



Application

GCリッチな放線菌ゲノムDNA (70%GC) から調製した次世代シーケンスライブラリーにおける増幅バイアスの低減

製品名

KAPA Library Amplification Kits (KK2612) (KAPA HiFi DNA polymerase)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

このアプリケーションノートは、東京農業大学 生物資源ゲノム解析センター 志波優様のご厚意により掲載させていただきました。

比較検討方法

下記の条件でライブラリーを調製し、PCR-Free (未増幅) と、I社増幅用酵素およびKAPA LA Kit (Kapa HiFi DNA polymerase) を用いてそれぞれ12サイクルで増幅したサンプルを、Illumina社GAIIxでシーケンスしました。

リード数を300万本に揃えてマッピングを行い、平均シーケンスカバレッジ深度とGC含量の散布図を作成しました (下図)。

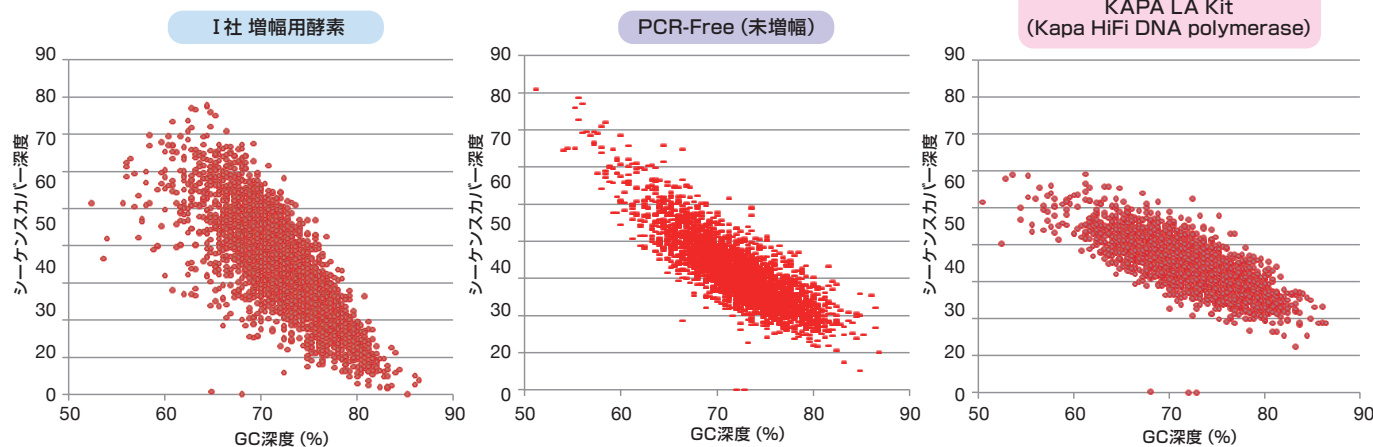
また、*de novo* アセンブリの結果を比較しました (下表)。

- 初発サンプル : 放線菌 *Streptomyces griseus* 野生株 ゲノムDNA 5 μ g
- ゲノムDNA断片化方法 : Covaris S2 (エムエス機器社) を300bpの標準設定どおり使用
- ライブラリー調製 : BECKMAN COULTER社 SPRIworksフラグメントライブラリシステム
- 次世代シーケンサー : Illumina社GAIIx

*マッピングツールはBWA、*de novo* アセンブリはVelvetを使用しました。

結果

放線菌 (GC70%) の例



	<i>de novo</i> アセンブリ結果			
	コンティグ数	N50 (bp)	最長コンティグ長 (bp)	コンティグ総塩基長 (bp)
I社 増幅用酵素	3,746	4,611	47,272	8,338,275
PCR-Free	763	114,387	483,997	8,429,864
KAPA LA Kit (Kapa HiFi DNA polymerase)	530	244,920	429,800	8,420,981



お客様のコメント

KAPAを用いたライブラリー増幅では、未増幅コントロールと同様に高GC領域でも十分なカバレッジが得られ、*de novo*アセンブリ結果も良好でした。GCおよびATリッチかつDNA量が得られないサンプルでは、KAPAによるライブラリー増幅が大変有用であると言えます。