CTCs檢測作業紀錄表

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

1. 儀器：
   * 開啟針筒幫浦儀(編號:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_)電源；使用時間\_\_\_\_:\_\_\_\_，共\_\_\_\_時\_\_\_分鐘。
2. 試劑耗材：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 名稱 | 批號 | 效期 |
| myCTC kit |  |  |

1. 檢體採集時間\_\_\_\_點\_\_\_\_分。
2. 作業流程：完成該步驟後請打勾。 操作人員: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 日期 : \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   * 在15mL 離心管中加入7.5mL 的全血，接著再加入7.5mL prefixation buffer，輕輕的上下顛倒混合三次，於室溫下靜置15分鐘。
   * 組裝濾膜固定器與過濾裝置，完成組裝後，於自動針筒注射器(編號: )按下”RUN”，使PBS通過濾膜固定器、潤濕濾膜並去除過濾裝置中的氣泡。
   * 將固定後的血液檢體轉移至輸入針筒中，再用PBS rinse 15 mL離心管中，將殘留的血液檢體洗下並倒入輸入針筒。
   * 於”CellSieve Pull”介面下按壓針筒幫浦儀上的”CFG”按鈕，再按下”BACK”， 接著選擇”ENTER”及”RUN”並以5 mL/min的流速讓檢體通過過濾裝置。
   * 約1-2分鐘後，可以觀察到少量檢體殘留在針筒底部，立即再輸入針筒中加入4 mL PBS，使殘留的檢體能順利過濾，以相同的方式重複加入兩次PBS沖洗。
   * 確認所有檢體都已經過濾後，按下”STOP”，鬆開固定器減少壓力後再拴緊。
   * 接著將輸入針筒和連接器取下，於濾膜上加入1mL PBS，接著按下”RUN”，當PBS快過濾完時，再緩慢加入1mL PBS，總共以3mL PBS清洗濾膜。
   * 當所有的PBS都已經流到廢液針筒且無液體滴落時，按下”STOP”，鬆開固定器減少壓力後，再拴緊。
   * 取500μL postfixation buffer到濾膜上，確認液體能均勻覆蓋濾膜，接著蓋上15mL離心管蓋子，於室溫下靜置20分鐘。
   * 移開蓋子，按下”RUN”，將buffer過濾掉，接著以0.5mL 清洗濾膜3次後，按下”STOP”，鬆開固定器減少壓力後，再拴緊。
   * 加入500μL premeabilization buffer到濾膜上，確認液體能均勻覆蓋濾膜，接著蓋上15mL離心管蓋子，於室溫下靜置20分鐘。
   * 移開蓋子，按下”RUN”，將buffer過濾掉，接著以0.5mL 清洗濾膜3次後，按下”STOP”，鬆開固定器減少壓力後，再拴緊。
   * 加入150μL enumeration staining，確認液體能均勻覆蓋濾膜且無氣泡產生，接著蓋上15mL離心管蓋子，於室溫下靜置1小時。
   * 製備QC：取10μL 品管細胞株滴於載玻片上，加入10μL enumeration staining混和均勻，於室溫下靜置1小時。

**----------請翻頁繼續操作----------**

CTCs檢測作業紀錄表

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

* + 將濾膜上的蓋子移開，於儀器面板上按下”RUN”，將buffer過濾掉，接著以0.5mL PBS清洗濾膜3次後，按下”STOP”。
  + 將固定器旋開拆下，將固定器蓋子及中心圓柱筒移開，使用鑷子小心地取下濾膜，並將濾膜光滑面朝上、平整的放置於載玻片上。
  + 於濾膜上加入10μL含有DAPI的mounting solution，過程中不可以有氣泡產生，並同樣於品管細胞株上加入10μL含有DAPI的mounting solution。
  + 小心的蓋上蓋玻片並確認沒有氣泡干擾後，再以透明指甲油密封邊緣，並於指甲油乾燥後，將玻片連同「分子病理檢驗申請單1-AD02-002」、「分子病理檢驗結果紀錄表 1-SA03-001」以及「CTCs檢測作業紀錄表2-SA01014-001」一併交由病理醫師。

1. 結果觀察﹕
   1. 陽性控制組：□可接受；□不可接受:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_
   2. 檢體：DAPI (+), EpCAM (+), CK8、18、19(+), CD45(-)細胞數量\_\_\_\_\_\_\_\_顆。

病理醫師﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 日期﹕\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_