



Application

qPCR法による次世代シーケンスライブラリー定量 — 蛍光プローブ検出とSYBRGreenI検出 (KAPA LQ Kit) の比較 — (Ion Torrent™ IonAmpliSeq™ Cancer Panelライブラリー)

製品名

KAPA Library Quantification kits (KK4827)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

このアプリケーションノートは、国立がん研究センター研究所 エピゲノム解析分野 丹羽透様、牛島俊和様のご厚意により掲載させていただきました。

比較検討方法

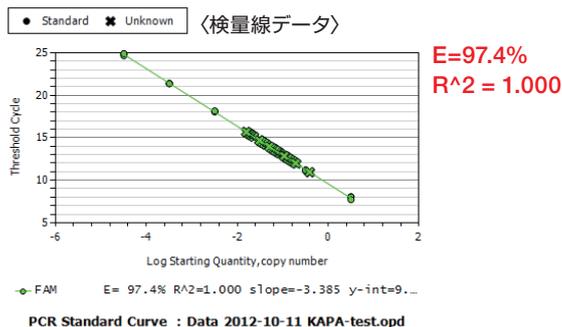
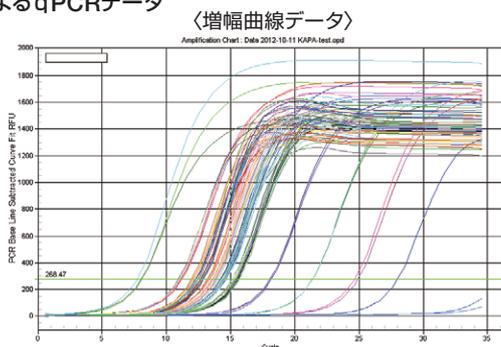
あらかじめA社ライブラリー定量キット (蛍光プローブ検出) で定量したIon Torrent™ IonAmpliSeq™ Cancer Panelライブラリー6検体について、それぞれ500倍、1000倍、2000倍、4000倍に希釈し、KAPA Library Quantification kit (SYBRGreenI検出) で定量を実施しました。算出されたDilution Factorのそれぞれの平均値を、あらかじめA社キットで算出されていた値と比較しました。

qPCR装置 : Bio-Rad社 MyiQ™
 ライブラリー定量キット : A社ライブラリー定量キット
 ライブラリーサンプル : IonAmpliSeq™ Cancer Panelライブラリー 6検体

● 蛍光プローブ検出
● SYBR GreenI検出

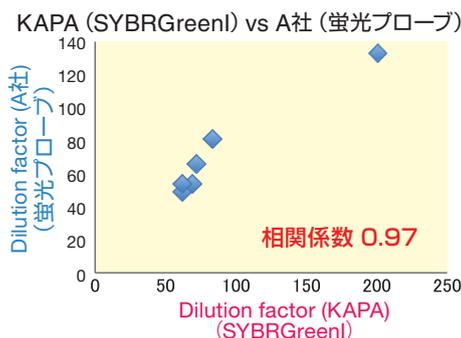
結果

(1) KAPA LQ KitによるqPCRデータ



(2) 算出されたDilution Factorの比較

Sample No.	算出された Dilution factor	
	KAPA (SYBRGreenI)	A社 (蛍光プローブ)
1	62	49
2	69	54
3	83	81
4	201	133
5	72	66
6	62	54



A社キットを使った場合に比べて、Dilution Factor が高めに出現する傾向がありました。A社の場合とKAPAの場合とで相関係数が高い (0.97) ので、これは使った標準DNAの違いがそのままできていると考えています。

どちらが良いとは判断のしようがありませんので、結果としては、KAPA LQ Kit (SYBRGreenI検出) はA社 (蛍光プローブ検出) と同じように定量できるということが言えると思います。

KAPAでのPCRの増幅具合を見ますと、

- 20μLの反応容量にもかかわらず、高い蛍光値を示す。
- 標準DNAの反応パターンから見たPCR効率がよく (97.4%)、ばらつきもほとんどない ($R^2 = 1.000$) などから、SYBRが大量に入っている、力強く増やすことができる酵素、反応系であると感じました。



お客様のコメント