

Investigator™ Quantiplex® Pro Kit

法医学サンプルに高感度および品質評価基準を提供

Investigator Quantiplex Pro Kit は、ヒトおよび男性 DNA を TaqMan® 技術とキアゲンのケミストリーを組み合わせることで定量します。インターナル PCR コントロールをキットに組み込むことで、信頼性と STR PCR のような下流の操作を阻害するおそれのある PCR 阻害因子を同定します。さらに STR 解析でのサンプル DNA の分解の影響も評価することができます。このキットはサンプル調製や STR 解析でのキットに影響を受けないため、ヒト同定のワークフローで使用することができます。また弊社の STR 解析キット (Investigator ESSplex SE QS, Investigator 24plex QS and Investigator 24plex GO! Kits) には、Quality Sensor という品質を評価する仕掛けが含まれているため、本製品とあわせて解析ワークフローの最適化が行えます。

- バックグラウンドの女性 DNA が高くても (最高 400,000:1) 男性 DNA で高精度な結果を得る
- DNA 分解度合いを幅広い検出精度に評価
- 0.5 pg/μl – 200 ng/μl の高ダイナミックレンジ
- STR 結果に関連する阻害物質に関する情報
- 1 時間以内で処理

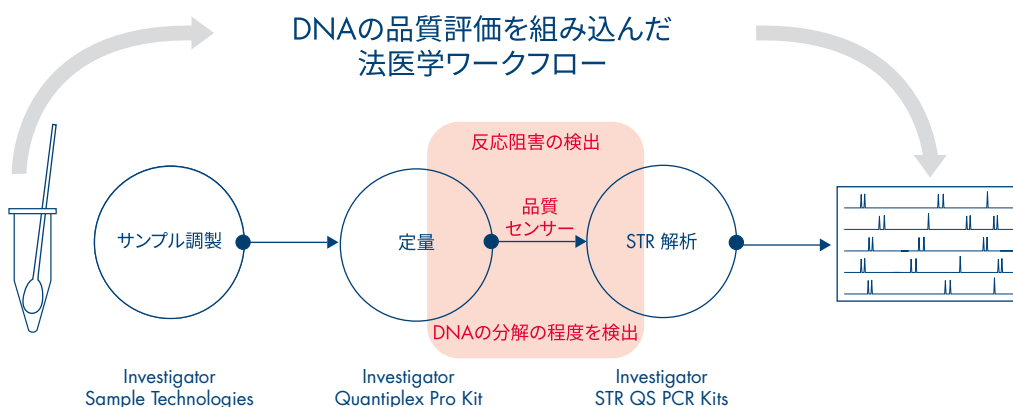


図 1. Investigator Quantiplex Pro Kit は、反応阻害と DNA の分解度合の情報と、STR 解析の PCR のためのヒトおよび男性 DNA の定量情報の両方を提供

STR に Quality Sensor が含まれているキットを Investigator Quantiplex Pro Kit と共に使用する場合は、STR 解析のための核酸定量と STR PCR の両方において PCR パフォーマンスの予測と確認ができ、実験ワークフローの確認作業を相乗的に行える。



犯罪に立ち向かうパートナー

定量化は複雑なワークフローの一部に過ぎず、サンプルから最適な結果を得るためには、すべてのステップを最適化し、調整する必要があります。Investigator Quantiplex Pro Kitを開発した理由は、下流のSTR PCRのデータをより有意なものにするためです。定量PCRとSTR PCRの双方でのデータ品質を管理するために、Investigator Quantiplex Pro KitのIPCとInvestigator STR PCR KitのQuality Sensorの組み合わせをすることができます。IPCは、阻害物質存在下でQuality Sensorと同様に働くように設計されています。したがって、2つのPCRアッセイ（IPCとQuality Sensor）が連携することでSTR PCRの結果を予測・確認することで、その結果を自信を持って解釈することができます。

感度とダイナミックレンジ

法医学的およびヒト個人同定のサンプルは、DNA量が非常に多いもの（例：目に見える血液の汚れ）から微量（例：単細胞または無細胞DNA）まで様々なため、取扱いがとて難しいです。さらに、多くの性的暴行サンプルでは、女性のDNA中に微量の男性のDNAを正確に検出することが求められます。そのため、Investigator Quantiplex Pro Kitは、使用するDNA量にかかわらず、男性DNAおよびヒトDNAを正確かつ再現性高く定量できるように開発されました（図2）。

“QIAGEN製Quantiplex Pro DNA数量化キットは、非常に高感度で、混じり合った女性のDNAが圧倒的に多い中で低レベルの男性のDNAでも検出できる並外れた能力がある。” – DNA Technical Lead of a North American Beta Testing Forensic Laboratory

男性DNAに対する高い感度

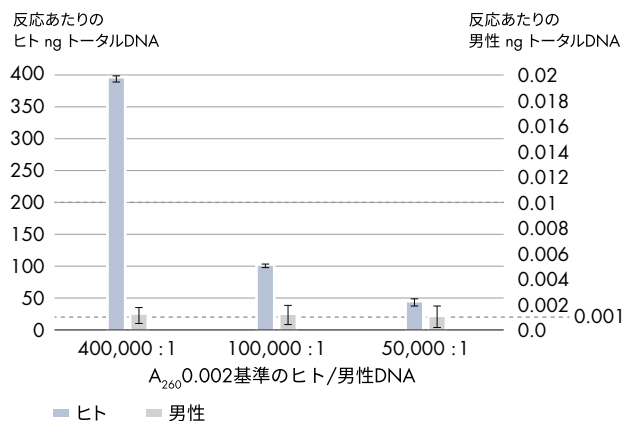


図2. 男性DNAの高精度かつ高感度な検出

3つの異なる混合物セットを4重測定した。各セットには合計1 pgの男性のDNAが含まれ、女性のDNAは50～400 ngの条件で混合した。Investigator Quantiplex Pro Kitは、女性のDNAを変化させても、男性のDNA量は一定のまま、調製したサンプル量を正確に定量することができた。

PCR阻害の信頼できる検出

法医学的サンプルは、状況に応じて複雑な採取条件にさらされるため、しばしばDNAプロファイリングに悪影響を与える物質を含有します。どんなに優れたサンプル調製法であっても、精製されたDNAにこれらの物質は残存し、同定および十分に除去されない限り、下流のSTR PCRを阻害します。Investigator Quantiplex Pro Kitには、PCR阻害物質に高感度かつ直接的に阻害に応答するIPCが含まれています（図3）。したがって、IPCはSTRアッセイに直結する阻害物質の存在を高感度に検出するだけでなく、下流のサンプル解析に適した阻害物質の存在レベルを定量的に示唆します。

“抑制因子が存在する場合、Investigator Quantiplex Pro Kitは現在われわれの研究所で使用しているDNA数量化キットよりパフォーマンスが優れている。” – DNA Technical Lead of a North American Beta Testing Forensic Laboratory

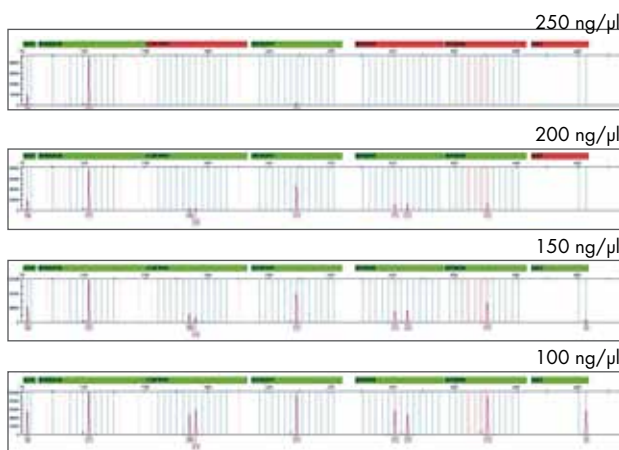
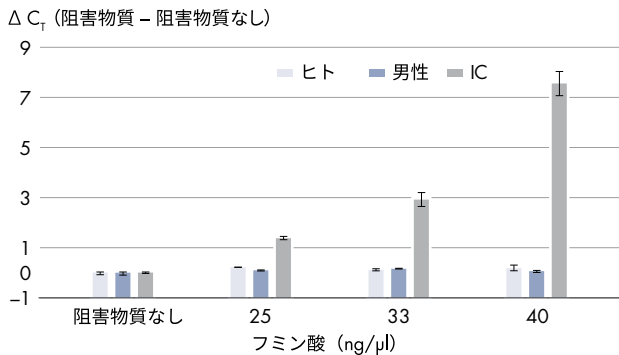


図 3. PCR 阻害の同定

A: Investigator Quantiplex Pro Kit は、0、25、33 および 40 ng /μl のフミン酸の存在下で Applied Biosystems R 7500 Real-Time PCR System を使用して評価を行った。内部コントロール（グレー）は、品質センサーとして働き、 C_t 値がずれることで、阻害物質の存在を示し、サンプル DNA（ヒト DNA は薄青色、男性 DNA は濃青色）においては、最大フミン酸濃度においても信頼ある定量結果を示した。**B:** Investigator 24plex QS Kit は、200 ng /μl（STR 反応の最終濃度として）までのフミン酸耐性を示し、キット中の Quality Sensor（各データの右端のホモ接合体座位）は Investigator Quantiplex Pro Kit と同じレベルの感度で阻害物質の存在を示した。

サンプルの分解

サンプル中に十分な DNA が含まれていても、DNA が著しく分解されていた場合、STR PCR はうまくいかない可能性があります。時間、試薬、コストを節約し、サンプルの正しいダウンストリーム解析を選択できるようにするために、Investigator Quantiplex Pro Kit には、DNA 分解の正確な評価をするための長短 2 つの PCR ターゲットが含まれています。長鎖のターゲットは、350 塩基対以上のサイズであり、この分解ターゲットは、STR プロファイルの高分子量の遺伝子座に求められるサンプル品質を伺い知ることができます。さらに短鎖と長鎖のターゲットでは、サイズが違うために分解からの影響も異なります。これら 2 つのフラグメントの増幅の程度を見ることは、サンプルにおける DNA の分解の程度を推し量る力強いツールになると同時に、STR PCR におけるパフォーマンスとも直接的な相関も示されます。

“分解インデックスの追加は、サンプル中の DNA 品質に関する有益な情報を提供し、従来の常染色体 STR キットかミニ STR キットのいずれを使用するか判断に特に有用である”
 – DNA Technical Lead of a North American Beta Testing Forensic Laboratory

技術仕様

パラメーター	Investigator Quantiplex Pro Kit
Human (長さ/チャンネル)	91 bp / FAM™
Degradation (長さ/チャンネル)	353 bp / ATTO™ 550
Male (長さ/チャンネル)	81 bp / ATTO 647N
IC (長さ/チャンネル)	434 bp / JOE™
反応ごとのボリューム	20 μl
ABI 7500での時間	60 min

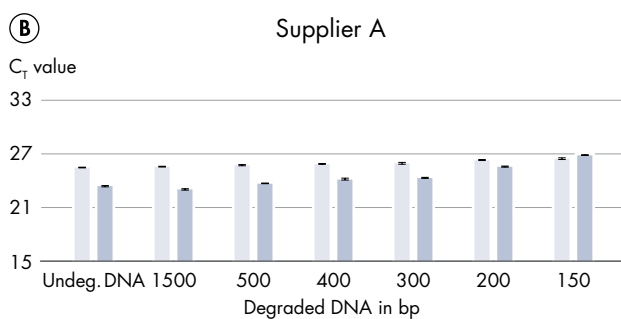
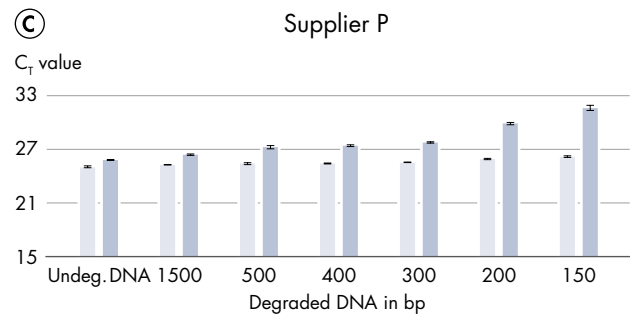
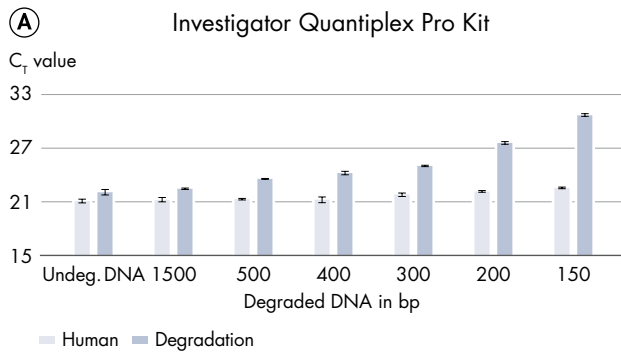


図 4. Investigator Quantiplex Pro Kit による DNA 分解の優れた検出

A ヒトゲノム DNA を Covaris S220 Focused-ultrasonicator で剪断し、1500 bp、500 bp、400 bp、300 bp、200 bp および 150 bp の平均フラグメントサイズを得た。各フラグメントサイズ (4.6 ng) は Quantiplex Pro で分解程度を評価した。また市販のキット (2 種類) を同じ条件で比較した結果を B と C に示す。作業はキットごとのプロトコールに従った。自社のキットは、他のものと比較して明瞭な Ct 値の変化が示され、サンプルの DNA 品質を正確に示すことが可能であると示唆された。

オーダーインフォメーション

製品	内容	Cat. no.
Investigator Quantiplex Pro Kit (200)	プライマーミックス、反応ミックス、コントロールDNA M1、核酸希釈バッファー	387216
QIAgility® System HEPA/UV(incl. PC)	自動PCRセットアップのためのロボットワークステーション (UV ライトと HEPA フィルター付き)。ノートブックコンピューター、QIAgility ソフトウェア、インストール、トレーニングを含む。年保証	9001532
QIASymphony® AS	QIASymphony 検査セットアップモジュール、部品とサービスを 1 年保証	9001301

記載の製品は研究用です。疾病の診断、治療または予防の目的には使用することはできません。最新のライセンス情報および製品ごとの免責事項については、各 QIAGEN キットの Handbook または User Manual をご覧ください。QIAGEN キットの Handbook および User Manual は www.qiagen.com から入手されるか、QIAGEN テクニカルサービスまたはお近くの代理店へお問い合わせください。

個人識別および法医学試験の DNA 定量に関しては、www.qiagen.com/quantiplexkits をご覧ください。

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAgility®, QIASymphony®, Investigator™, Quantiplex® (QIAGEN Group); ATTO™ (ATTO-TEC GmbH); Covaris®, S220 Focused-ultrasonicator™ (Covaris, Inc.); Cy® (GE Healthcare); Applied Biosystems®, FAM™, JOE™, TAMRA™ (Life Technologies Corporation); TaqMan® (Roche Group). 本文に記載の会社名および商品名は、各社の商標または登録商標です。製品情報、仕様、カタログ番号 (Cat. no.)、価格等は予告なく変更する場合がございます。予めご了承ください。 © 2018 QIAGEN, all rights reserved.

株式会社 キアゲン | 〒104-0054 | 東京都中央区勝どき3-13-1 | Forefront Tower II
Tel:03-6890-7300 | Fax:03-5547-0818 | E-mail:techservice-jp@qiagen.com | www.qiagen.com