平台特性

- NCGM-SNP組SNP鑑定服務係採用美商SEQUENOM MassARRAY® System ，此平台可供用戶選擇較彈性的樣本數(94個樣本的倍數)及任意數目的SNPs 申請鑑定實驗(1~數百個SNPs)。此平台的特點在於可於單一well中進行多個SNPs (最多36 SNPs)的鑑定實驗，但哪些SNP可於同一well 內進行鑑定實驗以及單一well 內最多可進行多少個SNPs，這都取決於該批SNPs的primer設計結果。

1.gDNA isolation by user

2.PCR Amplification

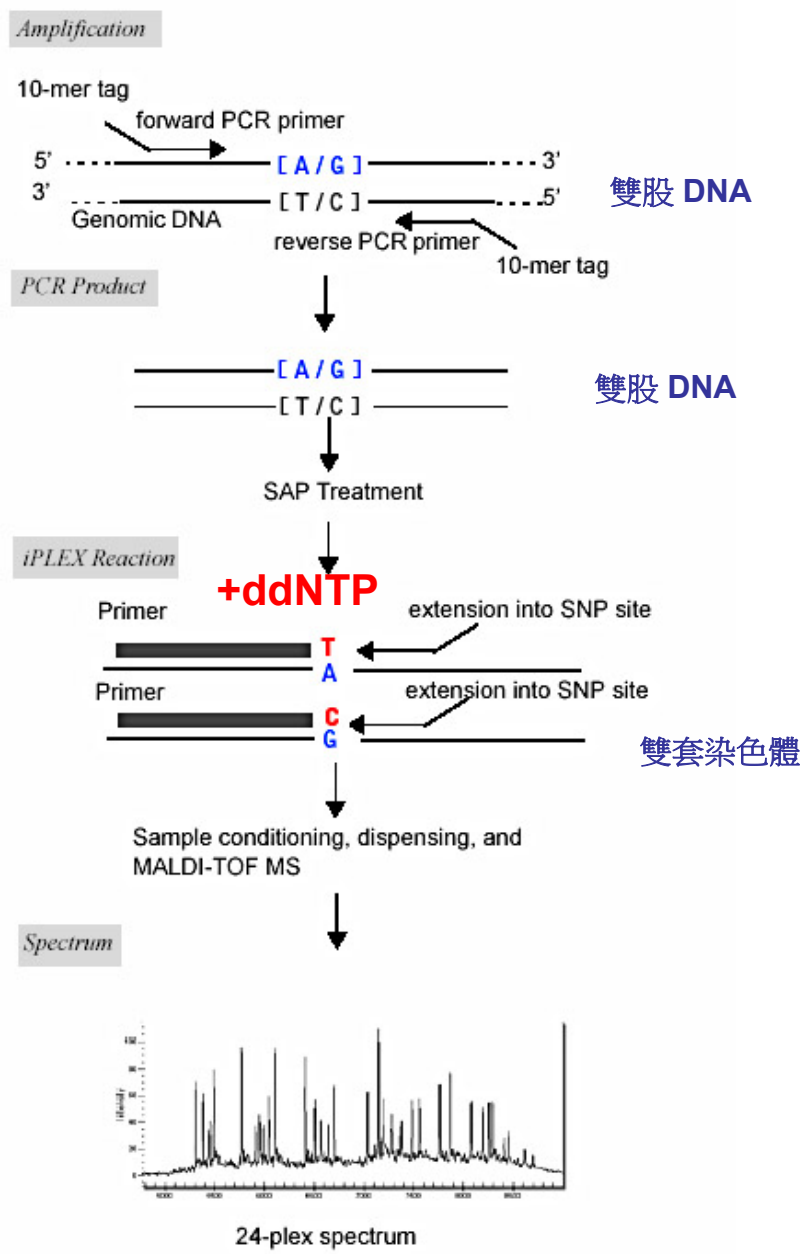
3.SAP incubation

4.Primer Extension

5.Chip Dispensing

6.MALDI-TOF Detection

平台原理



步驟1. gDNA isolation。用戶提供自行萃取的gDNA。

步驟2. PCR Amplification。針對每一個SNP設計一對PCR primer 來放大包含SNP點的片段，PCR產物大小約80~120bp。

步驟3. SAP incubation。使用Shrimp Alkaline Phosphatase 來水解沒有反應完的dNTPs，避免PCR反應剩餘的dNTP 干擾後續反應。

步驟4. Primer Extension。針對每一個SNP設計一條緊鄰SNP點的probe, 反應中只加入ddNTP， probe連接上的ddNTP由SNP的genotype 來決定。故可由反應產物回推樣本的genotype。

步驟5.Chip Dispensing。反應完的樣本，進行去鹽離子處理，再進行樣本點注

步驟6. MALDI-TOF Detection。使用飛行質譜儀偵測primer extension實驗產物，由分析軟體自動判讀結果。

此說明僅為單一SNP的反應，實際實驗同時最多可進行**36 SNPs**反應於單一well

可提高成功率與實驗正確性的檢查動作

1. 請確認SNP序列資料為最新的，或可使用NCGM所提供的序列下載工具下載序列(相關說明請參考使用手冊，第5.1章節的說明)
2. 請使用MySequenom 網站檢查欲鑑定的SNPs是否適合使用SEQUENOM MassARRAY® System 進行鑑定，事先剔除不適用的SNP點。(相關說明請參考使用手冊，第5.2章節的說明)

平台限制

- 目前whole genome約有超過1900萬的SNPs，每位用戶的request皆不同，NCGM無法為每位用戶調整所有的實驗條件。
- SNP資料不斷更新，導致primer 設計時的誤差，可能干擾實驗成功率與結果。
- MultiPLEX 的相互干擾可能會影響實驗成功率與結果。

整體成功率

- 樣本品質、primer plex數設定、SNP挑選、是否有進行事前的SNP適用性檢查等因素皆會影響實驗的整體成功率。
- 平均而言，約有1~2成的SNPs 無法成功鑑定。失敗的原因可能為：
  1.SNP不適用於Sequenom 平台。
  2. MultiPLEX 的相互干擾。