

アジレントCGH・CGH+SNPアレイ実験に必要なもの (CGH酵素法プロトコルv7.3以降対応)

(2015年10月作成)

対応マイクロアレイフォーマット：1x244K, 1x1M, 2x105K, 2x400K, 4x44K, 4x180K, 8x15K, 8x60K

※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。

※相当：備考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。

問い合わせ先：アジレント・テクノロジー株式会社 (電話 0120-477-111)

青文字はAgilent製品です。*は必要に応じてご準備ください。

■ 器具類

品名	製造メーカー	品番	指定/推奨/相当	必要数	1キット容量	備考
P10, P20, P200, P1000 マイクロピペット	Pipetman	P10, P20, P200, P1000	相当			例：1-10μL, 10-100μL, 100-1000μL
Steatile, nuclease-free aerosol barrier ピペットチップ			相当			使用するマイクロピペットに適合するもの。滅菌済み、nuclease-free、エアロソールバリアのもの。
パウダーフリー手袋 SAFE SKINグローブPRE	Kimberly Clark	(S) 220 (M) 330 (L) 440	相当			アレイスライドの洗浄工程以外に使用。パウダーフリーのもの。
クリーンガード ブルーニトリルグローブ	Kimberly Clark	(S) 57371 (M) 57372 (L) 57373	相当			アレイスライドの洗浄工程に使用。事前にビーカーに入れたWash buffer1で手袋を洗い、手袋から垂れるbufferが白濁していないこと、ビーカー内のbufferに微粒子がないことを確認してください。ニトリルグローブとフラットピンセット33Aのどちらかをアレイの洗浄ステップで使用することをお勧めします
1.5mL RNase-free Microfuge Tube (98℃に耐性のあるもの)	Ambion	AM12400	相当			制限酵素・ラベル化反応・ハイブリダイゼーションや、マスターミックス調製などに使用
200 μL Thin-Wall Tube	Agilent	410091	相当			制限酵素・ラベル化・ハイブリダイゼーションの作業にてサーマルサイクラーを使用する場合必要
E-Gel PowerBase v.4 †	Life Technologies	G6200-04	指定	1		† Life Technologies E-gel使用時に必要
E-Gel Opener †	Life Technologies	G5300-01	指定	1		† Life Technologies E-gel使用時に必要
UV-Transilluminator with SYBR Safe photographic filter	Alpha Innotech	AlphaImager 2000	相当	1		染色した電気泳動ゲルの検出に使用
SYBR photographic filter	Life Technologies	S7569	指定	1		染色した電気泳動ゲルの検出に使用
Qubit Fluorometer **	Life Technologies	Q32857	指定	1		**オプション： 二本鎖DNAを高い選択性で定量できる、蛍光を原理とした定量方法であればよい。
Thin wall, clear 0.5mL PCR tube **	Life Technologies	Q32856	指定			**オプション：Qubit測定に使用
	VWR	10011-830	指定			
UV-VIS Spectrophotometer	NanoDrop	NanoDrop 8000 もしくは 2000	相当	1		サンプルゲノムDNAの品質確認や、増幅DNA・ラベル化DNAの測定に使用。230 nm, 260 nm, 280 nmの吸光が測定できるもの。(220-320 nmの連続スキャンができるものが望ましい)
サーマルサイクラー (ふたを加熱できるもの)	Agilent	G8800A	相当	1		
高速遠心機	Eppendorf	5430	相当	1		1.5 mL遠心チューブを遠心できるもの

vacuum concentrator **	Thermo Scientific	DNA120-115	相当	1	++ マイクロアレイのフォーマットに依りて準備が必要 (4x, 8x フォーマットには必要) また増幅法実施時、増幅DNA濃度が低い場合にも使用。 左記装置以外を使用する際は、予め長時間連続使用時に発熱しないことや、ロータに(壁面に底が接することなく)チューブが入ることを確認してください。
タイマー			相当	1	
ボルテックスミキサ			相当	1	
アイスバケツ			相当	1	
Sterile storage bottle **	Nalgen	455-1000	相当	1	**オプション： Agilent Oligo aCGH/ChIP-on-Chip Wash Buffer 2を37度で予め加温する際に必要に応じて使用
循環温浴槽 もしくはヒートブロック	Eppendorf	5355-000-011	相当	0~3	ゲノムDNA抽出時は56℃で使用。 制限酵素・ラベル化反応で使用するとき*は37度・65度・98度で使用。 (*サーマルサイクラーで代用可) ハイブリダイゼーションでは、使用する反応容器に依存(日本語プロトコルp.38参照)
1x244K, 1x1M アレイフォーマット用 ガスケットスライド	Agilent	G2534-60003	指定	5個	1x1M, 244Kフォーマット用(5個セット)
	Agilent	G2534-60008	指定	20個	1x1M, 244Kフォーマット用(20個セット)
	Agilent	G2534-60005	指定	100個	1x1M, 244Kフォーマット用(100個セット)
2x105K, 2x400K アレイフォーマット用 ガスケットスライド	Agilent	G2534-60002	指定	5個	2x105K, 2x400Kフォーマット用(5個セット)
	Agilent	G2534-60009	指定	20個	2x105K, 2x400Kフォーマット用(20個セット)
	Agilent	G2534-60006	指定	100個	2x105K, 2x400Kフォーマット用(100個セット)
4x44K, 4x180K アレイフォーマット用 ガスケットスライド	Agilent	G2534-60011	指定	5個	4x180K, 4x44Kフォーマット用(5個セット)
	Agilent	G2534-60012	指定	20個	4x180K, 4x44Kフォーマット用(20個セット)
	Agilent	G2534-60013	指定	100個	4x180K, 4x44Kフォーマット用(100個セット)
8x15K, 8x60K アレイフォーマット用 ガスケットスライド	Agilent	G2534-60014	指定	5個	8x60K, 8x15Kフォーマット用(5個セット)
	Agilent	G2534-60015	指定	20個	8x60K, 8x15Kフォーマット用(20個セット)
	Agilent	G2534-60016	指定	100個	8x60K, 8x15Kフォーマット用(100個セット)
マイクロアレイスライドケース **	Corning	40082	相当	1	**オプション： 開封後のマイクロアレイを保存するための密閉容器。 最大5枚保存可能なタイプ。 (開封後マイクロアレイは真空デシケータ内もしくは窒素バージした密閉容器内での保存推奨)
プラスチック製ピンセット	Agilent		指定	1	ハイブリチャンバとともに納品
ハイブリダイゼーションオープン	Agilent	G2545A	指定	1	20rpm、67℃で使用 別途専用ロータが必要。(下記)
ハイブリダイゼーションオープンロータ	Agilent	G2530-60029	指定	1	最大24ハイブリダイゼーションチャンバまで載せることができます。
オリゴDNAマイクロアレイ用ハイブリダイゼーションチャンバ	Agilent	G2534A	指定	2~	1スライドガラスに1つ必要。ロータのバランスのため偶数個ご準備ください。
ハイブリエイド **	アジレントにお問合せ下さい	HYB-100	指定	1セット	**オプション：必要に応じてご準備ください。
オゾンフリーブース ** (使用を推奨)	アズワン株式会社	2-M005-01B	指定	1	**オプション(強く推奨)： 環境中のオゾン濃度が5ppb以上の場合は必要 洗浄・スキャン環境からオゾン除去する装置。 サイズ：1760(W)x710(D)x1000(H)mm
オゾンフリーブース用フィルタ **	アズワン株式会社	3-4425-11	指定	1	6 **オプション(強く推奨)： オゾンフリーブース使用時、フィルタ交換の際に追加購入(6本入り)
フラットピンセット 33A ** (使用を推奨)	アズワン株式会社	7-160-13	相当	2	**オプション(強く推奨)： アレイスライド洗浄時、解体に使用。手袋からの予期せぬ汚れから、マイクロアレイを防ぐために使用を推奨。
スターラー付恒温槽	株式会社日伸理化	SW-500NT	相当	1	

スターラープレート **	Corning	6795-410	相当	1, 3		** 洗浄プロトコル内容により必要数が異なる Stabilization and Drying Solution使用時は3つ準備
回転子 **			相当	2, 4		** 洗浄プロトコル内容により必要数が異なる。 Stabilization and Drying Solution使用時は4つ準備 ・ 1回に洗浄するスライドガラスが5枚以下の場合 3cm程度の長さのもの ・ 1回に洗浄するスライドガラスが6~8枚の場合 4.5cm程度の長さのもの
スライド洗浄ガラス容器 (Dish) (中または小) **	Wheaton	(中) 900301 (小) 900201	指定	3, 5	1セット 3個入り	** 洗浄プロトコル内容により必要数が異なる。 Stabilization and Drying Solution使用時は5つ準備 中：1回に洗浄するスライドガラスが6~8枚の場合 小：1回に洗浄するスライドガラスが5枚以下の 場合
	Thermo Shandon	(中) 122 (小) 102	指定		1個	
スライドラック (ステンレス製)	Thermo Shandon	(中) 113 (小) 109	指定	1	1	中：1回に洗浄するスライドガラスが6~8枚の場合 小：1回に洗浄するスライドガラスが5枚以下の 場合
Agilent scanner for 1x244K, 2x105K, 4x44K, 8x15K for 1x1M, 2x400K, 4x180K, 8x60K	Agilent	G4900DA, G2565CA, G2565BA G4900DA, G2565CA	指定	1	1	1x1M, 2x400K, 4x180K, 8x60K マイクロアレイには 高分解能仕様のスキャナが必要
スライドホルダ	Agilent		指定	1		Agilent スキャナ用 (スキャナとともに納品)。 スライドガラスの枚数分必要
真空デシケータもしくは N2ガスポンペ						開封後のマイクロアレイスライドの保存時に使用。 真空デシケータか、もしくは窒素パージした容器に保 存することを推奨。 窒素ガスはスライドガラスに付着したほこりを除くと きにも使用可能
ウェハーガードGNガス フィルターガン **	日本インテグ ルス株式会社	WGGB01KAG (ガン本体)、 WGFG01KL5 (フィルター)、 XX671000T (スパイラルチューブ)	推奨	1		** オプション： 上記窒素ガス使用時、ポンペに装着して使用します。 フィルターガンのほかに、フィルターおよびスパイラ ルチューブが必要です。
ブローワー			推奨	1		スライドガラス表面に付着したほこりなどを吹き飛ば すために使用します。水分が出る恐れがあるため、ス プレー缶ではなくゴム製のブローワーをご使用くださ い。窒素ガスで代用可能。
スーパードライ 小型 **	SAYNSYO	59-0090 (2段タイプ)	相当	1		** オプション：デシケータとして準備する場合。 パッケージ開封後のマイクロアレイや使用済みのマイ クロアレイの保存用デシケータです。 1段タイプ(59-0089)もあります。
Ozone-barrier slide cover **	Agilent	G2505-60550	指定	1	25個	** オプション：オゾン濃度が5ppb以上の環境中で、 G2565CAかG2565BAでスキャンする際に使用。 スライドガラスの枚数分ご準備ください。(オゾン ブース内でスキャンする場合は必須ではない)
漏斗 **			相当	1		** オプション：Stabilization and Drying Solution 使 用時 Stabilization and Drying Solution を 保存用の瓶に移す際に使用
500mLの褐色または透明なガラス瓶 **			相当	1		** オプション：Stabilization and Drying Solution 使 用時 Stabilization and Drying Solution の保存用の瓶

オプション：組織からゲノムDNAを抽出する場合

品名	製造 メーカー	品番	指定/ 推奨/ 相当	最少 必要数	1キット 容量	備考
Thermale shaker	Eppendorf	22670000	相当	1		

■ 試薬類

■ ゲノムDNA抽出時

品名	製造メーカー	品番	指定/推奨/相当	最少必要数	1キット容量	備考
Phosphate Buffered Saline pH7.4 (PBS)	Amresco	E504-500ML	指定	1		ゲノムDNAの精製に使用
Clear E-Gel 18-Pak (1.2% agarose, no stain)	Life Technologies	G5518-01	指定	1		ゲノムDNAの断片化を確認するための電気泳動のゲル
SYBR Gold Nucleic Acid Gel Stain	Life Technologies	S11494	指定	1		電気泳動後のゲルを染色するための試薬
TrackIt 1kb DNA Ladder	Life Technologies	10488-072	指定	1		ゲノムDNAの断片化を確認するための電気泳動のサイズマーカー
DNase/RNase-free distilled water	Life Technologies	10977-015	指定	適宜		
Qubit dsDNA BR Assay Kit, for use with the Qubit fluorometer (100 assays) **	Invitrogen	Q32850	指定	1		** オプション: Qubit fluorometer に使用。 二本鎖DNAを高い選択性で定量できる、蛍光を原理とした定量方法であればよい。
RNase A (100 mg/mL)	Qiagen	19101	指定	1		ゲノムDNAの精製に使用
Proteinase K (>600 mAU/mL, solution)	Qiagen	19131	指定	1		ゲノムDNAの精製に使用
DNeasy Blood & Tissue Kit	Qiagen	69504	指定	1		ゲノムDNAの精製に使用
Ethanol (95% to 100% molecular biology grade)	Sigma-Aldrich	E7203-6x500ML	指定	1		

■ 制限酵素・ラベル化反応

品名	製造メーカー	品番	指定/推奨/相当	最少必要数	1キット容量	備考
SureTag DNA Labeling Kit	Agilent	5190-3400	指定	1	右記参照	1キット25アレイ分 (1X, 2X, 4Xフォーマット) または50アレイ分(8Xフォーマット)
SureTag DNA Complete DNA Labeling Kit	Agilent	5190-4240	指定		右記参照	1キット25アレイ分 (1X, 2X, 4Xフォーマット) または50アレイ分(8Xフォーマット)。Human Reference DNA (Male, Female)を含む
Purification Columns **	Agilent	5190-3391	指定		50 units	**オプション: 8xフォーマット使用時など別途必要に応じてご準備ください。 SureTag Complete DNA Labeling Kit・SureTag DNA Labeling Kitにも同カラムが 50 column が添付されております。
1x TE (pH 8.0), Molecular grade	Promega	V6231	指定	適宜		
GenomePlex Complete Whole Genome Amplification Kit †	Sigma-Aldrich	WGA2-10RXN	指定	1	5アレイ分	†増幅法を行う場合に必要 DNAの増幅に使用
		WGA2-50RXN	指定	1	25アレイ分	
GenElute PCR Clean-Up Kit †	Sigma-Aldrich	NA1020	指定	1	35アレイ分	†増幅法を行う場合に必要 増幅DNAの精製に使用
Human genomic DNA for reference **	Promega	G1521 (Female), G1471 (Male)	指定			** オプション: 実験内容に応じてご準備ください。 ・ Promega Male, Femaleは CGH+SNPマイクロアレイ実験に使用できません。 ・ SureTag Complete DNA Labeling Kit には、CGHおよびCGH+SNPマイクロアレイ実験に使用可能なhuman Reference DNA (Male, Female, Individual 由来) が含まれます。
	Coriell	NA18505, NA18517, NA12891, NA12878, NA18579	指定			
Mouse genomic DNA for reference **	Jackson Labs	000664 (male and female)	指定			
Rat genomic DNA for reference **	Harlan Sprague Dawley	custom	指定			

■ハイブリダイゼーションと洗浄

品名	製造メーカー	品番	指定/推奨/相当	最少必要数	1キット容量	備考
Agilent Oligo aCGH/ChIP-on-Chip hybridization kit	Agilent	5188-5220	指定	1	右記参照	1キットは25アレイ分(1X)、50アレイ分(2X)、110アレイ分(4X)、290アレイ分(8X)
DNase/RNase-free distilled water	Life Technologies	10977-015	指定	適宜		Blocking Agent (Agilent Oligo aCGH/ChIP-on-Chip hybridization kit) の溶解に使用
Human Cot-1 DNA *	Agilent	5190-3393	指定		625µg	* Human サンプルで実験をする場合 1キットは 12アレイ分(1X)、25アレイ分(2X)、 125アレイ分(4X)、312アレイ分(8X)
Mouse Cot-1 DNA *	Life Technologies	18440-016	指定	1	500µg	* Mouseサンプルで実験をする場合 1キットは10アレイ分(1X)、 20アレイ分(2X)、100アレイ分(4X)、 250アレイ分(8X)
Rat Cot-1 DNA * (Rat Hybloc DNA)	Applied Genetics	RHB	指定		500µg	* Ratサンプルで実験をする場合 1キットは10アレイ分(1X)、 20アレイ分(2X)、100アレイ分(4X)、 250アレイ分(8X)
Agilent Oligo aCGH/ChIP-on-Chip Wash Buffer 1 and 2	Agilent	5188-5226	指定	1	1	5188-5221 2個と5188-5222 1個のセット
Agilent Oligo aCGH/ChIP-on-Chip Wash Buffer 1 (4L)	Agilent	5188-5221	指定		1	上記セットの単品販売品 使用量：小Dish使用時、 約550-600mL/洗浄。
Agilent Oligo aCGH/ChIP-on-Chip Wash Buffer 2 (4L)	Agilent	5188-5222	指定		1	上記セットの単品販売品 使用量：小Dish使用時、約250mL/洗浄。
10% TritonX-102 **	Agilent	5185-5975	指定	1	50mL	**オプション：Wash Buffer 1, 2に添加して使用。 (添加を推奨)
Milli-Q ultrapure water	Millipore		指定			
Stabilization and Drying Solution (500mL) **	Agilent	5185-5979	指定	1	500mL	**オプション：オゾン濃度5ppb以上の環境下で マイクロアレイ実験の洗浄・スキャンを実施する際に 必要に応じて使用 ※オゾンブースの使用を強く推奨します。
Acetonitrile **	Sigma-Aldrich	271004-1L	指定		1L	**オプション：Stabilization and Drying Solution 使用時 スライド洗浄の工程で使用

オプション：ハイスループットで実施する場合もしくは増幅法のサンプル調製に

品名	製造メーカー	品番	指定/推奨/相当	最少必要数	1キット容量	備考
サーマルサイクラー (ふたを加熱できるもの)	Agilent	G8800A	相当	1		
96 well PCR plate	Agilent	401334	相当	1		
遠心機 (96-well plate対応)	Eppendorf	5810	相当	1		
Heat Sealer	Eppendorf	951023078	指定	1		
Peal-it-Foil (はがせるもの)	Eppendorf	951023205	指定	1		

オプション：2-pack マイクロアレイをハイスループットで実施する場合

品名	製造メーカー	品番	指定/推奨/相当	最少必要数	1キット容量	備考
Tall Chimney PCR plate	ABgene	AB-1184	指定			