全方位癌症基因檢測-定序作業紀錄表

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

|  |
| --- |
| 1. SQ301 定序儀前置清潔作業：□已完成請打勾    1. 開啟SQ301定序儀電源，在主選單上點選”Clean”按鈕，使用二次水以及氯錠清潔劑進行清潔。    2. Water clean：於定序儀螢幕上點選”Water clean”，並依照儀器指示進行操作。    3. Chlorite clean：於定序儀螢幕上點選”Chlorite clean”，並依照儀器指示進行操作。       1. 1 M NaOH配製：0.75 mL 滅菌水 + 0.25 mL 4 M NaOH 或 0.9 mL 滅菌水 + 0.1 mL 10 M NaOH       2. 氯錠配製：          1. 取1 L二次水到血清瓶中，從Sentosa SQ Sequencing kit中取出SEQ Cleaning Tablet 1顆並加進血清瓶中。          2. 加入1 mL 1 M NaOH，混和均勻後，使用0.22或0.45 μm filter過濾溶液至已滅菌的血清瓶中。 |
|
| 1. SQ301 定序儀初始化作業：□已完成請打勾    1. 試劑配製：       1. 100 mM NaOH：取 50 μL 1M NaOH 加 450 μL 二次水，混和均勻。  |  |  | | --- | --- | | 瓶子 | 試劑 | | SEQ W1 | 加入350 µL 100 mM NaOH，蓋上蓋子。 | | SEQ W2 | 加入約2 L二次水。 | | 補SEQ W2 Solution到滿。 | | 加入70 µL 100 mM NaOH。 | | 蓋上蓋子，反覆翻轉5次、混和均勻。 | | SEQ W3 | 加入50 mL SEQ W3 Solution，蓋上蓋子。 |  * + 1. 將SEQ W1、W2、W3的瓶子使用二次水潤洗3次，按照下表加入試劑：   1. 於儀器螢幕主選單上點選”Initialize”，接著依照儀器指示進行操作。 |
| 1. 準備ISPs 樣本：□已完成請打勾    1. 將ST401e收集好的ISP檢體取出，將PCR tube開口朝外放置於離心機中，離心15,000 rcf、2分鐘。    2. 將PCR tube蓋子打開並使蓋子貼齊離心管身，放置於Sentosa ® ST Sample Rack上。    3. 小心的移除上清液到rack上箭頭指示處，使其剩餘體積約15 µL，如果檢體離心後不足15 µL，則需補上SEQ Sample Buffer到15 µL。    4. 加入12 µL已退冰的SEQ Primer到PCR tube中，並使用Pipettemen反覆吸取30次，使其混和均勻。    5. 將PCR tube放置於Veriti® Dx 96-well Thermal Cycler上，依照下表條件進行反應程序。  |  |  |  | | --- | --- | --- | | Stage | 溫度 | 時間 | | Hold | 95℃ | 2 min | | Hold | 37℃ | 2 min | | Hold | 25℃ | Hold 至30分鐘 |  * 1. 反應完成後將檢體取出，接著加入3 µL 的SEQ Enzyme，溫和的反覆吸取10次使其混和均勻，混和過程中避免氣泡產生。   2. 置於室溫下反應5分鐘。 |

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

全方位癌症基因檢測-定序作業紀錄表

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

|  |
| --- |
| 1. 定序作業設定：於SQ301定序儀螢幕上點選”Run”，依照儀器指示進行設定。□已完成請打勾    1. 使用”Keyboard”輸入於Template製備時所記錄”Run Short Code”\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_，接著點選”OK”。    2. 拿取新的318晶片，使用scanner掃瞄晶片上、下兩面的barcode，點選”OK”，進行晶片校正。    3. 當晶片校正完成時：       1. Pass：點選”Next”，準備將檢體載入到晶片上。       2. Fail：打開晶片槽，將晶片重新固定於晶片槽上，接著點選”Calibrate”重新校正。 |
|
| 1. 開始定序作業：依照SQ301儀器指示進行操作。□已完成請打勾    1. 使用200µL 的pipette設定體積為30µL，插上tip後按壓pipette，維持按壓的動作將tip垂直插入晶片槽上的載入孔中，盡量將晶片中的液體吸取出來。    2. 將晶片倒立放置於迷你離心架中，接著放入晶片離心機中，使晶片的tab朝外放置，接著離心3-5秒鐘。    3. 將晶片連同離心架取出，拿出晶片後，使用乾淨的擦手紙將離心架上的液體擦拭乾淨，再將晶片正面朝上、放回離心架上。    4. 接著將ISP檢體全部吸取出來，並確保沒有任何氣泡。    5. 將tip垂直插入晶片上的載入孔中，接著以旋轉pipette刻度的方式，將ISP緩慢地注入晶片中，保留約0.5µL的ISP在tip中，避免將空氣注入到晶片中。    6. 將晶片的tab朝離心機中心放置，離心30秒鐘。    7. 接著將pipette刻度調到40µL，插上tip並按壓pipette，接著將tip垂直插入晶片上的載入孔中，將晶片中的液體吸取出來。    8. 接著將晶片朝下擺放於離心架上，將晶片tab朝外放置於晶片離心機中，離心3到5秒鐘。    9. 將晶片取出，以乾淨的擦手紙擦拭離心架。    10. 於儀器螢幕上點選”Keyboard”，接著使用scanner掃瞄晶片上的barcode，點選”OK”。    11. 將晶片放入晶片槽中固定，點選”Next”開始校正已載入ISP的晶片。    12. 當晶片校正完成時：        1. Pass：點選”Next”，準備將檢體載入到晶片上。        2. Fail：打開晶片槽，將晶片重新固定於晶片槽上，接著點選”Calibrate”重新校正。    13. 點選”Next”後，儀器會開始定序作業，當定序作業完成後，螢幕會切回至主選單畫面。 |
| 1. 儀器清潔：依照儀器指示進行操作。□已完成請打勾    1. 於主畫面點選”Clean”，使用放置於儀器中的晶片進行二次水的清潔作業。 |

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