

アジレント SureSelect QXT 全ゲノムシーケンシング用ライブラリ調製

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 B.1 対応

2014/08/18

※SureSelect QXTI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。

このリストは全ゲノムシーケンス用であり、ゲノムの目的領域をエンリッチするSureSelectターゲットエンリッチメントシステム用とは異なります。

ターゲットエンリッチメントを実施する場合、別資料をご覧ください。

この必要なものリストは、gDNAのQCをし、SureSelect QXT試薬を用いて断片化・アダプタ付加を実施して全ゲノムシーケンス用のライブラリ調製を行う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
AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter	A63880	指定	87 uL	5 mL	大容量タイプ(A63881 60mL, A63882 450mL)もあります。
1xLow TE Buffer (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1mM EDTA)	Life Technologies	12090-015	相当		25 mL	最後のライブラリのプールの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。
Agilent 2100 バイオアナライザ消耗品						
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。
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 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。

※ 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
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2943CA	指定			キャプチャ前後のDNAライブラリの定量とサイズ確認に必要です。Expert Control Software B.02.07以降のversionであること。
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			
Dynal 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ー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ーに対応した消耗品をご使用下さい。
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に用いると便利です。
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			多検体を同時に処理する時に便利です。
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	和研ビーテック	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50 ng/uLより低濃度である場合、濃縮の必要があります。
Agilent 2200 TapeStation	Agilent	G2964AA/G2965A A	-			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。

<問い合わせ先>アジレント・テクノロジー株式会社