DNA extraction

實驗室主要檢體來源(Laboratory Specimen Source)

- 血液 (Blood)
- 組織 (Tissue)
 - -人類 (Human)
 - -動物 (Mice)
- □水 (Saliva)
- FFPE



抽DNA步驟 (DNA Extraction)

- Cell Lysis
- Protein Removal (Proteins K)
- DNA Precipitation (100% 酒精)
- Purification (wash buffer)
- Storage (TE buffer)

Primer 設計

- 找paperdesign

Strategy for Identification of Sequence Variants in COL7A1 and a Novel 2-bp Deletion Mutation in Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa

Angela M. Christiano, 1 Guy G. Hoffman, 2 Xin Zhang, 1 Yili Xu, 1 Yoshiko Tamai, 1 Daniel S. Greenspan, 2 and Jouni Uitto 1*

Communicated by R.G.H. Cotton

TABLE 1. Primers. Their Annealing Temperatures, and Expected Sizes of the Products, Used for Amplification of COL7A1 Exons

001744	5´ base #		A 4s	
COL7A1 Exons	GenBank L23982	Primers	Annealing temperature (°C)	Product
			•	size (bp)
1	3754	5´ CAGGCAAGACCAGGACTCGG3´	55	307
2	4060 4388	5' GTCGTGGAGTTGGCTGGGTT3' 5' ACCATCCCAAGTCCCAGTGA3'	EE	275
2	4762	5' ACCATCCCAAGTCCCAGTGA3' 5' TGTTTCTGCAAAGACCTGGC3'	55	375
3.4	5276	5′ GGCCAGAAGAGCCTGGCS	55	422
0,4	5697	5' CTGACCTGTCACTCCTGCTC3'	33	422
5	5679	5' AGCAGGAGTACAGGTCAGC3'	55	337
	6015	5' GGGTCAGGAGCACATAGGAT3'		
6	5942	5' GTGTACCCTGACCTAGACC3'	55	369
_	6310	5′ GAGGTCACTTTATCTTGCCC3′		
7	6258	5' TCAGGAGTATAGGTGGTGGC3'	55	281
8	6538 6459	5' CAGGGATTCATGGAGTCAGA3' 5' CAATTCTGCCAGCCTCTGAC3'	55	285
•	6743	5′ GGCTTGCAGACTCAGGACTC3′	55	285
9	6677	5' GTGAGAGATGTGGCTGAGGG3'	55	320
	6996	5' GCACATGGGATGTCAGTGGC3'	33	020
10	6925	5' AGGCTGGGCACTTTCTTCAG3'	55	258
	7182	5' GTCAGACCAGCAGAGGCCAT3'	- -	
11	7135	5' GAAGGGATGGACAGGCAAGG3'	57	284
	7418	5' AGCACAGCATAGAGGCAGCC3'		
12	7370	5 CAGTGAGTGGGGGAGGTGTC3	57	274
	7643	5' GAAGGAGAGCGCTGGAGGTA3'		
13	8131	5' CCTTCTCACTCTGCGTCCCT3'	57	276
14	8406	5´ AACCAGGACCAGAGTGAGGC3´	F7	215
14	8350 8664	5´ TGAGTACTGCAGGAGGCTTG3´ 5´ TGAGGTCAGAGGGAAATGCT3´	57	315
15	8602	5´ AATGAGGTATGGGTGCCAG3´	57	337
10	8938	5′ GGAGGAGGGAGTGGGATTCT3′	37	337
16	9222	5' AGACTCCCATCATCTTGCCC3'	55	276
	9497	5´ CACCTGAACCCCCAATAAAC3´		2,0
17	9510	5' ACAGAGTTTGCTAGCCCTGG3'	55	263
	9772	5' CTGGGCAATCAGGAACACAC3'		
18	9910	5' GCTGCCTAAAGTGACCTGTC3'	55	316
	10225	5 GCATACAGCAATGGTTAGGG3		
19	10206	5' CCCTAACCATTGCTGTATGC3'	55	288
00	10493	5´ CCAAAGGCTCACTACCAATC3´		323
20	10497 10819	5' CAGGGTCTGAGAGGAGGAG3' 5' CCATCAGTGTCTCGCCTACC3'	55	323
21	10974	5′ AACCCAGTTAACAGAGCCAG3′	55	325
21	11298	5′ GGAGGAGTCACTCAGAGTCG3′	33	323
22	11376	5' ACCCAGGATCTCAGATCTCT3'	55	294
	11669	5' TGCAGGAGACAGAACTTGAT3'		
23	11621	5' AGTTGGGGCTCTGTGGAGAC3'	55	263
	11883	5 CAAGTTACTGAAGCGGGCAG3		
24	11820	5 ATAGTGGGCATAGTGGGAAG3	55	333
	12152	5′ TGTGAGAGAGCTGGGAGAAT3′		
25	12233	5'CACCCTGATGTGTTTCTCCA3'	57	290
26	12522	5' GGAAGGACATGTCAGAACCC3' 5' GCATGGACTCCTGGGGCTAT3'	55	299
26	12461 12759	5′ TAAGGTGGGGTCCAGTGGCT3′	55	299
27	12676	5′ GTAAGGAGTAGGCTGATGGG3′	55	346
	13021	5' AGGGTCTCTTTGAGGTTGAA3'	30	340
28-31	12953	5′ GGGACTGGGTGGTACAATAT3′	56	548
	13500	5′ GAGACAGCTTTGAGGAGTGC3′		0.0
32, 33	13747	5' TCTGCCTCACTGTTCCACCC3'	57	452
	14198	5' GCTCAGGCGAATGTCAACGT3'		
34, 35	14113	5' TGCTCTCTAAGTGTCTTCCC3'	55	445
	14557	5 CCCACTACACATCACTTGCC3		
36	14528	5' GGTATGTGGAGGCAAGTGAT3'	55	321
07.00	14848	5' CAAGGACTTTGGGAGAACTG3'		055
37, 38	14834	5 CTCCCAAAGTCCTTGAAATC3	57	357

¹Departments of Dermatology and Cutaneous Biology, and Biochemistry and Molecular Pharmacology, Jefferson Medical College, and Section of Molecular Dermatology, Jefferson Institute of Molecular Medicine, Thomas Jefferson University, Philadelphia

²Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin

- 確認基因名稱跟NM
- Ensembl收尋基因找到對應的NM
- 下載並且找到突變位子
- 剛所需的序列丟到primer3設計
- 到NCBI確認



- 確認基因名稱跟NM
- Ensembl收尋基因找到對應的NM
- 下載並且找到突變位子
- 剛所需的序列丟到primer3設計
- 到NCBI確認



Description mevalonate (diphospho) decarboxylase [Source:HGNC Symbol;Acc:7529 ₺]

Gene Synonyms FP17780, MPD

Location Chromosome 16: 88,718,343-88,729,569 reverse strand.

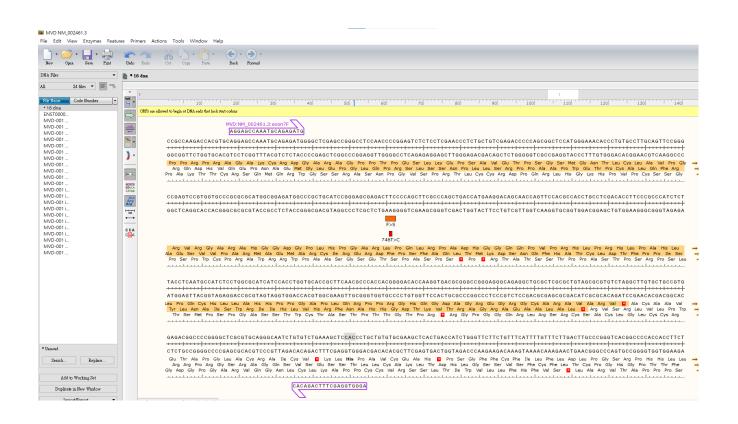
GRCh37:CM000678.1

About this gene This gene has 17 transcripts (splice variants) and is associated with 1 phenotype.

Transcripts Hide transcript table

Show/hide columns	(1 hidden)						
Transcript ID 🛕	Name 🌲	bp 🌲	Protein 👙	Biotype	CCDS 🍦	UniProt Match 🍦	RefSea 🔺
ENST00000301012.3	MVD-001	1823	<u>400aa</u>	Protein coding	CCDS10968 &	<u>P53602</u> &	<u>NM_002461.1</u> ៤

- 確認基因名稱跟NM
- Ensembl收尋基因找到對應的NM
- 下載並且找到突變位子
- 剛所需的序列丟到primer3設計
- 到NCBI確認



- 確認基因名稱跟NM
- Ensembl收尋基因找到對應的NM
- 下載並且找到突變位子
- 剛所需的序列丟到primer3設計
- 到NCBI確認

Drim or 2	<u>Checks for mispriming in template.</u>
Primer3 (v. 0.4.0) Pick primers from a DNA sequence.	Primer3plus interface
There is a newer version of Primer3 available at http://primer3.ut.ee Paste source sequence below (5'->3', string of ACGTNacgtn other letters treated as N numbers and blanks ignored). FASTA format ok. Please N	out undesirable sequence (vector, ALUs, LINEs, etc.) or use a $\underline{\mathrm{M}}$
CCGCCAAGACCACGTGCAGGAGCCAAATGCAGAGATGGGGCTCGAGCCGGGCCTCCAACCCCGGAGTCTCTCCTCGAACCCTTGCTGTCGAGACCC CCAGCGGCTCCATGGGAAACACCCTGTGCCTTGCAGTTCCGGGCCGAGTCCGTGGTGCCCGCGCGCATTGGCGGAACTCCGGCGAGC GAGACTTCCCCAGCTTCGCCCAGCTGACCATGAAGGACAGCAACCAGTTCCACGCCACCTGCCTG	
Pick left primer, or use left primer below: Pick hybridization probe (internal oligo), or use oligo below: Pick right primer, or use right primer	mer below (5' to 3' on opposite strand):
Pick Primers Reset Form Sequence Id: A string to identify your output.	ATOTICCCCITOAT
Targets: E.g. 50,2 requires primers to surround the 2 bases at positions 50 and 51. Or mark the source s	
Excluded Regions: E.g. 401,7 68,3 forbids selection of primers in the 7 bases starting at 401 and the 3 bases at 68	. Or mark the <u>source sequence</u> with < and >: e.gATCT <ccc< td=""></ccc<>
Product Size Ranges 200-800	
Number To Return 5 Max 3' Stability 9.0	
Max Repeat Mispriming 24.00 Pair Max Repeat Mispriming 24.00	
Max Template Mispriming 24.00 Pair Max Template Mispriming 24.00	
Pick Primers Reset Form	

Checks for mispriming in template.

- 確認基因名稱跟NM
- Ensembl收尋基因找到對應的NM
- 下載並且找到突變位子
- 剛所需的序列丟到primer3設計

<<<<< right primer

• 到NCBI確認

```
No mispriming library specified
Using 1-based sequence positions

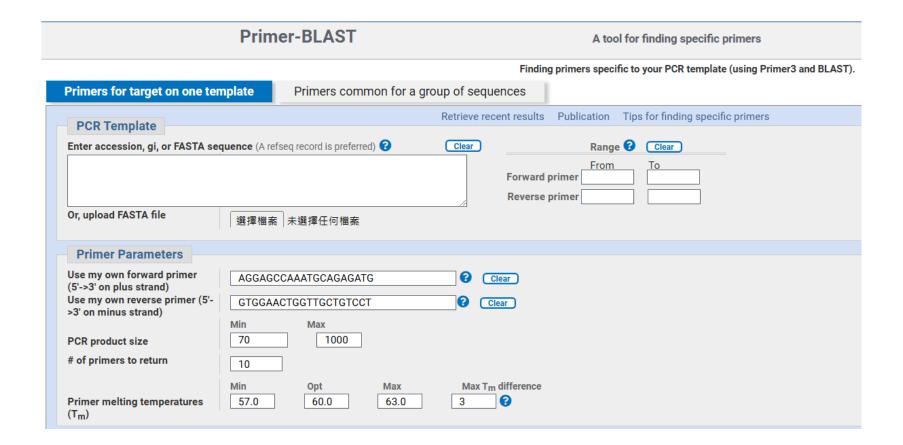
        OLIGO
        start
        len
        tm
        gc%
        any
        3'
        seq

        LEFT PRIMER
        18
        20
        60.36
        50.00
        4.00
        0.00
        AGGAGCCAAATGCAGAGATG

        RIGHT PRIMER
        247
        20
        60.16
        55.00
        4.00
        0.00
        GTGGAACTGGTTGCTGTCCT

SEQUENCE SIZE: 560
INCLUDED REGION SIZE: 560
PRODUCT SIZE: 230, PAIR ANY COMPL: 4.00, PAIR 3' COMPL: 1.00
     1 CCGCCAAGACCACGTGCAGGAGCCAAATGCAGAGATGGGGCTCGAGCCGGGCCTCCAACC
                              61 CCGGAGTCTCTCCTCGAACCCTCTGCTGTCGAGACCCCCAGCGGCTCCATGGGAAACACC
  121 CTGTGCCTTGCAGTTCCGGGCCGAGTCCGTGGTGCCCGCGCGCATGGCGGAGATGGCCCG
  181 CTGCATCCGGGAGCGAGACTTCCCCAGCTTCGCCCAGCTGACCATGAAGGACAGCAACCA
                                                                     <<<<<<<
   241 GTTCCACGCCACCTGCCTCGACACCTTCCCGCCCATCTCTTACCTCAATGCCATCTCCTG
        <<<<<<
   301 GCGCATCATCCACCTGGTGCACCGCTTCAACGCCCACCACGGGGACACCAAGGTGACGCG
   361 GGCCGGGAGGCCAGAGGCTGCGCTCGCGCTGTAGCGCGTGTCTAGGCTTGTGCTGCCGTG
  421 GAGACGGCCCGGGGCTCGCGTGCAGGGCAATCTGTGTCTGAAAGCTCCACCCTGCTGTG
  481 TGCGAAGCTCACTGACCATCTGGGTTCTTCTGTTTCATTTTGTTTCTTGACTTGCCCGGG
  541 TCACGGCCCCACCACCTTCT
KEYS (in order of precedence):
>>>>> left primer
```

- 確認基因名稱跟NM
- Ensembl收尋基因找到對應的NM
- 下載並且找到突變位子
- 剛所需的序列丟到primer3設計
- 到NCBI確認

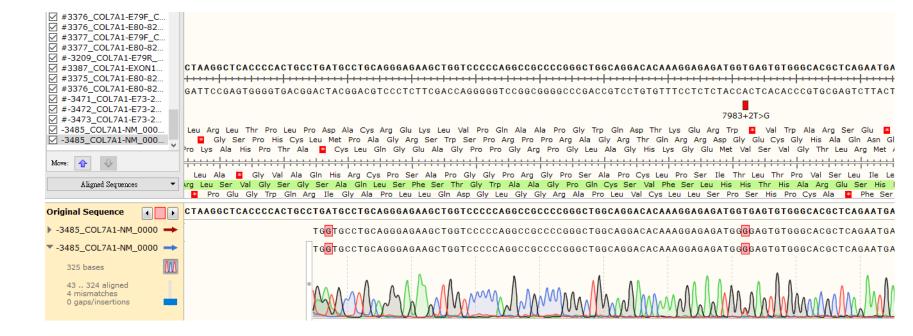


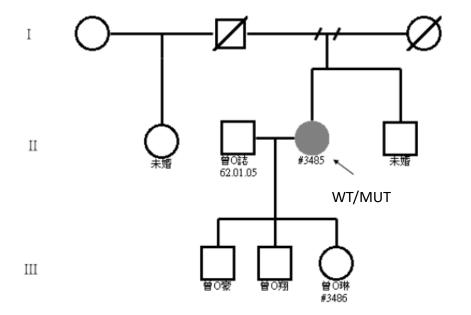
- 確認基因名稱跟NM
- Ensembl收尋基因找到對應的NM
- 下載並且找到突變位子
- 剛所需的序列丟到primer3設計
- 到NCBI確認

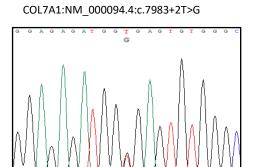
		Sequence (5'->3')		Length		
Forward primer		AGGAGCCAAATGCAGAGA	TG	20		
Reverse primer		GTGGAACTGGTTGCTGTC	CT	20		
Products on target	templates					
NC_000016.10 Hor	no sapiens ch	romosome 16, GRCh38.p14 Pi	rimary Assembly			
product length	= 230					
Features associ diphosphomev		this product: carboxylase isoform x4				
diphosphomev	alonate de	carboxylase isoform x2				
Forward primer	1	AGGAGCCAAATGCAGAGATG	20			
Template	88655533		88655514			
•	1	GTGGAACTGGTTGCTGTCCT	20			
Template	88655304	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	88655323			
product length						
Features associ nedd4-like e		n-protein ligase wwp2	isoform x1			
nedd4-like e	3 ubiquiti	n-protein ligase wwp2	isoform x1			
	1	AGGAGCCAAATGCAGAGATG				
•						
•		GCTC	69935149			
Template	69935130	GTGGAACTGGTTGCTGTCCT	20			

>NC_000011.10 Homo sapiens chromosome 11, GRCh38.p14 Primary Assembly

確認結果







COL7A1:NM_000094.4:c.7983+2T>G

調蠟塊到組織銀行切片



成大醫院病理組織調閱

申請人: 045356 許釗凱 <u>調閱申請</u> <u>臨床研究合作代檢業務申請單</u>

借閱清單

申請單號	申請日期	借閱到期日	閱片狀態	借閱資訊	補印剩餘檢
2024060301	2024-08-06	2024-11-09	人體生物資料庫借閱	<u>Link</u>	<u>Link</u>
2024062001	2024-06-20	2024-10-15	人體生物資料庫借閱	<u>Link</u>	<u>Link</u>
2024071501	2024-07-15	2024-10-15	人體生物資料庫借閱	<u>Link</u>	<u>Link</u>
2024081901	2024-08-19	2024-11-23	人體生物資料庫借閱	<u>Link</u>	<u>Link</u>
2024081902	2024-08-19	2024-11-23	人體生物資料庫借閱	Link	<u>Link</u>
2024081903	2024-08-19	2024-11-23	人體生物資料庫借閱	<u>Link</u>	<u>Link</u>

歷史紀錄

申請單號	申請日期	結案日	借閱資訊
2024060302	2024-06-03	2024-06-14	<u>Link</u>
2024073101	2024-07-31	2024-09-20	<u>Link</u>
2024081301	2024-08-15	2024-08-21	<u>Link</u>
2024091901	2024-09-19	2024-09-24	<u>Link</u>
2024092601	2024-09-26	2024-12-28	<u>Link</u>
2024102801	2024-10-28	2024-11-01	<u>Link</u>
2024112701	2024-11-27	2024-12-28	Link

中詴結朱丝詢

單號: 2024060301

申請人	045356 許釗凱
職稱	醫師
申請單位	皮膚科
聯絡人	莊雅如
EMail1	kylehsu.tw@gmail.com
EMail2	jcc11211@yahoo.com.tw
EMail3	
計劃主持人員工號	045356
計劃主持人姓名	許釗凱
聯絡電話	#6724
研究計畫備註	B-ER-111-432
用途	研究計畫使用
轉人體生物資料庫代切片	Υ
基因醫學部	N
IRB起始日期	2023/3/2
IRB結束日期	2024-06-03
是否為免除受試者知情同意	書否
備註	請轉交妙如學姊切片 謝謝

【實體玻片蠟塊借閱清單列表】

檢體編號	姓	名		玻片/蠟塊	編號	項目	閱片開始日	閱片到期日	實際歸還日	閱片狀態	備註
812123DS1046	吳	*	S I	蠟塊			2024/08/09	2024/11/09		人體生物資料庫借閱	
812123DS2421	吳	瓦	Ē	蠟塊			2024/08/09	2024/11/09		人體生物資料庫借閱	
812124DS0949	ろ	Ź	Ē	蠟塊			2024/08/09	2024/11/09		人體生物資料庫借閱	
812124DS0950	彷	É	Ē	蠟塊			2024/08/09	2024/11/09		人體生物資料庫借閱	

Clinical medicine research center

臨床醫學研究中心

臨床醫學研究中心

國立成功大學

國立成功大學醫學院附設醫院

電話

886-6-2353535 Ext. 4139

Postal address (在地圖上顯示)

電子郵件

em74820@mail.hosp.ncku.edu.tw

網站

https://crc.hosp.ncku.edu.tw/

#3115蕭雅純

實驗室簡介 最新消息 成果專區 訓練課程 儀器預約 代檢服務 儀器使用規則 表單下載

2025年2月份認證課程/Training course

2/10 (Mon.)

倒立式共軛焦顯微影像系統(FV4000)

Laser scanning confocal microscope, FV4000

*限通過認證且使用過 confocal FV3000 者報名

2/11 (Tue.)

倒立式共軛焦顯微影像系統(FV3000+FV4000)

Laser scanning confocal microscope, FV3000 & FV4000

*限未通過 confocal FV3000 認證者報名

【認證課程*】2025年2/11(二)-2/13(四) 舉辦倒立式共軛焦顯微影像系統(FV3000+FV4000)訓練暨認證課程/Training course *僅開放未取得FV3000認證者上課

↑首頁 / 表單下載

表單下載

◆核心設施使用同意證明單_111.09.28更新 (點此下載同意證明單(rar.

(點此下載同意證明單(Word))

◆服務登錄單_111.09.28更新 (點此下載服務登錄單)

生技醫藥核心設施平台 (NCFB)

			使用同] 意證明	單 型					
	中華	民國	年	月	В			第	33	
	計畫主持人姓名(申	請人	計畫主持	人(申請人)6	e-mail:	e)	申請人所	屬機構及單位	位:+	
	全名):↓		kylehsu@	mail.ncku.e	du.tw₽		皮膚科。	p		
使	許到鄧小									
用	計畫經費來源*:	放計畫編	號(國科會(科技	(部)就嘉滋藩) : e ^j	扣款計	畫主持人(全)	名):		
人	一般其他計畫₽	B1	L13-K526÷)			許釗凱	ł.		
實	经费来源额									
料	□ 2. 一般國科會(科技部)計畫■ 3. 一般其他計畫									
t	聯絡人姓名: ↵		J. 一般, 人電話:		聯絡人	e-ma	il:⊬			
	莊雅如₽	6724			0100		nail.com	ē		
	服務項目及內容	ę.		使用数量		Λ &	F 3		_	
代號₽	服務名稱《	p	單價₽	或次数₽		金割	4 *	備註	,e)	
A10-10.1	代工操作不含檢	4	ę.	ψ.			ė.			
10-9₽	全景組織體細胞兒	ç.	ي	-			٥	-3		
10-5+	析儀₽		-	-				-		
P	ē.		÷	總計₽	NT\$₽			₽		
收據↓ 編號↓	第 號₽	新台 (大寫金	; 幣:← £額).	鸈	仟	1ত্ত	拾	元整↵		
施平台。 論文發表致謝報	後例:』 ical services provided by the " Taiwan".ヴ				re Facility Pr					
		年						年 月	B.	
	單據共 <u>一式4份</u> ,							****	<u>本</u> 質	
000	用人缴费後需速同						******			
	電匯繳費者匯款後:								擦光	
	寄地址及收件人)寄	- 主 🙇 立	L成功大学	₽核心平台1	宮釉(ncki	ubct@	gmail.co	m),以免延	Apr. 14	
									誤收	
	立作業・↓	改計仏	和服务 40	***	±- h#⊷	·//hioi-	maga er a	d nolm adv t		
(3) 服者	立作業・↓ 勝申請、收費流程/			000000000000000000000000000000000000000	0000		_		<u>w</u> -	
(3) 服 (4) 錆(立作業・↓	資料(及符合品	質條件之實	· 驗樣品/	材料))以利服	š務之進行・	<u>w</u> -	

一式4份

"計畫經費來源選項:國科會、徽攝部、經濟部、教育部、中研院、醫院、學校、↓

其他(如財團法人)或產業界等↓