

Whole-Transcriptomeライブラリ調製プロトコルに必要なもの

プロトコル Version C0 対応

この必要なものリストは、total RNAからpolyA RNAを精製し、全polyA RNAをSequencingするためのライブラリ調製に必要な試薬と器具類をまとめたものです。興味のある遺伝子のキャプチャ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 Strand Specific RNA Library 調製試薬, イルミナ対応, 16反応	Agilent	G9691A	指定	1	16反応分	マニュアル・自動化対応ライブラリ調製試薬 16反応分
SureSelect Strand Specific RNA Library 調製試薬, イルミナ対応, 96反応	Agilent	G9691B	指定	1	96反応分	マニュアル・自動化対応ライブラリ調製試薬 96反応分
その他の試薬						
Actinomycin D	Sigma	A1410	相当	12 ug	2 mg	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	316 uL	5 mL	大容量タイプ(A63881 60 mL、A63882 450 mL)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	プールのライブラリをメスアップするのに使用します。
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	1400 uL	500 mL	98%以上、分子生物学グレード、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						
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 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。
Agilent TapeStation 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。
Agilent TapeStation 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。
Agilent TapeStation 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 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 2200 TapeStation System	Agilent	G2964AA または G2965AA	指定		RNA、DNAの定量とサイズ確認に必要です。
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2938C	指定		RNA、DNA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
サーマルサイクラー	Agilent	SureCycler	相当		HotTopが使用できること
96 well plate module for SureCycler 8800 Thermal Cycler	Agilent	G8810A	相当		
96 Well Polypropylene Plate	Agilent	410088	相当		25 plates
Mx3000P/Mx3005P optical strip caps (flat type)	Agilent	401425	相当		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に使用
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(ベリタス)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)
遠心分離機	Eppendorf	5417C	相当		
遠心分離機ローター	Eppendorf	022636006	相当		
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	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に対して同時に行うときに便利で
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		

<問い合わせ先>アジレント・テクノロジー株式会社