

アジレント HaloPlex ターゲットエンリッチメントシステム Ion PGM対応キット

必要なものリスト

06-10-14

2014年10月

この必要なものリストは、gDNAを出発材料として、HaloPlex試薬を用いて、ターゲット領域をキャプチャ、濃縮するまでの過程に必要な試薬と器具類をまとめたものです。シーケンシングに必要な物は、ライフテクノロジーズ社にお問い合わせください。

※指定: 必ず指定されたものをご使用ください。指定品以外を使用した場合は保証の対象外になります。

※推奨: 安定した結果を得るために、推奨品の使用をお奨めします。推奨品以外の製品を使用した場合、アプリケーションサポートの対象外になります。

※相当: コメント欄に記載された条件を満たすものなら、何を使用されてもかまいません。

<必要な試薬類>

品名	製造メーカー	品番	指定/ 推奨/ 相当品	必要量/1反 応あたり	内容量	備考
HaloPlex 試薬キット						
HaloPlex Target Enrichment System Kit (下記から選択してください)						
1 - 250 kb, Ion PGM対応, 48 reactions	Agilent	G9902C	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
1 - 250 kb, Ion PGM対応, 96 reactions	Agilent	G9902B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
251 kb - 2.5 Mb, Ion PGM対応, 48 reactions	Agilent	G9912C	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
251 kb - 2.5 Mb, Ion PGM対応, 96 reactions	Agilent	G9912B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
Cancerリサーチパネル, Ion PGM対応, 16 reactions	Agilent	G9904A	—	1	16反応分	16反応分、マルチプレックス対応
Cancerリサーチパネル, Ion PGM対応, 96 reactions	Agilent	G9904B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
心筋症リサーチパネル, Ion PGM対応, 16 reactions	Agilent	G9909A	—	1	16反応分	16反応分、マルチプレックス対応
心筋症リサーチパネル, Ion PGM対応, 96 reactions	Agilent	G9909B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq AML Halo, Ion PGM対応, 16 reactions	Agilent	G9914A	—	1	16反応分	16反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq AML Halo Ion PGM対応, 96 reactions	Agilent	G9914B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
* SureDesignでオーダーしたデザインIDと、納品されたライブラリのデザインIDが同じであることを確認してください。						
その他の試薬						
Herculase II Fusion Enzyme with dNTPs (100 mM; 25 mM for each nucleotide)	Agilent	600677 または600679	指定		600677 - 200 反応分, 600679 - 400反応分	600675 (40反応)にはdNTPが付属しません。600 675を使用する場合には別途100 mM dNTP (Agilent, 200415)の購入が必要です。
AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter	A63880 または A6 3881	指定	60 uL	A63880 - 5 mL, A63881 - 60 mL	
Quant-iT dsDNA BR Assay Kit, Qubit 2.0 fluorometer 用	Life Technologies	Q32850 またはQ32 853	指定		Q32850 - 100 assays, Q32853 - 500	
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Life Technologies	AM9930	相当	約2 mL	500 mL	DEPC処理ではないこと
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当			98%以上、分子生物学用グレード 他の 有機溶剤のコンタミネーションがないこと
70% Ethanol (for SPRI clean-up), molecular biology grade				0.5 mL		
2M Acetic Acid	Sigma Aldrich	A8976	相当	0.5 uL	500 mL	
10 M NaOH	Sigma Aldrich	72068-100ML	相当		100 mL	分子生物学実験用グレード
50 mM NaOH (用事調製)				25 uL		10Mのストック溶液から用事調製
1 M Tris-HCl, pH8.0	Sigma Aldrich	T3038-1L	相当		1 L	分子生物学実験用グレード、Tris-acetate pH 8.0でも可
10 mM Tris-HCl (pH 8.0)				40 uL		

<必要な機器、消耗品類>

品名	製造メーカー	品番	指定/ 推奨/ 相当品	必要量	内容量	備考
Agencourt SPRIPlate Super Magnet Plate (96ウェルプレート用) または日本ジェネティクス FG-SSMAG2 (8連チューブ用)	Beckman Coulterまたは 日本ジェネ ティクス	96ウェルプレート用 A32782, 8連チューブ用 FG- SSMAG2	相当	1		8連チューブで実験する場合、8連チュ ーブが独立で固定できるもの (日本ジ ェネティクス FG-SSMAG2)
Qubit 2.0 fluorometer	Life Technologies	Q32866	推奨			スタート時のgDNAをできるだけ正確に定 量するために用います。
Qubit assay tubes	Invitrogen	Q32856				QubitでgDNAを正確に定量するために用 います。
Agilent SureCycler 8800	Agilent	G8800A (本体) G8810A (96 well ブロック)	相当			96ウェルタイプのサーマルサイクラー、 反応液量を100 ul以上に設定できるタイプ
Compression Mat	Agilent	410187	SureC ycler使 用時は 指定			サーマルサイクラーにあわせて選択
Mx3000P/Mx3005P 96-well tube plate	Agilent	401333	相当	Plate 2枚	25プレート	サーマルサイクラーの機種にあわせて選 択
Adhesive seal	Agilent	410186	相当	Seal 2枚	100 枚	96ウェルプレート用の粘着シール、サー マルサイクラーおよびプレートにあわせて選 択
Dynal DynaMag-2	Life Technologies	123-21D	相当			1.5 - 2mL 遠心チューブ 16本立ての磁気ビーズ用磁石スタンド、ビ ーズのウォッシュに使用
0.2 ml 8 strip tube with flat caps	Nippon Genetics	FG-088WF	相当	5 strips	120本	サーマルサイクラーの機種にあわせて選 択
DNA LoBind チューブ, 1.5ml PCR clean, 250 pieces	Eppendorf	95295-0030 108.051	相当		250本	マスターミックスの作成やビーズのwashに 使用します。
ピペット	Eppendorf	P10,P20,P200,P100 n	相当			
マルチチャンネルピペット	Eppendorf	0.5 - 10 uL, 10 - 100 uL	相当			ハイブリダイゼーションの準備、ビーズ精 製などで使用します
ピペットチップ 滅菌、Nuclease- Free, エアロゾルブロックフィルター付き						
パウダーフリー手袋 SAFE SKIN グローブ PRE (S, M, L サイズ)	Kimberly-Clark	220, 330, 440 (S, M, Lサイズ)	相当			
卓上遠心機	WWR	93000-196	相当			1.5 mLチューブ、8連チューブに 対応した卓上遠心機。 別々に2台でも可。
卓上プレート遠心機	Labnet Internatinal	MPS 1000	相当			96ウェルPCRプレートのスピンドウンがで きれば可
アイスバケツ						
タイマー						
ボルテックスミキサー						

<問い合わせ先>アジレント・テクノロジー株式会社

＜サンプルQCのために以下2オプションのうちから1つを選んでご準備いただく装置・消耗品＞

品名	製造メーカー	品番	指定/ 推奨/ 相当品	必要量	内容量	備考
オプション1 バイオアナライザによる測定						
2100 Bioanalyzer	Agilent		指定			コントロールDNAの制限酵素処理結果の確認および最終的なライブラリのサイズ・濃度の確認に用います。エキスパートソフトウェアVer B02.07 以降が必要です
High Sensitivity DNA kit	Agilent	5067-4626	指定	2ラン	10ラン分	1ランで最大11サンプルまで流すことができます。エキスパートソフトウェアVer B02.07 以降が必要です
オプション2 テープステーションによる測定						
2200 TapeStation System	Agilent	G2964AA または G2965AA	指定			DNAの定性または定量に使用することができます。
High Sensitivity D1000 ScreenTape キット	Agilent	5067-5584	指定	2ラン	7枚	1枚で16サンプル測定できます。
High Sensitivity D1000 試薬キット	Agilent	5067-5585	指定	2ラン		
Genomic DNA ScreenTape キット	Agilent	5067-5365	指定	1ラン	7枚	1枚で最大15サンプル測定できます。
Genomic DNA 試薬キット	Agilent	5067-5366	指定	1ラン		スタート時のgDNAの分解度評価に、アガロースゲル電気泳動の代わりに使用できます。
オプション ゲル電気泳動による測定 *						
Xcell SureLock Mini-Cell	Life Technologies	EI0001	指定			
Novex 6% Polyacrylamide, TBE Pre-cast Gels	Life Technologies	EC62655BOX	指定	1ラン		
Novex TBE Running Buffer, 5x	Life Technologies	LC6675	指定			
Novex High-density TBE Aample Buffer, 5X	Life Technologies	LC6678	指定			
GelRed Nucleic Acid Stain, 3x in water	Biotium	41001	指定			
DNA molecular weight markers						一般的なものでも可
UV-transilluminator						一般的なものでも可

* 制限酵素消化の確認目的ではゲル電気泳動も利用可能です。最終のライブラリ産物の確認にはバイオアナライザまたはテープステーションが必要です。