

A woman with blonde hair, wearing a white lab coat over a grey top, stands in a modern laboratory. The background shows laboratory equipment and large windows. A stylized DNA double helix graphic in blue and green is overlaid on the right side of the image.

# KAPA HyperPETE

Primer Extension Target Enrichment

## ハイパーピート KAPA HyperPETE “Get future ready today”

KAPA HyperPETEは、Primer Extension Target Enrichment (PETE) という技術を用いるNGSターゲットエンリッチメントの手法です。DNAもしくはRNAの状態より、ライブラリー作製～エンリッチメント～シーケンスまで、たった1日で進むことができます。キャプチャー効率、およびキャプチャーの均一性が高く、変異遺伝子を、簡便、正確に検出することができます。

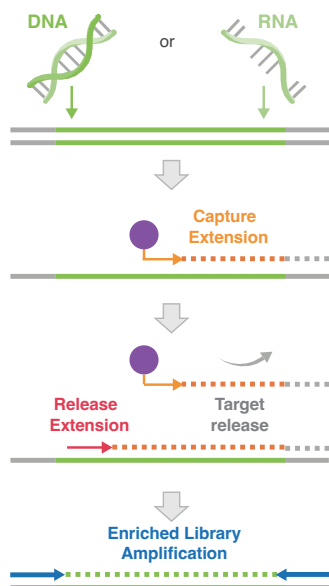
KAPA HyperPETEワークフローのサンプル調製が必要となる、KAPAライブラリー調製キット、アダプターなど関連アクセサリーや試薬はすべて製品として提供されています。

## ハイパーピート KAPA HyperPETE ワークフローの特徴

- 独自の方法によりライブラリー分子を正確に補足
- 自動化などに適した、合理的で迅速なワークフロー
- 多様なサンプルにおいて優れたパフォーマンスを發揮
- FFPE検体に特化したワークフローおよび試薬
- 用途に応じたキャプチャーパネルが選択可能

## 独自の方法によりライブラリー分子を正確に補足

### 反応原理



二本鎖Dual Indexライブラリーを作製

「目的領域を含むライブラリー分子」に対し、ピオチンを付加したキャプチャープライマーをアニールさせ、ライブラリー末端まで複製する。この分子をストレプトアビジンで回収することで、「目的領域を含むライブラリー分子」を捕捉する。

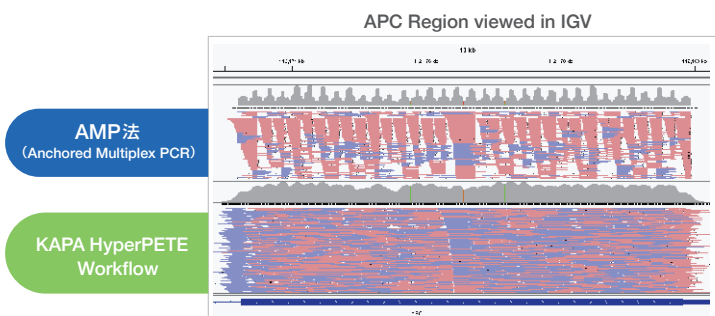
キャプチャープライマーの外側にデザインされたリリースプライマーをアニールさせた後、ライブラリー末端まで伸長（複製）させる。このとき、キャプチャーに使用したキャプチャープライマーからの伸長分子は剥がされていく。

ライブラリー分子に組み込まれたアダプター配列よりPCR増幅を行う。

KAPA HyperPETEでは、Dualインデックス付のDNAライブラリーを作成し、このライブラリーに対しキャプチャー操作を行います。キャプチャーには、キャプチャープライマーとリリースプライマーという二種類のプライマーを使用する独自の方法が採用されていて、これにより目的のターゲット領域を含むライブラリー分子を正確に捕捉します。

Anchored Multiplex PCRを含むアンプリコン法では、プライマーより伸長した配列がシーケンスされるため、ライブラリー分子の塩基配列は、プライマーに始まる配列に制限されます。一方、KAPA HyperPETEでは、プライマーの伸長反応はターゲット配列が含まれるライブラリー分子の捕捉のみに使用され、補足されたライブラリーの末端ポジションは、プライマーの位置に影響を受けません（元のDualインデックス付のDNAライブラリーでの末端ポジションが維持されます）。このため、KAPA HyperPETEを使用して得られたシーケンスのカバレッジは、プライマーの影響が少ない均一なものになります。

また、KAPA HyperPETEでキャプチャーを行った後のライブラリーには、プライマー結合部位が残りません。このため、解析時に、シーケンスデータよりプライマー結合部位の配列を削除する必要がなく、シーケンス効率の向上と、バイオインフォマティクスの作業を簡便化することが期待できます。

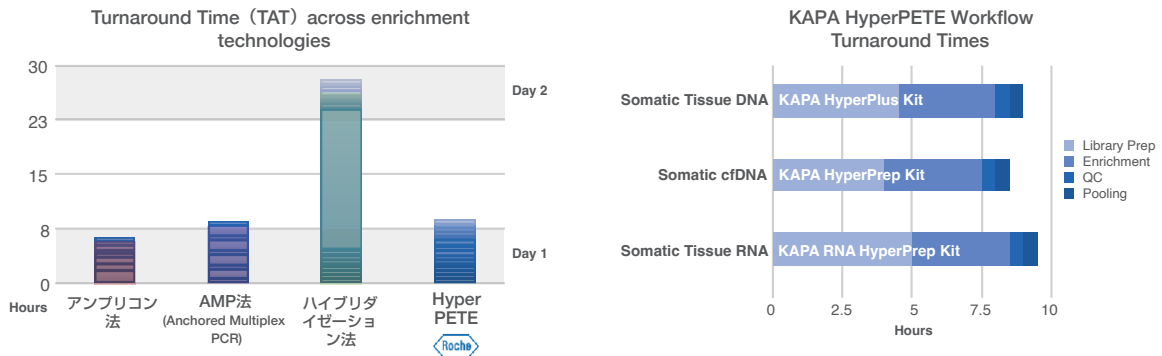


## APC遺伝子上でのAnchored Multiplex PCR法とKAPA HyperPETEのカバレッジ比較

がん抑制遺伝子adenomatous polyposis coli (APC)のIGV画像。図中の白い部分は非カバレッジ領域を表している。Anchored Multiplex PCR法では、リードの一方の端は特異的プライマーを設計した箇所固定されるため、カバレッジの均一性が損なわれる。一方、KAPA HyperPETEワークフローでは、プライマーは、ターゲット配列を含むライブラリー分子を捕捉しているだけなので、捕捉された分子の末端にバイアスを生じず、カバレッジの均一性が向上する。

## 自動化などに適した、合理的で迅速なワークフロー

ワークフローの総時間を一般的なハイブリダイゼーションキャプチャー法と比較して短縮することができます。

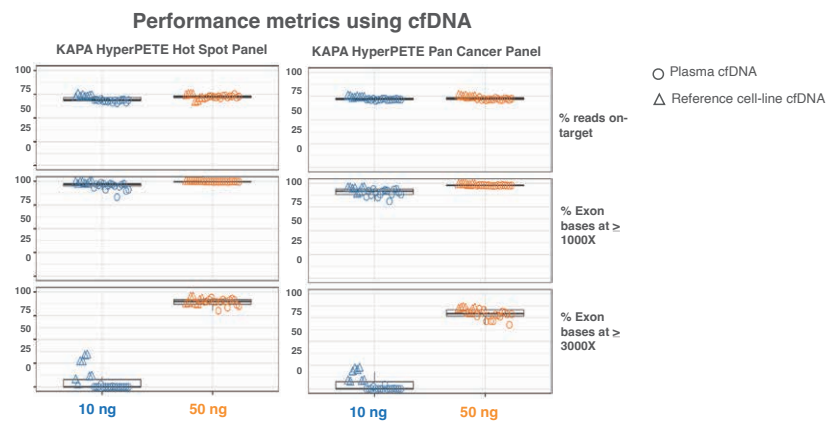


### KAPA HyperPETEターゲットエンリッチメントの所要時間

(A) 他のターゲットエンリッチメント法とのTAT比較。一般的なハイブリダイゼーションベースキャプチャーでは2日かかるのに対し、KAPA HyperPETEワークフローは最短1日で完了できる。これはAnchored Multiplex PCR法と同程度の所要時間である。(B) インプット核酸の違いによるKAPA HyperPETEの所要時間 (Turnaroud time:TAT) 比較。このTATの違いは、ライブラリー作製時間に依存し、キャプチャー操作自体に要する時間は、いずれの方法でも同じである。

## 多様なサンプルにおいて優れたパフォーマンスを発揮

様々なcfDNAインプット量において、高いOn target率と高いエクソンカバレッジ (1000倍以上) を実現



### cfDNA (10 ng および 50 ng インプット) に対してKAPA HyperPETE Hot Spot Panel および KAPA HyperPETE Pan Cancer Panelでエンリッチメントした結果

インプット量、タイプを問わず、深く、広くカバレッジが得られた。On-target率は、KAPA HyperPETE Hot Spot Panelで65%~73%、KAPA HyperPETE Pan Cancer Panelで70%~73%であった。50 ng cfDNA 投入時、1000X以上でカバーされた割合は、KAPA HyperPETE Hot Spot Panel で >99%、KAPA HyperPETE Pan Cancer Panel で 97%-98%であった。3000X以上の割合は、80%~94%および67%~85%であった。10 ngのインプットで見られたユニークデプスは、unique genome equivalents (10 ngのDNAで約3300) と一致し、1000×でカバーされた割合が83~99% (Hot Spot Panel) および80~94% (Pan Cancer Panel) であった。

- 血漿中のcfDNAより高い特異度で変異を検出

Panel	Input (ng)	Allele frequency	Expected variants	Detected variants	True positive rate
KAPA HyperPETE Hot Spot Panel	10	1.0%	56	56	100%
	50			56	100%
	10	0.5%	56	47	94%
	50			50	100%
KAPA HyperPETE Pan Cancer Panel	10	1.0%	70	70	100%
	50			70	100%
	10	0.5%	64	62	96.9%
	50			63	98.4%

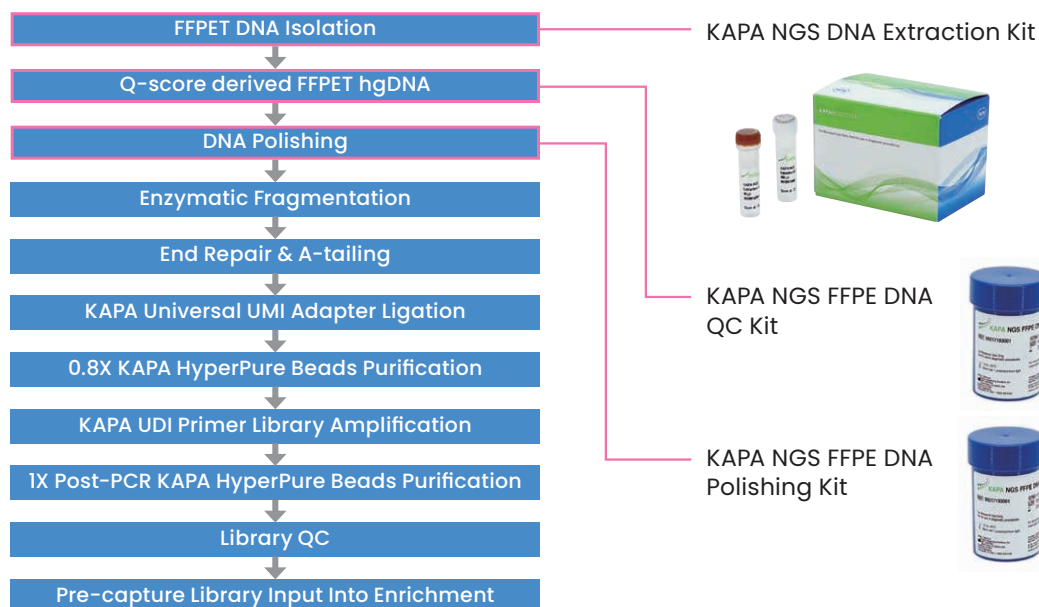
### 市販のctDNA Mutation Mixを使用した変異検出

2種類の市販のctDNA Mutation Mix samplesサンプルを用いて低頻度 (アレル頻度1%、5%) のSNVとIndelの検出性能を評価した。10 ng、50 ngのいずれの条件においてもそれぞれのバリエーションは高い真陽性率で検出された。

## FFPE 検体に特化したワークフローおよび試薬

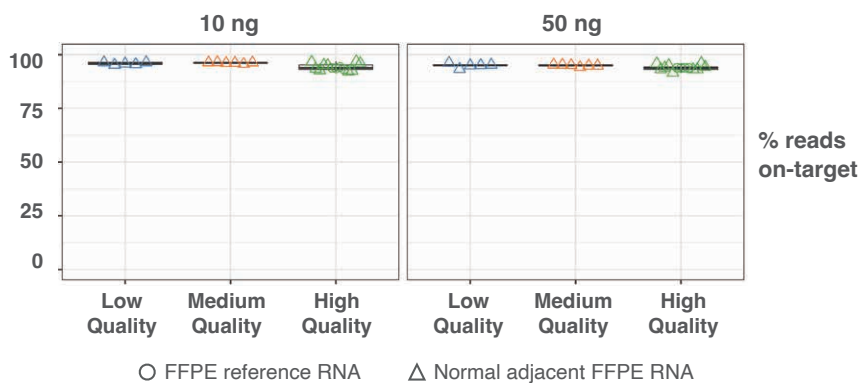
### KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA Workflow

DNA抽出/精製 (FFPET DNA isolation) 工程で得られたDNAは、精製DNAの品質評価工程 (Q-score derived FFPET hgDNA工程)、およびその後のライブラリー調製に使用します。調製されたライブラリーは、DNA変異検出のために、ターゲットキャプチャー用のインプットとして使用します。



### FFPE組織検体 (FFPET) から回収した RNA 解析の事例

- 幅広いインプット量より、特異性の高いエンリッチメントが可能



KAPA HyperPETE Lung Cancer Fusion Panelを使用したOn target率の評価結果。FFPET RNAサンプル10 ngおよび50 ngより、92%~97%のOn target率を達成

様々な品質 (Low, Medium, High quality) のFFPET RNAを10 ngまたは50 ngインプットした結果。その結果、オンターゲット率は92~97% (ハウスキープ遺伝子およびFusion遺伝子を含む) を示し、すべてのサンプル量、品質、タイプにおいて良好なパフォーマンスであった。

- Reference cell lineサンプルにおける融合遺伝子すべてを検出

Variant type	RNA input amount	Total replicates	Expected variants	True positive rate
Fusion	10 ng	6	62	100%
Fusion	50 ng	6	62	100%

### FFPET RNAを用いた融合遺伝子検出

3種類の市販のRNA Fusion FFPEサンプルを用いて融合遺伝子検出性能を評価した。それぞれのサンプルに含まれる融合遺伝子は10 ng、50 ngのいずれの条件においても全て検出された (100%)。

## KAPA NGS DNA Extraction Kit

KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA Workflowで使用する、FFPE組織サンプルからgenomic DNAを抽出するためのキット

### 特長

- 新しく開発された耐熱性proteaseを使用し、10 μmのFFPE切片1-2枚からDNAを抽出します。
- 脱パラフィンによく使用されるキシレンは使用しません。
- 精製にはKAPA HyperPure Beads (別途ご用意ください) を用い、カラムを使用しません。
- KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA Workflowで使用します。



## KAPA NGS FFPE DNA QC Kit

KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA Workflowにおいて、FFPEサンプルより抽出されたDNAの品質評価に使用するキット

### 特長

- FFPE サンプルから抽出したDNAの品質を、Q-scoreとして評価できるDNA Quality control (QC) キットです。
- 算出したQ-scoreは、KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA Workflowにおいて、最適なインプットDNA量を算出するために使用します。
- Q-scoreは、qPCRを用いてDNA上の長短2種類の領域 (191 bp、66 bp) の量比を算出した値です。その値は、0から1で評価され、値が1に近いほど、DNAの品質が高いことを意味します。
- 評価に使用する使用量はわずか1 μLであり、サンプル全体のわずか1/40しか使用しません。



### ポリッシング

## KAPA NGS FFPE DNA Polishing Kit

KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA Workflowで使用する、FFPE抽出DNAより脱アミノ化されたシトシンを除去するために用いるキット

### 特長

FFPE検体として保存されていたサンプルのDNAは、脱アミノ化により、シトシン (C) からウラシル (U) への塩基置換が起こる場合があります。この置換により生じたUは、PCRに伴いTに変換されるため、C>T (もしくはG>A) シーケンスエラーの原因となり、バリエーションコールする際のノイズになります。KAPA NGS FFPE DNA Polishing Kitは、このウラシルを有するDNAを酵素を用いて除去、分解するキットです。これにより、FFPE検体でみられる脱アミノ化シトシン由来のアーティファクトを軽減します。



Cat.No.		入数	価格(税抜)
09189823001	KAPA NGS DNA Extraction Kit	24 rxn	¥18,000
09190023001	KAPA NGS DNA Extraction Kit	96 rxn	¥36,000
09217193001	KAPA NGS FFPE DNA QC Kit	24 rxn	¥25,000
09217215001	KAPA NGS FFPE DNA Polishing Kit	24 rxn	¥18,000
09217223001	KAPA NGS FFPE DNA Polishing Kit	96 rxn	¥54,000

# ハイパービート KAPA HyperPETE カタログパネル

用途に応じたキャプチャーパネルが選択可能

KAPA HyperPETEカタログパネルは、疾患関与の遺伝子を的確にキャプチャーするためにデザインされたKAPA HyperPETE用キャプチャープライマー&リリースプライマーセットです。目的に応じた5つの遺伝子パネルが準備されています。

## 体細胞変異解析用

- KAPA HyperPETE Pan Cancer Panel
- KAPA HyperPETE Hot Spot Panel
- KAPA HyperPETE Lung Cancer Fusion Panel

## 生殖系列変異解析用

- KAPA HyperPETE Hereditary Oncology Panel
- KAPA HyperPETE Newborn Screening Panel



## 特長

KAPA HyperPETEワークフローはPETE (Primer Extension Target Enrichment) 反応を応用したターゲット領域を効率良くNGS解析するためのエンリッチメント法のひとつで、ハイブリダイゼーション法に匹敵するパフォーマンスをアンプリコン法に匹敵するワークフロー時間で達成します。このKAPA Hyper PETEでは、5つの異なる目的に対し、すぐに利用できる固定デザインパネルを“カタログパネル”として提供しています。

## ハイパービート KAPA HyperPETE Pan Cancer Panel

KAPA HyperPETE Pan Cancer Panelは86個のヒトがん関連遺伝子と190のMSI遺伝子座をカバーしている（ターゲットサイズ302 Kb）、汎がんの体細胞変異解析に用いるカタログパネルです。KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA WorkflowやKAPA HyperPETE Somatic Plasma cfDNA Workflowに従い、KAPA HyperPETE Reagent Kitと併せてご使用ください。

## ハイパービート KAPA HyperPETE HotSpot Panel

KAPA HyperPETE Hot Spot Panelはヒトがん遺伝子上の変異「ホットスポット」領域を解析するためのカタログパネルで、37個の遺伝子の40 Kbをターゲットとしています。KAPA HyperPETE Somatic Tissue DNA WorkflowやKAPA HyperPETE Somatic Plasma cfDNA Workflowに従い、KAPA HyperPETE Reagent Kitと併せてご使用ください。

## ハイパービート KAPA HyperPETE Hereditary Oncology Panel

KAPA HyperPETE Hereditary Oncology Panelは遺伝性乳がん及び卵巣がんや、遺伝性大腸がんなどの遺伝性腫瘍にフォーカスしたカタログパネルで、生殖細胞変異の解析に使用します。BRCA1、BRCA2を含む、47個の遺伝性腫瘍に関連した遺伝子をカバーしています（ターゲットサイズ200 Kb）。8検体のプレプールキャプチャーが可能なKAPA HyperPETE Germline DNA Workflowに従い、KAPA HyperPETE Reagent Kitと併せてご使用ください。

## ハイパービート KAPA HyperPETE Newborn Screening Panel

KAPA HyperPETE Newborn Screening Panelは、89個の疾患遺伝子の生殖細胞変異を調べる際に使用するカタログパネルです（ターゲットサイズ290 Kb）。8検体のプレプールキャプチャーが可能なKAPA HyperPETE Germline DNA Workflowに従い、KAPA HyperPETE Reagent Kitと併せてご使用ください。

## ハイパービート KAPA HyperPETE LC (Lung Cancer) Fusion Panel

KAPA HyperPETE LC Fusion Panelは融合遺伝子解析のためのカタログパネルで、既知または新規の融合パートナーを検出するためにRNAから解析を行います。肺がんで多く検出される17個の融合遺伝子をターゲットにした18 Kbのパネルで、内部コントロールの4つのハウスキーピング遺伝子もカバーされています。KAPA HyperPETE Tissue RNA Fusion Transcript Workflowに従い、KAPA HyperPETE Reagent Kitと併せてご使用ください。

カタログパネル	NMCで解析できる バリエーションタイプ	遺伝子リスト
Pan Cancer Panel	<ul style="list-style-type: none"> <li>● FFPE DNA</li> <li>○ SNVs</li> <li>○ InDels</li> <li>○ CNVs</li> <li>○ MSI status</li> <li>● cfDNA</li> <li>○ SNVs</li> <li>○ InDels</li> </ul>	ABL1, AKT1, ALK, APC, ARID1A, ATM, ATR, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK4, CDKN2A, CSF1R, CTNNB1, DDR2, DNMT3A, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ESR1, EZH2, FANCA, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FLT3, GNA11, GNAQ, GNAS, HNF1A, HRAS, IDH1, IDH2, JAK1, JAK2, JAK3, KIT, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, MET, MLH1, MPL, MSH2, MSH6, MTOR, NF1, NF2, NFE2L2, NOTCH1, NPM1, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PIK3CA, PMS2, POLE, PTCH1, PTEN, PTPN11, RAD50, RAD51C, RAD51D, RAF1, RB1, RET, ROS1, SETD2, SMAD4, SMARCB1, SMO, SRC, STK11, TERT, TP53, TSC1, TSC2, VHL 190 MSI targets
Hotspot Panel	<ul style="list-style-type: none"> <li>● SNVs</li> <li>● InDels</li> </ul>	AKT1, ALK, APC, ATM, BRAF, BRCA1, CDKN2A, CTNNB1, EGFR, ERBB2, ESR1, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, NF1, NRAS, NTRK3, PDGFRA, PIK3CA, POLE, PTCH1, PTEN, RET, STK11, TP53, TSC1, TSC2
Lung Cancer Fusion Panel	<ul style="list-style-type: none"> <li>● RNA fusion detection</li> </ul>	ALK, AXL, BRAF, EGFR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PDGFRB, PPARG, RET, ROS1 Housekeeping Genes: RAB7A, VCP, CHMP2A, HPRT1
Hereditary Oncology Panel	<ul style="list-style-type: none"> <li>● SNVs</li> <li>● InDels</li> </ul>	APC, ATM, AXIN2, BARD1, BMPR1A, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDK4, CDKN2A, CHEK2, CTNNA1, DICER1, EPCAM, GREM1, HOXB13, KIT, MEN1, MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, MUTYH, NBN, NF1, NTHL1, PALB2, PDGFRA, PMS2, POLD1, POLE, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, SMAD4, SMARCA4, STK11, TP53, TSC1, TSC2, VHL
Newborn Screening Panel	<ul style="list-style-type: none"> <li>● SNVs</li> <li>● InDels</li> </ul>	ABCD1, ACADM, ACADVL, ACAT1, ADA, AK2, ASL, ASS1, ATM, BCKDHA, BCKDHB, BLNK, BTD, BTK, CBS, CD247, CD3D, CD3E, CD3G, CD40LG, CFTR, CHD7, CORO1A, CYP11A1, CYP11B1, CYP17A1, CYP21A2, DBT, DCLRE1C, DKC1, DOCK2, DOCK8, FAH, FOXN1, GAA, GALE, GALK1, GALT, GATA2, GCDH, HADHA, HADHB, HBB, HLCS, HMGCL, HSD3B2, IDUA, IGHM, IL2RG, IL7R, IVD, JAK3, LIG4, MCCC1, MCCC2, MCEE, MMAA, MMAB, MMADHC, MMUT, MTHFD1, MTHFR, MTR, MTRR, NBN, NHEJ1, ORAI1, PAH, PAX8, PCCA, PCCB, PNP, POR, PRKDC, PTPRC, RAC2, RAG1, RAG2, RMRP, SLC22A5, SLC46A1, SMN1, STAR, STAT5B, STIM1, TBX1, TSHR, WAS, ZAP70

Cat.No.		入数	価格(税抜)
09329161001	KAPA HyperPETE Pan Cancer Panel, 24 rxn	24 rxn	¥400,000
09329234001	KAPA HyperPETE HotSpot Panel, 24 rxn	24 rxn	¥135,000
09329315001	KAPA HyperPETE Hereditary Oncology Panel, 24 rxn	24 rxn	¥270,000
09329382001	KAPA HyperPETE Newborn Screening Panel, 24 rxn	24 rxn	¥270,000
09329471001	KAPA HyperPETE LC Fusion Panel, 24 rxn	24 rxn	¥380,000

※この他の反応数も取り扱いがございます。詳しくはお問い合わせください。

## ハイパーピート KAPA HyperPETE Reagent Kit

KAPA HyperPETE Reagent Kitには、PETE反応に必要な濃縮、洗浄、その後のPCR用の試薬が含まれており、KAPA HyperPETE パネルと組み合わせて使用することで、KAPA HyperPETEワークフローを実施することができます。ライブラリー調製試薬やアダプターなどが別途必要となります。



Cat.No.		入数	価格(税抜)
09211624001	KAPA HyperPETE Reagent Kit, 24 rxn	24 rxn	¥213,000

※この他の反応数も取り扱いがございます。詳しくはお問い合わせください。

# ハイパービート KAPA HyperPETE カスタムパネル

KAPA HyperPETEカスタムパネルは、自由に設定したヒトターゲット遺伝子（領域）に対する最適化済みKAPA HyperPETE用キャプチャープライマー&リリースプライマーのセットです。

- KAPA HyperPETE Choice: HyperDesignツールで設計するカスタムパネル
- KAPA HyperPETE Explore: HyperDesignツール経由で依頼するRoche社デザイナーが設計するカスタムパネル

## 特長

KAPA HyperPETEワークフローはPETE (Primer Extension Target Enrichment) 反応を応用したターゲット領域を効率良くNGS解析するためのエンリッチメント法のひとつで、ハイブリダイゼーション法に匹敵するパフォーマンスをアンプリコン法に匹敵するワークフロー時間で達成します。このKAPA HyperPETEでは、自身の研究テーマの沿ったヒト遺伝子パネル上の遺伝子をキャプチャーするために、キャプチャープライマー&リリースプライマーをカスタムデザインすることができるようになっています。

KAPA HyperPETE Choice Panel及びKAPA HyperPETE Explore Panelは、250 Kbまでのカスタムターゲット上の、低頻度のSNV、Indel、(CNV) を解析するために使用するカスタムデザインパネルです。デザインする際には、FFPE組織サンプルから取得した DNAで行われるマイクロサテライト不安定性 (MSI) 領域をオプションとして選択することもできるようになっています。

KAPA HyperPETE Choice RNA Panel及びKAPA HyperPETE Explore RNA Panelは既知または新規のRNA融合遺伝子解析のために使用するカスタムデザインパネルです。50 Kbまでのターゲットをデザインすることが可能で、内部コントロールとして4つのハウスキーピング遺伝子もカバーされます。

これらは、それぞれの検体種 (FFPE DNA/cfDNA/FFPE RNA/gDNA) に最適化されたプロトコールに従って、KAPA HyperPETE Reagent Kitと併せてご使用ください。

※製品情報はお問い合わせください。

## HyperDesign ツール (プローブデザインツール)

カスタムデザインには、KAPA HyperCapture (KAPA HyperChoice Kit, KAPA HyperExplore Kit) のデザインにも使用される、オンラインツール「HyperDesign」で行います。直感的で使いやすいインターフェースとロシュ社独自のアルゴリズムにより、少ないリード数でより深く均一なカバレッジを実現するためのデザインが、プローブデザインが初めての方や専門の知識をお持ちでない方でも容易に得ることができます。また、購入前にデザインをレビューできるので安心してご使用いただけます。

1



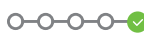
HyperDesignオンラインツールにサインアップする

2



新しいデザイン開始

3



5つの簡単なステップで設計の詳細を指定する

4



設計をレビューして承認する

5



プローブを注文して受け取る



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)