KAPABIOSYSTEMS
evolving better science

研究用

NGS qPCR PCR

リアルタイムPCRマスターミックス（プローブ用）

KAPA PROBE FORCE

Evolved to break through.

KAPA PROBE FORCE（プローブ フォース）キットは、DNA精製の必要がなくサンプルから定量までのワークフローを効率的にする阻害物質耐性qPCRマスターミックスです。このマスターミックスには、血液、組織、植物由来のPCR阻害物質への耐性向上に向けて進化した第3世代DNAポリメラーゼが含まれます。本キットを用いることで、精製したDNAと同程度の精度、再現性、感度でクルードサンプルを分析することができます。

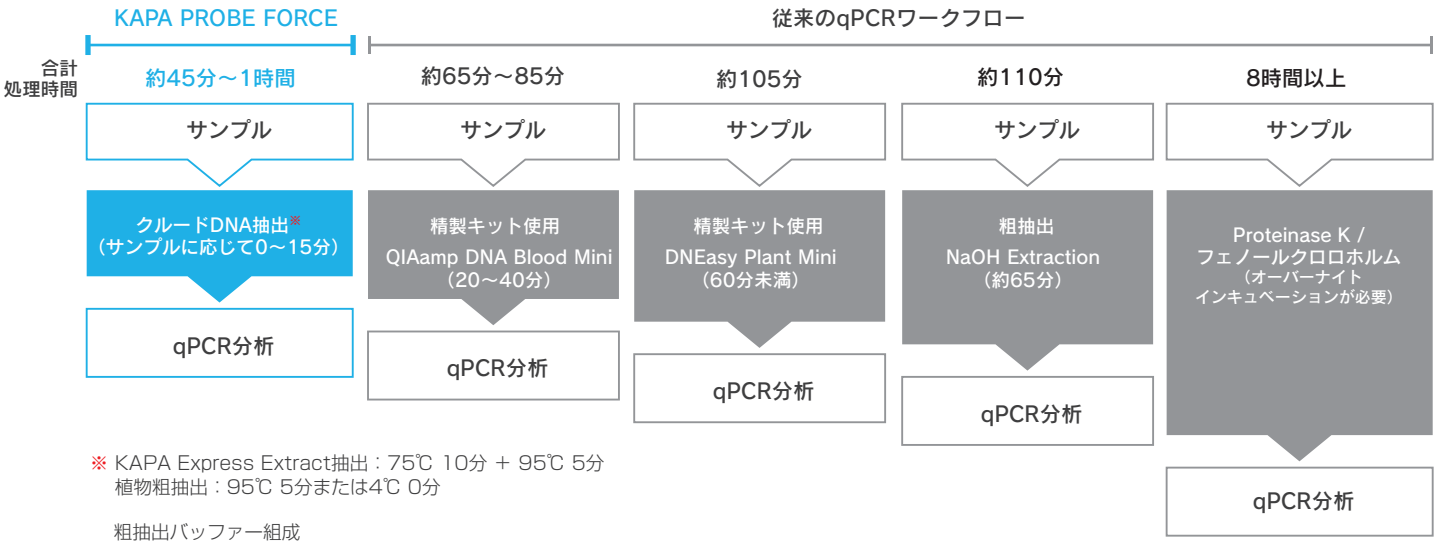
特長

- 血液、組織、植物のクルード抽出物からのダイレクトqPCR
- サンプルから定量までのワークフローが1時間未満
- 高い精度、再現性、感度が得られます
- サンプル由来の阻害物質に対する高い耐性
- クルード抽出物でのマルチプレックス適合性

サンプルから定量までのワークフローが効率的に

KAPA PROBE FORCEキットは迅速なクルードDNA抽出が可能であり、サンプル由来の阻害物質からの影響を抑制します。
従来の血液、組織、植物qPCRのワークフローで使用される他社のマスターミックスでは開始前にサンプルの十分な処理が必要です（カラム精製あるいはヌクレアーゼ消化など）。

- クルードサンプルから直接増幅することでサンプル精製の時間と費用を削減します。
- 全血、細胞、マウス尾、FFPE、葉、茎、種子、土壌をはじめとして、各種サンプルが分析可能です。

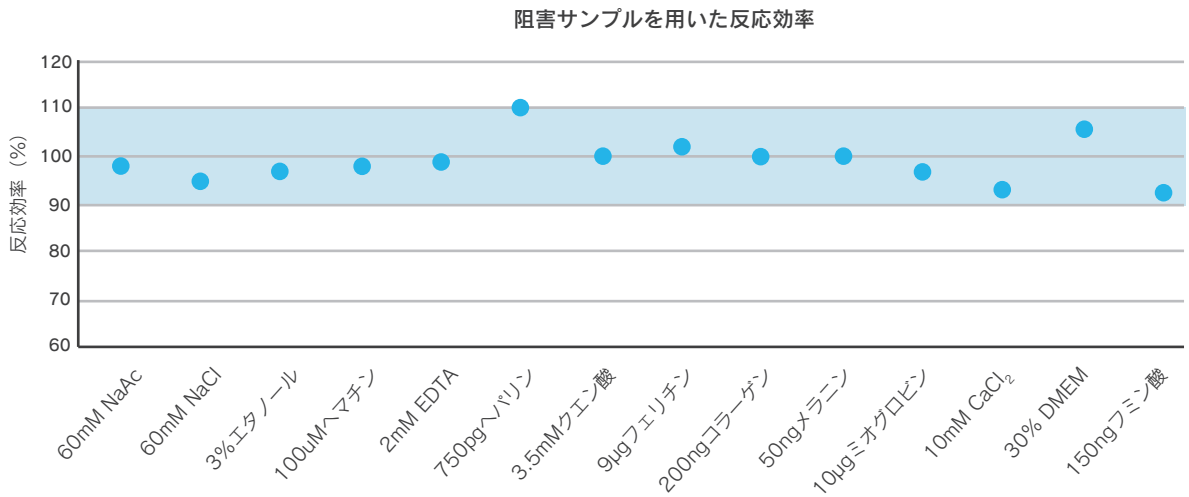


※ KAPA Express Extract抽出：75℃ 10分 ＋ 95℃ 5分
植物粗抽出：95℃ 5分または4℃ 0分

粗抽出バッファー組成
50mM Tris-HCl（pH8.0～8.5）
0.1mM EDTA
10mM DTT

正確で再現性のある結果が得られます

- キットには、難しいターゲット増幅・検出用に進化した第3世代DNAポリメラーゼが含まれています。
- 本酵素はPCR阻害物質の存在下でも高い反応効率を持続し、信頼性の高いデータを得ることができます。



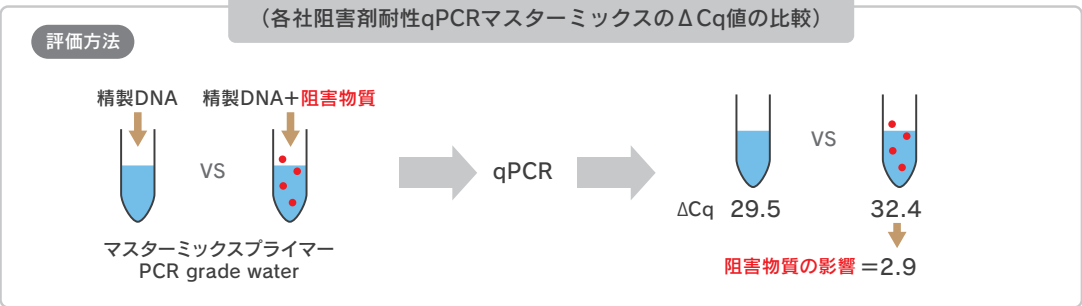
高効率のターゲット増幅
阻害物質添加サンプルで達成した反応効率を調べ、精製DNAと比較しました。
各種阻害物質における効率は90～110%以内でした。

高レベルqPCR阻害物質の問題を解決します

KAPA PROBE FORCEではすべての阻害物質試験において一貫性のある強力な増幅が得られ、Cq値の遅れは見られませんでした。

- 血液、組織、植物の阻害サンプルに対して高い感度レベルを示します。
- 精製DNAアッセイからクルードワークフローに転換し、Cq値の遅れはありません。

精製DNAへの各種PCR阻害物質添加の影響
（各社阻害剤耐性qPCRマスターミックスのΔCq値の比較）



		KAPA PROBE FORCE	他社製品1	他社製品2	他社製品3	他社製品4	他社製品5
100pg ヒトgDNA		29.62	28.91	29.08	32.98	29.53	29.78
血液阻害物質	クエン酸 (3.5mM)	-0.04	2.64	-0.18	0.98	0.20	2.90
	EDTA (2mM)	0.26	0.29	0.24	-0.35	0.80	1.07
	フェリチン (9μg/10μL)	-0.33	0.50	0.48	10 ng	NA	NA
	ヘマチン (100μM)	0.99	0.29	0.75	NA	NA	NA
	ヘパリン (750pg/10μL)	-0.23	0.67	1.14	-0.02	0.53	3.77
100pg マウスgDNA		29.56	29.17	28.78	32.40	29.13	29.15
組織阻害物質	コラーゲン (200ng/10μL)	-0.41	0.63	-0.02	1.40	0.21	0.69
	ミオグロビン (10μg/10μL)	0.18	1.59	4.84	-1.65	3.47	1.97
	メラニン (50ng/10μL)	-0.09	0.73	0.97	NA	NA	NA
	$CaCl_2$ (10mM)	0.03	100 ng	100 ng	NA	100 ng	NA
	DMEM (30%)	-0.72	NA	NA	NA	NA	NA
40pg ブドウのつるgDNA		33.79	33.85	33.70	34.29	33.05	40.78
植物阻害物質	ポリフェノール (7%)	1.02	0.10	0.47	3.01	0.98	1 ng
	フミン酸 (150ng/10μL)	0.76	0.52	0.70	NA	NA	NA
20fg精製 E. coli gDNA		31.18	30.75	31.16	35.90	31.22	44.80
抽出阻害物質	エタノール (3%)	-0.03	0.56	-0.41	20 pg	-0.23	NA
	NaAc (60mM)	0.42	1.27	20 pg	-4.15	NA	NA
	NaCl (60mM)	0.14	NA	200 pg	20 pg	NA	NA

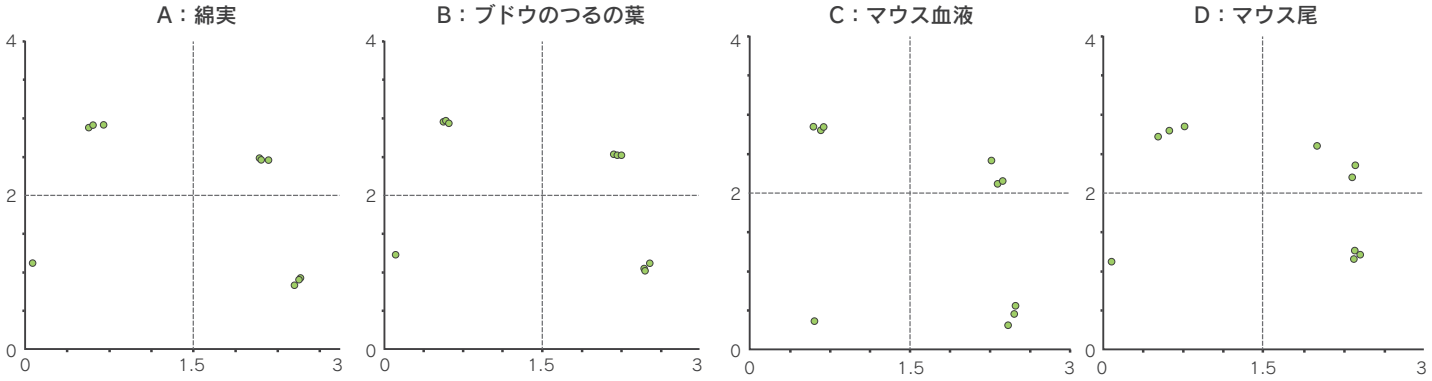
<1ΔCq　1-2ΔCq　2-3ΔCq　>3ΔCq　NA 検出失敗。検出サイクルCq<45では最低濃度、あるいは増幅なし。

広範囲かつ高い阻害物質耐性

本キットおよび他社マスターミックスのベースラインの性能は、各メーカーが推奨するサイクリング条件に従って作成した精製DNAの検量線により評価しました。
段階希釈は以下の範囲で実施しました。
ヒト100ng～10pg、マウス100ng～10pg、植物25ng～8pg、バクテリア2ng～2fg。
阻害物質はそれぞれ高濃度で精製DNAサンプルに添加し、Cq値への影響を判定しました。

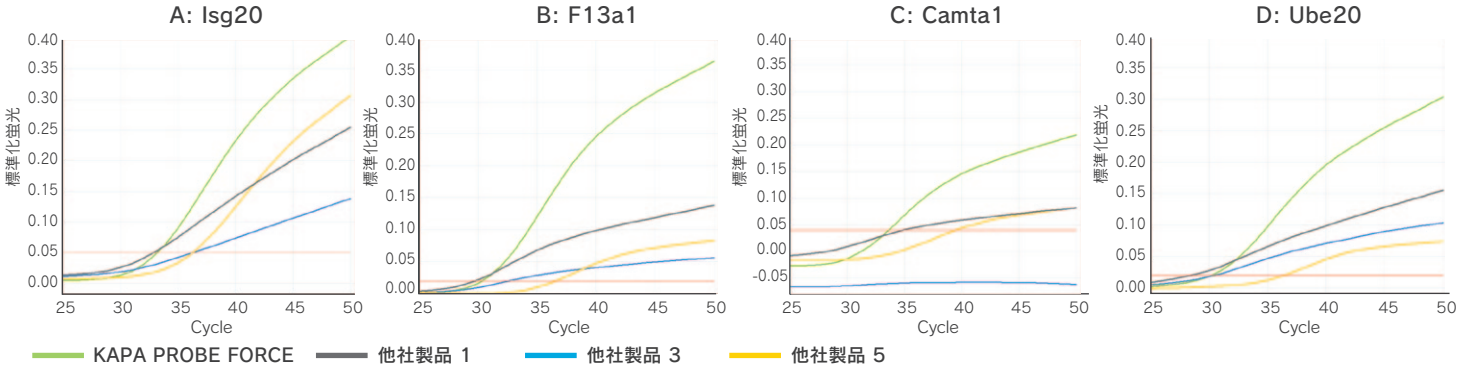
マルチプレックスクルードサンプル解析を効率的に

- クルードDNA抽出物の迅速なジェノタイピング分析を可能にします。
- 貴重なサンプルから最大限のデータ収集が可能になり、処理量を増やすことでコストを削減します。



クルードサンプルのデュプレックスSNP検出

本キットは迅速なSNP解析においてクルード抽出物の存在下で正確なジェノタイピングおよび厳格なクラスタリングを可能にします。
（A）綿実：0.5M NaOH抽出、（B）ブドウのつるの葉：75mM Tris-HClおよび5mM TCEP抽出、（C）マウス血液：FTA 0.5mmディスク、（D）マウス尾抽出物：NaOH抽出。



高効率の4プレックスパフォーマンス

4つのターゲットを本キットおよび3つの他社マスターミックスによるマルチプレックスアッセイで増幅しました。
100pgマウスgDNAを以下の遺伝子をターゲットとして増幅しました（A）Isg20（FAM/BHQ-1）、（B）F13a1（CAL Fluor Orange 560）、（C）Camta1（Quasar 670）、（D）Ube20（Quasar 705）。500nMプライマーおよび110nMプローブを使用しました（サイクリング条件：95℃ 30秒、95℃ 3秒50サイクル、60℃ 30秒）。

Cat.No.	製品名	包装単位	価格（税抜）
KK4300	Universal qPCR キット（ほとんどの機器に対応可能）キャピラリータイプのLight Cycler®には対応していません。	1×1ml（100回用／20μl反応）	¥15,700
KK4301		1×5ml（500回用／20μl反応）	¥74,400
KK4302		2×5ml（1,000回用／20μl反応）	¥139,800
KK4303		1×50ml（5,000回用／20μl反応）	お問い合わせください

※2×マスターミックスにROX添加済みです。
※ROX補正が必要ない装置にもそのままご使用いただけます。

保存条件

−20℃で1年間
＊独自の酵素安定化剤により、凍結融解の影響はほとんどありません。

製品に関するお問い合わせ

info@genetics-n.co.jp

価格は2015年7月現在のものです。製品は改良のため予告なく変更する場合があります。

日本ジェネティクス株式会社
http://www.n-genetics.com
本　　社：〒112-0004 東京都文京区後楽1丁目4番14号 後楽森ビル18F
Tel. 03(3813)0961・Fax. 03(3813)0962
西日本営業所：〒604-8277 京都府京都市中京区西洞院通御池下ル565番地 ラフィーネ御池3F
Tel. 075(257)5421・Fax. 075(257)5422

10PR1507B37K