



Application

# KAPA EvoPrep Kitを使用した ChIP-Seq用ライブラリーの調製

製品名

KAPA EvoPrep Kit (Cat.No. 10154039001, 10096039001)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS社

下記のデータは、千葉大学大学院医学研究院 分子腫瘍学研究室の縄井 バハテヤリラヒムトラ様のご厚意により掲載させていただきました。

## 概要

KAPA EvoPrep Kit (以下 EvoPrep) は、KAPA HyperPrep Kit (以下 HyperPrep) の後継品である Illumina シーケンサー用の NGS ライブラリー調製キットです。本製品はライゲーション試薬の改良により、HyperPrep より少ない input 量からのライブラリー調製や、PCR バイアスの抑制が期待されます。

本検証として、HyperPrep と EvoPrep それぞれのキットにて ChIP-Seq 用のライブラリー調製を行い、シーケンス後の結果を比較しました。

その結果、EvoPrep で調製したライブラリーは、HyperPrep よりも低 input 量かつ少ない PCR サイクル数でライブラリー調製ができ、HyperPrep に似たマッピングパターンの取得できることが示されました

これらの結果より、EvoPrep はライブラリー調製用 input DNA を十分に得ることが難しい ChIP-Seq などの実験に、より適したライブラリー調製キットであることが示唆されました。

## 実験ワークフロー

### ① ライブラリー調製ワークフロー

各製品の取扱説明書の手順に則りライブラリー調製を行った。  
調製開始時の input DNA 量と増幅時の PCR サイクル数を表 1 に示した。

表 1: ライブラリー調製時の各種条件

ライブラリー調製キット	Input DNA 量 (ng)	PCR サイクル数
KAPA HyperPrep	5	13 cycles
	5	7 cycles
KAPA EvoPrep	1	9 cycles
	0.1	12 cycles

※n=2で実施

### ② シーケンス条件

以下の条件でシーケンスを行った。

【Sequencing Platform】

Illumina NovaSeq6000

【Loading concentration】

1.75 nM (final 350 pM)

【Sequencing Parameters】

60 bp Paired End Run

Read1; 61 cycles

Index1 (i7) ; 8 cycles

Index2 (i5) ; 8 cycles

Read2; 61 cycles

### ③ ライブラリー間のクオリティ比較

各条件で合成したライブラリーのクオリティを評価するため、以下の点を比較した。

- シーケンスデータのマッピングパターンの比較
- シーケンス時の FAST QC 結果の比較

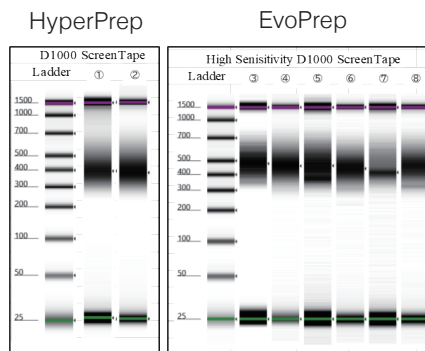
## 実験結果

### ① TapeStation 4200 を用いたライブラリー QC (クオリティコントロール) 結果

<サンプル情報と定量結果>

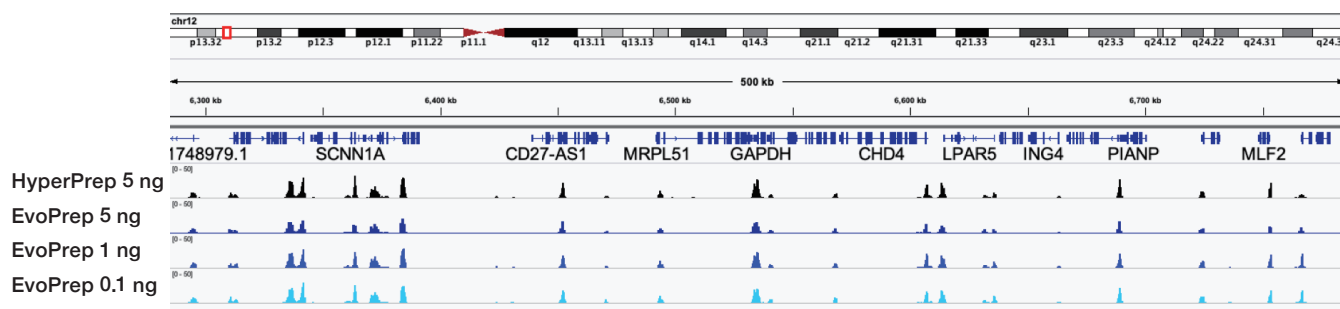
ライブラリー調製キット	Sample No.	input DNA 量 (ng)	PCR サイクル数	濃度 (ng/μL)	濃度 (nM)	総液量 (μL)	総収量 (ng)	総収量 (nM)
KAPA HyperPrep	①	5	13	7.73	28.4	30	231.9	852
	②			18.8	71.2	30	564	2136
	③	5	7	0.361	1.19	30	10.83	35.7
	④			1.29	4.29	30	38.7	128.7
KAPA EvoPrep	⑤	1	9	0.332	1.13	30	9.96	33.9
	⑥			0.899	3.17	30	26.97	95.1
	⑦	0.1	12	0.275	0.953	30	8.25	28.59
	⑧			0.864	2.96	30	25.92	88.8

<泳動図>



※HyperPrep は D1000 ScreenTape を、EvoPrep は High Sensitivity D1000 ScreenTape をそれぞれ使用して泳動した。

## ② Integrative Genomics Viewer (IGV) へのマッピング結果



EvoPrepは、5 ngから0.1 ngの低input量でもHyperPrepと近いマッピングパターンが得られた。

## ③ FAST QC 結果

ライブラリー調製キット (input DNA 量)	PCR Cycles	Read1Count	Unmapped Rate	Unique Mapped Rate	Duplicate Reads
HyperPrep (5 ng)	13	18770602	2.56%	78.16%	0.099%
EvoPrep (5 ng)	7	30869006	0.50%	80.62%	0.123%
EvoPrep (1 ng)	9	28540794	0.54%	80.66%	0.145%
EvoPrep (0.1 ng)	12	29888469	0.77%	80.57%	0.279%

EvoPrepではinput量が少ないライブラリーからのシーケンスにおいても、Unmapped rateが低く、Unique Mapped rateが高いデータを得ることができた。このことから、EvoPrepでは解析に有効なリードの割合が増えることが示唆される。

### ● 結論

EvoPrepは、ChIP-Seqなどのライブラリー調製時のinputDNA量が十分に得られにくい実験により適した、有用なキットであることがわかりました。



### お客様のコメント

長年HyperPrepを愛用してきたが、今回の結果でEvoPrepへの切り替えが問題なさそうだと確認できて非常に良かった。

加えて、低input量からのライブラリー調製で可能である点や、PCRサイクルを減らせるのは、ChIP-Seqでは少量のDNAしか得られないため、非常に良いポイントだと感じている。

また、EvoPrepはプレミックスとなっているため、ライブラリー調製がさらに容易となっており、これからライブラリー調製を実施される方にも使いやすい試薬だと思う。

### 製品紹介

#### KAPA EvoPrep Kit (KAPA BIOSYSTEMS社 / Cat.No. 10154039001, 10096039001)

##### ■ シンプルなワークフロー

レディミックスタイプのため、簡単かつ作業時間短縮！ヒューマンエラーのリスクも低減します。

##### ■ 微量サンプル対応、ライブラリー収量もUP!

KAPA Evo T4 DNAリガーゼの導入により、ライブラリー効率・収量が向上しました。

##### ■ 難しいサンプルにも対応

cfDNAやFFPEのような難しいサンプルからでも高品質なデータを得られます。

