

## アジレント SureSelect XT ターゲットエンリッチメントシステム (ポストプール式)

### イルミナ マルチプレックスシーケンスHiSeq/MiSeq対応に必要なもの

Version B.4 対応

2016/4/27

※SureSelectは、キャプチャライブラリ(ペイト)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。

※キャプチャライブラリ(ペイト)の選択には、SureSelectキャプチャライブラリリストの「マニュアル用」欄をご参照ください。

この必要なもののリストは、gDNAのQCおよび断片化をしてアダプタを付けてから、SureSelect XT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された場合、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
<b>SureSelect XT 試薬キット</b>						
SureSelect XT Reagents, イルミナHSQ/NSQ, 16 反応	Agilent	G9611A	—	1	16反応分	マルチプレックス対応
SureSelect XT Reagents,イルミナHSQ/NSQ, 96 反応	Agilent	G9611B	—	1	96反応分	マルチプレックス対応
SureSelect XT Reagents, イルミナMSQ, 16 反応	Agilent	G9612A	—	1	16反応分	マルチプレックス対応
SureSelect XT Reagents, イルミナMSQ, 96 反応	Agilent	G9612B	—	1	96反応分	マルチプレックス対応
<b>その他の試薬</b>						
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
ヘラクレス (Herculase) II DNA Polymerase	Agilent	600677	指定	2 uL	200 uL	dNTP溶液付きのタイプが必要です。大容量タイプ(600679,400uL)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, 65603 100mL)もあります。
AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter	A63880	指定	900 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	約 120 uL	100 mL	
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Life Technologies	AM9930	相当	約 2.4mL	500 mL	DEPC処理ではないこと
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当		500 mL	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					最大8 mL	
Qubit dsDNA BR Assay Kit	Life Technologies	Q32850				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				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 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サンプルを使用する際のゲノムDNA QCに使用
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。
Ethylene Glycol	Wako	055-00996	相当		500 mL	コバリスの冷却水循環溶液に、凍結防止のために添加します。
Tween 20	Sigma Aldrich	P9416-50ML	相当		50 mL	シーケンスライブラリの保存のために使用します。
※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		112サンプル分
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		112サンプル分
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	最大 2ラン	25ラン分	3 ugスタート標準プロトコルで2ラン、200 ngスタートオプションプロトコルで1ラン。 1ランで最大12サンプルまで流すことができます。
Agilent High Sensitivity DNA kit	Agilent	5067-4626	指定	最大2ラン	10ラン分	3 ugスタート標準プロトコルで1ラン、200 ngスタートオプションプロトコルで2ラン。 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。

※ 各キットについて、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 System	Agilent	G2964AA / G2965AA	指定			DNAの定性または定量に使用することができます。
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2943CA	指定			DNAの定性または定量に使用することができます。 Expert Control Software ver B.02.07以降が必要です
Covaris S-series Single Tube Sample Preparation System, Model S2	Covaris (エムエス機器)	Model S2	指定			Model E210, C-2000でも可能、 gDNAを再現性良く断片化するために必要。 ネプライザの使用は推奨しません。
Covaris microTUBE with AFA fiber and snap cap	Covaris (エムエス機器)	520045	指定			Model S2用
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。
サーマルサイクラー	Agilent	SureCycler	相当			65°C 24hのハイブリで、27µLの液が 24µL以下まで蒸発しないこと (HotTop使用)
遠心分離機	Eppendorf	5417C	相当			
ストレプトアビジンビーズの混合のため、旋回振盪機が96ウェルプレートミキサーのいずれかをご用意下さい。						
旋回振盪機	アズワン	ミニウエーブ WEV-03	相当			ストレプトアビジンビーズ溶液がチューブ を上下してよく混ぜるように、旋回運動を するタイプのもの。別売りの専用チューブ ラック(WEB-03-12)と組み合わせると便利。
MS3 デジタル (96ウェルプレート対応ミキサー)	IKA	0003428000	相当			ストレプトアビジンビーズ溶液がウェル内 でよく混ぜるように、1,400 - 1,800 rpm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。
濃縮遠心機	トミー精工	CC-105	相当			45°C以下の低温で、50µLのDNA溶液が 1～2時間程度で濃縮できること。 専用ロータ、冷却トラップTU-500と 油回転真空ポンプGLD-051が 必要です。
Plateもしくは8 strip tubes 遠心機	クボタ または ワケンビータック	96ウェルプレート 用 PlateSpin II (KUBOTA), 8 strip tubes用 卓上遠心 機 プチチェンジ (ワケン)	相当			96ウェルプレートもしくは8 strip tubesのスピンダウン用
ビーズ分離用マグネット： 日本ジェネティクス FG-SSMAG2 (8連チューブ用) または Dyna DynaMag-96 Side skirted (96ウェルプレート、8連チューブ兼用)	日本ジェネ ティクス ま たは Life Technologies	8連チューブ用 FG-SSMAG2, 96 ウェルプレート用 12331D	相当			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) 96ウェルプレート用マグネットはリング状 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。
SureCycler 8800 compatible 96-well tube plates またはoptical strip tubes	Agilent	410088 または 410092	相当		Strip Tubes 120本 PCR Plate 25プレート	65°C 24hのハイブリで、27µLの液が 24µL以下まで蒸発しないこと。
Tube cap strips, domed	Agilent	410096	相当	キャップ 4連	strip caps 120本	65°C 24hのハイブリで、27µLの液が 24µL以下まで蒸発しないこと。 HotTop対応のこと。
MicroAmp Clear Adhesive Film	Life Technologies	4306311	相当	4枚	100 films	PCRの機種によっては、Stripキャップの かわりにシールを使用できますが、液が 蒸発しやすくなる場合があるので、十分 な注意とテストが必要です。 65°C24hのハイブリで、27µLの液が 24µL 以下まで蒸発しないこと。 HotTop対応のこと。
Tube-strip capping tool	Agilent	410099	相当			PCRチューブのキャップを確実に密閉す るために便利なツールです。
DNA LoBind チューブ, 1.5ml PCR clean, 250 pieces	Eppendorf	95295-0030 108.051	相当	約28本	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 検体で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						
滅菌済み コニカルチューブ、ポリプロピレン製、15 mL	アズワン	352097	相当			
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			
ヒートブロック(37°C)、1.5mLのチューブが入るタイプ						AM Pure XPビーズによる 精製ステップで使用します。
ウォータバス(WashBuffer2のPreWarm 65°C)			相当			
オプション品となります。必要に応じてご利用ください						

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
AriaMx リアルタイム定量PCRシステム	Agilent	G8830A	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。
AriaMx 96-well plates またはoptical Tube Strip	Agilent	401490 または 401493	相当			AriaMx リアルタイム定量PCRシステ ムを使用する際に用います。
Mx3000p/Mx3005P Optical Strip caps	Agilent	401425	相当			AriaMx リアルタイム定量PCRシステ ムを使用する際に用います。

<問い合わせ先>アジレント・テクノロジー株式会社