

4200 TapeStation簡易マニュアル High Sensitivity RNA

ver. 1.2_2016.03

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



2200 TapeStationのマニュアルとは異なります



必要試薬



ScreenTapeと試薬キットが必要です

・High Sensitivity RNA ScreenTape (5067-5579)

4°C (2 -8°C)保存

ScreenTape 7 枚 (112 サンプル分)

・High Sensitivity RNA 試薬キット (5067-5580)

4°C (2 -8°C)保存

● High Sensitivity RNA Sample buffer (250 μ L x 1vial)

・High Sensitivity RNA 試薬キット (5067-5581)

-20°C 保存

● High Sensitivity 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* (112本入りチップラック1個)** (5067-5598) **10個セットも購入可能です (5067-5599)
 - ・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* (25枚)(5042-8502)
 - ・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



*2200TapeStation用のLoading tips, 96-well Sample platesは使用できませんのでご注意ください。

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

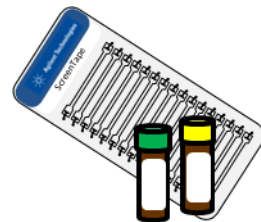
- ・ピペット 及び ピペットチップ
- ・遠心機 (スピンドウン用)
- ・ヒートブロック または PCR装置 (72°Cで使用します)
- ・Ice Bath

Software



Version A02.01以上が必要です。

準備に入る前に...



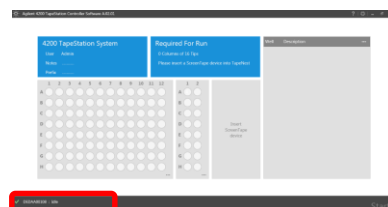
! ScreenTapeと試薬を室温(23-25℃ 前後)に30分以上おき、室温に戻してください。試薬は使用前によく混合してください。
サンプル調製は室温(23-25℃ 前後)で行ってください。

! PC起動後、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

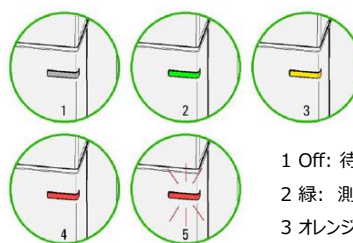
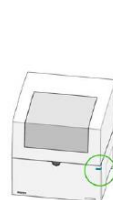
起動画面

装置を認識した場合、
シリアル番号が表示されます



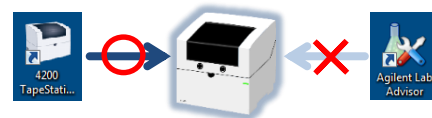
装置が認識されない場合やエラーメッセージが表示される場合は
装置の電源・電源ケーブル・接続ケーブル をチェックしPC、装置を再起動してください。

装置の初期化が終わるとランプが
赤→オレンジ→緑→オレンジの順に点灯します。
赤の点灯もしくは点滅状態になった場合は
装置を再起動してください。



- 1 Off: 待機中
- 2 緑: 測定中
- 3 オレンジ: 準備中
- 4 & 5 赤 (点灯 or 点滅): エラー

! ControllerソフトウェアとLab Advisor (ハードウェア診断用ソフトウェア) は同時に起動しないでください。



! ソフトウェアにwarning messageが表示される場合

Needle: Needle change cartridge (型番5067-5783)をご購入し、Needleを交換してください。

交換方法は別紙「4200TapeStation トラブルシューティングガイド」ご参照ください。

Maintenance: サポート窓口までお問い合わせください。

! High Sensitivity RNAの場合、動作環境温度は14-30℃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20℃です。

サンプルの定量範囲

*Kitのスペック表(p12)も合わせてご覧ください。

High Sensitivity RNA定量範囲: **500 - 10000** pg/ μ L*

RIN^e推奨濃度範囲: **1000 - 25000** pg/ μ L*



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。

消耗品について

必ず指定の8連チューブ、Loading tips、96-well plate、Plate Foil Sealをご使用ください。

データに影響が出る・装置が故障する可能性があります。

Ladderを泳動する場合

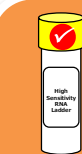
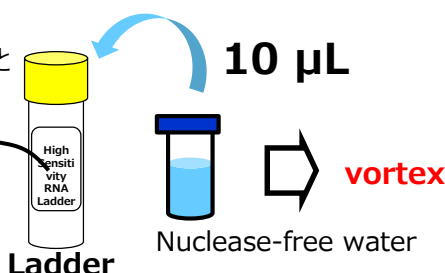
Ladderを泳動しない場合は **3** からご覧ください。

High Sensitivity RNA Assayでは2枚以上のScreenTapeを使用する場合でもLadderの泳動は1レーンのみです。Ladderの調製方法は1～96サンプルで共通です。

1 Ladder バイアル (●) に10 μ LのNuclease-free waterを加え、希釈します。(初回のみ)



ラベルに“High Sensitivity 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。



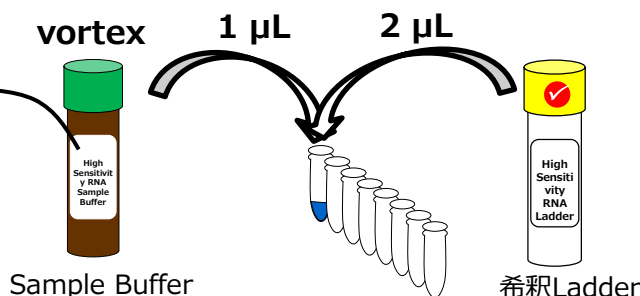
希釈済みとわかるよう記載し、使用後は
-20℃に保存してください。

希釈 Ladder 次回からは調製せず
使用できます。

2 High Sensitivity RNA Sample Buffer (●) をvortexで良く混ぜた後、8連チューブの
A1のみ に **1 μ L** 分注しHigh Sensitivity RNA Ladder (●) を **2 μ L** 加えます。



ラベルに“High Sensitivity RNA”と記載があることを確認してください
その他のDNA 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）

サンプルの調製



使用済みのScreenTapeを使用する場合、



残りレーン以上のサンプルを泳動する場合、8連チューブは使用できません。96-well plateを使用してください。

例) 8レーン使用済みのScreenTapeを使用して、8サンプル泳動する場合 → 8連チューブ使用可能

9サンプル以上泳動する場合 → 96-well plate使用

- 3 Sample Buffer (●) をvortexで良く混ぜた後、8連チューブもしくは96-well plateのサンプルを入れるウェルに**1 μ L**ずつ分注します。



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

vortex

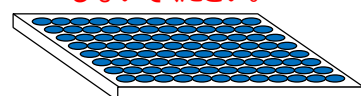
Sample Buffer

1 μ L

or

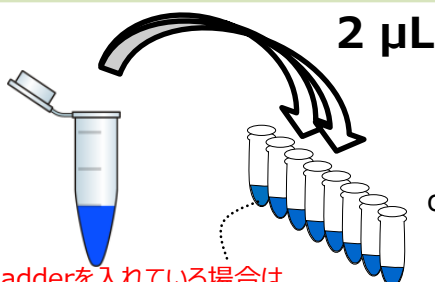


2200TapeStation用の96-well plateは使用しないでください。

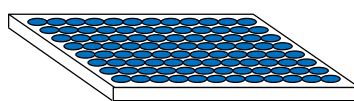


8連チューブのA1にLadderを入れている場合はB1から分注します

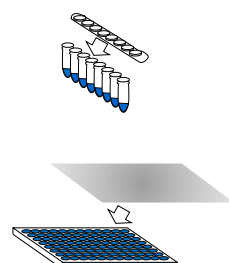
- 4 **2 μ L** のRNAサンプルを加え、フタもしくはシールをします。



or



8連チューブのA1にLadderを入れている場合はB1から分注します



- 5 vortexでよく混合します。



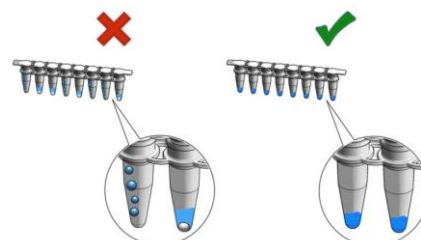
混ぜ方が不十分な場合、定量値に影響を与えます

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奥までセットしてください。

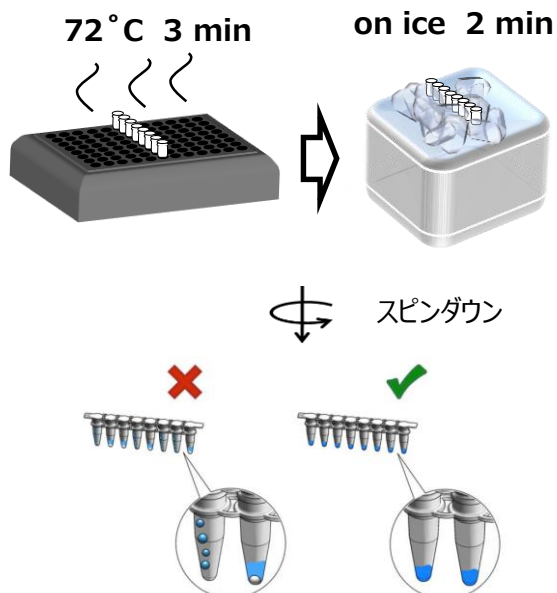


- 6 スピンドアウンして液が底にあることを確認してください。



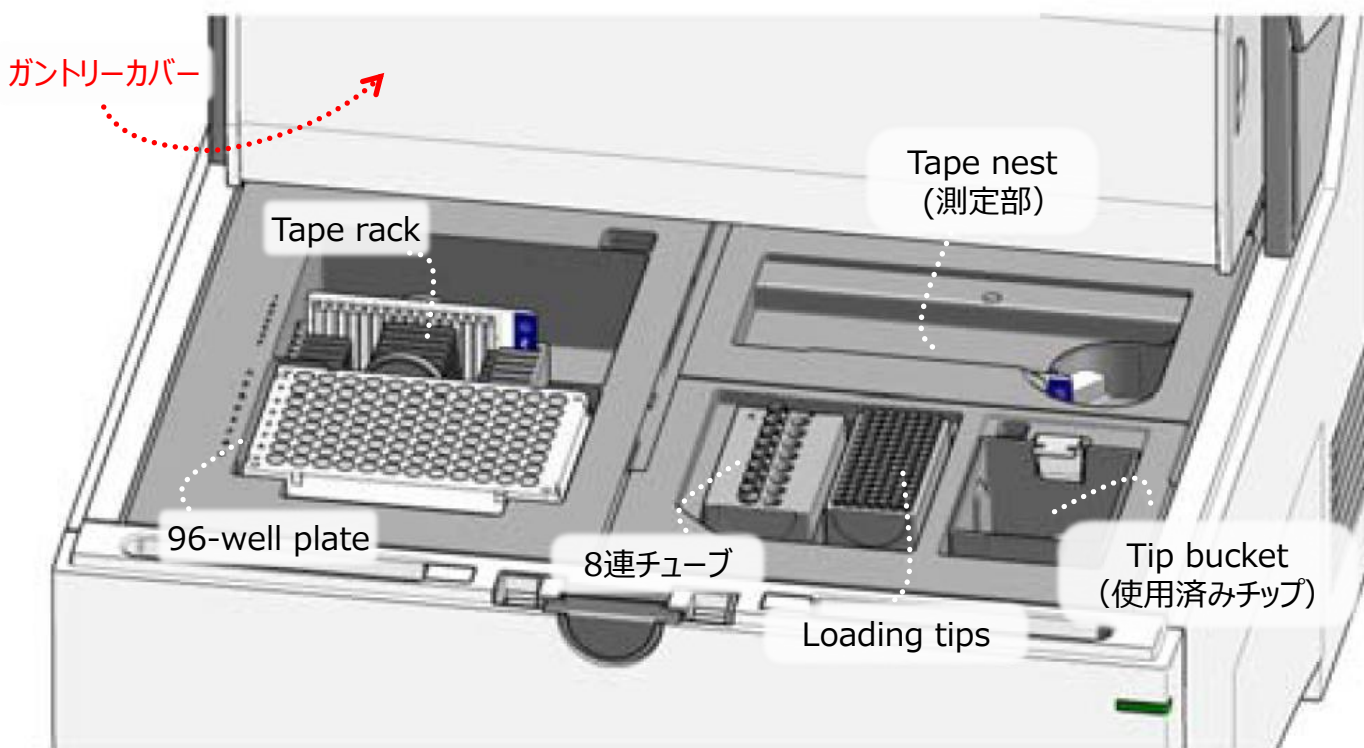
Ladder及びサンプルの調製（つづき）

- 6 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。

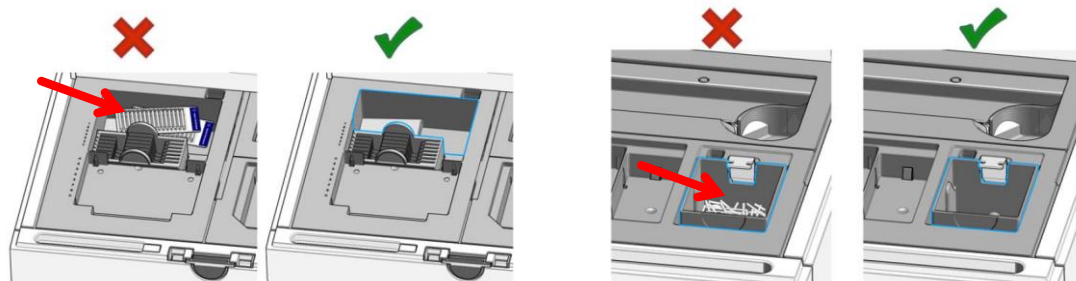


装置のセッティング

⚠ ガントリーカバーは外さないでください。正しくセットされていないと装置が正常に作動できません。



- 1 使用済みのScreenTape・Loading tipsを捨ててください。



装置のセッティング（つづき）

2 Loading tips をラックのままセットします。

必ずフタを外してください。

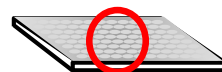
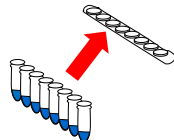
⚠ 2200TapeStation用のLoading tipsは使用できません。

3 サンプルをセットします。

8連チューブ、もしくは 96-well plateをセットします。

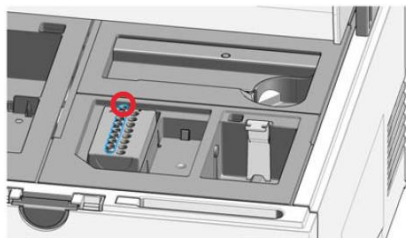


⚠ 8連チューブの場合、必ずフタを外してください。
96-well Plate Foil Seal (5067-5154)の場合、そのままセットできます。

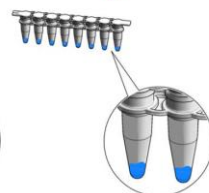


Ladderを泳動する場合

8連チューブのA1にセットしてください。



⚠ 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。



4 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。

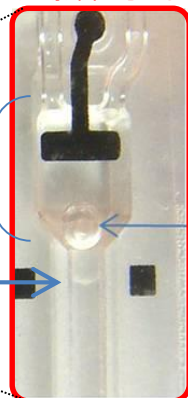


データに影響を与える泡の位置

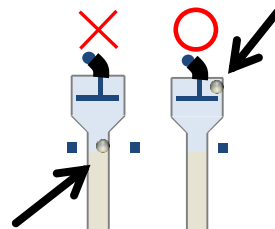
Buffer chamber

top of gel

bubble



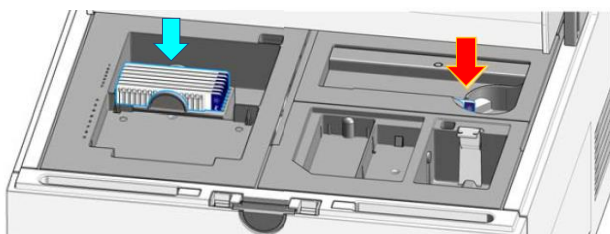
使いかけのTapeの場合、使用済みのレーンからBufferが飛び散る可能性があるので注意してください。



装置のセッティング（つづき）

5 ScreenTapeをセットします。

1枚目をTape nest (↓) に、2枚目からはTape rack (↓) に入れてください。



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。



使用済みのScreenTapeはTape nestに入れてください。

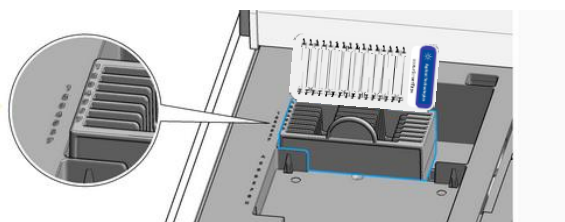
Tape rackは未使用のTapeのみ入れてください。

1種類のAssayのみ泳動できます。

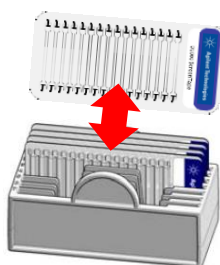
異なる種類のScreenTapeを入れないでください。



Tapeのバーコードが右側、奥に向くようrackにセットしてください。Tapeを入れるスペースは余裕があります。Tapeが入らない、もしくは入りづらい場合向きを確認してください。



Tapeを数回出し入れし、Rackが持ち上がらないか確認してください。Tapeがrackに引っかかる場合、そのTapeは使用せず、サポート窓口にご連絡ください。



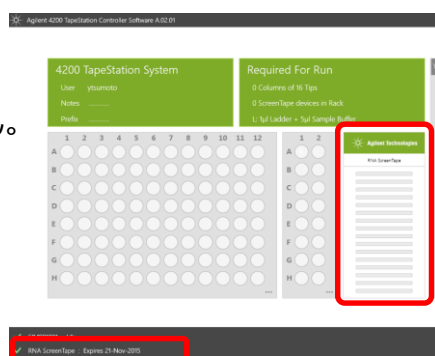
ScreenTapeが認識されると画面上にTapeの絵が現れます。ScreenTapeの絵および左下 () に“High Sensitivity RNA”と表示されていることを確認してください。

Tapeの向きが間違っている場合、Tapeが認識されません。

使用期限が過ぎているTapeを入れた場合、

左下のExpired Dateが黄色で表示されます*。

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。



使用済みのレーンはグレーで表示されます



✓ DEDAA : Idle
⚠ RNA ScreenTape : Expired 17-Aug-2014

*使用期限が切れたScreenTapeを使用するかどうかをSettingで変更することができます(p10 参照)。

6 装置の蓋を閉めます。

Control Software

1 サンプルウェル

Controlソフトウェアのウェルをクリックまたはドラッグします。
Ctrlを押しながらウェルをクリックすると取り消すことができます。
右クリック、もしくは右下の・・・（)で以下の設定を変更することができます。

- ✓ Use Run Ladder: Ladderを泳動します
8連チューブのA1に“L”と表示されます。
注) Ladderのみの1サンプルでは泳動スタートできません。
- ✓ Use Electronic Ladder: Ladderは泳動しません。
ソフトウェアに保存されたLadderデータを使用します。
- ✓ Select All: 全てのウェルを選択します。
- ✓ Clear Selection: 選択したウェルを取り消します。



使用済みのScreenTapeを使用する場合

8連チューブを使用する場合は残りレーン以上のウェルを選択するとスタートできません。残りレーン以上のサンプルを泳動する場合は96-well plateを使用してください。
例) 8レーン使用済みのScreenTapeを使用して16サンプル泳動する場合96-well plateを使用してください。

2 必要な消耗品など

選択したサンプル数に応じた
必要なLoading tips、ScreenTapeの数、
Ladderの調製方法が示されます。
装置にセットした消耗品等の数を確認してください。

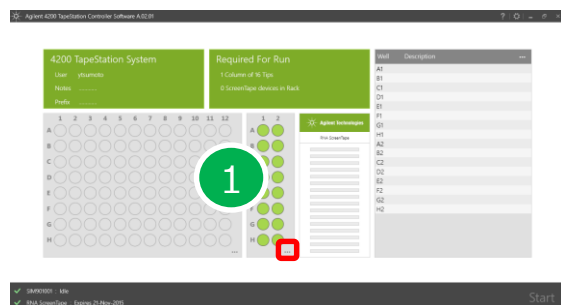
3 Description

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

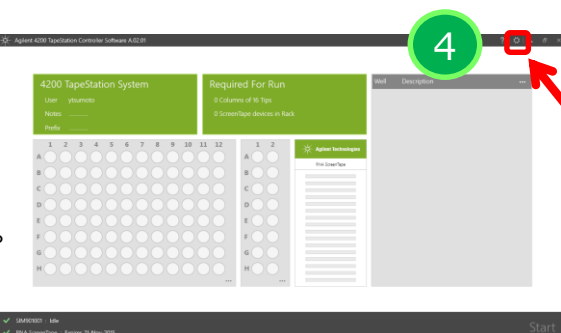
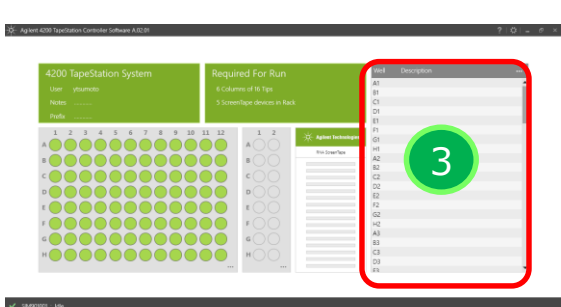
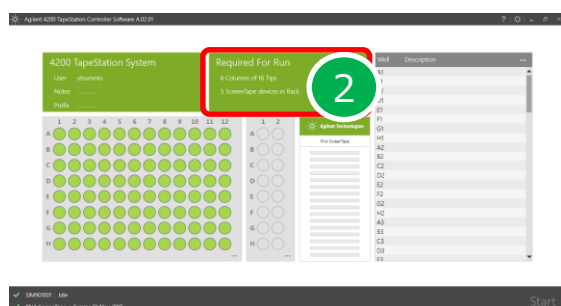
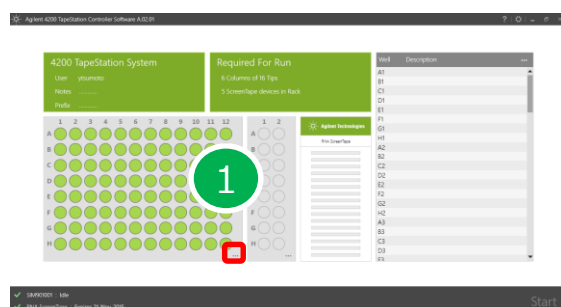
4 Setting

Setting画面でtotal RNAの生物種を選択することができます。
必要に応じて設定を変更してください。
詳細はp10をご覧ください。

8連チューブを使用する場合



96-well plateを使用する場合



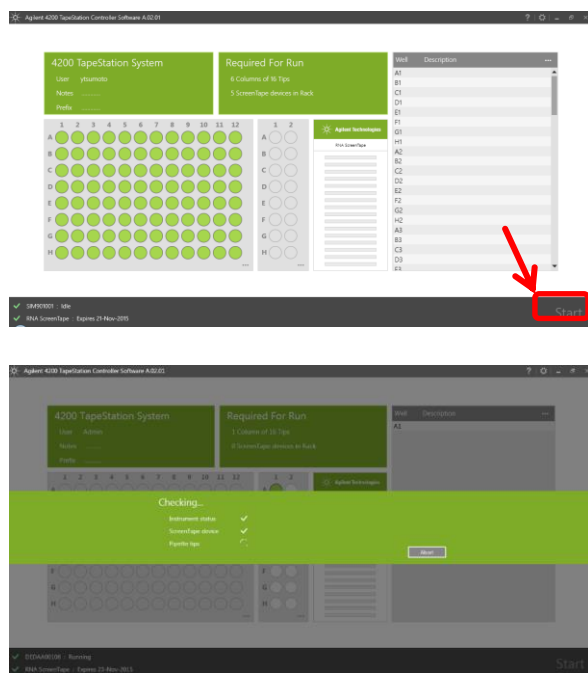
Runの開始

1 スタートをクリックします。

使用済みのScreenTapeとLoading tipsを廃棄したことを確認後、“Proceed”をクリックしてください。

- 2
- 装置の動作
 - 8連チューブのフタの有無
 - ScreenTapeの数
 - Loading tipsの数

をチェックします。



問題がある場合、メッセージが表示され泳動が開始されません。

泳動が開始されるのを確認してください。

メッセージが表示された場合、別紙「4200TapeStation トラブルシューティングガイド」をご参照ください。

3 泳動が開始されます。

泳動が開始すると残り時間が表示されます。

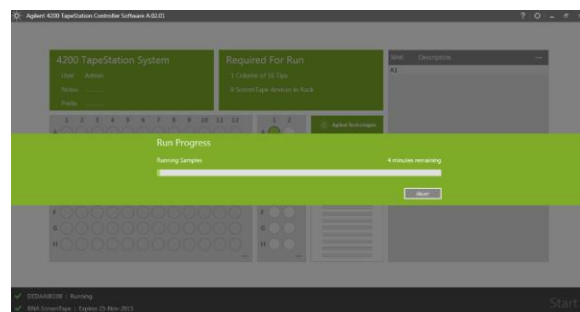
泳動中、装置の蓋はロックされます。

蓋を開けようとするとメッセージが表示されます。

Abort → すぐに泳動をストップします。

Stop → サンプルの解析が終了後、ストップします。

Cancel → そのまま泳動を継続します。



泳動中に他のUSBデバイスを使用しないでください。

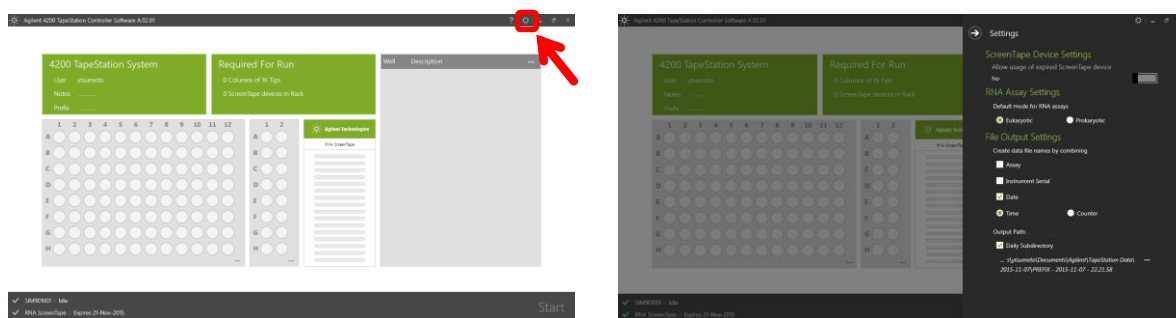
通信が阻害されるおそれがあります。



泳動中にメッセージが表示される場合は

別紙「4200TapeStation トラブルシューティングガイド」をご参照ください。

Setting



必要に応じて、以下の項目の設定を変更することができます。

ScreenTape Device Settings 使用期限が切れたTapeを使用を許可するかどうか設定します。

“Allow usage of expired ScreenTape devices”

- **Yes:** 使用期限が切れたScreenTapeも使用できます。
- **No:** 使用期限が切れたScreenTapeは使用しません

(Tape rackに使用期限が過ぎたScreenTapeがあった場合、廃棄されます。)

RNA Assay Settings total RNAの生物種を設定します。

“Default mode for RNA assays”

- **Eukaryotic:** 真核生物のtotal RNAを泳動する場合
- **Prokaryotic:** 原核生物のtotal RNAを泳動する場合

File Output Settings ファイル名を設定します。

“Create date file names by combining”

- **Assay:** Assay名 (HSRNA等) が含まれます。
- **Instrument Serial:** 装置のシリアル番号
- **Date:** 泳動した日付。Time (泳動開始時間) もしくは Counter (泳動回数)

例) Assay, Instrument Serial, Date (time)を全て選択した場合のファイル名:

HSRNA – DEDAA000XXX – 20151104 – 14.24.53 (拡張子: HSRNA)

“Output Path”

- **Daily Subdirectory:** 日付毎のフォルダを作成しデータを保存します。

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？

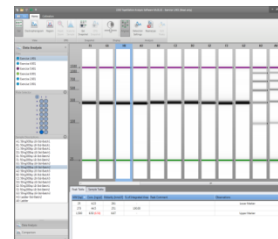
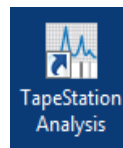
Loading tip → ・折れ曲がっているチップはないか？

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



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）

・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）



2 サンプル、ScreenTape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、ScreenTapeはTape nestに残ります。

使用後のScreenTapeは4°Cで2週間保存できます。使用したレーン、日付はPCに自動的に記録されています。

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とScreen Tapeの廃棄

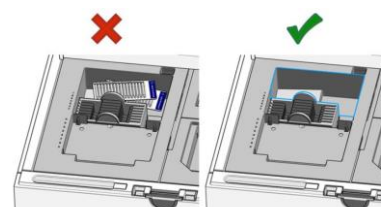
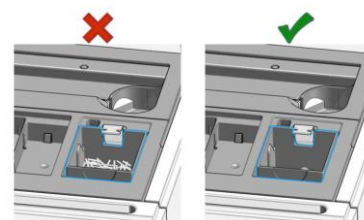
使用されたLoading tip はtip bucketに移動しています。

使用後は空にしてください。

全てのレーンを使用したScreenTapeはTape rackの奥に廃棄されます。

使用後は空にしてください。

注）違うAssayのTapeがrackにあった場合、使用していない場合でも
廃棄されます。



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	High Sensitivity RNA
感度 ¹	100 pg/μL
定量範囲	500 -10000 pg/μl
RIN ^e 推奨濃度範囲	1000 – 25000 pg/μl
定量再現性	15% CV
定量真度 ²	±30%
使用可能緩衝液濃度	10 mM Tris 1 mM EDTA
分析時間	16 samples < 35 min 96 samples < 180 min
サンプル数/1 Tape	16
サンプル必要量	2 μL

For total RNA samples

1. Signal/noise >3 in water and TE
2. Measured against 2200 TapeStation

プロトコルなどのダウンロードサイト

https://www.chem-agilent.com/Isca-booth/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

=====