全方位癌症基因檢測-Template製備紀錄表

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

1. Sentosa ST401i 儀器設置：□ 已完成請打勾
   1. 打開ST401i的電源，按下”Clean”，按照儀器指示進行操作，操作過程中不可讓吸管碰觸到任何物品，廢棄的溶液應到入水槽，廢棄物應棄置於感染性廢棄物垃圾桶中。
   2. 當儀器完成清潔程序時，螢幕會顯示” Cleaning Complete”的視窗，於螢幕上點選”Next” 返回主畫面。
   3. 將儀器上的TMPL Cleaning Adapter、TMPL Amplification Plate、廢液管以及廢液收集管棄置於感染性廢棄物垃圾桶中。
   4. 更換乾淨的手套，於螢幕上點選”Run”，並依照儀器指示進行操作，確認下列資訊：Planned run ID : ；Planned run name: 。
2. ST 401i emulsion PCR：□ 已完成請打勾
   1. 準備1.5 mL Eppendorf LoBind Tube x 1、TMPL Emulsion Cartridge x1，並於管壁上黏貼TMPL Tube Label。
   2. 於1.5 mL Eppendorf LoBind Tube中加入下表試劑/溶液：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 順序 | Reagent | 蓋子顏色 | 體積(μL) |
| 1 | Nuclease free water (滅菌水) | - | 40-45 |
| 2 | TMPL Rgnt Mix | 紫 | 500 |
| 3 | TMPL Rgnt B | 藍 | 300 |
| 4 | TMPL Enzyme Mx | 棕 | 50 |

* 1. 震盪混和5秒鐘，spin down，接著依序加入下表試劑/溶液，每加入一種試劑時，必須先震盪混和、spin down後，再加入下一個試劑。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 順序 | Reagent | 蓋子顏色 | 體積(μL) |
| 1 | Library DNA (13.2.8製備好的DNA) | - | 5 |
| 2 | TMPL CF-1 | 透明 | 5 |
| 3 | TMPL ISP(使用前需震盪混和均勻) | 黑 | 100 |

* 1. 配製完成後震盪混和均勻，接著將溶液緩緩注入TMPL Emulsion Cartridge的sample port，注入過程中須確保Pipette tip是垂直貼合於sample port上。
  2. 接著取兩次750μL TMPL Reaction Oil緩慢的注入TMPL Emulsion Cartridge的sample port中。
  3. 使TMPL Emulsion Cartridge Sample port位於左邊，慢慢地往右邊180度的翻轉，使sample port朝下，注意不可以使Cartridge裡的溶液混和在一起。
  4. 將TMPL Cleaning Adapter取下，接著將TMPL Emulsion Cartridge裝載於ST 401i上。
  5. 將ST401i的離心機蓋子蓋上，於儀器螢幕點選”Next”，儀器便會開始運轉作業，當作業結束時，30分鐘內內將檢體取出。

操作人員: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 日期 : \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

全方位癌症基因檢測-Template製備紀錄表

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

1. ISPs enrichment：□ 已完成請打勾
   1. 當emPCR作業完成後，確認下列項目是否為”是”，如果有”否”則請暫停作業並連繫工程師：
      1. TMPL Emulsion Cartridge：□是□否只有一種液相存在。
      2. TMPL Amplification Plate：□是□否沒有乳化或是過多的泡泡殘留在plate中。
      3. □是□否在reagent tube中大約還有20 mL TMPL Oil以及11 mL TMPL Recovery Solution的量存在。
   2. 依照ST401i儀器指示將注射器拔除、打開離心機蓋子、取出TMPL Recovery Tubes並放置於Sample Rack上。
   3. 使用乾淨的Pipettes tips將Recovery tube中的上清液移除到rack上箭頭標示處，移除過程中不可碰觸到ISPs沉澱物。
   4. 使用乾淨的Pipettes tips將兩管Recovery tube中ISPs沉澱物混和在一管，並反覆吸取30次，使其混和均勻，混和過程中不可有氣泡產生。
   5. 準備空的1.5 mL Eppendorf LoBind Tube，放置於rack上，加入13 µL TMPL ES Beads以及1 mL TMPL Wash Solution。
   6. 震盪混和10秒鐘，接著把tube放置於DynaMag™-2 magnet上等待1分鐘。
   7. 小心的將上清液移除，過程中不要吸取到沉澱物，接著加入130 µL TMPL ES Rsp Solution，震盪30秒，確保所有沉澱物有重新懸浮均勻，接著置於室溫下。
   8. 配製Melt-Off Solution：取TMPL Tween ® solution 280µL 加入 新鮮1 M NaOH 40 µL。
   9. 準備TMPL ES Strip Tube並黏貼上TMPL Tube Label，擺放於Assembly Rack，另外準備0.2 mL PCR tube並黏貼上TMPL Tube Label。
   10. 按照下表依序加入試劑/溶液到ES Strip Tube中：

|  |  |
| --- | --- |
| Well Number | 試劑/溶液 |
| Well 1 | 步驟13.4.4.7 TMPL Recovery Tubes中的ISPs |
| Well 2 | 步驟13.4.5.5 130 µL TMPL ES Beads |
| Well 3 | 300 µL TMPL Wash Solution |
| Well 4 | 300 µL TMPL Wash Solution |
| Well 5 | 300 µL TMPL Wash Solution |
| Well 6 | 空 |
| Well 7 | 步驟13.4.5.7 300 µL Melt-Off Solution |
| Well 8 | 空 |

* 1. 取10 µL TMPL Neutral Soln到0.2 mL PCR tube中。
  2. 將TMPL ES Strip Tube 放置於ST401e儀器托盤上，0.2 mL PCR tube放置於Tip Loader旁的洞中。

操作人員: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 日期 : \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

全方位癌症基因檢測-Template製備紀錄表

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

* 1. 拿取一根新的tip放置於ST401e儀器Tip Loader上，移動Tip Arm安裝新的tip，安裝完後，將Tip Arm移動至工作位置上。
  2. 接著於ST401e儀器上按下“Start/Stop”按鈕，開始作業。
  3. 當作業完成時，ST401e儀器會顯示“End”並發出嗶嗶聲響，將0.2 mL PCR tube 蓋子蓋上並取出，目測觀察tube中□是□否含有至少 200µL的溶液，如果少於200µL則需進行異常問題排除作業。
  4. 將使用過的tip以及TMPL ES Strip Tube取出並棄置於感染性廢棄物收集桶中。
  5. 收集後的檢體必須在2小時內進行定序作業，若無立即處理則需放在2-8℃冰箱中保存，可保存一個禮拜。

1. 儀器清潔：□ 已完成請打勾
   1. ST401i：
      1. 使用乾淨的紗布沾取100% EtOH擦拭離心機蓋子並蓋上蓋子。
      2. 將TMPL Emulsion Cartridge取下，並換上新的TMPL Cleaning Adapter。
      3. 將注射器放置於空的50mL離心管中，作為廢液收集容器。
      4. 於儀器螢幕點選”Next”開始清潔程序，在檢體進入NGS作業程序之前，ST401i儀器電源不可關閉。
   2. ST401e：
      1. 使用乾淨的紗布沾取75% EtOH擦拭儀器。

操作人員: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 日期 : \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_