



KAPA RNA HyperPrep Kit

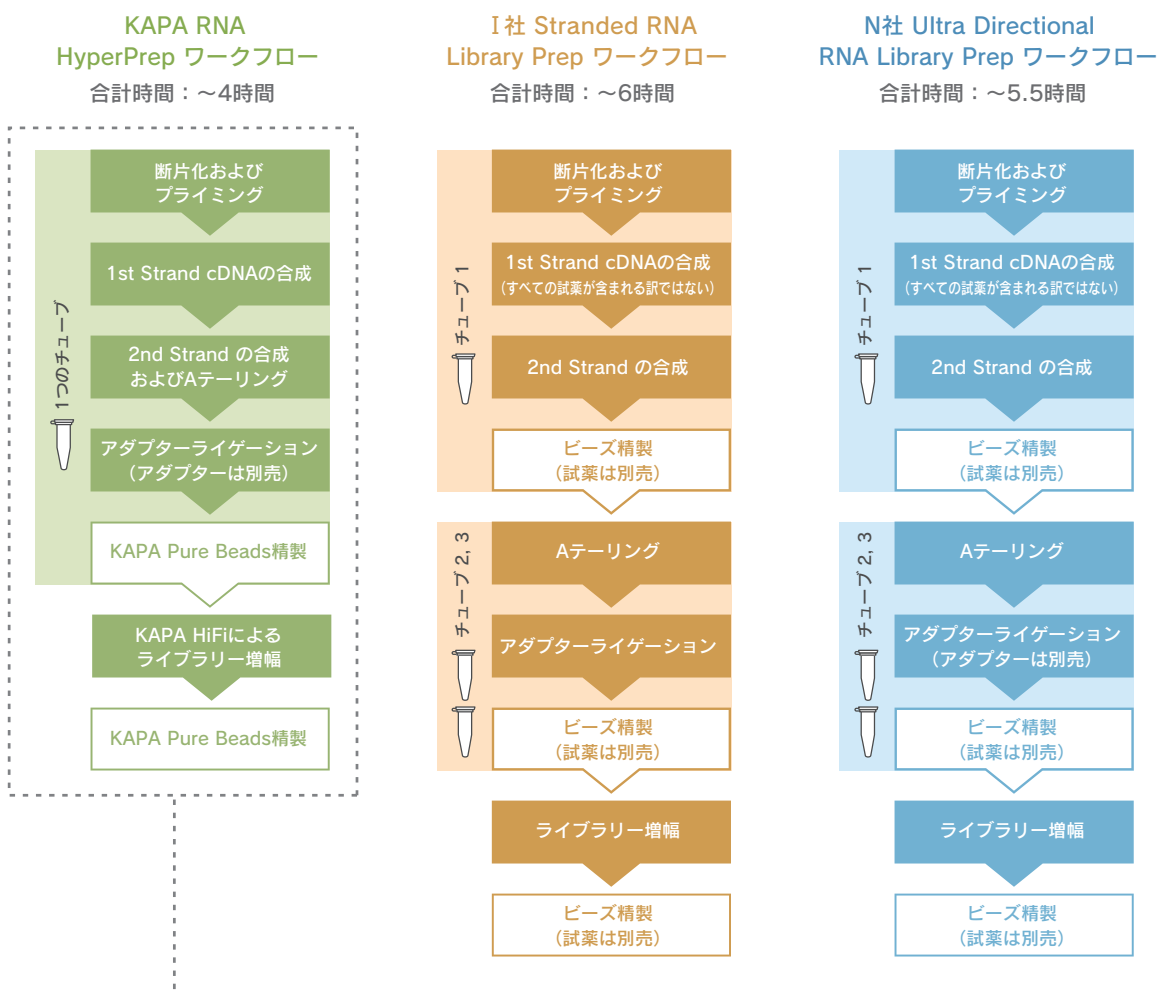
illumina社用ライブラリー調製キット

KAPA RNA HyperPrep Kit は高品質のRNA-seq ライブラリー調製を効率化するためのソリューションで、革新的なケミストリーにより複数の酵素反応ステップを統合し、反応物の精製工程を最小化しています。ストランド特異的 (strand-specific) なワークフローは柔軟性があり、微量なサンプルや分解したサンプルからのライブラリー構築にも対応し、mRNA キャプチャーやリボゾームRNA 除去ステップも組み合わせることができます。キットにはRNAの濃縮 (必要な場合) とライブラリー調製に必要なすべての試薬が含まれますが、KAPA アダプターは別売りです。

- 1 日でRNA のエンリッチを含むライブラリー構築が可能
- 微量サンプルや分解したサンプルでも高い成功率
- サンプルの種類やインプット量が異なっても安定した性能を発揮
- 反応物の精製にKAPA Pure Beads を使用

RNA ライブラリー調製をチューブ1つと1日で

- 酵素処理と反応物精製のステップを最小化して操作時間と合計時間を短縮
- RNA をインプットしてから約4 時間で、直ちにシークエンスできるストランド特異的なライブラリーを構築
- 標準的な1 日の作業時間内に、mRNA のキャプチャーやリボソームRNA の除去を含む全ワークフローを完了
- 自動化ワークフローによりハイスループットと高い一貫性を実現



RNAライブラリーの調製の効率化

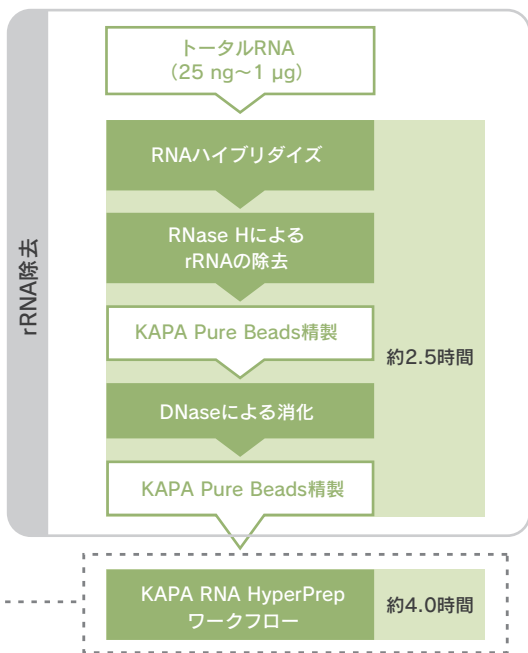
KAPA RNA HyperPrepワークフローは、他社のワークフローと比べてライブラリー調製に要する合計時間が1.5～2時間短くなるため、1日の作業時間内でのライブラリー構築が可能となります。さらに、酵素処理と反応物精製の総ステップ数が減るため、必要な作業時間も短縮します。

■ 目的に合わせて柔軟にワークフローを選択

- KAPA RNA HyperPrep Kit は、単独のワークフローとしても、KAPA RiboErase (HMR) リボゾームRNA 除去モジュールやmRNA キャプチャーモジュールと組み合わせて使用することもできます

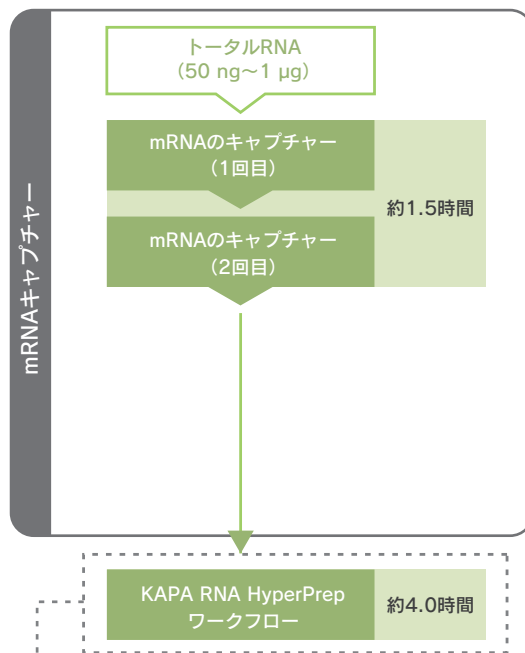
rRNA除去モジュール付き KAPA RNA HyperPrep Kits RiboErase (HMR)付き

ライブラリー調製の合計時間 約6.5時間



mRNAキャプチャーモジュール付き KAPA mRNA HyperPrep Kits

ライブラリー調製の合計時間 約5.5時間



KAPA RiboErase (HMR)

rRNA を除去したトータルRNA サンプルをシーケンスすることで、全トランスクリプトームをより包括的に表せます。DNAプローブで標的化したrRNA をRNase Hにより酵素的に除去するため、mRNA 前駆体やノンコーディングRNA のような重要な制御性のRNA 種など、目的とする転写産物のカバレッジが向上します。

mRNA のキャプチャー

mRNA の濃縮サンプルをシーケンスすることで、トランスクリプトームのタンパク質コード領域に絞り込めます。mRNA キャプチャービーズを使用してからKAPA RNA HyperPrep ワークフローによるライブラリー調製を行うと、リボゾームRNA、RNA 前駆体、ノンコーディングRNA などのポリA テールのないRNA 種よりもmRNA を濃縮できます。

■ さまざまなストランド特異的アプリケーションに使用可能

- 他の市販キットのワークフローより少ない初発サンプルのインプット量
- 高品質ライブラリーの作製、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルのような分解したのものにも有効

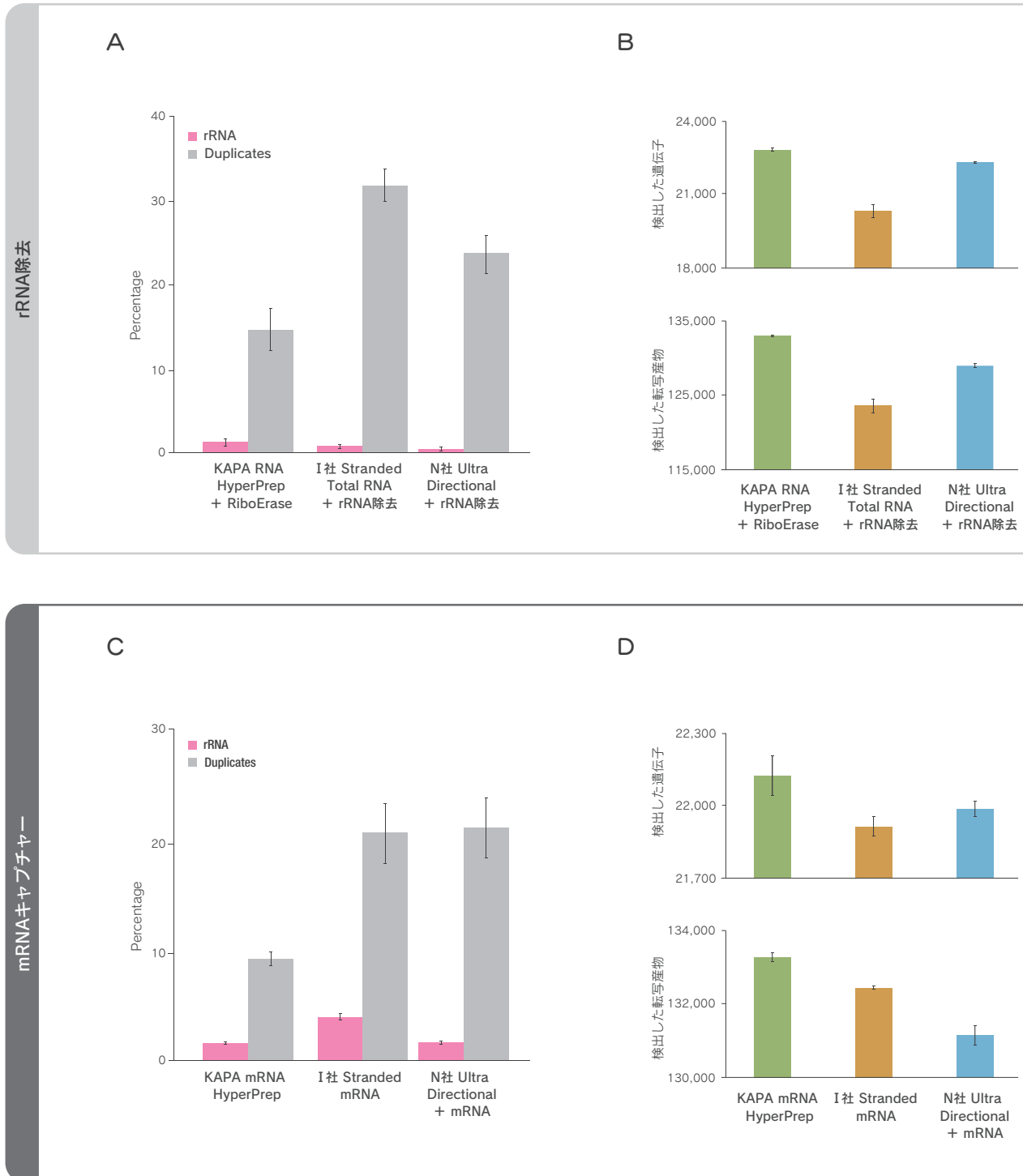
	KAPA RNA HyperPrep Kit	KAPA RNA HyperPrep Kits RiboErase (HMR) 付き	KAPA mRNA HyperPrep Kit
RNA 濃縮	なし	rRNA 除去	ポリ (A) による mRNA キャプチャー
インプット量	ライブラリー調製に1~100 ng	rRNA除去に25 ng~1 μg	mRNAキャプチャーに50 ng~1 μg
サンプルタイプ	高品質トータル RNA 分解した/ FFPE トータル RNA 事前濃縮 RNA	高品質トータル RNA 分解した/ FFPE トータル RNA	高品質トータル RNA
生物種	真核生物 (動物、植物など) 原核生物 (細菌など)	ヒト、マウス、ラット	真核生物 (動物、植物など)
特徴的な用途	全トランスクリプトーム	ノンコーディング RNA 全トランスクリプトーム	mRNA-Seq
共通の用途	遺伝子発現解析、遺伝子融合の検出、アイソフォーム、他の構造変異体、新規転写産物の同定、一塩基変異 (SNV) の検出		

さまざまなニーズに対応するワークフロー

KAPA RNA HyperPrep ワークフローは、RNA 濃縮試薬を用いない場合、rRNA 除去用のKAPA RiboErase (HMR)、mRNA キャプチャーの3種類のフォーマットで利用可能です。このような柔軟性があるため、個別用途に合った最適なワークフローを選択できます。

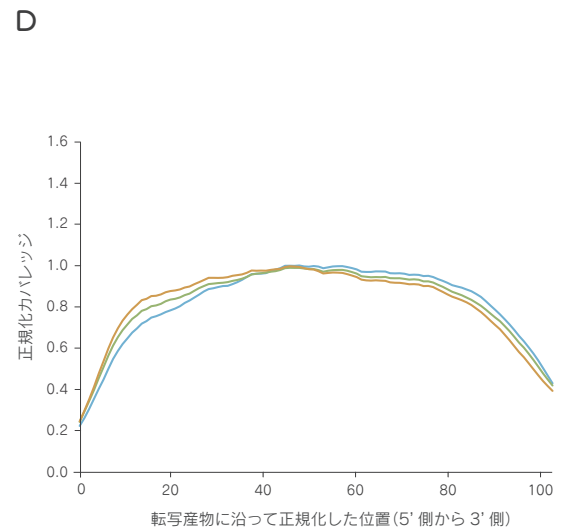
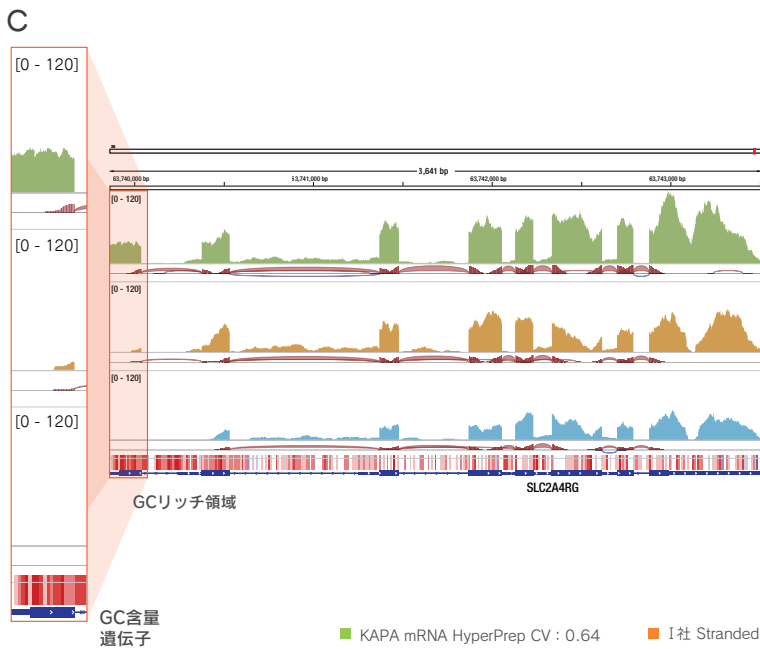
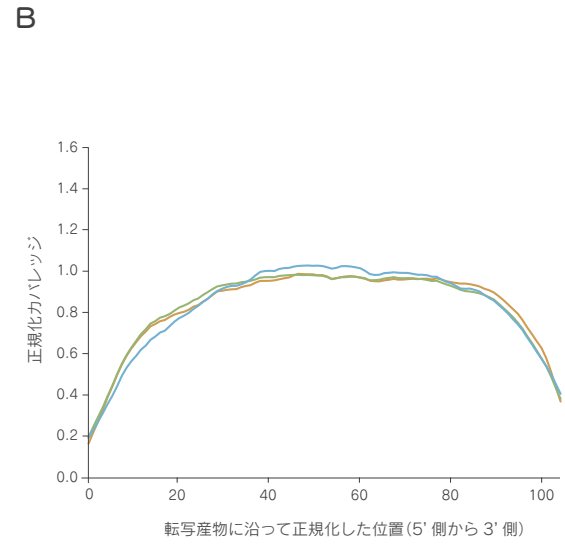
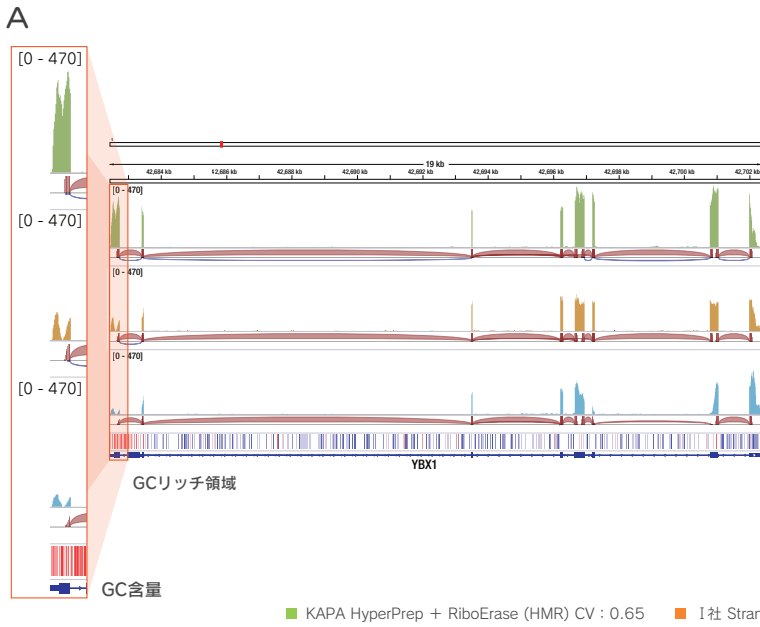
■ シークエンスで重要なこと

- rRNA のキャリアオーバーやPCR Duplicates で生じる無駄なリード数を最小化
- 偏りが無いシーケンスで、より多くのユニークな転写産物や遺伝子を同定



シーケンスのキャパシティを有効に活用

KAPA RNA HyperPrepのワークフローにより、PCR DuplicatesやrRNAのアラインメント由来などで破棄しなければならない総リード数を減少することができました (AとC)。このように偏りが無いシーケンスにより、I社およびN社のキットと比較してKAPAワークフローを使用するほうがより多くの遺伝子とユニークな転写産物を同定できました (BとD)。高品質なUniversal Human Reference (UHR) RNAを25 ng (rRNA除去) と50 ng (mRNAキャプチャー) 用いてメーカーの推奨にできる限り従ったワークフローでライブラリーを4通り作製しました。このデータと以降の全データでは、シーケンスをIllumina® HiSeq® 2500の高出力モードでv4試薬とリード長2x100 bpを用いて実施しました。rRNAのリード配列を除去し、ペアリードを比較分析のため無作為にサブサンプリング (14 M) し、標識した複製産物を含めました。

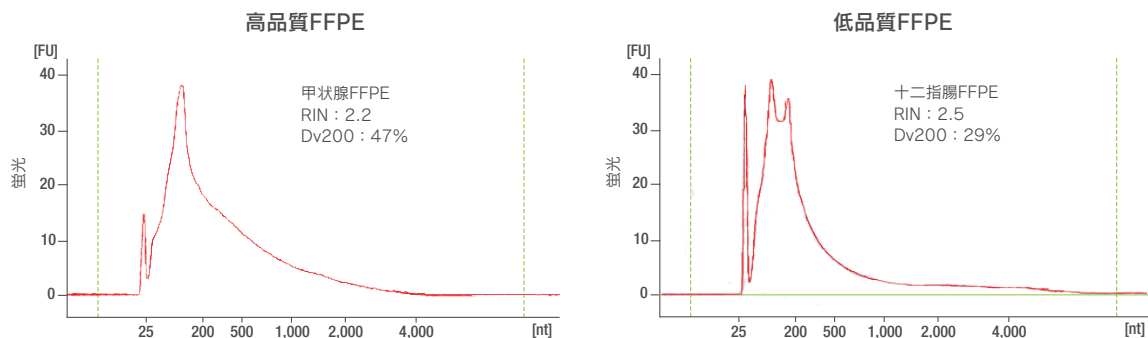


カバレッジの均一性を向上

KAPAのワークフローを使用すると、YBX1 遺伝子 (A) と SLC2A4RG 遺伝子 (C) の GC リッチ領域 (赤色で示す) におけるカバレッジの増加が認められます。上位1000個の転写産物を、正規化カバレッジプロットとカバレッジ変動係数 (CV) の両方で評価した場合、KAPARNA HyperPrep ワークフローでは他社のワークフローと比較して転写長全体のカバレッジも増加しています (BとD)。高品質なUHR RNAを25 ng (rRNA 除去) と50 ng (mRNA キャプチャー) 用いてメーカーの推奨にできる限り従ったワークフローでライブラリーを作製しました。

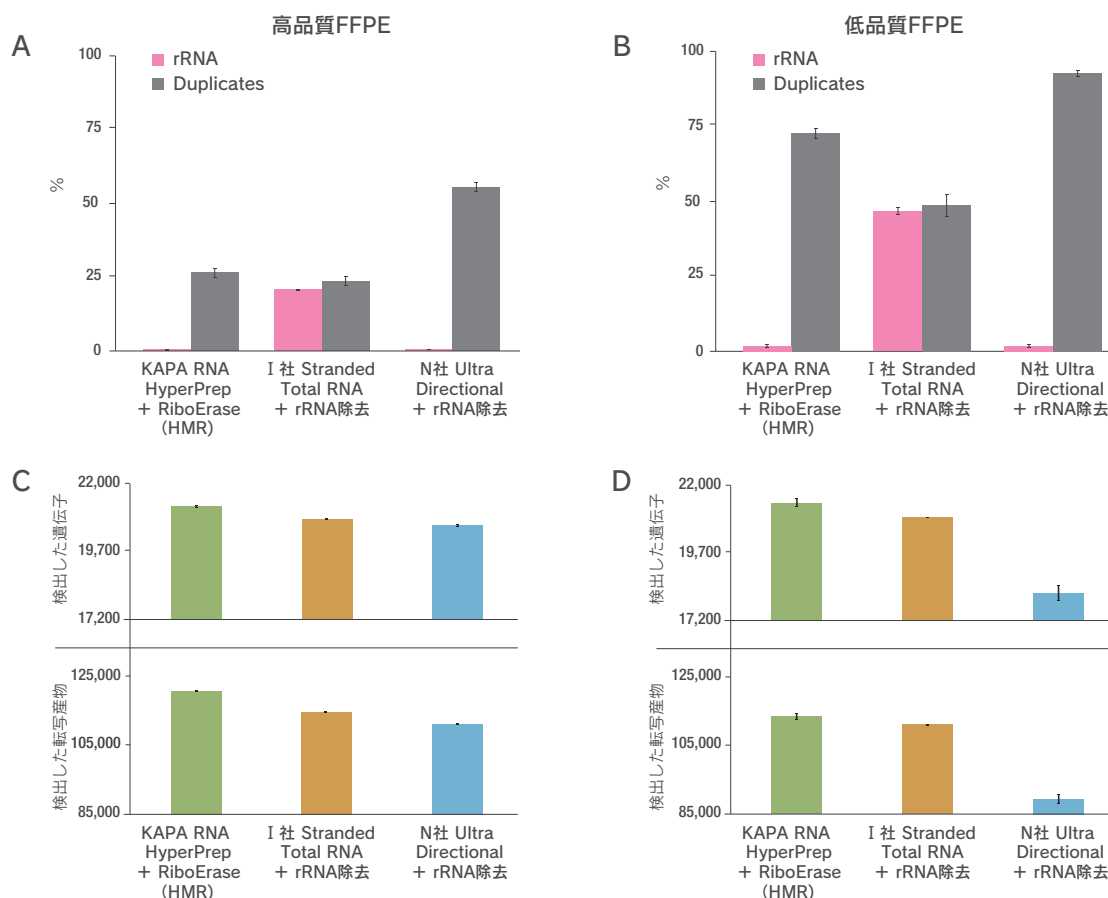
■ 劣化サンプルから高品質ライブラリーを作製

- FFPE サンプルでも25 ng の少量インプット（トータルRNA の品質に依存）
- 劣化サンプルを用いて低いduplication rate、高効率、再現性のあるrRNA 除去を実現
- 偏りが無いシーケンスでより多くのユニークな転写産物や遺伝子を同定



FFPE サンプルの (2 例) トータルRNA エレクトロフェログラム

甲状腺FFPE サンプル (RIN : 2.2) はRNA の47%が200 nt 超と測定されており、比較的高品質です。反対に、十二指腸FFPE サンプル (RIN : 2.5) はRNA の29% が200 nt 超と測定されており、より低品質となります。Agilent® RNA 6000 Pico Kit を用いてエレクトロフェログラムを作成しました。



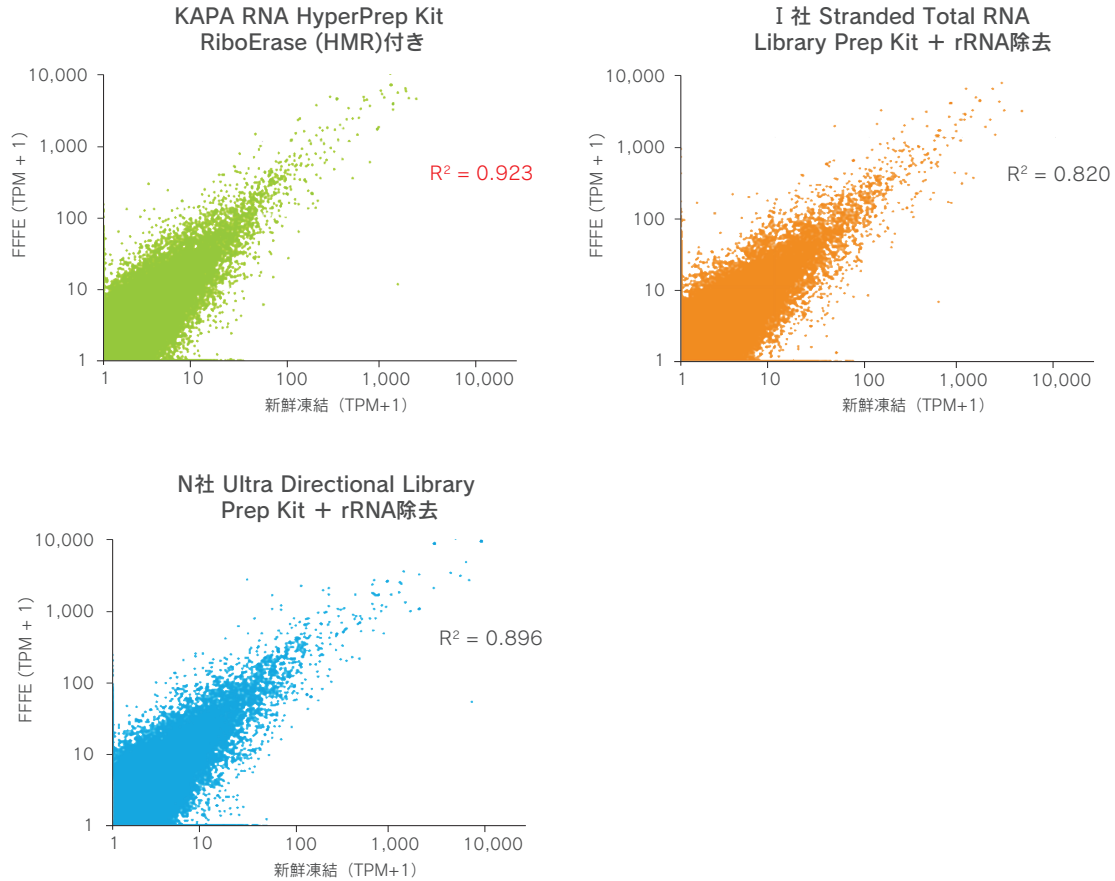
シーケンスのキャパシティを有効に活用

上記2種類のFFPE RNA サンプルを使用した場合、KAPA RNA HyperPrep Kit RiboErase (HMR) では、他社のワークフローと比較してPCR Duplicates やrRNA のアラインメント由来などで棄却しなければならない総リード数を減少できました (AとB)。このような偏りが無いシーケンスで、他社のワークフローと比較すると、KAPA ワークフローを使用するほうがより多くの遺伝子と転写産物を同定できました (CとD)。

甲状腺サンプルは25 ng を用い、十二指腸のインプットサンプルは品質が低いため、100 ng 以上を用いてライブラリーを2通り作製しました。

■ 劣化サンプルのインプットで信頼性のある結果を実現

- FFPE サンプルと新鮮な凍結サンプル間の高い発現相関性を実現し、シーケンスデータ精度の信頼性を向上



FFPEサンプルと新鮮な凍結サンプル間の発現データに見られるTPM (transcripts per million) 値での高い一致度

ピアソンの相関係数から、KAPA RNA HyperPrep Kit RiboErase (HMR) 付きを使用した場合に、I社 Stranded Total RNA Library Prep+rRNA 除去やN社 Ultra Directional Library Preparation+rRNA 除去と比べて高い一致度が認められます。ペアFFPE由来サンプルと新鮮凍結された乳腺腫瘍のトータルRNAサンプルのインプット量100 ngを用いてメーカーの推奨に従ったワークフローでライブラリーを2通り作製しました。

KAPA RNA HyperPrep Kit

- 1ng-100ng トータルRNAからストランド特異的なライブラリーを調製
- ターゲットRNA-Seq、トランスクリプトーム解析、など
- 複数の酵素反応をワンチューブ内で行い、ビーズ精製ステップを最小限に減らしたことで、ライブラリー調整を約4時間で終わらせることが可能です。

Cat.No.	構成品	入数	価格(税抜)
KK8540	KK8542 RNA Hyper (24 rxn)	24回用	¥225,000
	KK8543 Pure Beads (3.2 mL)		
KK8541	KK8544 RNA Hyper (96 rxn)	96回用	¥654,000
	KK8545 Pure Beads (3x5 mL)		

KAPA mRNA HyperPrep Kit

- 50 ng-1 µg トータルRNAからストランド特異的なライブラリーを調製
- mRNAキャプチャービーズが付属されています。

Cat.No.	構成品	入数	価格(税抜)
KK8580	KK8440 KAPA mRNA Capture Kit (24 rxn)	24回用	¥250,000
	KK8542 RNA Hyper (24 rxn)		
	KK8543 Pure Beads (3.2 mL)		
KK8581	KK8441 KAPA mRNA Capture Kit (96 rxn)	96回用	¥748,000
	KK8544 RNA Hyper (96 rxn)		
	KK8545 Pure Beads (3x5 mL)		

※ 構成品表示のあるものは構成品型番にてお買い求めください。

KAPA RNA HyperPrep Kit with RiboErase (HMR)

- ヒト、マウスまたはラットで25 ng-1 µg トータルRNAからストランド特異的なライブラリーを調製
- non-coding RNA、トランスクリプトーム解析など
- rRNA除去用試薬類が付属されています。

Cat.No.	構成品	入数	価格(税抜)
KK8560	KK8481 KAPA RiboErase HMR (24 rxn)	24回用	¥447,000
	KK8542 RNA Hyper (24 rxn)		
	KK8546 Pure Beads (2x3.2 mL)		
KK8561	KK8482 KAPA RiboErase HMR (96 rxn)	96回用	¥1,466,800
	KK8544 RNA Hyper (96 rxn)		
	KK8001 KAPA Pure Beads (30 mL)		



日本ジェネティクス株式会社

〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階

TEL 03 (3813) 0961 <https://n-genetics.com>

FAX 03 (3813) 0962 info@genetics-n.co.jp