



Prep EFFICIENTLY

KAPA EvoPlus : ライブラリープレップの新基準を導入

KAPA EvoPlus Kitは、フラグメンテーション性能の向上、フラグメンテーションの際に影響する阻害剤に対する耐性の向上、簡便かつ合理的に自動化されたワークフローによりシーケンシングアーティファクトの低減を可能にします。この新しいフラグメンテーション酵素とライブラリープレップ試薬により、研究者はシーケンスの効率を高め、より高い信頼性を得る事ができます。

KAPA EvoPlus Kitは、KAPA AdapterおよびKAPA HyperPure Beads (別売) と組み合わせることで、完全なライブラリープレップソリューションを提供します。このキットは、イルミナシーケンスプラットフォームと互換性があり、自動化メソッドで検証されています。

KAPA EvoPlus ワークフローのメリット

優れた性能とシーケンス結果

フラグメンテーションの調製が可能で、阻害剤にも影響されないため、ライブラリーのパフォーマンスが向上し、シーケンスアーティファクトが大幅に低減しました。

ワークフローの簡素化・合理化

ReadyMix 1 つでフラグメンテーションと A-tailing を行い、シンプルかつ合理的で自動化にも特化したワークフローが可能です。

汎用性が高く、自動化に対応

チューブフォーマットとプレートフォーマットから選択でき、効率と利便性がアップしました。

フレキシブルで高い信頼性

幅広いサンプルタイプとインプット量に対応で、フラグメントサイズ、アダプター設計、ライブラリー増幅に柔軟に対応します。



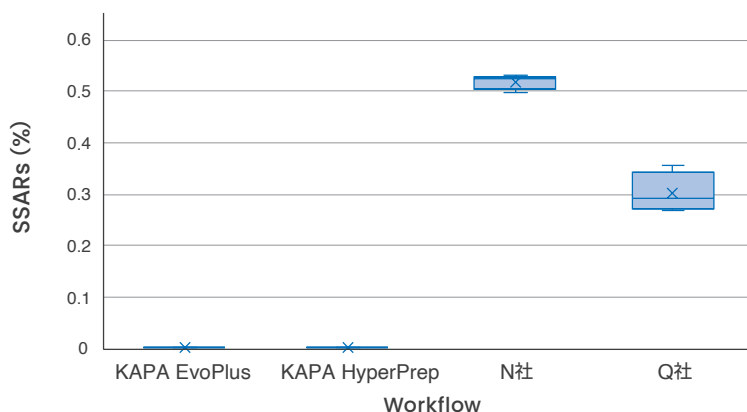
信頼性の高いシーケンスが得られます

一般的な酵素的断片化によるライブラリー調製ではアーティファクトが必然的に生じますが、KAPA EvoPlus Kitは新しい断片化反応を採用することでアーティファクトの発生を抑制し、物理的断片化による方法と同等の信頼できるシーケンスが取得できます。

■ ストランドスプリットアーティファクトリード (SSARs) ¹の抑制

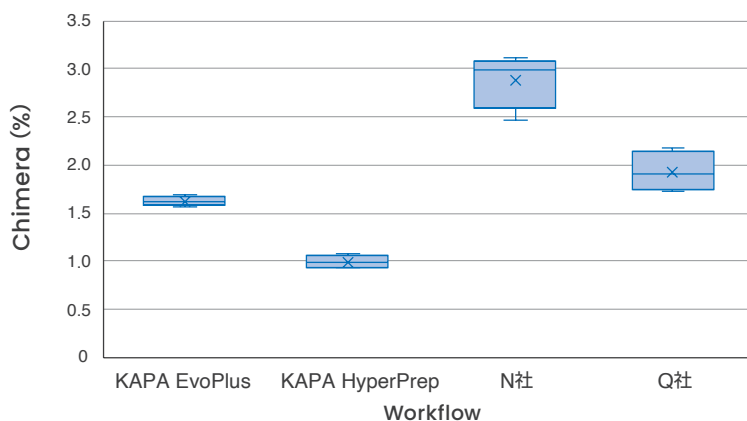
KAPA EvoPlus Kit、KAPA HyperPrep Kit、N社調製キット、Q社調製キットで500 ngのヒトゲノムからライブラリーを調製し(ダブルサイズセレクションを実行)、SSARs(キメラリードの1種であり、部分的に連続しないゲノム配列で構成されるリード)¹の割合を調べたところ、N社調製キット、Q社調製キットではSSARsが存在する割合が高くなっているのに対して、KAPA EvoPlusライブラリーに存在するSSARsの割合は、KAPA HyperPrepライブラリー(業界のゴールドスタンダードと見なされます)と同等であり、ゼロに近いことが確認されました(0.002%)。

1: Haile, *et al.* Sources of erroneous sequences and artifact chimeric reads in next generation sequencing of genomic DNA from formalin-fixed paraffin-embedded samples. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47,2. doi: 10.1093/nar/gky1142.



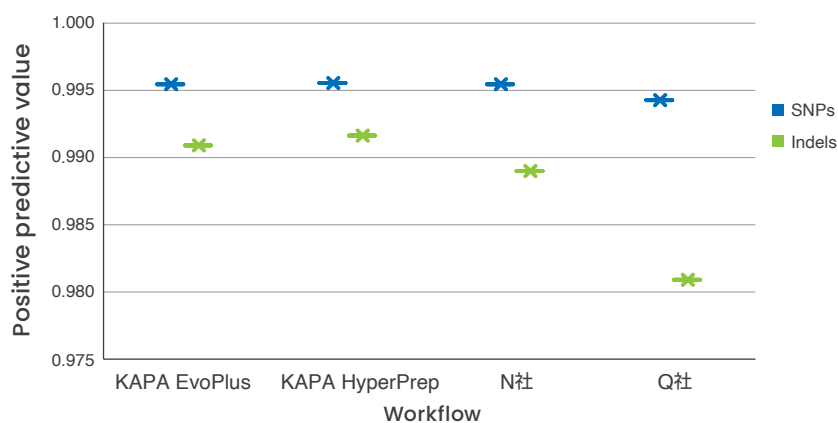
■ キメラの抑制

KAPA EvoPlus Kit、KAPA HyperPrep Kit、N社調製キット、Q社調製キットで500 ngのヒトゲノムからライブラリーを調製し(ダブルサイズセレクションを実行)、キメラリードの割合を調べたところ、KAPA EvoPlusライブラリーに存在するキメラの割合はKAPA HyperPrepライブラリー(業界のゴールドスタンダードと見なされています)と同等のレベルで低いことが示されました。



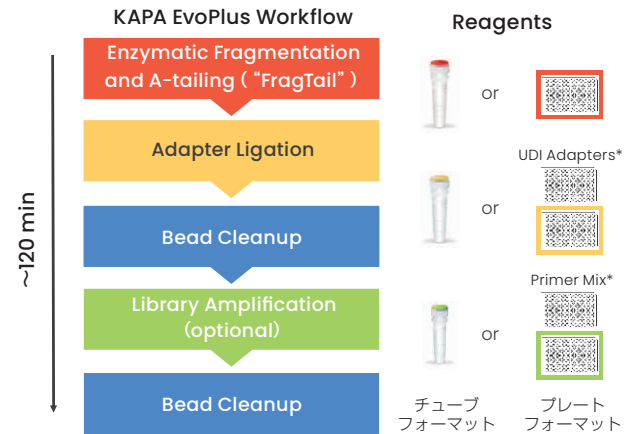
■ 高い正確性のバリエーションコール

コールされた全てのバリエーションからSNPsとインデルのPPVs(偽検出と反対の指標であり、高い数値であるほど正確な検出ができることを示します)を調べたところ、KAPA EvoPlus KitによるライブラリーのPPVsはKAPA HyperPrepライブラリー(業界のゴールドスタンダードと見なされます)と同等であることが示されました。



ライブラリー調製がより簡単に (Ready Mix)

KAPA EvoPlus Kitでは断片化とAテーリング反応を一つのステップで (Frag Tail Step) 行います。また、試薬はReadyMixとして提供されるため、ライブラリー調製はよりシンプルで簡単になり、人為的ミスリスクが低減されます。また、ラボのニーズによりチューブフォーマットかプレートフォーマットタイプから選択していただくことが可能となりました。



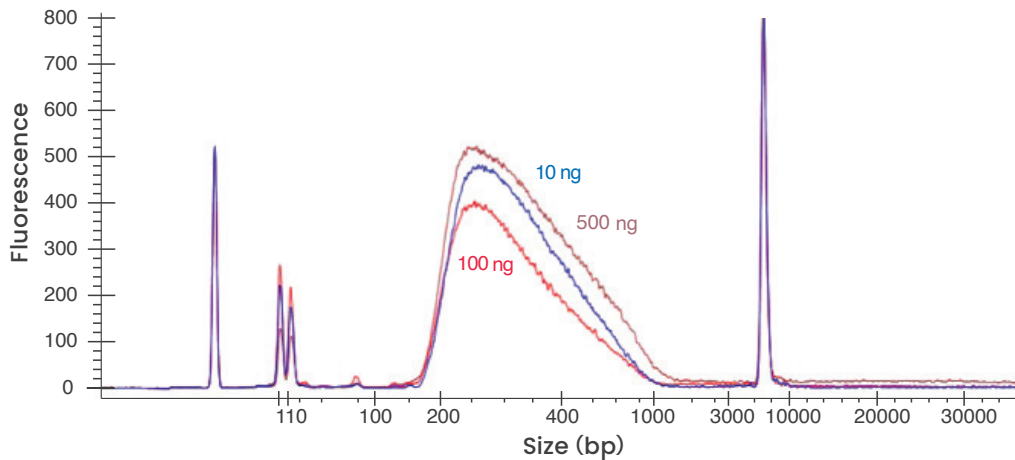
* 本キットにはアダプター試薬は含まれておりませんので、別途ご用意ください。

安定したサイズのライブラリーが得られます

KAPA EvoPlus KitではインプットDNAの量やGC含量に関わらず一定のサイズのライブラリーを調製することが可能で、さらに、EDTAなどドインヒビターの影響を受けにくくなっています (最大2 mMまでのEDTA溶液で同等のライブラリー調製が可能)。また、反応時間を変えることでライブラリーインサートサイズを調整することも可能です。

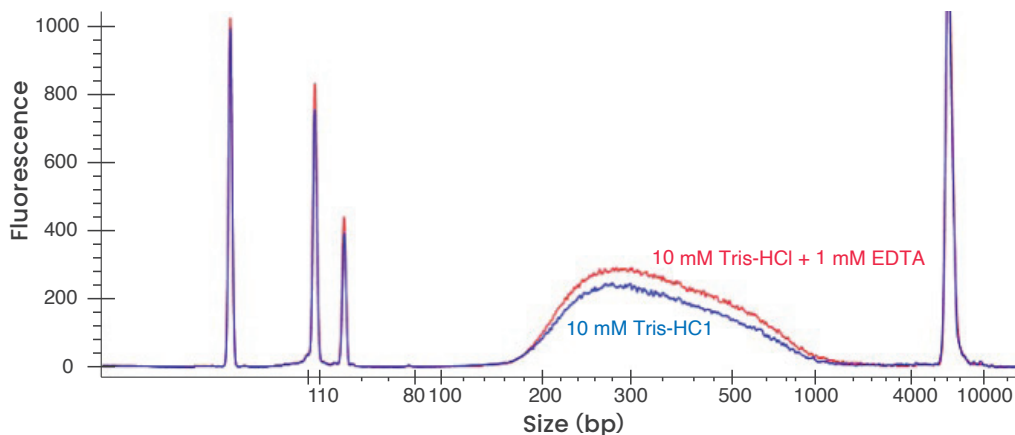
■ さまざまな投入量で再現性のある酵素的断片化が可能

ヒトゲノムDNA (10 ng、100 ng、500 ng) を37℃で断片化したところ、いずれの条件においてもモードインサートサイズが約300 bpのライブラリーが調製されることが示されました。この検証実験ではフルレンジアダプター (KAPA UDIアダプター) を用いたKAPA EvoPlusワークフローを実施し (サイズセレクションなし)、2サイクルの増幅を行ったものをLabChip GX Touch HTとHT DNA HiSens Reagent Kit (PerkinElmer) で泳動しました。



■ ゲノムDNA溶液のバッファーの種類に関わらず再現性のある酵素的断片化が可能

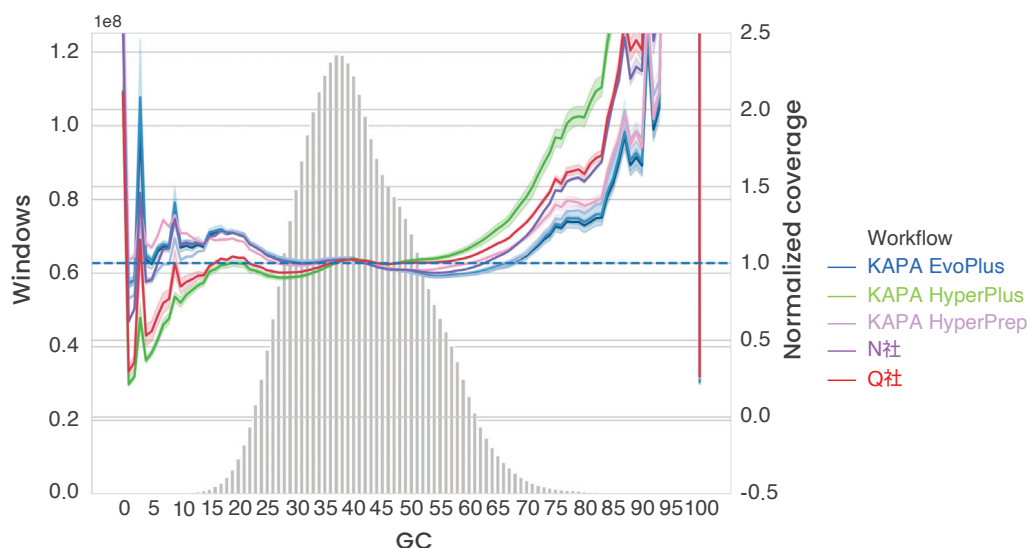
10 mM Tris-HClまたは10 mM Tris-HCl、1 mM EDTAに溶解したヒトゲノムDNA (500 ng) を37℃で断片化したところ、どちらの条件においてもモードインサートサイズが約300 bpのライブラリーが調製されることが示されました。この検証実験ではフルレンジアダプター (KAPA UDIアダプター) を用いたKAPA EvoPlusワークフローを実施し (サイズセレクションなし)、2サイクルの増幅を行ったものをLabChip GX Touch HTとHT DNA HiSens Reagent Kit (PerkinElmer) で泳動しました。



GC バイアスの少ない結果が得られます

■ GCバイアスが小さく、物理的断片化と同等の均一なカバレッジ

各キットを使用してライブラリー調製を行いカバレッジのGCバイアスを調べたところ、KAPA EvoPlus KitはKAPA HyperPrepと同等のパフォーマンスを示す事が明らかとなりました。酵素的断片化を用いたN社、Q社のワークフローでは、それぞれGCリッチ領域、ATリッチ領域とGCリッチ領域の両方でパフォーマンスが低下していました。これは断片化が均一でないことが影響しているものと考えられます。こうしたバイアスがある場合、カバレッジホットスポットという問題が発生します（「容易な」領域（GC含量が50%に近い領域）ではカバレッジが過剰となり、「困難な」領域（AT-またはGCリッチ領域）では過小となることで、必要なカバレッジを得るために追加のシーケンスが必要となるという問題）。



Cat.No.		入数	価格(税抜)
09 420 037 001	KAPA EvoPlus Kit	24反応	¥118,000
09 420 053 001	KAPA EvoPlus Kit	96反応	¥398,000
09 420 339 001	KAPA EvoPlus Kit	384反応	¥1,528,000
09 420 045 001	KAPA EvoPlus Kit、PCRフリー	24反応	¥112,000
09 420 304 001	KAPA EvoPlus Kit、PCRフリー	96反応	¥380,000
09 420 371 001	KAPA EvoPlus Kit、PCRフリー	384反応	¥1,468,000
09 420 428 001	KAPA EvoPlus Kit、プレートフォーマット	96反応	¥458,000
09 420 436 001	KAPA EvoPlus Kit、PCRフリー、プレートフォーマット	96反応	¥437,000

■ アクセサリー

Cat.No.		入数	価格(税抜)
09 420 398 001	KAPA HiFi HotStart ReadyMix	9.6 mL	¥93,000
09 420 410 001	KAPA Library Amp Primer Mix	384反応	¥36,000
09 420 479 001	KAPA Library Amp Primer Mix、プレートフォーマット	96反応	¥12,000

Full lengthタイプ

ユニーク デュアル インデックス アダプター

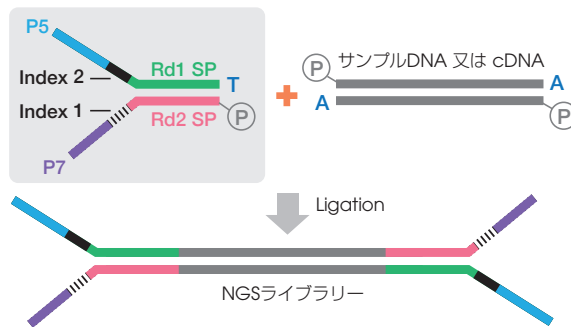
KAPA Unique Dual-Indexed Adapter Kit (96 インデックス)

インデックスホッピング対応 **アダプターライゲーションベース**のデュアルインデックスアダプター
PCRフリーライブラリー調製に適しています

特長

- KAPAが開発した独自配列のユニーク・デュアルインデックスアダプター
- 従来のDual Indexアダプターでは解決できなかった「インデックスホッピング」に対応可能
- illumina社Experiment Managerの設定資料あり
- 整列化フローセル装置でのインデックス・ミスアサインメントの抑制に効果的なユニークインデックス
- NGSでのQCを実施した高品質アダプター
- 推奨キット: KAPA HyperPrep, KAPA HyperPlus, KAPA RNA HyperPrep および HyperCap workflows

KAPA Unique Dual-Indexed のワークフロー



Cat.No.		入数	価格(税抜)
KK8727	KAPA ユニーク デュアルインデックス アダプターキット	96インデックス×各20 µL	¥423,000
KK8726	KAPA ユニーク デュアルインデックス アダプタープレート KAPA アダプターシーリングフォイル	15 µM 3枚	
KK8721	KAPA アダプターダイリュションバッファー	25 mL	

■ 別売品

Cat.No.		入数	価格(税抜)
KK8721	KAPA アダプターダイリュションバッファー	25 mL	¥25,000

Truncatedタイプ

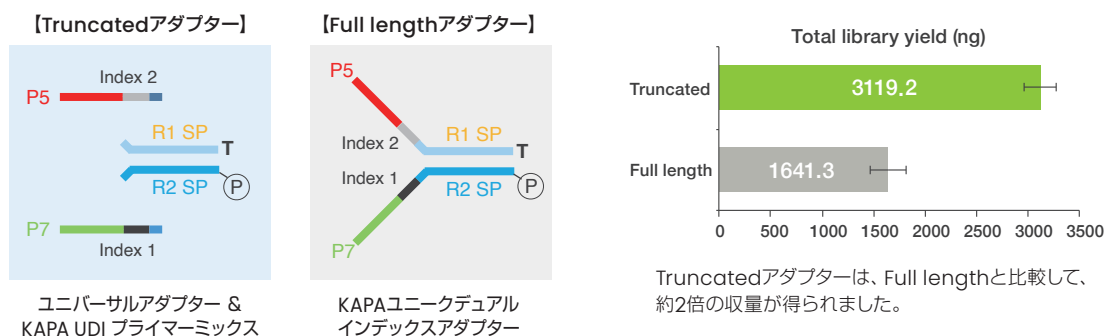
ユニバーサル アダプター

KAPA Universal Adapter & UDI Primer Mixes (384インデックス)

インデックスホッピング対応 PCRベースのデュアルインデックスアダプターキット

Full length アダプターと比較して高いライブラリー収率を実現

50 ngのヒトゲノムDNA (NA12878; Coriell Institute) とKAPA HyperPlus Kitを用いて、Truncated (KAPA HyperPlex) アダプター、Full lengthアダプターの平均ライブラリー収量を比較した結果 (n=12, PCR cycle 7)



- KAPA独自のユニークなインデックス配列によりインデックス・ミスアサインメントの抑制に効果的です。
- 下記のイルミナプラットフォームにご使用いただけます。
 パターンードフローセル: HiSeq™ 3000, HiSeq™ 4000, HiSeq™ X, NovaSeq™
 ノンパターンードフローセル: MiSeq™, NextSeq™, HiSeq™ 2000, HiSeq™ 2500
- NGSでのQCバリデーション済み
- イルミナプラットフォームでのインデックス設定用ファイルがございます。
- 推奨ライブラリー調製キット
 DNA用: KAPA HyperPrep Kit, KAPA HyperPlus Kit
 RNA用: KAPA RNA HyperPrep Kit

KAPA ユニバーサルアダプター

- Illuminaプラットフォーム上の次世代シーケンシング (NGS) 用の短いアダプターです。
- A-tailingステップの後、T-overhangsを付加し、ライブラリーフラグメントにライゲーションします。
- サンプルバーコードは、ターゲットエンリッチメントに先立って、ライブラリー増幅ステップで組み込まれます。

KAPA ユニークデュアルインデックス (UDI) プライマーミックス

- 最大384種類のインデックスに対応
- KAPA UDI Primer Mixは、フォワードプライマーとリバースプライマーを事前に混合した組み合わせです。
 プライマーには、イルミナシーケンサーのインデックスミスアライメント (「インデックスホッピング」) を軽減するように設計された個別の8ヌクレオチドインデックスが含まれています。
- KAPA ユニバーサルアダプターと組み合わせて使用し、次世代シーケンシング (NGS) 用に個々のDNAサンプルから一意にインデックスが付加されたライブラリーを生成します。
- 固有のインデックスを付加する事により、ターゲットキャプチャまたはクラスター生成の前にライブラリーをプールして、マルチプレックスシーケンスに適したライブラリー作製が可能となります。(また、KAPA Hyper Kit シリーズにも使用する事が可能です。)

Cat.No.		入数	価格(税抜)
09 063 781 001	KAPA Universal Adapter, 15 µM, 960 µL	960 µL	¥11,000
09 134 336 001	KAPA UDI Primer Mixes, 1-96	96反応	¥65,000
09 329 838 001	KAPA UDI Primer Mixes, 97-192	96反応	¥65,000
09 329 846 001	KAPA UDI Primer Mixes, 193-288	96反応	¥65,000
09 329 854 001	KAPA UDI Primer Mixes, 289-384	96反応	¥65,000

Truncatedタイプ

ユニバーサル

アダプター

KAPA Universal UMI Adapter & UDI Primer Mixes (384インデックス)

分子バーコード付き PCRベースのデュアルインデックスアダプターキット

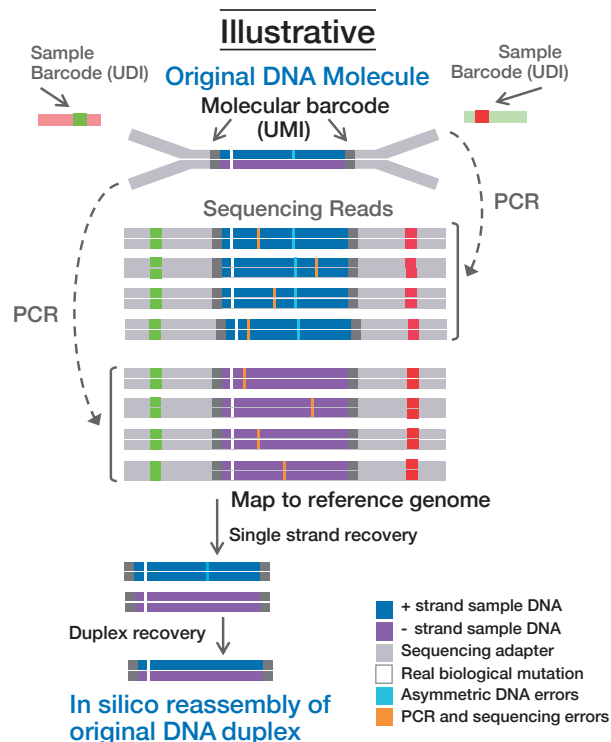
低頻度変異の解析に必要な低エラー率を実現

■ 独自の二本鎖バーコーディングを採用

一本鎖からなる分子バーコードと比較して、非常に低いエラー率を実現することができます。また、本製品による分子バーコード配列はインサート配列のすぐ隣に導入されるので、PCRによるキメラの発生頻度が低く、マッピングされないリードの割合を最小限にします。このため、効率の良いシーケンスを実現します。

■ 慎重に設計された16種の配列既知の分子タグ

本製品は、ランダム配列の分子バーコードではなく慎重に選択した16種の既知配列の分子バーコードを使用しています。このため、バーコード上に生じたエラーは解析の際に除外できます。また、フラグメントの両側に付加する方式を採用しているため、 $16 \times 16 = 256$ 種類の分子が識別できます。解析時には、それぞれのフラグメントのスタート位置とエンド位置も考慮してユニーク分子を判別しますので、十分な感度での解析が可能です。



データ解析時に *in silico* でオリジナルの二本鎖の配列を作成 (再現) します。
(Integrated digital error suppression for ultrasensitive detection of circulating tumor DNA *Nat Biotechnol.* 2016 34:547-555より改変)

- KAPA HyperPlex アダプターシリーズであるユニバーサルUMIアダプターは、固有の分子バーコード (Unique Molecular I ndexes) を含んだイルミナプラットフォーム用のアダプターです。
- 本製品とKAPA ユニークデュアルインデックス (UDI) プライマーミックス (KAPA UDIプライマーミックス) を共に使用することで、分子バーコード付きのライブラリーを調製することができます。
- 各サンプルに付加した分子バーコードを解析することで、異なるリードを適切に判別することが可能となり、低頻度バリエーション検出の精度をさらに高めることができます。

特長

- 16種類の分子タグを含んだアダプター試薬です。
- バーコードコンタミネーションを防ぐQCテスト実施済
- KAPA UDIプライマーミックスと組み合わせて使用するTruncatedアダプターです。

Cat.No.		入数	価格 (税抜)
09 329 862 001	KAPA Universal UMI Adapter, 960 µL	96反応	¥72,000
09 134 336 001	KAPA UDI Primer Mixes, 1-96	96反応	¥65,000
09 329 838 001	KAPA UDI Primer Mixes, 97-192	96反応	¥65,000
09 329 846 001	KAPA UDI Primer Mixes, 193-288	96反応	¥65,000
09 329 854 001	KAPA UDI Primer Mixes, 289-384	96反応	¥65,000

KAPA アダプター選択ガイド

機能	Full length	Truncated	
	KAPA ユニーク デュアルインデックス アダプター	KAPA HyperPlex アダプター	
		ユニバーサルアダプター	ユニバーサルUMIアダプター
インデックス数	96	384	
P5 + P7バーコードの数	96 + 96	384 + 384	
Illumina社と同じインデックス配列	いいえ ⁽¹⁾	いいえ ⁽¹⁾	
全てのIllumina社シーケンサーに対応 (patterned / non-patterned flow cells)	対応	対応	
PCRフリーのライブラリー調製	対応	非対応	
分子バーコード	なし	なし	あり
対応しているライブラリー調製キット • KAPA HyperPrep, KAPA HyperPlus • KAPA RNA HyperPrep • KAPA HyperCap	メーカー検証済み メーカー検証済み 互換性あり ⁽²⁾	互換性あり メーカー検証済み メーカー検証済み	互換性あり 互換性あり メーカー検証済み
KAPA Universal Enhancing Oligosとの互換性	あり	あり	
アダプターの情報	Full length, 15 µM, 4反応/アダプター ⁽³⁾	Truncated, 15 µM, 1反応/アダプター ⁽³⁾	Truncated, 33 µM, 1反応/アダプター ⁽³⁾
キット構成	ハードシェル96ウェルプレートで提供 ⁽⁴⁾	アダプターは、チューブで提供 プライマーミックスはハードシェル96ウェルプレートで提供 ⁽⁴⁾	
KAPA Adapter Dilution Buffer	付属 (1キットあたり25 mL)	別売	

(1) KAPA ユニーク デュアルインデックス アダプター (KAPA UDI アダプター) および KAPA UDI プライマーミックスに使用されている192および768のバーコード配列のセットは、Roche社の独占的なものであり、P5/P7それぞれのセット間で異なっています。

(2) 理論的には可能ですが、十分に検証されていません。

(3) アダプターの希釈が不要な場合、KAPA HyperPrep KitまたはKAPA HyperPlus Kitを使用して、それぞれ4回または1回のライブラリー調製を行うのに十分な量が提供されます。

(4) KAPA UDI プライマーミックスとKAPA UDI アダプターのプレートは、剥離可能なシール付きで出荷されます。交換用アルミシールは、プレート1枚につき3枚提供されます。

* KAPA HyperPlex アダプターおよびKAPA UDI アダプターはMethyl-seqアプリケーションとの互換性はありません。



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