



TapeStation簡易マニュアル RNA



ver. 1.4_2015. 11

ご注意) 本マニュアルに記載した内容は予告なしに変更することがあります
最新版は巻末のサポートページからダウンロードしてください

R6K Kitのプロトコルとは異なります

必要試薬



ScreenTapeとSample bufferが必要です

・RNA ScreenTape (5067-5576)

4°C (2 -8°C)保存

ScreenTape 7 枚 (112 サンプル分)

・RNA Sample buffer (5067-5577)

4°C (2 -8°C)保存

● RNA Sample buffer (600 μ L x 1vial)

・RNA Ladder (5067-5578)

-20°C 保存

● RNA Ladder (10 μ L x 1 vial)



Ladderは別売りです。
分解度のみ測定する場合は
必要ありません。

必要消耗品



指定品以外使用しないでください

データに影響がでる・装置が故障する可能性があります

装置購入時に以下の消耗品 (1セット) が付属しています

- ・Loading Tips (384本入りチップラック1個)*(5067-5153) *10個セットも購入可能です (5067-5152)
 - ・8連PCRチューブストリップ (120本) (401428)
 - ・8連PCRオプティカルキャップストリップ (120本) (401425)
 - ・96-well Sample Plates (10枚)(5067-5150)
 - ・96-well Plate Foil Seal (100枚) (5067-5154)
- 8連チューブで行う場合使用します
- 96-well plateで行う場合使用します

ご用意いただくもの



キット及び装置には付属していません

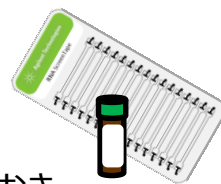
- ・ピペット 及び ピペットチップ
- ・遠心機 (スピンドウン用)
- ・ボルテックス (システム付属の96-well plate用 IKA vortexをお持ちでない場合)
- ・ヒートブロック または PCR装置 (72°Cで使用します)
- ・Ice Bath

Software



Version A01.04以上が必要です。

準備に入る前に…



⚠ ScreenTapeとSample bufferを室温(23-25°C 前後)に30分以上おき、室温に戻してください。試薬は使用前によく混合してください。

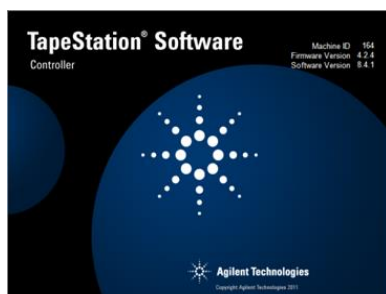
サンプル調製は室温(23-25°C前後)で行ってください。

⚠ PCおよびTapeStationの電源を入れ、Controllerソフトウェアを起動し、本体とPCが接続されていることを確認してください。

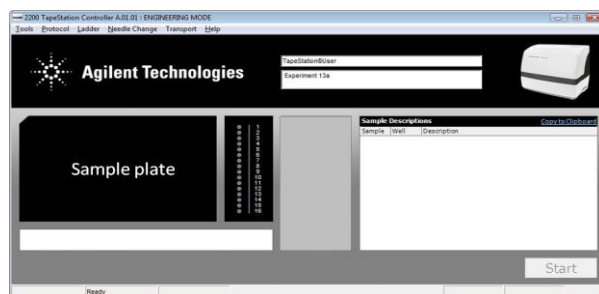
Controller ソフトウェア



起動画面



装置を認識し、calibration後の画面



装置が認識されない場合、エラーメッセージが出てソフトウェアが立ち上がりません。

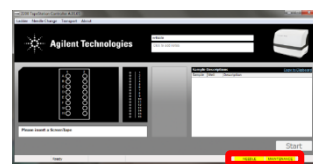


装置の電源・電源ケーブル・接続ケーブル をチェックしPC、装置を再起動してください。

⚠ ソフトウェアの右下にAlertが表示される場合

Needle: Needle cartridge (型番G2960-60063)をご購入ください。

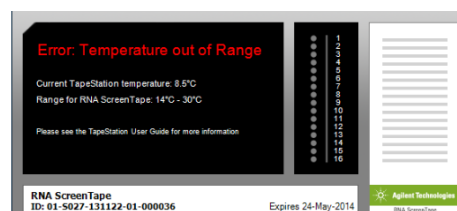
Maintenance: サポート窓口までお問い合わせください。



⚠ RNAの場合、動作環境温度は14-30°Cです。

範囲外の温度でScreenTapeをセットすると、エラーメッセージが表示され測定開始できません。

また安定したデータを取得するための至適温度は23°Cです。



サンプルの定量範囲

*Kitのスペック表(p10)も合わせてご覧ください。

RNA定量範囲 及び RIN^e推奨濃度範囲: **25 - 500 ng/μL***



濃度の高いサンプルはNuclease-free water等で希釈してください。

範囲外の場合、定量値やRIN^eに影響があります。

Ladder及びサンプルの調製



必ず手袋をしましょう

Ladderについて

total RNAの分解度を測定する場合は、必ずしもLadderは必要ありません。

Software Ladderでサイジングが可能です。

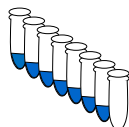
サイズを正確に測定したい場合は、Ladderをサンプルと同時に泳動することをお勧めします。

分析サンプル数について

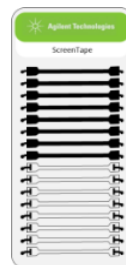
サンプルは**2個ずつ**処理されます。サンプル数がLadderも含め奇数になる場合は

ScreenTapeの1レーンが余分に使用されますのでご注意ください。

例) Ladder + 6 samples = 7サンプル



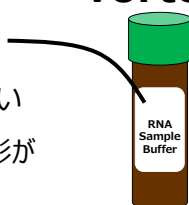
→ 8レーン使用



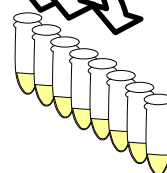
- 1 Sample Buffer (●) を**vortex**で良く混ぜた後、
8連チューブもしくは96-well plateに**5μL**ずつ分注します。

5 μL

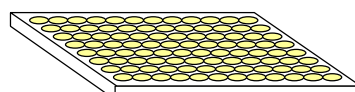
vortex



Sample Buffer



or



ラベルに“RNA”と

記載があることを確認してください

その他のRNA Kitとバイアルの色・形が

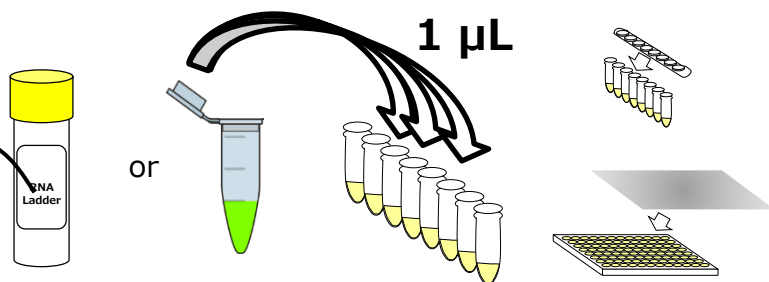
同じなのでご注意ください。

Ladder及びサンプルの調製（つづき）

2 **1 μ L**のLadder（●）または RNAサンプルを加え、フタもしくはシールをします。



ラベルに“RNA”と記載があることを確認してください。その他のRNA Kitとバイアルの色・形が同じなのでご注意ください。



Ladder

RNAサンプル

point

Ladderを泳動する場合、ソフトウェアが1番目のサンプルをLadderと自動で指定するのでLadderを**1番初め**のチューブ/ウェルに入れると便利です。

*1番目以外に入れた場合、泳動後解析ソフトウェアでLadderを指定する必要があります。

方法は解析ソフトウェアのマニュアルをご参照ください。

3 vortexで**混合**します。



混ぜ方が不十分な場合、定量値に影響を与えます

付属のvortexをお持ちの場合

2000 rpm で**1min**混合してください。

8連チューブの場合、しっかりフタを閉めアダプタに深くセットしてください。

付属のIKA vortex

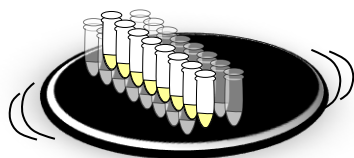


付属のvortexをお持ちでない場合

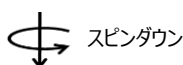
Maxで**10s**の混合を**2回**繰り返してください。

8連チューブの場合、全てのチューブ内で液が混合されていることを確認してください。

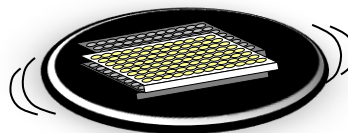
96-well plateの場合、より注意深く混ぜるようにしてください。全てのウェルで混合されていることを確認してください。



10秒



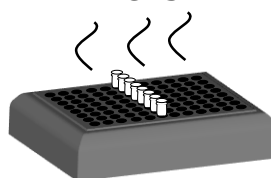
くりかえし



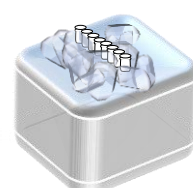
96-well plateを使用する場合はより注意深く、よく混ぜるようにしてください。

4 LadderとSampleを熱変性します。
72°C, 3 min → on ice, 2 min
スピンドウンをして、液が底にあることを確認してください。

72°C 3 min



on ice 2 min



スピンドウン



装置のセット

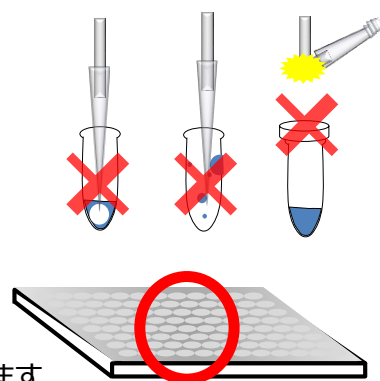
蓋をあけ、Sample plate & サンプル、Tip holder & Loading tip、ScreenTapeをセットします。



1 Sample plate & サンプル

8連チューブ用 または 96-well plate用 sample plateをセットし、調製したサンプルをセットします。

- !** チューブの底にサンプルがあるか、気泡がないか確認してください。
 8連チューブの場合、**フタを必ず外してから**セットしてください。
 96-well Plate Foil Seal (5067-5154)の場合、そのままセットできます。



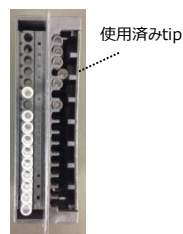
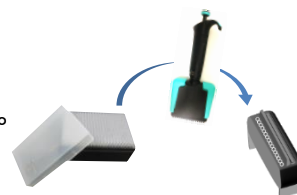
2 Tip holder & Loading tip

Loading tipをセットしたTip holderを装置にセットしてください。

Loading tipのセットはTransfer toolを使用すると簡単です。

使用済みのtipが残っている場合、泳動を開始できません。取り除いてから装置にセットしてください。

- !** 16サンプル以下でも**16本のLoading tip**をセットしてください。未使用のtipは次回、使用できます。
 Loading tipを入れる場所を間違えるとサンプルがロードされずレーンが無駄になります。



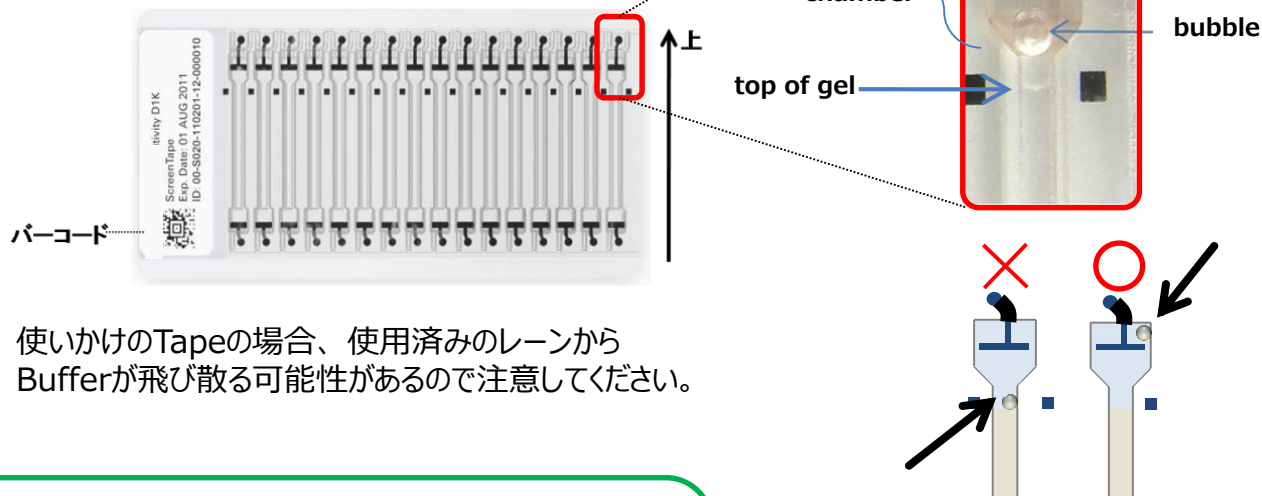
装置のセット (つづき)

3 ScreenTape

セットする前にScreenTapeのバーコードを下にし、**上端を軽くはじき**

気泡をBuffer chamberの上の方に移動させます。

GelとBufferの境界に気泡があるとデータに影響を与えます。



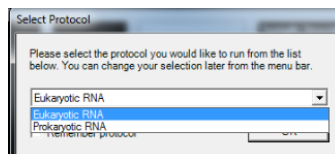
使いかけのTapeの場合、使用済みのレーンからBufferが飛び散る可能性があるので注意してください。

4 ラベルを手前、バーコードを右側にして装置にセットします。

ScreenTapeが認識されるとプロトコルの選択画面が現れます。

サンプルの生物種を選択してください。

*泳動後、解析ソフトウェアでも変更可能です。



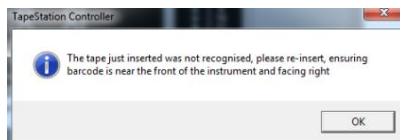
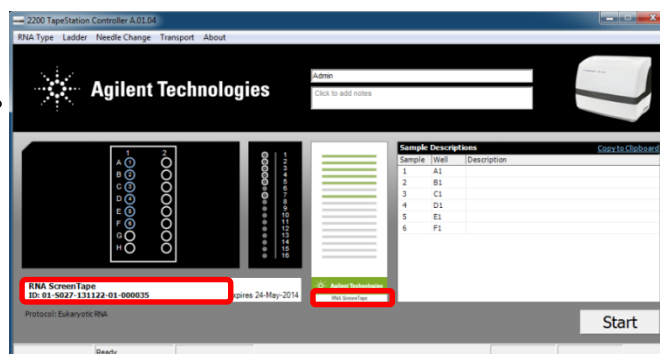
画面上にTapeの絵が現れます。ScreenTapeの絵および左下 () に

“RNA”と表示されていることを確認してください。

Tapeの向きが間違っている場合、エラーが表示されます。

向きが正しいにもかかわらずエラーメッセージが出る場合、

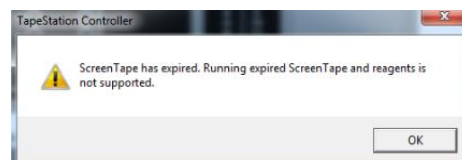
Tapeを入れなおしてください。



使用期限が過ぎているTapeを入れた場合、メッセージが表示されます。

期限が切れたTapeを使用したデータに関しましては、

一切保証できませんのでご了承ください。



5 装置の蓋を閉めます。

Control Software

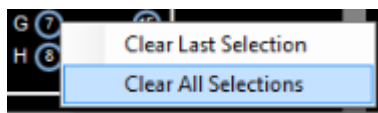
1 サンプルウェル

Controlソフトウェアのsample plateのウェルをクリックまたはドラッグします。



サンプルは2つ単位でのみ選択可能です。

右クリックから選択を取り消すことができます。



以前使用したTapeの場合

使用済みのレーンはグレーで示されます。

8連チューブの場合は、残りのレーン以上のサンプル数は選択できません。

96-well plateの場合は96サンプルまで選択可能です。

2台以上のTapeStationをお使いの場合
ScreenTapeの使用履歴などの情報はPCに保存されています。
違う装置・PCで使用済みのScreenTapeを使用しないでください。

2 Loading tip およびTape

使用するLoading tip の場所、Tapeのレーンの色が変わります。

3 Ladder

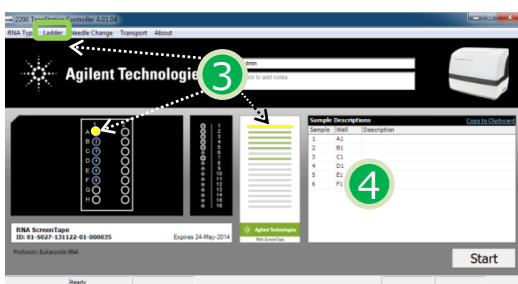
RNAアッセイでは “No Ladder” がデフォルトで設定されています。

Ladderを泳動する場合は、Ladderメニューから “Ladder” を選択してください。

1番目に泳動するサンプルが自動的にLadderと指定されます(黄色で示されます)。

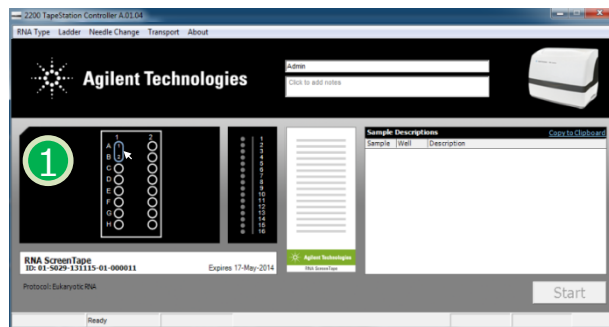
*1番目以外にLadderを入れた場合、泳動後、解析ソフトウェアでLadderを指定する必要があります。

方法は解析ソフトウェアのマニュアルをご参照ください。

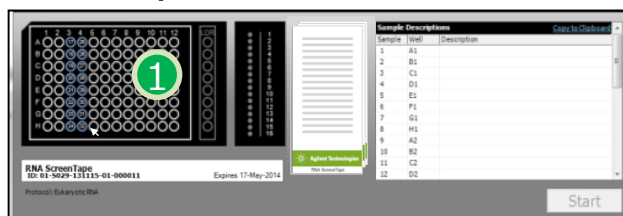


4 Description

必要に応じて、sample名を記入してください。
txt fileからCopy & pasteすることが可能です。



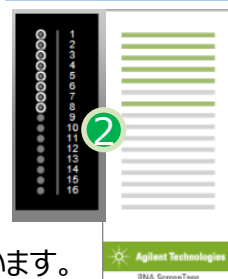
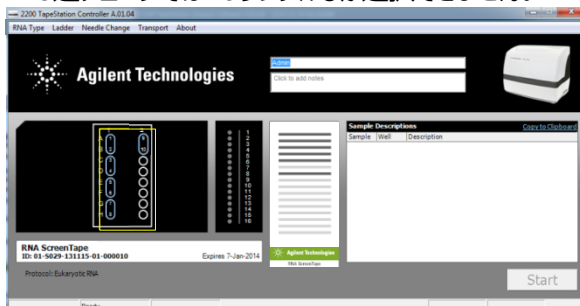
96-well plate用



2枚以上のScreenTapeを使用するサンプル数の場合、Tapeの絵が複数枚になります。

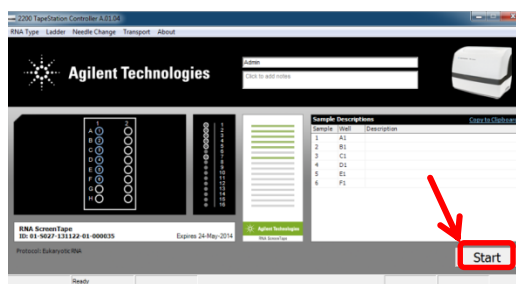
例) 6レーン使用したTape

8連チューブでは10サンプルしか選択できません。



Runの開始

1 スタートをクリックします。



2 保存するデータ名・保存場所が表示されます。→ OKをクリック

デフォルト設定

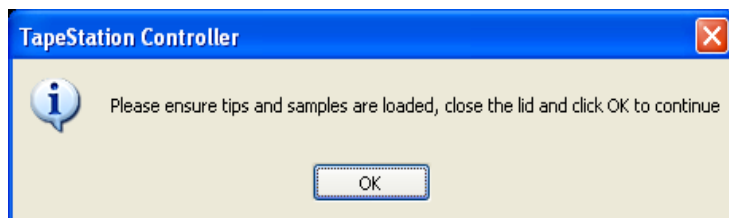
データ名: 日付-泳動回数 (例: 2014-01-13-01)

保存場所: Library>documents>Agilent>2200 TapeStation data

3 最終チェック

Loading tip、サンプルをセットしたか、
サンプルチューブの蓋をはずしたか
確認してください。

OKをクリックすると泳動が始まります。



泳動中は蓋を開けないでください。

泳動中は装置前面のライトが点滅しています。

開けると途中で泳動がストップし、データを取得できません。

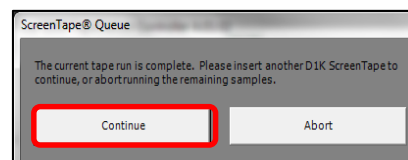
2枚以上のTapeを
使用する場合

ScreenTapeとLoading tipの交換

泳動が終了するとメッセージが表示されます。

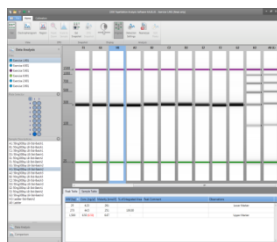
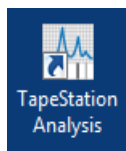
使用後のScreenTapeとTip holderを取り出し
新しいScreenTapeとLoading tipをセットしたTip holderを
入れた後“Continue” をクリックしてください。

あらかじめTip holderにLoading tipをセットしておくとも簡単です。



Runの終了

1 データの確認



泳動終了後、自動でAnalysis softwareが立ち上がりデータが表示されます。

! Markerが全く検出されていない場合、以下をチェックしてください

サンプル → ・気泡が入っていたり、液が壁面についていないか？



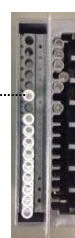
Loading tip → ・使用した全てのtipがbucketに入っているか？
・折れ曲がっているチップはないか？

ScreenTape → ・使用したレーン全てに正しく穴があげられているか？

・電極(バーコード側) 周りに細かい泡が発生しているか
(電流が流れたかどうかの指標になります)



Tapeの上からの写真
正しい穴の位置 (青) と ずれた穴の位置 (赤)



2 サンプル、ScreenTape、Tip holderを取り出します。

✓ Tapeの保存

使用しないレーンがあった場合、**4°C**で**2週間**保存できます。

流路を立てた状態で、バーコードを下にして保存してください。

使用したレーン、日付はPCに自動的に記録されています。

(使用したレーンからbufferが漏れる可能性がありますので、元の袋に入れていただくと安心です。)



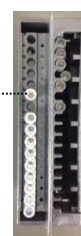
✓ 使用済みLoading tipの廃棄

使用されたLoading tip はtip bucketに移動しています。

使用後はtip bucketを空にしてください。

! 泳動時にtip bucketにLoading tipがあると泳動開始できません。

未使用tipはTransfer toolを使ってLoading tipケースに戻し、次回以降使用してください。



3 システムのシャットダウン

Controller software、TapeStation、PCの順番にシャットダウンしてください。

Analytical Specification	RNA
定量範囲	25 – 500 ng/μL
RIN ^e 推奨濃度範囲	
定量再現性* ¹	5%
定量真度	20%
分析分子量範囲	100 – 6000 nt
感度 * ²	5 ng/μL
使用可能緩衝液濃度	200 mM Tris, 20 mM EDTA or 50mM NaCl
分析時間	16 samples < 16 minutes 96 samples < 100 minutes
サンプル数 / 1 Tape	16 (Ladder含む)
サンプル必要量	1 μL

*1 Within a ScreenTape

*2 Singal/noise>3 in water and TE

プロトコルなどのダウンロードサイト

https://www.chem-agilent.com/lscabooth/DNAMicroArray/yan_MicroArray.htm
(ログイン名、パスワードはお問い合わせください。)

製品に関するお問い合わせ先 ;

Phone: 0120-477-111

Fax: 0120-565-154

Mail: email_japan@agilent.com

=====

電話・メール受付時間 土、日、祝祭日を除く

9 : 00 ~ 12 : 00 13 : 00 ~ 18 : 00

=====