



Application

PCR産物精製におけるKAPA HyperPure Beadsと他社磁性ビーズの性能比較

製品名

KAPA HyperPure Beads (Cat.No. KK8007)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS

下記のデータは、Varinos株式会社 臨床検査本部 芦川 享大様、小祝 玲菜様のご厚意により掲載させていただきました。

概要

KAPA HyperPure BeadsはDNAの精製/サイズセレクションを行うことが出来る磁性ビーズで、同様の製品が各社から発売されています。本アプリケーションノートでは、KAPA HyperPure Beadsが他社磁性ビーズ製品と同等に使用できるか検討するため、各製品のPCR産物の精製におけるサイズ分布と収量について比較検証を行いました。

結果、KAPA HyperPure Beadsは他社磁性ビーズ製品と比較し同等の性能を有することが確認されました。

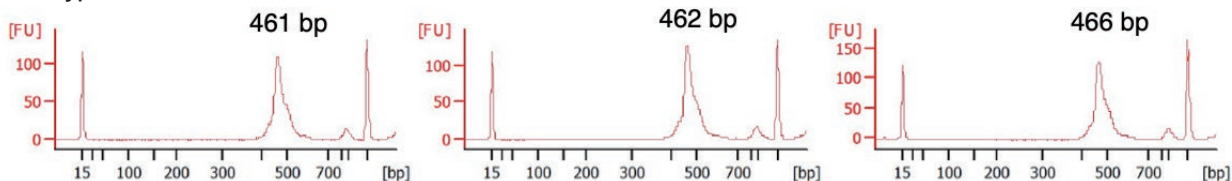
実験方法

- 比較対象製品 KAPA HyperPure Beads (KAPA)、製品A、製品B
- PCR産物 volume 20 μ L
- PCR産物の配列長 410 ~ 470 bp
- プロトコル KAPA HyperPure Beadsのプロトコルに従い、以下のビーズ量で実験を行った。
① PCR産物 (1.05 μ g) の液量に対して1.8倍量のビーズを添加
② PCR産物 (1.05 μ g) の液量に対して0.8倍量のビーズを添加
- 評価 PCR産物を蒸留水で3倍希釈したものをBioanalyzerにてサイズを測定した。
またQubitにより濃度を測定し、回収率を算出した。
- 使用機器 Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)
Qubit Flex Fluorometer (Thermo Fisher Scientific)

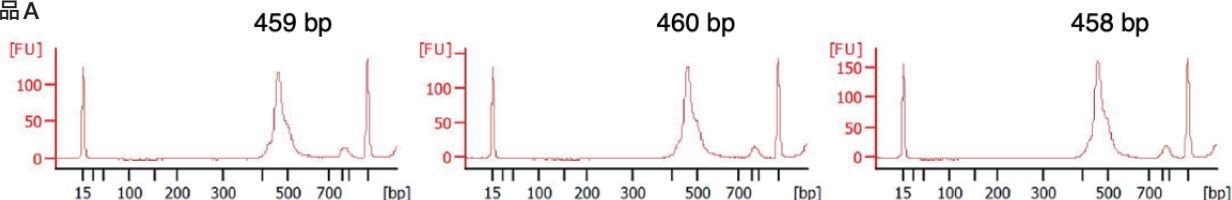
結果

サイズ比較 (精製①: ビーズ1.8倍量添加)

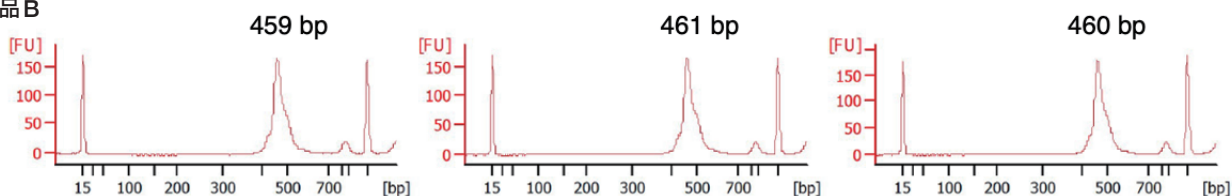
KAPA HyperPure Beads



製品A



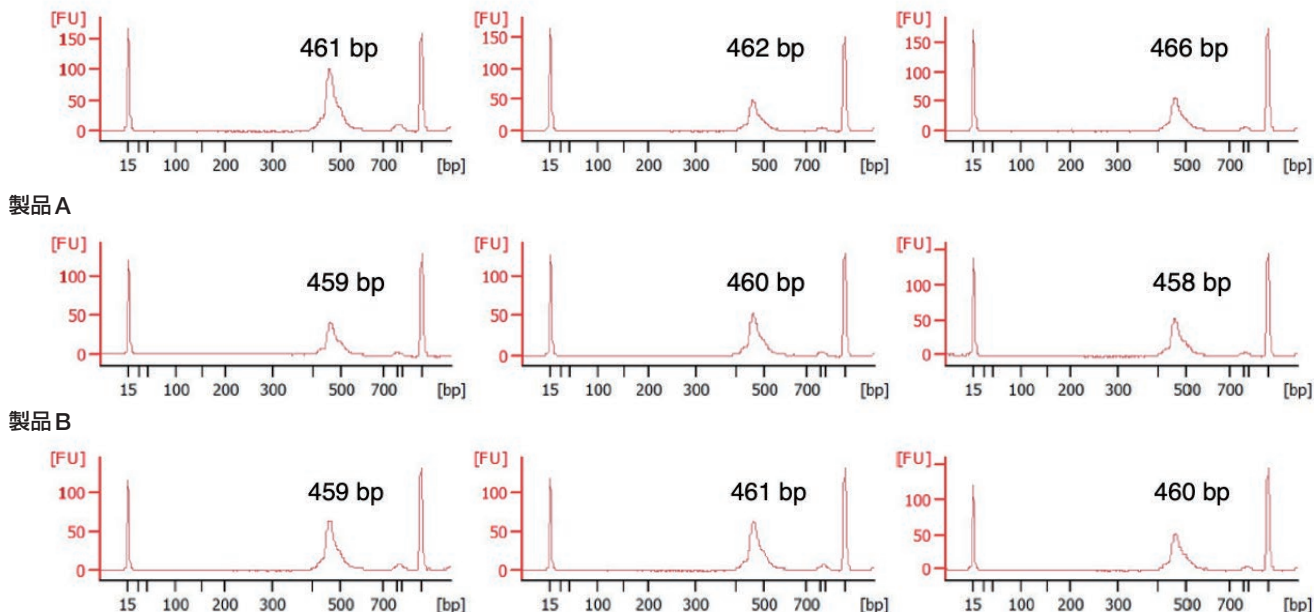
製品B



目的のサイズ分布に大きな差はみられなかった。

サイズ比較 (精製②: ビーズ0.8倍量添加)

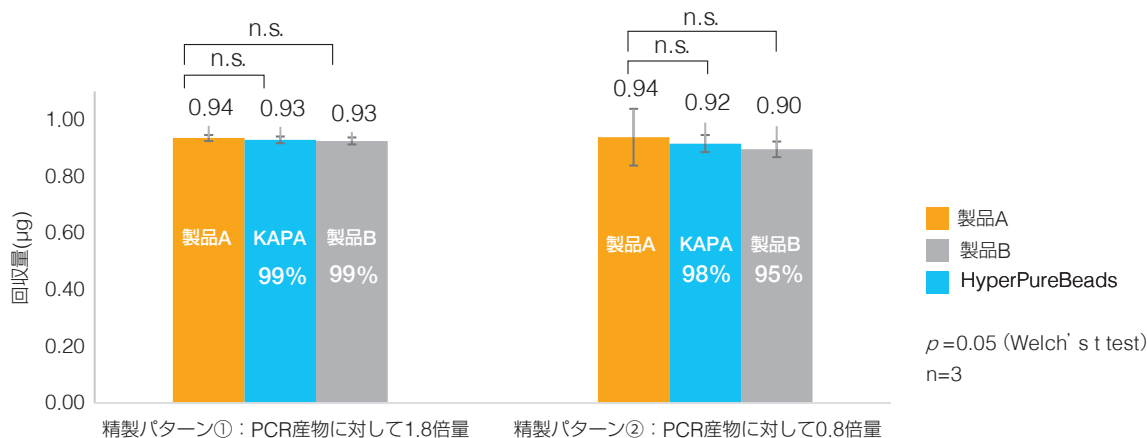
KAPA HyperPure Beads



目的のサイズ分布に大きな差はみられなかった。

平均収量比較

製品Aに対するHyperPure Beadsと製品Bの回収量 (μg) と回収率を比較した。



製品ごとの収量について大きな差はみられなかった。

● 結論

HyperPure BeadsのPCR産物の精製におけるサイズ分布と収量は、現行品である製品Aと製品Bと同等であることが確認された。



お客様のコメント

弊社ではこれまで最も使われている他社製品を使い続けてきました。コストが高騰していましたが、他に選ぶ製品がなく使い続けていました。
臨床検査で使う試薬なので、変更については慎重に検討しなくてはなりません。
KAPAのHyperPure Beadsはマグネットへの吸着度合い、ピペティングの際の粘性などの感触等、操作性に関しても現在使用している他社製品と比較しても問題なく、ストレスなく使用できました。
性能面が課題でしたが、回収率についても現行の他社製品と同等との結果でしたので、今後も安心して使用することができると考えています。

補 足

KAPA HyperPure BeadsによるPCR産物の精製プロトコル

事前準備

- 本キットを室温に平衡化し、使用前に完全に懸濁する。
- 80%エタノールは用事調製する。

DNA溶液（PCR産物が1.05 µgになるように液量を調製）

吸着

KAPA Hyper Pure Beads添加（液量に対して1.8倍量もしくは0.8倍量）

- 混合：ボルテックスorピペティング
- 静置：室温、5分間
- ビーズ捕集
- 上清除去



洗浄

80%エタノール添加（もとのDNA溶液の2倍量）

- 静置：室温、30秒以上
- 上清除去
- もう一度繰り返す
- ビーズ乾燥^{※2}：室温、3～5分間



溶出

 溶出バッファー（適当量）添加^{※3}

- 静置：室温、2分間
- ビーズ捕集
- 上清回収



精製断片化DNA

2～8℃で1～2週間、-25～-15℃で1ヵ月保存可能

ビーズに保持されるフラグメント長	サンプル容量に対する推奨されるビーズ容量
≥ 600 bp	0.5 倍
≥ 400 bp	0.6 倍
≥ 300 bp	0.7 倍または 0.8 倍
≥ 200 bp	0.9 倍
≥ 150 bp	1.5 倍
≥ 100 bp	2.2 倍 - 3 倍

 KAPAハイパーピュアビーズによる断片化DNA NGSライブラリー、アンプリコンの精製ガイドライン^{※4}
^{※1} マグネットスタンド上で操作

^{※2} ビーズを過剰に乾燥させると収量が低下する恐れがある

^{※3} 10 mM Tris-HCL or PCRグレード水

^{※4} KAPA HyperPure Beads 取扱説明書 KR1705 - v2.20、6ページより抜粋

製品紹介

KAPA HyperPure Beads（KAPA BIOSYSTEMS / Cat.No. KK8007）

- 1回の反応で1 ng～5 µgのDNAを精製/サイズセレクションできる。
- バッファーは、最適化された濃度のPEG/NaClクラウディング成分を含んでおり、DNA分子がビーズに結合しやすい特徴がある。
- 濃度比を調整することで、DNA断片のサイズ分布の最適化が可能。
- 従来のスタンダード製品よりも比較的安価な製品。
- 他社製品のプロトコルの互換性があるため、切り替えが容易に可能。

