

アジレント HaloPlex ターゲットエンリッチメントシステム Illumina 自動化システム

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、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/96 反応あたり	内容量	備考
HaloPlex 試薬キット						
HaloPlex Target Enrichment System Kit (以下から選択してください)						
1 kb -500 kb, イルミナ対応 48 reactions (プローブ数<20K)	Agilent	G9901C	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
1 kb -500 kb, イルミナ対応, 96 reactions (プローブ数<20K)	Agilent	G9901B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
501 kb -2.5 Mb, イルミナ対応, 48 reactions	Agilent	G9911C	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
501 kb -2.5 Mb, イルミナ対応, 96 reactions	Agilent	G9911B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
2.6 Mb -5 Mb, イルミナ対応, 48 reactions	Agilent	G9921C	—	1	48反応分	48反応分、マルチプレックス対応
2.6 Mb -5 Mb, イルミナ対応, 96 reactions	Agilent	G9921B	—	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, イルミナ対応, 96 reactions	Agilent	G9903B	—	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, イルミナ対応, 96 reactions	Agilent	G9908B	—	1	96反応分	96反応分、マルチプレックス対応
ClearSeq AML, Halo イルミナ対応, 96 reactions	Agilent	G9913B	—	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	110.5 uL	600677 - 200 反応分, 600679 - 400反応分	
AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter	A63880 または A6 3881	指定	5760 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 assays	
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Life Technologies	AM9930	相当	約200 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				45 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 (用時調製)				2940 uL		1M以上のストック溶液から用時調製
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)				15 mL		

<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
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	Life Technologies	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) および G8820A (384 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、および384ウェルタイプのサーマルサイクラー、指定のプレートEppendorf twin tec full skirted 384 well PCR plateが使用可能な機種。SureCyclerの場合はブロックを2タイプ用意すれば本体は1台で可。
Dyna DynaMag-2 または DynaMag-15	Life Technologies	123-21D (DynaMag-2) 123-01D (DynaMag-15)	相当			1回あたりのサンプル数に応じてサイズを選択。24サンプル/回の場合はDynaMag-2、48もしくは96サンプル/回はDynaMag-15
Robotic Pipetting Tips (250 uL)	Agilent	19477-022	指定			
Eppendorf twin tec full-skirted 96-well PCR plates	Eppendorf	951020401	指定			
Eppendorf twin tec full-skirted 384-well PCR plates, blue	Eppendorf	951020737	指定			区別が容易なように青色タイプを指定していますが、色違いも使用可能
Eppendorf twin tec half-skirted 96-well plates, blue	Eppendorf	951020362	指定			区別が容易なように青色タイプを指定していますが、色違いも使用可能
Thermo Scientific Reservoirs	Thermo Scientific	1064156	指定			
Nunc Deep Well Plate, sterile, 1.3 ml well volume	Thermo Scientific	260251	指定			
Axygen 96 Deep Well Plate, 2.0 mL, Square Well (Waste Reservoirs)	Axygen	P-2ML-SQ-C	指定			E&K Scientific p/n EK-2440でも可
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			制限酵素マスターミックスの作成に使用します。
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						
ボルテックスミキサー						

＜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	10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	7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	7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 Amp Buffer, 5X	Life Technologies	LC6678	指定			
GelRed Nucleic Acid Stain, 3x in water	Life Technologies	41001	指定			
DNA molecular weight markers	Biotium					一般的なもので可
UV-transilluminator						一般的なもので可

* 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ブステーションが必要です。

＜SureSelect対応のNGS自動化システムでHaloPlex自動化を行うために追加に必要な部品＞

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
Custom Hardware, 384-well plate inserts	Agilent	G5498B#60	指定	2		2013年7月1日以前出荷のXT-Auto標準システムには含まれず、それ以降のシステムには2つ含まれています。
96-well PCR plate insert (red)	Agilent	G5498B#13	指定	1		2013年7月1日以前出荷のXT-Auto標準システムには1つ、それ以降のシステムには2つ含まれています。

＜問い合わせ先＞アジレント・テクノロジー株式会社