1. 定序前置作業: **操作人員/日期:** 
   1. 將袋裝匣(Lot No. ；Exp. Date )從-25°C 至 -15°C 的冰箱中取出。請勿打開錫箔包裝。依照下表擇一條件進行解凍。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 方法 | 解凍時間 | 穩定性極限 | 提示 |
| 20°C至25°C水浴 | 6小時 | 最長18小時 | 標籤面朝上，完全浸泡在水中，並施加重量以防止浮動。 |
| 15°C至19°C水浴 | 8小時 | 最長18小時 | 標籤面朝上，完全浸泡在水中，並施加重量以防止浮動。 |
| 2°C至8°C冷藏 | 36小時 | 最長72小時 | 標籤面朝上。 |

* 1. 解凍後，使用乾淨的擦手紙將包裝外的水珠擦拭乾淨，放置於作業檯面上。
  2. 依通量比例將各1 nM Library檢體pooling在新的微量離心管，稀釋各管Library濃度至1nM。
  3. 稀釋1 nM pooling Library至上機濃度45 pM。
  4. 打開袋裝匣，在取出匣的時後，避免觸碰匣上方的工作窗口。
  5. 反覆倒置匣5次以混和試劑，倒置時內部元件會有聲響，此為正常現象。
  6. 接著將標籤朝上，在桌面上輕敲匣5次以清除氣泡，避免抑制試劑吸入，造成執行失敗。
  7. 使用新的Tip刺穿基因庫貯池，並將錫箔推至邊緣。
  8. 加入20μL 稀釋的Library到貯池的底部，避免接觸錫箔。
  9. 從2℃到8℃冰箱中取出新的流通池(Lot No. ；Exp. Date )，將包裝置於室溫下約10-15分鐘以避免凝結水珠。
  10. 接著將流通池從包裝中拉出，處理流通池時，只能觸碰塑膠部分，避免觸碰CMOS感應器、玻璃以及玻璃兩側的墊片。
  11. 將流通持標籤朝上，從握點握住流通池。
  12. 將流通池插入匣前方的插槽，聽到卡住的聲音表示流通池以卡入定位。如果正確裝入，夾片會從匣中突出，也可以從工作窗口看到玻璃。

1. 定序執行[iSeq Control Software]: **操作人員/日期:** 
   1. 從[Home]選擇[Sequence]，軟體會以某個角度開啟門、退出托盤並啟動一系列的執行設定畫面。
   2. 將匣放在托盤上，確認工作窗口朝上同時流通池位於儀器內部。切勿將匣或是托盤推進儀器內。
   3. 點選[Close Door]，選擇[Run Setup]，接著從[Run Name]清單中選擇當次設定的[Run name ID]執行，選擇[Start Run]。
   4. 定序完成後，選擇[Eject Cartridge]，軟體會從儀器中退出使用過的試劑匣。
   5. 從托盤中將匣取出，接著取出匣中的流通池，選擇[Close Door]以返回[Home]畫面。
2. 定序資料存取與分析: **操作人員/日期:** 
   1. 定序作業完成後，請確認% Q30 read 1 %(應>80%)；% Q30 read 2 %(應>80%)。
   2. 輸出資料檔案名稱 (例:20201214-16S)。
   3. QC結果確認:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 編號 | 分析結果 | QC判定 |
| Positive Contorl |  |  | □可接受 □不可接受 |
| Negative Control |  |  | □可接受 □不可接受 |

* 1. 檢體分析結果：□No mutation

□Mutation :

1. 分子病理醫師QC與結果確認
   1. QC結果確認 □可接受 □不可接受
   2. 檢體分析結果確認 □可接受 □不可接受 □其他:

**分子病理醫師/日期:**