

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)

SureSelect XT 自動化システム対応キット イルミナペアエンドマルチプレックスシーケンス プロトコルに必要なもの
オンビーズプロトコル Version H.0 対応

2016/4/27

※キャプチャライブラリ(プローブ)とその他の試薬は別々に購入いただく必要があります。必ず、試薬キットとキャプチャライブラリ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「自動化用」欄をご参照ください。

この必要なものリストは、DNAのQCおよび断片化をした後、Agilent SureSelect XT 自動化対応システムを用いて、断片化DNAにアダプタを付けてから、SureSelect試薬を用いて、ターゲット領域をキャプチャ、濃縮、オンビーズPCRを行い、精製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、イルミナ社にお問い合わせください。

記載されている価格は、他社製品については最新の価格が異なる可能性があります。各メーカーに最新価格をご確認ください。

※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
SureSelect XT 試薬キット						
SureSelect XT Reagents, イルミナHSQ/NSQ, 96 反応	Agilent	G9641B	—	1	96反応分	HiSeq用
SureSelect XT Reagents, イルミナMSQ, 96 反応	Agilent	G9642B	—	1	96反応分	MISeq用
その他の試薬						
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
ヘラクレス (Herculase) II Fusion DNA Polymerase	Agilent	600679	指定	221	400 uL	dNTP溶液付きのタイプが必要です。小容量タイプ(600677,200uL) もあります。
Dynabeads MyOne Streptavidin T1	Life Technologies (ベリタス)	65602	指定	5	10 mL	他の容量タイプ(65601 2mL)もあります。
AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter	A63880 または A63881 または A63882	指定	93.696	A63880 - 5 mL x1, A63881 - 60 mL x1 A63882 - 450 mL x1	A63822 450mLタイプで計算
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180 mL	500 mL	DEPC処理ではないこと
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当	約 231 mL		98%以上で、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				330 mL		上記のエタノールと水を使用して作製
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。

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	5	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。
※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	12	7	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	12	7	
Agilent TapeStation High Sensitivity D1000 Screen Tape	Agilent	5067-5584	指定	6	7	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	6	7	
Agilent TapeStation Genomic DNA ScreenTape	Agilent	5067-5365	推奨	6	7	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	6	7	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	16	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	9	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 software 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	Agilent	G2964AAまたはG2965AA	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。
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2938C	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である必要があります。
エアコンプレッサー	アズワン	アズワン型番 2-8141-01 ハンデコン P08P7S01	相当	1		オイルレスドライエアー、流量 34.0Lpm以上、供給圧力 0.65MPa(95psi)以上の仕様を満たすこと。ベンチセルとシーラーの動作の一部に使用しています。
Covaris Sample Preparation System	Covaris (エムエス 機器)	Model LE220 or E220 or S2	指定			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。S2はマニュアルで1検体ずつの処理。E210は96検体を自動処理できるが、1検体ずつの処理。LE220は96検体を自動処理できるが、8検体ずつの処理（E210より8倍処理速度が上がる）LE220はS2やE210と断片化のプロトコルが異なるので要注意。
Covaris 96 well plate for E220 or LE220	Covaris (エムエス 機器)	520069	指定	1	10	Model E220 or LE220用 Well Plate 1枚の製品は、520078 78,000円 S2用はチューブとなり、型番は 520045 です。
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	Life Technologies	Verity Thermal Cycler	相当			65°C24hのハイブリで、27uLの液が 24uL以下まで蒸発しないこと (HotTop使用) かならず、指定の MicroAmpの96ウェルプレートを用いた時に蒸発が抑えられることを事前に確認ください。
ヒートブロック	Eppendorf	サーモミキサー コンフォート	相当	1		ハイブリダイゼーションミックスを 調製後、65°C 5分に加熱した後、 25°Cに保つのに必要です。65°Cから 25°Cに戻すのに時間がかかる機種の場合、ヒートブロックが2台必要になることがあります。
Dynal DynaMag-15またはDynal DynaMag-50	Life Technologies (ベリタス)	12301D 12302D	相当			大容量のストレプトアビジンビーズを一度に洗浄するために必要です。 48サンプル以下のサンプル数を扱う場合には、Dynal DynaMag-15が便利です。
遠心分離機	Eppendorf	5804	相当			96 Well Plate 対応タイプ、Deep Well (高さ31.35mm)が入ること。 1.000g以上。
濃縮遠心機 (96well plate用ローター付き)	Savant	SC210A	相当			45°C以下の低温で、96Well Plate に入れた30uLのDNA溶液が1～2時間 程度で濃縮できること。専用 ローター、冷却トラップと油回転真空 ポンプが必要です。TOMY精工の CC-105の濃縮遠心機一式も使用 できます。SavantのDNA120と 96Well Plate用のローター (RD2MP)も使用できますが、Deep Wellは入りません。

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
Robotic Pipetteing Tips (250uL)	Agilent	19477-022	指定	62	50	1ケース 96チップ入り、50ケース
Eppendorf twin.tec full-skirted 96-well PCR plates	Eppendorf	951020401	指定	11	25	951020619でも可
BioRad Hard-Shell® 96 ウェルスカート付き PCR プレート	BioRad	HSP9601	指定	3	50	PCR後のAMPureXP精製の溶出でAMPureXPビーズのコンタミネーションを抑えるために使用します。
Thermo Scientific Reservoirs	Thermo Scientific	1064156	指定	10	20	
Nunc DeepWell Plate, sterile, 1.3 ml well volume	Thermo Scientific	260251	指定	14	50	
Axygen 96 Deep Well Plate, 2.0 mL, Square Well (Waste Reservoirs)	Axygen	P-2ML-SQ-C	指定	5	25	E&K Scientific p/n EK-2440 でも可
MicroAmp Optical 96-well Reaction Plate, half-skirted	Life Technologies	N801-0560	指定	3	10	このPlateは指定なので、使用予定のPCRで、65°C24hのハイブリを事前に行い、27uLの液が24uL以下まで蒸発しないことを確認ください。シールは下記のMicroAmpのClearシールを2重貼りにするか、BioMekのアルミシールとMicroAmpのClearシールを2重貼りにします。
MicroAmp 96-Well base(black adapter for MicroAmp plates)	Life Technologies	N801-0531	指定	3	10	
Biomek SEAL & SAMPLE Aluminium foil Lid	Beckman Coulter	538619	相当			ABIのMicroAmp 96Well plateを65°Cでハイブリする際のシールに用います。下記のABIのAdhesiveフィルムとセットで用います。Adhesiveフィルムを2枚貼って、ハイブリ液が蒸発しない場合は、特にアルミシールを使用する必要はありません。
MicroAmp Clear Adhesive Film	Life Technologies	4306311	推奨			ハイブリ時の密閉を確実にするために、2枚重ねて貼るか、もしくは上記のアルミシールの上にさらに貼るシールです。
MicroAmp Adhesive Film Applicator	Life Technologies	4333183	相当			上記のシールをWell Plateに密着させるためのツールです。
Compression Pad (Mat)	使用しているサーマルサイクラーに適したもの		相当	1		PCRの機種によって、ハイブリ中の蒸発を防ぐために必要な場合があります。機種によって適切なPadが異なります。MicroAmp Optical Film Compression Pad 4312639 または Agilent 410187など。
Peelable Clear Seal	Agilent	16985-001	指定	12	2000	シーラー用のシールです。SureSelect XT 自動化システム購入時には一巻き2000枚分が付属しています。
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タイプを使用してください。
Qubit assay tubes	Life Technologies	Q32856				QubitでgDNAを正確に定量するために用います。
NucleoClean Decontamination Spray 500 mL	Millioire	3097S	相当			自動化システムの埃をとり、清掃するときに、キムワイブに浸みこませて使用します。
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			
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			
アイスパケツ						
タイマー						
ボルテックスミキサー						
卓上遠心器	日本ミリボア	チビタンII	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						
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	Plate 2枚 Strip	Strip Tubes 120本	定量PCRによるQCに用います。
Mx3000p optical strip caps (flat type)	Agilent	401425	相当	キャップ 4連	strip caps 120 本	定量PCRによるQC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