



Application

KAPA EvoPlus Kitによるライブラリー調製とシーケンス結果

製品名

KAPA EvoPlus Kit (Cat.No. 09420037001, 09420053001, 09420339001)

メーカー名

KAPA BIOSYSTEMS

下記のデータは、東京薬科大学 生命科学部 生命医科学科 ゲノム情報医科学研究室 細道一善 様、岩内陽子 様のご厚意により掲載させていただきました。

概要

KAPA EvoPlus Kitは、従来品であるKAPA HyperPrep Kit (Cat.No.KK8500) のような超音波による物理的な断片化を行う装置を必要とせず、キットに含まれる断片化酵素により、断片化からライブラリー調製までを一括で行えるキットである。

これまで同コンセプトの製品としてKAPA HyperPlus Kitが発売されているが、EDTAを含むサンプルでは断片化の効率に影響を与えること、また操作工程が多いことに課題点があったため、新たに改良品として本製品が発売された。

今回、製品の改良点を確認するため、KAPA EvoPlus Kitを用いてライブラリー調製を実施し、EDTAによる断片化の影響がないことを確認した。また、シーケンスを実施してHLAのタイピング結果から、KAPA HyperPlus Kitと同様の結果が得られるか比較を行った。その結果、EDTAによる影響はなく、従来品と同等の結果が得られることが確認できた。

実験・比較方法

■ 実験1：EDTA含有溶媒と非含有溶媒での酵素断片化効率の検証

DNAの溶媒としてTE BufferとDDW (double distilled water) を使用した2種類のサンプルを用意した。

それぞれKAPA EvoPlus Kitを用いてライブラリー調製を行う。

サンプル切断後は、BioAnalyzer (Agilent) の結果で、断片化サイズを比較する。

<条件>

サンプル：DNA 50 ng

断片化条件：37℃ 15分

■ 実験2：KAPA EvoPlus KitとKAPA HyperPlus Kitを使用した時のHLAタイピングの違い

KAPA EvoPlus Kit、KAPA HyperPlus Kitのプロトコルに従い、ライブラリー調製を実施した。

その後シーケンスを行い、データの比較を行った。

<条件>

サンプル：DNA 50 ng

断片化条件：37℃ 15分

Library Amplification：8 cycles

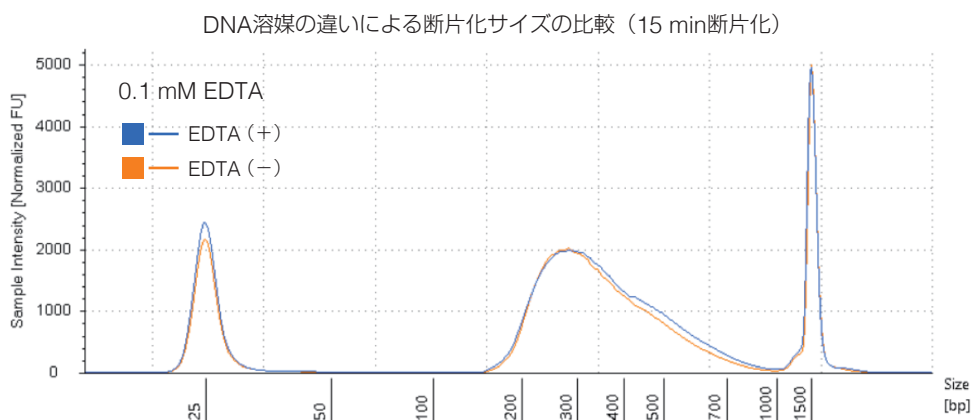
<使用したシーケンサーおよび試薬>

シーケンサー：Seq 100 Sequencing System

Reagent Kit：iSeq 100 i1 Reagent v2 (300cycles)

結果

■ 結果1：EDTA含有溶媒と非含有溶媒での酵素断片化効率の検証



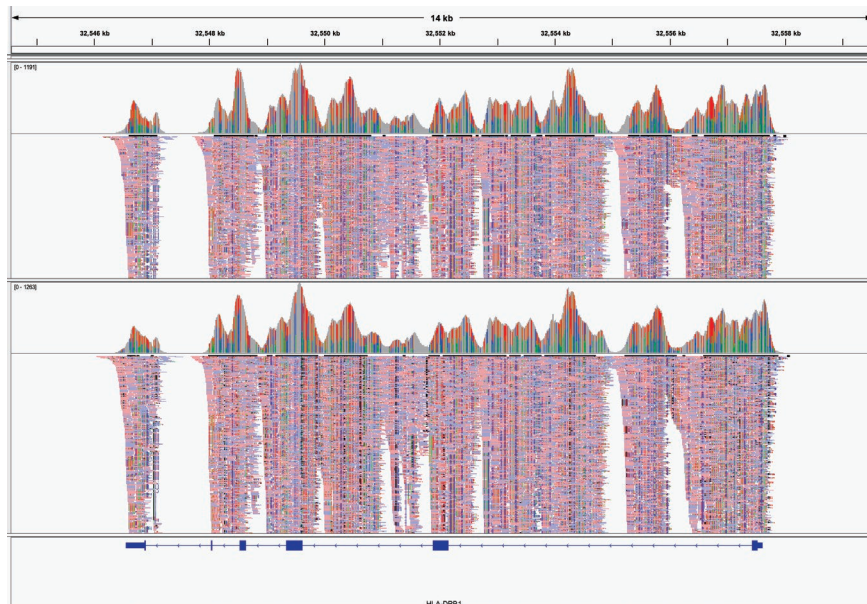
初発 DNA 溶媒に EDTA が含まれた TE を使用した場合でも、断片化サイズに影響は見られなかった。

■ 結果2：KAPA EvoPlus Kit とKAPA HyperPlus Kit を使用した時のHLAタイピングの違い（Class II）

EvoPlus Kit	Assigned	A*02:01:01:01	B*55:02:01:04	C*01:02:01:01	DRB1*09:01:02	DRB4*01:03:01	DQA1*01:02:01	DQB1*03:03:02	DPA1*01:03:01	DPB1*02:01:02
		A*26:01:01:01	B*55:02:01:04	C*01:06	DRB1*15:01:01	DRB5*01:01:01/01:126	DQA1*03:02:01	DQB1*06:02:01	DPA1*02:01:01	DPB1*05:01:01
HyperPlus Kit	Assigned	A*02:01:01:01	B*55:02:01:04	C*01:02:01:01	DRB1*09:01:02	DRB4*01:03:01	DQA1*01:02:01	DQB1*03:03:02	DPA1*01:03:01	DPB1*02:01:02
		A*26:01:01:01	B*55:02:01:04	C*01:06	DRB1*15:01:01	DRB5*01:01:01/01:126	DQA1*03:02:01	DQB1*06:02:01	DPA1*02:01:01	DPB1*05:01:01

KAPA EvoPlus Kit

KAPA HyperPlus Kit



KAPA EvoPlus Kit と KAPA HyperPlus Kit 共に、問題なく HLA タイピングが可能であり、結果に違いはなかった。



お客様のコメント

KAPA EvoPlus Kit は初発溶媒にTEが含まれていても精製の必要が無く、操作も簡易化し、ライブラリー調製が初めての学生さんにも簡単に使用してもらおう事が出来ました。また、作業時間が大幅に短縮された事でより多くの検体を一度に調製可能になり、作業効率が大幅に上がりました。

補 足

ライブラリー調製ワークフローの事例

KAPA EvoPlus Kitでは、初発溶媒にTEが含まれていても精製の必要がなくなりました。また、Ready Mix 試薬に酵素断片化と末端修復が含まれているため、操作が簡便になりました。これにより操作時間が2時間程度短縮します。

