



Application

KAPA HyperPlus Kitによる多検体 黄色ブドウ球菌のNGS解析

製品名

KAPA HyperPlus Kit (for illumina) (KK8510, KK8512, KK8514)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS 社

下記のデータは、千葉大学真菌医学研究センター 真菌症研究部門分野 微生物資源分野 高橋弘喜様、千葉大学大学院医学研究院 皮膚科学 福岡悠美様、千葉大学大学院薬学研究院 微生物薬品化学 高屋明子様のご厚意により掲載させていただきました。

背景

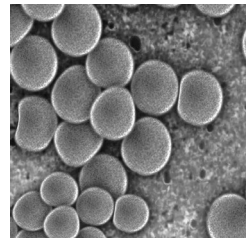
黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、ヒトや動物の皮膚、消化管に存在する細菌の1つです。これらの菌のゲノム配列を解析することは、病原性を高める遺伝子変異などの解明や、抗生物質耐性菌の解析に有用です。

当研究室では、これらの黄色ブドウ球菌の細菌ゲノムの次世代シーケンスをする際に、短期間で非常に多くの検体数を解析する必要がありました。そこで、断片化処理から1チューブ中でライブラリ作製可能であるKAPA HyperPlus Kitを用いることにより、短期間で非常に多くの検体を解析した一例をご紹介します。

実験条件

●サンプルDNA

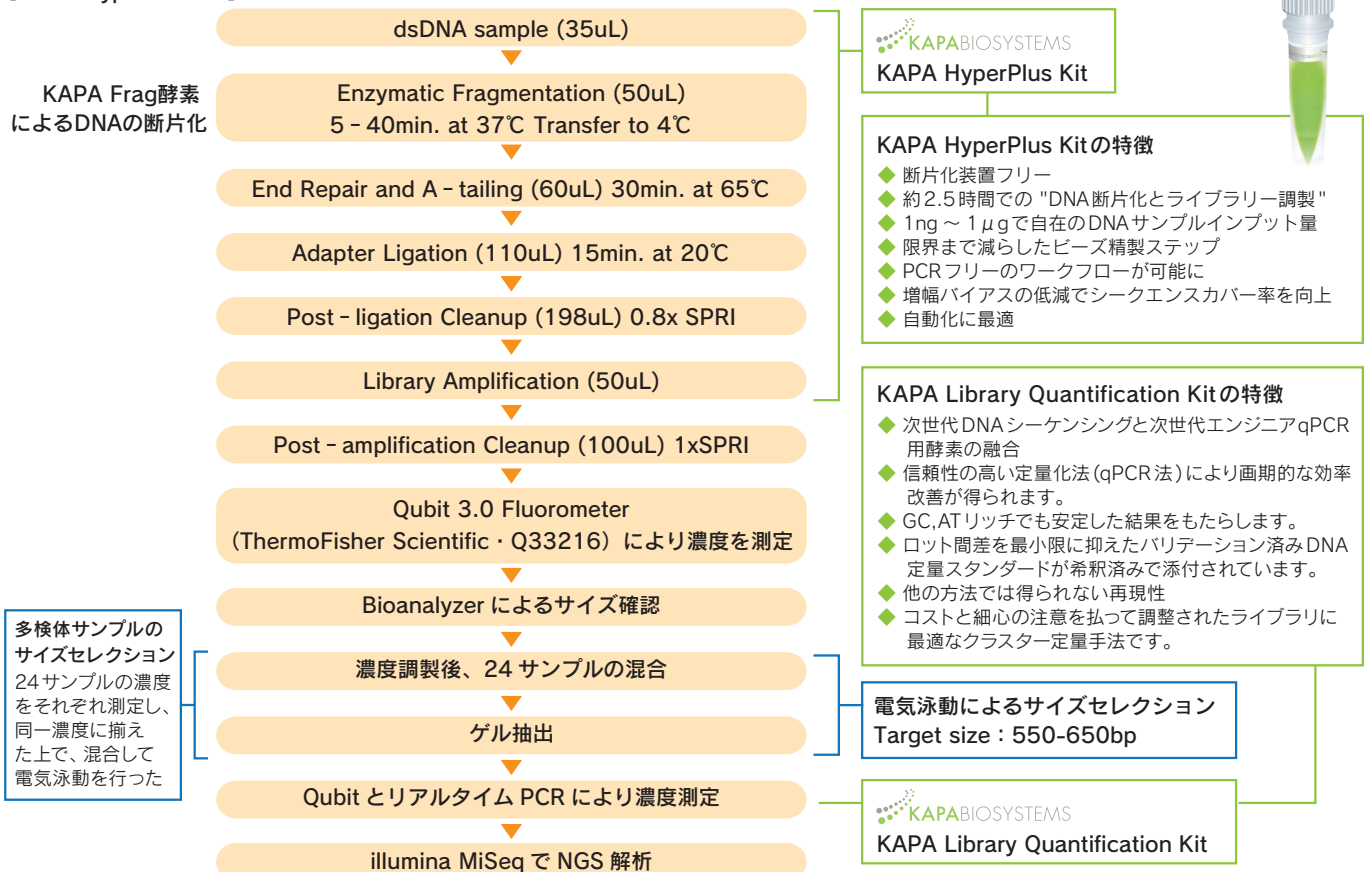
生物種	: 黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)
サンプルの精製キット	: NucleoSpin Tissue (MACHREY-NAGEL, TaKaRa · #740952.250)
Input DNA 量	: 250 ng または 100 ng
Input DNA バッファー組成	: 5mM Tris/HCl, pH 8.5 で elute した DNA を、 10mM Tris/HCl pH 8.5 (illumina の Resuspension Buffer) で一定濃度に希釈
断片化条件	反応温度 : 37°C
	反応時間 : 13 min
	Target size : 500-800 bp
アダプターの濃度	: 15uM
PCR サイクル数	: 5 サイクル (250 ng) または 6 サイクル (100 ng)



黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) のイメージ図

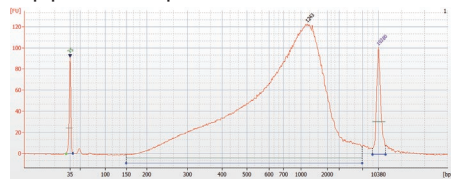
多検体サンプルのライブラリ作製方法

[KAPA HyperPlus Kit]

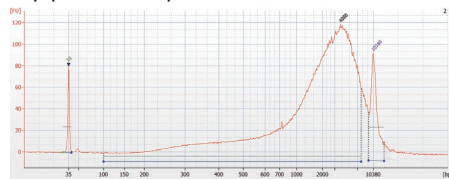


ライブラリ作製後のBioanalyzerによるサイズ確認の結果

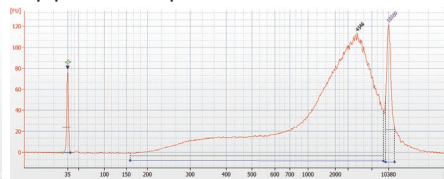
Top peak:1243bp



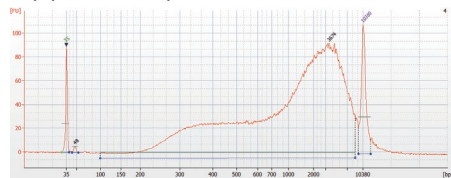
Top peak:4068bp



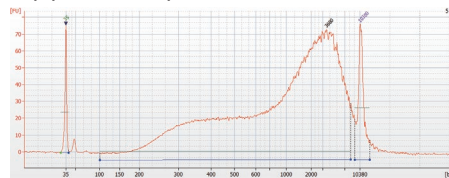
Top peak:4546bp



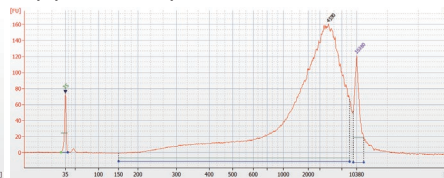
Top peak:3674bp



Top peak:3680bp



Top peak:4590bp



目的サイズのライブラリが調製できていることが確認できました。

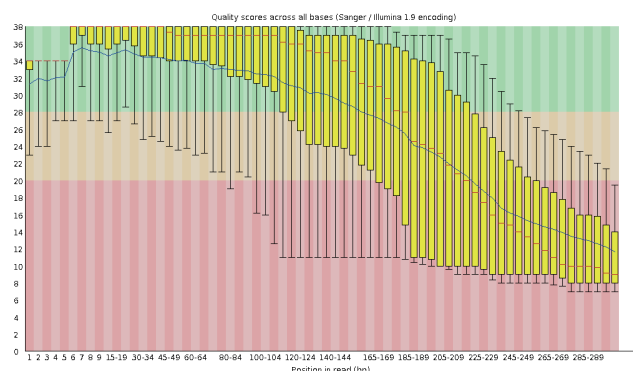
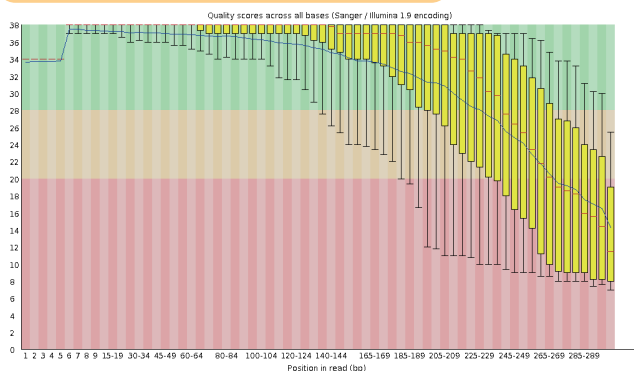
※ただし、Y字アダプター (120bp) を付加しているため、大きめのサイズの位置にピークが確認されました。

また、目的のサイズよりも大きい位置にピークが見られたサンプルもありましたが、本結果は、Bioanalyzer がテーリングを生じた結果であると考えられます。

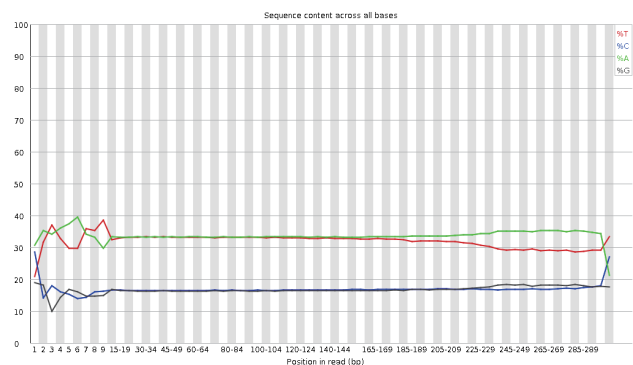
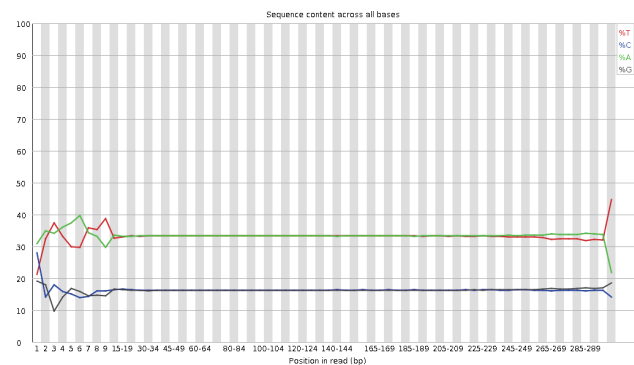
ライブラリの評価

FASTQC データ

Per base sequence quality



Per base sequence content



リード長 : 292.7138

リード長 : 294.0939



お客様のコメント

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) の細菌ゲノムの次世代シーケンスをする際に、短期間で非常に多くの検体数 (500) を解析する必要があったため、酵素による断片化試薬が含まれており、1チューブでライブラリ作製が可能である本試薬を試しました。

KAPA HyperPlus Kitは、他社ライブラリキットと比較した結果、断片化バイアスが低減し、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) のゲノム解析に十分なデータを得ることができました。