

KAPA BIOSYSTEMS

新一代测序，新一代解决方案



进化

蓝脚鲣鸟(学名：Sula nebouxii)

目录



试剂盒选择指导(按应用种类)	3
----------------	---

样本质控方案



KAPA 人类基因组DNA 定量及QC 试剂盒	7
-------------------------	---

DNA 文库构建方案



KAPA DNA HTP/LTP 文库构建试剂盒	15
--------------------------	----

KAPA DNA HyperPrep 文库构建试剂盒	19
----------------------------	----

KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒	25
----------------------------	----

RNA 文库构建方案



KAPA Stranded RNA-Seq 文库构建试剂盒	37
-------------------------------	----

KAPA Stranded mRNA-Seq 文库构建试剂盒	39
--------------------------------	----

KAPA Stranded RNA-Seq Kits with RiboErase (核糖体去除)	43
---	----

KAPA RNA HyperPrep 试剂盒	48
------------------------	----

接头和磁珠



KAPA 接头(Adapters)	61
-------------------	----

KAPA 纯化磁珠(Pure Beads)	64
-----------------------	----

文库扩增方案



KAPA 文库扩增试剂盒	70
--------------	----

KAPA HiFi Uracil+ DNA 扩增酶	76
---------------------------	----

文库定量方案



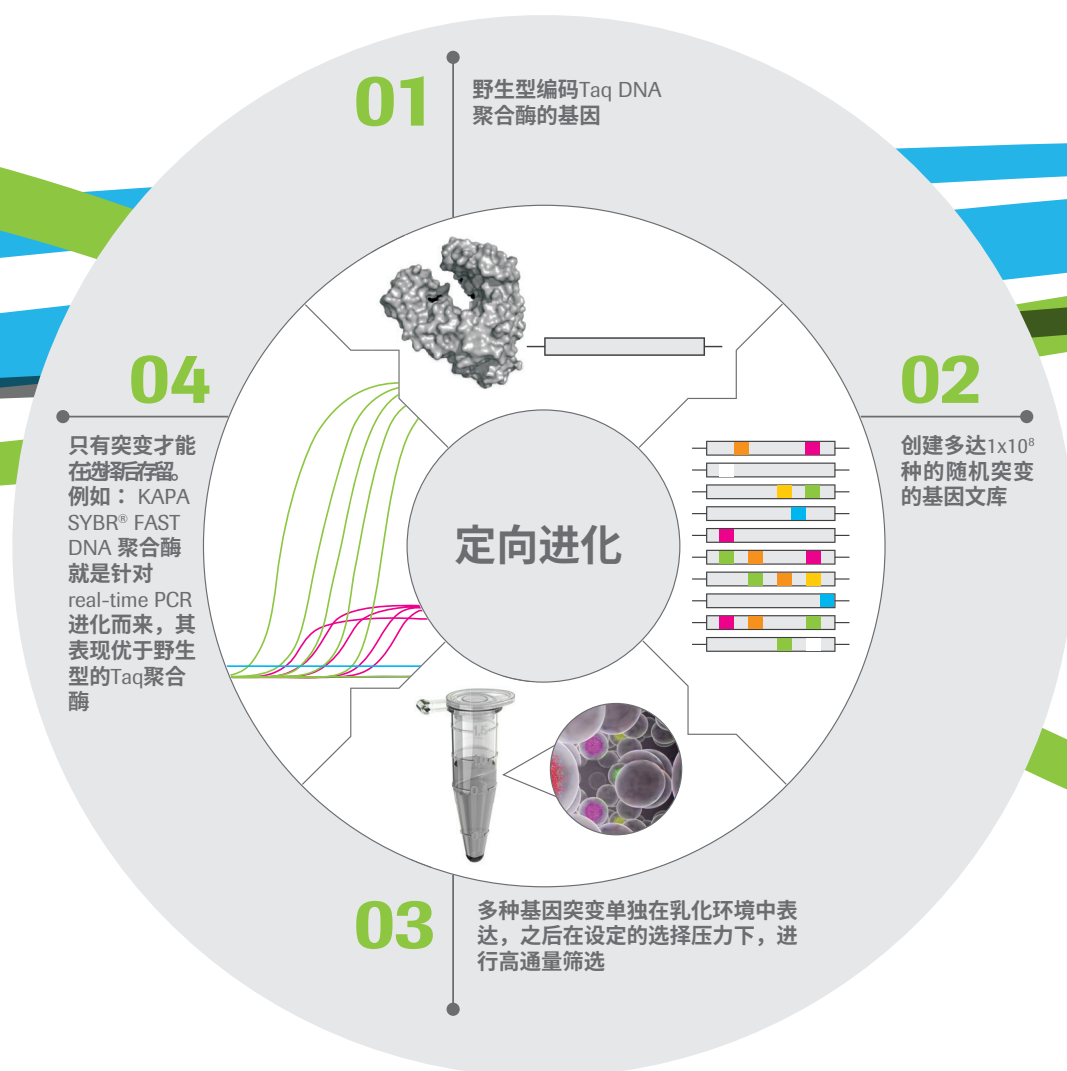
KAPA 文库定量试剂盒	85
--------------	----

附录

KAPA 产品订购信息	93
-------------	----

分子进化的优势

Kapa Biosystems开创使用“定向进化”(Directed Evolution)技术，这一蛋白工程的方法实现了在实验室中模拟自然选择的过程，从而发展出一整套高性能的生命科学试剂。其核心的蛋白工程技术使我们能够根据DNA、RNA高通量测序和分子诊断的特定应用，定制出表现优异的酶类试剂。



试剂盒选择指导 - 按“应用”

如需更多的信息，请参考本产品手册的相应章节，或者联系中国客户支持china.lifescience@roche.com.

应用/ 样本类型	试剂盒														
	人类基因组DNA 定量及QC 试剂盒	DNA HTP/LTP 文库构建试剂盒	DNA HyperPrep 文库构建试剂盒	DNA HyperPlus文库构建试剂盒	Stranded RNA-Seq 试剂盒	Stranded mRNA-Seq 试剂盒	Stranded RNA-Seq Kits with RiboErase(核糖体去除) 试剂盒	mRNA HyperPrep 试剂盒	RNA HyperPrep Kits with RiboErase(核糖体去除) 试剂盒	DNA 文库构建试剂盒(Ion Torrent平台测序)	接头(Adapters)	纯化磁珠(Pure Beads)	文库扩增试剂盒	文库定量试剂盒	
全基因组测序 (人类)	●	●	●									●	●	●	
全基因组测序 (小型基因组)	●	●	●	●						●	●	●	●	●	
外显子组测序	●	●	●	●							●	●	●	●	
扩增子测序	●	●	●	●							●	●	●	●	
染色质免疫共沉淀测序		●	●	●							●	●	●	●	
甲基化测序		●	●									●	●	●	
FFPE DNA	●	●	●	●							●	●	●	●	
Cell-free DNA	●	●	●								●	●	●	●	
全转录组					●		●	●		●		●	●	●	
mRNA测序						●			●			●	●	●	
非编码RNA					●		●	●		●		●	●	●	
FFPE RNA					●		●	●		●		●	●	●	
靶向RNA测序					●			●				●	●	●	
Ion Torrent 平台测序	●										●		●	●	



样本质控方案

第一部分 样本质控方案



高通量二代测序的一个主要的挑战在于：在标准化的样本制备过程中，怎样保证低起始量、质量参差的样本，有一致的建库成功率。

分光光度法/荧光定量的方法并不足以预测文库产量，同样的不能检测已降解的DNA样本的质量。Kapa Biosystems对于人类基因组DNA样本，提供给客户基于qPCR技术的定量分析以及样本质量检测的试剂盒。这款试剂盒通过结合性能卓越的KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix以及高质量的标准品，

可以帮助客户在单个检测中可靠地评估样本的浓度和质量。从该试剂盒检测中获得的信息，可以用于构建质量控制的标准同时优化文库构建的参数。最终，可以帮助客户在文库构建之前确定是否可以测序成功，从而优化了样本处理的时间，在总体上降低了成本。



KAPA人类基因组DNA定量及QC试剂盒

用于在NGS文库构建前，对于人类基因组DNA样本进行定量，以及样本质量评估

KAPA hgDNA 定量 & QC 试剂盒是基于SYBR Green I染料法优化的高质量的qPCR检测试剂盒，包含KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix，预先稀释的一系列DNA标准品，以及针对于人类基因组单拷贝的高度保守区域的不同位点所设计的引物预混液。最小片段所对应的引物，对用于获得绝对定量的结果，而额外的引物用于获得在DNA样本中可扩增模板量(即质量高的DNA片段)的信息。这个试剂盒由此所产生的质量分数(即Q-ratios)可以用于预测文库的产量，或者对于如FFPE DNA这类样本质量变化很大的样本的工作流程进行调整。

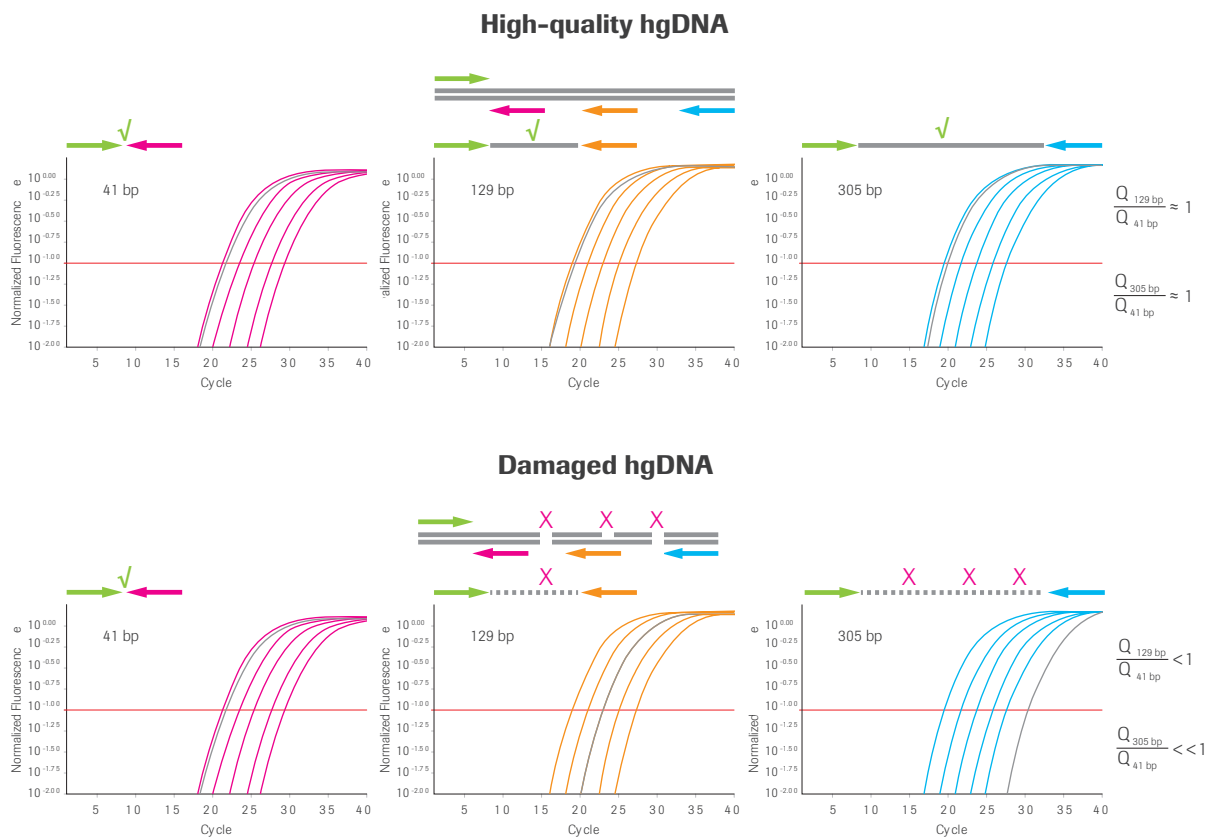
产品特点：

- 在单次检测中同时评估样本量以及样本质量
- 可以将质量分数(Q-ratios)与测序指标相关联
- 高性能的KAPA SYBR FAST qPCR Master Mix
- 预先稀释好的DNA标准品以及可以直接使用的引物
- 多功能、易于自动化的工作流程



一次检测即可获得浓度和样本质量信息

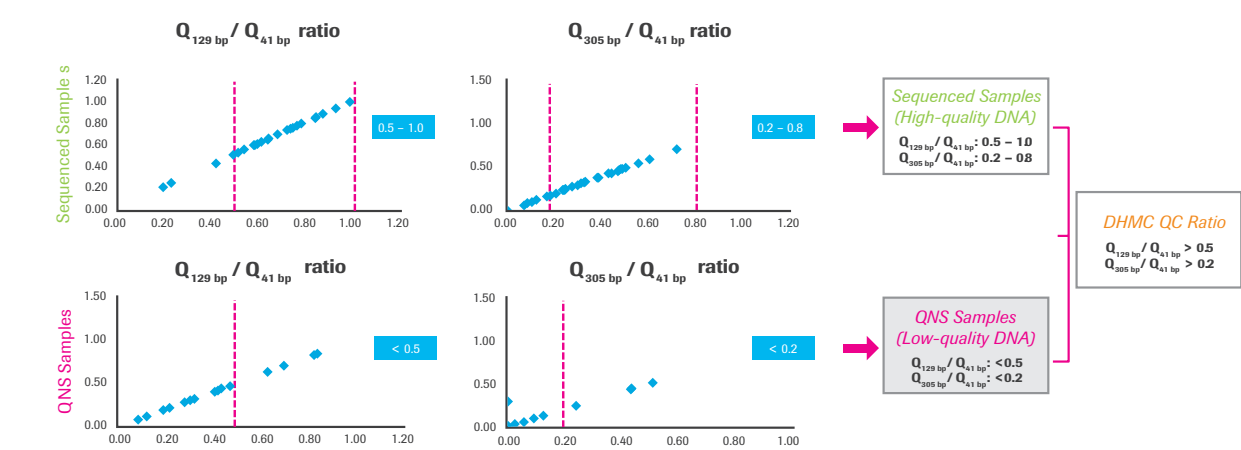
- 对于稀释后的样本进行绝对定量
- 用附加的引物进行定量分析，获得的Q-ratio用于指示样本的质量



人类基因组DNA定量及QC检测原理。一组DNA标准品使用三对不同引物用于产生(最多)三组标准曲线。这三对引物的扩增目标位于某高度保守、单拷贝的人类基因组位点，其大小分别为41 bp, 129 bp以及305 bp。41 bp检测用于DNA样品的绝对定量。对于评估DNA质量，使用129 bp和/或者305 bp引物预混液来生成标准曲线并且检测样本。由于低质量的DNA样本的长片段扩增效率会大幅度降低，相对的DNA质量可以通过41 bp检测的浓度对于129 bp或者305 bp检测的浓度进行标准化处理来进行推测。这种通过标准化产生的质量分数(值介于0和1之间)，可以用于指示DNA的质量或者在此DNA样本中可被扩增的物质的量。

建立样本质量控制中最低条件

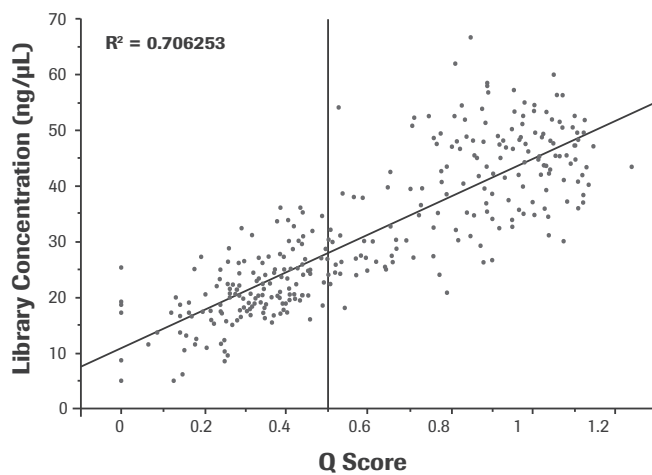
- 指示样品是否有足够的量以及质量来成功制备文库
- 未通过QC的样本，不再进行后续文库构建以及测序步骤，从而节约时间和精力



通过检测进行测序的样本(Sequenced Sample)和Q值不够、未进行测序的样本(QNS, Not Sufficient)各自的Q-ratios。数据来源于Dartmouth-Hitchcock医疗中心(DHMC)的转化医学实验室。在DNA抽提后以及文库构建之前，使用KAPA hgDNA 定量 & QC 试剂盒，可以帮助使用者建立一个额外的质量控制流程，用于在早期的过程中预测测序的质量。DHMC在其扩增子测序工作流程中，根据经验，使用 $Q_{129/41\text{bp}} > 0.5$ 和 $Q_{305/41\text{bp}} > 0.2$ 作为判断标准。

从FFPE DNA中获得用于样本制备的可操作数据

- Q-ratio与最终文库产量以及质量的相关性



Q-ratio 与最终文库产量和质量相关。文库构建之前使用KAPA hgDNA 定量 & QC 试剂盒确定FFPE样本的质量分数。最终文库的产量使用PicoGreen®进行定量分析。可以观察到在捕获后文库产量以及质量分数之间是高度相关的($R^2=0.706253$)。数据由Broad研究所提供。

更多资讯



会议海报

- qPCR-Based Quantification and QC Assays Provide Actionable Data for NGS Library Construction from FFPE Samples of Variable Quality



视频

- Assessing DNA Quantity and Quality from FFPE Samples prior to Next-Generation Sequencing using the KAPA hgDNA Quantification and QC Kit



技术文档及工具

- KAPA hgDNA Quantification and QC Kit Technical Data Sheet, KR0454
- KAPA hgDNA Quantification and QC Data Analysis Template
- qPCR Equipment Compatibility Guide

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (通用型)	07960590001	KK4960	300 反应
KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (ABI)	07960603001	KK4961	300 反应
KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (BioRad)	07960611001	KK4962	300 反应
KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (ROX Low)	07960689001	KK4969	300 反应
KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (LC480)	07960620001	KK4963	300 反应



DNA 文库构建方案

第二部分

DNA文库构建解决方案

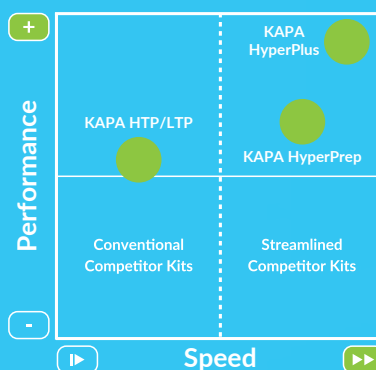


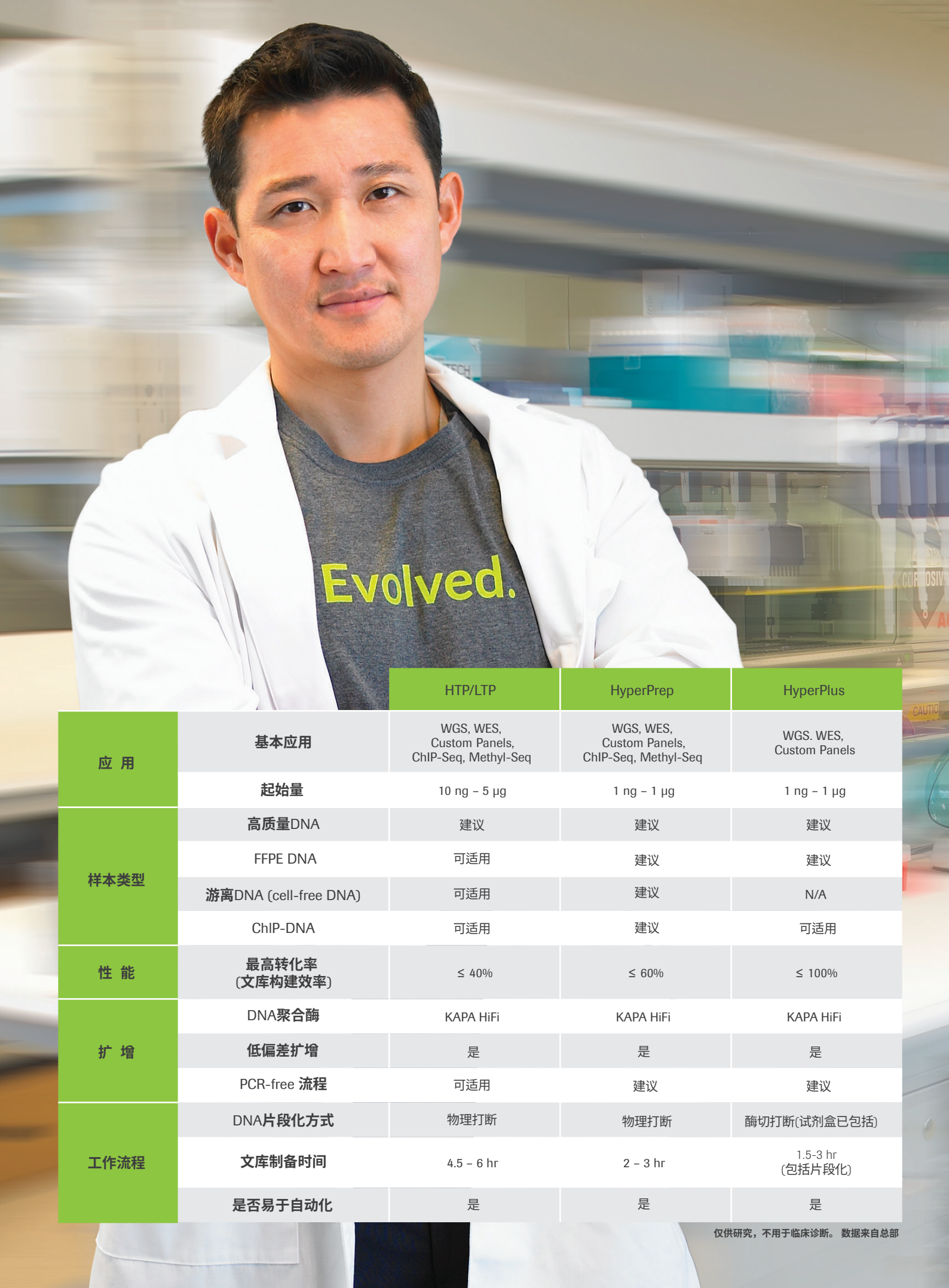
Kapa Biosystems提供了行业领先的DNA文库构建产品组合。我们把文库构建产品的更新，聚焦在性能的提升及工作流程的改善：性能的提升，使得更多的样本，在标准化的样本制备过程中即有高的建库成功率；流程的提升，使得建库通量更高，周期更快。

KAPA文库构建试剂盒可以更高效的将起始DNA转化为可测序的分子。结合片段化部分的低偏好性和文库扩增的低误差，使用KAPA文库构建试剂盒，能够得到更加复杂的文库分子，低重复率，更加均一的覆盖度和总体更高的测序覆盖深度，从而整体降低测序成本。

我们的文库构建试剂盒可以对接广泛的样品类型、不同的起始量及测序应用，并对不同的片段长度、不同形式的接头、不同的扩增体系均有较高的适用性。同时，我们的建库方法已在多种自动化液体工作站上验证，可以实现NGS样本制备的自动化。

KAPA文库构建试剂盒的进化史。每一代的KAPA试剂盒均聚焦于性能的提升(文库质量和建库成功率)及速度的提升(更简化的流程及更短的实验周期)





		HTP/LTP	HyperPrep	HyperPlus
应 用	基本应用	WGS, WES, Custom Panels, ChIP-Seq, Methyl-Seq	WGS, WES, Custom Panels, ChIP-Seq, Methyl-Seq	WGS, WES, Custom Panels
	起始量	10 ng – 5 µg	1 ng – 1 µg	1 ng – 1 µg
样本类型	高质量DNA	建议	建议	建议
	FFPE DNA	可适用	建议	建议
	游离DNA (cell-free DNA)	可适用	建议	N/A
	ChIP-DNA	可适用	建议	可适用
性 能	最高转化率 (文库构建效率)	≤ 40%	≤ 60%	≤ 100%
扩 增	DNA聚合酶	KAPA HiFi	KAPA HiFi	KAPA HiFi
	低偏差扩增	是	是	是
	PCR-free 流程	可适用	建议	建议
工作流程	DNA片段化方式	物理打断	物理打断	酶切打断(试剂盒已包括)
	文库制备时间	4.5 – 6 hr	2 – 3 hr	1.5-3 hr (包括片段化)
	是否易于自动化	是	是	是

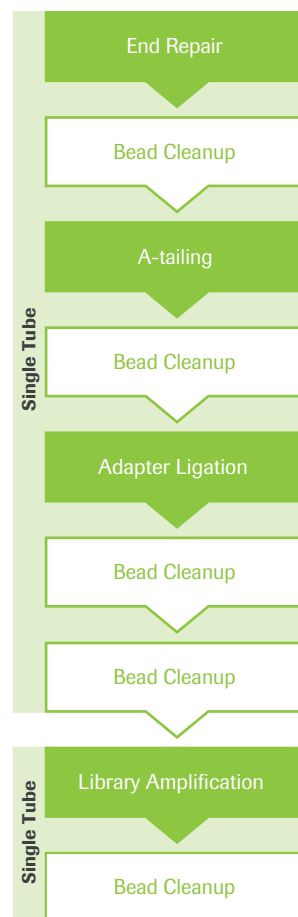
KAPA HTP/LTP文库构建试剂盒

第一代进化的文库构建试剂盒 适用于Illumina® 测序平台

优化的配方，定向进化的酶及优化的“磁珠法”实验流程，使文库构建更加高效，同时适用于自动化平台。KAPA HTP/LTP文库构建试剂盒，相比于传统的试剂盒，提供了更加高的文库构建成功率-尤其是对低起始量或有挑战性的样本适用于高通量(HTP)和低通量(LTP)的样本制备工作流程。

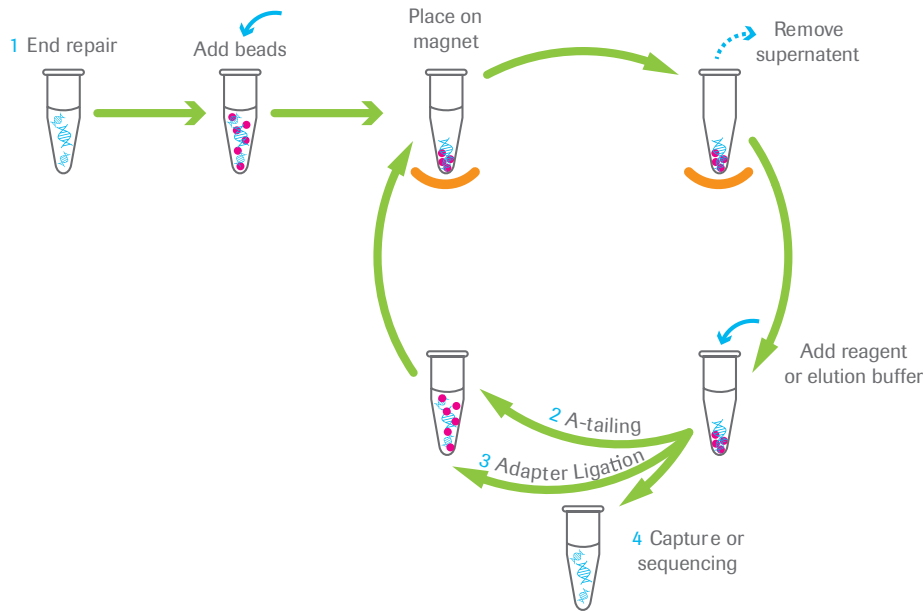
产品特点：

- 高度优化、易于自动化的“磁珠法”实验流程
- 更高的文库构建效率
- KAPA HiFi试剂盒的低扩增偏差，使测序数据覆盖度更加均一
- 适用于多种样品类型，不同的DNA起始量及不同的测序应用
- 对不同的片段大小，接头类型及扩增体系，适用灵活
- 提供已验证的自动化工作流程
- 提供完整的文库制备解决方案，包括KAPA 接头(Adapters) 和 KAPA 纯化磁珠(Pure Beads) (第四部分，p56)



改进的工作流程，更好的性能

- 高度优化的“磁珠法 (with-beads)” 工作流程，消除了实验流程中的转管操作，有效减少了样本损失，并易于自动化
- 该流程使文库构建更加高效，同时有效提高了困难样品及低起始量样本的文库构建成功率



应用聚焦 文库构建的自动化

KAPA HTP/LTP文库构建试剂盒的发展开创了我们对文库构建思维模式的转变。在全球范围内文库构建工作流程从低通量到高通量、乃至超高通量转变的背景下，KAPA要做“自动化友好”的实验流程的决定应运而生。KAPA所有DNA/RNA文库构建流程，均可以从手动过程顺利的过渡到自动化流程：自动化液体工作站的操作流程，由于是基于相应的手动的工作流程，只需验证少量步骤。对于自动化的客户，我们96反应的试剂会有足够的试剂量来应对自动化平台的高消耗。同时我们提供客户定制化的试剂包装供自动化客户选择。

Kapa Biosystems并不提供自动化移液设备，但是我和相关公司及客户合作开发并优化了自动化流程，以对接我们的DNA/RNA文库构建产品。

9

仪器提供商

14

自动化平台

12

样本制备产品

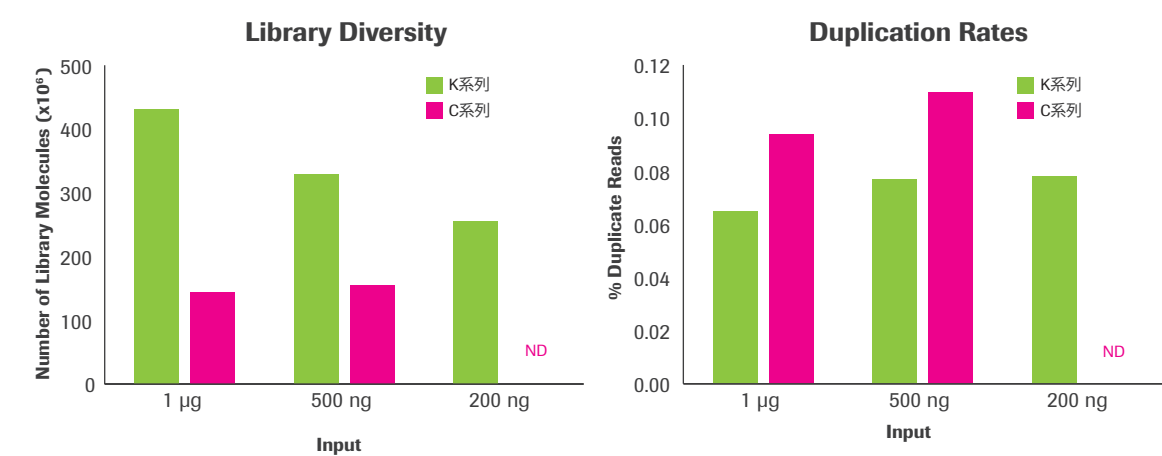
62

NGS应用

KAPA自动化流程亮点。新应用正在持续不断开发，以适应不断扩展的产品和平台。

更高的分子多样性

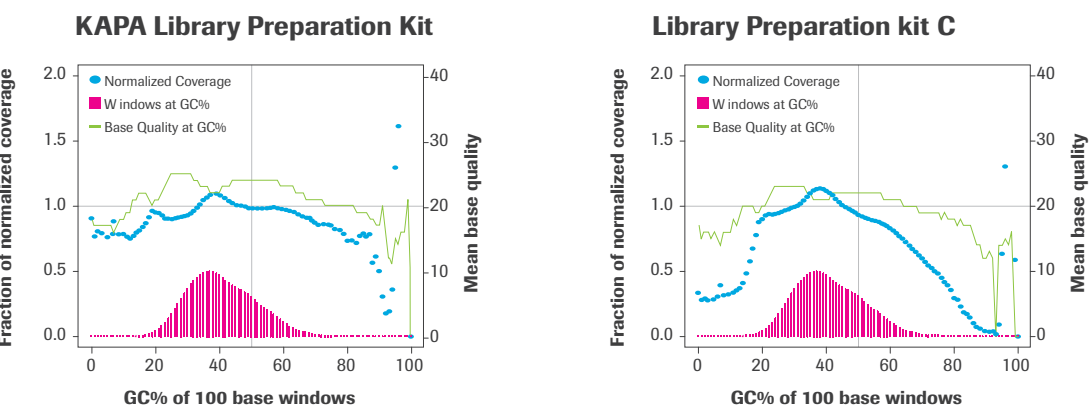
- 由于连接上接头的文库分子的得率提高，文库多样性相应提升
- 所需的PCR循环数减少，从而降低重复序列的比例
- 这些特性对于困难样品及低起始量样品尤为重要，同样适用于含有靶向捕获的工作流程



提升的文库构建效率带来更高的分子多样性和更低的重复序列比例。采用KAPA HTP 文库构建试剂盒 (绿色)及C系列产品(粉色)对不同起始量的Covaris打断的人类基因组DNA进行文库构建，然后采用SureSelect V5+UTR产品进行捕获。KAPA试剂盒获得了更高的文库多样性及更低的重复序列比例，即使在极低起始量的情况下依然如此。采用Illumina® HiSeq® 2000平台进行2 x 100bp的双端测序，使用Picard MarkDuplicates进行相关参数计算。数据来源：the Translational Genomics Research Institute.

高保真工程酶降低扩增偏差

- 高保真工程酶 KAPA HiFi拥有持续的合成能力及高保真性。由于其高效的扩增及低偏差，KAPA HiFi酶已经成为NGS文库扩增的金标准
- 低PCR扩增偏差，使得覆盖不同GC含量的基因组区域时，整体的覆盖均一性提升



KAPA HiFi酶减少了PCR扩增偏差，提高了覆盖均一性。使用KAPA HTP文库制备试剂盒(左图)及C系列试剂盒(右图)进行文库构建，样本为100 ng Covaris物理打断的人基因组DNA。KAPA HiFi的低PCR扩增偏差带来了更好的覆盖均一度。采用Illumina® HiSeq® 2000平台进行2 x 125bp的双端测序，使用Picard进行相关参数计算。数据来源：The Broad institute

更多资讯



在线培训

- Meeting the challenges of high-throughput, low-input library construction for Illumina® sequencing (Parts 1 and 2)



相关文献

- Quail, et al. Optimal enzymes for amplifying sequencing libraries. Nature Methods 9 (2012): 10-11 9: 10
- Ross, et al. Characterizing and measuring bias in sequence data. Genome Biology 14 (2013), doi:10.1186/gb-2013-14-5-r51
- Newman, et al. "An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage.", Nature Medicine (2014), doi:10.1038/nm.3519
- Van Allen, et al. Whole-exome sequencing and clinical interpretation of formalin-fixed, paraffin-embedded tumor samples to guide precision cancer medicine. Nature Medicine (2014), doi:10.1038/nm.3559



应用案例

- Automated library construction using KAPA Library Preparation Kits on the Agilent® NGS Workstation yields high-quality libraries for whole-genome sequencing on the Illumina platform
- Automation of ChIP-Seq library preparation for next-generation sequencing on the epMotion® 5075 TMX
- KAPA Library Preparation Kits enable the construction of high-quality NGS libraries on the Apollo 324™ automated NGS library preparation system



技术文档

- KAPA NGS Library Preparation Technical Guide, KR0427
- KAPA HTP Library Preparation Kit Technical Data Sheet, KR0426
- KAPA LTP Library Preparation Kit Technical Data Sheet, KR0453
- KAPA Library Preparation Kit Technical Data Sheet for Roche® SeqCap® EZ Target Enrichment, KR0935

产品信息：

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (8个反应)	07961863001	KK8230	8 反应
KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (48个反应)	07961880001	KK8232	48 反应
KAPA DNA HTP 文库构建试剂盒 (96个反应)	07961901001	KK8234	96 反应
KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 8个反应)	07961871001	KK8231	8 反应
KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 48个反应)	07961898001	KK8233	48 反应
KAPA DNA HTP 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 96个反应)	07961910001	KK8235	96 反应

KAPA HyperPrep 文库构建试剂盒

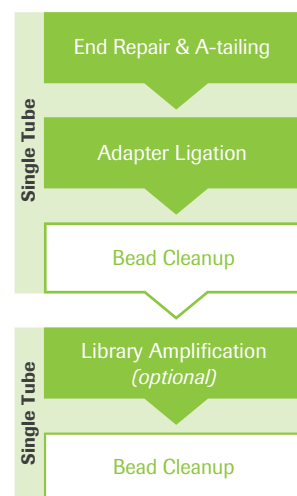
DNA文库构建全能型、一体化的解决方案

KAPA HyperPrep文库构建试剂盒是KAPA DNA文库构建的第二代试剂盒，适用于Illumina测序平台。在关注优化整体工作流程的同时，KAPA HyperPrep 更加注重在KAPA HTP/LTP 文库构建基础上的性能的提升。

KAPA HyperPrep文库构建试剂盒的一体化流程合并了多步酶反应，减少了纯化步骤，有效降低了文库构建时间，同时提高了一致性。其创新的“单管反应体系”进一步提升了文库构建效率，尤其对于困难样本类型，如FFPE、cfDNA。

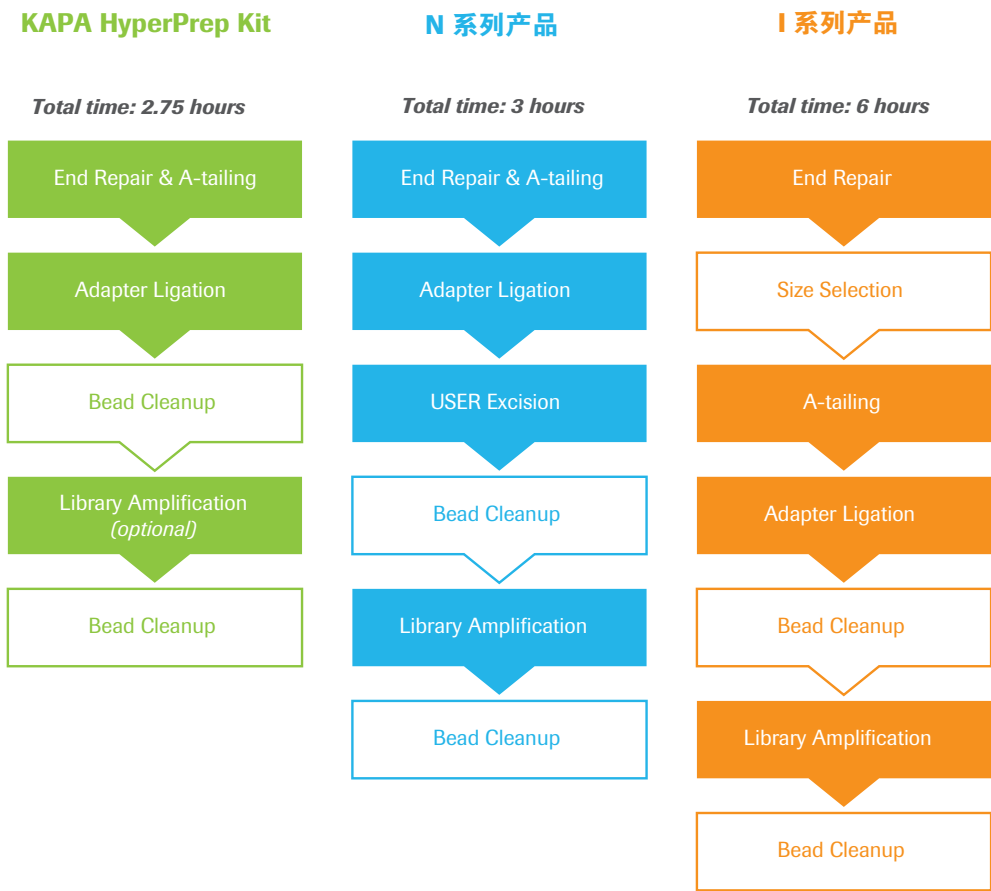
产品特点:

- 2~3小时完成稳定的、可重复的文库构建
- 提升了文库分子转化效率(文库构建效率)，从而增加了文库多样性，尤其适合FFPE、cfDNA等类型样本
- 较低起始量的DNA也可以使用PCR-free工作流程
- 在需要PCR的工作流程中采用高保真的KAPA HiFi酶，可提高序列覆盖度
- 可对接不同样品类型、不同样本起始量、不同测序应用
- 对于不同的片段大小、接头(adapter)设计及扩增体系，通用性强
- 通过验证的自动化解决方案
- 与KAPA Adapters、KAPA Pure Beads联合使用，享受KAPA一体化、完整的文库构建流程(第四部分)



建库：速度！操作：极简！

- KAPA HyperPrep文库构建试剂盒在2小时内即可完成高质量的PCR-free的文库构建，若需要文库扩增步骤，全流程也可以在3小时之内完成
- 最少的手工操作时间，提升了文库构建的可重复性和文库得率
- 实验流程对不同DNA起始量、不同文库片段大小、不同的接头(adapter) 设计，通用性强



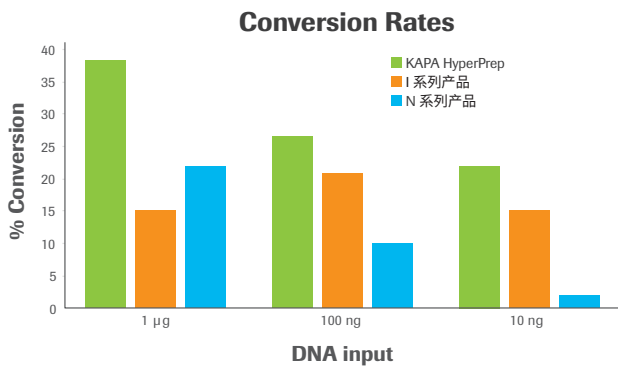
KAPA HyperPrep文库构建试剂盒相比于其它基于连接法的试剂盒，提供了更快及更灵活的操作流程。KAPA HyperPrep流程合并了多步酶反应，同时有效减少了纯化步骤。3小时内可完成上机测序文库的构建，PCR-free 流程只需要2小时。KAPA HyperPrep 试剂盒适用DNA起始量：1 ng-1 µg (根据样本类型及测序应用确定)。对于不同类型的、基于连接方法的illumina adapter通用。可对接基于磁珠的片段选择流程，可在文库构建前或连接adapter后，或文库扩增之后，完成片段选择，以获得大小分布适合的文库片段。

今天，我用KAPA HyperPrep 试剂盒构建了32个样本的文库，与此同时，我的同事开始用2个机械臂分别在2个自动化平台上构建16个样本的文库(一共也是32个样本)。我率先完成了文库构建，且获得了预期的结果。KAPA HyperPrep 整体效果非常优异。Great Product!

技术开发技术人员，某遗传检测公司

文库得率和文库质量的双提升

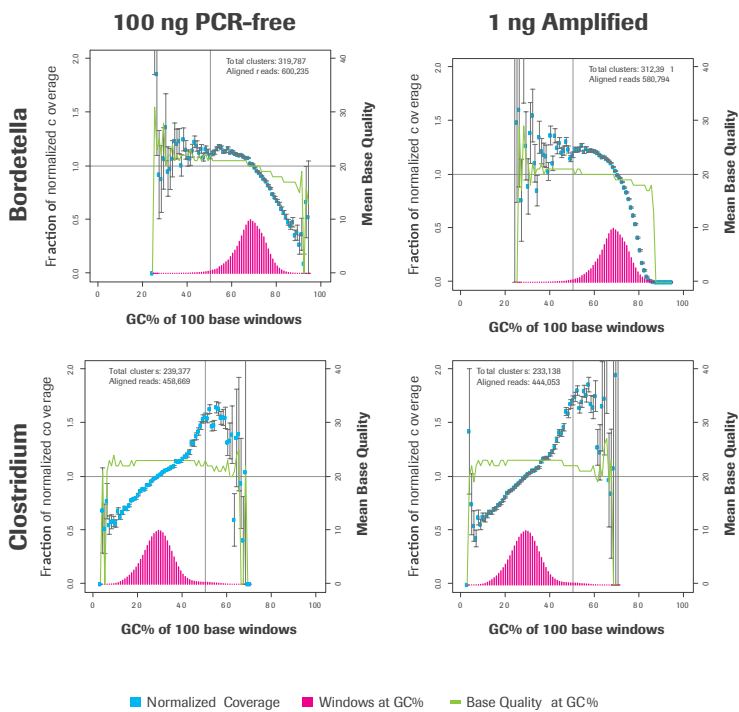
- 文库转化效率(Conversion Rate)的定义是起始DNA转化成可以被测序的文库片段的百分比(%), 是评价文库构建的关键指标, 将最终决定文库的多样性(complexity) 和质量 (quality)
- KAPA HyperPrep 试剂盒对于不同DNA起始量和样本类型均有更高文库转化率(文库得率), 对于困难样本和更低的DNA起始量以及PCR-free文库制备流程, 都可以成功构建文库
- 在包含PCR扩增的工作流程中, 通过减少扩增循环数, 使得重复率和偏差最小化, 从而实现更均匀的覆盖度, 更高的总体覆盖深度



KAPA HyperPrep 文库构建试剂盒有更高的文库构建效率。对于不同起始量的Covaris片段化的人类基因组DNA, 使用KAPA HyperPrep或同类试剂盒构建文库做靶向捕获, 不同文库的转化率。所有文库制备流程参照相应说明书进行操作。起始DNA用Qubit™定量, KAPA HyperPrep和I系列产品的文库得率于接头连接后, 用基于qPCR的KAPA Library Quantification测定。N系列产品的文库转化率不能直接用KAPA Library Quantification试剂盒直接测定, 由扩增后得率得出。

扩增偏差小

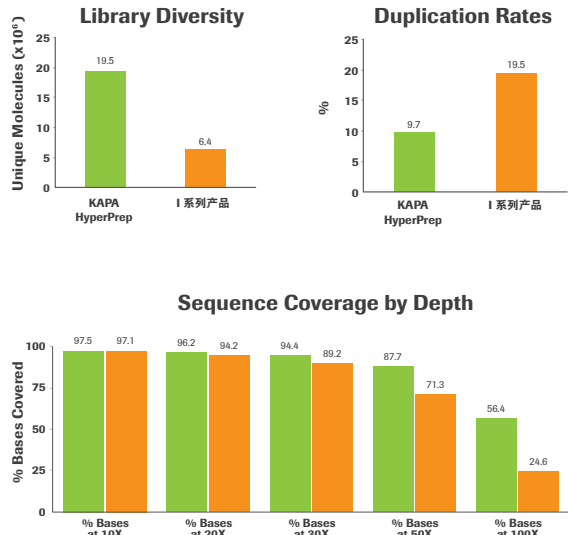
- KAPA HyperPrep试剂盒适用于PCR-free工作流程或需要扩增的文库构建流程
- 在需要扩增的文库构建流程中, KAPA HiFi酶扩增偏差最小, 有效提高了序列覆盖均匀性, 从而降低了测序成本



KAPA HiFi扩增偏差极低, 有效提高覆盖均匀性。图示展示了*Clostridium*, 29% GC 和*Bordetella*, 68% GC 两种细菌全基因组测序结果, 横坐标: GC%, 纵坐标: normalized coverage。采用KAPA HyperPrep Kit完成文库构建, 样品: 100 ng 或 1 ng, 打断到200 bp。文库: PCR-free 及KAPA HiFi扩增后文库。即使用相对较高的扩增循环(12 cycles for *Clostridium* and 13 cycles for *Bordetella*) KAPA HiFi引入的扩增偏差依然很小。测序: Illumina Miseq, 2×300 bp。数据分析: picard。

FFPE样品，获得更高的覆盖度

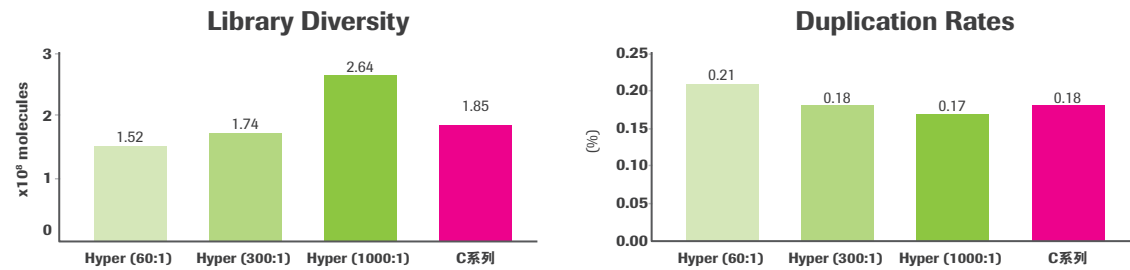
- 对于FFPE和其他困难样本，有更高文库得率，使得文库多样性更好，所需PCR循环数更少—这对于有两个扩增步骤的靶向捕获流程，尤为重要
- 更低重复率和低扩增偏差提高了覆盖深度，对于检测低频突变非常关键



KAPA HyperPrep文库构建试剂盒提高FFPE样本的覆盖深度。100 ng的FFPE样本DNA起始，使用KAPA HyperPrep文库构建试剂盒或I系列产品制备试剂盒用于靶向捕获。依照说明书使用SeqCap EZ Comprehensive Cancer Design(4 Mb)进行捕获，除了基于连接后得率，优化了每种文库的捕获前扩增循环数(10 cycles for KAPA HyperPrep vs. 14 cycles for Competitor)。捕获后所有文库都扩增了13个循环。由于KAPA HyperPrep Kit的文库构建效率更高，PCR偏差更低，其捕获前文库多样性更高，重复率更低，覆盖度更好。测序(2 x 75 bp)在Illumina HiSeq® 2500仪器上进行。在用Picard分析前，每个文库的测序reads 取至~1400万/文库。

提高cfDNA样品文库构建质量

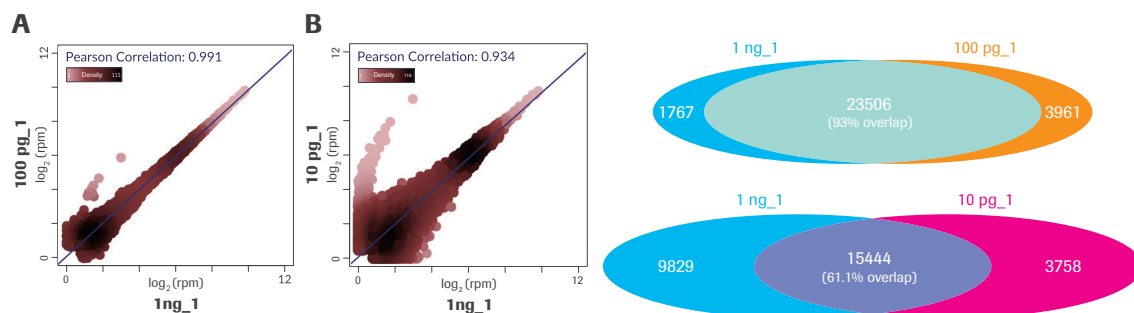
- 对于低起始量样本，使用更高的接头比例(即adapter: insert 比例)，可以提高文库构建效率
- 使用KAPA HyperPrep时，复杂的文库所需扩增循环数更少，使得重复率更低，覆盖度更高



KAPA HyperPrep 文库构建试剂盒提高了cell-free DNA文库构建的各项指标。使用KAPA HyperPrep 文库构建试剂盒(绿色)或C系列产品低起始量文库构建试剂盒(红色)，2 ng cell-free DNA起始的文库获得的多样性和重复率。文库分别依照说明书制备。KAPA HyperPrep文库是使用不同的接头：插入片段摩尔比制备的。测序(2 x 150 bp)使用了Illumina MiSeq®，数据分析使用了Picard。

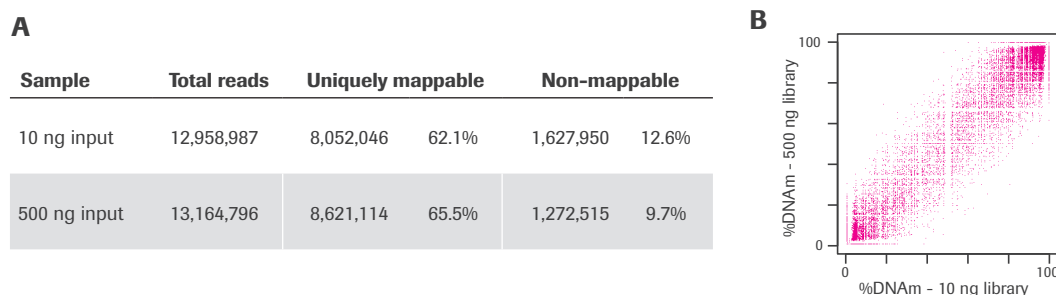
表观遗传应用的强大工具

- **ChIP-Seq**通常用于识别DNA相关蛋白结合位点及组蛋白修饰位点
- 通过染色质免疫共沉淀技术(Chromatin Immunoprecipitation, ChIP)的方法富集作为研究对象的DNA是比较困难的。通常用于构建文库的DNA小于1 ng, 且片段分布较广, 或存在双峰, 需要片段选择
- KAPA HyperPrep 试剂盒用于ChIP DNA文库构建的起始量可低至100 pg。高的接头比例(即adapter: insert 比例)可以提高文库产量。由于使用高保真、高扩增效率的KAPA HiFi酶, 可以采取较少的扩增循环数, 从而带来更低的扩增偏差



KAPA HyperPrep Kit 成功用于100 pg (及更低起始量) ChIP DNA文库构建。从人类Burkitt's 淋巴瘤细胞系用针对H3K4^{me3} 组蛋白修饰位点的抗体, 使用免疫沉淀的方法得到的ChIP DNA, 分别用1 ng、100 pg和10 pg进行文库构建。对于不同起始量, 接头比例和扩增循环数(分别为11、16和19)都进行了优化。相关性分析结构(左图)和 Venn 图(右图)显示出1 ng和100 pg起始量的建库结构有高度相关性(**A**)。1 ng和10 pg的建库相关性(**B**)较弱, 主要是因为以10 p起始的最终文库, 有较高的文库重复率(>90% v.s. 100 pg起始量的 <35% 和1 ng起始量的 <12%)。但10 pg起始量的文库还是能够提供足够的有用的测序信息。测序: Illumina HiSeq2500, 2X50 bp 双端测序。数据分析: Bowtie和HOMER。数据由Emory University 提供。

- **甲基化测序(Methyl-Seq)**广泛应用于研究基因组范围的甲基化模式, 可精确到单个碱基
- 重亚硫酸盐处理后会损伤DNA, 导致非甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶, 从而不能被常规的高保真酶扩增, 同时也急剧降低了DNA GC比例。这给NGS文库构建带来了极大的挑战
- 采用了优化的接头比例(即adapter: insert 分子比例), KAPA HyperPrep 试剂盒可以成功完成10 ng重亚硫酸盐处理后的DNA文库构建。文库扩增采用高效的, 低偏差的KAPA HiFi Uracil+酶是基于KAPA HiFi酶研发的适应于Uracil存在的DNA扩增酶



KAPA HyperPrep 试剂盒及KAPA HiFi Uracil+酶可成功完成重亚硫酸盐处理后的DNA文库构建。小鼠B-cell基因组DNA, 经过限制性内切酶MspI处理, 采用500 ng和10 ng的起始量, 分别进行文库构建。Adapter: insert比例: 500:1。扩增循环10 cycles for 500 ng, 15 cycles for 10 ng, 扩增后进行片段选择。**A:** 测序相关参数, **B:** methylation calls。10 ng 与500 ng样品相关性较好。测序: 2x50 bp, Illumina HiSeq 2500。分析软件: Bismark。数据源于Emory University。

更多资讯



在线培训

- Increasing the percentage of analyzed patients using a highly streamlined library prep workflow for exome and long-insert libraries
- FFPE library construction for Illumina® sequencing: insights and improvements
- The evolution of library prep: selecting for both quality and speed



相关文献

- Jones, et al. Library preparation methodology can influence genomic and functional predictions in human microbiome research. PNAS (2015), doi:10.1073/pnas.1519288112
- Pan, et al. Brain tumor mutations detected in cerebral spinal fluid. Clinical Chemistry (2015), doi:10.1373/clinchem.2014.23457
- Legendre, et al. Whole-genome bisulfite sequencing of cell-free DNA identifies signature associated with metastatic breast cancer. Clinical Epigenetics (2015), doi:10.1186/s13148-015-0135-8.
- Caron, et al. Cell-cycle-dependent reconfiguration of the DNA methylome during terminal differentiation of human B cells to plasma cells. Cell Reports (2015), 13: 1.
- Jeukens et al. Draft genome sequence of triclosan-resistant cystic fibrosis isolate Achromobacter xylosoxidans. Genome Announcements (2015), 3(4): e00865-15
- Quail, et al. Optimal enzymes for amplifying sequencing libraries. Nature Methods 9 (2012): 10 – 11



应用案例

- KAPA HyperPrep: A streamlined solution for the construction of ChIP-Seq libraries from picogram amounts of DNA
- KAPA HyperPrep and HiFi Uracil+ Kits allow for reduced-representation bisulfite sequencing of ultra-low amounts of DNA in B cells



技术文档

- KAPA HyperPrep Technical Data Sheet, KR0961

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (8个反应)	07962312001	KK8500	8 反应
KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (24个反应)	07962347001	KK8502	24 反应
KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (96个反应)	07962363001	KK8504	96 反应
KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 8个反应)	07962339001	KK8501	8 反应
KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 24个反应)	07962355001	KK8503	24 反应
KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 96个反应)	07962371001	KK8505	96 反应

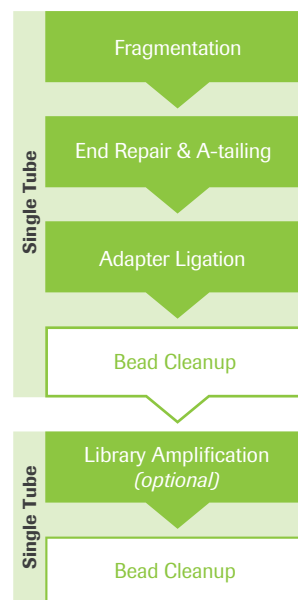
KAPA HYPER PLUS文库构建试剂盒

3小时内单管完成酶切片段化及文库构建

KAPA HyperPlus文库构建试剂盒是我们最高端的文库构建试剂。该试剂盒高效合并了酶切片段化反应及文库构建反应，实现了单管操作，可自动化及高效的文库构建。低偏差的酶切打断反应，高转化率及最小的扩增偏差铸就了性能与速度的完美结合。

与我们其他文库构建试剂盒一样，KAPA HyperPlus文库构建试剂盒可适用于不同的起始量样本、不同的样本类型、不同的Adapter类型，同时提供了可控的酶切片段化条件，也可以选择是否包含文库扩增组分。

KAPA HyperPlus文库构建试剂盒尤其适用于高通量的捕获测序及微生物全基因组测序，可以完美对接高质量样本及FFPE DNA。

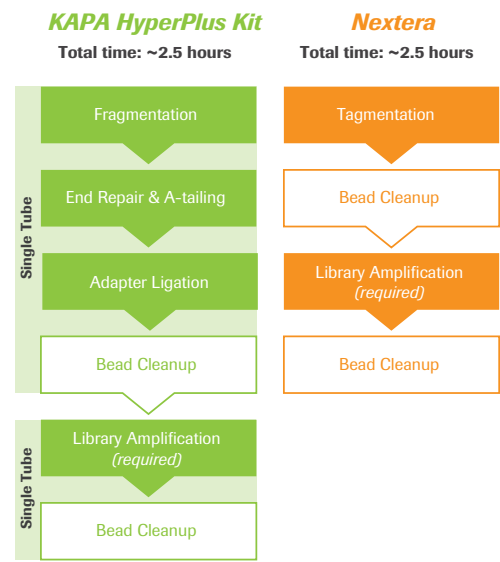


产品特点:

- 1.5-3小时内完成文库构建，包括低偏差的酶切片段化步骤
- 针对FFPE样本，具有行业领先的文库转化率(文库构建效率)和文库复杂度
- 低起始量也可适用于无PCR扩增(PCR-free)的工作流程
- 文库扩增采用低偏差KAPA HiFi酶，提升了序列覆盖度
- 适用于不同的样本类型，不同的起始量及测序应用
- 适用于不同的片段大小、不同的adapter、不同的文库扩增体系
- 提供高效的自动化方案
- 与KAPA Adapters及KAPA PureBeads联合使用，提供完整文库构建流程(第四部分)

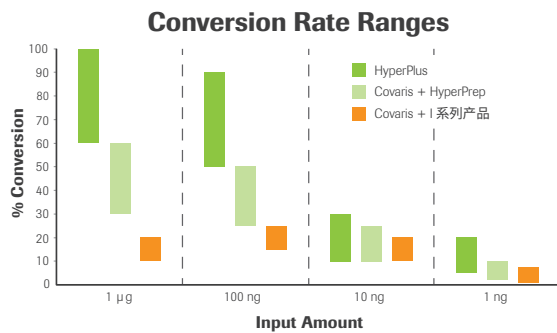
速度与参照

- 机械打断虽然是NGS文库构建的金标准，但需要昂贵的仪器设备，时间较长，很难自动化。基于上述原因，不需要机械打断的文库构建方法越来越受欢迎
- 基于转座酶的方法简单，快速。但是对样本起始量敏感，很难控制文库片段大小，打断及扩增均存在偏差
- KAPA HyperPlus文库构建试剂盒整合了高保真的酶切片段化模块，提供了与转座酶方法一样的速度及便利性
- 不同于转座酶文库构建方法，KAPA HyperPlus试剂盒可适用于不同的起始量样本，对于高质量及FFPE DNA均有较高的文库构建成功率。同时提供了可控的片段化流程，可对接不同类型的Adapter，可支持PCR-free工作流程



整合的工作流程提供了行业领先的文库构建效率

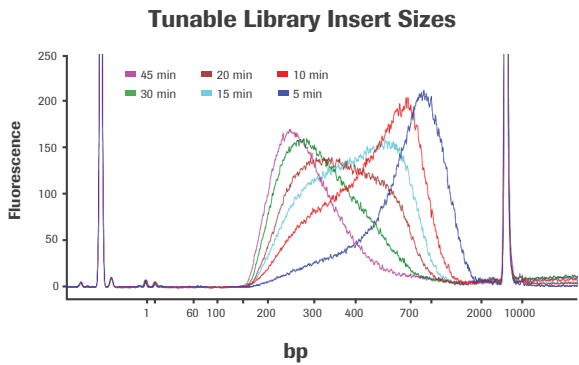
- 在KAPA HyperPlus文库构建试剂盒中，完美整合了DNA酶切片段化及文库构建步骤，所有反应均在一管中完成
- 酶切片段化可以降低DNA末端损伤，尤其对于FFPE DNA更是如此。因此，更多的起始DNA可被用于末端修复，加A尾及接头连接等步骤，从而获得了卓越的转化效率及文库产量



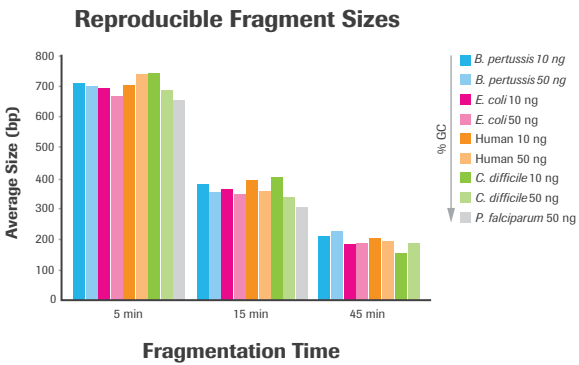
KAPA HyperPlus 文库构建试剂盒可获得行业领先的转化率。转化率(起始DNA分子转化成可测序文库分子的比例)是评估文库构建效率及文库多样性的指标。基于连接方法的文库构建效率会随着起始样本量的降低而降低。在平行比较中，KAPA HyperPlus试剂盒有更高的转化效率1 ng - 1 ug。在100 ng起始DNA的情况下，依然可达90%的转化效率，因而可完成低起始量样本的PCR-free工作流程。数据源于多次实验。

DNA片段大小可调整，片段化结果可重复性高

- 文库片段大小受酶切片段化时间及温度控制
- 不同样本类型，不同DNA起始量以及不同GC含量，都可以得到一致大小的插入片段

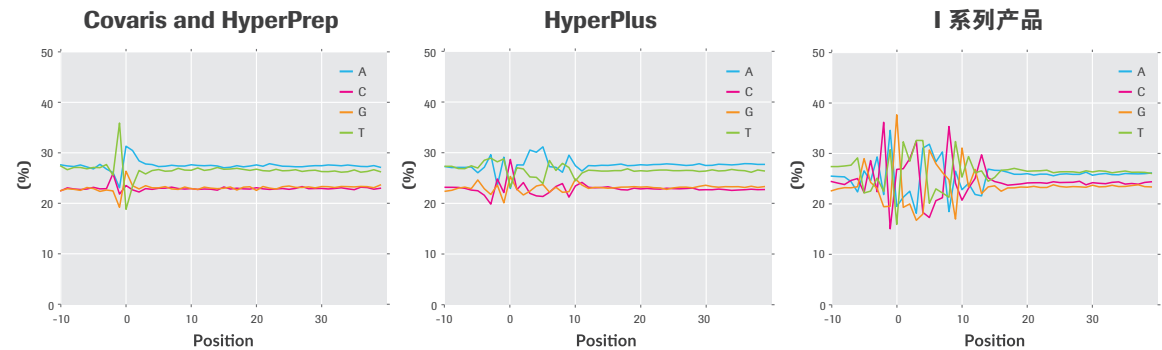


The KAPA Frag模块提供可控的酶切片段化过程。100 ng 人基因组DNA在37度进行酶切片段化(5-45分钟)，可获得150 bp-800 bp的插入片段。采用KAPA HyperPlus 试剂盒进行文库构建，无片段筛选步骤，4个扩增循环。最终文库用LabChip® GX Touch HT仪器进行分析，试剂: HT DNA HiSens Reagent Kit (PerkinElmer)。



不同物种、不同GC含量在相同酶切条件下产生一致大小的插入片段。该图比较了在相同打断时间条件下，不同物种、不同起始DNA量、不同GC%的样本打断片段长度分布的一致性。打断时间：5 min、15 min、45 min；平均片段长度：700 bp、350 bp、200 bp；检测仪器: Bioanalyzer 2100；试剂: High-Sensitivity DNA Assay (Agilent Technologies)。KAPA HyperPlus kit 拥有更高的转化率及更低的重复率

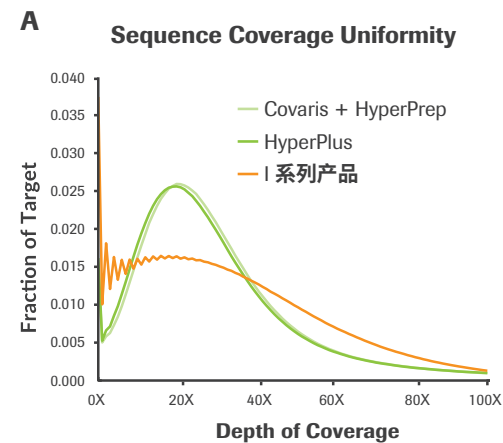
- 在酶切片段化体系中，打断偏差是需要考量的指标。可用起始位点偏差图来考量
- KAPA HyperPlus 试剂盒构建的文库，起始位点偏差高于KAPA HyperPrep+ Covaris机械打断的方案，但是低于其它竞品的酶切解决方案，包括转座酶方法
- KAPA HyperPlus 试剂盒即使存在一些起始位点偏差，但却提供了更高的转化效率及更低的扩增偏差(KAPA HiFi)，从而获得更均一的全局序列覆盖度



KAPA HyperPlus工作流程获得了最小的打断偏差。对于50 ng的人类基因组DNA (41%GC)，采用KAPA HyperPlus文库构建试剂盒，HyperPrep文库构建试剂盒 + Covaris机械打断，及I厂家同类产品进行全外显子文库构建，比较了比对起始位点40 bp区域的核酸信息(-10 bp to +30 bp)。KAPA HyperPlus酶切片段化方法起始位点偏差稍高于机械打断，但远远低于转座酶方法。测序: Illumina HiSeq® 2500， 2×100 bp，分析: custom python script。

更高的覆盖一致性，更低的测序成本

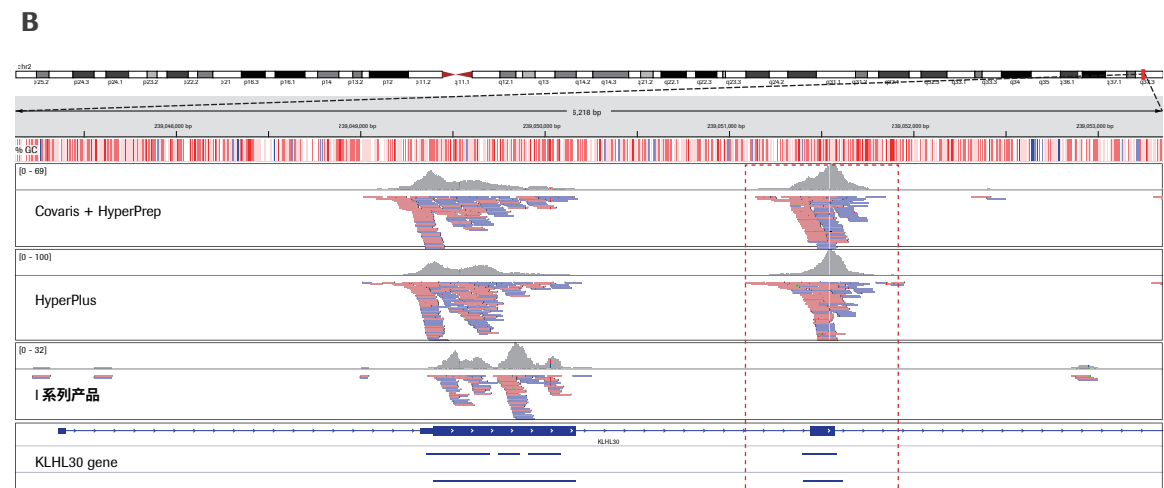
- KAPA HyperPlus试剂盒构建的文库类似或优于用机械打断+文库构建的结果
- KAPA HyperPlus试剂盒高效整合了酶切片段化，带来了卓越的转化效率，结合高保真扩增，可以使测序数据覆盖度更均一，优于其它酶切解决方案，如转座酶方案
- 序列覆盖度的提升，尤其是在高GC区域或"复杂"区域，可获得更高的覆盖深度，降低测序成本



使用KAPA HyperPlus 文库构建试剂盒，能提高“复杂”区域的覆盖均一性和覆盖度，降低测序成本

对于50 ng的人类基因组DNA，采用KAPA HyperPlus 文库构建试剂盒，KAPA HyperPrep 文库构建试剂盒 + Covaris机械打断，及I系列产品进行全外显子文库构建。Kapa文库使用SeqCap® EZ Target Enrichment System和HGSC VCRome exome panel (Roche®)。双端测序(2×100 bp): Illumina HiSeq 2500。

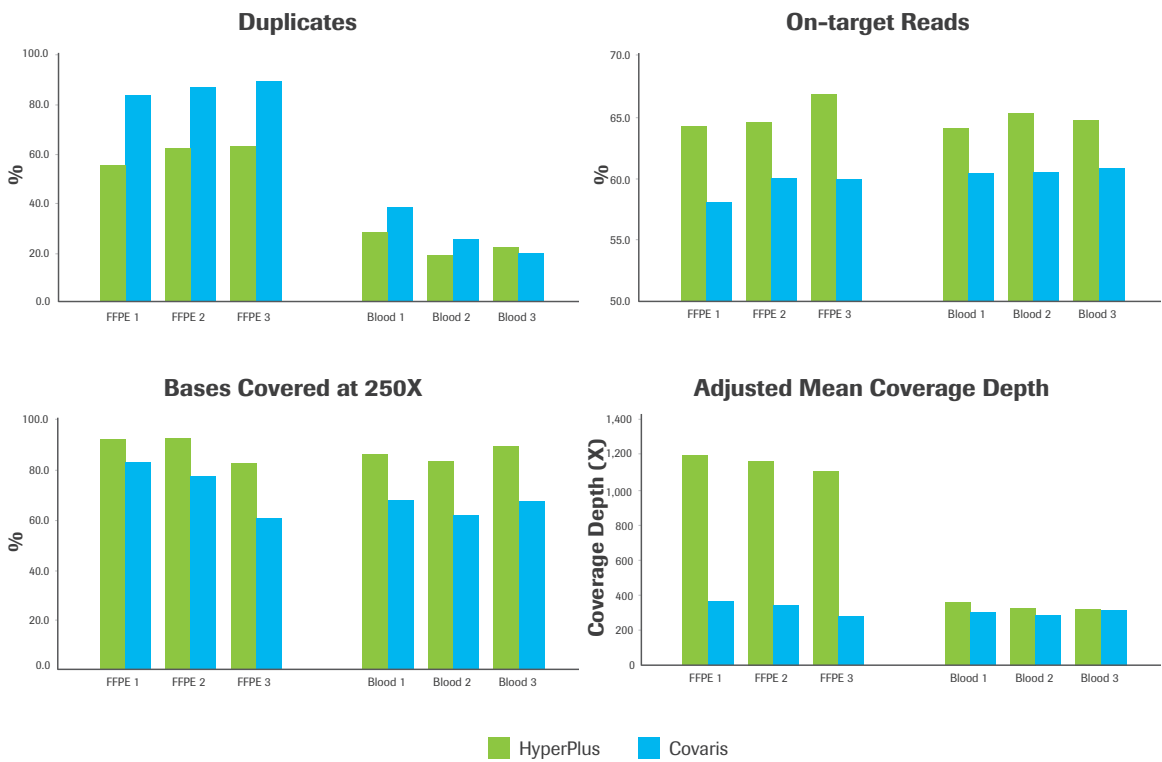
A. 采用Bedtools对于测序数据(平均每个技术重复产生27 million reads)进行序列覆盖度计算。HyperPlus结果与机械打断+HyperPrep结果类似，优于I系列产品文库(存在低覆盖区域及高覆盖区域)。



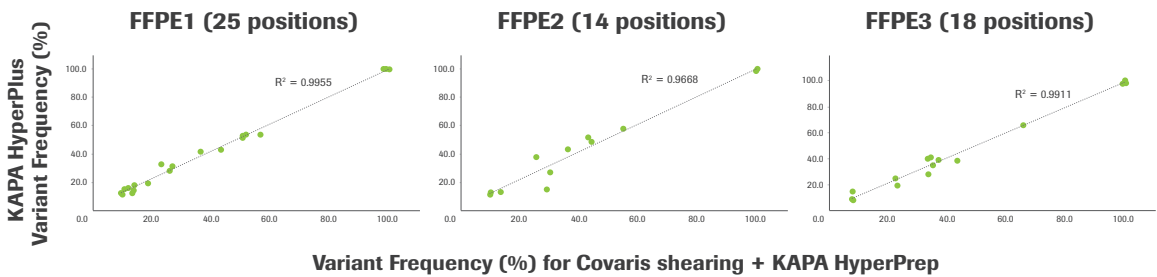
B. 30 million序列比对到hg19参考基因组，软件：BWA。考量KLHL30基因5'区域的外显子1，2。上方竖线表示GC含量(红色=高GC，蓝色=低GC)。KAPA HyperPlus在高GC区域覆盖度很好。I系列产品文库的数据显示在外显子1上覆盖度不均一，在外显子2上无数据覆盖(红色标记)，而在外显子2上存在有意义的SNP位点。低覆盖度区域需要更多的测序数据，增加了测序成本，而未覆盖的区域需要采用其它的方法获得数据，以覆盖有意义的变异位点。

FFPE样本覆盖度的提升有助于低频突变位点的发现

- 更高的转化效率提供了更高的文库多样性，从而降低了重复序列比例。该因素对FFPE及困难样品尤为重要，尤其是小Panel捕获时需重点关注
- 更高的文库多样性及更低的重复率带来了覆盖深度的提升。对发现低频突变位点尤为重要

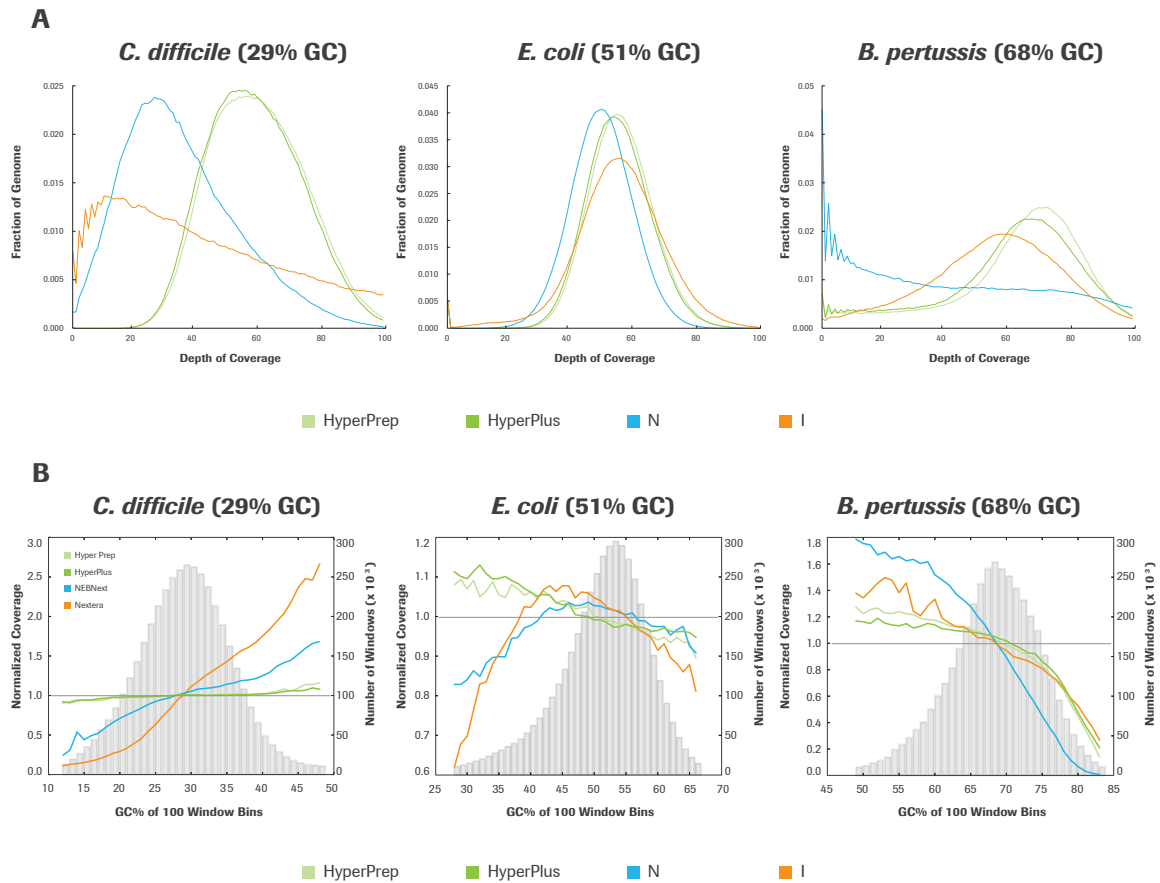


KAPA HyperPlus文库构建试剂盒能提高FFPE样本的序列覆盖度。200 ng FFPE DNA及50 ng相匹配的血液DNA，采用KAPA HyperPlus试剂盒及KAPA HyperPrep+机械打断进行文库构建。采用42基因的SeqCap EZ panel进行捕获。对于FFPE样本，KAPA HyperPlus文库重复率非常低，同时on-target比例更高，带来了覆盖深度的提升。5%以上突变频率的位点相关性可达0.96 ($R^2>0.96$)。(数据如下图所示)。测序：Illumina® MiSeq®, 2×150 bp，分析：Picard and Illumina VariantStudio V2.2。数据源于：The Royal Marsden Hospital。



高覆盖均一性及低偏差助力于微生物全基因组测序De Novo拼接

- 许多微生物基因组存在非常高或者非常低的GC%区域，导致了构建的文库质量差
- KAPA HyperPlus 微生物全基因组测序文库质量等于或高于KAPA Hyper Prep +机械打断的文库，优于其它产品



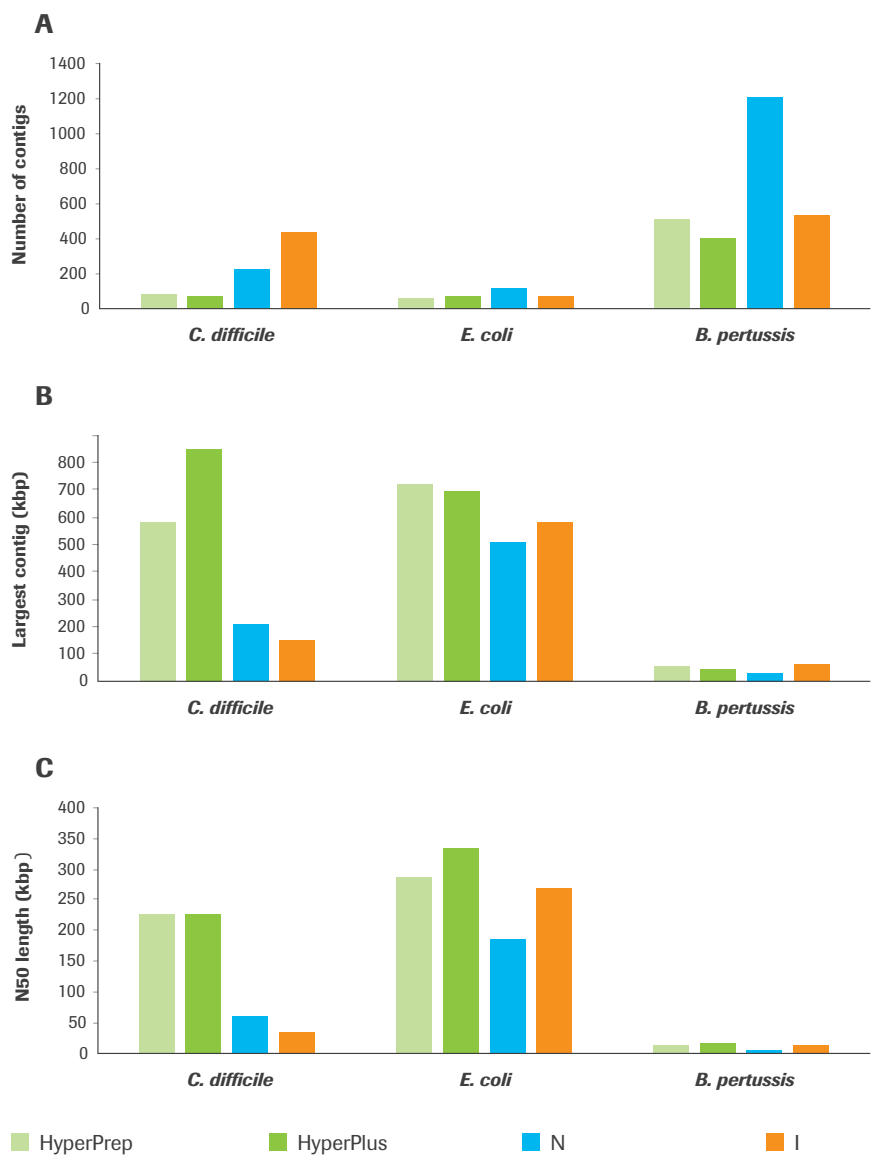
KAPA HyperPlus文库构建试剂盒在微生物全基因组文库构建中可获得卓越的覆盖均一性及更低的GC偏好。针对3种GC含量不同的细菌，采用1 ng 基因组DNA进行文库构建，文库构建试剂：KAPA HyperPrep Kit+机械打断；KAPA HyperPlus kit, N系列1，N系列2，I系列。测序: Illumina MiSeq, 2×300 bp。

A. 覆盖均一性比较图。900,000 reads, 覆盖度采用Bedtools进行计算。KAPA HyperPlus与KAPA HyperPrep+机械打断文库结果相近，覆盖度集中，预示着更高的覆盖均一性。相比较，N系列产品及I系列产品结果覆盖度分布广泛，覆盖均一性较差。

B. GC偏差图，Picard软件进行分析。灰色柱状图描述基因组GC分布，每100 bp基因组进行GC含量计算。GC偏差通过在每100 bp基因组上的均一化覆盖度来进行评估。如果所有的反应步骤(片段化、接头连接、文库扩增、簇扩增、测序、数据分析)均无偏差，那么均一化覆盖度应该是一条直线，且等于1。在不同GC%的物种中，可以看到KAPA HyperPlus、KAPA HyperPrep+机械打断结果较好，远远优于竞品试剂盒结果。

高覆盖均一性及低偏差助力于微生物全基因组测序De Novo拼接

高覆盖均一性及低偏差，获得了更长及更少的contigs，N50指标更高，有助于完成全基因组测序de novo拼接



高覆盖均一性及低扩增偏差助力于微生物de novo全基因组拼接。文库构建信息如上图所示，这里评估了拼接方面的三个指标。由于KAPA HyperPlus及KAPA HyperPrep工作流程可获得更高的覆盖均一性及更低的扩增偏差，从而获得了更长及更少的contigs，N50指标更高，有助于完成基因组拼接。分析软件：Spades V3.5，Quast

更多资讯



在线培训

- The evolution of library prep: selecting for both quality and speed
- KAPA HyperPlus: The next step in the evolution of library preparation
- NGS Library Preparation: Theory and Practice Pt 3. A Practical Example—Library Preparation with the KAPA HyperPlus Kit



应用案例

- A novel, single-tube enzymatic fragmentation and library construction method enables fast turnaround times and improved data quality for microbial whole-genome sequencing



技术文档

- KAPA HyperPlus Technical Data Sheet, KR1145

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (8个反应)	07962380001	KK8510	8 反应
KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (24个反应)	07962401001	KK8512	24 反应
KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (96个反应)	07962428001	KK8514	96 反应
KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 8个反应)	07962398001	KK8511	8 反应
KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 24个反应)	07962410001	KK8513	24 反应
KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (不含文库扩增, 96个反应)	07962436001	KK8515	96 反应



RNA文库构建 解决方案

第三部分

RNA文库构建解决方案

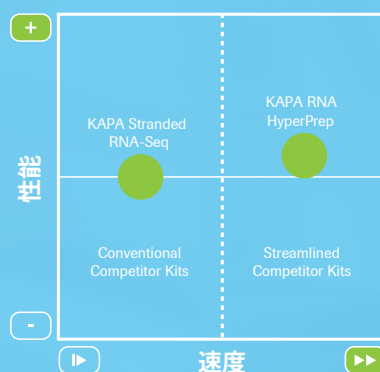


作为扩展领域，RNA测序借助大规模平行二代测序技术颠覆了传统基因表达和转录组分析的研究。为了满足该领域不断增长的需求，Kapa Biosystems提供了一系列应用在Illumina®上的高质量RNA 文库构建产品。

KAPA的RNA文库构建试剂盒可提升高GC含量区域、低丰度的转录本的文库覆盖均一性，以及低重复率，从而增加了测序上样数量。

所有RNA-Seq系列的试剂盒中都包括了KAPA HiFi HotStart热启动聚合酶，为具有行业领先性能的新型高保真酶，并且可以在多种移液装置上实现自动化。

KAPA RNA-seq 文库构建试剂盒的进化历程。每代的KAPA试剂盒性能(文库质量及成功率)及速度(使用便利度和使用时间)都不断的提升。





	RNA没有富集		mRNA捕获		核糖体RNA去除	
cDNA文库构建流程	标准流程	精简流程	标准流程	精简流程	标准流程	精简流程
KAPA产品	KAPA Stranded RNA-Seq Kit	KAPA RNA HyperPrep Kit	KAPA Stranded RNA-Seq Kit	KAPA RNA HyperPrep Kit	KAPA Stranded RNA-Seq Kit with RiboErase	KAPA RNA HyperPrep Kit with RiboErase
文库构建流程耗时	6–8 hr	4 hr	8–10 hr	5.5 hr	10–12 hr	6.5 hr
起始量	需10–400 ng 文库制备	需1–100 ng 文库制备	需100 ng–4 µg mRNA捕获	需50 ng–1 µg mRNA捕获	需100 ng–1µgrRNA去除	需25 ng –1µgrRNA去除
样本类型	高质量的总RNA、有降解的或者FFPE样本的总RNA、经过富集的RNA		高质量的总RNA		高质量的总RNA、降解的或者FFPE样本的总RNA	
物种	真核生物(如动物、植物等)、原核生物(如细菌)		真核生物(如动物、植物等)		人类、小鼠、大鼠	
不同应用领域	靶向RNA-Seq、转录组测序		mRNA-Seq		非编码RNA测序、转录组测序	
通用应用	基因表达分析；融合基因、同源异构体及结构变异检测；新型转录本检测；SNV检测					
是否具有链特异性	是					
是否可以自动化	是					

KAPA STRANDED RNA-SEQ 试剂盒

结合杂交靶向捕获技术，可以利用更少的测序数据量来覆盖目标转录本

Kapa第一代RNA文库制备试剂盒结合了“磁珠法”技术和KAPA HiFi HotStart 热启动聚合酶(工程改造酶，具有高效率及高保真性)，改进了制备文库的产量、测序覆盖度，并且降低了测序偏差。

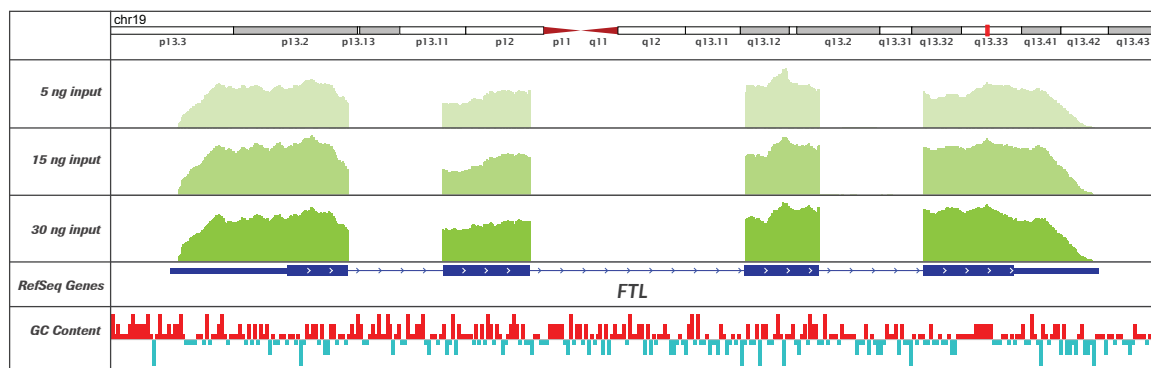
产品特点:

- 与靶向捕获流程高度兼容
- 不同起始量均可用于制备高质量的RNA文库
- 可调节片段大小，以适用于多种测序应用
- 通过“磁珠法”方案改进连接上接头的文库分子的产量
- 改进富含GC及低丰度转录本区域的覆盖度
- 通过验证的自动化方案
- 使用KAPA接头(Adapters)和KAPA 纯化磁珠(Pure Beads)构建完整文库制备解决方案(第四部分)



保持高度覆盖度均一性

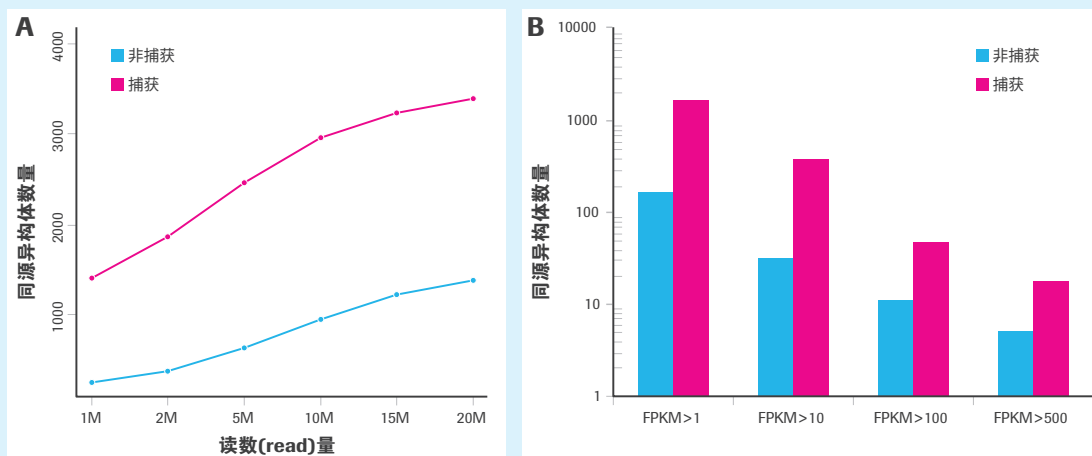
- 不同样本起始量，转录本的覆盖度具有高度可比性
- 在转录本整体表达区域内，测序reads数具有可重复性及分布均一性



不同样本起始量下覆盖度具有高度可比性。FTL为高GC含量转录本区域，使用KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒，不同样本起始量条件下的poly(A)富集RNA样本，仍具有相同测序深度。

应用重点：靶向捕获

- 提高了mRNA 异构体的检出和灵敏度
- 通过选择和生物过程相关的目的转录本，降低测序成本



靶向捕获可以提高mRNA异构体的检出率。使用KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒制备文库，蓝色代表人类肝脏总RNA(Ambion)未被捕获直接测序结果，粉色代表靶向捕获后测序结果(使用SeqCap[®]lncRNAEnrichment试剂盒进行靶向区域捕获)。

- 目标捕获增加了长链非编码RNA(lncRNA)转录本异构体的检出
- 靶向捕获使得在4种不同FPKM界值下，更多的lncRNA转录本异构体被检测

相关试剂盒的更多资讯和订购信息，请见页码P41

KAPA STRANDED mRNA-SEQ 试剂盒

基于mRNA富集法的RNA测序可集中研究转录本外显子区域

KAPA Stranded RNA-Seq流程中，在文库制备前使用KAPA mRNA捕获磁珠，可富集成熟mRNA，去除不含poly(A)尾的RNA(包括核糖体RNA、前体RNA和非编码RNA)。

产品特点:

- 集中测序编码蛋白的转录本
- 比KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒性能更佳
- 提升富含GC和低丰度转录本区域的覆盖度
- 可检测更多数量的转录本和基因
- 通过验证的自动化方案
- 使用KAPA 接头(Adapters)和KAPA 纯化磁珠(Pure Beads)构建完整文库制备解决方案(第四部分)

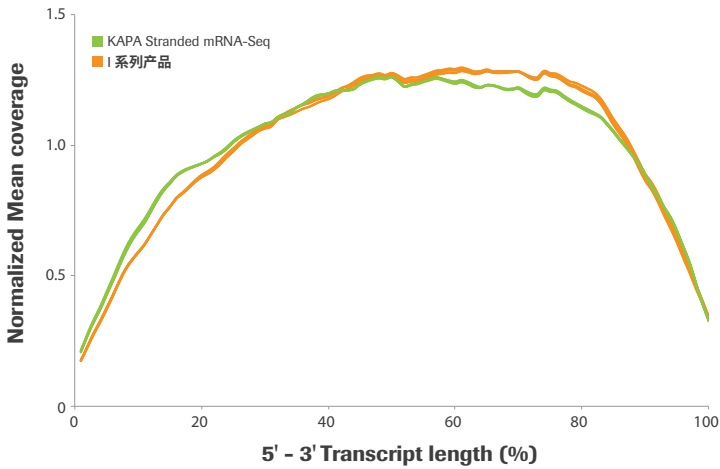


获得高测序数据质量

- 降低测序结果的重复率(duplication rate), 从而提高测序通量
- 检出更多特异的转录本和特异的基因
- 在多个转录本之间, 保持覆盖度均一性

试剂盒	High-quality sample input	Duplication (%)	Number of unique transcripts	Number of genes identified
KAPA Stranded mRNA-Seq Kit	4000 ng	24.43	112,136	21,016
I 系列产品	4000 ng	31.20	111,370	20,547
KAPA Stranded mRNA-Seq Kit	500 ng	28.90	110,690	20,644
I 系列产品	500 ng	36.43	109,810	20,134

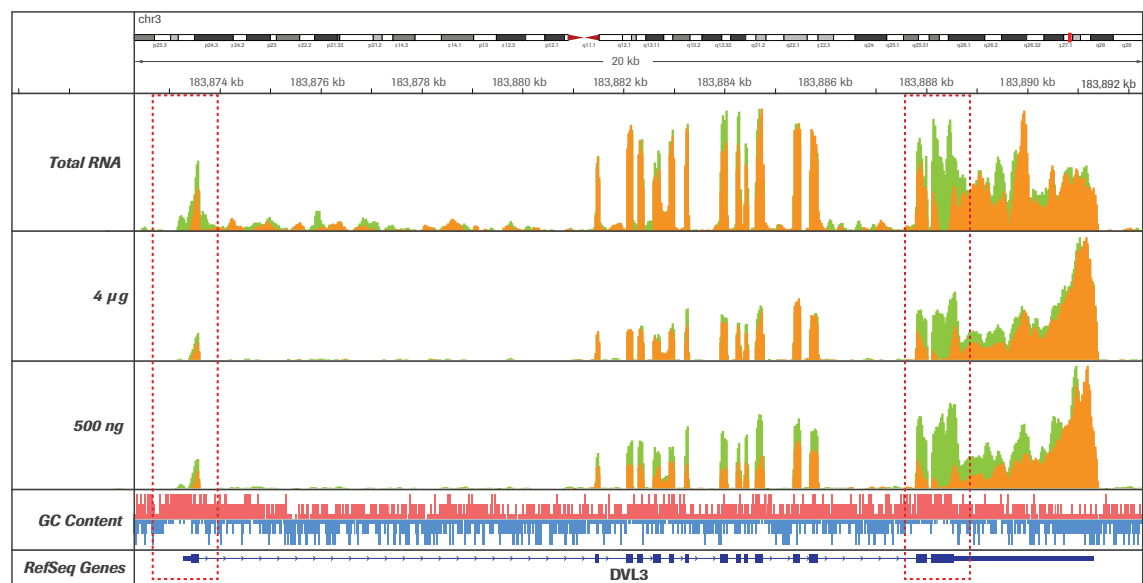
高灵敏性的检测表达基因。使用KAPA Stranded mRNA-Seq制备的文库，与 I 系列产品制备同类型文库相比有着更低的重复率，保持了链特异性的同时，更多特异的转录本和特异的基因被检出。



覆盖均一性提升。500 ng 高质量RNA使用KAPA Stranded mRNA-Seq Kit和 I 系列产品进行文库制备，KAPA文库制备试剂盒在5'和3'端位置测序的均一性更好。

发现难找到的转录本

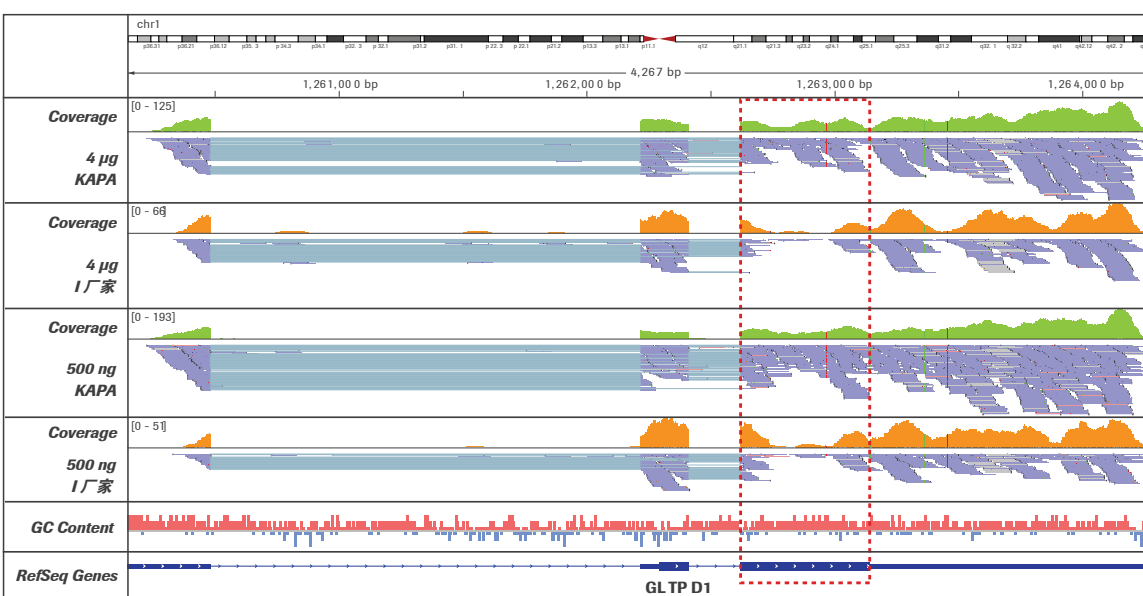
- 提升了富含GC区域转录本的覆盖度
- 检测到更多外显子区域



富含GC转录本的覆盖度得到提升。DVL3转录本的5'和3'端位置外显子区域(红色)为高GC含量区域。使用KAPA Stranded mRNA-Seq试剂盒(绿色)测序结果与 I 系列产品(橙色)结果相比，绿色区域有着更高的测序覆盖度。

检测低丰度转录本

- 可检测到其他试剂盒高起始量也无法覆盖的区域
- 不同起始量的样本，均可保持测序的高度均一性



低表达的转录本的覆盖度提升。使用KAPA Stranded mRNA-Seq试剂盒(绿色)与 I 系列产品(橙色)进行文库制备，KAPA在 GLTPD1 基因上的覆盖度更高，即使测序深度相同，I 系列产品覆盖度仍有缺失(红色区域)。

更多资讯



在线培训

- Optimized Library Construction for High-quality Transcriptome Sequencing on the Illumina® Platform



相关文献

- Landis, et al. The progesterone antagonist mifepristone/RU486 blocks the negative effect on life span caused by mating in female *Drosophila*. *Aging* 7(1) (2015): 53-69
- De Maio, et al. The Dengue Virus NS5 Protein Intrudes in the Cellular Spliceosome and Modulates Splicing. *PLOS One* (2016), dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1005841
- Magnan, et al. Sequence Assembly of *Yarrowia lipolytica* Strain W29/CLIB89 Shows Transposable Element Diversity. *PLOS One* (2016), dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0162363
- Mao, et al. Haploinsufficiency for Core Exon Junction Complex Components Disrupts Embryonic Neurogenesis and Causes p53-Mediated Microcephaly. *PLOS Genetics* (2016), dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1006282
- White, et al. Transcriptome Sequencing and Simple Sequence Repeat Marker Development for Three Macaronesian Endemic Plant Species. *Applications in Plant Sciences* (2016), dx.doi.org/10.3732/apps.1600050



技术文档

- KAPA Stranded RNA-Seq Kit Technical Data Sheet, KR0934
- KAPA Stranded mRNA-Seq Kit Technical Data Sheet, KR0960

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA Stranded RNA-Seq 文库构建试剂盒 (24个反应)	07962142001	KK8400	24 反应
KAPA Stranded RNA-Seq 文库构建试剂盒 (96个反应)	07962169001	KK8401	96 反应
KAPA Stranded mRNA-Seq 文库构建试剂盒 (24个反应)	07962193001	KK8420	24 反应
KAPA Stranded mRNA-Seq 文库构建试剂盒 (96个反应)	07962207001	KK8421	96 反应

KAPA STRANDED RNA-SEQ 试剂盒 (核糖体去除)

对去核糖体RNA(rRNA)处理后的总RNA样本进行测序，
可以得到更综合的转录组信息。

文库制备前的高效核糖体RNA(rRNA) 去除可直接提升测序覆盖度，从而降低测序成本。

与传统基于磁珠的捕获方法相比，带核糖体RNA去除的KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒(针对人类/大鼠/小鼠) 核糖体RNA去除更加稳定、高效，增加了包括非编码RNA和前体RNA在内的目标转录本测序覆盖度。

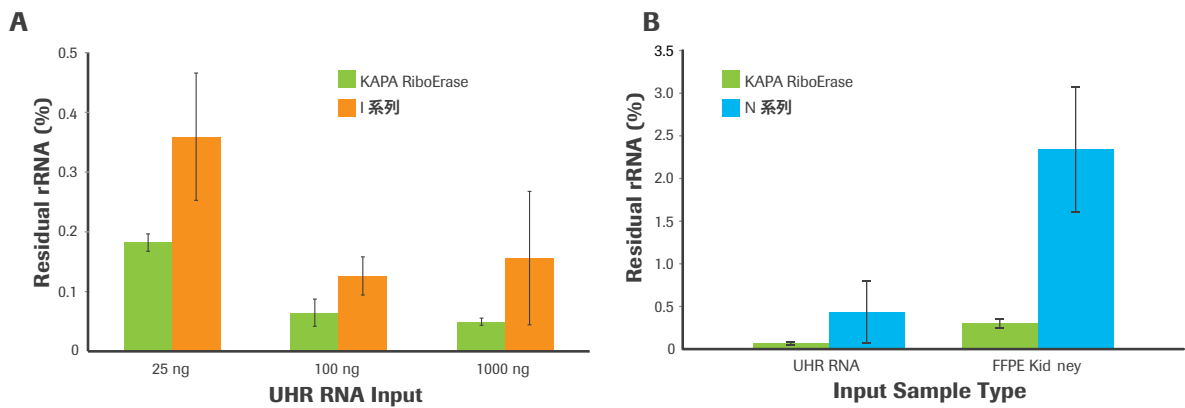
产品特点:

- 不同类型样本的rRNA去除率达到99.98%
- 适用于包括FFPE在内的降解样本
- 可检测非编码及前体区域的转录本
- 性能优于KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒
- 改进了富含GC及低丰度转录本的测序覆盖度
- 通过验证的自动化方案
- 使用KAPA 接头(Adapters)和KAPA 纯化磁珠(Pure Beads)构建完整文库构建解决方案(第四部分)



行业领先水平的rRNA去除技术

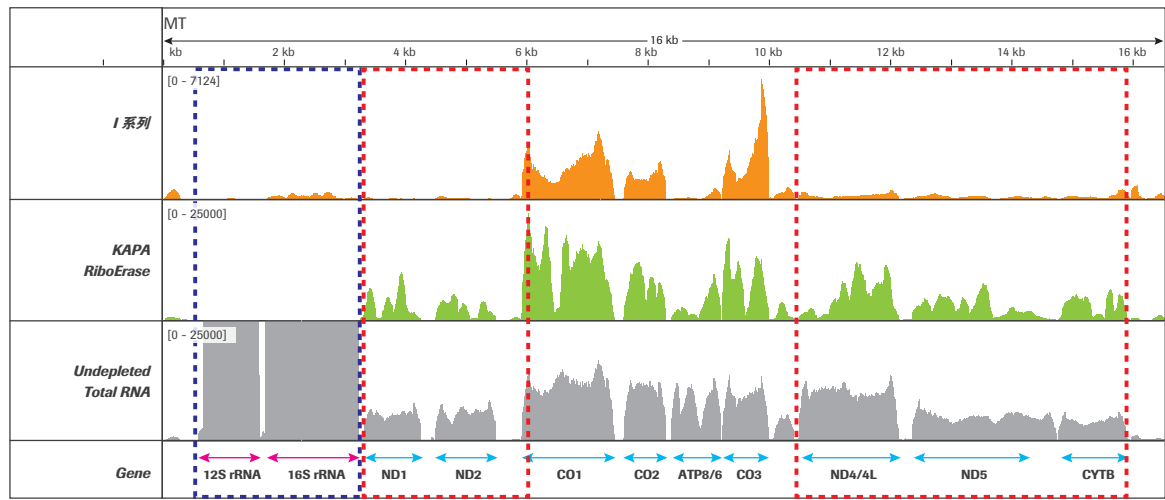
- 高水准的rRNA去除技术，降低样本间去除效率的差异性
- 降解样本(如FFPE样本)rRNA去除，同样具有高效性和高度重复性
- 通过减少核糖体RNA测序数据量，最大化样本测序深度



不同种类、起始量的样本，仍保证核糖体RNA去除的稳定性。在不同起始量及样本质量条件下，KAPA Ribo Erase试剂盒比I系列产品表现更好。纵坐标代表剩余rRNA占整体比对上reads数的百分比。

A. 使用带有去核糖体RNA的KAPA StrandedRNA- Seq和I系列产品，起始量从25 ng-1000 ng的通用人类参考序列(UHR)RNA样本rRNA都可被去除。

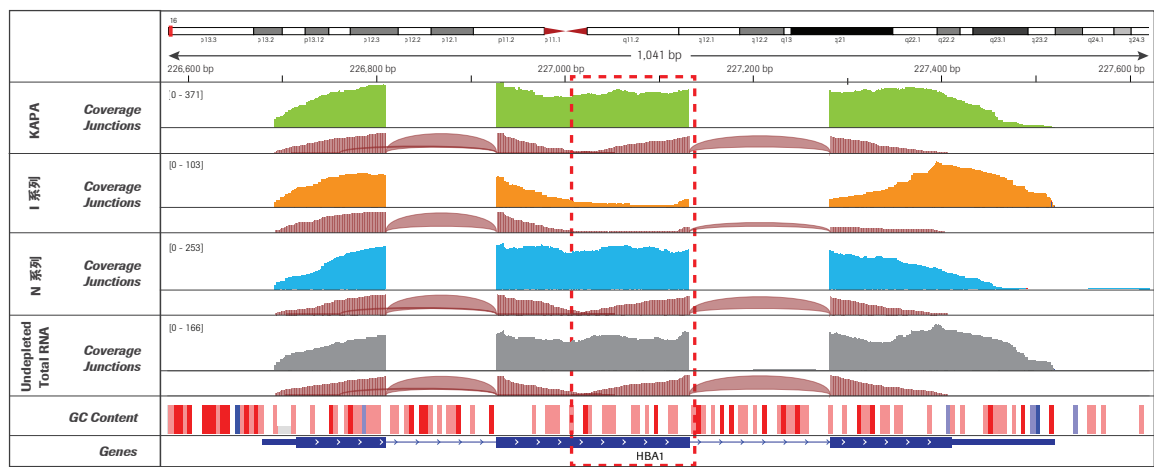
B. 使用带有去核糖体的KAPA Stranded RNA- Seq和N系列产品同类核糖体RNA去除试剂盒，100 ng的UHR RNA样本(RIN<2.5)和FFPE样本rRNA都可被去除。



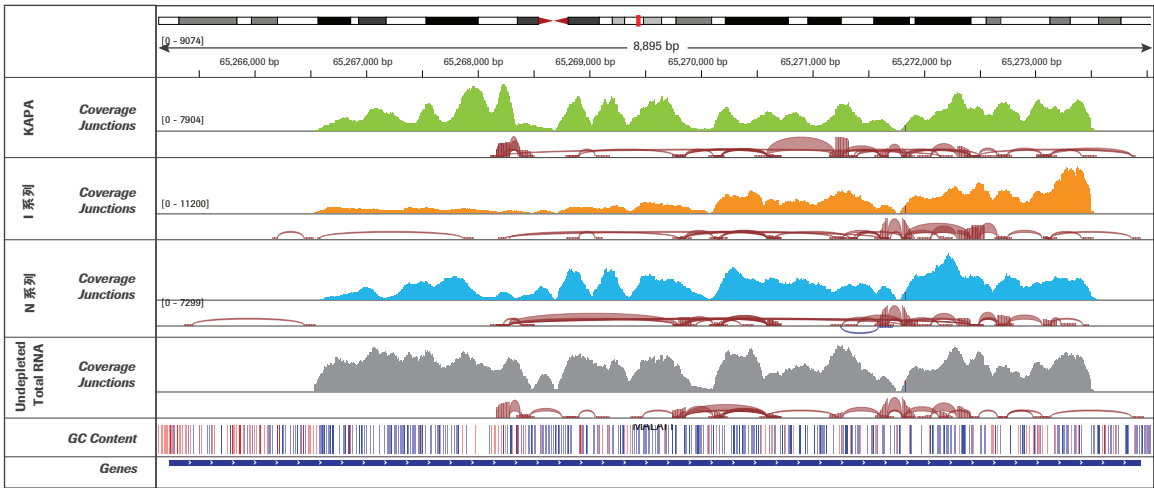
高效核糖体RNA(rRNA)去除的同时，仍可保证目标转录本的完整性。与I系列产品基于磁珠法的流程相比，利用酶去除技术的KAPA RiboErase流程可更加高效的去除12S和16S rRNA(蓝色箭头区域)，并且增加了编码蛋白质的目标转录本区域覆盖度(红色箭头区域)。进行文库制备的样本类型为100 ng UHR。

提升复杂转录本的测序覆盖度

- 保证富含GC的转录本区域覆盖度的一致性
- 更好的检测低丰度转录本



提升富含GC部分的转录本区域的覆盖度。文库制备使用去除核糖体KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒(绿色)比I系列产品(橙色)及N系列产品(蓝色)在GC含量为62.8%的血红蛋白 α 转录本区域有着更高的均一性，并且改进了剪切位点的识别。



低丰度转录本的检测提升。MALAT1为低表达、非编码转录本，使用100ng UHR RNA构建文库。使用区核糖体RNA的KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒(绿色)相比I系列产品(橙色)和N系列产品(蓝色)，覆盖度更高。

卓越的测序数据质量

- 改进测序通量的同时降低测序重复率
- 整个转录组区域的覆盖度更均一
- 更多的检出基因和特定转录本

Kit	High-quality sample input	Mapping (%)	Duplication (%)	Coverage uniformity (CV)	Residual rRNA (%)	Strandedness (%)	# Unique transcripts	# Genes identified
KAPA Stranded RNA-Seq Kit with RiboErase	1000 ng	91.585	12.69	0.568	0.049	99.64	24,485,153	22,275
I 系列	1000 ng	92.577	21.77	0.663	0.156	99.95	23,047,496	21,782
KAPA Stranded RNA-Seq Kit with RiboErase	100 ng	90.303	26.77	0.618	0.064	99.5	19,824,805	22,376
I 系列	100 ng	92.609	34.04	0.639	0.126	99.94	19,425,920	21,898
N 系列	100 ng	92.393	68.68	0.657	0.432	96.94	8,549,714	22,200
KAPA Stranded RNA-Seq Kit	100 ng (Undepleted)	90.800	11.49	0.684	95.757	99.73	8,148,976	18,361

高质量测序数据的产出。在同样对比率下，带有去核糖体RNA的KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒有着更低的测序重复率、更高的测序覆盖度均一性和检测特异性转录本和基因一致率。这确保同一样本下KAPA试剂盒对基因表达检测灵敏度更高。

更多资讯



在线培训

– KAPA RNA-Seq with RiboErase: providing a more comprehensive view of the transcriptome



相关文献

- Bailey, *et al.* Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature*, 531(7592), 47 – 52. doi:10.1038/nature16965
- Chen, *et al.* A TGFβ-PRMT5-MEP50 axis regulates cancer cell invasion through histone H3 and H4 arginine methylation coupled transcriptional activation and repression. *Oncogene* (2016), doi:10.1038/onc.2016.205
- Waldorf, *et al.* Fetal brain lesions after subcutaneous inoculation of Zika virus in a pregnant nonhuman primate. *Nature Medicine* (2016), doi:10.1038/nm.4193



会议海报

- An effective and reliable enzymatic method for the depletion of ribosomal RNA for preparation of high-quality libraries for transcriptome sequencing



技术文档

- KAPA RNA-Seq Kit with RiboErase Technical Data Sheet, KR1151

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA RNA-Seq 文库构建试剂盒+RiboErase 核糖体RNA去除 (人/大鼠/小鼠) (24个反应)	07962282001	KK8483	24 反应
KAPA RNA-seq 文库构建试剂盒+RiboErase 核糖体RNA去除 (人/大鼠/小鼠) (96个反应)	07962304001	KK8484	96 反应

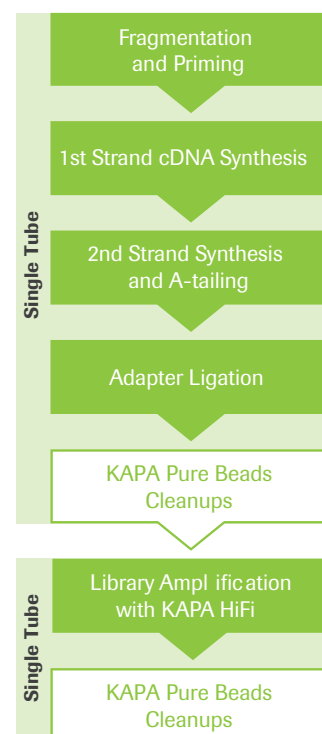
KAPA RNA HYPER PREP 试剂盒

灵活选择、单管反应、单工作日即可获得高质量的RNA测序文库

Kapa最新一代RNA文库构建试剂盒利用全新的化学技术，实现了酶促反应的合并及纯化步骤的减少，使得整个文库构建流程更加精简高效。链特异性的实验流程非常灵活，无论是低起始量还是存在降解的样品都有对应的mRNA捕获及核糖体去除的解决方案可供选择。KAPA RNA HYPER PREP试剂盒包含RNA富集及文库构建在内的所有试剂，不包含接头组分(单独货号提供)。

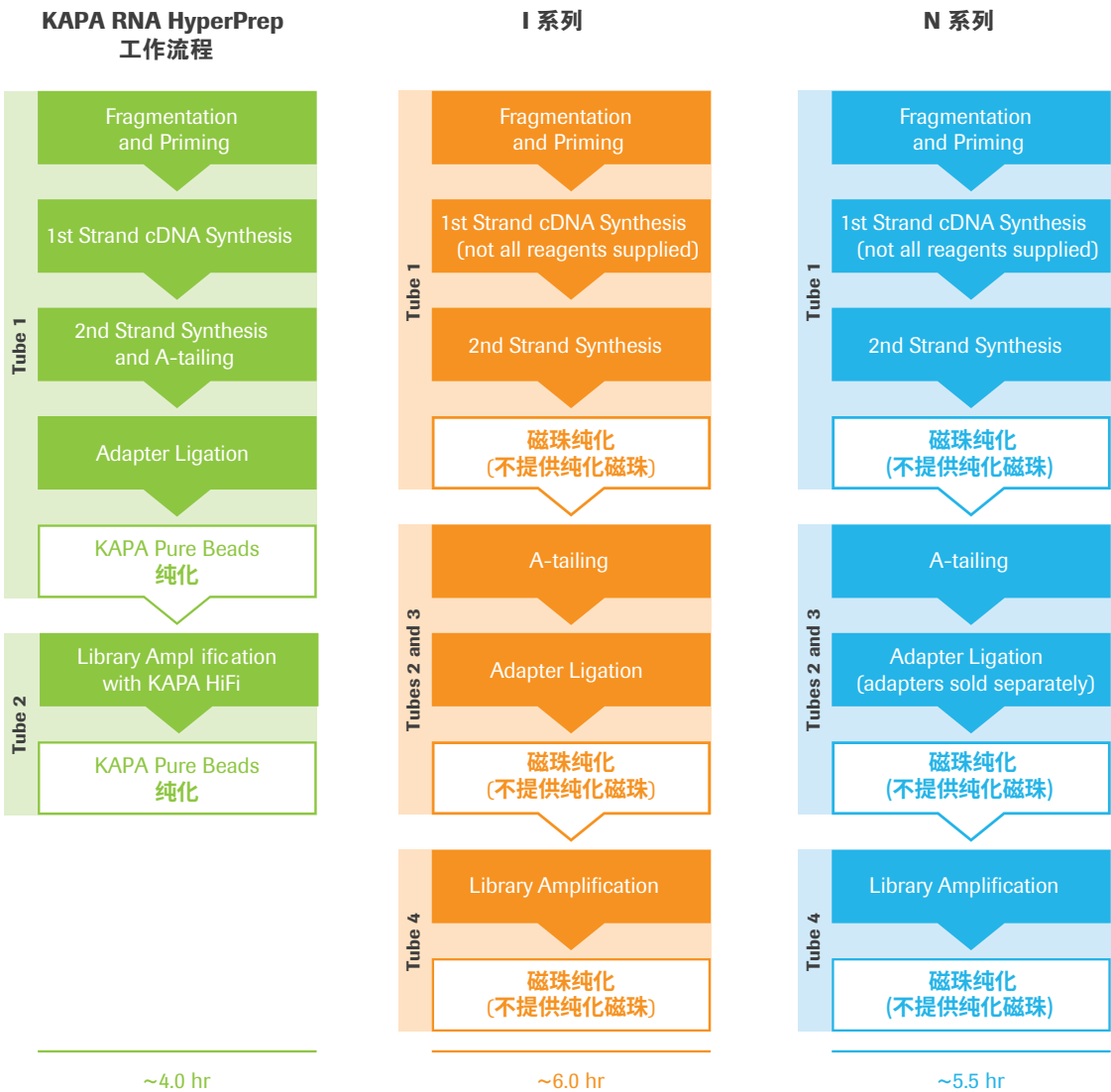
产品特点:

- 包括RNA富集在内，文库构建可以一天轻松搞定
- 针对低起始量及降解样品建库有更高的成功率
- 不同类型样品不同起始量表现稳定可靠
- 提供验证好的自动化解决方案
- 配套KAPA 纯化磁珠(Pure Beads)和KAPA 接头(Adapters)



单管反应, 单工作日文库构建流程

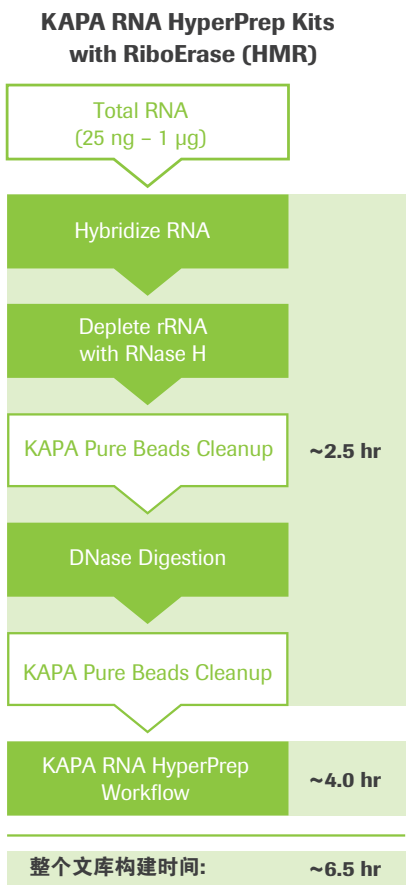
- 通过更少的酶促反应及纯化步骤实现更短的实验流程及更少的手动操作步骤
- 从起始RNA到可用于上机测序的链特异性文库只需4小时即可实现
- 整个工作流程(包括mRNA捕获或核糖体去除)，可以在一个工作日内完成
- 可在自动化平台上实现高通量和一致性



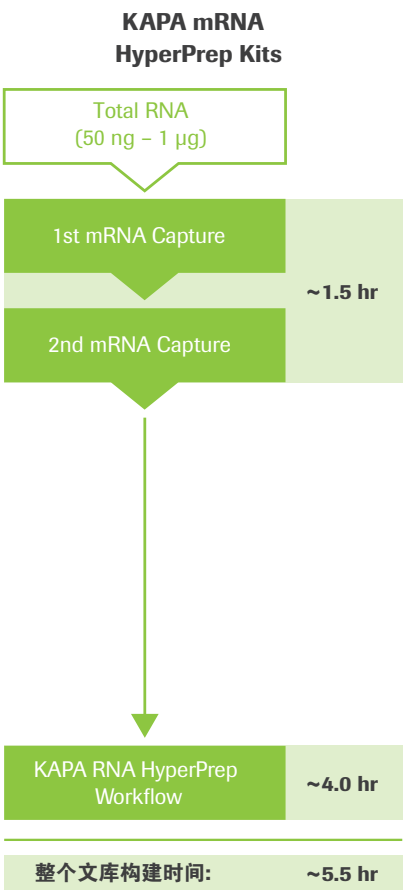
精简高效的RNA文库构建流程。KAPA RNA HyperPrep 相对于其他产品整个工作流程减少了1.5到2个小时，使得在一个工作日内构建文库成为可能。另外，酶促反应及纯化次数的减少也实现了手工操作时间的减少。

灵活选择工作流程

- KAPA RNA HyperPrep可以作为一个单独的工作流程使用，也可以跟mRNA捕获或者核糖体去除(HRM)模块联合使用



KAPA RiboErase (HMR)。通过rRNA去除的方法进行RNA测序研究可以获得更加全面的转录组信息。通过探针特异性地捕获rRNA并用RNaseH对其进行降解，从而实现了感兴趣转录本信息的富集，其中包括mRNA前体和重要的调控单元，比如非编码RNA等。



mRNA捕获。通过mRNA捕获的方法进行RNA测序研究可以特异性地关注那些蛋白编码的转录本信息。在文库构建之前用mRNA捕获磁珠进行特异性富集，再联合Kapa RNA HyperPrep构成一个完整的工作流程。

实现多种链特异性应用

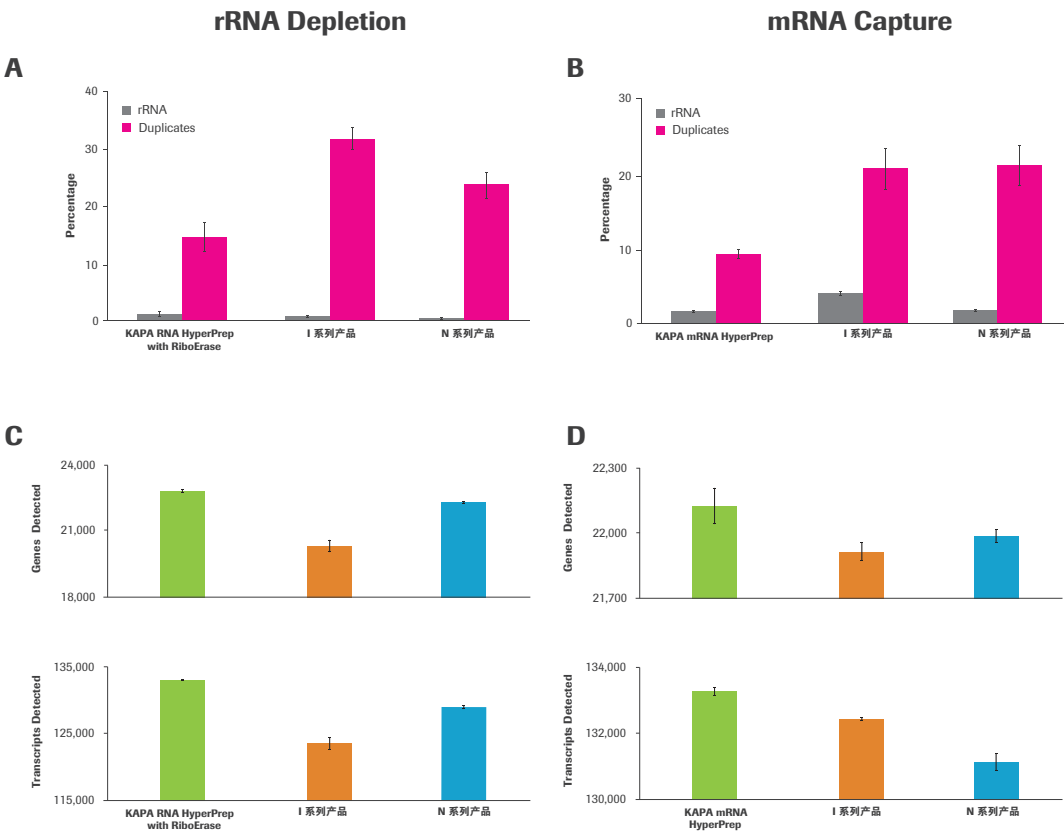
- 相比较于其它的商品化产品流程，Kapa对起始样品量的要求更低
- 即使是降解的样品，比如FFPE样品，也可以获得高质量的文库

	KAPA RNA HyperPrep Kit	KAPA RNA HyperPrep Kit with RiboErase (HMR)	KAPA mRNA HyperPrep Kit
RNA 富集	无	rRNA 降解	Poly(A) 筛选
起始量要求	1-100 ng 用于文库构建	25 ng-1 µg 用于 rRNA降解	50 ng-1 µg 用于mRNA捕获
样品类型	高质量的总RNA、降解RNA或 FFPE 样品总RNA、经富集过的 RNA	高质量的总RNA、降解RNA或 FFPE 样品总RNA	高质量的总RNA
物种	真核生物(动物, 植物, 等.) 原核生物 (细菌等.)	人、小鼠和大鼠	真核生物 (动物, 植物, 等.)
擅长应用领域	全转录组研究	非编码RNA研究 全转录组研究	mRNA测序
共同应用	基因表达分析; 检测基因融合, 异构体, 和其它结构变异; 新转录本的发现; 单核苷酸突变发现		
是否链特异性	是		
是否支持自动化	是		

满足多种需求的工作流程。KAPA RNA HyperPrep有三种工作流程可供选择：mRNA捕获，rRNA去除(RiboErase)和不经过RNA富集，可以让使用者根据自己特定的应用选择最适合的方式。

测序,只测重要的

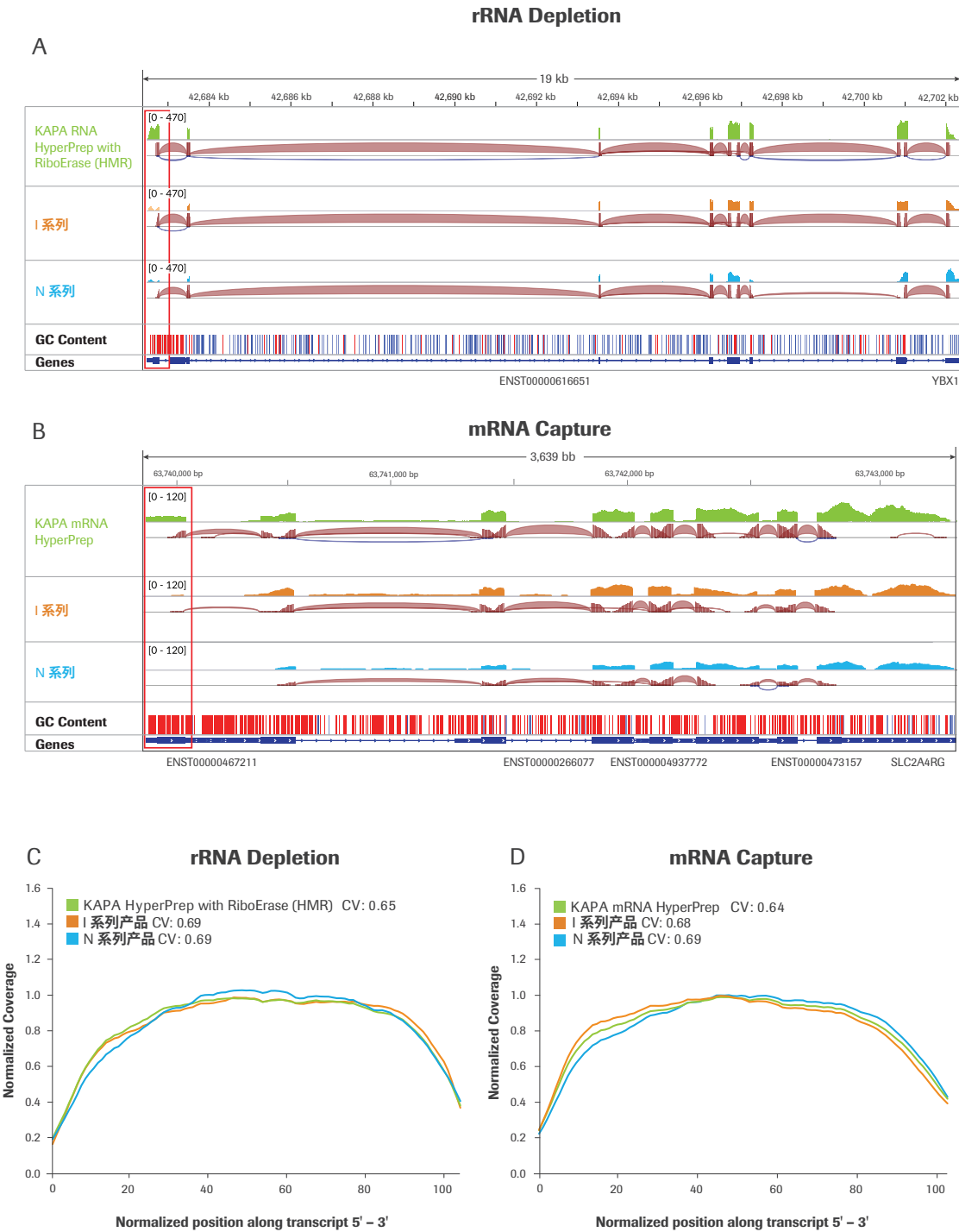
- 更低的rRNA残留及PCR重复使得数据的利用率更高
- 相同的测序量可以获得更多的转录本和基因信息



更加高效利用测序能力。 KAPA RNA HyperPrep工作流可以实现更低的rRNA残留及PCR重复，使得可以更高效地利用测序数据 (A and B). 在相同的测序数据量情况下，相比较I系列产品和N系列产品，KAPA的工作流程可以获得更多的基因和转录本信息。每一个产品都使用25 ng和50 ng高质量的人通用参考RNA作为起始样品，并作四重复，根据产品的标准建议进行建库操作。所有测序是在Illumina® HiSeq® 2500（高通量模式、V4版试剂、2 x 100 bp）上完成。去除掉比对到rRNA上的数据后，随机挑选14M的数据进行包括冗余度在内的数据分析。

更高的覆盖均一性

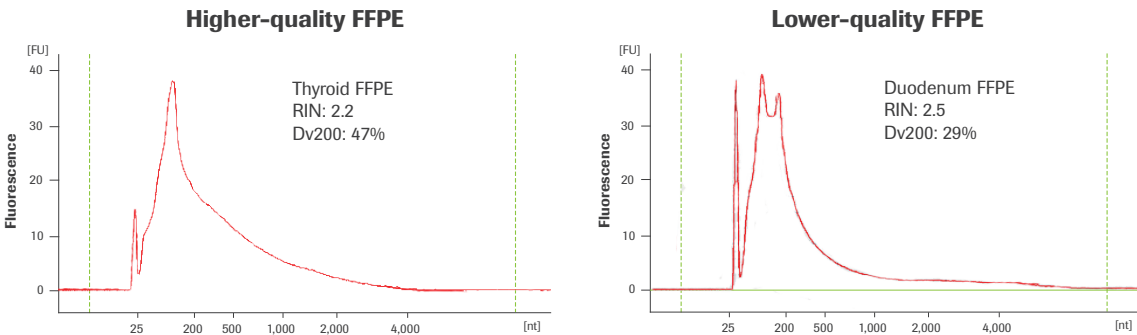
- 各转录本之间的数据分布更加均一
- 提高高GC含量难测区域的覆盖均一性



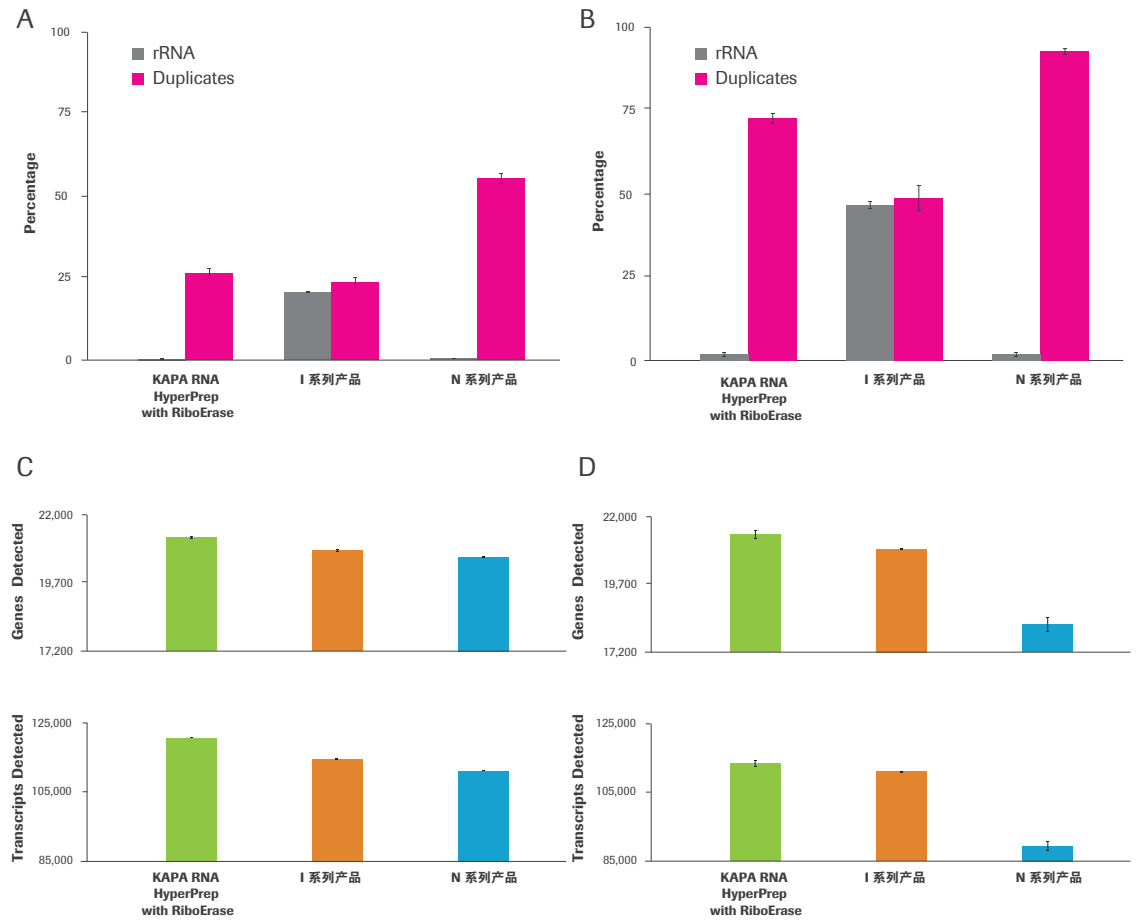
提高数据覆盖均一性。YBX1(A)和SLC2A4RG (B)高GC含量区域(红色标注)充分体现KAPA RNA HyperPrep相对于其它产品在GC含量高的区域有更好的覆盖度。挑选表达排名前1000的转录本进行统计，无论是标化的覆盖度图还是覆盖度的变异系数，KAPA相比竞品在全转录本上的覆盖程度更加均一 (C and D)。所有文库构建均使用25 ng(核糖体去除法)和50 ng(mRNA捕获)高质量人通用参考RNA作为起始样品，并严格遵照产品说明进行实验操作。

从降解样品中制备高质量文库

- 视FFPE样品RNA质量，KAPA RNA HyperPrep应用核糖体去除的方式可以实现低至25 ng的FFPE RNA的文库构建
- 针对降解样品可以得到更少的重复序列和更高效稳健的rRNA去除效果
- 相同测序条件下可获得更多的转录本和基因信息



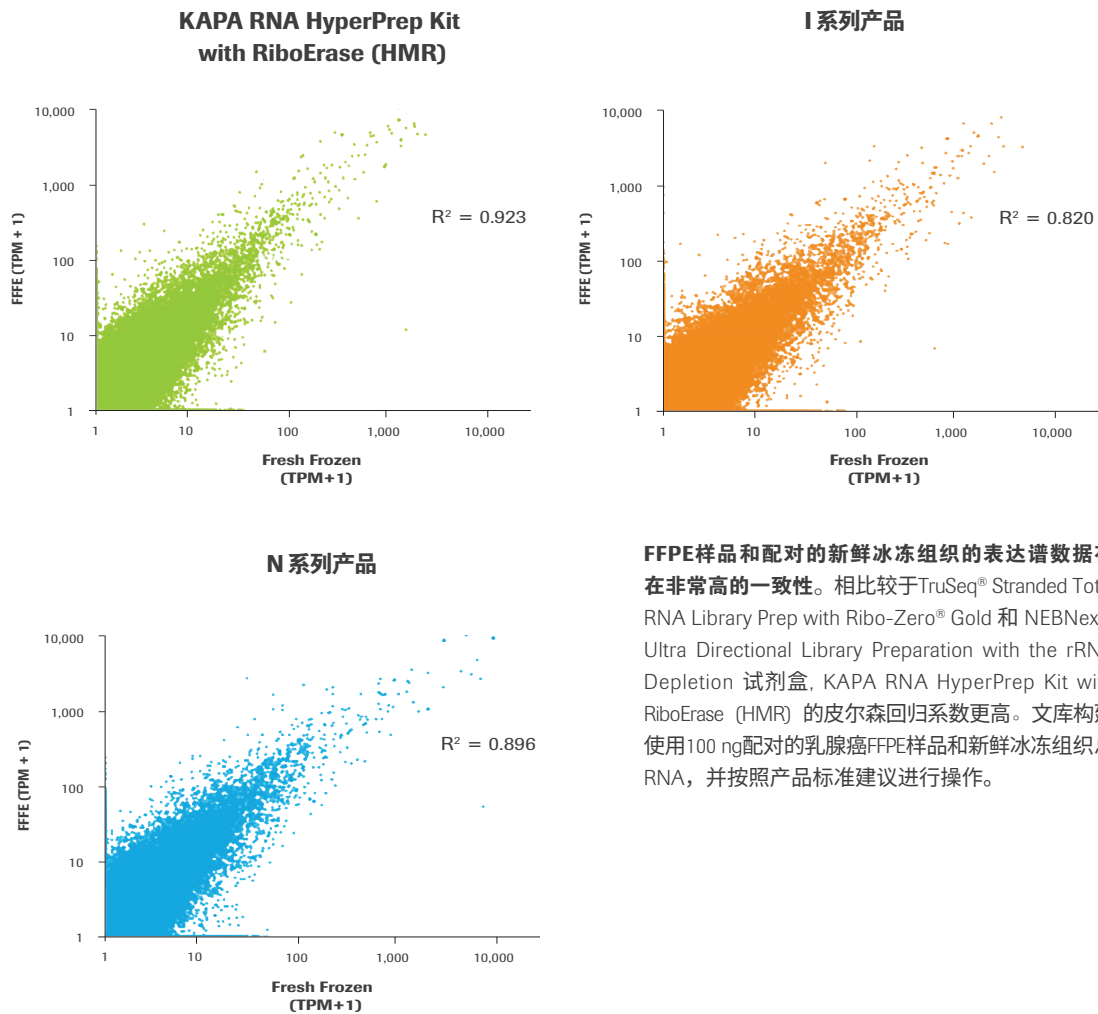
两份FFPE样品总RNA毛细管电泳结果。甲状腺FFPE样品 (RIN: 2.2) 测得47%的RNA长度大于200 nt，质量相对较好，相比较而言，the duodenum十二指肠FFPE样品(RIN: 2.5)测得29%的RNA长度大于200 nt，降解比较严重，质量较差。使用的试剂为：Agilent® RNA 6000 Pico Kit.



更加高效利用测序能力。通过以上两份FFPE样品的结果可以发现，KAPA RNA HyperPrep去除核糖体工作流程(HMR)相比较于竞品重复序列更少rRNA残留更低(A and B)。相同的测序量，KAPA的工作流程分析相对于其它产品得到了更多的基因和转录本信息 (C and D)。甲状腺FFPE样品使用25 ng起始量进行文库构建，鉴于十二指肠样品降解比较严重，取100 ng起始量进行文库构建。

从降解样品中获得可靠的结果

- FFPE样品和配对新鲜冰冻组织样品之间存在越高的线性相关性，越可以证明测序数据的准确性。



FFPE样品和配对的新鲜冰冻组织的表达谱数据存在非常高的一致性。相比较于TruSeq® Stranded Total RNA Library Prep with Ribo-Zero® Gold 和 NEBNext® Ultra Directional Library Preparation with the rRNA Depletion 试剂盒, KAPA RNA HyperPrep Kit with RiboErase (HMR) 的皮尔森回归系数更高。文库构建使用100 ng配对的乳腺癌FFPE样品和新鲜冰冻组织总RNA, 并按照产品标准建议进行操作。

更多资讯

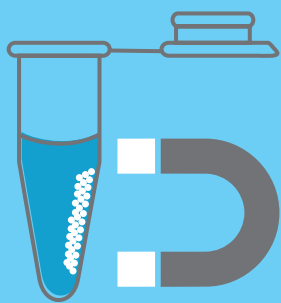


技术文档:

- KAPA mRNA HyperPrep Kit Technical Data Sheet, KR1352
- KAPA RNA HyperPrep Kit Technical Data Sheet, KR1350
- KAPA RNA HyperPrep Kit with RiboErase (HMR) Technical Data Sheet, KR1351

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒 (24个反应)	08098093702	KK8540	24 反应
KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒 (96个反应)	08098107702	KK8541	96 反应
KAPA mRNA Hyper 文库构建试剂盒 (24个反应)	08098115702	KK8580	24 反应
KAPA mRNA Hyper 文库构建试剂盒 (96个反应)	08098123702	KK8581	96 反应
KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒+RiboErase 核糖体RNA去除 (人/大鼠/小鼠) (24个反应)	08098131702	KK8560	24 反应
KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒+RiboErase 核糖体RNA去除 (人/大鼠/小鼠) (96个反应)	08098140702	KK8561	96 反应



接头(Adapters)和 磁珠(Beads)

第四部分

接头(Adapter)和磁珠(Beads)



所有KAPA DNA和RNA文库制备工作流程中，都需要使用接头(Adapters)和纯化磁珠(Pure Beads)。KAPA已经推出了高质量的接头和磁珠，至此，KAPA文库制备解决方案已经完整！

接头的质量和磁珠的性能表现，对于文库制备的结果，有深刻的影响，特别是当您处理低起始量样本，或者困难样本的时候。

KAPA接头(Adapters)和 KAPA 纯化磁珠(Pure Beads)以高质量的生产工艺制得，并且按照NGS文库制备的需求进行严格测试，使得KAPA文库制备试剂盒具有业界领先的表现。

不同规格的KAPA接头(Adapters)和KAPA纯化磁珠(Pure Beads)可根据实验设计灵活搭配，满足您的需求。

KAPA BIOSYSTEMS





KAPA 接头(Adapters)

针对基于连接法的Illumina®文库构建方法采用标准的单端 & 双端标记的接头

KAPA接头(Adapter)试剂盒包含高品质、即用型接头，根据barcode信息可以无缝整合到混样测序应用中，适用于Illumina®平台文库构建。KAPA接头可以与所有KAPA文库构建试剂盒配套使用，支持除甲基化测序之外的所有DNA和RNA的高通量及低通量的测序应用。

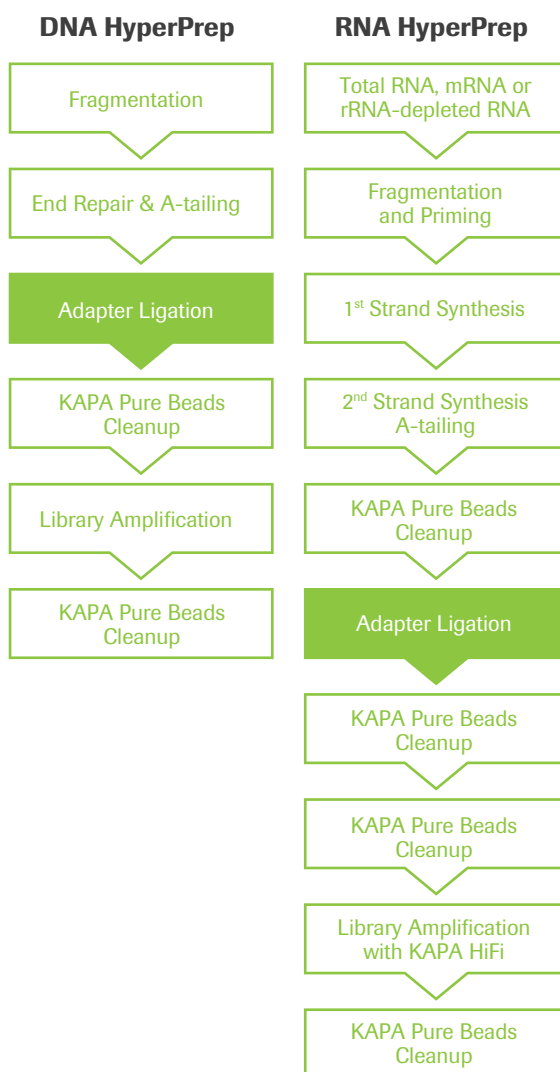
KAPA单端标记接头(Single-indexed Adapter)具有一个6-nt组成的标记标签(barcode)，包含24种即用型接头，有1.5 μM和30 μM两种浓度可供选择，且不同的包装规格可最大程度灵活满足低通量的测序应用。

KAPA双端标记接头(Dual-indexed Adapter)具有两个8-nt组成的标记标签(barcode)，包含96种即用型接头。KAPA双端标记接头以15 μM、96孔板的形式提供，可以无缝整合到基于自动化移液工作站的NGS文库构建流程中去。

所有KAPA接头(Adapter)试剂盒中都包含KAPA接头稀释缓冲液，根据实验需求进行必要的稀释以达到最优的实验效果。根据下面的产品选购指南挑选合适浓度的接头试剂盒和适用的样品起始量开始您的文库构建实验。

产品特色:

- 经功能测试以确保优异的文库构建效率及较少的接头二聚体形成
- 经基于测序的质控检测以确保标签(index)交叉污染水平低
- 所有试剂盒都包含KAPA接头稀释缓冲液



产品选用指南

根据样品起始量选择合适的接头浓度

		KAPA单端标记接头 (24)		KAPA双端标记接头 (96)
试剂盒		30 μM	1.5 μM	15 μM
DNA	KAPA HyperPlus和 HyperPrep 文库制备试剂盒	≥5 ng - 1 μg	<5 ng	50 ng -1 μg 稀释用于起始量 <50 μg
	KAPA HTP或 LTP “磁珠法” 文库制备试剂盒	≥100 ng ¹	≤100 ng ¹	≤1 μg ²
RNA	KAPA Stranded RNA-Seq Kits with RiboErase (核糖体去除)	不推荐	所有起始量	稀释用于所有起始量
	KAPA Stranded RNA-Seq试剂盒 / KAPA mRNA-Seq 试剂盒	不推荐	所有起始量	
	KAPA RNA HyperPrep Kits with RiboErase (核糖体去除)	500 ng - 1 μg 高质量RNA用于rRNA去除	<500 ng 高质量和所有起始量的部分降解的或FFPE样本来源的RNA用于rRNA去除	
	KAPA mRNA HyperPrep试剂盒	500 ng - 1 μg 用于mRNA捕获	<500 ng 用于mRNA捕获	使用稀释的用于 50 - 100 ng 高质量 RNA 稀释用于所有其他起始量和样本类型
	KAPA RNA HyperPrep试剂盒	50 - 100 ng 高质量 RNA	<50 ng 高质量和所有起始量的部分降解的或FFPE样本来源的RNA	

¹ 每100 ng起始量推荐的接头浓度依据平均插入片段大小而定
² 绝大多数的起始量和片段大小都需要稀释

更多资讯



技术文档和工具:

- KAPA Single-Indexed Adapter Kit Technical Data Sheet, KR1317
- KAPA Dual-Indexed Adapter Kit Technical Data Sheet, KR1318
- KAPA Single-Indexed Adapter Kits Calculator

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A+B 30 μ M	08005699001	KK8700	24种接头，每种40 μ L
KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A 30 μ M	08005702001	KK8701	12种接头，每种40 μ L
KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set B 30 μ M	08005729001	KK8702	12种接头，每种40 μ L
KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A+B 1.5 μ M	08005770001	KK8710	24种接头，每种40 μ L
KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A 1.5 μ M	08005788001	KK8711	12种接头，每种40 μ L
KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set B 1.5 μ M	08005796001	KK8712	12种接头，每种40 μ L
KAPA 双端标记 接头试剂盒 (15 μ M)	08278555702	KK8722	96种接头，每种40 μ L

- Adapter Set A 包含标签 2, 4, 5, 6, 7, 12, 13, 14, 15, 16, 18 和 19
- Adapter Set B 包含标签 1, 3, 8, 9, 10, 11, 20, 21, 22, 23, 25 和 27
- 每个双端接头另提供三种密封薄膜，可用于多种用途
- 所有试剂盒包含KAPA接头稀释缓冲液

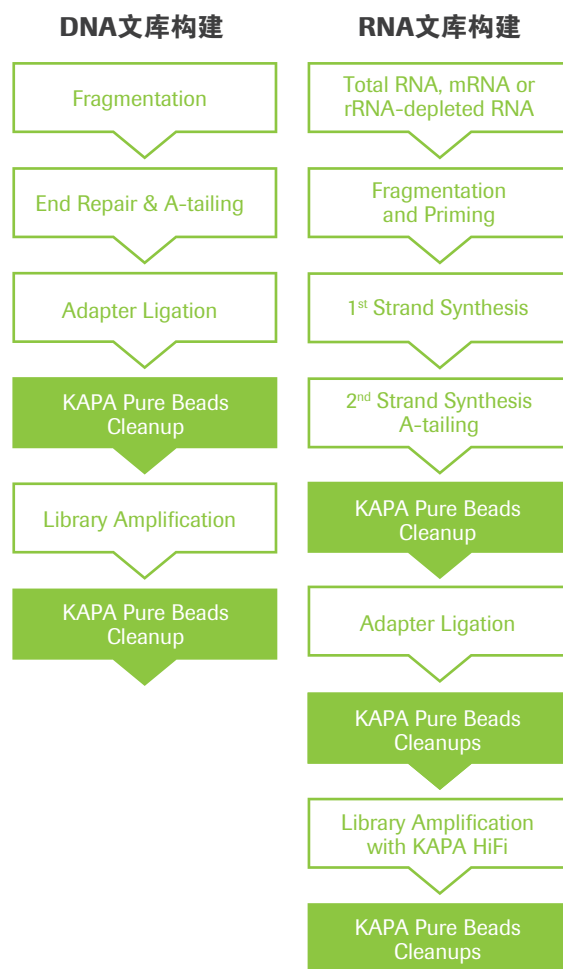
KAPA 纯化磁珠(Pure Beads)

用于新一代测序文库构建实验流程中的纯化步骤和基于磁珠的片段筛选

KAPA纯化磁珠为DNA和RNA的二代测序建库流程中的反应纯化、片段筛选，提供了灵活可调、表现稳定的解决方案。

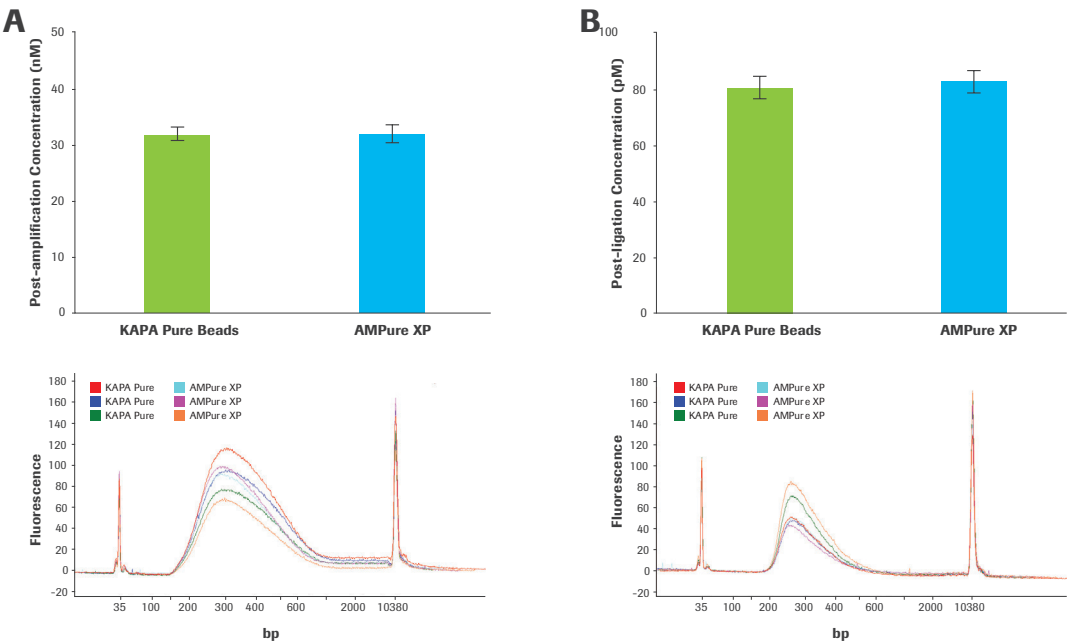
产品特点:

- 针对单链和双链DNA(1 ng - 5 µg)兼具高回收率
- 快速、高效去除实验多余组分
- 灵活嵌入任意基于“磁珠法”的工作流程中
- 片段筛选中大小可调节
- 自动化友好



无缝整合入NGS工作流程

- 适用于所有KAPA DNA和RNA文库构建实验流程
- 可获得与B系列产品相当的得率和片段分布范围
- 非常容易整合进现有的自动化流程



KAPA 纯化磁珠 (KAPA Pure Beads)在DNA或RNA二代测序文库构建中，提供与B系列产品相当的性能

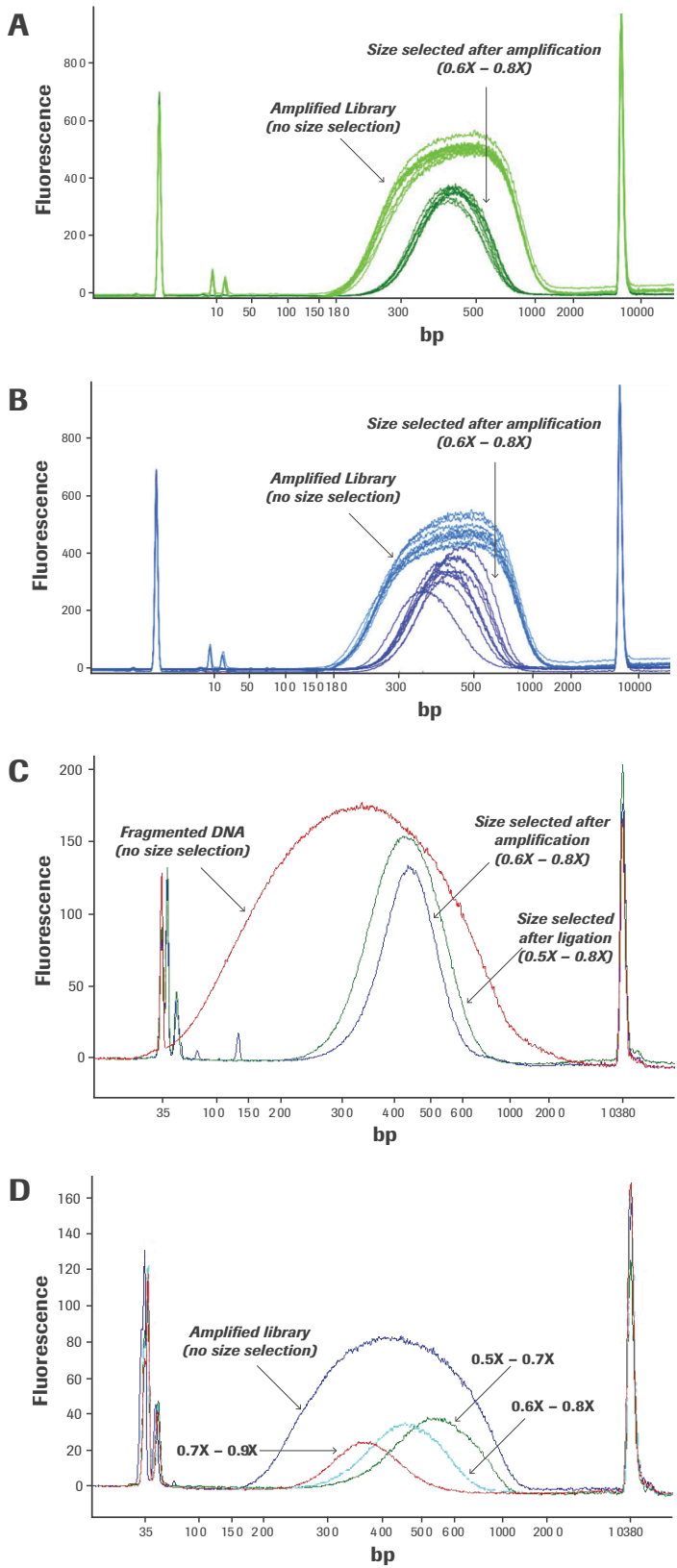
A)使用KAPA HyperPlus试剂盒进行文库构建，以100 ng高质量的大肠杆菌基因组DNA作为起始样品，37℃ 30 min酶切片段化至300 bp

B)使用KAPA Stranded RNA-Seq联合去除核糖体模块进行文库构建，以100 ng人类通用参考RNA作为起始样品，按照试剂盒标准流程进行建库

接头连接后的产量通过Library Quantification试剂盒进行定量分析。毛细管电泳结果均来源于Agilent 2100 High Sensitivity DNA Kit。

灵活可调、表现稳定的片段筛选

- 可获得大小分布一致的文库
- 灵活嵌入文库制备过程中的多个环节
- 可通过调整片段选择的参数，获得不同大小的目标文库



KAPA 纯化磁珠 (KAPA Pure Beads)可产生大小分布高度一致的文库。
所有的文库构建均使用KAPA DNA HyperPrep 试剂盒。以1 μ g高质量的大肠杆菌基因组DNA作为起始样品，利用Covaris® E220超声打断至350—450 bp。利用KAPA纯化磁珠(A)和B系列产品(B)以0.6x—0.8x的比例，对扩增后(2个循环)的文库进行片段筛选。毛细管电泳结果来源于PerkinElmer® LabChip® GX DNA High Sensitivity Assay.

文库构建工作流程中，多处可进行可调整的片段选择。
(C) 基因组DNA打断后或连接接头后进行片段筛选得到的片段大小分布是一致的 (D)通过调节筛选条件得到一系列不同片段大小分布的文库。所有的文库构建均使用的是KAPA HyperPrep试剂盒以100 ng高质量的人类基因组DNA为起始样品，通过Covaris E220进行超声打断至350—450 bp。电泳结果来源于Bioanalyzer® 2100 High Sensitivity DNA Kit.

更多资讯



技术文档:

- KAPA Pure Beads Technical Data Sheet, KR1245

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA 纯化磁珠 (5mL)	07983271001	KK8000	5 mL
KAPA 纯化磁珠 (30mL)	07983280001	KK8001	30 mL
KAPA 纯化磁珠 (60mL)	07983298001	KK8002	60 mL



文库扩增解决方案

第五部分

文库扩增解决方案



扩增是NGS文库制备工作流程中的关键步骤。为了最大化序列覆盖均一性，关键是在保持高保真度的前提下，将文库扩增偏差降到最低。

Kapa Biosystems提供文库扩增试剂盒，内含KAPA HiFi DNA聚合酶，一种旨在提供业界领先的保真度和稳定性的工程进化酶。这提供了对总体序列质量的多种改进，包括低重复率和更加均匀地覆盖困难区域。

此外，Kapa Biosystems提供了尿嘧啶耐受性变株，KAPA HiFi Uracil+ DNA聚合酶，其对从亚硫酸氢盐转化的DNA构建的文库提供扩增性能的提升。

KAPA LIBRARY AMPLIFICATION试剂盒

对于需要文库扩增的NGS文库构建工作流程，一种高保真、低偏好的酶是必备的

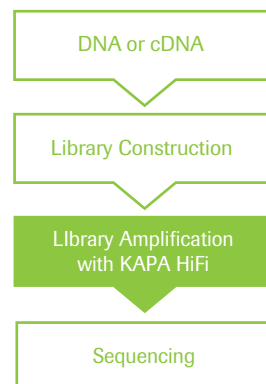
KAPA文库扩增试剂盒包含KAPA HiFi DNA聚合酶，一种利用Kapa定向进化技术平台设计的超高保真和稳定性的新型酶。KAPA HiFi DNA聚合酶是用于NGS文库扩增的首选酶，因为其具有以高保真、高效率和非常低的偏好性扩增复杂DNA群体的能力。这使得在需要文库扩增的所有NGS文库构建工作流程中可以获得较低的重复率，同时提高GC-和AT-富集区、启动子、低复杂性和其它测序困难区域的覆盖。

用于Illumina®平台的KAPA文库扩增试剂盒包含一套易于使用的ReadyMix，和一套经过优化配置的文库扩增引物混合物。

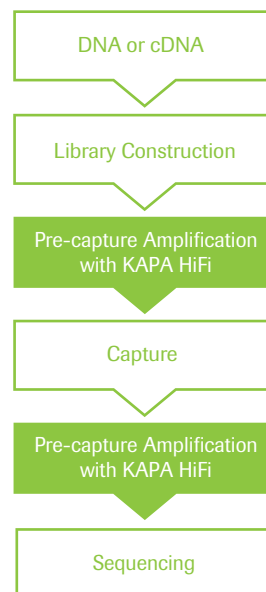
产品特点:

- 低扩增偏差
- 对测序困难区域有良好的测序覆盖度
- 业内领先的高保真度

直接测序

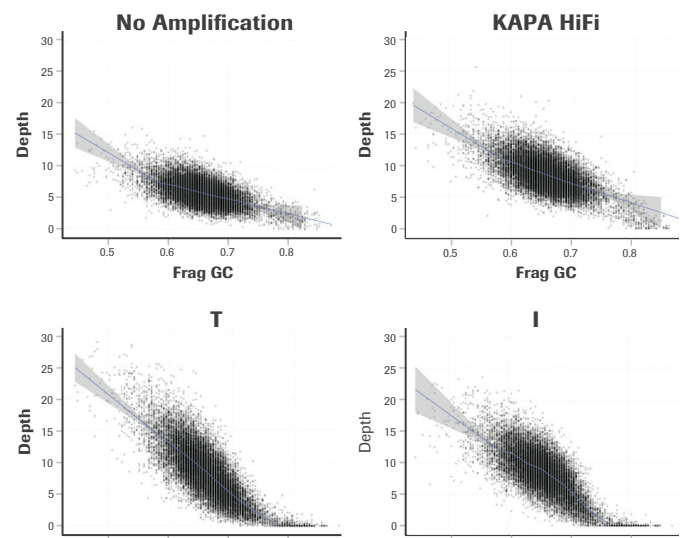


靶向捕获测序

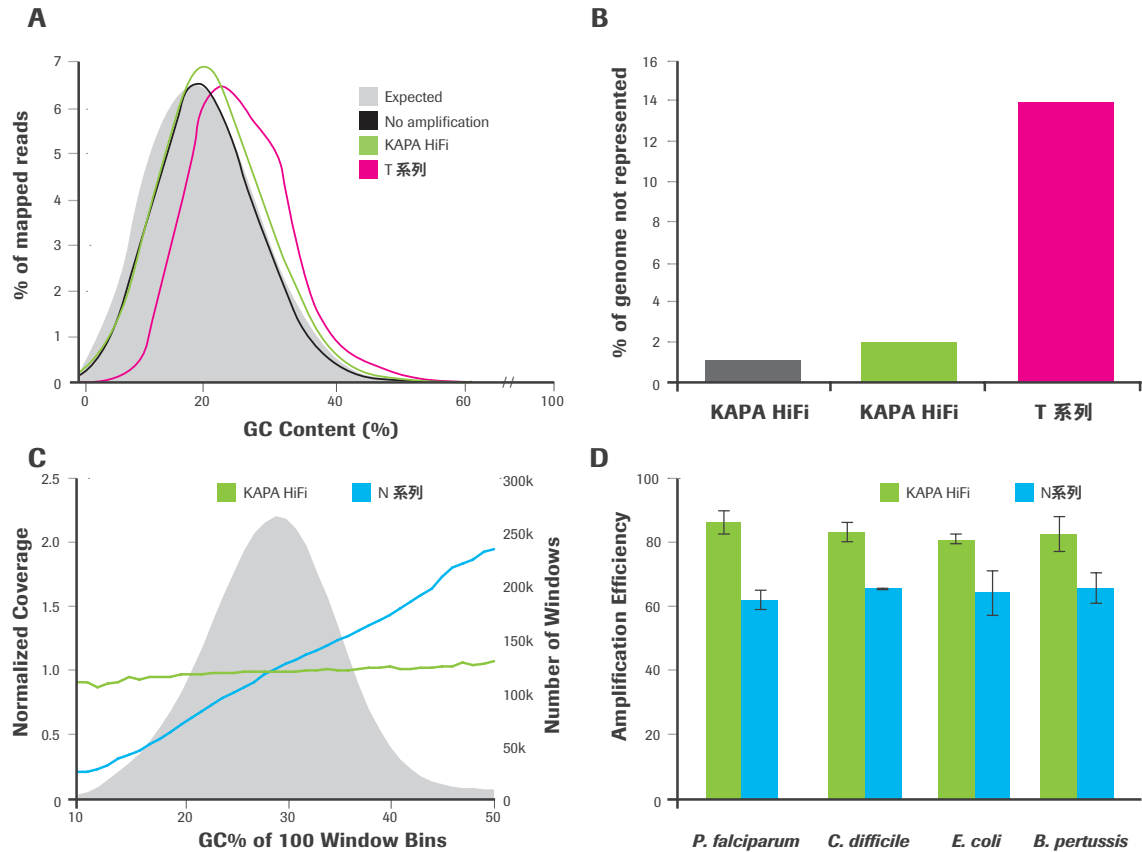


降低GC-和AT-富集区的扩增偏差

- 改进对所有文库片段和测序区域的覆盖
- 由于具有更高的扩增效率，仅需更少的循环数即可获得相等的产量



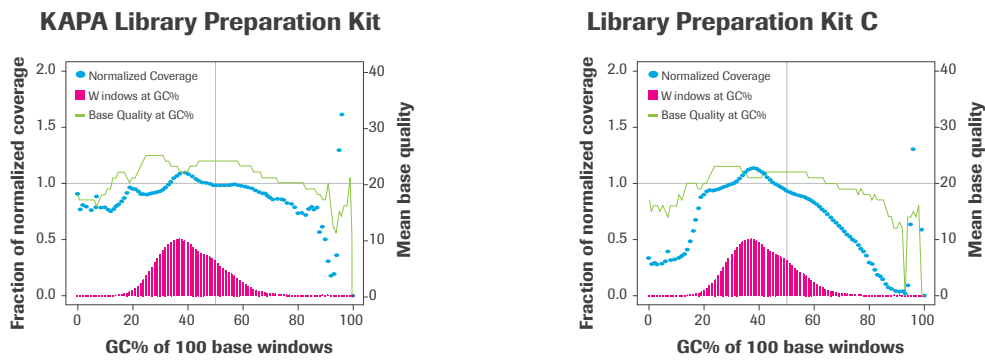
覆盖深度VS. GC含量(与I系列产品比较)。将用KAPA HiFi DNA聚合酶，T系列聚合酶以及I系列产品扩增的文库与相应未扩增文库进行比较。通过分析250 bp窗口产生平均序列覆盖深度与GC含量的散点图。富含GC的序列在用T系列产品及I系列产品扩增的文库中表现不足。使用KAPA HiFi DNA聚合酶扩增出的文库在GC含量范围内的覆盖分布与未扩增对照基本一致。



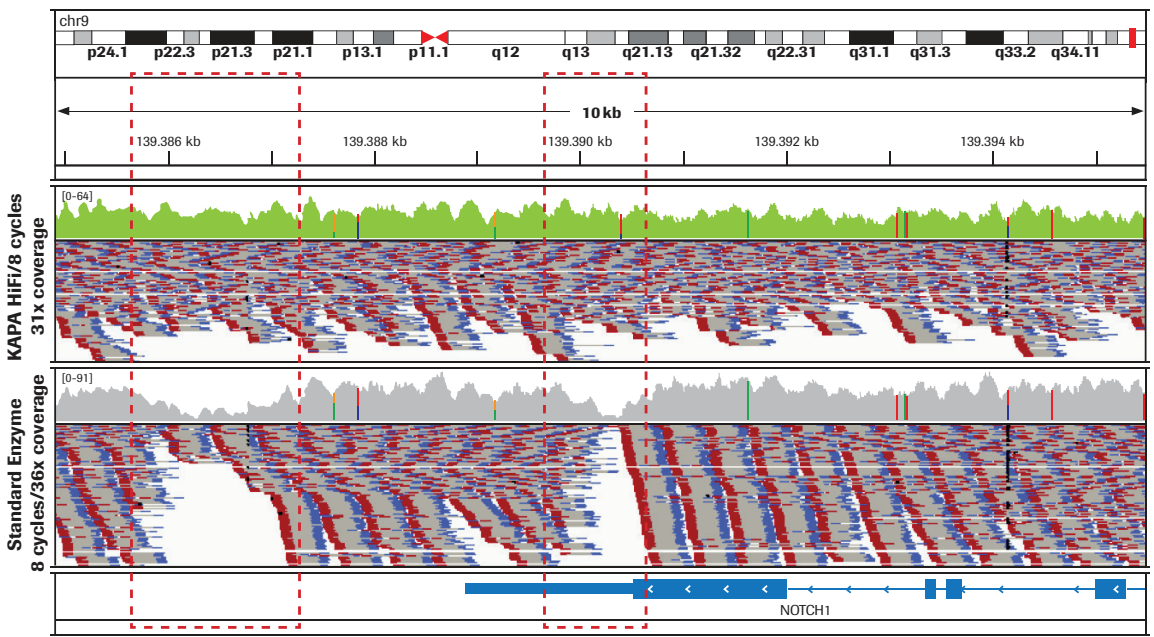
KAPA HiFi DNA聚合酶使低GC含量文库扩增的偏好性最小化。使用T系列产品、N系列产品以及KAPA HiFi DNA聚合酶扩增从相同剪切的*P. falciparum*(19% GC)、*C. difficile*(28% GC)、*E. coli*(51% GC)和*B. pertussis*(68% GC)基因组DNA制备的文库。(A)对于KAPA HiFi，Phusion和无扩增对照绘制的reads与GC含量的观察频率。reads的期望频率分布由灰色阴影区域指示。(B)在测试的聚合酶之间比较分析中未覆盖的*P. falciparum*基因组的百分比。数据由Dr. Michael Quail, The Wellcome Trust Sanger研究所提供。(C)对于N系列产品和KAPA HiFi DNA聚合酶的*C. difficile*的GC偏差图。(D)对于N系列产品和KAPA HiFi HotStart热启动DNA聚合酶，经15个扩增循环后，得到的所有四个物种的扩增效率。

提高测序覆盖度

- 改善GC-和AT-富集区域、启动子和其他测序困难区域的覆盖均一性
- 提高包含两个扩增步骤的靶向捕获工作流程中困难区域的覆盖深度

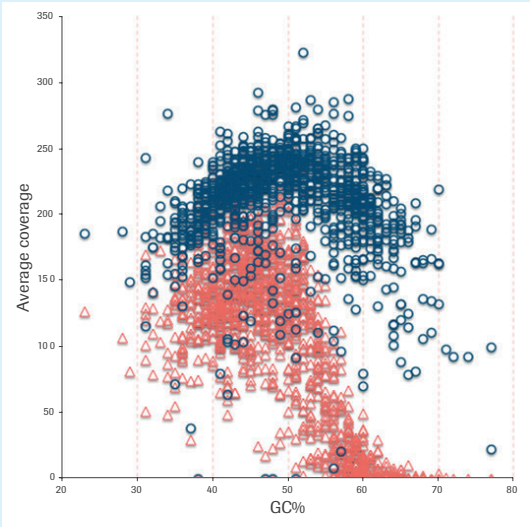


KAPA HiFi DNA聚合酶降低扩增偏差，提高测序覆盖范围。使用KAPA文库制备试剂盒(左)或标准文库制备试剂和在The Broad Institute(右)使用的方案，利用100 ng人基因组DNA构建及扩增标记的文库。使用qPCR对单个文库进行定量，在变性前合并，并测序。使用KAPA文库制备试剂盒制备的文库在不同GC含量范围内产生更均匀的覆盖分布。数据由The Broad Institute提供。

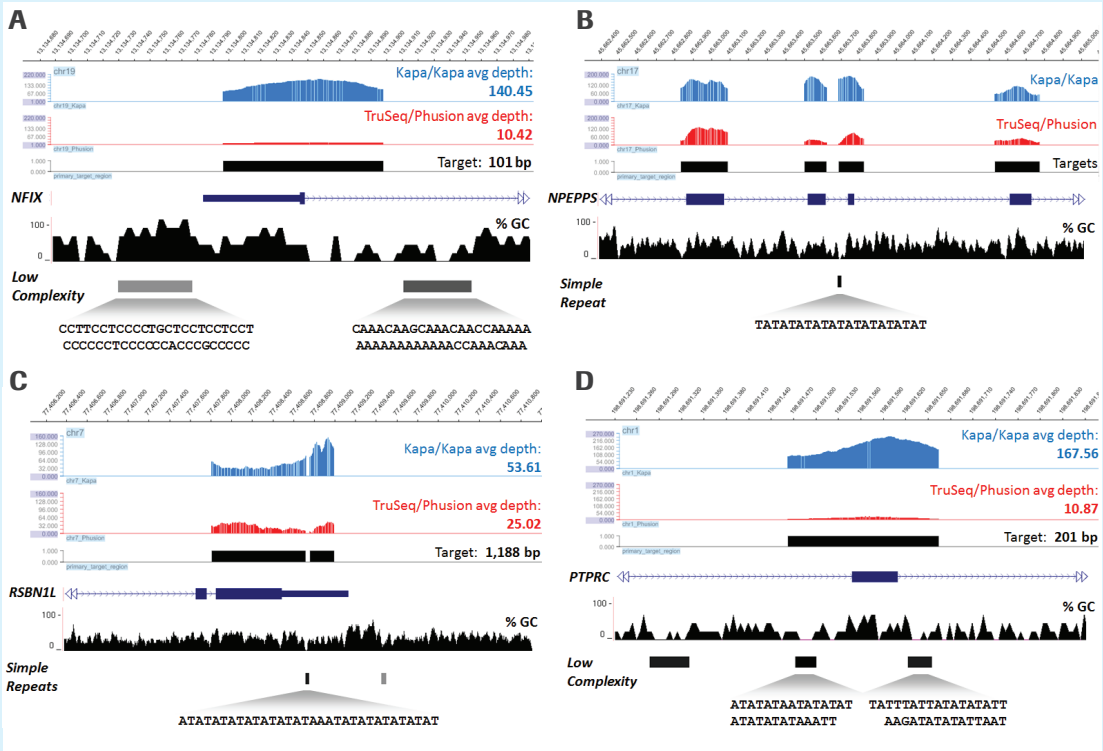


改善的偏好性在NOTCH1外显子上提供良好的覆盖均匀性。许多基因的第一外显子具有高GC含量，因此难以扩增。因此，这些外显子的区域在整个外显子组测序数据中的覆盖通常是不足的。使用进化的低偏好性的KAPA HiFi DNA聚合酶的预捕获扩增使得富含GC和富含AT区域以及难以扩增的其它序列元件的覆盖显著改善。数据由The Broad Institute提供。

应用重点：靶向捕获



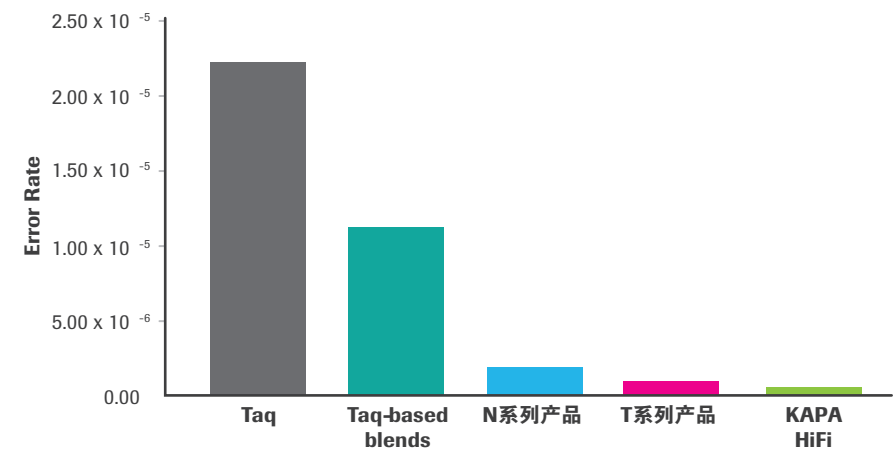
KAPA HiFi显著提高了Illumina靶向重测序中GC-rich外显子的深度和覆盖范围。使用具有T系列DNA聚合酶(红色)的DNA样品制备试剂盒或N系列文库构建试剂和KAPA HiFi DNA聚合酶(蓝色)用于预捕获扩增从Covaris打断的DNA制备文库。基于溶液的杂交捕获用定制的SeqCap® EZ panel(Roche®)进行。使用KAPA HiFi的预捕获扩增可以获得更高的平均覆盖深度和在富含GC的代表性外显子区域的显著性改善。数据由AdrianaHeguy, NYUMC提供。



靶向捕获工作流程中，提升了AT-rich、低复杂性的覆盖范围。使用I系列样品制备试剂盒与T系列DNA聚合酶(红色)或KAPA文库制备试剂盒与KAPA HiFi DNA聚合酶(蓝色)，以Covaris打断的HapMap DNA样品制备文库。使用SeqCap EZ人类Exome V3探针进行基于溶液的杂交捕获。上图显示了KAPA和TruSeq在覆盖深度上的显著差别。

业内领先的高保真度

- 使用定向进化来改造KAPA HiFi DNA聚合酶，使其具有增强的校对(3'-5'外切核酸酶)活性



业界领先的保真度由454测序确认。将校正DNA聚合酶如N系列产品和T系列产品的错误率与进化的KAPA HiFi DNA聚合酶的错误率进行比较，其比Taq的错误率低50-100倍。通过在454平台上的深度测序确认KAPA HiFi DNA聚合酶的错误率，显示平均 3.54×10^{-6} 个核苷酸掺入1个错误。

更多资讯



相关文献

- Quail, et al. Optimal enzymes for amplifying sequencing libraries. Nature Methods 9 (2012): 10-11 9: 10
- Phan, et al. The Serum Resistome of a Globally Disseminated Multidrug Resistant Uropathogenic E. coli Clone. PLOS Genetics (2013). doi: 10.1371/journal.pgen.1003834
- Kelley, et al. Characterization of the Poecilia mexicana transcriptome. BMC Genomics (2012) doi: 10.1186/1471-2164-13-652



应用案例

- KAPA Library Prep Automated HT Protocol for Low-input Samples
- Development of a method for typing the major histocompatibility gene complex in humans (HLA) using a next-generation sequencer (NGS); as published by Nippon Genetics



会议海报

- Engineered DNA Polymerases Enable Decreased Amplification Bias and Improved Coverage
- Engineered DNA Polymerases Improve NGS and Enable Novel Applications
- Novel Improvements to Illumina® TruSeq® Protocols



技术文档

- KAPA Library Amplification Kits Technical Data Sheet, KR0408

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA 文库扩增试剂盒 (1.25mL)	07958951001	KK2611	50 反应
KAPA 文库扩增试剂盒+引物 (50个反应)	07958978001	KK2620	50 反应
KAPA 文库扩增试剂盒+引物 (250个反应)	07958986001	KK2621	250 反应
KAPA 实时文库扩增试剂盒 (250个反应)	07959028001	KK2702	250 反应

KAPA HiFi Uracil+ DNA扩增酶

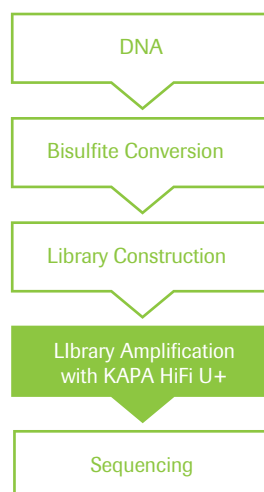
高度耐受模板链中的尿嘧啶，使亚硫酸氢盐处理的DNA能够高准确度、有效地扩增

为了鉴定和定量甲基化模式，使用亚硫酸氢盐处理DNA将胞嘧啶残基转化为尿嘧啶；而甲基化残基未修饰。因此，用于亚硫酸氢盐测序工作流程中的文库扩增的酶必须能够通过尿嘧啶读取并且耐受低浓度的富含AT的DNA。传统的高保真DNA聚合酶通常不适用于这种类型的应用，因为当遇到尿嘧啶时，酶停止工作。KAPA HiFi Uracil+ DNA聚合酶已被开发用于阅读尿嘧啶残基，同时仍保留HiFi DNA聚合酶的性能优势：高产量，低偏差和均一的测序覆盖率。

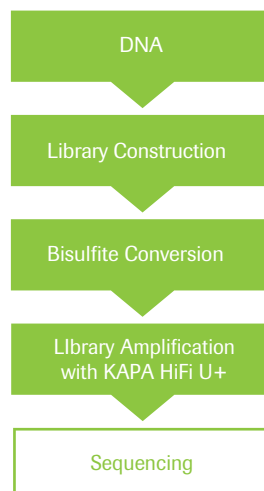
产品特点:

- 与KAPA HiFi DNA聚合酶相当的保真度和扩增效率
- 更高的产量和对含有尿嘧啶模板的更低偏差
- 更统一的亚硫酸氢盐测序覆盖
- 可更好覆盖富含AT的序列

Pre-library Construction

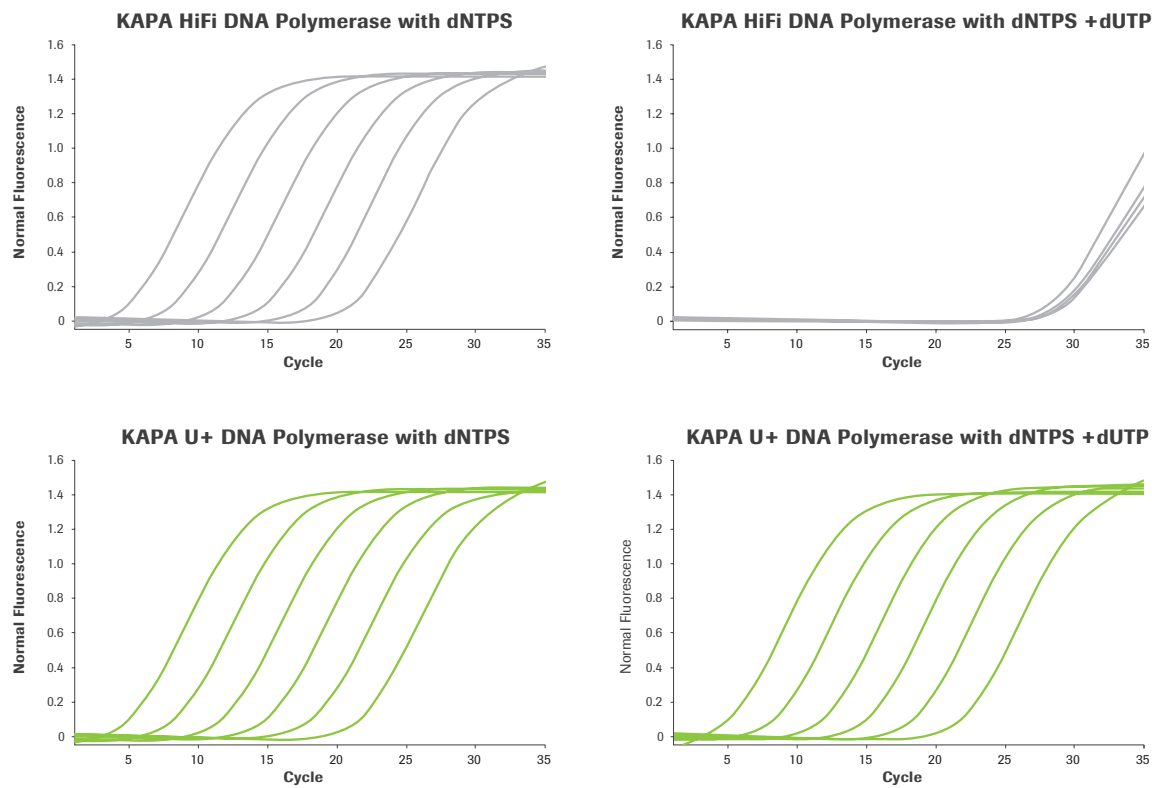


Post-library Construction



扩增含有尿嘧啶的模板

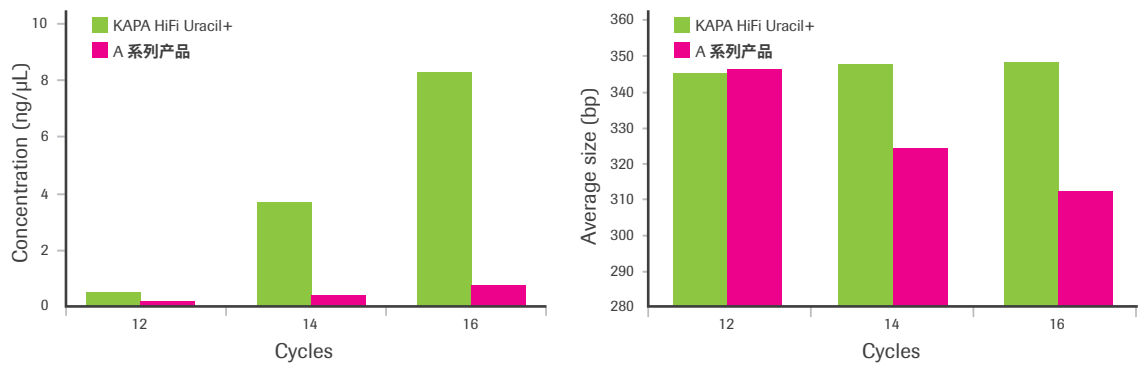
- 顺利通过尿嘧啶残基，实现有效扩增



KAPA HiFi Uracil+ 不被dUTP抑制。使用基于SYBR®Green的实时定量PCR来监测具有或不具有0.2 mM dUTP的10倍稀释(80 pM-0.8 fM)的452 bp扩增子的扩增。KAPA HiFi DNA聚合酶显示尿嘧啶的典型抑制，而KAPA HiFi Uracil+ DNA聚合酶显示无扩增抑制。

产生高产量的低偏差亚硫酸氢盐转化的文库

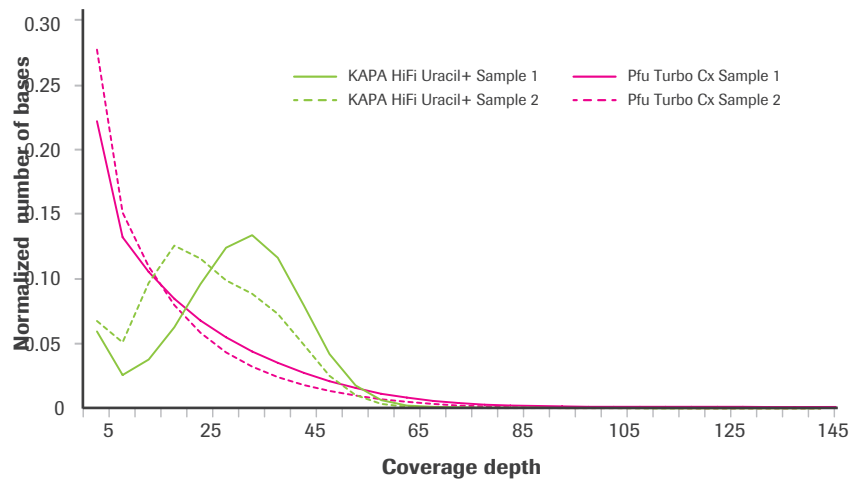
- 通过高效扩增降低循环数和降低PCR重复
- 较低的扩增偏差使得所有文库片段和序列区域被更好地覆盖



KAPA HiFi Uracil+ 提供更高的产量和最小的尺寸偏差。使用具有12、14或16个循环的标准方案扩增人全基因组亚硫酸氢盐处理的文库，并使用Bioanalyzer 2100高灵敏度DNA测定分析扩增的文库。当与A系列产品相比时，KAPA HiFi Uracil+ DNA聚合酶产生高得多的产量(左)，具有非常小的区域偏差(右)。

获得更大覆盖深度均一性的测序结果

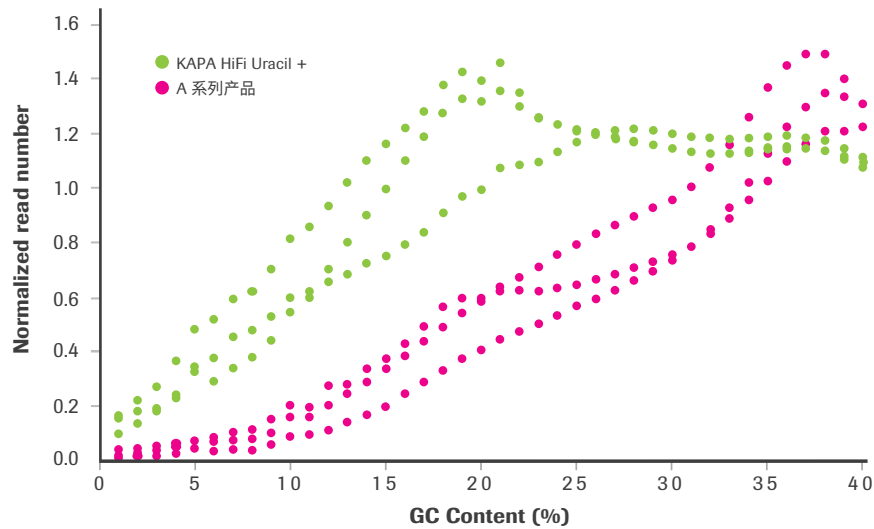
- 通过更均一的序列覆盖降低测序成本



更均匀的覆盖全基因组亚硫酸氢盐(WGBS)库。从寄生虫gDNA，亚硫酸氢盐处理制备2个WGBS文库，并使用KAPA HiFi Uracil + DNA聚合酶或A系列产品扩增。

改进AT-rich区域的覆盖

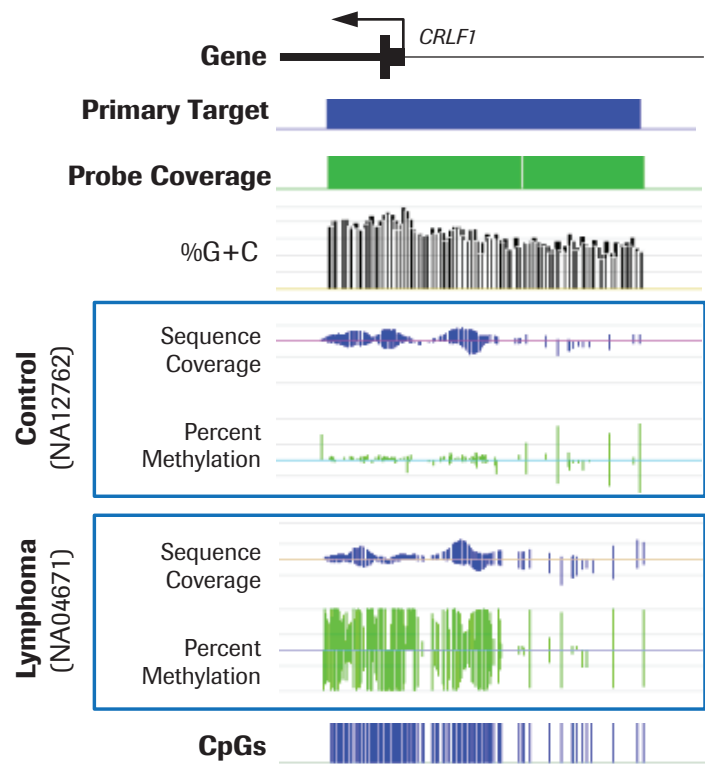
- 对AT-rich区域更大耐受
- 提高亚硫酸氢盐测序片段质量



KAPA HiFi Uracil+ DNA聚合酶提高了富含AT序列的覆盖。使用KAPA HiFi Uracil + DNA聚合酶或A系列产品扩增100 ng经亚硫酸氢盐处理的文库DNA(8个循环)。

亚硫酸氢盐处理的DNA的有效靶向富集

- SeqCap®Epi系统(Roche®)设计用于以单碱基分辨率进行DNA甲基化评估
- KAPA HiFi Uracil + 允许在靶向富集后有效扩增亚硫酸氢盐处理的DNA文库，有助于改进甲基化区域的测序。



使用SeqCap Epi靶向富集系统鉴定差异甲基化区域。使用KAPA HTP文库制备试剂盒从伯基特氏淋巴瘤细胞系(NA04671)或正常对照细胞系(CEPH; NA12762)DNA制备文库，并在预捕获扩增后进行亚硫酸氢盐处理。用3.2 Mb SeqCap Epi Choice设计进行捕获，并用KAPA HiFi Uracil +进行捕获后扩增。 差异甲基化可以通过淋巴瘤中相对于正常细胞系DNA的甲基化百分比的大量增加来得到。

Sample	PF Reads Aligned	Reads on Target (%)	Fold Enrichment	Duplicate Reads (%)
NA04671_#1	4,427,673	53.1	654.78	2
NA04671_#2	4,732,482	47.3	583.32	5
NA04671_#3	4,990,449	51.3	632.84	3
NA04671_#4	5,401,533	52.4	646.29	7

富集的亚硫酸氢盐处理的DNA的有效扩增有助于甲基化数据的低技术性误差。从伯基特淋巴瘤细胞系(NA04671)DNA制备的相同文库的四个独立捕获 - 使用3.2 Mb SeqCap Epi选择设计显示高重现性。甲基化数据在重复之间非常好地相关 ($R^2 = 0.98$)。

更多资讯



相关文献

- Adey, A. and Shendure, J. “Ultra-low input, tagmentation-based whole genome bisulfite sequencing” Genome Res. (2012) doi: 10.1101/gr.136242.111
- Maeder, et al. “Nature Biotechnology 2013: Targeted DNA demethylation and activation of endogenous genes using programmable TALE-TET1 fusion proteins” Nature Biotechnology 31 (2013) doi:10.1038/nbt.2726



会议海报

- KAPA HiFi Uracil+: A Novel, High-fidelity Polymerase for Improved Bisulfite Sequencing



技术文档

- KAPA HiFi HotStart Uracil+ ReadyMix, KR0413

订购信息

产品描述	产品货号	KK货号	规格
KAPA Uracil+ 热启动 HiFi 高保真酶 ReadyMix (1.25mL)	07959052001	KK2801	50 反应
KAPA Uracil+ 热启动 HiFi 高保真酶 ReadyMix (6.25mL)	07959079001	KK2802	250 反应



文库定量方案

第六部分

文库定量方案



高准确度地定量可测序的文库分子，对于最大程度地利用新一代测序(NGS)平台的测序能力非常重要。

在NGS样本制备流程的各个阶段中，对连接上接头的文库分子进行高准确度、可重复地定量值得注意的是，文库定量可确保多重测序中标记文库等量混合，且各自的文库或文库池在测序前都被稀释至最佳浓度。低估文库浓度会导致上机测序时成簇过多，而高估文库浓度将导致不能充分利用测序仪的能力。二者均会导致测序总成本增加。

qPCR是NGS文库定量中公认的金标准。其它定量方法，如电泳、荧光及分光光度测定等，由于只能测定总核酸浓度，或者难以检测某些分子种类，通常会造成文库浓度被高估或低估的现象。然而，qPCR则可以高准确度的定量所有用于簇扩增的模板或乳化PCR的接头连接分子。



KAPA文库定量试剂盒

高准确度、可重复的NGS文库定量，需要高效的qPCR酶及批次间一致性可靠的DNA标准品。

NGS文库制备完成后，在混合文库、上机测序之前，高准确度地定量NGS文库，对于在最大程度上经济地使用测序仪的测序能力，非常重要。KAPA文库定量试剂盒为Illumina®及Ion Torrent™平台的测序文库提供了可靠的，基于qPCR技术的定量方案。

KAPA文库定量试剂盒包含了用于qPCR绝对定量的NGS文库扩增所需的所有试剂。包括KAPA SYBR® FAST qPCR Master Mix (不同qPCR设备配备了各自的参比染液)，为不同qPCR仪配置预混合液及预稀释的DNA标准品组。

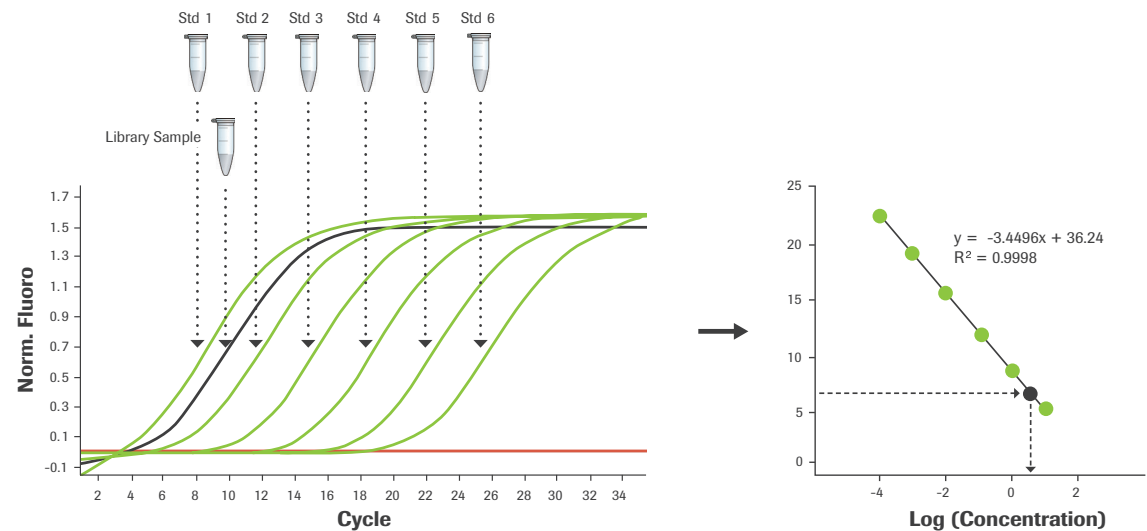
产品特点:

- 能可靠、灵敏地定量所有可被测序的文库分子
- 能高准确度、可重复地定量不同文库类型、不同浓度、不同片段长度分布、不同GC含量的文库分子
- 对于多重测序，确保文库高准确度、等摩尔地混合
- 工作流程灵活，既可支持手动，也可用于高通量的自动化平台

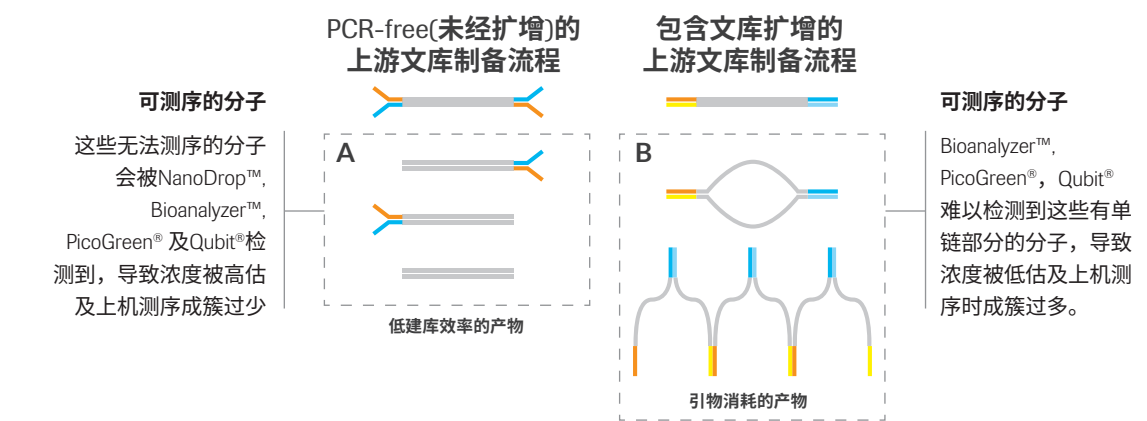


完整的文库定量方案

- 无论是单种NGS文库，还是标签索引的文库池，qPCR绝对定量所需的所有试剂已经包含在试剂盒中
- 标准曲线经过特殊设计，可适用于所有文库构建流程，包括PCR-free的文库构建流程
- 仅定量可被测序的文库分子；对比qPCR方法，其他方法容易低估或者高估文库浓度
- 可从KAPA网站或罗氏生命科学微信公众号获得数据分析模板与帮助



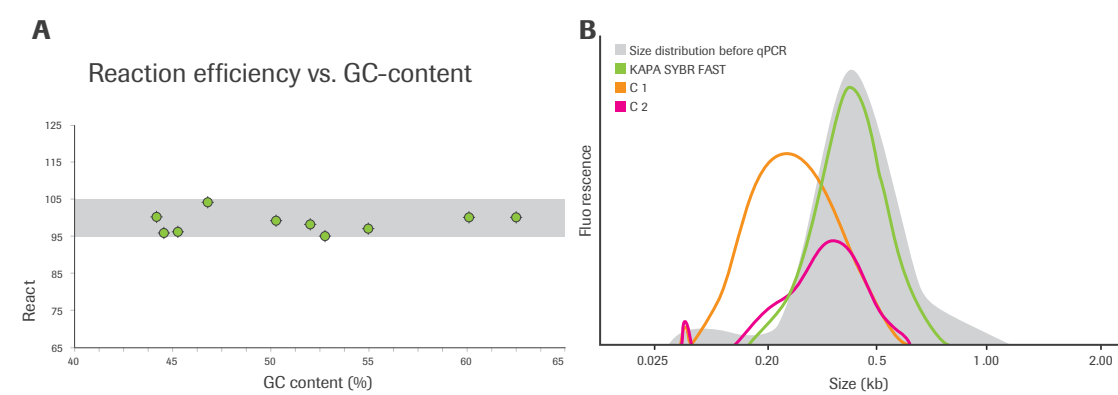
KAPA文库定量试剂盒的工作原理。qPCR的引物，根据平台特异性的文库接头(adapter)序列而设计，同时扩增6个预稀释的、组成浓度梯度的DNA标准品，以及稀释至合适浓度的待定量的NGS文库。将每个已知浓度DNA标准品的平均Cq值作图，生成标准曲线。标准曲线用于将稀释的待测NGS文库的平均Cq值转换为浓度，从而计算出待测文库的工作浓度。



qPCR能高准确度地定量所有可测序分子。(A)文库制备流程中，DNA插入片段和连接接头(adapter)会产生很多连接情况，除了两端皆连接上接头的可以被测序的文库分子，有一些连接情况(虚线框内)不支持后续的成簇扩增，不能被测序。qPCR能仅检测接头连接正确的分子，这对于PCR-free工作流程是特别关键的。分光光度法、荧光法及电泳法会检测所有的双链分子，无论接头的连接情况。(B)过度的文库扩增会导致引物消耗，随后的变性及退火过程会产生不完全退火的部分双链、部分单链的DNA异构体。采用dsDNA结合染料的电泳和荧光检测仅能检测完整的双链DNA片段，导致对过度扩增文库定量的低估。

基因工程改造的KAPA SYBR® FAST DNA聚合酶是高效文库定量的关键

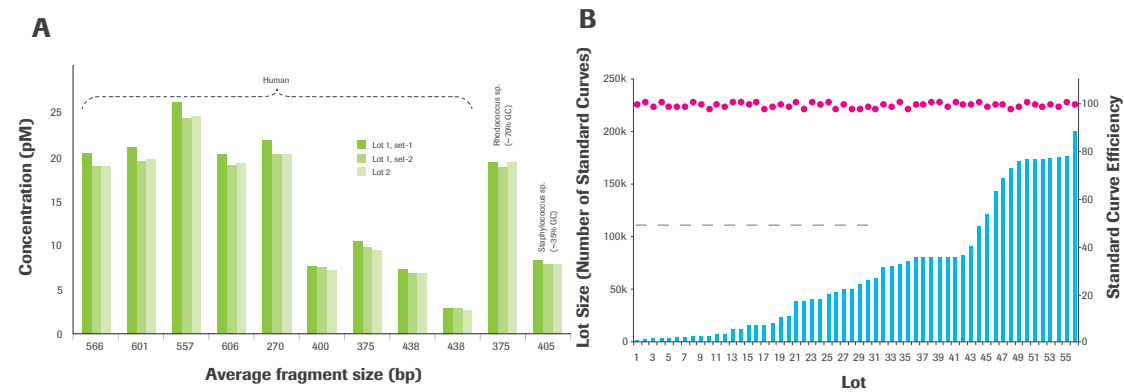
- KAPA SYBR FAST经基因工程改造可对各种DNA片段有相似扩增效率。
- 对比之下，只包含野生型DNA聚合酶的文库定量试剂盒仅能定量“易测(easy)”的文库分子。



KAPA SYBR FAST经改造可用于高效定量文库。(A)用KAPA SYBR FAST对于10个GC含量分布不同的扩增子进行扩增，其扩增效率分布如图。10个扩增子均以相似的效率扩增(在95%-105%的最佳范围内)。这证实了KAPA SYBR FAST是用于扩增异源DNA片段群(如NGS文库)的理想酶。(B)用KAPA SYBR FAST和2种包含野生型Taq聚合酶的竞争试剂盒进行qPCR扩增前(灰色填充)后NGS文库的DNA片段大小分布。反应按以下条件进行：95°C10分钟，然后95°C10秒，60°C45秒，40个循环。KAPA SYBR FAST的定量结果代表了模板DNA(NGS文库)，而用野生型Taq酶的定量结果代表度低。

产品质量可靠，一致性高

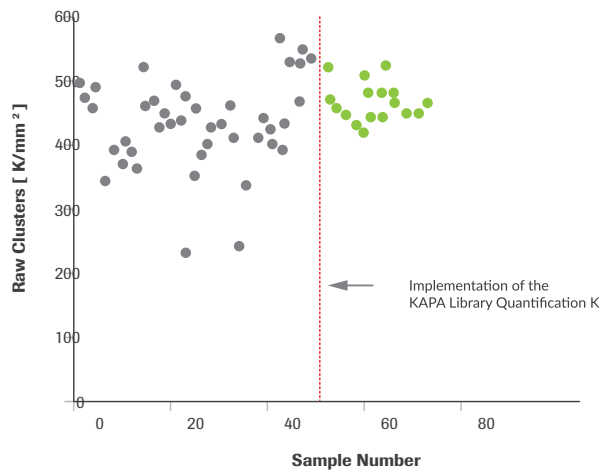
- KAPA SYBR FAST的性能使单套DNA标准品适用于所有类型的NGS文库。
- 预稀释的标准品生产拥有极高的批次间一致性。



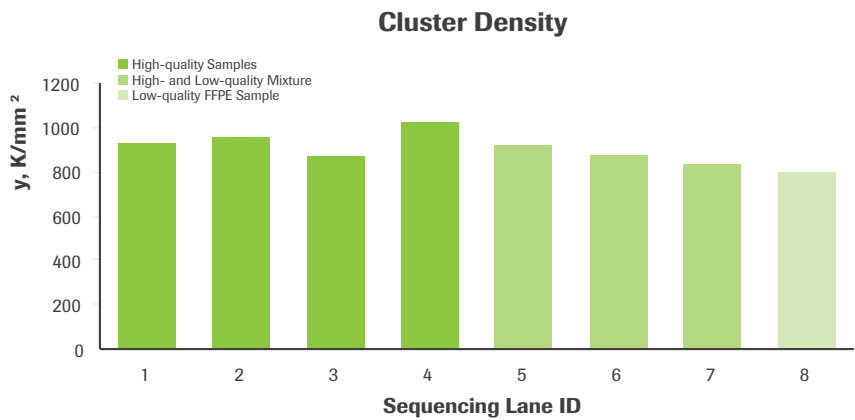
在不同文库类型及多批次产品间表现出高度一致性。(A)对不同批次(批次1和2)及同一批次不同组(第1和第2组)使用KAPA Illumina®平台文库构建试剂盒，定量9个人类WGS文库(41% GC)和两个微生物WGS文库(红球菌属物种，70% GC和葡萄球菌属物种，35% GC)。(B)自2009年9月以来发布的56个连续批次的KAPA DNA标准品的扩增效率。

不同质量的样本，也可得到可重复的成簇密度

- KAPA文库定量，能够实现合理且更好预测的成簇密度，从而最大化利用测序仪的测序能力和测序通量
- 所有文库类型均可获得可靠结果，包括从低质量FFPE DNA样本制备的文库



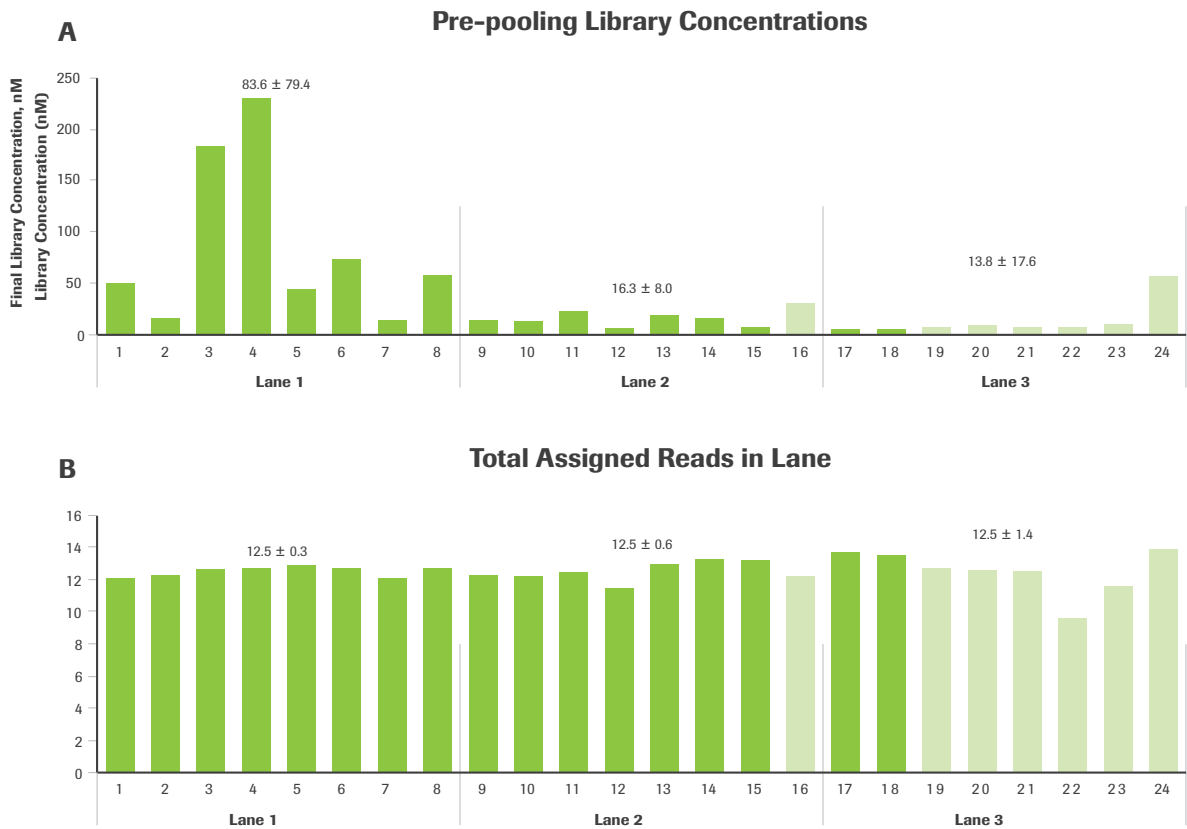
高准确度、可重复的文库定量能使成簇密度达到高度一致。在Broad研究所，在Illumina® GA测序工作流程中应用KAPA文库定量试剂盒显著降低了簇密度的差异性，并消除了滴定的需求。此处展示了连续文库每个tile(每一次测序荧光扫描的最小单位)中簇的平均数目。



高准确度的定量及簇生成与样本类型无关。使用用于Illumina平台的KAPA文库定量试剂盒，通过qPCR对从高质量人类基因组DNA或低质量FFPE DNA，及相同样本类型制备组成的文库池进行定量。

改进的多重测序文库混合

- 不论文库混合前的浓度，经过高准确度、灵敏地定量，能实现标签序列标记的文库，等摩尔混合，再上机测序
- 文库混合池中不同文库的测序片段均一分布，优化测序成本



高准确度和灵敏的定量能使多重测序库中Reads均匀分布。使用用于Illumina平台的KAPA文库定量试剂盒，通过qPCR来定量从高质量人类基因组DNA(深色条)或FFPE DNA(浅色条)制备的24个有标签序列的文库，并组合成为三个等摩尔浓度的测序池。在HiSeq 2500测序仪相同flow cell的不同泳道中对每个测序池进行测序。(A)24个不同文库(标号1~24)代表了约44倍范围的预混合浓度(5.2 nM至229.8 nM)，而测序read分布(B)仅在9.6%至13.9%之间变化。在泳道1、2、3中用于测序的预混合文库浓度的变异系数(CV)分别为94.9%、49.4%和127.9%。KAPA文库定量试剂盒能够进行高准确度的等摩尔混合，在标准化后CV降低至2.5%、4.8%和11.2%。

更多资讯



相关文献

- Frampton, et al. Development and validation of a clinical cancer genomic profiling test based on massively parallel DNA sequencing. Nature Biotechnology 31 (2013) doi:10.1038/nbt.2696Posters



会议海报

- Implementation of the KAPA Library Quantification Kit at the Broad Institute Leads to Streamlined Workflows and Reduced Cluster Density Variability
- Novel improvements to the Illumina® TruSeq® Indexed Library Construction, Amplification and Quantification Protocols for Optimized Multiplexed SequencingTechnical



技术文档

- KAPA文库定量试剂盒(用于Illumina)技术数据表, KR0405
- KAPA文库定量试剂盒(用于IonTorrent)技术数据表, KR0407
- KAPA文库定量数据分析模板(用于Illumina)
- KAPA文库定量技术指南
- qPCR设备兼容性指南

产品信息

产品描述	产品货号	KK货号	qPCR 仪器
KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/通用型)	07960140001	KK4824	Universal
KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/ABI)	07960204001	KK4835	ABI Prism®
KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/BioRad)	07960255001	KK4844	Bio-Rad iCycler™
KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/LC480)	07960298001	KK4854	Roche LightCycler® 480
KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/通用型)	07960158001	KK4827	Universal
KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/ABI)	07960212001	KK4838	ABI Prism
KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/BioRad)	07960263001	KK4847	Bio-Rad iCycler
KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/LC480)	07960301001	KK4857	Roche LightCycler® 480
KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/ROX Low)	07960336001	KK4873	500反应
KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/ROX Low)	07960344001	KK4874	500反应

KAPA产品手册附录

Roche 产品货号	Kapa 产品货号	产品名称（中文）	产品名称（英文）	页码
07960590001	KK4960	KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (通用型，300个反应)	hgDNA Quant Kit (Uni, 300 rxn)	10
07960603001	KK4961	KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (ABI，300个反应)	hgDNA Quant Kit (ABI, 300 rxn)	10
07960611001	KK4962	KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (BioRad，300个反应)	hgDNA Quant Kit (BioRad, 300 rxn)	10
07960689001	KK4969	KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (ROX Low，300个反应)	hgDNA Quant Kit (ROX Low, 300 rxn)	10
07960620001	KK4963	KAPA hgDNA 定量和质控试剂盒 (LC480，300个反应)	hgDNA Quant Kit (LC480, 300 rxn)	10
07961863001	KK8230	KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (8个反应)	KAPA LTP Lib Prep Kit (8 rxn)	18
07961880001	KK8232	KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (48个反应)	KAPA LTP Lib Prep Kit (48 rxn)	18
07961901001	KK8234	KAPA DNA HTP 文库构建试剂盒 (96个反应)	KAPA HTP Lib Prep Kit (96 rxn)	18
07961871001	KK8231	KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，8个反应)	KAPA LTP Lib Prep Kit PCR-free (8 rxn)	18
07961898001	KK8233	KAPA DNA LTP 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，48个反应)	KAPA LTP Lib Prep Kit PCR-free (48 rxn)	18
07961910001	KK8235	KAPA DNA HTP 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，96个反应)	KAPA HTP Lib Prep Kit PCR-free (96 rxn)	18
07962312001	KK8500	KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (8个反应)	KAPA Hyper Prep (8 rxn)	24
07962347001	KK8502	KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (24个反应)	KAPA Hyper Prep (24 rxn)	24
07962363001	KK8504	KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (96个反应)	KAPA Hyper Prep (96 rxn)	24
07962339001	KK8501	KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，8个反应)	KAPA Hyper Prep PCR-free (8 rxn)	24
07962355001	KK8503	KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，24个反应)	KAPA Hyper Prep PCR-free (24 rxn)	24
07962371001	KK8505	KAPA DNA Hyper 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，96个反应)	KAPA Hyper Prep PCR-free (96 rxn)	24
07962380001	KK8510	KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (8个反应)	KAPA HyperPlus (8 rxn)	32
07962401001	KK8512	KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (24个反应)	KAPA HyperPlus (24 rxn)	32
07962428001	KK8514	KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (96个反应)	KAPA HyperPlus (96 rxn)	32
07962398001	KK8511	KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，8个反应)	KAPA HyperPlus PCR-free (8 rxn)	32
07962410001	KK8513	KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，24个反应)	KAPA HyperPlus PCR-free (24 rxn)	32

KAPA产品手册附录

Roche 产品货号	Kapa 产品货号	产品名称（中文）	产品名称（英文）	页码
07962436001	KK8515	KAPA DNA HyperPlus 文库构建试剂盒 (不含文库扩增，96个反应)	KAPA HyperPlus PCR-free (96 rxn)	32
07962142001	KK8400	KAPA Stranded RNA-Seq 文库构建试剂盒 (24个反应)	KAPA Stranded RNA-Seq Kit (24 rxn)	42
07962169001	KK8401	KAPA Stranded RNA-Seq 文库构建试剂盒 (96个反应)	KAPA Stranded RNA-Seq Kit (96rxn)	42
07962193001	KK8420	KAPA Stranded mRNA-Seq 文库构建试剂盒 (24个反应)	KAPA Stranded mRNA-Seq Kit (24 rxn)	42
07962207001	KK8421	KAPA Stranded mRNA-Seq 文库构建试剂盒 (96个反应)	KAPA Stranded mRNA-Seq Kit (96 rxn)	42
07962282001	KK8483	KAPA RNA-Seq 文库构建试剂盒+RiboErase 核糖体RNA去除（人/大鼠/小鼠）(24个反应)	KAPA RNA-Seq+RiboErase HMR (24 rxn)	47
07962304001	KK8484	KAPA RNA-seq 文库构建试剂盒+RiboErase核 糖体RNA去除（人/大鼠/小鼠）(96个反应)	KAPA RNA-seq+RiboErase HMR (96 rxn)	47
08098093702	KK8540	KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒 (24个反应)	KAPA RNA Hyper Prep (24rxn)	56
08098107702	KK8541	KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒 (96个反应)	KAPA RNA Hyper Prep (96rxn)	56
08098115702	KK8580	KAPA mRNA Hyper 文库构建试剂盒 (24个反应)	KAPA mRNA Hyper Prep (24rxn)	56
08098123702	KK8581	KAPA mRNA Hyper 文库构建试剂盒 (96个反应)	KAPA mRNA Hyper Prep (96rxn)	56
08098131702	KK8560	KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒+RiboErase 核糖体RNA去除（人/大鼠/小鼠）(24个反应)	KAPA RNA Hyper+RiboErase HMR (24rxn)	56
08098140702	KK8561	KAPA RNA Hyper 文库构建试剂盒+RiboErase 核糖体RNA去除（人/大鼠/小鼠）(96个反应)	KAPA RNA Hyper+RiboErase HMR (96rxn)	56
08005699001	KK8700	KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A+B 30 μM	KAPA SI Adapter Kit Set A+B 30 μM	63
08005702001	KK8701	KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A 30 μM	KAPA SI Adapter Kit Set A 30 μM	63
08005729001	KK8702	KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set B 30 μM	KAPA SI Adapter Kit Set B 30 μM	63
08005770001	KK8710	KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A+B 1.5 μM	KAPA SI Adapter Kit Set A+B 1.5 μM	63
08005788001	KK8711	KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set A 1.5 μM	KAPA SI Adapter Kit Set A 1.5 μM	63
08005796001	KK8712	KAPA 单端标记 接头试剂盒 Set B 1.5 μM	KAPA SI Adapter Kit Set B 1.5 μM	63
08278555702	KK8722	KAPA 双端标记 接头试剂盒 (15 μM)	KAPA Dual-Indexed Adapter Kit 15 μM	63
07983271001	KK8000	KAPA 纯化磁珠 (5mL)	KAPA Pure Beads (5 mL)	65
07983280001	KK8001	KAPA 纯化磁珠 (30mL)	KAPA Pure Beads (30 mL)	65

KAPA产品手册附录

Roche 产品货号	Kapa 产品货号	产品名称（中文）	产品名称（英文）	页码
07983298001	KK8002	KAPA 纯化磁珠 (60mL)	KAPA Pure Beads (60 mL)	65
07958951001	KK2611	KAPA 文库扩增试剂盒 (1.25mL)	KAPA Lib Amp Kit (50 rxn)	75
07958978001	KK2620	KAPA 文库扩增试剂盒+引物 (50个反应)	KAPA Lib Amp Kit+Primer (50 rxn)	75
07958986001	KK2621	KAPA 文库扩增试剂盒+引物 (250个反应)	KAPA Lib Amp Kit+引物 (250 rxn)	75
07959028001	KK2702	KAPA 实时文库扩增试剂盒 (250个反应)	KAPA RT Lib Amp Kit (250 rxn)	75
07959052001	KK2801	KAPA Uracil+ 热启动 HiFi 高保真酶 ReadyMix (1.25mL)	KAPA HiFi HS Uracil+ RM (1.25ml)	80
07959079001	KK2802	KAPA Uracil+ 热启动 HiFi 高保真酶 ReadyMix (6.25mL)	KAPA HiFi HS Uracil+ RM (6.25ml)	80
07960140001	KK4824	KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/通用型)	Lib Quant Kit (Illumina/Uni)	90
07960204001	KK4835	KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/ABI)	Lib Quant Kit (Illumina/ABI)	90
07960255001	KK4844	KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/BioRad)	Lib Quant Kit (Illumina/BioRad)	90
07960298001	KK4854	KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/LC480)	Lib Quant Kit (Illumina/LC480)	90
07960158001	KK4827	KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/通用型)	Lib Quant Kit (Ion/Uni)	90
07960212001	KK4838	KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/ABI)	Lib Quant Kit (Ion/ABI)	90
07960263001	KK4847	KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/BioRad)	Lib Quant Kit (Ion/BioRad)	90
07960301001	KK4857	KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/LC480)	Lib Quant Kit (Ion/LC480)	90
07960336001	KK4873	KAPA 文库定量试剂盒 (Illumina/ROX Low)	Lib Quant Kit (Illumina/ROX Low)	
07960344001	KK4874	KAPA 文库定量试剂盒 (Ion Torrent/ROX Low)	Lib Quant Kit (Ion Torrent/ROX Low)	



寻求技术支持, 请访问 sequencing.roche.com/support

 @KapaBiosystems  KapaBiosystems  KapaBiosystems

出版方:

Roche Sequencing Solutions, Inc.
4300 Hacienda Drive
Pleasanton, CA 94588
www.kapabiosystems.com

© 2017 Roche Sequencing Solutions, Inc.

KAPA, SeqCap 与 LightCycler 为罗氏商标。所有商标均为其各自所有者的财产
仅限研究使用。请勿用于诊断用途。文件数据。

罗氏诊断产品(上海)有限公司

上海
中国(上海)自由贸易试验区希雅路330号
7号厂房第二层 1 部位
电话: 021-3397 1000
传真: 021-3397 1888
邮编: 200131

北京
北京市东长安街1号东方广场
东方经贸城中一办公楼七室
电话: 010-8515 4100
传真: 010-8515 4188
邮编: 100738

广州
广州市环市东路403号
广州国际电子大厦25楼
电话: 020-8713 2600
传真: 020-8713 2700
邮编: 510095

免费服务热线: 800 820 8864 400 820 8864