

SureSelect Strand-Specific RNAライブラリ調製イルミナルマルチプレックスシーケンス対応

自動化システム対応 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 1.4JP (英文Version C0) 対応

2014/12/17

この必要なものリストは、Agilent NGS自動化システムを用いて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。他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/ 相当品	必要量/ 96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, 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	33 mL	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305 mL	500 mL	DEPC処理ではないこと。
99.5% Ethanol, molecular biology grade	Wako	054-07225	相当	約 50 mL	500 mL	98%以上、分子生物学用グレード、ほかの有機物質のコンタミネーションがないこと

※ 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。

※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		
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せん。
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せん。

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	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。RNAのQCにご利用できます。
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。RNAのQCにご利用できます。

<必要な消耗品類>

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
Robotic Pipetting Tips (Sterile, Filtered, 250 uL)	Agilent	19477-022	指定	44	50	
PCR用96Well Plate (以下①～④から1種類選択)			指定	11		和文実験プロトコル表6 「サポートされているPCRプレートの情報」に記載されている、本自動化実験用にサポートされているPCRプレートのうち、使用予定のサーマルサイクラに対応するもの
①96 ABI PCR half-skirted plates (MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plates)	Life Technologies	N801-0560				
②96 Agilent semi-skirted PCR plate	Agilent	401334				
③96 Eppendorf Twin.tec half-skirted PCR plates	Eppendorf	951020303				
④96 Eppendorf Twin.tec PCR plates (full-skirted)	Eppendorf	951020401 or 951020619				
Eppendorf twin.tec full-skirted 96-well PCR plates	Eppendorf	951020401	指定	10	25	(0030 128.648)
Thermo Scientific Reservoirs	Thermo Scientific	1064156	指定	6	20	
Costar General Assay Plate 3344	Corning	3344	指定	7	50	本製品はSureSelect Target Enrichment 自動化プロトコルおよびHaloPlex自動化プロトコルでは使用しないプレートです。別途ご用意下さい。
Nunc DeepWell Plates, sterile, 1.3 mL well volume	Thermo Scientific	260251	指定	6	50	
Axygen 96 Deep Well Plate, 2.2 mL, Square Well (waste reservoirs)	Axygen	P-2ML-SQ-C	指定	4	25	E&K Scientific p/n EK-2440 でも可
MicroAmp 96-Well base(black adapter for MicroAmp plates)	Life Technologies	N801-0531	指定	3	10	
NucleoClean Decontamination Wipes	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。
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。
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			

<必要な機器・器具類>

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
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			DNA、RNAの定量とサイズ確認に必要です。
Agilent 2100 Bioanalyzer	Agilent	G2938C	指定			DNA、RNAの定量とサイズ確認に必要です。Expert Control Software B.02.03以降の version であること。
サーマルサイクラー	Agilent	SureCycler	相当			HotTopのOn/Offが使用できること
96 well plate module for SureCycler 8800 Thermal Cycler	Agilent	G8810A	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 xg 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	日本ミリオア	チビタンII	相当			
ピペット	Pipetman	P10,P20,P200, P1000	相当			
SureSelect対応のNGS自動化システムで本自動化実験を行うために追加に必要な部品・消耗品です。HaloPlex自動化プロトコルに対応している場合は以下の部品は不要となります。						
Bravo 96-well PCR plate insert (Red)	Agilent	G5498B#013	指定	1		合計2個必要です

<問い合わせ先>アジレント・テクノロジー株式会社