研究計畫名稱

e.g. 新診斷000疾病之基因體醫學研究

研究倫理委員會案號

e.g. 201611000RIND

NGS定序Panel/Genelist

e.g. PP SNPs

送件單位

臺大醫院000醫師實驗室

送件人姓名

陳OO

送件日期

2023/5/11

gDNA允收標準: 1. Nanodrop 260/280: 1.8~2.0, 260/230: 2.0~2.4

2. Nanodrop Conc. >100ng/ul, 體積>25ul, DNA總量>5μg

3. 電泳膠圖無明顯 smear

	加克伯曼		Na	ınodrop			體積 備註		5克(h) (時) (E)	跑膠編號	對應檢體
	研究編號	Conc. (ng/ul) A260 A280 260/280 260/230 (ul) 清正		電泳膠圖	M	2 <b>λ</b> marker					
1	ABC001	165.3	0.826	0.43	1.87	2.52	30		M 1 2 3	1	ABC001
2	ABC002	175.3	0.318	0.156	1.86	2.53	30			2	ABC002
3	ABC003	178.5	3.571	1.887	1.86	2.48	30		41 16 1	3	ABC003
4									A HER COL		
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12 13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											

研究計畫名稱 e.g. 新診斷000疾病之基因體醫學研究

送件單位 臺大醫院OOO醫師實驗室

送件人姓名 陳〇〇

上機平台 e.g. Miseq/Novaseq/Nanopore

Read Depth e.g. 500x

送件日期 2023/5/11

允收標準: 1. PCR-product/plasmid需先純化。(可以PCR兩管, 純化成一管。)

2. Nanodrop 260/280: >1.8, 260/230: 2.0~2.4

3. Nanodrop Conc. >50ng/ul, 體積>25ul, 總量>4µg

4. PCR-product需附電泳膠圖

	研究編號	Nanodrop			體積 *Size (bp)		備註	電泳膠圖	跑膠編號	對應檢體		
	りてプロの用分式	Conc. (ng/ul)	A260	A280	260/280	260/230	(ul)	*Size (op)	伸迁	电水炒圆	M	2λ marker
1	HRD422	165.3	0.826	0.43	1.87	2.52	30	1786		1 4	1	HRD422
2	HRD423	175.3	0.318	0.156	1.86	2.53	30	2094			2	HRD423
3												
4												
5										2k		
6										<b>E</b>		
7										=		
8												
9												
10												

研究計畫名稱

e.g. 新診斷000疾病之基因體醫學研究

研究倫理委員會案號 NGS定序Panel/Genelist

送件單位 送件人姓名 e.g. 201611000RIND

e.g. PP SNPs

臺大醫院OOO醫師實驗室

陳OO

送件日期 2023/2/17 ■FFPE檢體允收標準:

■FFPE-DNA允收標準: 1. Nanodrop Conc. >25ng/ul 或 Qubit Conc. >5ng/ul

, 體積>35ul, DNA總量>500ng

2. 有FFPE-DNA毛細管電泳結果為佳(非必需)

	FFPE-Information										FFPI	E-DNA					FFPF	E-RNA						
						10 a M		Nanodrop					Qubit	Nanodrop Qub				Qubit						
姓	名	病歷號	研究編號	病理編號	檢體類型	數量	10μM 蠟捲/空白片	備註	Conc. (ng/ul)	A260	A280	260/280	260/230	Conc. (ng/ul)	Conc. (ng/ul)	A260	A280	260/280	260/230	Conc. (ng/ul)				
1 朱(	0文	7654321	ABC001	S1234567A1	Tumor, thyroid PTC	10	蠟捲		41.3	0.826	0.43	1.92	1.88	24.20	50.2	1.254	0.638	1.96	1.55	24.20				
2 陳	0—	1234567	ABC002	S7654321B3	Normal	5	空白片		15.9	0.318	0.156	2.04	1.48	44.60	7.6	0.191	0.087	2.19	0.66	44.60				
3 陳(	0—	1234567	ABC002	S1122334B4	Tumor	5	空白片		178.5	3.571	1.887	1.89	1.73	78.20	240.6	6.015	3.076	1.96	1.87	195.30				
4																								
5 6																								
7																								
8																								
9																								
0																								
1																								
2 3																								
4																								
5																								
5 6																								
7																								
8																								
9																								
)																								

研究計畫名稱

e.g. 新診斷000疾病之基因體醫學研究

送件單位

臺大醫院OOO醫師實驗室

送件人姓名

陳OO

上機平台

e.g. Miseq/Novaseq/Nanopore

定序量

e.g. 1G/50G

送件日期

20240102

Library允收標準: 1. Nanodrop Conc. >5ng/ul 或 Qubit (HS) Conc. >2ng/ul,

體積>10ul

2. 毛細管電泳膠圖為單一片段或無波型異常

	Library Name	Sample ID		Na	nodrop	1		Qubit	體積	*Average	備註	電泳膠圖		Sample	Sheet	
	(Tube Label)	Sample ID	Conc. (ng/ul)	A260	A280	260/280				Size (bp)	佣社	电水炒圆	7_Index_ID	Index 1 (i7)	I5_Index_ID	Index 2 (i5)
1	LC_sciRNA	ABC001	165.2	0.826	0.42	1.87	2.52	10	30	800			D702	TCCGGAGA	D501	TATAGCCT
2	LC_SCIRIVA	ABC002	165.3	0.826	0.43	1.07	2.32	10	30	800		61.84	D702	TCCGGAGA	D502	ATAGAGGC
3												2009				
4												Ω α33.43				
5																
6												824				
7												5.03 20 100 200 300 400 500 700 1k 2k 10k 15k Length(bp)				
8																
9																
10																

## FFPE 檢體送檢 NGS←

 $\leftarrow$ 

#### 檢體類型↩

主要有 Slide 和 Curls/Scrolls 兩種,如不需圈選區域,請盡量選擇 Curls/Scrolls。4

نے

# 檢體選擇₽

可參考日本病理學會《基因組醫學病理組織標本處理規定》對於定序樣品處理之建議):4

切片	- 三年內樣品為佳 - 每次實驗要自 FFPE 樣品重新切片,避免使用已切片一段時間的樣本 - FFPE 片時需戴手套,防止核酸降解
選樣	- 若進行腫瘤基因檢測,可進行 HE 染色確認比例,盡可能排除非腫瘤細胞 - 腫瘤佔比需 > 30% ( SNV ) 或 > 50% ( CNV )

(有研究表明在常規 FFPE 儲存條件下, 3 年內的 FFPE 檢體 NGS 結果高度可信; >3~5 年的 FFPE 檢體存在假陰、陽性結果。)↩
...

## 檢體需求↩

- 1. 切片厚度: 5um-10um(統一切 10um 為佳)。 ←
- 2. 數量: 視切片大小而定\*, 正常大小的 Curls/Scrolls 需要 10 揽, Slide 需要 4-6 片。↔
- \*以 Curls/Scrolls 為例,組織面積< 50mm² 時,最少需要 15-20 捲,以確保有足夠樣品進行定序。↓

(過去經驗: 組織面積 48mm² 的檢體, 使用 20 捲提取出的 DNA 總量不到 300ng, 目前實驗方法大約需要 400-500ng FFPE DNA 比較足夠)。↔

- 3. 注意事項: ←
- ①無論是 Slide 或 Curl/Scroll, 每份檢體需要一片 H&E 染色, 確認組織大小時使用。↔
- ②請將 3-4 捲的 Curls/Scrolls 置於一個 eppendorf 內, 保持每個 Curls/Scrolls 分開, 不要擠在一起。4
- ③Slide 如有指定區域, 請圈選。↓

\_

## 檢體保存及送檢數量↩

為確保檢體品質,理論上每次實驗應重新切片(使用現切的檢體)。↓

考 偏實務上取得檢體不易,研究表明 FFPE 檢體保存在 4℃和-20℃可以減緩 DNA 和 RNA <u>的降解</u>。如果必須一次切大量 FFPE 檢體,置於冰箱保存 並盡快處理或許是可行的辦法。⑷

 $\forall$ 

#### 送檢事項←

請送檢人填寫研究案檢體收件清單,送檢體的同時,需要附上檢體清單(以紙本形式和檢體一起送件或是發 E-mail 留存)。 4