

バイオ・ラッド・ラボラトリーズ・ジャパン・インコーポレーテッド

バイオ・ラッド・ラボラトリーズ・ジャパン・インコーポレーテッドは、アメリカ合衆国のカリフォルニア州・レイクランドに本社を置く、世界最大の生命科学製品メーカーです。バイオ・ラッド・ラボラトリーズ・ジャパン・インコーポレーテッドは、日本にバイオ・ラッド・ラボラトリーズ・ジャパン・インコーポレーテッドの日本法人を設立し、日本にバイオ・ラッド・ラボラトリーズ・ジャパン・インコーポレーテッドの製品を販売しています。

TEL: 03-6404-0331

FAX: 03-6404-0332

QX200™ Droplet Generator

取扱説明書

カタログ番号 186-4002JA



BIO-RAD

バイオ・ラッドテクニカルサポート

サポートや技術的なアドバイスについては、バイオ・ラッド社のテクニカルサポート部門にお問い合わせください。日本のテクニカルサポート部門の受付時間は、月～金曜日の営業日の午前 9:00～午後 5:00 となっています。

電話：03-6404-0331

FAX：03-6404-0334

E メール：life_ps_jp@bio-rad.com（日本国内用）

各国のテクニカルサポートと事業所の連絡先については、www.consult.bio-rad.com をご覧ください。

法的通知

本書のいかなる部分も、バイオ・ラッド ラボラトリーズから書面による許可を得ることなく、写真複写や記録を含む電子的または機械的ないかなる形式や手段によっても、あるいはいかなる情報記憶または情報検索システムによっても、複製または送信してはならないものとします。

バイオ・ラッドは、当社の製品とサービスをいつでも変更できる権利を有しています。本書は、事前の通知なく、変更されることがあります。

バイオ・ラッドは、本書の正確性に万全を期していますが、本書の誤りや、本書を利用したことによって生じた損害についての責任は一切負わないものとします。

EvaGreen は Biotium, Inc. の商標です。Excel は Microsoft Corporation の商標です。FAM、HEX、および VIC は Applera Corporation の商標です。Pipetman は Gilson, Inc. の商標です。SYBR は Molecular Probes, Inc. の商標です。TaqMan は Roche Molecular Systems, Inc. の商標です。twin.tec は Eppendorf AG の商標です。

バイオ・ラッド社のサーマルサイクラーとリアルタイムシステムに関する注意：本製品を購入すると、購入者自身の内部的な研究および開発用途、ヒト体外診断および Applera Corporation が所有する米国特許番号 5,475,610（請求項 1、44、158、160-163、および 167 のみ）、または米国以外での対応する特許に基づく他のすべての適用分野での用途のみに使用するための限定された、譲渡禁止の免責が譲渡されます。装置、試薬、キット、または 5'ヌクレアーゼ法に対する特許請求など、その他いかなる特許請求の範囲の下でも、明示的、黙示的、または禁反言により、権利は譲渡されません。ライセンス購入に関する詳しい情報は、Director of Licensing, Applied Biosystems, 850 Lincoln Centre Drive, Foster City, California 94404, USA にご連絡いただければ入手できます。

バイオ・ラッド社のサーマルサイクラーとリアル

タイムサーマルサイクラーは、Eppendorf AG が所有する米国特許番号 6,767,512 および 7,074,367 または相当する外国特許の 1 つあるいは複数によって保護されています。

Copyright © 2012 by Bio-Rad Laboratories, Inc. All rights reserved.

バイオ・ラッド ラボラトリーズの情報サービス

弊社では科学研究者を対象として多くの資料等情報をご提供しております。以下に示すウェブサイトでは実験に有益な情報を提供しております。

- Life Science Research web site <http://www.bio-rad.com>

このウェブサイトでは、技術的な情報、取扱説明書、製品情報、技術サポートなどの情報へアクセスして頂けます。さらに、製品に関連する実験手法と多様なアプリケーションに関する技術情報もご提供しています。

下表に、弊社が提供する情報サービスと情報の入手方法を示します。

バイオ・ラッド社の技術情報サービス

リソース	問い合わせ方法
各地域での弊社営業所	弊社ウェブサイト(www.bio-rad.com)から住んでいる国を選択して、地域の情報を確認します。または本取扱説明書巻末のリストから、最寄りの営業所を探してください。
技術参考資料や文献	弊社ウェブサイト(www.bio-rad.com)にアクセスしてください。検索ボックスにキーワードを入力し、ドキュメント(Documents)を選択して技術情報、取扱説明書、その他の必要な参考資料へのリンクを表示します。
技術専門要員(テックコール)	弊社では、高品質の技術サポート体制を整えています。また、技術サポート部門に経験豊富なスタッフを配置しており、お客様のお問い合わせに対応して、実践的で専門的な解決方法をご提供いたします。 技術サポートをご希望の場合は、弊社テックコールへご連絡ください。テックコールの連絡先は本書「バイオ・ラッド テックコール」の項目をご参照ください。

保証

本製品とその付属品における不具合については 1 年間保証いたします。保証期間中に本体あるいは付属品に不具合が発見された場合、不具合のある部品の修理を無償にて行います。ただし、消耗品は保証対象外となります。

下記の場合は保証対象外となります。

1. 適切でない使用方法による故障
2. 弊社あるいは弊社が認定した者以外が、修理あるいは改造を行った場合
3. 指定以外の部品を使用したために起きた故障
4. 弊社以外から供給された部品等を使用した場合
5. 事故あるいは間違った使用方法によって生じた故障
6. 天災による故障
7. サンプルなどによって生じた腐蝕

保証期間内であっても、再度の納品検収、移動設置、製品点検については有償となります。保証期間外でも修理によって機能が維持できる場合には有償にて修理を承ります。

修理の依頼およびお問い合わせは、機器のモデル名とシリアルナンバーを添えてお近くの弊社営業所あるいは弊社販売代理店までお願いいたします。

この機器の使用目的に合わない状態での使用や、弊社あるいは弊社指定の者以外による改造によって怪我あるいは災害にあわれた場合、弊社では一切の責任を負いません。

保証内容の詳細については、製品付属の製品保証書をご参照ください。

保証登録

保証サービスをお受けいただく際には登録が必要になります。必ず保証書に必要事項を記入の上、弊社へ FAX 頂くか以下のウェブサイトからご登録をお願いいたします。

<http://warranty-registration.bio-rad.co.jp/registration.htm>

製品保証書は修理時などに必要になりますので、大切に保管してください。

修理依頼について

修理をご依頼される際には修理品と一緒に不具合詳細を記載する「修理依頼書」と運搬者や作業者の安全を確保するための「デコンタミネーション確認のお願い」をコピーして、ご記入の上、修理品と一緒に弊社販売代理店へお引き渡し下さい。両書類は本書 Appendix B および C に掲載されています。

製品を安全にご使用いただくために

はじめに

バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社 ライフサイエンス事業部が販売している製品はすべて研究用途を目的として販売しております。医療用・医療診断機器ではありません。研究用途以外は使用しないでください。

製品の仕様・外観は改良のため予告なしに変更されることがありますので、予めご了承ください。

QX200 Droplet Digital PCR システムを安全に操作するため、本章および本書中に記載する安全性基準を順守してください。

安全にご使用頂くための注意事項

警告！ QX200 Droplet Digital PCR システムや他のアクセサリーの外側ケースを取り外そうとしたり修理しようとしたりしないでください。本装置の外部ケースを開けると、感電によって負傷したり、装置が損傷したりする危険性があります。

注意： 本ユニットを水がかかる可能性のある場所に保管したり、使用したりしないでください。感電の原因となることがあります。ユニットは、実験台の端で保管したり、使用したりしないでください。

安全規格と規制への適合性

本装置は、試験の結果、以下に示す安全規格と電磁両立性規格の該当するすべての要求事項に適合していることが確認されています。

- IEC 61010-1:2001 (第2版)、EN61010-1:2001 (第2版) - 計測、制御、および実験室用電気機器の安全要求事項 - 第1部：一般要求事項
- EN 61326-1:2006 (クラス A) - 計測、制御、および実験室用電気機器の EMC 要求事項 - 第1部：一般要求事項

本装置は、無線周波数エネルギーを作製および使用しており、このようなエネルギーを放射する可能性があります。この取扱説明書に従って設置および使用しないと、無線通信に有害な妨害を引き起こすことがあります。住宅地域で本装置を使用すると、有害な妨害を引き起こすことがあります。このような場合、ユーザーは自費でこの妨害の対策を講じなければなりません。



CE マークは、製品が該当する EC 指令の必須要求事項に適合していることをメーカーが保証していることを示しています。



CSA マークは、製品、工程、またはサービスがカナダあるいはアメリカの規格に適合するかどうかを試験した結果、該当する CSA 規格の要求事項に適合していたことを示しています。

本装置は、FCC 規則パート 15 に従って試験した結果、クラス A デジタル機器の規制に適合していることが確認されています。これらの規制は、商業的環境で本装置を使用した場合に、有害な妨害を引き起こさないようにするための十分な保護を規定することを目的としたものです。



WEEE 指令マークは、エンドユーザーがこの製品を廃棄したいと思ったとき、その製品を回収およびリサイクルするために個別の収集施設に送らなければならないことを示しています。

装置の安全性に関する警告

本装置を改造すると、保証と安全認証が無効になるとともに、安全上の問題が発生する可能性があります。本装置は、実験専用の装置です。パイオ・ラッド ラボラトリーズは、本来の用途以外で本装置を使用したり、パイオ・ラッド ラボラトリーズまたは正規代理店以外が本装置の変更を行ったりした結果、負傷あるいは損害が発生しても、一切の責任を負いません。本書に記載されている安全仕様を守ってください。本装置に付属の電源コード以外は使用しないでください。また、使用する地域の電源コンセントに対応したプラグアダプター以外は使用しないでください。承認されていない試薬を使用すると、装置が損傷し、保証が無効になることがあります。

PPE（個人防護具）トレーニング

オイルやサンプルプレートを使用する場合は、手袋を正しく使用することをお勧めします。PPE に関する OSHA の要求事項は、連邦規則集（CFR）の 29 CFR 1910.132（一般要求事項）、29 CFR 1910.138（手の保護）、29 CFR 1926.95（標準的な個人防護具の基準）に明記されています。保護能力が低下した手袋は廃棄して、新しい手袋と交換してください。化学物質にさらされた手袋を再使用しようとする場合は、曝露時間、保管期間、温度などの要因と化学物質の毒性を考慮してください。装置、アッセイ、オイル、および洗浄溶剤を取り扱う場合に手袋を選択しやすいように、以下に各種手袋の特徴をまとめています。

- ・ ブチル手袋は合成ゴム製で、過酸化物、フッ化水素酸、強塩基、アルコール、アルデヒド、およびケトンから保護してくれます。
- ・ 天然（ラテックス）ゴム手袋は、着用感が快適で、引張強度、弾力性、および耐温度性に優れています。
- ・ ネオプレン手袋は合成ゴム製で、柔軟性と作業性が高く、高密度で耐引裂性にも優れています。この手袋は、アルコール、有機酸、およびアルカリから保護してくれます。
- ・ ニトリル手袋は共重合体製で、トリクロロエチレンやテトラクロロエタンなどの塩素系溶剤から保護してくれます。この手袋は、オイル、グリース、酸、および苛性物質を取り扱う場合に保護してくれます。

52

1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	
44	
45	
46	
47	
48	
49	
50	
51	
52	
53	
54	
55	
56	
57	
58	
59	
60	
61	
62	
63	
64	
65	
66	
67	
68	
69	
70	
71	
72	
73	
74	
75	
76	
77	
78	
79	
80	
81	
82	
83	
84	
85	
86	
87	
88	
89	
90	
91	
92	
93	
94	
95	
96	
97	
98	
99	
100	

目次

1. QX200™ Droplet Generator	1
1.1 はじめに.....	1
1.2 QX200 Droplet Generator.....	2
1.3 設置と一般的な操作	3
2. ドロップレットの作製	4
2.1 サンプルの調製.....	4
2.2 QX200 Droplet Generator の操作.....	5
2.3 PCR の準備.....	10
3. 仕様とメンテナンス	12
3.1 仕様.....	12
3.2 メンテナンス	13
Appendix A Ordering Information	14
Appendix B: 修理依頼書.....	15
Appendix C: デコンタミネーション確認のお願い.....	16

1

QX200™ Droplet Generator

1.1 はじめに

QX200™ Droplet Digital™ PCR (ddPCR™) システムは、非常に高感度かつ高精度なデジタル PCR を行います。このシステムは、QX200 Droplet Generator と QX200 Droplet Reader という 2 つの装置とその関連消耗品で構成されています。QX200 Droplet Generator は、サンプルを 20,000 個のナノリットルサイズのドロップレットに分割します。サーマルサイクラーで PCR を実施した後、各サンプルのドロップレットを QX200 Droplet Reader で個別に解析します。PCR ポジティブと PCR ネガティブのドロップレットをカウントし、デジタル形式でターゲット DNA の絶対定量を行います。

ddPCR システムでは、以下のことを行うことができます。

- ターゲット DNA を極めて高い感度で検出することができます。
- コピー数多型 (CNV) を比類のない精度で決定することができます。
- 遺伝子発現レベルを最高の精度で測定することができます。

用途と用法：

- コピー数多型 (CNV)
- レアシーケンス検出
- Mutation 検出
- 遺伝子発現解析
- miRNA 解析
- 次世代シーケンシングサンプル定量

本書では、QX200 Droplet Generator の使用方法と PCR の準備について説明します。QX200 Droplet Reader については、Bulletin 10031906 を参照してください。

1.2 QX200 Droplet Generator

QX200 Droplet Generator は、微細流路を用いてオイルと水溶液（サンプル）を混合し、ddPCR 解析に必要なドロップレットを作製します。2 分以内に、最大 8 サンプルを同時に処理します。

プローブ用の ddPCR Supermix か One-Step RT-ddPCR キットを使用してサンプルを調製した後、調製した 8 つのサンプル（またはブランク溶液）と Droplet Generator オイルをそれぞれ 20 μ l ずつ、Droplet Generator (DG™) カートリッジに移します。ロードしたカートリッジをガスケットで覆い、QX200 Droplet Generator の中に入れます。ここで、サンプルとオイルがカートリッジのマイクロチャンネル内で混合され、最大 20,000 個のナノリットルサイズの粒子径がそろったドロップレットのエマルジョンがサンプルごとに作製されます。ドロップレットが作製された後、これらのドロップレットは標準的な 96 ウェル PCR プレートに移され、標準的なサーマルサイクラーを使用してエンドポイントまで増幅反応が加えられます。

サイクルが完了したら、プレートを QX200 Droplet Reader にロードします。Droplet Reader が、各サンプルを少しずつ吸い取って、ドロップレットを 1 列に並べて 2 色検出器を通過させます。検出器が各ドロップレットを読み取り、どのドロップレットがターゲットを含んでいて (+)、どのドロップレットがターゲットを含んでいない (-) かを判断します。

QX200 Droplet Generator には、表 1.1 に示す構成が含まれています。ドロップレットの作製と PCR に必要なその他の材料については、表 1.2 に示しています。完全なシステム要件については、『QX200 Droplet Reader 取扱説明書 (Bulletin10031906)』を参照してください。

表 1.1 : QX200 Droplet Generator 構成。カタログ# は再注文時のカタログ番号です。

構成	説明	カタログ#
QX200 Droplet Generator	ドロップレットを作製するために使用する装置。	186-4002JA
DG8 カートリッジ (24)	微細流路カートリッジは、サンプルとオイルを混合し、ドロップレットを生成するために使用します。	186-4008
DG8 ガスケット (24)	カートリッジをシールして蒸発を防ぎ、ドロップレットの形成に必要な圧力をかけます。	186-3009
DG8 カートリッジ&ガスケットセット (120)	DG8 カートリッジと DG8 ガスケットのセットです。	186-4007
DG8 カートリッジホルダー (2)	ドロップレットを作製するために、Droplet Generator カートリッジを装置に配置および固定します。	186-3051
電源コード	QX200 Droplet Generator を電源に接続します。	—

186-3051 は単品オーダー時の入数は 1 になります。



QX200 Droplet Generator

表 1.2 : ドロップレットの生成に必要なその他の材料

構成品	推奨	カタログ#
PCR Supermix (プローブ)	ddPCR Supermix for Probes Droplet PCR Supermix	186-3010, 186-3026, 186-3027, 186-3028 186-3023, 186-3024, 186-3025
カートリッジダミーウェル用(プローブ)	One-Step RT-ddPCR Supermix for Probes ddPCR Buffer Control Kit for Probes	186-3021, 186-3022 186-3052
Droplet Generator オイル(プローブ)	Droplet Generation オイル for Probes (10 x 7 ml)	186-3005, 186-3030
PCR Supermix (EvaGreen)	ddPCR™ EvaGreen® Supermix	186-4033, 186-4034, 186-4035, 186-4036
Droplet generator oil (EvaGreen)	Droplet Generator オイル for EvaGreen	186-4005, 186-4006
カートリッジダミーウェル用(EvaGreen)	ddPCR Buffer Control Kit for EvaGreen	186-4052
Droplet Generator オイル (EvaGreen)	Droplet Generation オイル for EvaGreen (10 x 7 ml)	186-4005, 186-4006
プレートシーラー	PX1 PCR Plate Sealer	181-4000
プレートシーラーホイルヒートシール	ddPCR 用 ホイルヒートシール (100 枚)	181-4040
ピペット*	サンプルロード用 20 µl ピペット ドロップレット移動用 50 µl ピペット オイル用 8 チャンネル、200 µl ピペット	Rainin L-20XLS Rainin L-50XLS, L8-50XLS+ Rainin L8-200XLS+
ピペットチップ*	200 µl ピペットフィルター付き	Rainin GP-L10F, GP-L200F
96 ウェル PCR プレート*	twin.tec 96 ウェルセミスカートプレート	Eppendorf 95579
試薬リザーバー*	Droplet Generator オイル用	Thermo 95128095
8 キャップストリップ	任意	

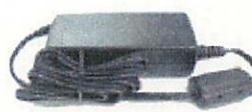
*: 他社より入手が必要です。

1.3 設置と一般的な操作

- ・ 付属の電源コードを使用して、QX200 Droplet Generator を電源に接続します。アースが確実に接続されていることを確認してから、装置の電源コードをコンセントに差し込んでください。
- ・ 適切な通気が行われるように、装置の後ろに 5 cm、左右に 3 cm のスペースを空けておいてください。
- ・ 電源コードをコンセントに差し込むと、Droplet Generator の電源が入ります。ステータスインジケータが緑色に点灯し、電源がオンであることを知らせます。
- ・ 緑色のふたの上にあるボタンを押して、装置を開閉します。



アースプラグ (タイプ 5-15P) と C5 コネクタ (10 A/125 V) が付いているアメリカの標準的な電源コードセット



5 mm DC 電源プラグ差し込み口への電源

2 | ドロップレットの作製

2.1 サンプルの調製

2x PCR Supermix、プライマーとプローブ、DNA サンプルを混合して、PCR 反応液を調製します。軽くボルテックスして混合し、短時間遠心分離機にかけます。

- ・ インタクトなヒトゲノム DNA の濃度は、反応液 20 μ l 当たり 66 ng 未満としてください。これよりも濃度を高くする場合は、ターゲットまたはリファレンスアンプリコンを切断しない制限酵素で DNA を消化します。
- ・ ddPCR Supermix for Probes、Droplet PCR supermix、ddPCR EvaGreen Supermix または One-Step RT-ddPCR Kit for Probes を使用します。これらには、ドロップレットを作製するのに必要な試薬が含まれています。添付文書の指示に従い、ドロップレットを作製するためのサンプルを調製します。
- ・ -20°C で保管している間に濃度勾配が発生する可能性があるため、Supermix を十分にボルテックスして均質性を確実にします。あるいは、6 回以上、上下にピペティングして混ぜ合わせます。短時間遠心分離機にかけて、チューブ底部に内容物を集めてから分注します。
- ・ 反応成分を室温で解凍して平衡させます。サンプルが熱劣化する傾向がある場合は、室温で平衡化せずに、反応混合液を氷の上で調製してください。
- ・ バイアルまたは 96 ウェル PCR プレートに反応混合液を集めます。PCR プレートを使用するメリットは、サンプルを 8 チャンネルピペットで DG8 カートリッジにロードできる点にあります。
- ・ 手袋を着用する、クリーンなピペットを使用する、PCR フードなどのクリーンエリアで作業する、タンパク質低吸着チューブを使用するなど、実験室における標準的な予防措置を講じて、反応混合液とサンプルのコンタミネーションを防止します。

2.2 QX200 Droplet Generator の操作

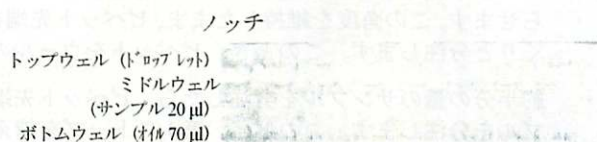
QX200 Droplet Generator は、8 サンプルのドロップレットを同時に作製します。ドロップレットの作製には、8 つのサンプルセットごとに 2 分かかります (96 サンプルの場合は 20~30 分)。



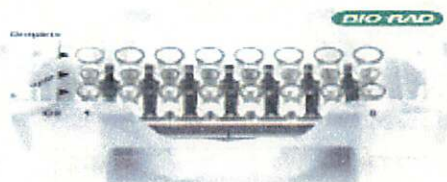
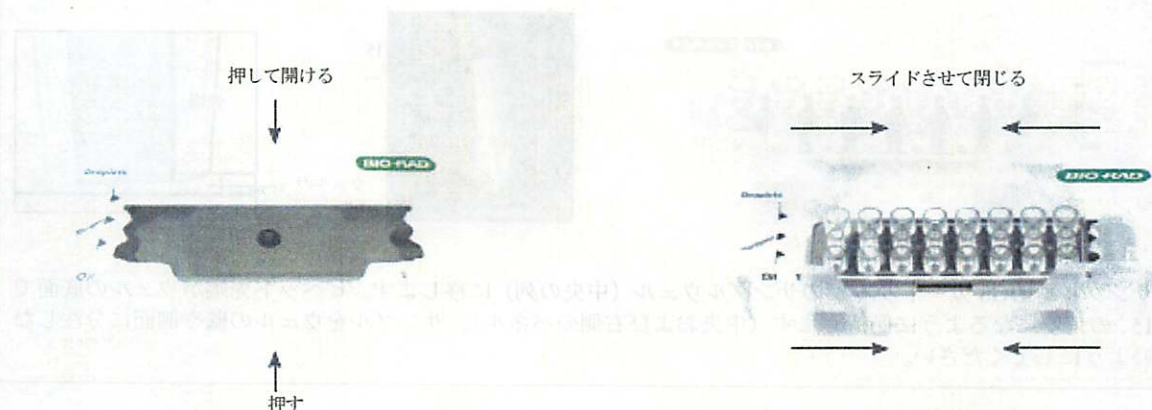
- DG8 Droplet Generator カートリッジの 8 つのサンプルウェルのすべてにサンプル (または 1x 緩衝液) を注入しなければなりません。また、8 つのオイルウェルのすべてに Droplet Generator オイルを注入しなければなりません。
- DG8 カートリッジをまだホルダーにセットしていない状態で、サンプルまたはオイルを DG8 カートリッジにロードしないでください。

1. DG8 カートリッジのノッチがホルダーの左上にくるようにして、DG8 カートリッジを以下のようにホルダーにセットします。

- a. 中央にあるラッチを押して、カートリッジホルダーを開けます。
- b. DG8 カートリッジをホルダーの右半分にスライドさせてから下ろしセットします。
- c. ホルダーの両側を同時に押して、カチッと閉じます。



DG8 カートリッジ



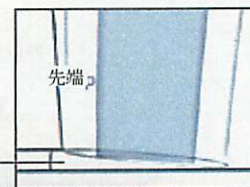
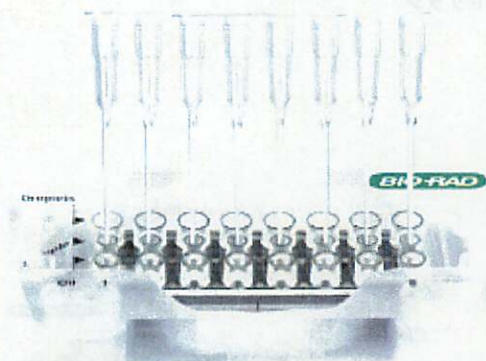
DG8 カートリッジをカートリッジホルダーにセットします。

3. 調製した各サンプルを 20 μ l、DG8 カートリッジのサンプルウェル（中央の列）に移します。



気泡がウェルの底面を覆うと、ドロップレットが少なくなり、データ品質が低下することがありますが、このことを目で見確認するのは難しいといえます。気泡が発生しないようにするには、以下のようなピペット操作技術を利用します。これにより、サンプルがウェルの底面を濡らすようになるため、マイクロチャンネルにも確実に吸い上げられるようになります（これは、ドロップレットを適切に作製するには不可欠なことです）。

- 20 μ l エアロゾルバリア（フィルター付き）Rainin ピペットチップの使用を推奨します。200 μ l のピペットチップは使用しないでください（表 1.2 を参照）。
- ピペット先端が底面付近のリッジを通過するまで、約 15° の角度でウェルの側面をゆっくりと下に滑らせします。この角度を維持したまま、ピペット先端をサンプル底面の端に置き、少量のサンプルをゆっくりと分注します。このとき、ピペットをウェルの側面（壁）に直接接触させないでください。
- 約半分の量のサンプルを分注したら、ピペット先端を壁からゆっくりと引き上げながら、残りのサンプルを分注します。このとき、第 1 ストップを越えるところまでピペットプランジャーを押さないでください。



サンプルを DG8 カートリッジのサンプルウェル（中央の列）に移します。ピペット先端がウェルの底面で 15° の角度になるように保持します（中央および右側のパネル）。サンプルをウェルの壁や側面に分注しないようにしてください。

4. Droplet Generator (DG) オイルを試薬リザーバーに分注します。リザーバーに分注する容積の目安は、8 サンプルの調製時は 700 μ l、96 サンプルの調製時は 7 ml (186-3005, 186-4006 ボトル 1 本分) です。



オイル必要量目安

ウェル数	オイル量
8	700 μ l
24	1,820 μ l
48	3,500 μ l
96	6,860 μ l

試薬リザーバーと Droplet Generator オイル



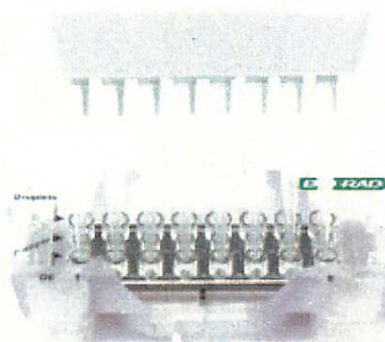
ー 使用オイルにご注意ください ー

PCR supermix として、ddPCR Supermix for Probes (186-3010, 186-3026, 186-3027, 186-3028)、Droplet PCR Supermix (186-3023, 186-3024, 186-3025)、および、One-Step RT-ddPCR Supermix for Probes (186-3021, 186-3022) を用いる場合は、Droplet Generator オイル for Probes (186-3030, 186-3005) をご使用ください。

また、ddPCR EvaGreen Supremix (186-4033, 186-4034, 186-4035, 186-4036) を用いる場合は、Droplet Generator oil for EvaGreen (186-4005, 186-4006) をご使用ください。

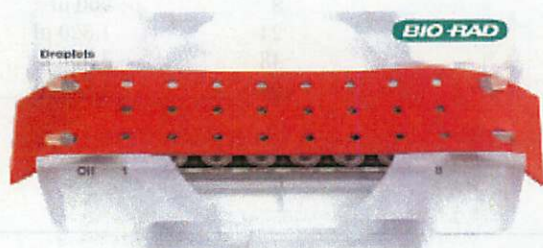
正しいオイルを用いないと、リーダーの流路を色素で汚染する可能性があります。■

5. マルチチャンネルピペットを使用して、試薬リザーバーから取った 70 μ l の DG オイルを各オイルウェル（一番下の列）に注入します。



オイルウェルに Droplet Generator オイルを注入します。

6. 両側のホールを使用して、カートリッジホルダーの上にガスケットを引っ掛けます。ガスケットはホルダーの両端にしっかりと引っ掛けてください。ガスケットがしっかりと引っ掛かっていないと、ドロップレットを作製するのに十分な圧力がかかりません。



カートリッジホルダー上のガスケットの正しい配置。

7. カートリッジホルダーを QX200 Droplet Generator の中に入れ、ドロップレットの作製を開始します。
- 緑色のふたの上にあるボタンを押して、装置を開けます。
 - カートリッジホルダーを装置の中に入れます。ホルダーが正しい位置にセットされている場合は、電源（左側のランプ）とホルダー（中央のランプ）の両方のインジケータランプが緑色に点灯します（次頁表 2.1）。

8. ふたの上にあるボタンをもう一度押して、ドアを閉めます。これで、ドロップレットの作製が開始されます。マニホールドがアウトレットウェルの上にセットされ、ドロップレットが作製されるマイクロfluidicチャンネルを通してオイルとサンプルが吸い込まれます。ドロップレットはトップウェルへ流れ、ここで蓄積します。10 秒後、ドロップレットインジケーターランプ（右側）が緑色に点滅し、ドロップレットの作製が進行していることを知らせます。

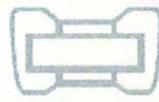


DG8 カートリッジをセットした QX200 Droplet Generator.

9. ドロップレットの作製が完了すると、3 つのインジケーターランプがすべて緑色に点灯します。ドアを開けて、装置からホルダーを取り外します (DG8 カートリッジはまだ所定の位置にセットしたままにしておきます)。ホルダーから使い捨てガasketを取り外して廃棄します。このとき、トップウェルにはドロップレットが収容されていますが、ミドルウェルとボトムウェルには少量のオイルが残っています。

DG8 カートリッジはホルダーの中にセットしたままにしておいてください。

表 2.1 : QX200 Droplet Generator のステータスインジケーターランプ。中央の LED ランプが黄色に点滅する場合は、ガasketがホルダー上に正しくセットされていないか、あるいはガasketがないために、密閉ができていません。右側の LED ランプが黄色に点滅する場合は、少なくとも 1 つのウェルで量が少なすぎるために、処理エラーが発生しました。

			
緑色に点灯	電源オン	DG8 カートリッジがセットされている	ランの完了
緑色に点滅	---	---	ランの実行中
黄色に点滅	---	ガasketがない、ウェルが空である、 または密閉ができていない	ウェルの量が少なすぎる
消灯	電源オフ	DG8 カートリッジがセットされていない	アイドル

2.3 PCR の準備

1. トップウェル（ドロップレット）の内容物を 40 μ l ピペットで取り、96 ウェルプレートに 1 列に分注します。



以下のようなピペット操作技術を利用して、ドロップレットがこわれたり、融合したりしないようにします。

DG8 カートリッジからドロップレットを吸引するには：

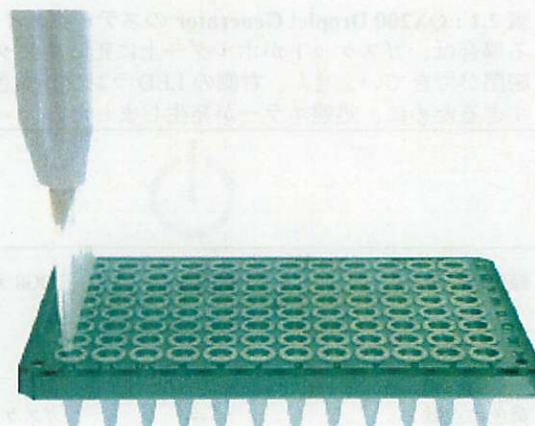
- ・ 8 チャンネル手動の P-50 Pipetman と 200 μ l チップ（ワイドボア、またはナローボアのものを使用しないでください）を使用します。P-20 または P-1000 Pipetman は使用しないでください。
- ・ カートリッジホルダーを平らな面の上に置き、ピペットチップを 8 つのトップウェルのそれぞれに約 30~45° の角度になるようにして、側壁がウェルの底面と接触する接合部まで差し入れます。ピペットチップを垂直方向（90°）になるように、またピペットチップをウェルの底面にぴったりと接触させないでください。
- ・ ドロップレット 40 μ l をピペットチップにゆっくりと吸引します（ウェル中の液量が 40 μ l に満たない場合もあるため、5 秒程度かけてゆっくりと吸引してください）。空気がドロップレットに浸透する原因となるため、40 μ l を超える量は吸引しないでください。
- ・ ゆっくりとピペットで取ります。一定の抵抗力をプランジャーにかけ、ピペットチップに出入りするドロップレットをスムーズに吸引します。

ドロップレットを 96 ウェルプレートに分注するには：

- ・ ピペットチップをウェルの側面に沿わせ、ウェルの底面上ではなく、ウェルの底面付近まで差し入れドロップレットをゆっくりと分注します（約 5 秒）。
- ・ 蒸発や微粒子によるコンタミネーションを防止するために、プレート（例えば、8 キャップストリップやピペットチップの箱のふたなどで）覆います。



DG8 カートリッジからドロップレットを吸引します。



96 ウェル PCR プレートにドロップレットを分注します。

2. ドロップレットを移したらすぐに、蒸発を防止するために PCR プレーートのウェルをホイルで密閉します。PX1 PCR Plate Sealer および ddPCR 用ホイルヒートシールを使用します。(詳細については、PX1 PCR Plate Sealer 付属の取扱説明書およびクイックガイドを参照してください。)
 - a. 本体後部の電源スイッチを押して、電源を投入します。起動後、開閉ボタンを押して引き出しを開き、プレートサポートブロックを取り出します。プレートサポートブロックを取り出したら、開閉ボタンを押して引き出しを閉じます。OK ボタンをタッチするとメイン画面が表示されます。
 - b. Set Temperature ボタンをタッチして、設定したい温度を入力します。Set Time ボタンをタッチして、設定したい時間を入力します。(ホイルヒートシール(#181-4040)、twin.tec 96 ウェルセミスカートプレート(Eppendorf, # 95579)を用いる場合は、"180°C、5 秒"を設定します。) 設定したい温度に到達すると Seal ボタンがアクティブになり、シーリングすることが可能になります。
 - c. シーリング可能となったら、開閉ボタンをタッチして引き出しを開き、プレートサポートブロックをセットします。ブロックには 96 ウェルプレート側と 384 ウェルプレート側があるので、96 ウェルプレート側を上にしてセットします。プレートをプレートサポートブロックに置き、プレートの上にシーリングフィルムを置きます。
 - d. Seal ボタンをタッチすると、引き出しが閉じて、シーリングが行われます。シーリングが終了すると、自動的に引き出しが開き、プレートが取り出せます。
 - e. プレーートのすべてのウェルが密閉されていることを確認します。ウェルのくぼみがホイル上から確認できます。密閉したら、プレートを PCR サイクルにかけることができます。
3. ドロップレットを移したら、DG8 カートリッジホルダーのラッチを押して開けます。空の DG8 カートリッジを取り外して廃棄します。

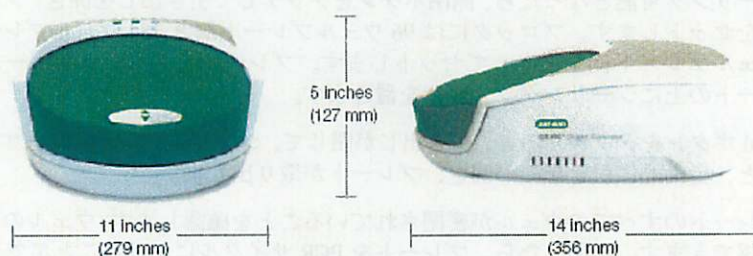
プレートの密閉後 30 分以内に PCR サイクルを開始します。また、PCR サイクル後に保存時は、4°C で最長 4 時間までとしてください。PCR サイクル条件については、Supermix の添付文書を参照してください。



PX1 PCR Plate Sealer (左側) と密閉された 96 ウェルプレート (右側)

3 仕様とメンテナンス

3.1 仕様



重量：	4.5 kg
サイズ (W x D x H)：	279 x 356 x 127 mm
電源要件：	100-240 V、50/60 Hz 60W、電圧変動が+10%の比率を越えないこと
温度：	15-28°C
高度：	0-2,438 m
湿度：	最高 85% (結露なし)
汚染度：	2 (室内使用)
設置カテゴリー：	II (標準的な AC コンセントへの外部電源供給プラグ)
換気要件：	装置の左右で 3 cm、背後で 5 cm は適切な換気のために閉塞させないこと

3.2 メンテナンス

装置の表面には、一般的なクリーニングが必要になることがあります。脱イオン水／蒸留水を少し含ませた布で、装置全体の表面をきれいに拭いてください。装置のデコンタミネーションには、10%ブリーチを使用した後に 70%エタノールおよび／または脱イオン水／蒸留水を使用することができます。アセトンまたは水道水は使用しないでください。

装置を定期的に点検し、外部部品や配線が損傷していないか確認してください。損傷している場合は、装置を使用しないでください。

発生した廃棄物を処理したり、廃棄したりする場合は、標準的な MSDS（化学物質安全性データシート）と OSHA 基準（米国のみ）を適用してください。

バイオ・ラッド社のドロップレット作製および Droplet Reader 用液は、フッ素化炭化水素化合物を主成分としているため、所属機関、都道府県、地域の規則に従って処分してください。これらの不燃性液は不活性であるため、環境に与える影響も毒性も低いといえます。廃棄物はポリエチレン容器に収集し、1 カ月以内に処分してください。

バイオ・ラッド社のマスターミックスで作製したドロップレットには抗菌性がありますが、微生物が増殖する可能性もあります。廃棄物プロファイルにはフッ素化炭化水素、水、蛍光染料（プローブから発生）、タンパク質、および核酸が含まれます。Droplet Generator は、バイオハザード物質を使用することを想定していません。

Appendix A Ordering Information

カタログ番号	製品名
QX200™ Droplet Digital™ PCR システム	
186-4001JA	QX200 Droplet Digital PCR システム <構成内容> QX200 Droplet Generator システム, QX200 Droplet Reader システム, ddPCR 専用解析用ノート PC
186-4001J1	QX200 Droplet Digital PCR システム C1000 Touch 付 <構成内容> QX200 Droplet Generator システム, QX200 Droplet Reader システム, ddPCR 専用解析用ノート PC, C1000 Touch サーマルサイクラー, 96Deep well リアクションモジュール
186-4001J2	QX200 Droplet Digital PCR システム PX1 付 <構成内容> QX200 Droplet Generator システム, QX200 Droplet Reader システム, ddPCR 専用解析用ノート PC, PX1 PCR Plate Sealer, ddPCR 用ホイルヒートシール
186-4001J3	QX200 Droplet Digital PCR システム C1000 Touch PX1 付 <構成内容> QX200 Droplet Generator システム, QX200 Droplet Reader システム, ddPCR 専用解析用ノート PC, C1000 Touch サーマルサイクラー, 96Deep well リアクションモジュール, PX1 PCR Plate Sealer, ddPCR 用ホイルヒートシール
186-4002JA	QX200 Droplet Generator システム
186-4003JA	QX200 Droplet Reader システム
186-3007JA	ddPCR 専用解析用ノート PC
試薬・消耗品・その他関連製品	
186-3031	Droplet Reader オイル (1L ボトル×1 本、500 ウェル分)
186-3004	Droplet Reader オイル (1L ボトル×2 本、1,000 ウェル分)
186-3030	Droplet Generator オイル for Probes (7ml ボトル×2 本、200 ウェル分)
186-3005	Droplet Generator オイル for Probes (7ml ボトル×10 本、1,000 ウェル分)
186-4005	Droplet Generator オイル for EvaGreen (7ml ボトル×2 本、200 ウェル分)
186-4006	Droplet Generator オイル for EvaGreen (7ml ボトル×10 本、1,000 ウェル分)
186-4007	DG8 カートリッジ&ガスケットセット (120 カートリッジ&ガスケット、960 ウェル分)
186-4008	DG8 カートリッジ (24 カートリッジ、192 ウェル分)
186-3009	DG8 ガスケット (24 ガスケット、192 ウェル分)
186-3051	DG8 カートリッジホルダー (1 個)
186-3026	ddPCR Supermix for Probes (1ml×2 本、200 ウェル分)
186-3010	ddPCR Supermix for Probes (1ml×5 本、500 ウェル分)
186-3027	ddPCR Supermix for Probes (5ml×5 本、2,500 ウェル分)
186-3028	ddPCR Supermix for Probes (5ml×10 本、5,000 ウェル分)
186-3023	Droplet PCR supermix (1ml×2 本、200 ウェル分)
186-3024	Droplet PCR supermix (1ml×5 本、500 ウェル分)
186-3025	Droplet PCR supermix (5ml×5 本、2,500 ウェル分)
186-3021	One-Step RT-ddPCR Kit for Probes (1ml×2 本、200 ウェル分)
186-3022	One-Step RT-ddPCR Kit for Probes (1ml×5 本、500 ウェル分)
186-4033	ddPCR EvaGreen Supermix (1ml×2 本、200 ウェル分)
186-4034	ddPCR EvaGreen Supermix (1ml×5 本、500 ウェル分)
186-4035	ddPCR EvaGreen Supermix (5ml×5 本、2,500 ウェル分)
186-4036	ddPCR EvaGreen Supermix (5ml×10 本、5,000 ウェル分)
186-3021	One-Step RT-ddPCR Kit for Probes (1ml×2 本、200 ウェル分)
186-3022	One-Step RT-ddPCR Kit for Probes (1ml×5 本、500 ウェル分)
186-3052	ddPCR Buffer Control Kit for Probes (4.5ml ボトル×2 本、2×バッドファ)
186-4052	ddPCR Buffer Control Kit for EvaGreen (4.5ml ボトル×2 本、2×バッドファ)
181-4000J1	PX1 PCR Plate Sealer
181-4040	ddPCR 用 ホイルヒートシール (100 枚)