

抗疫戰爭的決勝武器

PCR

奇美醫院 臨床病理部
黃凱培 醫檢師
2021.11.01

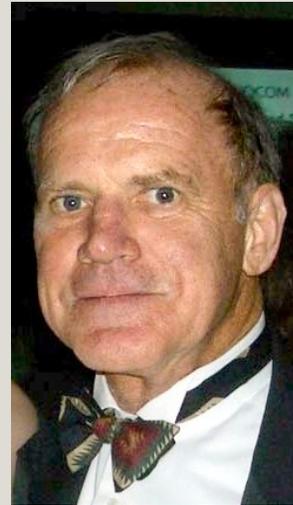
大綱

- PCR 應用
- PCR 原理及方法
- Ct 值 - 循環閾值是什麼？
- SARS CoV-2 PCR 檢體前處理
- 各種不同 real time PCR 平台
- 高通量核酸檢測實驗室扮演角色
- 快篩與 PCR 檢測有何不同？

PCR 應用

Polymerase Chain Reaction 聚合酶連鎖反應

- 基因圖譜建立
- 親子鑑定
- 偵測遺傳疾病
- 基因突變研究
- 產前診斷
- 器官移植
- 檢測病原



Kary Mullis

1983 年開發此技術

1993 年諾貝爾化學獎的獲得者

PCR 應用 - - 檢測病原

- HBV PCR
- HCV PCR
- HIV PCR
- Influenza PCR (Flu A 、 Flu A H1N1 、 Flu A H3N2 、 Flu B)
- Dengue PCR
- CMV PCR
- HSV PCR
- EV PCR

PCR 方法

Conventional PCR

實驗步驟



加入非離子性清潔劑
加Buffer GL、Proteinase K和
RNase A
56°C溫浴



溶解細胞



向裂解液中加Buffer GB和
乙醇
上述混合物直接移置column中



移除溶液



Buffer WA } 清洗Spin Column
Buffer WB }



移除上清液

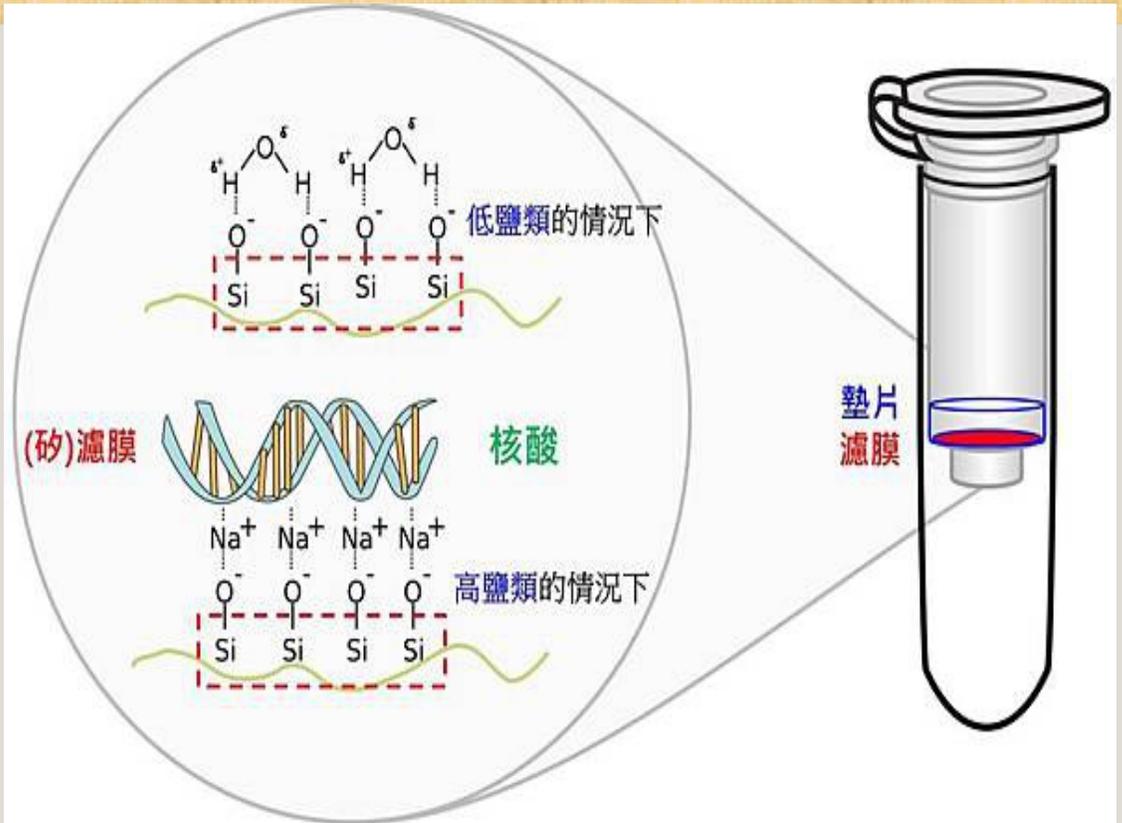


Spin Column移至1.5ml Tube上
加Elution Buffer



收集溶液
基因组 DNA 溶液

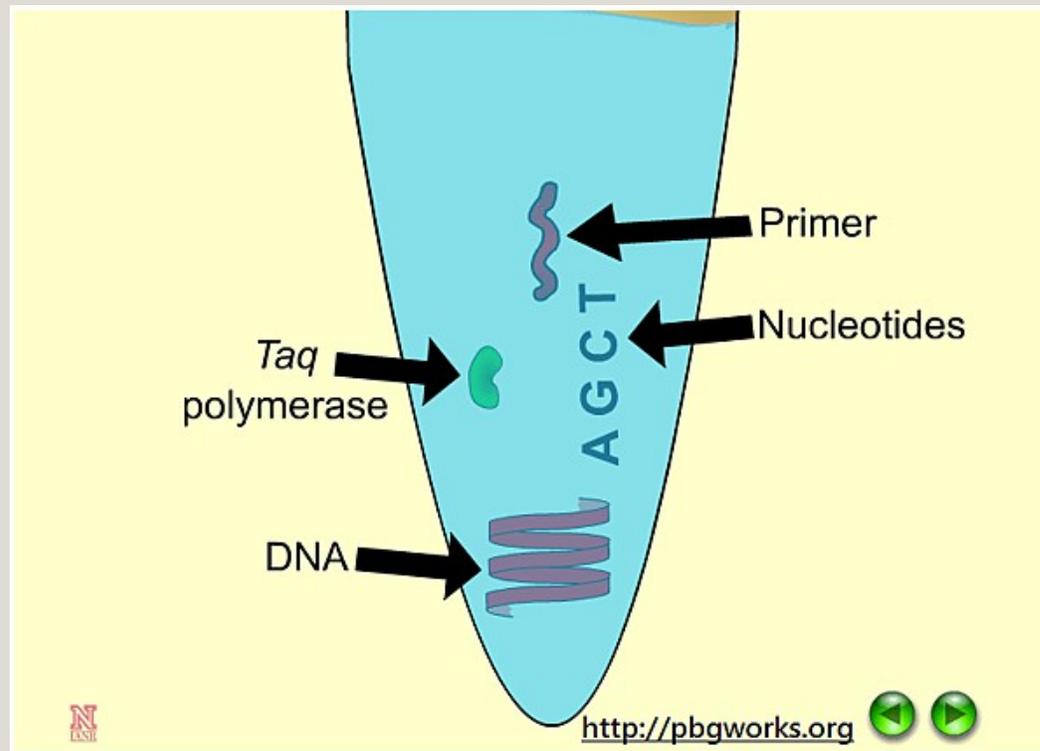
<http://www.takarabiomed.com.cn/explain/D/images/9765.jpg>



<http://www.bioengx.com/wp-content/uploads/2016/01/1-1.png>

PCR 原理及方法

Conventional PCR



PCR 原理及方法

Cycle 1

DNA Sample

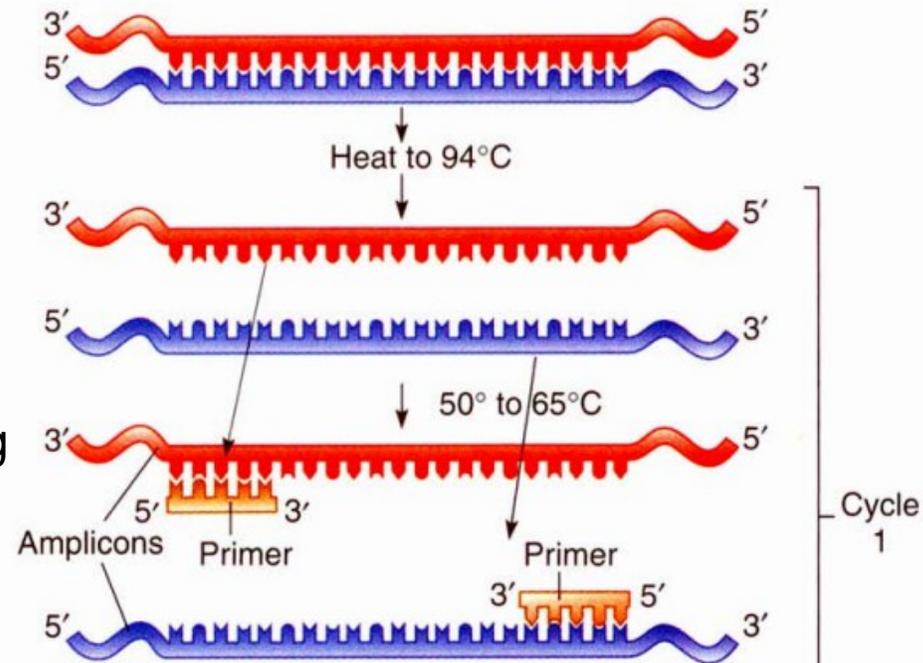
Denaturation

1. 加熱 (94~96°C) 將
模版DNA雙股分開

Priming

Annealing

2. 降低溫度(40~70 °C)
使特異性primer黏
合至單股模版DNA
的互補序列

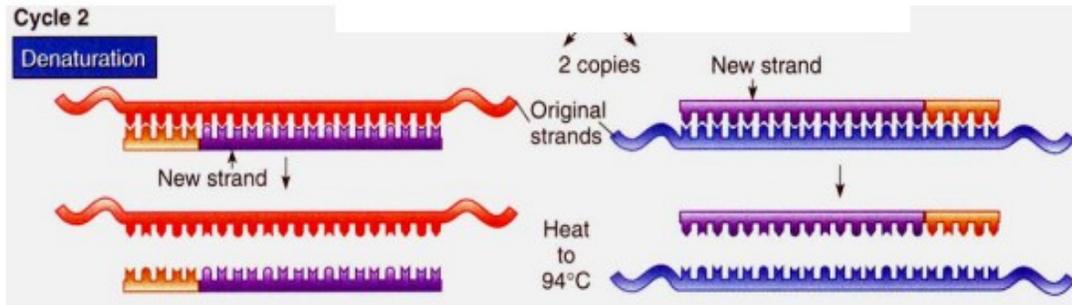
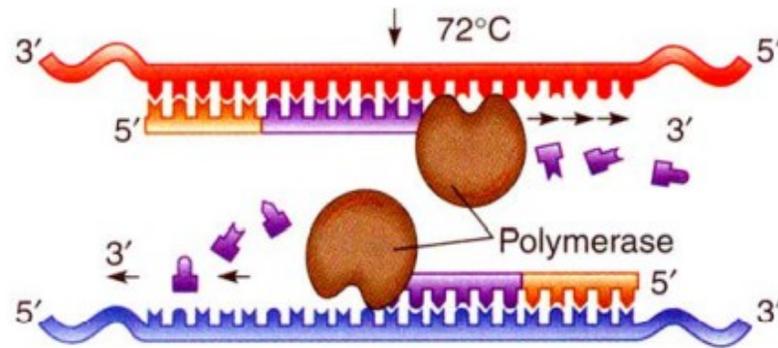


(王姿文等, 2003)

PCR 原理及方法

Extension

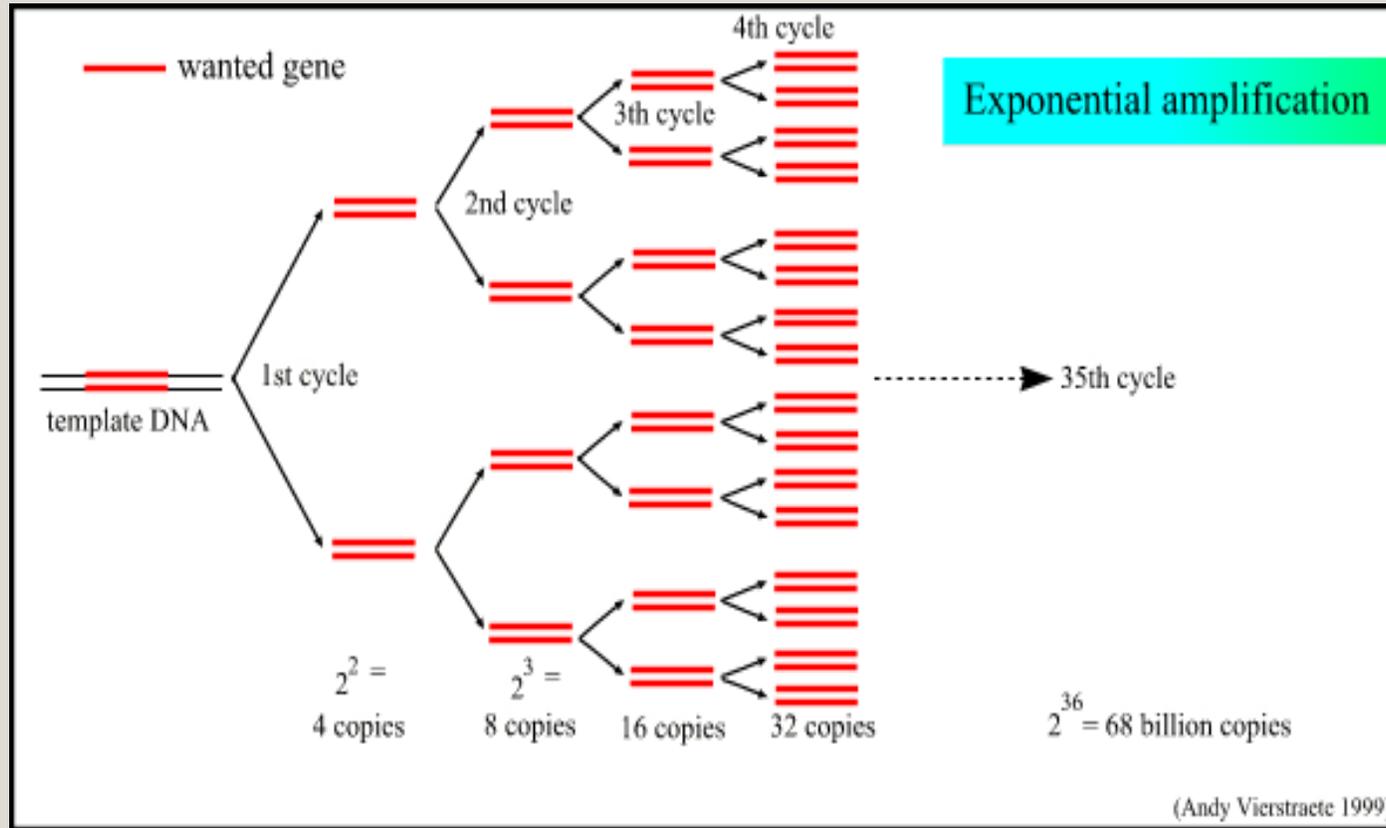
3. DNA聚合酶開始合成新股DNA (~72°C)



4. 重覆25~30個循環

PCR 方法

Conventional PCR

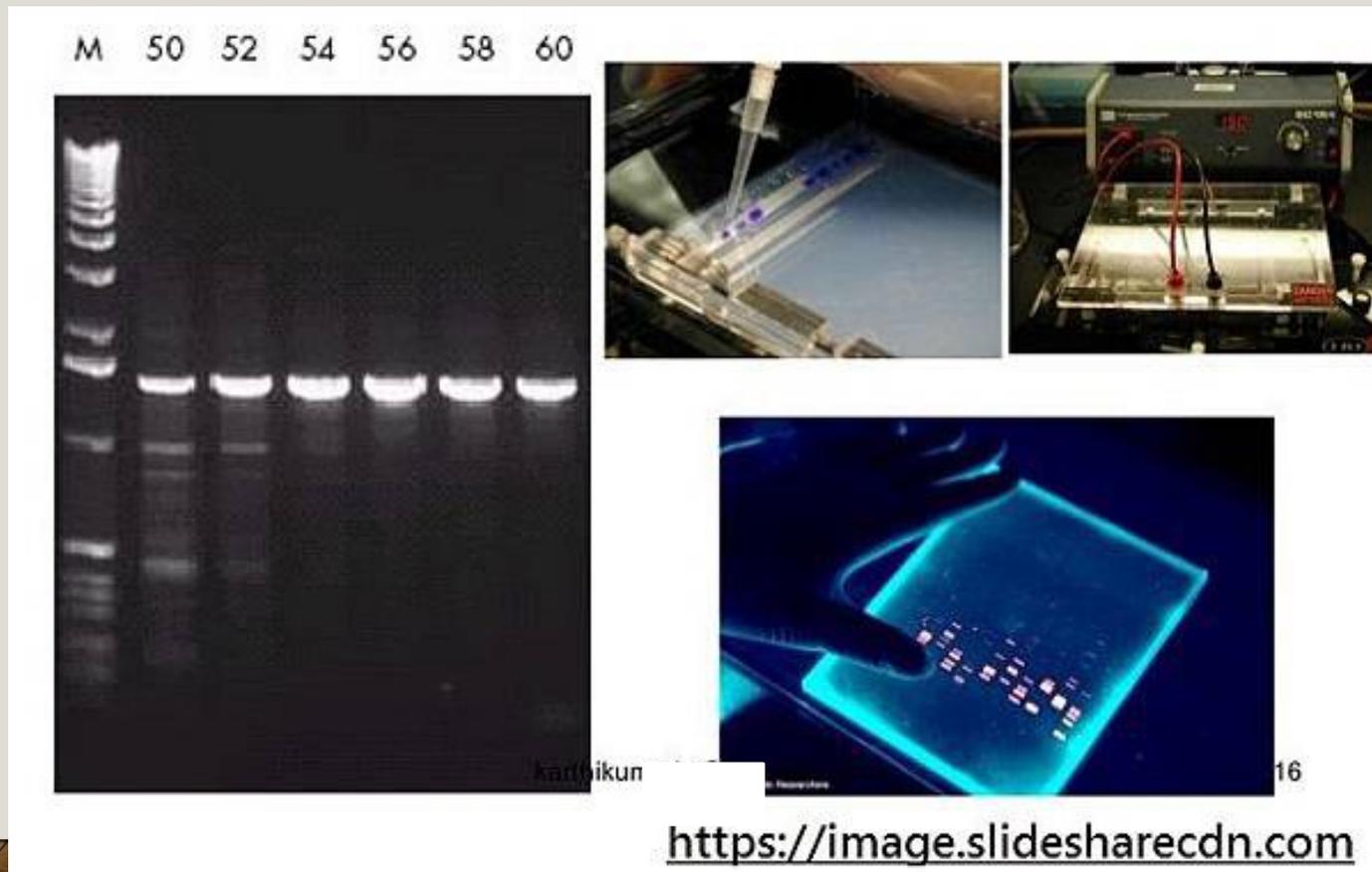


Youtube 影片

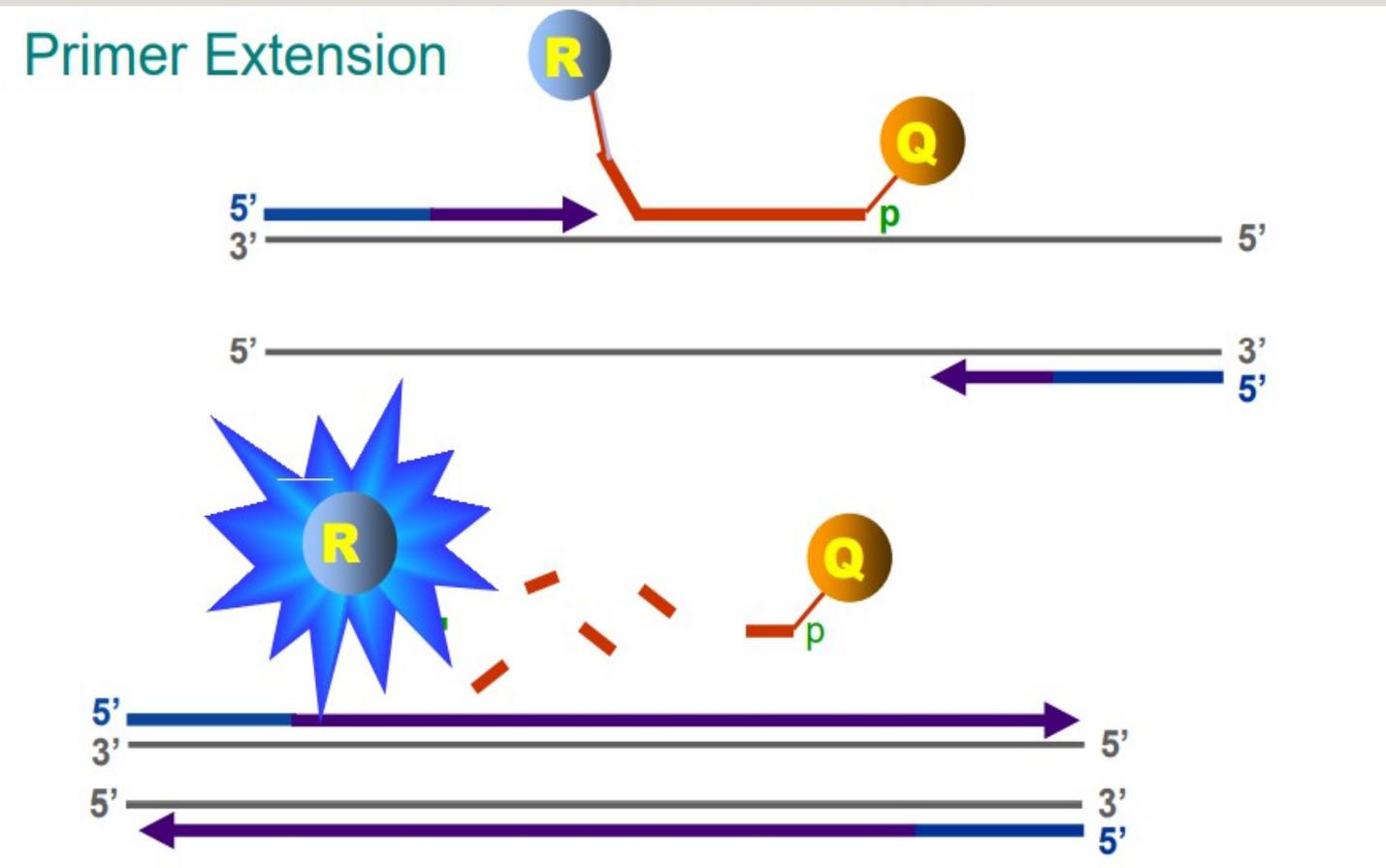


PCR 方法

Conventional PCR



Real-Time PCR 原理



Primer 引子

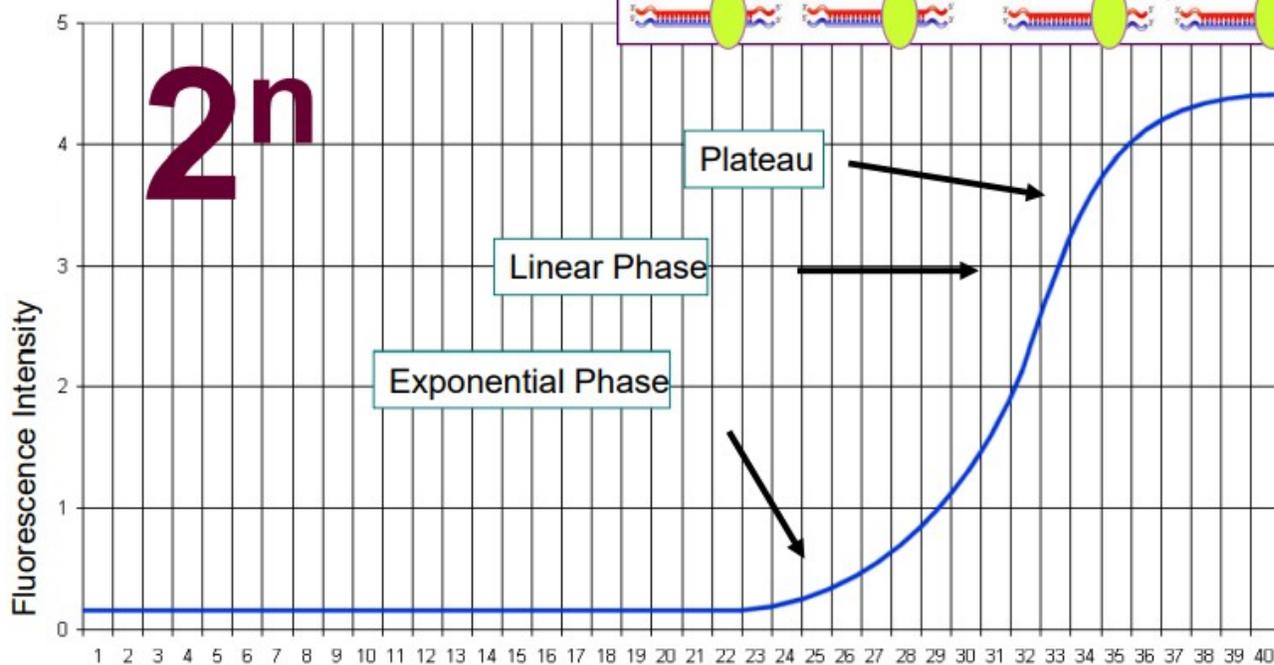
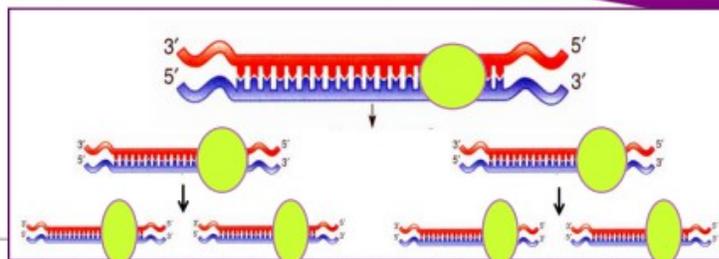
Probe 探針

TaqMan probe

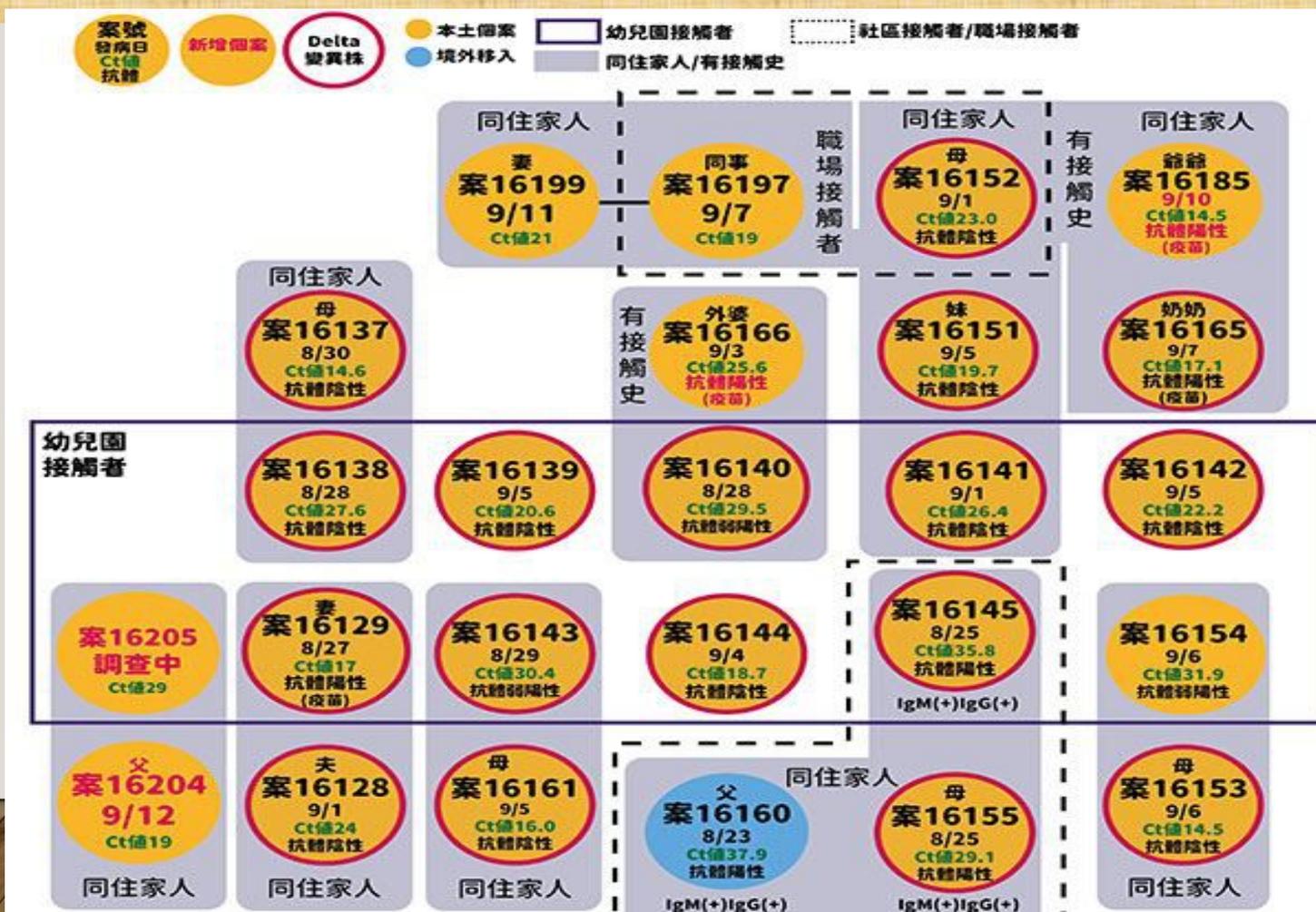
Reporter
Quencher

Real-Time PCR 原理

Real-time PCR原理

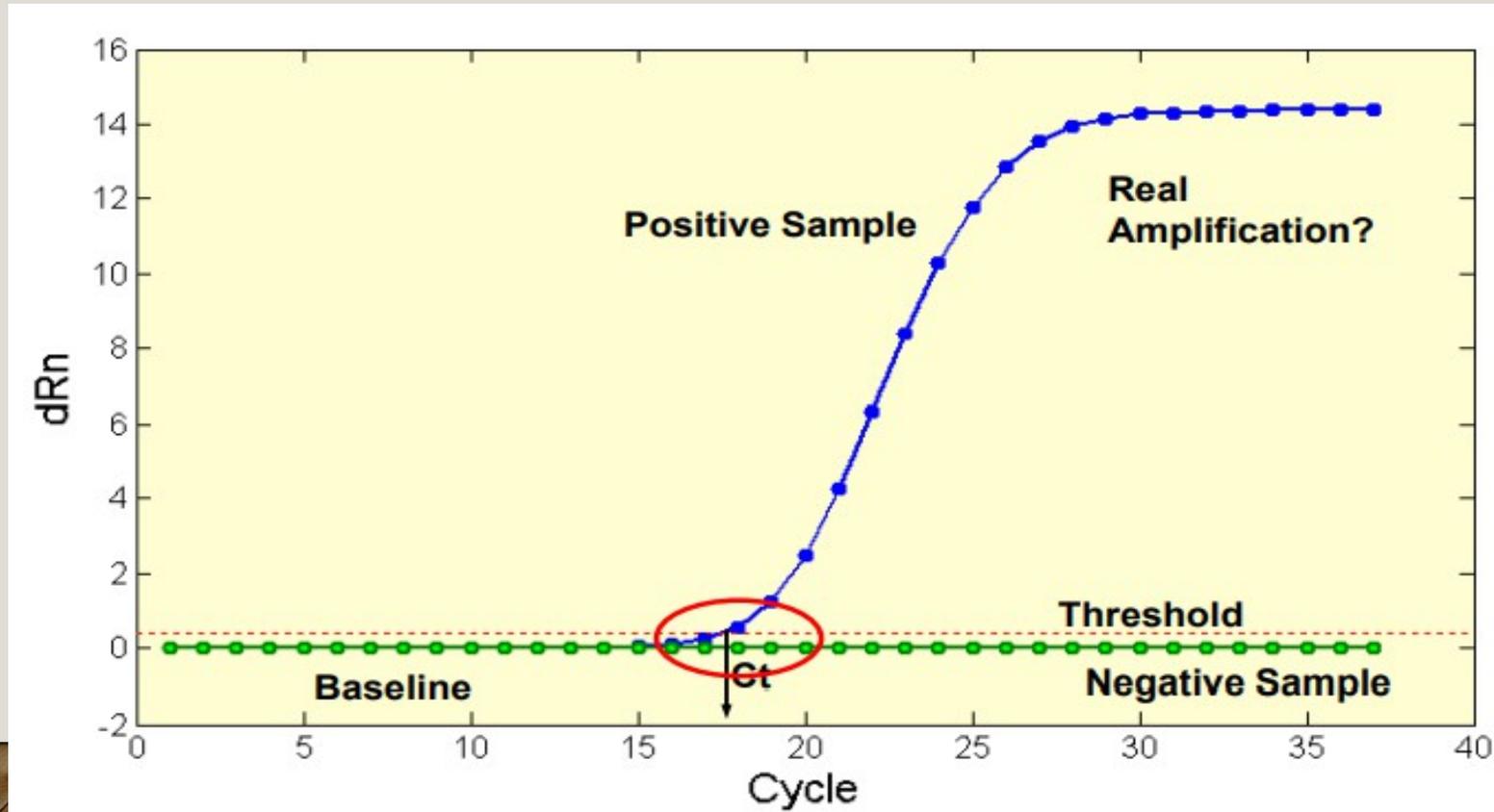


Ct 值 - 循環閾值



Ct 值 - 循環閾值

- Cycle Threshold (Ct) Determination



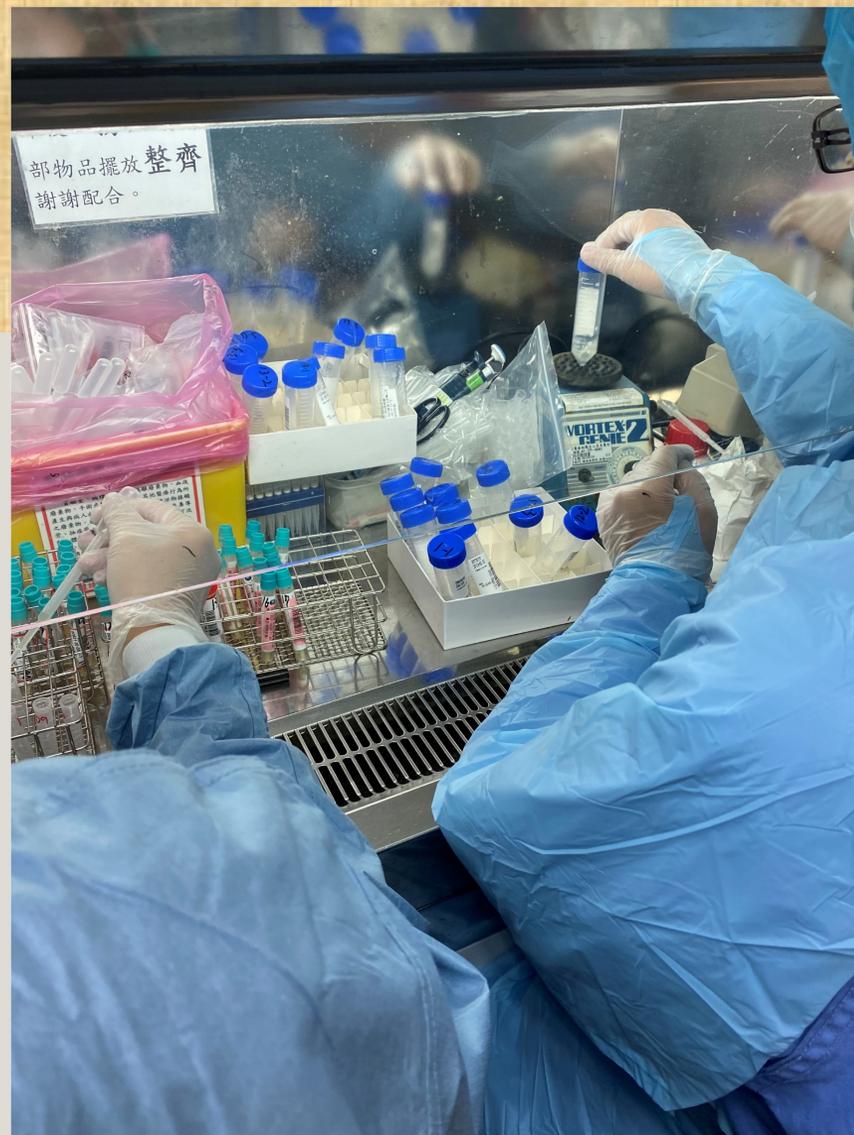
SARS CoV 2 PCR 檢體來源

- 病患
- 住院及陪病者篩檢站 (保留住院病患、陪病者)
- 出入境篩檢站 (自費採檢民眾)
- 疫病篩檢門診 (有旅遊、活動史且有症狀者)
- 南科西拉雅篩檢站 (南科移工)(抗原快篩 , 陽性結果轉 PCR 確認)
- 高風險接觸單位同仁
- 實習生
- 監獄...

SARS CoV 2 PCR 檢體前處理

檢體種類

- Throat /Nasal swab
- Sputum
- Saliva
- 其他 serum、 plasma、 stool.....



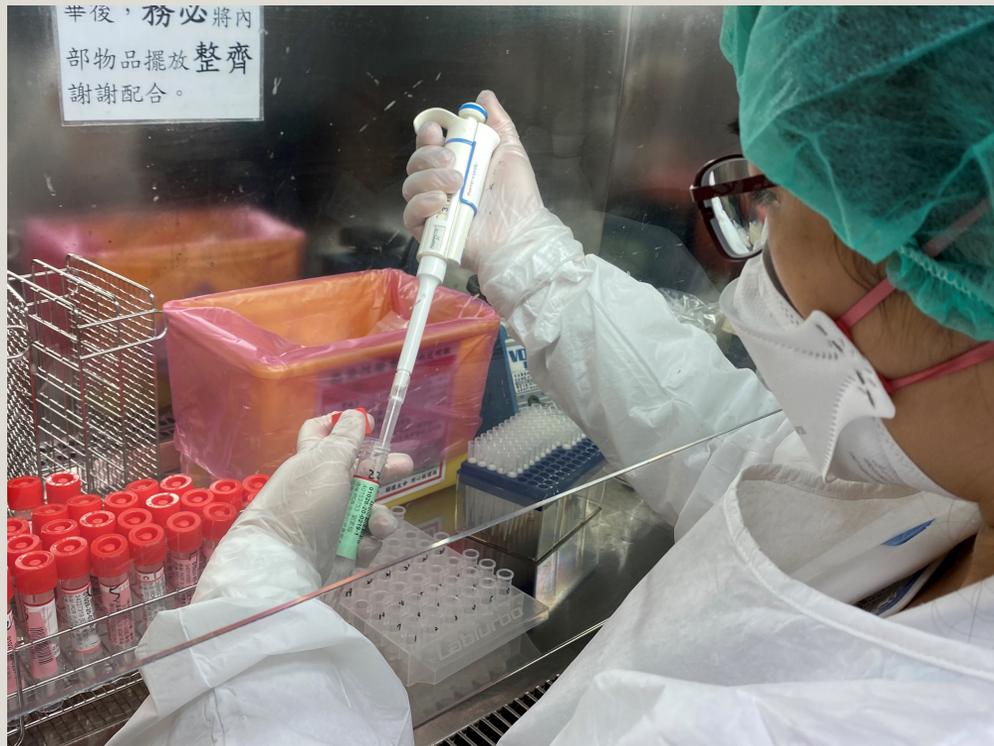
SARS CoV 2 PCR 檢體前處理



SARS CoV 2 PCR 檢體前處理



SARS CoV 2 PCR 檢體前處理



各種不同 real time PCR 平台

Labturbo RNA Extraction



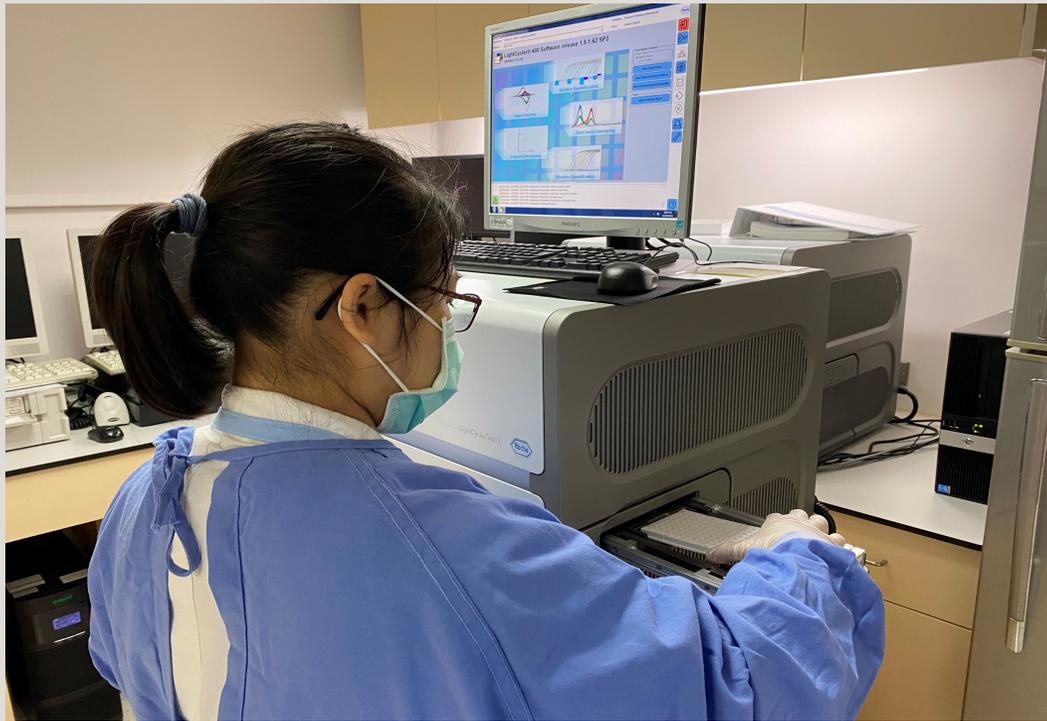
各種不同 real time PCR 平台

Manual PCR Preparation



各種不同 real time PCR 平台

Roche LC480



各種不同 real time PCR 平台

Labturbo AIO48



Youtube 影片



各種不同 real time PCR 平台

Abbott Alinity m



各種不同 real time PCR 定量平台

Cepheid GeneXpert



貨櫃組合式微負壓高通量全自動核酸檢測實驗室

ITRI: Industrial Technology Research
Institute

- 五大特色：

1. 一站解決
2. 客製化設計
3. 確實分流
4. 控制濕度、溫度、潔淨度與壓差
5. 組裝迅速

貨櫃組合式微負壓高通量全自動核酸檢測實驗室 **重點特色**

進/排氣淨化
Bag IN Bag OUT 系統
無汙染式供排氣處理

潔淨度 Class10000
P2+級實驗室需求

負壓值 $\geq 8\text{Pa}$
P2+級實驗室需求

機動部署
貨櫃套件可快速拆卸組裝
適合重點式臨時部屬

獨立能源系統
發電機式電源供應
淨化水源供應與廢水回收系統

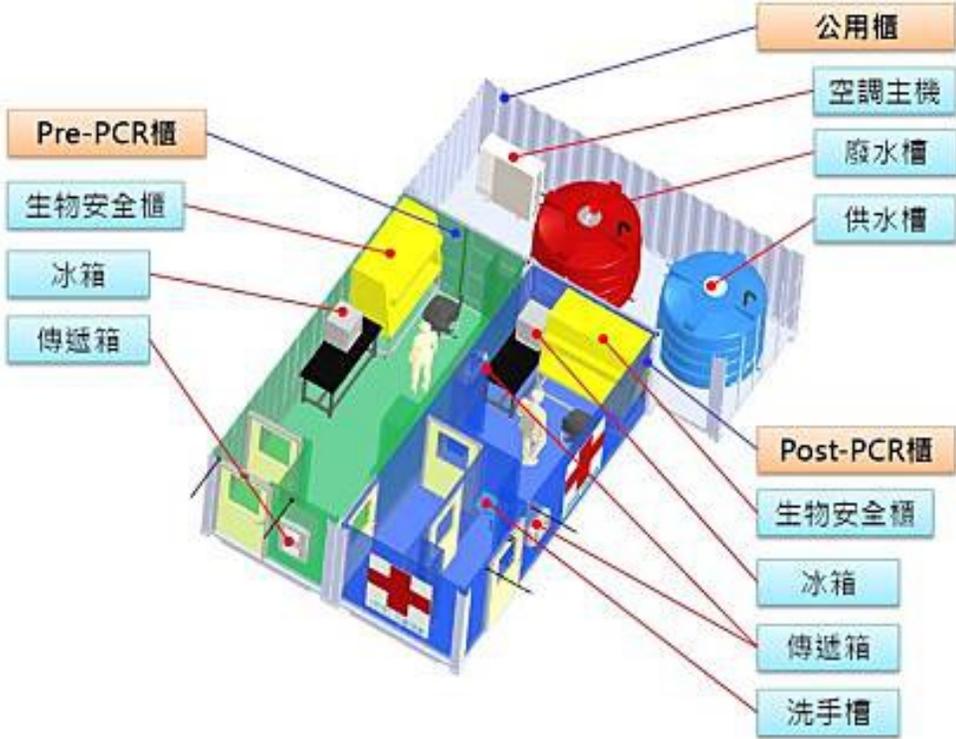
貨櫃組合式微負壓高通量全自動核酸檢測實驗室



貨櫃組合式微負壓高通量全自動核酸檢測實驗室

貨櫃組合式微負壓高通量全自動核酸檢測實驗室

內部配置



貨櫃組合式微負壓高通量全自動核酸檢測實驗室

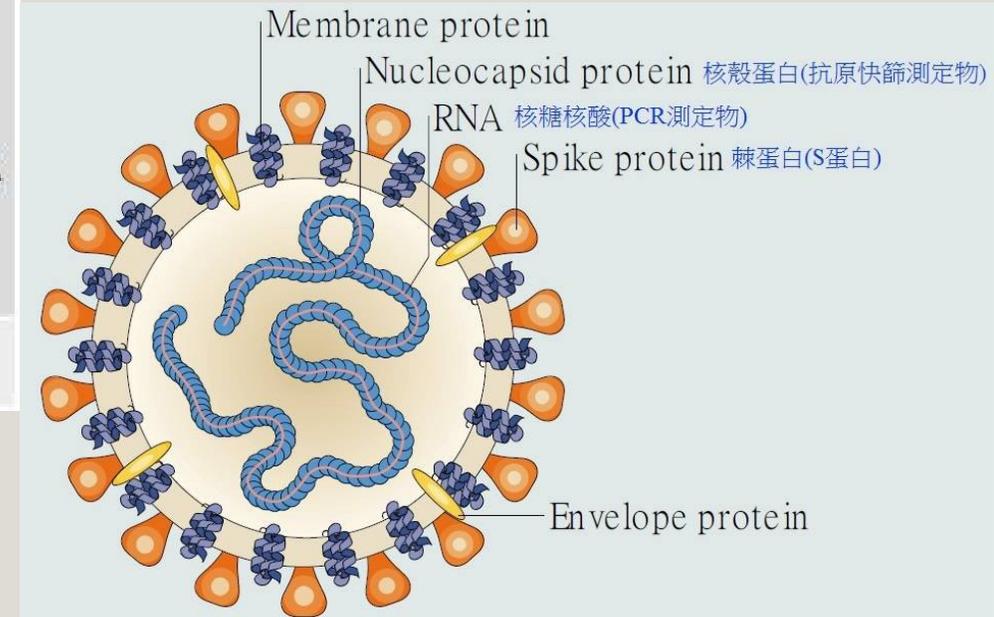


貨櫃組合式微負壓高通量全自動核酸檢測實驗室



全自動核酸檢測實驗室

設備名稱	小型定點照護檢驗儀器	高通量檢測	高通量全自動核酸檢測
優勢	<ol style="list-style-type: none"> 1. 小型儀器，不佔空間。 2. 1小時內可檢測出核酸報告。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 自動化操作。 2. 每日可執行核酸檢驗500人次。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 自動化操作 2. 檢體隨到隨上，即時性佳。 3. 每日可執行核酸檢驗1,000人次，提升檢驗能量。
劣勢	單次上機一支	批次作業(48支)	空間需求高



一張圖簡單看懂

HEHO

快篩與PCR檢測有什麼不同？

核酸檢測 (RT-PCR)

檢測檢體中是否含
病毒的遺傳物質

優點

準確率高，少量病毒
也可檢驗出

缺點

耗時，且需要專業
設備及人員操作 **昂貴**

適用情況

較少人數的確診
或疑似感染者的確認

抗體檢測 (快篩試劑)

檢測檢體中是否
含有病毒的抗體

優點

可找出曾感染過的人
及體內是否有免疫力

缺點

感染中後期才能驗出
對感染風險者分流
幫助較小

適用情況

事後疫調

抗原檢測 (快篩試劑)

檢測檢體中是否
含有病毒的抗原

優點

檢驗耗時短
可快速得知是否感染

缺點

準確度較 RT-PCR 低
易有偽陽、偽陰性發生

適用情況

較大規模、高風險
地區的篩檢



Heho健康



同舟一命
我醫護、我驕傲