



Application

FFPEサンプルからのB細胞悪性リンパ腫のPCR検出

製品名

KAPA Express Extract+PCR ReadyMix (KK7152)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記フィードバックは、神戸市立医療センター中央市民病院 細胞遺伝子検査室 丸岡隼人様のご厚意により掲載させていただきました。

B細胞性悪性リンパ腫のPCR検出のために、FFPE(パラフィン包埋切片)サンプルからのDNA簡易抽出法、およびPCR法について、下記の製品を比較検討しました。

1. FFPEサンプルからのDNA簡易抽出試薬
(1)KAPAXpress Extractキット
(2)T社試薬D(パラフィン切片からのDNA抽出剤)

2. PCR試薬
(1)KAPA2GRobust HotStart ReadyMix
(2)A社試薬A(ホットスタート仕様)

方法

1. FFPEサンプルからのDNA簡易抽出

- (1)スライドガラスからパラフィンごと切片を削り取る
(2)各社の推奨プロトコルどおりDNAを抽出

●KAPAXpress Extractキット

75℃ 10分
95℃ 5分
↓
遠心 1分
↓
DNA抽出
(トータル 約30分)

●T社試薬D

95℃ 10分
↓
高速遠心 4℃ 30分
↓
DNA抽出
(トータル 約1時間)

2. PCR

- 各社の推奨条件どおりPCRを実施

●KAPA2GRobustHS

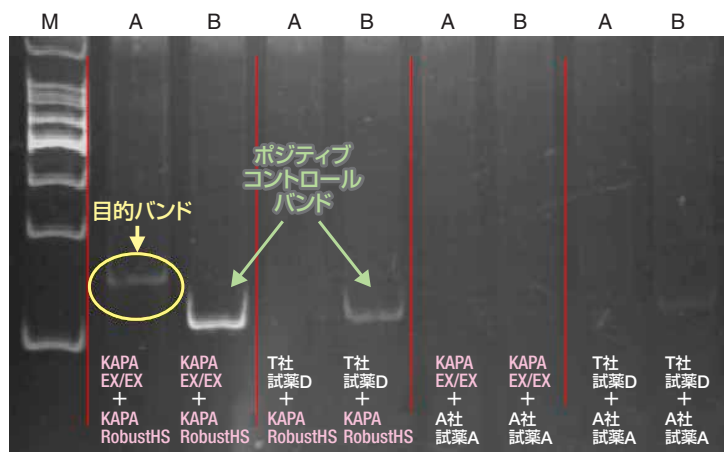
95℃ 3分
95℃ 15秒
60℃ 15秒
72℃ 15秒
72℃ 10分
95℃ 5分
4℃ 30分
4℃ ホールド

●A社試薬A

95℃ 7分
95℃ 30秒
60℃ 40秒
72℃ 40秒
72℃ 10分
95℃ 5分
4℃ 30分
4℃ ホールド

- PCR装置:Bioer Technology社LifeProサーマルサイクラー

結果



M: 100bpラダー
A: IgH DH2-JH rearrangement (rearranged band)
B: ポジティブコントロール (下記参照)

B細胞性悪性リンパ腫の判定のため、2種類の遺伝子を増幅*

- A) IgH DH2-JH rearrangement(rearranged band)
→B細胞性悪性リンパ腫の場合、230~290bpに増幅が見られる
B) IgH DH7-JH rearrangement (germline band)
→211bpに増幅が見られる(ポジティブコントロール)

※文献:Leukemia(2003)17, 2257-2317

電気泳動条件:8%ポリアクリルアミドゲル 150V 60分

上段:DNA抽出試薬

下段:PCR試薬

■ KAPA Express Extract+KAPA2GRobust HotStart ReadyMixの組み合わせでのみ、目的とするPCR産物(DH2-JH rearrangement)が増幅された。



お客様のコメント

KAPA Express Extractの方が、質の良いDNAが抽出されました。
また、操作が簡便で、時間も短縮できました(1時間→30分)。
さらにKAPA2GRobustHotStart ReadyMixを用いることで、従来検出不能であった遺伝子が検出できました。