

4150/4200 TapeStation 簡易マニュアル

Cell-free DNA

ver. 1.0_2019.11

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



2200 TapeStationでは使用できません



必要試薬



ScreenTapeと試薬キットが必要です

・Cell-free DNA ScreenTape (5067-5630)

ScreenTape 7 枚 (112 サンプル分)

4°C (2 -8°C)
保存

・Cell-free DNA 試薬キット (5067-5631)

4°C (2 -8°C)
保存

- Cell-free DNA Sample Buffer (300 µL x 1vial) (5067-5633)
- Cell-free DNA Ladder (50 µL x 1 vial) (5067-5632)

単体でもご購入いただけます

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 Plate* (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
- 4200TapeStationのみ対応しています
96-well Plateで行う場合使用します



*2200TapeStation用のLoading Tips, 96-well Plate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)

Software



この簡易マニュアルはRevision **3.2以上**に対応しています。

Cell-free DNA assayは3.1.1以下ではご使用いただけません。

準備に入る前に...

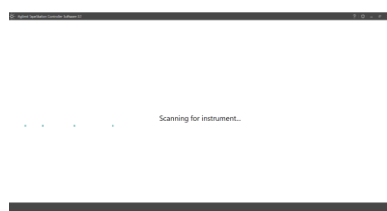
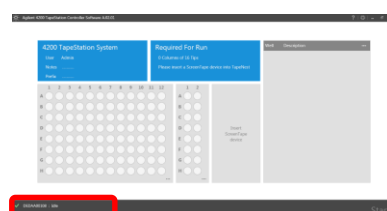
 ScreenTapeと試薬を室温(23-25℃ 前後)に30分以上おき、室温に戻してください。**試薬は使用前によく混合してください。**
サンプル調製は室温(23-25℃ 前後)で行ってください。

 PC起動後OSが安定するまで数分お待ちください。次に、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

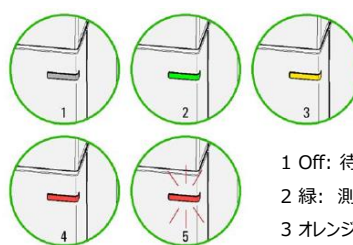
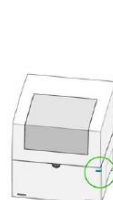


起動画面

装置を認識した場合、
シリアル番号が表示されます

エラーメッセージ “No instrument found” 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。



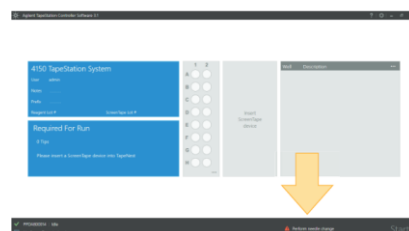
- 1 Off: 待機中
- 2 緑: 測定中
- 3 オレンジ: 準備中
- 4 & 5 赤 (点灯 or 点滅): エラー

 Controller右下に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「4150/4200TapeStation 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。

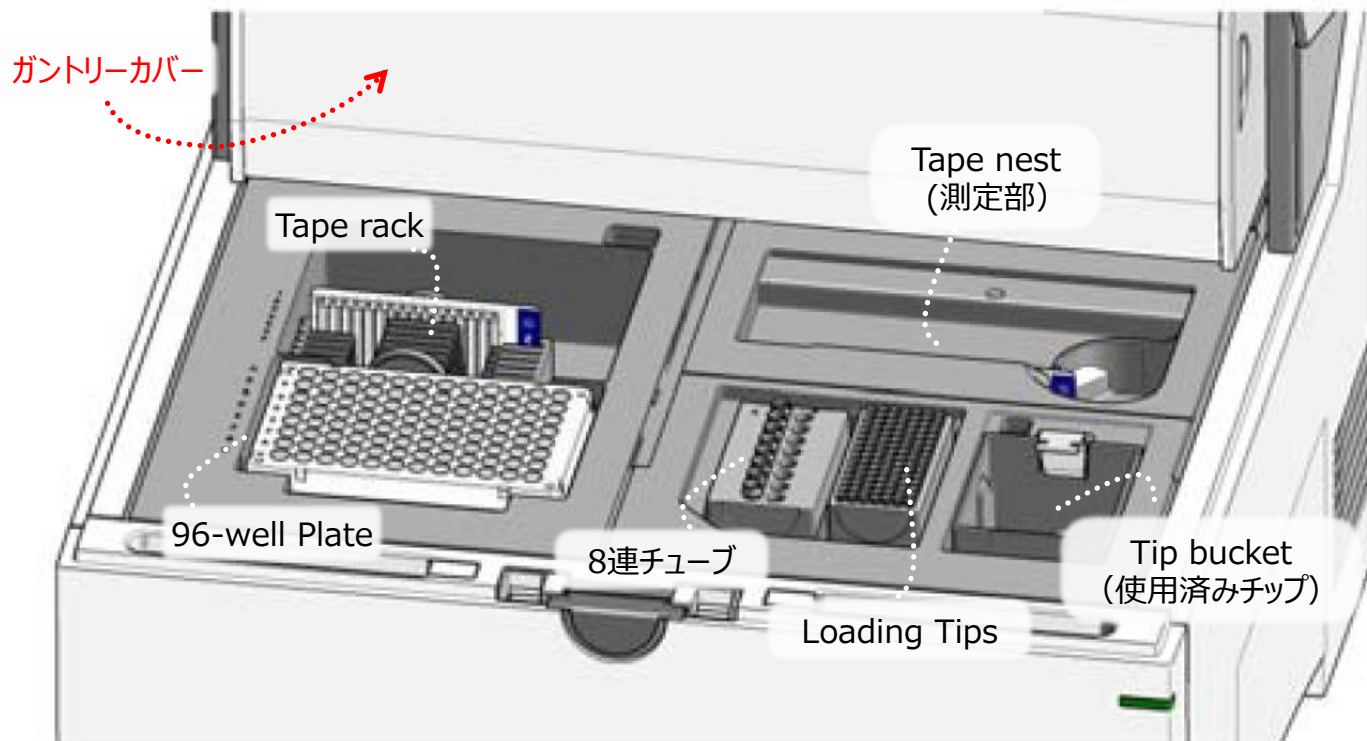


 **4150 TapeStationのみ**
Electrode Cartridge: 電極カートリッジの交換をお勧めします。
詳細はお問い合わせください。

 Cell-free DNAの場合、動作環境温度は**16-30℃**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。

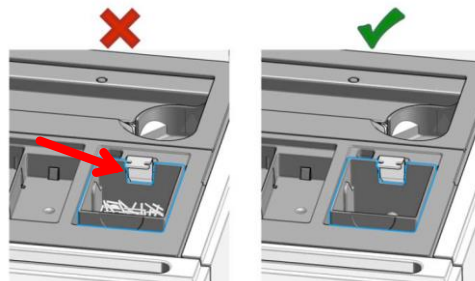
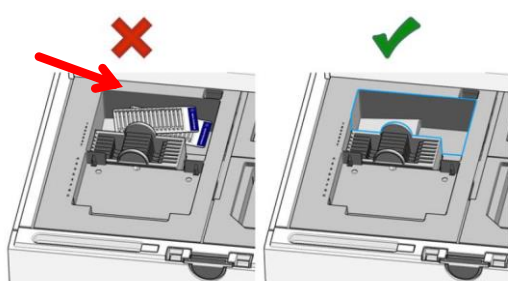
装置のセッティング

⚠ 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。



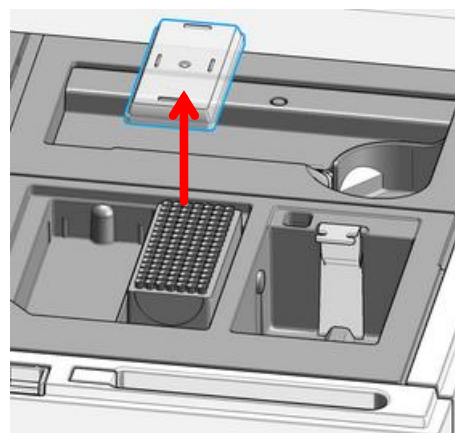
4150TapeStationをご使用の場合はTape rack, 96-well Plateの設置場所はありません。

1 使用済みのScreenTape*・Loading Tipsを捨ててください。 *4200 TapeStationのみ



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。

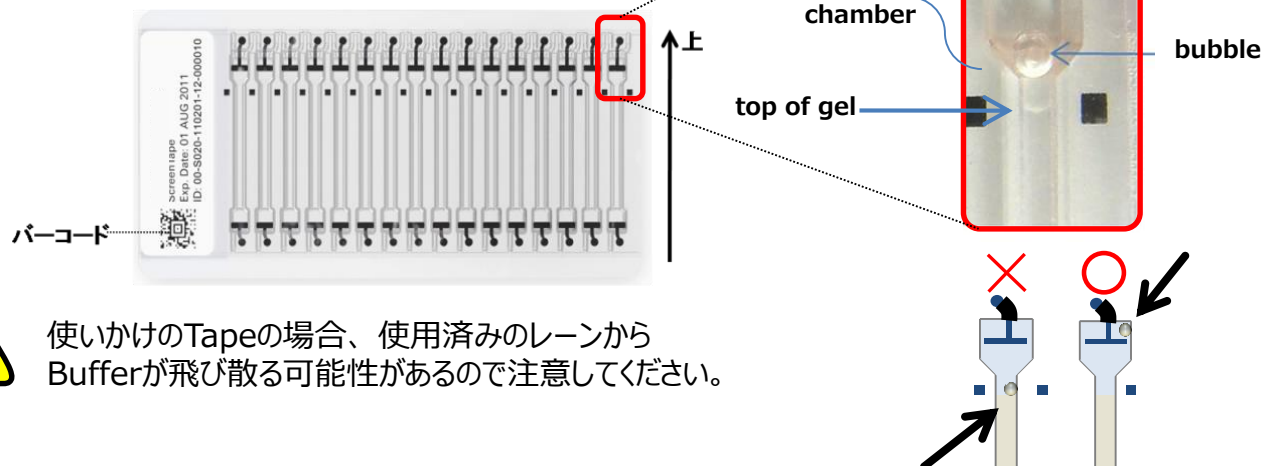


装置のセッティング (つづき)

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 ScreenTapeをセットします。



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。

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



4150TapeStationをご使用の場合はTape nestに1枚のみセットします

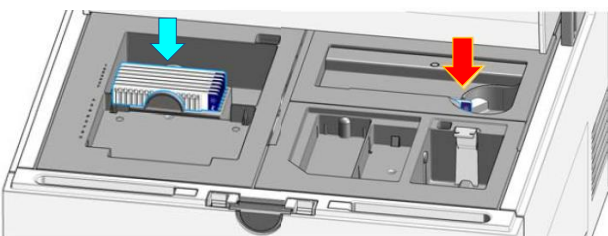


使用済みのScreenTapeはTape nestに入れてください。

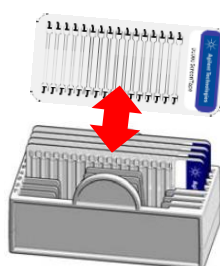
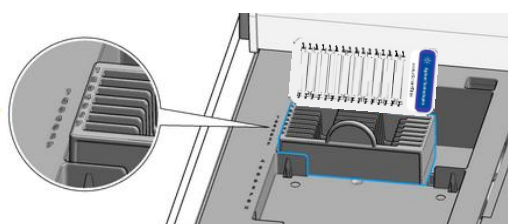
Tape rackは未使用のTapeのみ入れてください。

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。

装置のセッティング（つづき）

5 ScreenTapeをセットします（つづき）

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“Cell-free DNA”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。

3.2より前のバージョンではCell-free DNAのScreenTapeは認識されません。

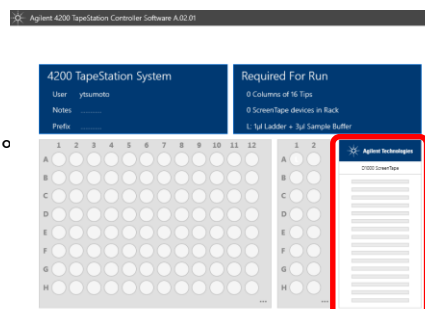
使用期限が過ぎているTapeを入れた場合、

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。



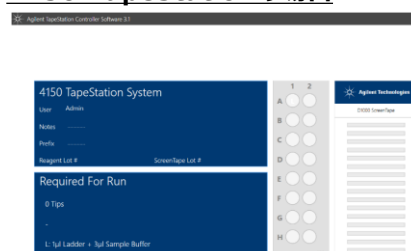
*使用期限が切れたScreenTapeを使用するかどうかをSettingで変更することができます(p13 参照)。



使用済みのレーンはグレーで表示されます



4150 TapeStationの場合



96ウェルプレートは表示されません。



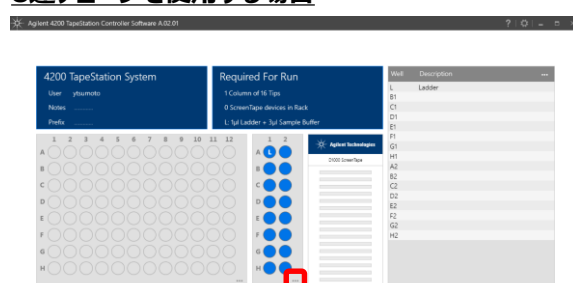
6 Controllerでサンプルウェルを選択します

Controller上のウェルをクリックまたはドラッグし、サンプルを置くウェルを選択します。

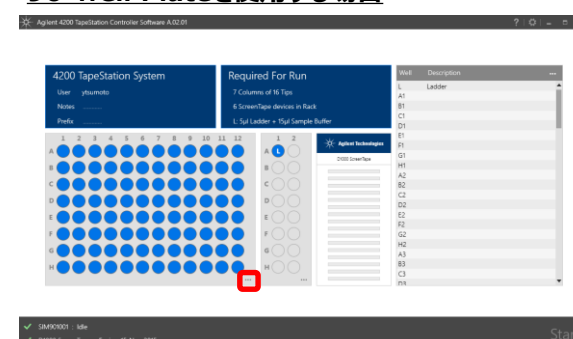
Ctrlを押しながらウェルをクリックすると取り消すことができます。

右クリック、もしくは右下の...（ ）から設定の変更等ができます。

8連チューブを使用する場合



96-well Plateを使用する場合



設定の変更

- ✓ 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。

- ✓ Column Selection: 縦方向 (A1, B1, ... A2, B2...) の順番で泳動します。

- ✓ Row Selection: 横方向 (A1, A2, ... B1, B2...) の順番で泳動します。

(データ取得後、解析ソフトウェア上でデータの並びをColumn/Rowに切り替えることもできます。)

- ✓ 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。

☒ Use Run Ladder
☐ Use Electronic Ladder
Column Selection
☒ Row Selection
Select All
Clear Selection

7 必要な消耗品などを確認します

選択したサンプル数に応じた

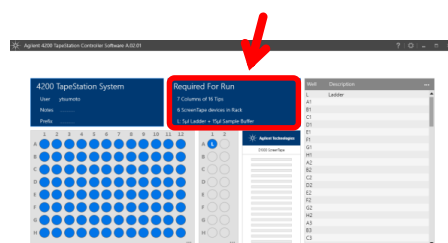
必要なLoading Tips*、ScreenTapeの数、
Ladderの調製方法が示されます。

装置にセットした消耗品等の数を確認してください。

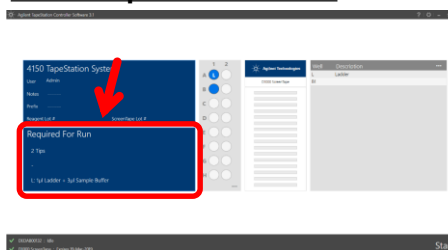
*Loading Tipsは8連チューブを選択した場合は
必要数 (例: 8 Tips)、96ウェルプレートを選択した場合は
必要な列数 (例: 2 Columns of 16 Tips) が表示されます。



4150 TapeStationの場合



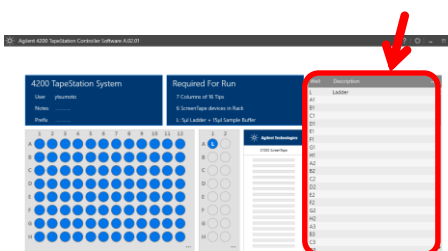
Start



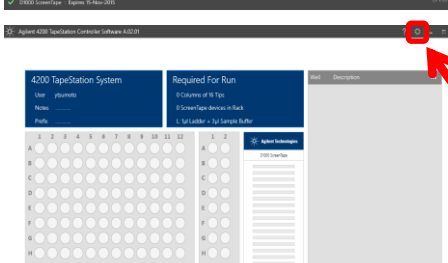
Start

Description

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



Start



Start

Setting

Setting画面でデータのファイル名など変更できます。
必要に応じて設定を変更してください。
詳細はp13をご覧ください。

サンプルの調製時の注意点



必ず手袋をしましょう

Ladderについて

正確なサイズを測定したい場合は、Ladderもサンプルと同時に泳動してください。

Ladderを泳動せずにソフトウェアに保存されたLadderデータを使用しサイジングを行うことができますが、サイズ決定真度が±20%となります。Kitのスペック表 (p14)も合わせてご覧ください。

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。

8連チューブを使用する場合



ScreenTapeは**1枚**または**2枚**使用可能

泳動可能なサンプル数は**最大16** (Ladder 含む)

ScreenTapeの**交換は手動** (泳動終了時より**15分以内**) となります。



96ウェルプレートを使用する場合 (4200TapeStationのみ対応)

ScreenTapeは**1枚～8枚**使用可能

最大96サンプルまで

ScreenTapeの交換は自動です。



Ladderを泳動する場合は、96ウェルプレート使用時でも8連チューブのA1に調製します

サンプルの定量範囲

*Kitのスペック表(p14)も合わせてご覧ください。

Cell-free DNA定量範囲 : **100 – 4,000** pg/μL*

%cfDNA 推奨濃度範囲: **100 – 5,000** pg/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、定量値に影響があります。

⚠ 使用前にSample BufferとLadderはvortexでよく混ぜ、スピンドウンしてください

Ladderを泳動しない場合は **2** からご覧ください。

- 1** Cell-free DNA Sample Buffer (●) と
Cell-free DNA Ladder (●) を**8連チューブ**の **A1** に加えます。



使用するScreenTapeの**枚数**により、Sample Buffer/Ladderの量が異なります。

ScreenTape1枚につき、必ずLadderを1レーン流します。



1枚の場合

Sample Buffer (●) **2** μ L + Ladder (●) **2** μ L



2枚の場合

Sample Buffer (●) **4** μ L + Ladder (●) **4** μ L



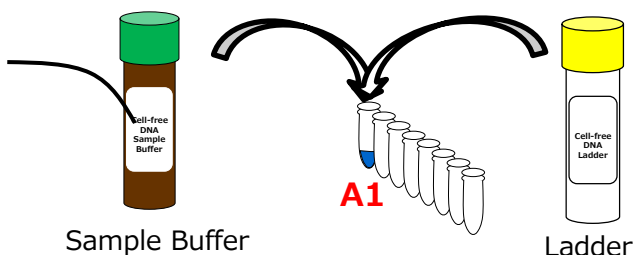
3枚以上の場合

Sample Buffer (●) **15** μ L + Ladder (●) **15** μ L

*4200 TapeStation 96-well Plate使用時のみ



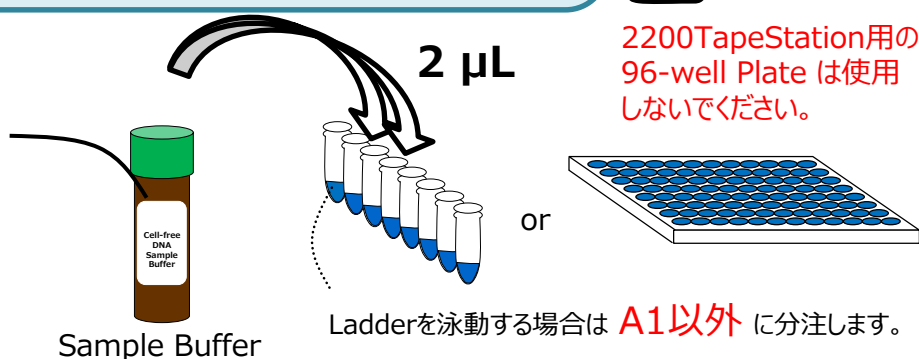
ラベルに“Cell-free DNA”と記載があることを確認してください
その他のKitとバイアルの色・形が同じなのでご注意ください。



- 2** 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**2 μ L**ずつ分注します。

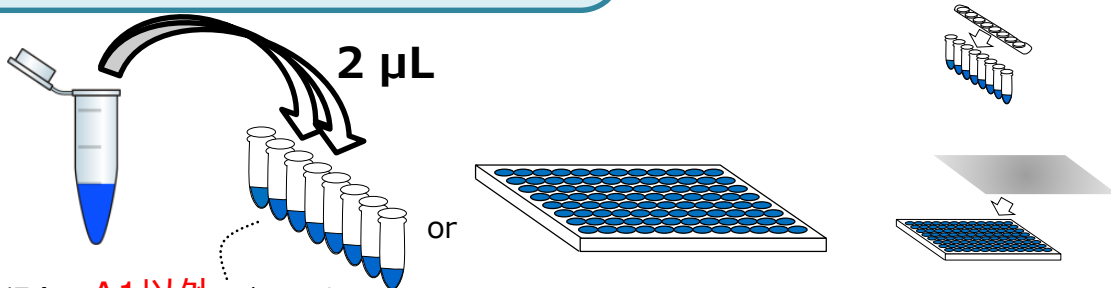


ラベルに“Cell-free DNA”と記載があることを確認してください
その他のKitとバイアルの色・形が同じなのでご注意ください。



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

- 3** **2 μ L** のDNAサンプルを加え、フタもしくはシールをします。



Ladderを泳動する場合は **A1以外** に加えます。

4 vortexでよく混合します。



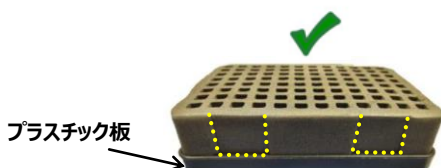
混ぜ方が不十分な場合、定量値に影響を与えます

2000 rpm で1 min混合してください。

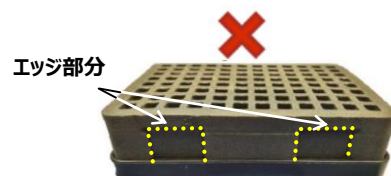
8連チューブの場合、しっかりフタを閉めアダプタに奥までセットしてください。



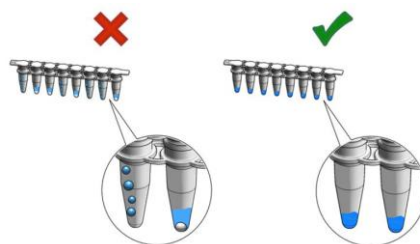
スポンジ部位・プラスチック板の誤装着や劣化により、攪拌時にスポンジ部位やプレート等が外れる可能性があるのでご注意ください。スポンジ部位やプラスチック板が摩耗している場合はお問い合わせください。



エッジ部分が下向きでプラスチック板のツメにセットされています



5 1 minスピンドウンして液が底にあることを確認してください。



6 サンプルを装置にセットします。

8連チューブ、もしくは 96-well Plateをセットします。

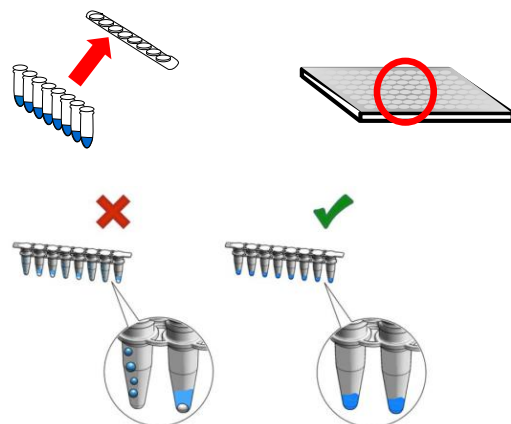
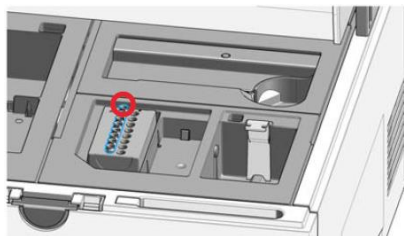


8連チューブの場合、必ずフタを外し、液が飛び散っていないか確認してください。

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。

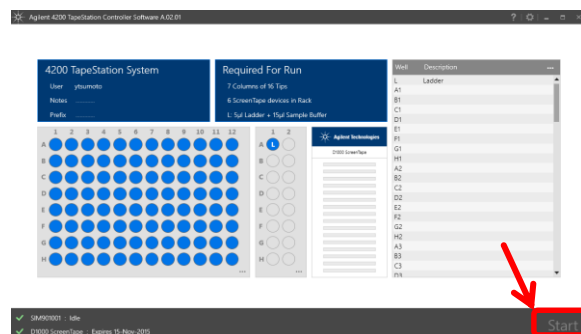


7 装置の蓋を閉めます。

Runの開始

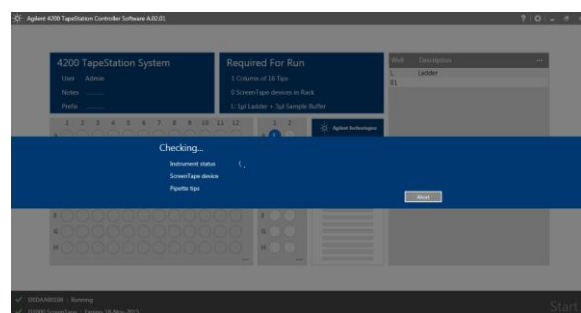
1 スタートをクリックします。

使用済みのScreenTapeとLoading Tipsを廃棄したこと、
8連チューブのフタを外したことを確認後、
“Proceed”をクリックしてください。



- 2
- 装置の動作
 - ScreenTapeの数*
 - Loading Tipsの数
- をチェックします。

*4200 TapeStation 96-well Plate使用時のみ



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。

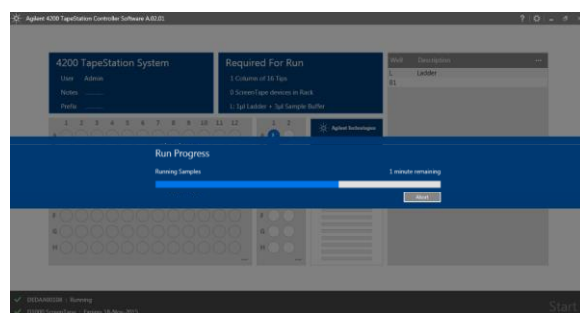
泳動が開始されるのを確認してください。ScreenTapeやLoading Tipsの不足がある場合は、必要数追加し、再スタートしてください。再度、泳動前のチェックが行われます。

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。

8連チューブを使用し、ScreenTapeを2枚使用する場合、交換は手動で行います



手動でのScreenTapeの交換

1回のみ手動で交換できます（使用可能は2枚まで）

1枚目のScreenTapeの泳動終了後、
メッセージが表示されます。

新しい未使用のScreenTapeと

15分以内に入れ替えてください。



ソフトウェアのバージョンがrev3.1の場合、使用済みTapeを2枚目に使用した際に、データ作成時に不具合が発生するケースが報告されています。



15 min!

使用済みのTapeを使用する場合は、ソフトウェアが3.1.1以上であることを確認してください。



メッセージの左下に残り時間が表示されます。
15分経過すると泳動が終了します。

レーン数が十分なScreenTapeが認識されると、
再開できます。Proceedをクリックすると、
泳動前のチェックがスタートします。

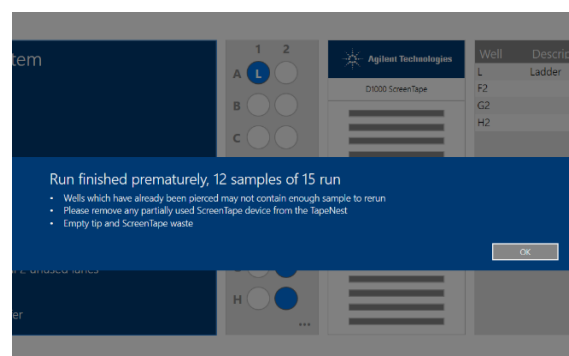
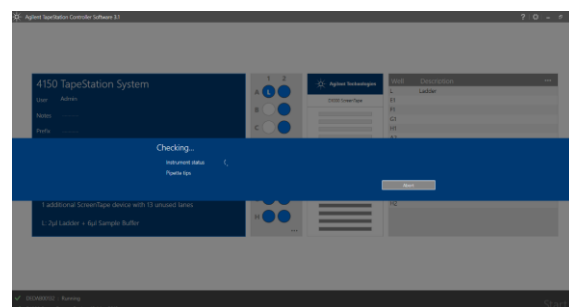
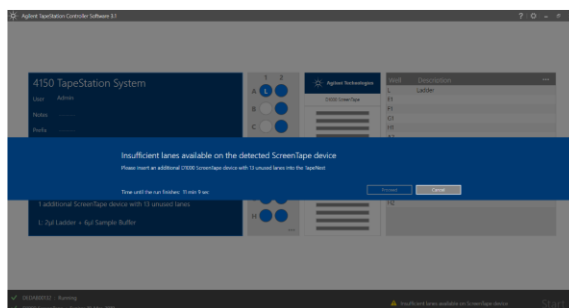


レーン数が不足している場合は
“Not enough unused lanes on…”と
メッセージが表示されます。

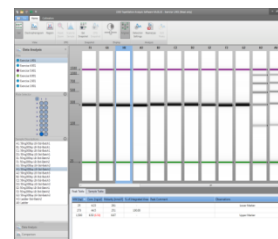
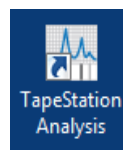
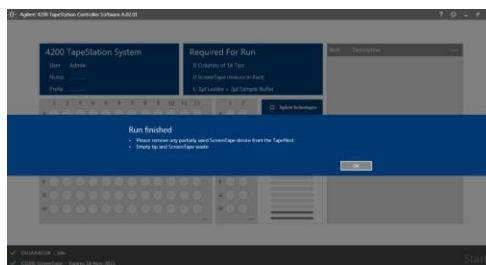
“Proceed” をクリックすると泳動が再開し、
レーン数分の泳動はできますが

3枚目のTapeへは交換できません。

泳動終了後、泳動できなかったサンプル数が
メッセージに表示され、Controllerソフトウェア上では、
そのサンプルのウェルが選択された状態になります。



Runの終了



1 データの確認

泳動終了後、自動でAnalysis ソフトウェア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



4150TapeStationをご使用の場合は
Controller上で残りレーンがあるか確認してください。

使用しないレーンがあった場合、4200 TapeStationではTape nestにTapeが残ります。

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ScreenTape*の廃棄

*4200 TapeStationのみ

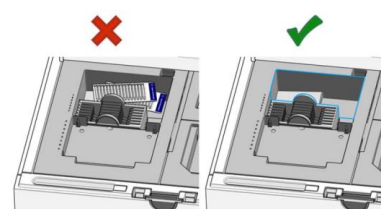
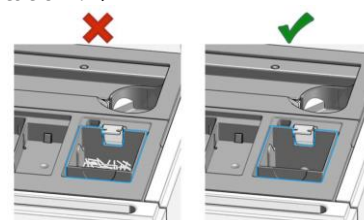
使用されたLoading tip はtip bucketに移動しています。

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。

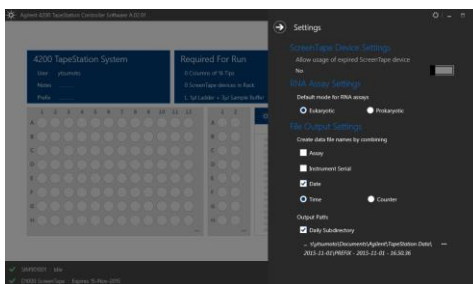
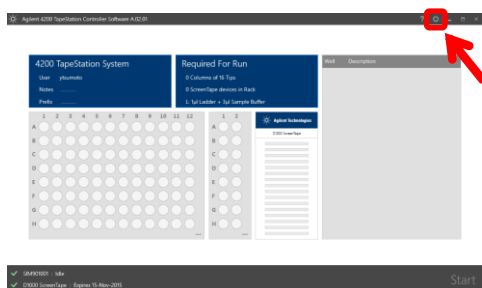
注）違うAssayのTapeがrackにあった場合、使用していない場合でも
廃棄されます。



3 システムのシャットダウン

Controller ソフトウェア、TapeStation、PCの順番にシャットダウンしてください。

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 (D1000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:

D1000 – DEDAA000XXX – 20151104 – 14.24.53 (拡張子: D1000)

“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。

Analytical Specification	Cell-free DNA
分析分子量範囲	50 - 800 bp
感度* ¹	20 pg/μL
サイズ決定再現性* ²	10% CV
サイズ決定真度* ^{2, 3}	±15%
定量再現性* ²	15% CV
定量真度	±20%
定量範囲	100 – 4,000 pg/μL
%cfDNA 推奨濃度範囲	100 – 5,000 pg/μL
使用可能緩衝液濃度	25 mM NaCl, 25 mM KCl, 3mM EDTA, 0.1% NaN ₃ , 5 mM phosphate buffer, 10% ethanol, 10% 2-propanol
分析時間	16 samples < 25 min 96 samples < 150 min
サンプル数 / 1 Tape	16
サンプル必要量	2 μL

*¹ Signal-to-noise ratio >3 (single peak)

*² Determined using the Cell-free DNA ladder as sample

*³ Sizing Accuracy for analysis with electronic ladder: ±20%

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 ~ 17 : 00

=====