

KAPA Human Genomic DNA Quantification and QC Kit

ヒトゲノムDNA 定量&品質チェック用キット

FFPE*サンプルのように微量で品質にバラつきがあるヒトゲノムDNAサンプルについて「qPCRによる定量」と「品質（デグラデーションの状態など）の推定」が可能なキット

*FFPE：ホルマリン固定パラフィン包埋サンプル

- ・高感度で信頼性の高いqPCR法により、微量なDNAサンプルでも定量が可能です。また、「PCRが可能な品質のDNA量」として定量できます。
- ・ロット間差を最小限に抑えたバリデーション済みDNA定量スタンダードが希釈済みで添付されています。
- ・同一部位の長さが異なる41bp、129bp、305bpをそれぞれ定量することで、「PCR可能なDNA分子がどの位のサイズまで存在しているか（どの位デグラデーションが進んでいるか）」が推定できます。
- ・サンプルのDNA量を定量するとともに、品質もチェックできるため、次世代シーケンシング用ライブラリーに供するかどうかの判断や、得られるシーケンシングデータの推測が可能となります。

保存条件

-20℃で1年間

キット内容

- ・ KAPA SYBR FAST qPCR Kit (2×) 3×1ml
- ・ DNA スタンダード (5段階希釈済み) 5×300μl
- ・ 41bp プライマー・プレミックス 1×200μl
- ・ 129bp プライマー・プレミックス 1×200μl
- ・ 305bp プライマー・プレミックス 1×200μl

※1キットに含まれる内容で以下のサンプル数が測定できます。

- ・ 1プレート (96ウェルプレート) ずつ測定した場合
4サンプル×3プレート (計12サンプル)
- ・ 3プレート (96ウェルプレート) で測定した場合
26サンプル/3プレート

qPCR装置適合

- Universal キャピラリータイプのLightCycler®を除く、ほとんどの機器に使用可能
- ABI Prism® ABI5700/7000/7300/7700/7900HT/StepOne™Plus
- ROX Low ABI7500/ViiA™7/MX3000P™/MX3005P™/MX4000™
- Bio-Rad iCycler™ iCyclerQ®/iQ™5, MyiQ™
- Roche LightCycler®480 LightCycler®480 (キャピラリータイプのLightCycler®には対応していません)

Cat.No.	包装単位	価格(税抜)
KK4960	300反応分 / Universal	1キット ¥126,000
KK4961	300反応分 / ABI Prism®	1キット ¥126,000
KK4963	300反応分 / LightCycler® 480	1キット ¥126,000

Cat.No.	包装単位	価格(税抜)
KK4965	10×41bp プライマー・プレミックス (200μl)	1セット ¥33,000
KK4966	10×129bp プライマー・プレミックス (200μl)	1セット ¥33,000
KK4967	10×305bp プライマー・プレミックス (200μl)	1セット ¥33,000

KAPA hgDNA Quantification and QC kitの原理

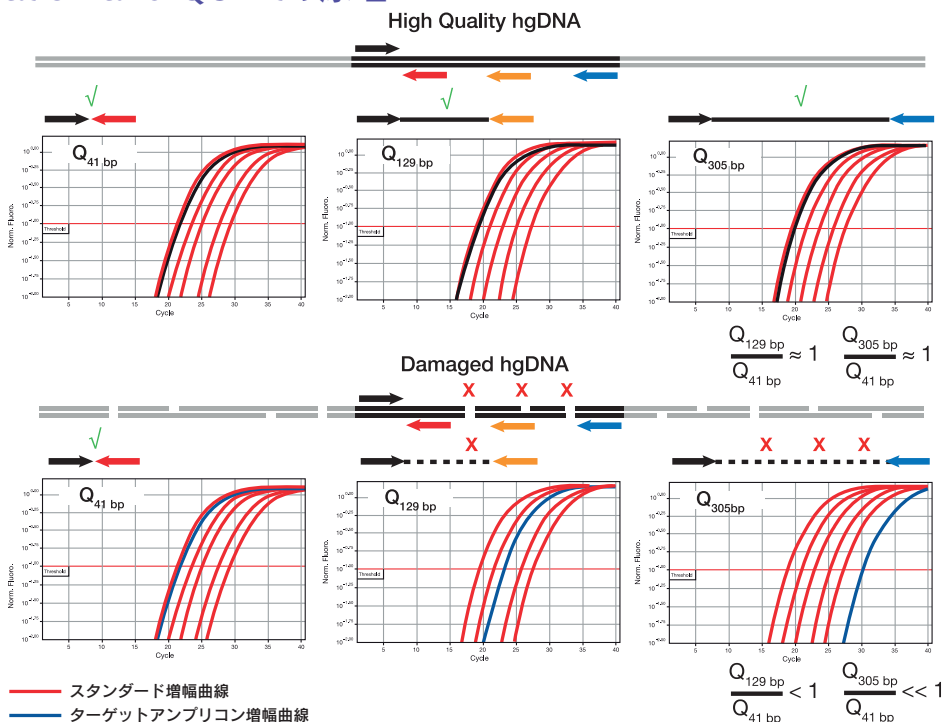
本キットで定量している領域は、ヒトゲノム上で保存性が高く、かつシングルコピーのnon-coding領域となっております。基本的には、41bpを増幅するプライマーセットで、ゲノムDNAの定量を実施します。

ゲノムDNAの品質をチェックするには、さらに129bpと305bpも定量することで、PCR可能なサンプルDNAとしてどの長さまでどのくらい存在しているのか、推測することが可能です。

このように41bpの定量値を基準とした129bpおよび305bpの比率を“Q-ratio” (Q129/41、Q305/41) とし、品質チェックの指標にすることができます。“Q-ratio” (Q129/41、Q305/41) の値が1に近いほど、より高品質なサンプルと判断できます。

上段 41bp、129bp、305bpとも、ほぼ同じ量 (Q-ratioがほぼ1) であることから、高品質なDNAサンプルであると判断できます。

下段 41bpと比較し、129bp、305bpとサイズが長くなるほど、量が減少している (Q-ratioが1より小さくなっている) ことから、劣化が進んでいるDNAサンプルと推測できます。



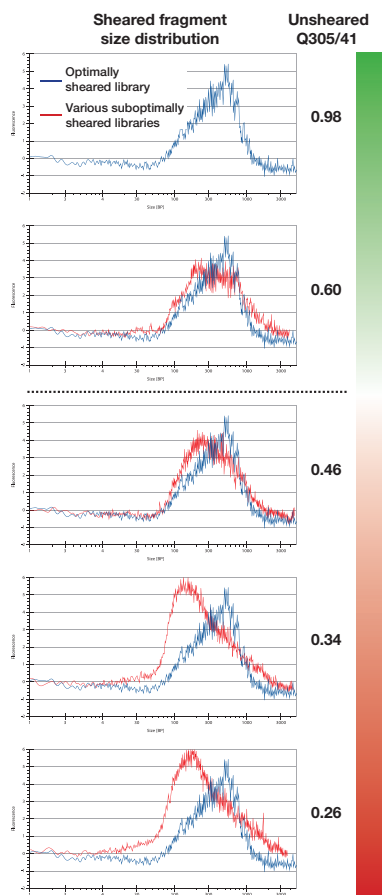
KAPA hgDNA Quantification and QC kitによるDNAサンプル品質チェックの事例

図は米国BROAD研究所の応用例です。

BROAD研究所では、全ゲノムシーケンシング (WGS) 用のDNAサンプル100ngをシェアリングし、自動DNA断片ゲル抽出システムPippinPrep (Sage Science社) を用いて、500bpを自動抽出しています。今回、KAPA hgDNA Quantification and QC kitを用いて事前に10サンプルの品質チェックを行ったところ、Q305/41の値が小さいサンプルほど、以下のような結果と相関が得られました。

- シェアリング後の断片化されたサイズが小さくなる
- シークエンスで小さい断片のデータが増加する

事前にDNAサンプルの品質をチェックすることで、自動抽出で小さいサイズを損失するリスクを回避し、より高品質なシーケンシングデータを得ることが可能となります。



Data courtesy of Kathleen Steinmann, Sharon Kim and Maura Costello at The Broad Institute, Cambridge, MA, USA.

Genetics 日本ジェネティクス株式会社

http://www.n-genetics.com

info@genetics-n.co.jp

〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階
Tel. 03 (3813) 0961 Fax. 03 (3813) 0962