 1 |
| 2 | 65℃ | 60分鐘 | 5 |
| 65℃ | 60分鐘 |
| 65℃ | 60分鐘 |
| 3 | 95℃ | 10分鐘 | 1 |
| 4 | 4℃ | ∞ | 1 |

* 1. 確認反應體積為25μL，再按下Run。

1. 核酸濃度定量作業: 完成該步驟後請打勾。 操作人員/日期﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   1. 使用 (編號： )進行DNA濃度檢測。DNA濃度\_\_\_\_\_\_\_\_ng/μL。