

アジレント **SureSelect XT HS** 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対応に必要なもの
 Version A1 対応

2017/11/21

※SureSelectは、キャプチャライブラリ(ベイト)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(ベイト)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。

この必要なものリストは、gDNAのQCおよび断片化をしたあと、SureSelect XT HS 試薬を用いてインデックスと分子バーコードを含むgDNAシーケンスライブラリを調製し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。

※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 >

SureSelect XT HS試薬キット					
品名	製造メーカー	品番	指定/相当品	内容量	備考
SureSelect XT HS Reagents (index 1-16)*, イルミナ, 16 反応†	Agilent	G9702A	指定	16反応分	マルチプレックス対応 (index 1-16)
SureSelect XT HS Reagents (index17-32)*, イルミナ, 16 反応†	Agilent	G9702B	指定	16反応分	マルチプレックス対応(index 17-32)
SureSelect XT HS Reagents (index 1-32)*, イルミナ, 96 反応‡	Agilent	G9702C	指定	96反応分	マルチプレックス対応 (index 1-32 x3)

* HiSeq, MiSeq, NextSeq500プラットフォームに対応

† 16反応のキットには1ランあたりに8サンプルを含めた場合の2ラン分に相当する量が含まれます。

‡ 96反応のキットには1ランあたりに24サンプルを含めた場合の4ラン分に相当する量が含まれます。

** インデックスプライマー 1-32のチューブが3セット入っています。

その他の試薬(すべてのサンプルタイプ)					
品名	製造メーカー	品番	指定/相当品	内容量	備考
Agencourt AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter Genomics	A63880	指定	5 mL	大容量タイプ(60mL [A63881], 450mL [A63882])もあります。
Dynabeads MyOne Streptavidin T1	Thermo Fisher Scientific	65601	指定	2 mL	大容量タイプ(10mL [65602], 100mL [65603]) もあります。
1xLow TE Buffer (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1mM EDTA)	Thermo Fisher Scientific	12090-015	相当	100 mL	
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当	500 mL	
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Ambion	AM9930	相当	500 mL	DEPC処理ではないこと
Qubit dsDNA BR Assay Kit	Thermo Fisher Scientific	Q32850	指定	100 assay	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。大容量タイプ(500 assays [Q32853]) もあります。
Qubit dsDNA HS Assay Kit	Thermo Fisher Scientific	Q32851	指定	100 assay	BR Assay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。大容量タイプ(500 assays [Q32854]) もあります。

その他の試薬 (FFPE DNAサンプルのみ)					
品名	製造メーカー	品番	指定/相当品	内容量	備考
Agilent NGS FFPE QC Kit	Agilent	G9700A (16反応) G9700B (96反応)	指定	16反応分 または 96反応分	FFPE由来DNAサンプルの場合、ゲノムDNA QCに使用します。
Genomic DNA Screen Tape	Agilent	5067-5365	指定	7枚	TapeStation Genomic DNA 解析用の試薬。
Genomic DNA Reagents	Agilent	5067-5366	指定	112サンプル分	スタート時のgDNAの分解度評価に使用します。
QIAamp DNA FFPE Tissue Kit, 50 Samples	Qiagen	56404	指定		
Deparaffinization Solution	Qiagen	19093	指定		

ライブラリQC用(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。)					
品名	製造メーカー	品番	指定/ 相当品	内容量	備考
Agilent 4200 / 2200 TapeStation消耗品					
Agilent TapeStation D1000 Screen Tape	Agilent	5067-5582	指定	7枚	1枚で最大16サンプル測定できます。
Agilent TapeStation D1000 試薬キット	Agilent	5067-5583	指定	112サンプル分	
Agilent TapeStation High Sensitivity D1000 Screen Tape	Agilent	5067-5584	指定	7枚	1枚で最大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	112サンプル分	
96-well sample plate	Agilent	5042-8502	指定		
96-well plate foil seals	Agilent	5067-5154	指定		
8-well tube strips	Agilent	401428	指定		
8-well tube strip caps	Agilent	401425	指定		
Agilent 2100 バイオアナライザ消耗品					
Agilent DNA 1000 kit	Agilent	5067-1504	指定	25ラン分	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	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。 Expert Control Software ver B.02.07以降が必要です。

<必要な機器、消耗品類>

品名	製造メーカー	品番	指定/ 相当品	内容量	備考
DNA解析用の電気泳動装置(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の使用も可能です。
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2939BA	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。
その他の装置					
SureCycler 8800 サーマルサイクラ	Agilent	G8800A	相当		HotTop使用
96 well plate module for SureCycler 8800 サーマルサイクラ	Agilent	G8810A	相当		
SureCycler 8800 compatible 96-well tube plates または optical strip tubes	Agilent	410088 または 410092	相当	PCR Plate 25プレート Strip Tubes 120本	
Tube cap strips, domed	Agilent	410096	相当	strip caps 120本	
Qubit Fluorometer	Thermo Fisher Scientific	Q32857	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 assay tubes	Thermo Fisher Scientific	Q32856	指定		QubitでgDNAを正確に定量するために用います。
DNA LoBind チューブ, 1.5ml PCR clean, 250 pieces	Eppendorf	022431021	相当	250本	核酸の吸着が少ないLoBindタイプを使用ください。
遠心分離機	Eppendorf	5417C	相当		1.5mLチューブスピンドウン用。 卓上遠心機でも可能。 (例: 日本ミリポア チビタンII)
96ウェルプレートもしくは 8 strip tubes 遠心機	KUBOTA または ワケンビーテック		相当		96ウェルプレートもしくは8 strip tubesの スピンドウン用 ・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 (ワケンビーテック)
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ピーズ溶液がウェル内でよく混ざるように、1,400 - 1,800 rpmで30分以上Mix可能なもの。フルスカート以外のPCRプレートや8 strip tubes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 strip tubes 使用時に上記MS3デジタルに装着して使用。
Covaris Sample Preparation System	Covaris (エムエス機器)	Model E220	指定		E220以外のモデルをご使用の場合は製造元にお問い合わせください。 ネブライザの使用は推奨しません。
Covaris microTUBE sample holders	Covaris (エムエス機器)	520045	指定		
濃縮遠心機	トミー精工	CC-105	相当		最終ライブラリをシーケンス用にプールの際、濃度が低いライブラリがある場合必要となります。45°C以下で25 µLの溶液が濃縮できること。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。
ビーズ分離用マグネット	Thermo Fisher Scientific	12331D	相当		Dyna-Mag-96 (12331D) は96 well plate・8連チューブ兼用。 マグナススタンド [日本ジェネティクス](p/n FG-SSMAG2)も使用可 (8連チューブ用)。 注意: ウェルの一方に磁気ビーズが集まるタイプを必ず選んでください。リング状に磁気ビーズが集まるタイプは使用不可。
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。
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					

その他オプションの試薬・装置					
品名	製造メーカー	品番	指定/ 相当品	内容量	備考
高品質のgDNAを精製するシステム例: QIAamp DNA Mini Kit	Qiagen	51304	相当	50サンプル	250サンプル用もあります (p/n 51306)
Ethylane 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。
PlateLoc Thermal Microplate Sealer with Small Hotplate	Agilent	G5402A	相当		96 well plateのシールに使用。
Peelable Aluminium Seal for PlateLoc Sealer	Agilent	24210-001	相当		96 well plateのシールに使用。
MicroAmp Clear Adhesive Film	Thermo Fisher Scientific	L12-20	相当		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。HotTop対応のものをお使いください。
AriaMx リアルタイム定量PCRシステム	Agilent	G8830A	相当		FFPE由来DNAサンプルの場合、ゲノムDNA QCに 使用します。
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