

FFPE 檢體送檢 NGS

↵

檢體類型

主要有 Slide 和 Curls/Scrolls 兩種, 如不需要選區域, 請盡量選擇 Curls/Scrolls。

↵

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):

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 捲, 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。
- 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)。

考慮實務上取得檢體不易, 研究表明 FFPE 檢體保存在 4°C 和 -20°C 可以減緩 DNA 和 RNA 的降解。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。

↵

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)。