1. 目的：建立DNA primer配製與分裝保存之標準作業流程，使操作人員能有所依循，以期達到維護檢驗品質之目的。
2. 權責：
   1. **實驗室主管：每年定期審查Primer序列的適用性。**
   2. 實驗室人員：通過分子病理檢驗訓練，且經實驗室主管授權之人員，始可進行DNA primer配製分裝。
3. 適用範圍：DNA primer配製分裝作業流程。
4. 定義與名詞解釋：
   1. DNA primer：核酸引子，作爲DNA複製的起始點。
   2. Stock solution：庫存溶液。
   3. Working solution：作業溶液，PCR作業使用。
   4. Sequencing solution：定序溶液，定序作業使用。
   5. Spin down：旋轉下來。
   6. ddH2O：2次過濾水。
   7. Eppendorf：微量離心管。
5. 作業說明：
   1. 注意事項：
      1. DNA primer以及相關solution的配製必須在試劑準備區進行，操作人員必須穿戴口罩、實驗衣以及手套，避免汙染或吸入。
      2. DNA primer以及相關solution需保存於-20℃冰箱中。
         1. Stock solution於-20℃中，自配製日起保存五年。
         2. Working solution於-20℃中，自配製日起保存一年。
         3. Sequencing solution於-20℃中，自配製日起保存一年。
      3. 新批號的DNA primer需經過品質確認試驗，試驗合格才可正式使用。
      4. 當人員發現Stock solution只剩20μL時，需進行訂購採買DNA Primer。
      5. **實驗室人員需依照「Primer序列紀錄表2-AD01001-005」採買相對應的DNA Primer。**
   2. 作業流程：
      1. Stock solution(100μΜ)配製：
         1. 將裝有冷凍乾燥的Primer管子利用迷你微量離心機spin down內部的粉末。
         2. 依照原廠提供的Primer資料表上建議的回溶體積加入適量的ddH2O到管子中，以震盪器混合均勻直到粉末完全溶解，接著靜置10分鐘，此管既為Stock solution。
         3. 配製人員須於管壁上寫上有效期，其有效期為配製日起五年內，如2017年2月17日配製，其有效期為20190216，並存放於-20℃冰箱中。
         4. 配製人員需填寫「Primer Stock solution庫存紀錄表2-AD01001-001」。
      2. Working solution mix(10 μΜ)配製與分裝：
         1. 準備兩管新的Eppendorf，於瓶蓋上標示F-Primer (forward)、R-Primer(reverse)名稱。
         2. 取90μL ddH2O至第一管Eppendorf，接著取10μL forward primer以及10μL reverse primer，用手指輕彈混和均勻，利用迷你微量離心機spin down管壁上的殘留液體。
         3. 將混合後的primer全部混合在一起，此溶液為working solution mix。
         4. 將混和均勻的Working solution mix 利用迷你微量離心機spin down管壁上的殘留液體。
         5. 於管壁上標示Primer名稱、濃度以及有效期，其有效期為配製日起一年內，如2017年2月17日配製，其有效期為20180216，並存放於-20℃冰箱中。
         6. 配製人員需填寫「Primer Working solution庫存紀錄表2-AD01001-002」。
      3. Sequencing solution(10 μΜ)配製與分裝：
         1. 準備一管新的Eppendorf，於瓶蓋上標示Primer 名稱以及管數順序。
         2. 取90μL ddH2O至第一管Eppendorf，接著取10μL Forward primer Stock solution，用手指輕彈混和均勻。
         3. 將混和均勻的Sequencing solution 利用迷你微量離心機spin down管壁上的殘留液體。
         4. 於管壁上標示Primer名稱、濃度以及有效期，其有效期為配製日起一年內，如2017年2月17日配製，其有效期為20180216，並存放於-20℃冰箱中。
         5. 配製人員需填寫「Primer Sequencing solution庫存紀錄表2-AD01001-003」。
   3. 品質確認試驗：
      1. 當購入新批號的DNA Primer時，需進行品質確認試驗以確保新、舊批號的Purity以及品質一致。
      2. 取一管已知結果之DNA檢體作為陽性品管(Positive control)，取ddH2O作為陰性品管(Negative control)。
      3. 依照該Primer的PCR程式進行PCR，相關作業流程請參考**各個檢驗作業標準書**。
      4. 將PCR的產物進行電泳，比對新、舊批號的位置是否一致，如不一致則須聯繫廠商進行退、換貨流程，反之則可正常使用。
      5. 測試結果需記錄於「Primer批號測試紀錄表2-AD01001-004」中。
      6. **實驗室使用的Primer序列應紀錄於「Primer序列紀錄表2-AD01001-005」中，並由實驗室主管每年審查序列內容是否需要更新。**
      7. **實驗室應於「Primer序列紀錄表2-AD01001-005」的”****性質”欄位中，說明該Primer是屬於PCR、Index、定序等功能。**
6. 材料與設備：
   1. -20℃冰箱；
   2. 迷你微量離心機；
   3. Eppendorf；
   4. ddH2O；
   5. 口罩；
   6. 手套。
7. 參考文件：
   1. ISO 15189
   2. 採購與庫存管制程序書AD01
   3. ABI veriti 96 well thermal cycler 作業標準書FA01-009
   4. EGFR基因檢測作業標準書 SA02-007
   5. All RAS基因檢測作業標準書 SA02-008
   6. BRAF基因檢測作業標準書SA02-012
   7. UGT1A1基因檢測作業標準書SA02-013
   8. MPD基因檢測(JAK2 and MPL)作業標準書SA02-017
   9. **癌症單基因檢測作業標準書SA02-020**
8. 附件與應用表單：
   1. Primer Stock solution庫存紀錄表2-AD01001-001
   2. Primer Working solution庫存紀錄表2-AD01001-002
   3. Primer Sequencing solution庫存紀錄表2-AD01001-003
   4. Primer批號測試紀錄表2-AD01001-004
   5. **Primer序列紀錄表****2-AD01001-005**