

アジレント SureSelect QXT ターゲットエンリッチメントシステム

イルミナ マルチプレックスシーケンス対応に必要なもの

Version D.0 対応

2016/4/27

※SureSelect QXTには全ゲノムシーケンス用ライブラリ調製キットとターゲットエンリッチメント用試薬キットがあります。

このリストはターゲットエンリッチメント用であり、全ゲノムシーケンス用とは異なります。

全ゲノムシーケンス用ライブラリ調製を実施する場合、別資料をご覧ください。

※SureSelectターゲットエンリッチメントシステムは、キャプチャライブラリ(プローブ)とその他の試薬キットを別々に購入いただく構成となっています。必ず、試薬キットとキャプチャライブラリキットの両方をご購入ください。

この必要なものリストは、gDNAのQCをして断片化・アダプタ付加の後、SureSelect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で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、イルミナ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。指定品以外を使用され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
SureSelect QXT 試薬キット						
SureSelect QXT Reagents, 16反応, イルミナ対応	Agilent	G9681A	-	1	16反応分	
SureSelect QXT Reagents, 96反応, イルミナ対応	Agilent	G9681B	-	1	96反応分	
SureSelect QXT Reagents, 16rxn, イルミナNextSeq対応	Agilent	G9683A	-	1	16反応分	
SureSelect QXT Reagents, 96rxn, イルミナNextSeq対応	Agilent	G9683B	-	1	96反応分	
その他の試薬						
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
AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter	A63880	指定	162 uL	5 mL	大容量タイプ(A63881 60mL, A63882 450mL)もあります。
Dynabeads MyOne Streptavidin T1	Life Technologies (ベリタス)	65601	指定	50 uL	2 mL	大容量タイプ(65602 10mL)もあります。
1xLow TE Buffer (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1mM EDTA)	Life Technologies	12090-015	相当		100 mL	最後のライブラリのプール時に必要であれば使用します。
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Life Technologies	AM9930	相当		500 mL	DEPC処理ではないこと
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当			96%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				1.2 mL		上記99.5% Ethanolから調製します
Qubit dsDNA BR Assay Kit	Life Technologies	Q32850	指定			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 dsDNA HS Assay Kit	Life Technologies	Q32851	指定			BRアッセイでは感度が足りないgDNAをできるだけ正確に定量するために用います。

※オプション品となります。必要に応じてご利用ください						
Agilent QPCR NGSライブラリ定量キット(イルミナGA)	Agilent	G4880A	推奨	1ラン	5ラン分	1ランで最大21サンプルまで定量することができます。
※お持ちの電気泳動装置に応じ、TapeStation用もしくはバイオアナライザ用、いずれかの消耗品をご用意下さい。						
Agilent 4200 / 2200 TapeStation消耗品						
Agilent TapeStation D1000 Screen Tape	Agilent	5067-5582	指定	1ラン	7枚	1枚で16サンプル測定できます。
Agilent TapeStation D1000 試薬キット	Agilent	5067-5583	指定	1ラン		
Agilent TapeStation High Sensitivity D1000 Screen Tape	Agilent	5067-5584	指定	1ラン	7枚	1枚で16サンプル測定できます。
Agilent TapeStation High Sensitivity D1000 試薬キット	Agilent	5067-5585	指定	1ラン		
Agilent TapeStation Genomic DNA ScreenTape	Agilent	5067-5365	推奨	1ラン	7枚	1枚で最大15サンプル測定できます。
Agilent TapeStation Genomic DNA 試薬キット	Agilent	5067-5366	推奨	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。
Agilent 2100 バイオアナライザ消耗品						
Agilent DNA 1000 kit	Agilent	5067-1504	指定	1ラン	25ラン分	
Agilent High Sensitivity DNA kit	Agilent	5067-4626	指定	1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。

※ 各製品について、それぞれの大容量タイプはご利用いただけます。

<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
いずれかの電気泳動装置をご利用下さい。						
Agilent 4200 TapeStation System	Agilent	G2991AA	指定			DNAの定性または定量に使用することができます。
Agilent 2200 TapeStation	Agilent	G2964AAまたは G2965AA	指定			DNAの定性または定量に使用できます
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2943CA	指定			DNAの定性または定量に使用できます。 Expert Software B.02.07以降が必要
Qubit®2.0 Fluorometer	Life Technologies	Q32866	指定			スタート時のgDNAを正確に定量するために使用
サーマルサイクラー	Agilent	SureCycler	相当			プロトコルに記載のハイブリ条件で、 30 µLの液が26 µL以下まで蒸発しないこと (HotTop使用)
MS3 デジタル (96ウェルプレート対応ミキサー)	IKA	0003319000	相当			ストレプトアビジンビーズ溶液がウェル内によく 混ざるように、1,800 rpm程度でMix可能 なもの。フルスカート以外のPCRプレートや8連 チューブで使用する場合は別売りのPCRプ レートアタッチメントが必要。
MS3.5 96ウェルプレート用アタッチメント	IKA	0003428000	相当			フルスカート以外のPCRプレートや8連チューブ 使用時に上記MS3デジタルに装着して使用
DynaMag-96 Side skirted (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)	Life Technologies または 日本ジェネ ティクス	96ウェルプレ ート用 120-27, 8連チューブ用 FG-SSMAG2	相当			96ウェルプレート用マグネット。リング状に磁性 ビーズが集まるタイプではなくウェルの一方に 磁性ビーズが集まるタイプを推奨。8連チュー ブで実験をする場合、8連チューブが独立して 固定できるもの(日本ジェネティクス FG- SSMAG2など)。
Mx3000P/Mx3005P 96-well tube plates またはoptical strip tubes	Agilent	410088 または 410092	相当		Tube 120 本 Plate 25 枚	使用するサーマルサイクラに対応した消耗品 をご使用下さい
Tube cap strips, domed	Agilent	410096	相当		120本	使用するサーマルサイクラに対応した消耗品 をご使用下さい
MicroAmp Clear Adhesive Film	Life Technologies	4306311	相当		100 films	96ウェルプレートを使用する場合、キャップの 代わりにシールを用いることもできますが、ハ イブリの際に液が蒸発してしまわないか事前 にチェックして下さい
Tube-strip capping tool			相当			PCRチューブのキャップを確実に密閉するため
DNA LoBind チューブ, 1.5ml PCR clean, 250 pieces	Eppendorf	95295-0030 108.051	相当		250本	核酸の吸着が少ないLoBindタイプを使用くだ さい。
Qubit assay tubes	Life Technologies	Q32856				QubitでgDNAを正確に定量するために用いま す。
ピペット	Pipetman	P10,P20,P200, P1000	相当			
マルチチャンネルピペット	Rainin	L12-20	相当			SureSelectのハイブリダイゼーションを多検体 に対して同時に行うときに便利です
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			
アイスバケツ						
タイマー						
ボルテックスミキサー						
卓上遠心器	日本ミリポア	チビタンII	相当			
8連チューブ用遠心器	和研ピーテック	プチハチ	相当			8連チューブを使用する場合スピンドウンに必 要
96ウェルプレート 遠心器	KUBOTA	PlateSpin II	相当			96ウェルプレートを使用する場合スピンドウン に必要

オプション品となります。必要に応じてご利用ください						
濃縮遠心機 (96well plate用ローター付き)	Savant	SC210A	相当			gDNAサンプルが100 ng/uLより低濃度である場合、濃縮の必要があります
Mx3005P リアルタイム定量PCRシステム	Agilent	401449	相当			キャプチャされたDNAライブラリを正確に定量するために用います。

<問い合わせ先>アジレント・テクノロジー株式会社