

FFPE

分解の激しいFFPEサンプルからの RNA-Seqライブラリー調製



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

カテゴリー：次世代シーケンス(NGS)

<FFPEサンプルからのNGSワークフロー>



臨床検体は多くの場合、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織で保管されています。FFPEサンプルから抽出したRNAは著しく分解されているため、NGS用ライブラリーの調製は非常に困難です。

SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v2 - Pico Input Mammalian (Pico v2) は、逆転写反応にランダムプライマーを用い、独自の技術でrRNAを除去しているため、分解度の高いFFPEサンプル由来のRNAからでもイルミナ社NGS用ライブラリーを調製することができます。



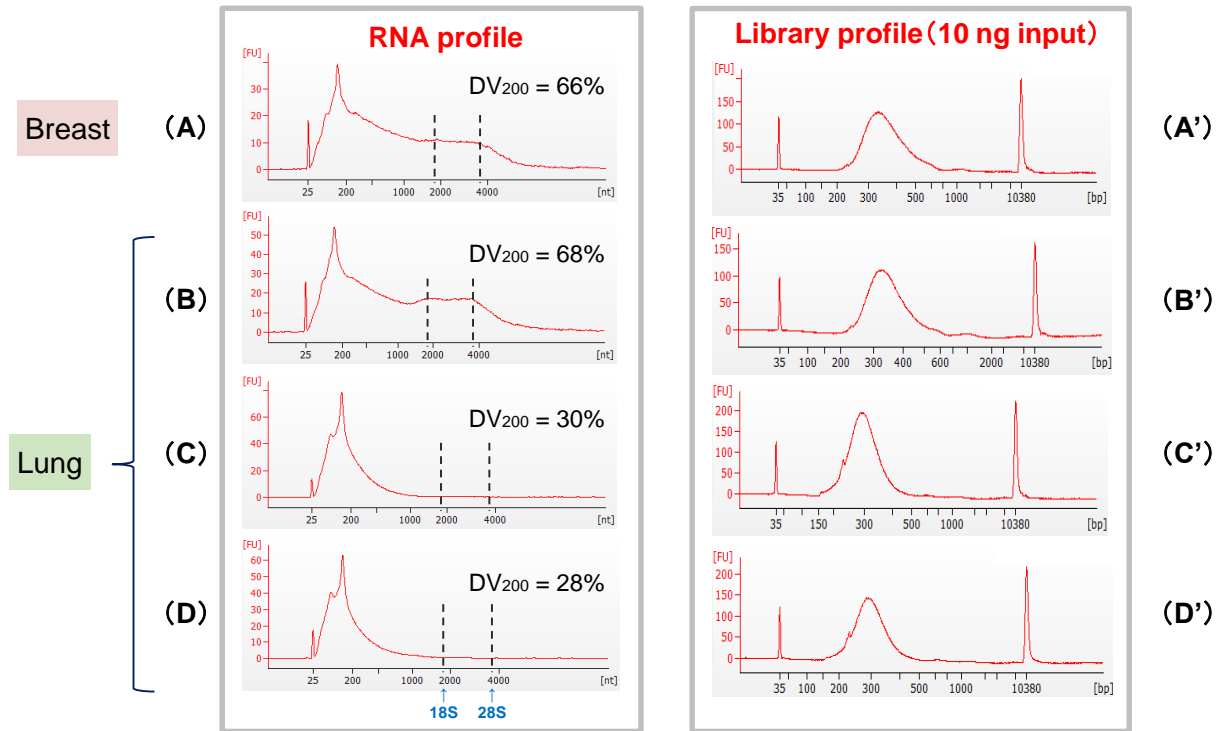
◆ Pico v2の特長 ◆◆◆◆

- ✓ RNAの分解度 DV₂₀₀(※)が30%以下でも、安定したRNA-Seqライブラリーを調製可能
- ✓ 5~50 ngのFFPE由来total RNAに対応
- ✓ 6時間以内のライブラリー調製時間

RNAの品質	DV ₂₀₀
高	>70%
中	50~70%
低	30~50%
過度の分解	<30%

※DV₂₀₀：イルミナ社が開発したRNA品質の指標で、200塩基以上のRNA断片の割合を示し、高品質なRNAほどDV₂₀₀値は高い(上記)。RNAの品質評価に広く用いられているRIN(RNA Integrity Number)値は、FFPEサンプルの場合、ライブラリー調製成功の予測値として信頼性に欠けることが明らかになっている。(イルミナ社テクニカルノート：Pub. No. 470-2014-J001 21AUG2015)

◆ FFPEサンプルからのインプットRNAとNGSライブラリーの品質比較 ◆◆◆◆



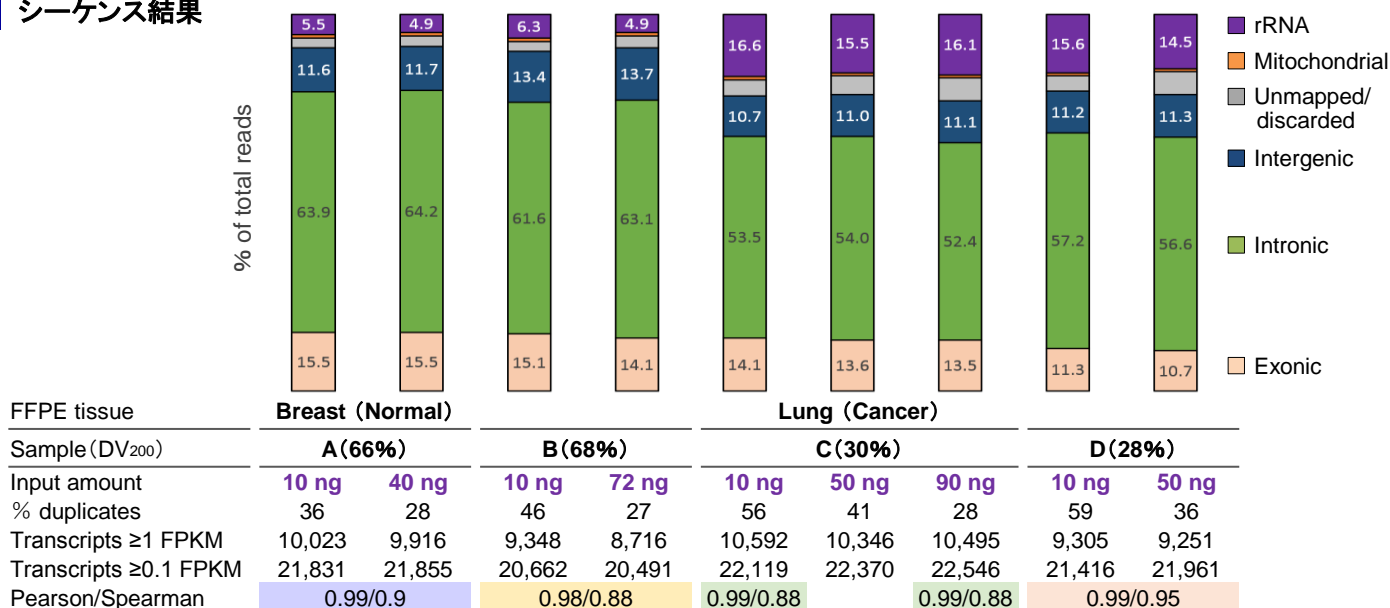
4種類のFFPEサンプル由来RNAの品質を、アジレント社2100バイオアナライザを用いて確認した(A)~(D)。その後、Pico v2を用いてそれぞれ10 ngのtotal RNAからライブラリーを作製し、2100バイオアナライザで評価した。

RNA品質評価(A)~(D)では、いずれのサンプルも18S rRNAと28S rRNAの明確なピークは検出されず、(C)(D)についてはDV₂₀₀が約30%と分解度の高いRNAサンプルであった。このような分解度の高いRNAを含むサンプルから作製したNGSライブラリー(A')~(D')は、アダプターダイマーも無く安定したパターンを得ることができた。

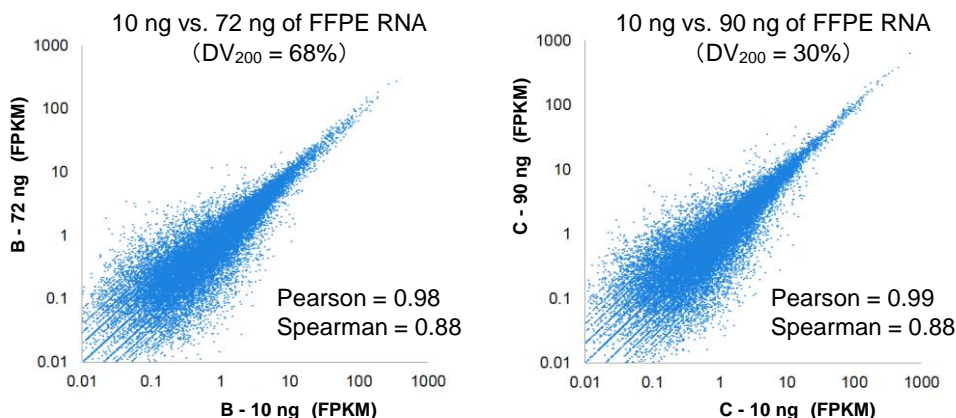
◆ 4種類のFFPEサンプル由来RNAからのシーケンスデータの比較 ◆◆◆

DV₂₀₀値が異なるFFPE由来RNAから本キットを用いてライブラリーを作製後、イルミナ社次世代シーケンサーで解析した(1サンプルあたり約14 Mリードを取得)。

1 シーケンス結果



2 異なるインプット量におけるトランスクリプト発現量の比較



各々のサンプルにおいて、検出されたトランスクリプト数は、インプットRNA量によらずほぼ同程度となり、rRNAに対するマッピング率は20%以下となった(パネル 1)。

また、発現量に関しても、異なるインプットRNA量で相関がみられた(パネル 2)。

データ取得: The Vincent J. Coates Genomics Sequencing Laboratory (GSL) at the University of California, Berkeley

Pico v2は、分解の激しいFFPEサンプルからのRNA-Seqが可能です。

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit v2 - Pico Input Mammalian	12回	634411	¥198,000
	48回	634412	¥700,000
	96回	634413	¥930,000
	192回	634414	¥1,680,000

・インデックスの種類は各々12、48、96、96種類です。 ・AMPure XP(ベックマン・コールター社)が別途必要です。

・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。

・本チラシに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。 ・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。

・本チラシ記載の価格は2018年2月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2018年2月作成G

タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
 関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995
 テクニカルサポートライン
 TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995
 Website <http://www.takara-bio.co.jp>
 Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店