

FFPE

FFPE样本的RNA-Seq文库解决方案



SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit v2 – Pico Input Mammalian

<工作流程>



临床样本常使用福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）后进行保存。由于从FFPE样品中提取的RNA容易降解，因此很难进行NGS文库的制备。SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v2 – Pico Input Mammalian（Pico v2）使用随机引物进行反转录反应，并通过专有的技术去除rRNA。因此即使是品质较差的FFPE样品的RNA，也可以高效制备Illumina测序文库。



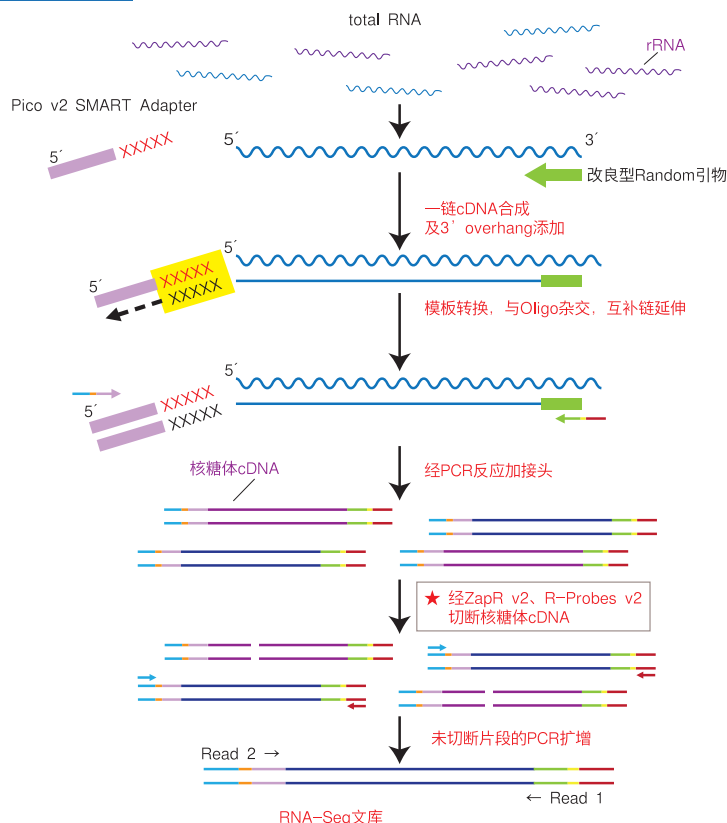
◆ Pico v2的特点 ◆◆◆◆

- ✓ RNA的DV₂₀₀ (※) 为30%甚至更低时，也可制备高品质的RNA-Seq文库
- ✓ 可以5-50 ng FFPE来源的总RNA起始
- ✓ 操作时间仅需要6小时

※ DV₂₀₀指的是一种评价RNA质量的指标，即长度超过200 nt的RNA片段在所有RNA序列中的比例。RNA的质量越高，DV₂₀₀值越高。

RNA的品质	DV ₂₀₀
高	> 70%
中	50~70%
低	30~50%
高度降解	< 30%

流程概要



◆ 产品列表 ◆◆◆◆

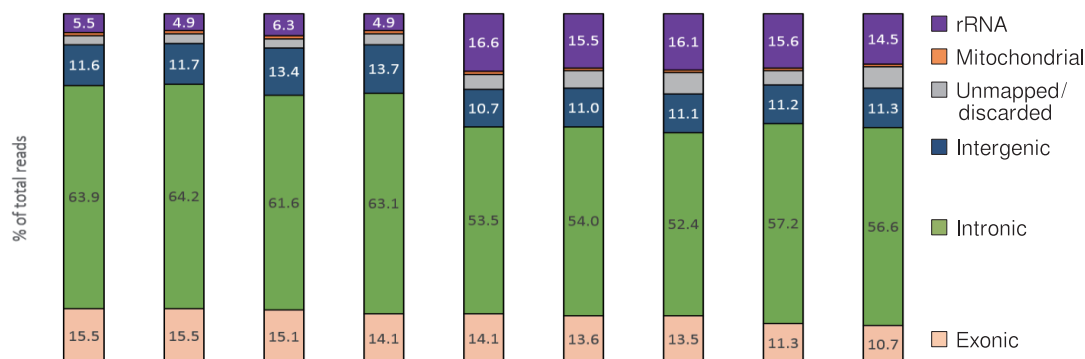
产品名称	包装量	Code No.
SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit v2 – Pico Input Mammalian	12 次	634411
	48 次	634412
	96 次	634413
	192 次	634414

▪ Index种类分别为12、48、96种；需要另外准备AMPure XP。



◆ Takara实例 ◆◆◆◆

取4个不同降解程度的FFPE-RNA样本（DV₂₀₀在28%–68%之间），使用本试剂盒制备文库，然后进行NGS分析。同一样品，不同起始量检测到的转录本数量基本相同，具有很高的表达重复相关性，而且比对到rRNA的比率≤20%。

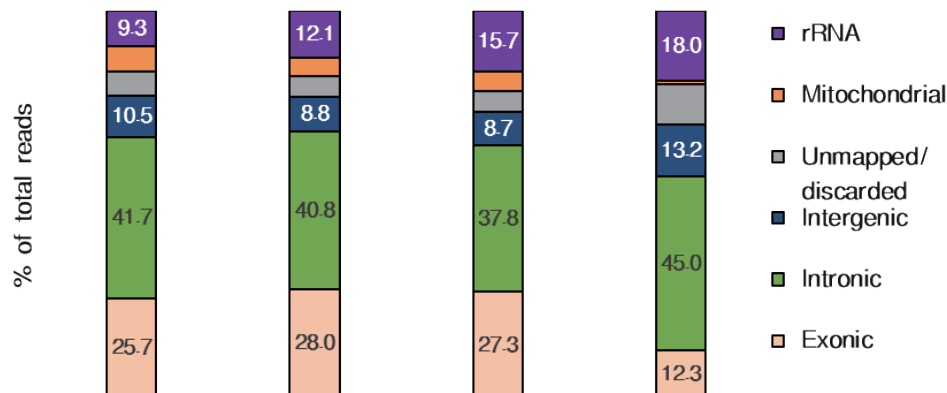


FFPE tissue	Breast (Normal)				Lung (Cancer)			
Sample (DV ₂₀₀)	A (66%)		B (68%)		C (30%)		D (28%)	
Input amount	10 ng	40 ng	10 ng	72 ng	10 ng	50 ng	90 ng	10 ng
% duplicates	36	28	46	27	56	41	28	59
Transcripts ≥1 FPKM	10,023	9,916	9,348	8,716	10,592	10,346	10,495	9,305
Transcripts ≥0.1 FPKM	21,831	21,855	20,662	20,491	22,119	22,370	22,546	21,416
Pearson/Spearman	0.99/0.9		0.98/0.88		0.99/0.88		0.99/0.88	

以上图片与数据来源：Takara Bio USA Inc.

◆ 客户实例 ◆◆◆◆

取3个不同降解程度的FFPE-RNA样本（DV₂₀₀在11%–80%之间），使用本试剂盒制备文库，然后进行NGS分析。不同的FFPE-RNA的品质和起始量，均有较高的转录本检测数（当FPKM≥1时，转录本数均大于10,000）。



Input amount	A (50 ng)	B (50 ng)	B (10 ng)	C (50 ng)
DV ₂₀₀ (%)	75	80	80	11
RIN	7.5	2.1	2.1	2.5
Total reads	54,354,978	60,432,366	58,448,242	50,730,574
% duplicates	32.9	24.6	34	18.8
Transcripts ≥ 1 FPKM	11,510	11,698	11,730	10,450
Transcripts ≥ 0.1 FPKM	20,559	19,531	19,439	22,486

以上数据来源于臻和（北京）科技有限公司

Pico v2能够从降解的FFPE样品中获得高品质的RNA-Seq文库。

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认：<http://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页上记载的产品信息是2019年4月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.1 2019年3月印刷 1K