

アジレント SureSelect XT RNA ターゲットエンリッチメントシステム

Strand-Specific RNAライブラリ調製とターゲットエンリッチメントプロトコルに必要なもの

プロトコル Version A.1 対応

2014/08/18

この必要なものは、total RNAからpolyA RNAを精製し、アダプタを付けた後、興味のある遺伝子のキャプチャしてSequencingするために必要な試薬と器具類をまとめたものです。
全polyA RNAのSequencing(Whole Transcriptome Sequencing)を行う場合は別のリストをご覧ください。
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。

※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
SureSelect 試薬キット						
SureSelect XT RNA Reagents, イルミナ対応, 16反応	Agilent	G9692A	指定	1	16反応分	G9691Aおよびアダプタ、インデックスプライマ、ハイブリに必要試薬を含む
SureSelect XT RNA Reagents, イルミナ対応, 96反応	Agilent	G9692B	指定	1	96反応分	G9691Bおよびアダプタ、インデックスプライマ、ハイブリに必要試薬を含む
SureSelect キャプチャライブラリ(ペイト)キット						
SureSelect RNA Kinome, 16 reactions	Agilent	5190-4801	—	1	16反応分	
SureSelect RNA Kinome, 96 reactions	Agilent	5190-4802	—	1	96反応分	
SureSelect RNA Capture 1 kb から 499 kb, 16 reactions	Agilent	5190-4934	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4939
SureSelect RNA Capture 1 kb から 499 kb, 96 reactions	Agilent	5190-4935	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4940
SureSelect RNA Capture 0.5 Mb から 2.9 Mb, 16 reactions	Agilent	5190-4944	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4949
SureSelect RNA Capture 0.5 Mb から 2.9 Mb, 96 reactions	Agilent	5190-4945	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4950
SureSelect RNA Capture 3 Mb から 5.9 Mb, 16 reactions	Agilent	5190-4954	—	1	16反応分	再発注の場合、5190-4959
SureSelect RNA Capture 3 Mb から 5.9 Mb, 96 reactions	Agilent	5190-4955	—	1	96反応分	再発注の場合、5190-4960
その他の試薬						
Actinomycin D	Sigma	A1410	相当	12ug	2mg	SureSelect Strand Specific RNAライブラリ調製試薬にはアクチノマイシンDが含まれませんので、別途ご用意下さい。 固体の製品を購入し、DMSOで4ug/uLに溶解して使用します。調製後1ヶ月以内に使用して下さい。 1サンプルあたり60ng使用します。
DMSO (Dimethyl sulfoxide) Molecular Biology Grade	Sigma	D8418	相当	3 uL	50 mL	Actinomycin Dを溶解してストック溶液を調製するために使用します。
AMPure XP Kit (SPRI beads)	Beckman Coulter	A63880	指定	526 uL	5 mL	大容量タイプ(A63881 60 mL、A63882 450 mL)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。
1xLow TE Buffer (10mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1mM EDTA)	Life Technologies	12090-015	相当		100 mL	
Nuclease-free water (not DEPC-treated)	Life Technologies	AM9930	相当	約400 uL	500 mL	DEPC処理ではないこと
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当	1680 uL	500 mL	98%以上、分子生物学用グレード、ほかの有機溶剤のコンタミネーションがないこと
※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 2200 TapeStation消耗品						
D1000 ScreenTape	Agilent	5067-5582	指定	1ラン	7枚	1枚で16サンプル測定できます。
D1000 試薬キット	Agilent	5067-5583	指定	1ラン		
High Sensitivity D1000 ScreenTape	Agilent	5067-5584	指定	1ラン	7枚	1枚で16サンプル測定できます。
High Sensitivity D1000 試薬キット	Agilent	5067-5585	指定	1ラン		
RNA ScreenTape	Agilent	5067-5576	推奨	1ラン	7枚	1枚で16サンプル測定できます。
RNA サンプルバッファ	Agilent	5067-5577	推奨	1ラン		スタート時のRNAの分解度評価にご使用できます。
High Sensitivity RNA ScreenTape	Agilent	5067-5579	推奨	1ラン	7枚	1枚で16サンプル測定できます。
High Sensitivity RNA サンプルバッファ	Agilent	5067-5580	推奨	1ラン		スタート時のRNAの分解度評価にご使用できます。
Agilent 2100 バイオアナライザ消耗品						
Agilent DNA 1000 kit	Agilent	5067-1504	指定	1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。
Agilent RNA6000ナノキット	Agilent	5067-1511	推奨	1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。スタート時のRNAの分解度評価にご使用できます。
Agilent RNA6000ピコキット	Agilent	5067-1513	推奨	1ラン	25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。スタート時のRNAの分解度評価にご使用できます。

※ 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 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2943CA	指定			DNA、RNAの定性または定量に使用できます。Expert Software B.02.07以降が必要。
Agilent 2200 TapeStation	Agilent	G2964AA/G2965AA	指定			DNA、RNAの定性または定量に使用できます。
サーマルサイクラー	Agilent	SureCycler	相当			65°C24hのハイブリド、27uLの液が24uL以下まで蒸発しないこと(HotTop使用)。
96 well plate module for SureCycler 8800 Thermal Cycler	Agilent	G8810A	推奨			
96 Well Polypropylene Plate	Agilent	410088	推奨	最大12枚	25 plates	最大280uLの容量が入ること
Mx3000P/Mx3005P optical strip caps (flat type)	Agilent	401425	推奨	26本	strip caps 120本	サーマルサイクラーでの酵素反応・ボルテックス・スピンドアウンなどハイブリダイゼーション時以外に使用
Tube cap strips, domed	Agilent	410096	推奨	1本	strip caps 120本	410187 コンプレッションマットと組み合わせるハイブリダイゼーションに使うキャップ。溶液の蒸発を防止します。
コンプレッション・マット	Agilent	410187	推奨	1枚	10枚	410096 domed capと組み合わせるハイブリダイゼーションに使うコンプレッション・マット。溶液の蒸発を防止します。
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 (ペリタス) または日本ジェネティクス	120-27(96ウェルプレート用)、 FG-SSMAG2 (8連チューブ用)	相当			96 well plate用の磁石スタンド。Phenix Research Products (RX-IMAG-96P)など相当品でも可能
巡回振盪機	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ざるように、巡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(WE B-03-12)と組み合わせると便利
遠心分離機	Eppendorf	5417C	相当			
遠心分離機ローター	Eppendorf	022636006	相当			
濃縮遠心機	トミー精工	CC-105	相当			45°C以下の低温で、10uLのDNA溶液(elution/バッファ溶液)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TU-500と油回転真空ポンプGLD-051が必要。
Dynal DynaMag-2	Life Technologies (ペリタス)	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 Dynabeadsを複数サンプル分まとめて調整するのに便利です
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。
Nuclease Free 1.5 mL microfuge tubes	Life Technologies	AM12400	相当		500本	核酸の吸着が少なく、且つNuclease Freeであるもの
Nuclease Free 0.2 mL PCRチューブ (thin-walled)	Eppendorf	95262-0030 124.332	相当		1000本	
ピペット	Gilson	P10,P20,P200, P1000	相当			
マルチチャンネルピペット	Rainin	L12-20	相当			多検体同時に処理する際に便利です。
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						
96穴プレート用遠心機	KUBOTA	PlateSpin II	相当			1500 x gで96ウェルプレートのスピンドアウンが可能なもの
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						mRNA の精製、AMPure 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 Buffer #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