

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

Ion Proton インデックス(バーコード)シーケンスに必要なもの  
 プロトコル Version A4 対応

2014/08/18

※SureSelect製品は、キャプチャライブラリとハイブリダイゼーション用の試薬が別々のキットとなっております。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。  
 この必要なものリストは、gDNAのQCと、ライフテック/ロジーズ社のIon Xpress Plus Fragment libraryキットを用いてライブラリを構築してから、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。ライフテック/ロジーズ社の製品につきましては、ライフテック/ロジーズ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	必要量/1反応あたり	内容量	備考
<b>SureSelect 試薬キット</b>						
SureSelect TE Reagent Kit, PTN, 16 reactions	Agilent	G9605A	—	1	16反応分	マルチプレックス対応
SureSelect TE Reagent Kit, PTN, 96 reactions	Agilent	G9605B	—	1	96反応分	マルチプレックス対応
<b>SureSelect XT キャプチャライブラリ(バイト)キット</b>						
SureSelect XT Clinical Research Exome, 16 reactions	Agilent	5190-7338	—	1	16反応分	
SureSelect XT Clinical Research Exome, 96 reactions	Agilent	5190-7339	—	1	96反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5, 16 reactions	Agilent	5190-6208	—	1	16反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5, 96 reactions	Agilent	5190-6209	—	1	96反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5+UTRs, 16 reactions	Agilent	5190-6213	—	1	16反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5+UTRs, 96 reactions	Agilent	5190-6214	—	1	96反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5+IncRNA, 16 reactions	Agilent	5190-6446	—	1	16反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5+IncRNA, 96 reactions	Agilent	5190-6447	—	1	96反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5+Regulatory, 16 reactions	Agilent	931071	—	1	16反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5+Regulatory, 96 reactions	Agilent	931072	—	1	96反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5 Plus, 16 reactions	Agilent	5190-6211	—	1	16反応分	
SureSelect XT Human All Exon V5 Plus, 96 reactions	Agilent	5190-6212	—	1	96反応分	
SureSelect XT Mouse All Exon, 16 reactions	Agilent	5190-4641	—	1	16反応分	
SureSelect XT Mouse All Exon, 96 reactions	Agilent	5190-4642	—	1	96反応分	
SureSelect XT Custom 1 kb から 499 kb, 16 reactions	Agilent	5190-4806	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4811
SureSelect XT Custom 1 kb から 499 kb, 96 reactions	Agilent	5190-4807	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4812
SureSelect XT Custom 0.5 Mb から 2.9 Mb, 16 reactions	Agilent	5190-4816	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4821
SureSelect XT Custom 0.5 Mb から 2.9 Mb, 96 reactions	Agilent	5190-4817	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4822
SureSelect XT Custom 3 Mb から 5.9 Mb, 16 reactions	Agilent	5190-4826	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4831
SureSelect XT Custom 3 Mb から 5.9 Mb, 96 reactions	Agilent	5190-4827	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4832
SureSelect XT Custom 6 Mb から 11.9 Mb, 16 reactions	Agilent	5190-4836	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4841
SureSelect XT Custom 6 Mb から 11.9 Mb, 96 reactions	Agilent	5190-4837	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4842
SureSelect XT Custom 12 Mb から 24 Mb, 16 reactions	Agilent	5190-4896	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4901
SureSelect XT Custom 12 Mb から 24 Mb, 96 reactions	Agilent	5190-4897	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4902
<b>その他の試薬</b>						
品名	製造メーカー	品番	指定/推奨/相当	必要量/1反応あたり	内容量	備考
Ion Xpress Plus Fragment Library Kit	Life Technologies	4471269	指定	1	最大10反応	1 ugスタート
Ion Xpress Barcode Adapter Kit 1-16 Kit	Life Technologies	4471250	指定	1	1バーコード 2サンプル	1 ugスタート
Herculase II Fusion 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, 400 uL)もあります。
※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。						
<b>Agilent 2200 TapeStation消耗品</b>						
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		
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		
Agilent TapeStation Genomic DNA ScreenTape キット	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。
<b>Agilent 2100 バイオアナライザ消耗品</b>						
Agilent DNA 1000 kit	Agilent	5067-1504	指定	3ラン	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	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
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	495 uL	5 mL	大容量タイプ(A63881 60mL, A63882 450mL)もあります。
E-Gel SizeSelect 2% Agarose Gel	Life Technologies	G6610-02	指定	1ラン	10	
50 bp ladder	Life Technologies	10416-014	指定	250 ng	50 ug	
1x Low TE Buffer (10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.1 mM EDTA)	Life Technologies	12090-015	相当		100 mL	ビーズ精製、サンプルプールとE-Gelのステップで使用
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Life Technologies	AM9930	相当	約348 uL	500 mL	DEPC処理ではないこと
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当		500 mL	96%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				3.8 mL		
Ion PI Template OT2 200 Kit v2	Life Technologies	4485146	指定			Life Technologies社の最新マニュアル参照
Ion PI Sequencing 200 Kit v2	Life Technologies	4485149	指定			Life Technologies社の最新マニュアル参照
Qubit dsDNA HS Assay Kit または	Life Technologies	Q32851	推奨		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。
Qubit dsDNA BR Assay Kit	Life Technologies	Q32850	推奨		100 assay	BR Assay Kit の 500 assay (Q32853)、1000 assay (Q33130) もあります。

※ 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		備考
いずれかの電気泳動装置をご利用下さい。						
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	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。
Ion One Touch 2 System	Life Technologies	4474779	指定			
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、27uLの液が24uL 以下まで蒸発しないこと (HotTop使用時)
遠心分離機	Eppendorf	5417C	相当			
旋回振盪機	アズワン	ミニウエーブ WEV-03	相当			磁気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ブラック(WEB-03-12)と組み合わせると便利。
濃縮遠心機	トミー精工	CC-105	相当			45°C以下の低温で、25uLのDNA溶液(水)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。
Dynal DynaMag-2	Life Technologies (ベリタス)	123-21D	相当			1.5 - 2mL 遠心チューブ 16本立ての磁気ビーズ用磁石スタンド
E-Gel iBase and E-Gel Safe Imager Combo Kit	Life Technologies	G6465	指定			下記のG6500とG6400がセットになった製品です。
または Safe Imager Real-Time Transilluminator と E-Gel iBase Power System	Life Technologies	G6500 G6400	指定			上記のコンボか、こちらの組み合わせのどちらかが必要です。
Mx3000P/Mx3005P 96-well tube plates またはoptical strip tubes	Agilent	410088 または 401428	相当	Plate 2枚 Strip Tube 4連	Strip Tubes 120本 PCR Plate 25プレート	65°C24hのハイブリで、27uLの液が24uL以下まで蒸発しないこと。
Mx3000P/Mx3005P optical strip caps (flat type)	Agilent	401425	相当	キャップ 4連	strip caps 120本	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対応のこと。
MicroAmp Clear Adhesive Film	Life Technologies	4306311	相当	4枚	100 films	サーマルサイクラーの機種によっては、Stripキャップのかわりにシールを用いることもできますが、より液が蒸発しやすくなる場合があるので、使用には十分な注意とテストが必要です。 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対応のこと。
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便利なツールです。
DNA LoBind チューブ、1.5 ml PCR clean, 250 pieces	Eppendorf	95295- 0030 108.050	相当	約28本	500本	核酸の吸着が少なく、且つNuclease Freeであるもの
Nuclease Free 0.2mL PCRチューブ(thin-walled)	Eppendorf	95262- 0030 124.332	相当	約8本	1000本	
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,P 200,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に対して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			相当			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 (Wash 2のPreWarm 65°C)			相当			

<問い合わせ先>アジレント・テクノロジー株式会社