

# KAPA HyperPlus Kit

## illumina社用ライブラリー調製キット “ Evolved / 進化版 ”

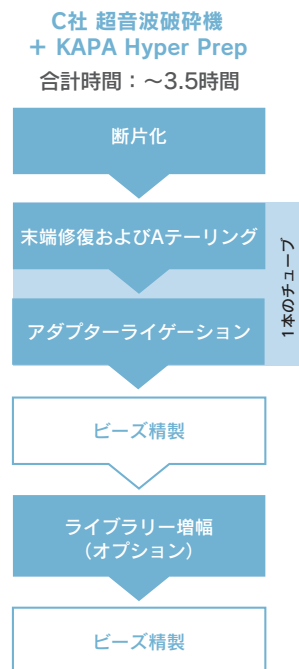
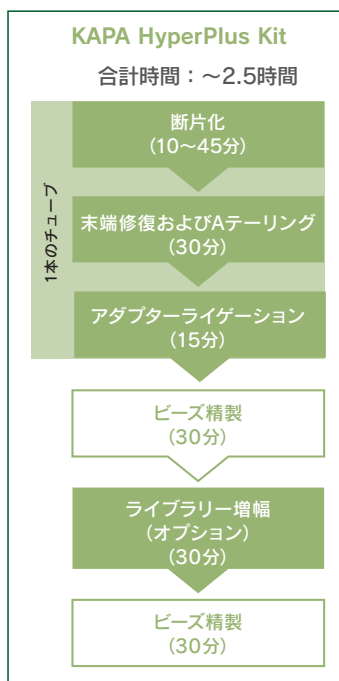
KAPA HyperPlusキットは、物理的な断片化と同等レベルのバイアスの少ない新開発DNA断片化酵素と、1本のチューブ内で行えるシンプルでスリムなワークフローによって、業界を一歩リードするライブラリー作製効率の高さを実現しました。

- 断片化装置フリー
- 約2.5時間での“DNA断片化とライブラリー調製”
- 1 ng ~1 µg で自在のDNAサンプルインプット量
- 限界まで減らしたビーズ精製ステップ
- PCRフリーのワークフローが可能に
- 増幅バイアスの低減でシーケンスカバー率を向上
- 自動化に最適

## ■ 断片化装置フリー。自動化に適したワークフロー

KAPA HyperPlusキットは、バイアスの少ない酵素による断片化を取り入れたことで、「自動化が難しく、高価な装置によるDNAの物理的な断片化」の必要がありません。

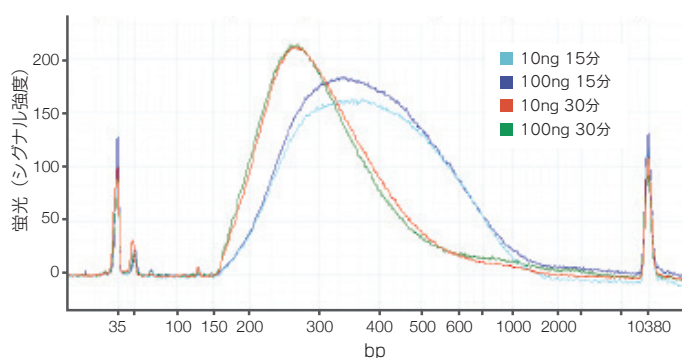
- チューブ1本でのワークフローによりDNA断片化とライブラリーの作製が約2.5時間で可能
- FFPEのような困難なサンプルも含め、幅広いDNAタイプとインプット量に対応
- ヒトエキソームや微生物の全ゲノムシーケンズなど、多様なアプリケーションに適応可能



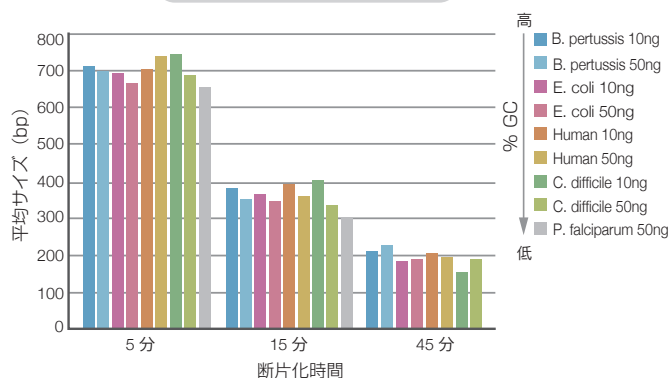
## ■ サイズ調節が可能で再現性の高い“酵素による断片化”

- 断片化時間の違いによりライブラリーインサートサイズを150～800 bpで調節可能
- インサートサイズは、さまざまなGC含量とDNAインプット量において再現可能

ライブラリー断片サイズ分布



再現性ある断片サイズ



### DNAサンプルインプット量やサイズに依存しない、再現性あるライブラリー断片サイズ分布

HyperPlusキットを使用して、インプット量の異なる大腸菌ゲノムDNAを37℃で15分または30分断片化。ライブラリー増幅後にSPRI®ビーズで1回精製した後、サンプルをAgilent High Sensitivity DNA Assay™キットで解析しました。

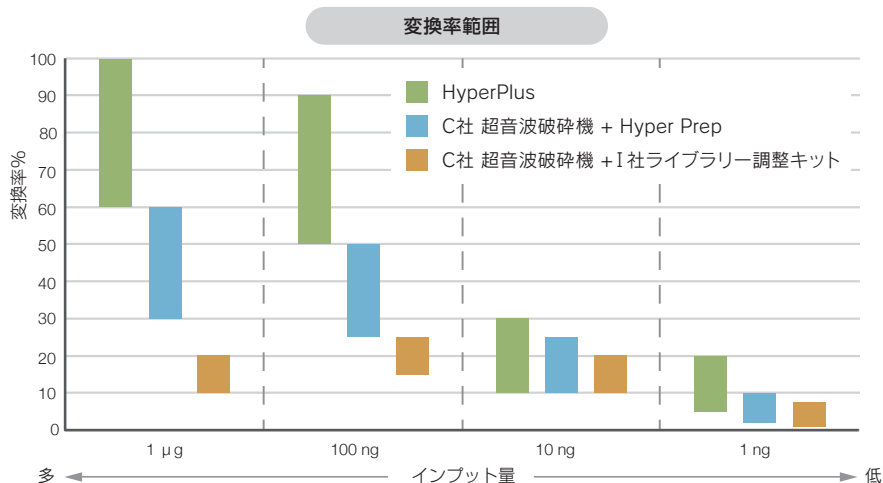
### 設定した断片化パラメータで、GC含量の異なる複数種のサンプルであっても、一貫したライブラリーインサートサイズが得られます。

10ngまたは50ngの百日咳菌 (GC 68%)、クロストリジウム ディフィシル (GC 29%)、大腸菌 (GC 51%)、熱帯熱マラリア原虫 (GC 20%)、ヒトゲノムDNAを5分、15分、45分で断片化。得られたインサート断片の平均サイズはそれぞれ～700、～350、～200bp。断片化反応は37℃で実施。

## ■ 優れたライブラリー収量そして品質

インプットDNAをシーケンス可能なアダプターライゲーション済みのライブラリーに変換する割合（変換率%）は、ライブラリー作製の主要な測定基準ですが、結局はライブラリーの多様性と品質を決定づけるものです。

- プロトコルの最適化による優れた変換率
- 幅広いDNAインプット量で優れた性能
- 高いライブラリー収量によりPCRフリーのワークフローが可能（最低50ngの初発量から）

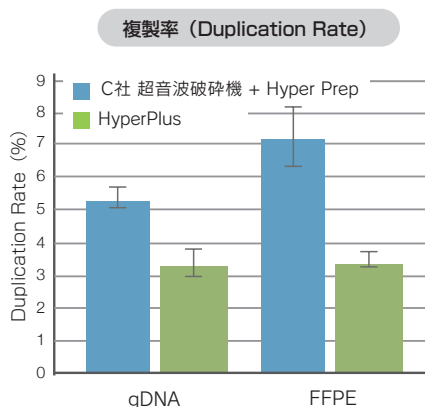


変換率はライブラリー調整キットに大きく左右されます。

HyperPlusで調製したライブラリーと、C社 超音波破砕機で断片化したDNAをI社ライブラリー調整キットおよびHyper Prepで調整した場合とを比較しました。HyperPlusは一体化したワークフローにより、インプットDNAからアダプターライゲーション済みライブラリーへの変換率が高くなっています。変換率は高インプット・低インプットいずれの場合も、KAPA HyperPlusによるものが一番高くなっています。

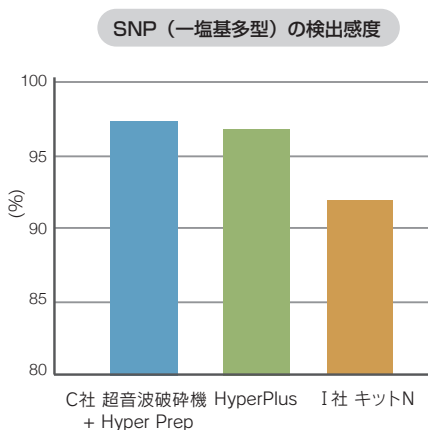
## ■ 上質なシーケンス結果を可能に

- 高い変換率により少ない増幅サイクルと低い複製率（Duplication Rate）を実現
- 優れたライブラリー多様性とより均一なシーケンスカバー率により、低頻度の突然変異を高い信頼性をもって検出



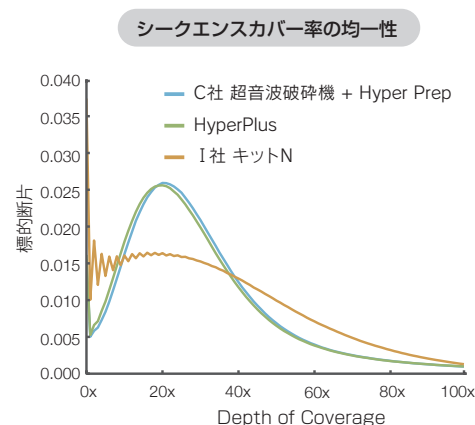
### 低い複製率（Duplication Rate）

HyperPlusまたはC社 超音波破砕機とHyper Prepを使ったエキソームシーケンス実験による複製率です。50ngのヒトゲノムDNAまたは50ngのFFPE DNAからライブラリーを調製し、Nimblegen SeqCap EZ HGSC VCRome パネルで取り込みました。



### 一塩基多型（SNP）検出感度が優れたシーケンス品質を示しています。

インプット量50ng、標準的な回収手順でライブラリーを調製してNimblegen SeqCap EZ HGSC VCRomeパネルで取り込みました。SNPは、初期設定、一塩基あたりの最小カバー深度カットオフ値10のLoFreqを使って回収。感度（真陽性率）は、真陽性を真陽性と偽陰性の合計で割った割合として算出。分析したSNP総数は25,000以上。

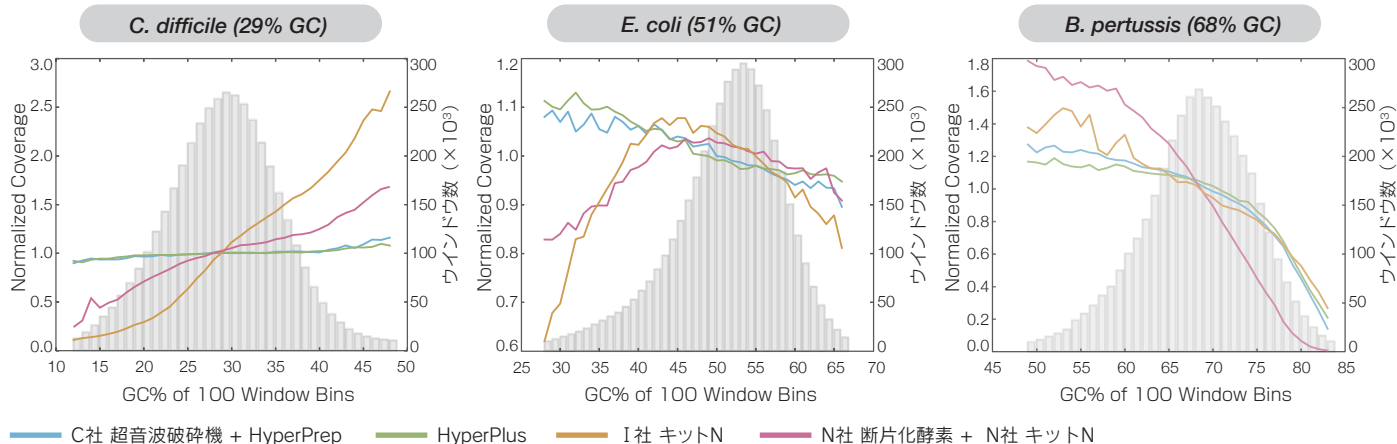


### シーケンスカバー率の均一性の比較

すべてのライブラリーデータは、リード数を等しくするためにダウンサンプリングを行いました。HyperPlusまたはC社 超音波破砕機 + Hyper PrepとR社 キャプチャーキットで調整されたライブラリーと、I社のキットNとキャプチャーキットで調整されたライブラリーを比較。I社キットNのライブラリーは広がったカバー率分布を示しましたが、C社 超音波破砕機とHyperPlusのカバー率分布は類似しています。鋭いピークで裾が小さくより均一なカバー率であることを示しています。

## ■ 最小バイアスのシーケンスカバー率

- タグメンテーションや他の酵素による断片化方法に比べて、少ないシーケンスバイアス
- 物理的断片化と同等の性能
- 少ないバイアスがより均一なシーケンスカバー率の実現とシーケンス費用の削減



### GCバイアスの比較

クロストリジウム ディフィシル (左)、大腸菌 (中央)、百日咳菌 (右) のGCバイアスを100bp binsの標準GC含量を計算して評価。

Picard Collect GC Bias Metricsを使用し、C社 超音波破砕機 + HyperPrep、HyperPlus、I社 キットN、N社 断片化酵素 + N社 キットNのワークフローに対するNormalized Coverageをbins上にプロットしました。ライブラリーは1ngのインプットDNAで調製。シーケンスバイアスがないので、すべてのbinsが均等に表されることになり、Normalized Coverageの1上に集中した水平分布で示されます。

Cat.No.		包装単位	価格 (税抜)
KK8512	KAPA HyperPlus Kit	24回用	¥110,000
KK8514	KAPA HyperPlus Kit	96回用	¥390,000
KK8513	KAPA HyperPlus Kit (PCR酵素なし)	24回用	¥108,000
KK8515	KAPA HyperPlus Kit (PCR酵素なし)	96回用	¥388,000

### キット内容

KAPA Frag 酵素  
 KAPA Frag バッファー (10X)  
 KAPA Frag コンディショニング溶液  
 エンドリペア & A-ターミングバッファー  
 HyperPrep ERAT Enzyme Mix  
 HyperPlus ERAT Enzyme Mix  
 ライゲーションバッファー  
 DNA ライゲース  
 KAPA HiFi HotStart ReadyMix (2X) \*  
 ライブラリー増幅プライマーミックス (10X) \*  
 ※PCR酵素なしのキットには含まれておりません。



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](mailto:info@genetics-n.co.jp)