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

1. 儀器：
   1. 開啟離心機 (編號:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_)電源；使用時間\_\_\_\_:\_\_\_\_，共\_\_\_\_時\_\_\_分鐘。
   2. 開啟恆溫水浴槽 (編號:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_)電源；設定溫度為56℃，使用時間\_\_\_\_:\_\_\_\_，共\_\_\_\_時\_\_\_分鐘。
2. 試劑耗材：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 名稱 | 批號 | 效期 |
| CatchGene® Catch-cfDNA Serum/Plasma Kit |  |  |

1. 檢體採集時間\_\_\_\_點\_\_\_\_分。
2. 檢體前處理： 操作人員/日期﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   1. 將採血管在室溫下離心3,000 x g、10分鐘。
   2. 接著將plasma取出至1.5mL微量離心管中，在抽取plasma的過程中須避免吸取到任何細胞殘骸或是白血球或是任何細胞。
   3. 接著將plasma離心11,000 x g、10分鐘，將上清液轉移至新的微量離心管中，如果沒有立即要進行後續作業，可將上清液存放於-20℃環境中保存。
3. cfDNA萃取作業： 操作人員/日期﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   1. 準備50 mL離心管，並加入200 µL Proteinase K (20 mg/mL)、 4 mL經過前處理後的上清液到50 mL離心管，震盪10秒，讓Proteinase K和上清液均勻混合。。
   2. 取4 mL Buffer DCL到50 mL離心管中，震盪30秒。
   3. 接著置於56℃的水浴槽中反應30分鐘，之後置於室溫下冷卻。
   4. 加入4 mL 100% EtOH到離心管中，震盪15秒。
   5. 將離心管中所有的溶液轉移到 LV Column Module，然後離心2,700 x g、7分鐘，將離心後的溶液倒掉。
   6. 加入7 mL CW1 Buffer到LV Column Module中，離心2,700 x g、4分鐘，將離心後的溶液倒掉。
   7. 將LV Column Module取出，將LVR Column從LV Module上卸除，接著將LVR Column放置於2 mL Collection Tub中。
   8. 取700 µL CW2 Buffer到LVR Column中，離心11,000 x g、1分鐘，倒掉離心後的溶液。
   9. 接著加入700 µL 100% EtOH到LVR Column中，離心11,000 x g、1分鐘，倒掉離心後的溶液。
   10. 重覆一次加入700 µL 100% EtOH到LVR Column中，離心11,000 x g、1分鐘，倒掉離心後的溶液
   11. 將LVR Column取出、安裝到新的2 mL Collection Tube上，離心11,000 x g、3分鐘，盡可能地將殘留的100% EtOH去掉。
   12. 將LVR Column取出、安裝到新的1.5 mL微量離心管中。
   13. 於LVR Column加入 10-20 µL Elution Buffer，並於室溫下反應5分鐘。
   14. 離心11,000 x g、1分鐘，此次的離心產物便是萃取後的cfDNA。