

アジレント HaloPlex HS ターゲットエンリッチメントシステム Ion PGMプラットフォーム対応キット

必要なものリスト

30-Jan-17

2017年01月

この必要なものリストは、gDNAを出発材料として、HaloPlex HS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、ライフテクノロジー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 HS 試薬キット						
HaloPlex HS カスタムパネル (分子バーコード対応) 以下から選択してください						
HaloPlex HS カスタム 1-250Kb, プローブ数< 20K, IonPGM, 48反応	Agilent	G9932C	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
HaloPlex HS カスタム 1-250Kb, プローブ数< 20K, IonPGM, 96反応	Agilent	G9932B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
HaloPlex HS カスタム 251Kb - 2.5Mb, IonPGM, 48反応	Agilent	G9942C	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
HaloPlex HS カスタムパネル 251Kb - 2.5Mb, IonPGM, 96反応	Agilent	G9942B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS 疾患リサーチパネル (分子バーコード対応) 以下から選択してください						
ClearSeq Halo HS Cancerリサーチパネル, IonPGM, 16反応	Agilent	G9934A	—	1	16反応分	16反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS Cancerリサーチパネル, IonPGM, 96反応	Agilent	G9934B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS 心筋症リサーチパネル, IonPGM, 16反応 (Cardiomyopathy Research Panel)	Agilent	G9944A	—	1	16反応分	16反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS 心筋症リサーチパネル, IonPGM, 96反応 (Cardiomyopathy Research Panel)	Agilent	G9944B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS AMLリサーチパネル, IonPGM, 16反応	Agilent	G9964A	—	1	16反応分	16反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS AMLリサーチパネル, IonPGM, 96反応	Agilent	G9964B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS 遺伝性結合組織病リサーチパネル, IonPGM, 48反応 (Connective Tissue Disorder Research Panel)	Agilent	G9954C#001	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS 遺伝性結合組織病リサーチパネル, IonPGM, 96反応 (Connective Tissue Disorder Research Panel)	Agilent	G9954B#001	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS ノーナン症候群リサーチパネル, IonPGM, 48反応 (Noonan Syndrome Research Panel)	Agilent	G9954C#002	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS ノーナン症候群リサーチパネル, IonPGM, 96反応 (Noonan Syndrome Research Panel)	Agilent	G9954B#002	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS 遺伝性不整脈関連疾患リサーチパネル, IonPGM, 48反応 (Arrhythmia Research Panel)	Agilent	G9954C#003	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS 遺伝性不整脈関連疾患リサーチパネル, IonPGM, 96反応 (Arrhythmia Research Panel)	Agilent	G9954B#003	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS ICCGパネル, IonPGM, 48反応 (International Collaboration for Clinical Genomics)	Agilent	G9954C#004	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq Halo HS ICCGパネル, IonPGM, 96反応 (International Collaboration for Clinical Genomics)	Agilent	G9954B#004	—	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						
Agencourt AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter Genomics	A63880 または A63881	指定	180 uL	A63880 - 5 mL x1, A63881 - 60 mLx1	
Dynabeads MyOne Streptavidin T1	Thermo Fisher Scientific	65601	指定	50 uL	2 mL	大容量タイプ(65602 10mL, 65603 100mL)もあります。
Qubit dsDNA BR Assay Kit	Thermo Fisher Scientific	Q32850 または Q32853	指定		Q32850 - 100 assays, Q32853 - 500 assays	
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Thermo Fisher Scientific	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			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				0.8 mL		
10 M NaOH	Sigma Aldrich	72068-100ML	相当		100 mL	分子生物学実験用グレード
1 M NaOH (用時調製)				10 uL		10Mのストック溶液から用時調製
10 mM Tris-HCl, pH8.5						分子生物学実験用グレード、一般的なもので可、pH 8.0でも可
Low TE buffer (10mM Tris-HCL 0.1mM EDTA, pH 8.0)						分子生物学実験用グレード、一般的なもので可
〈 オプション 〉						
Agilent NGS FFPE QC Kit	Agilent	G9700A (16反応) G9700B (96反応)			16反応分 または96 反応分	FFPE 由来DNAサンプルをHaloPlex HSでのライブラリ調製に使用する際に使用

<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
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、100 uL以上の容量設定が可能なタイプ
Compression Mat	Agilent	410187				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
8-well strip tube	Agilent	410092	相当		120本	サンプル数、サーマルサイクラーの機種にあわせて選択
8-well strip cap	Agilent	410096	相当		120本	サンプル数、サーマルサイクラーの機種にあわせて選択
12-well strip tube	Agilent	410082	相当		80本	サンプル数、サーマルサイクラーの機種にあわせて選択
12-well strip cap	Agilent	410086	相当		80本	サンプル数、サーマルサイクラーの機種にあわせて選択
DynaMag-96 Side magnet (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)	Thermo Fisher Scientific または 日本ジェネティクス	96ウェルプレート用 12331D, 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	Thermo Fisher Scientific	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	Thermo Fisher Scientific	Q32856				QubitでgDNAを正確に定量するために用います。
Dynal DynaMag-2	Thermo Fisher Scientific	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
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,P1000	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 International	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						
MS3 digital	IKA	3319000	相当			8連チューブ/96wellプレートをセットでき、1300rpm設定できるタイプのボルテックスミキサー
MS3.5 PCR プレート用 アタッチメント	IKA	3428000	相当			

< 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 TapeStation 4200 または 2200 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。
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。
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	Thermo Fisher Scientific	E10001	指定			
Novex 6% Polyacrylamide, TBE Pre-cast Gels	Thermo Fisher Scientific	EC62655BOX	指定	1ラン		
Novex TBE Running Buffer, 5x	Thermo Fisher Scientific	LC6675	指定			
Novex High-density TBE Aample Buffer, 5X	Thermo Fisher Scientific	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TapeStationが必要です。

< 問い合わせ先 > アジレント・テクノロジー株式会社