GloMax® 96 Microplate Luminometer

GMJ96

Apr. 11th, 2013
Version 1.6.4

目次

GloMax® 96 Microplate Luminometer の設置 …… **3**
GloMax® 96 Microplate Luminometer の外観 …… **4**

取り扱い説明

GloMax® 96 Microplate Luminometer の準備 …… **5**

2 本のオートインジェクターを使ってアッセイを実施する場合 …… **6**
(例) Dual-Luciferase® Reporter Assay System
- メソッドの選択および設定 7
- インジェクターの準備 10
- 測定 11
- インジェクターチューブの洗浄 12
- 測定結果の解析 13

フローチャート …… 18

オートインジェクターを使わないアッセイを実施する場合 …… **19**
(例) CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay
- メソッドの選択および設定 19
- 測定 21

フローチャート …… 22

自分でお好みのメソッドをデザインする場合 …… **23**
- Create New Protocol を利用する 23
- Advanced Protocols を利用する 26
  - ・ AutomaticInjectorOptions 26
  - ・ Kinetics 28
  - ・ SuperProtocol 31
  - ・ SuperProtocol の使用例 32

USB-RS232C 変換ケーブル【TRIPP･LITE USB to Serial Adapter】の接続 …… **33**
- Windows XP に接続する 33
- Windows 7 に接続する 37

お問い合わせ先 …… **40**

GloMax® 96 Microplate Luminometer の設置

GloMax® 96 Microplate Luminometer の設置

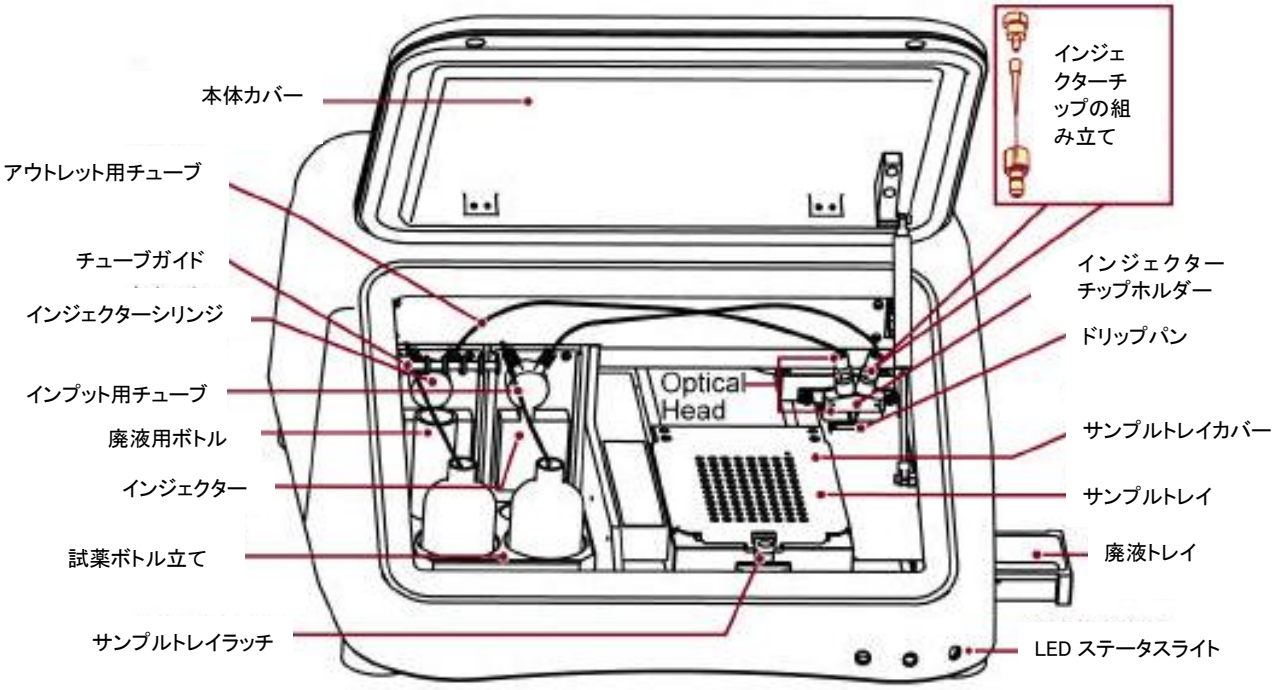
1. コンピューター(以下、PC と略)と GloMax™ 96 本体をそれぞれに電源ケーブルをつなぐ。
2. PC のシリアルポート【｜○｜○｜】と GloMax™ 96 のシリアルポートを RS-232C ケーブル(9 ピンオス－9 ピンメス)で接続する。
3. GloMax® 96 本体内のサンプルトレイとインジェクターチップホルダーを固定しているスポンジを取り出す。
4. PC を起動し、GloMax® 96 ソフトウエアをインストールする。

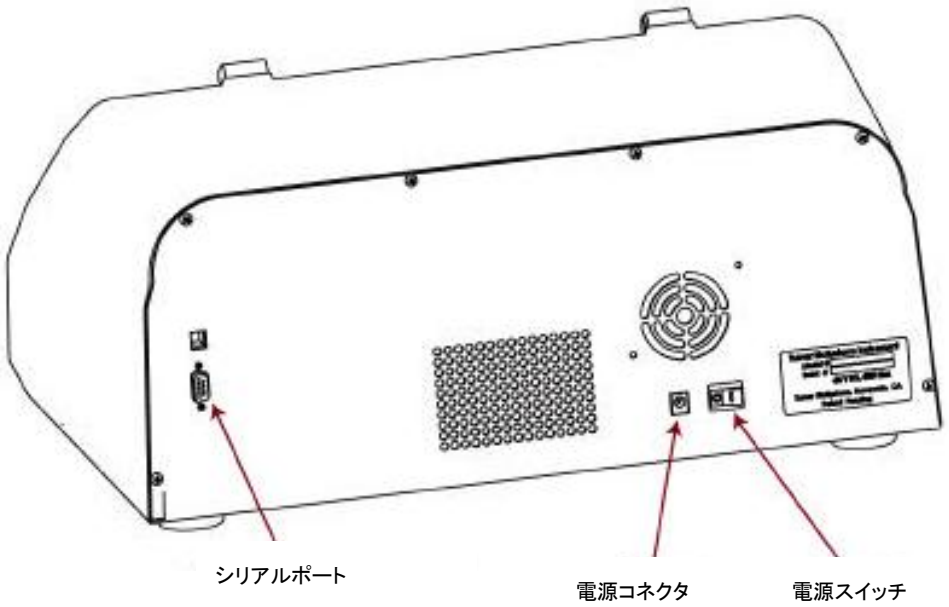
備考 ：

- GloMax® 96 ソフトウエアは、Windows® 98, 2000, XP, Vista での作動することを確認しています。 Excel ベースで作動するので、**Microsoft Excel のインストールは必須です**。
- ご利用するコンピューターにシリアルポート【｜○｜○｜】がない場合、付属の USB-RS232C 変換ケーブル【TRIPP・LITE USB to Serial Adapter】を利用して USB ポートに接続できます。詳しくは、33 ページをご覧ください。

重要
設置時に Microsoft Office や Microsoft Excel をインストールした場合には、『ユーザー認証登録』を必ず行なってください。

GloMax® 96 Microplate Luminometer の外観





取り扱い説明

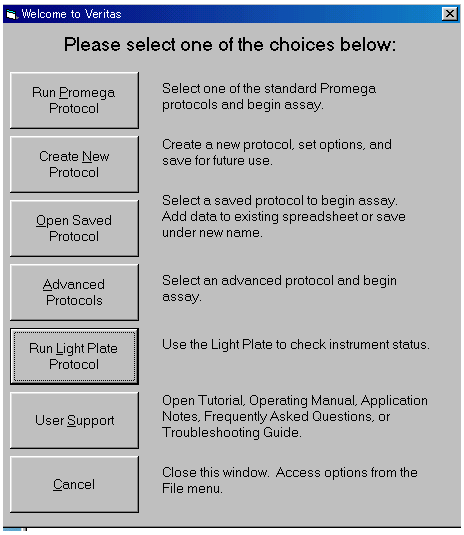
GloMax® 96 Microplate Luminometer の準備

1. **GloMax® 96 Microplate Luminometer のスイッチを入れる。**
2. **PC のスイッチを入れる。**
3. **PC のデスクトップにある GloMax® 96 ソフトウエアのショートカットから起動する。**

備考 ：

- PC と GloMax® 96 はどちらからスイッチを ON にしても認識されます。しかし、GloMax® 96 ソフトウエアの起動時には、GloMax® 96 本体の電源 ON が必要です。

4. **下図の画面が現れる。**



A [Run Promega Protocol] – プレインストールされているプロメガ製品用の標準測定メソッドを呼び出す(表 1 参照)

B [Create New Protocol] ー お好みのメソッドを自身で作成する ⇒ p23

C [Open Saved Protocol] ー 以前に保存しておいたメソッドや自身で作成したメソッドを呼び出す

D [Advanced Protocols] ー Automatic Injector Option やキネティックモードのメソッドを呼び出す ⇒ p26

E [Run Light Plate Protocol] ー 発光標準品である Light Plate を使った検定のためのプロトコールを呼び出す

F [User Support] ー GloMax™ 96 のマニュアルやトラブルシューティングを呼び出す

G [Cancel] ー この画面を閉じる

備考 ：

- プレインストールされているメソッドは改変することができます。 その改変したメソッドを保存しておけば、以降は[Open Saved Protocol]から直接呼び出すことができます。
- この画面を閉じてしまった場合には、”File”メニューから同じ操作が行えます。

表 1. Run Promega Protocol

		Plate Setup				Other Options							
						Measurement before injection (injector #1)				injection (injector #2)			
		Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between last operation and this injection	delay before measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time
DLR	DLRwithOneInjection	0			②			0	10	100		0.4	10
	DLRwithOneInjectionColumnFormat	0			②				10	100	0	0.4	10
	DLRwithTwoInjections	0			①②	100		0.4	10	100		0.4	10
	DLRwithTwoInjectionsColumnFormat	0			①②	100	0	0.4	10	100		0.4	10

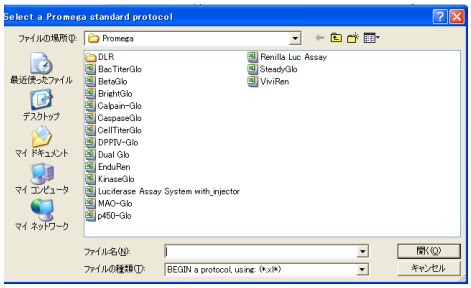
	Plate Setup				Other Options		
					injection		
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay before measurement	integration time
Luciferase Assay System with_injector	0			①	100	2	10
Renilla Luc Assay	0			①	100	2	10

		Plate Setup				Other Options		
		Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay before measurement	integration time
BacTiterGlo		0	1	0			0	1
BetaGlo		0	1	0			0	0.5
BrightGlo		0	1	0			0	1
Calpain-Glo		0	1	0			0	1
CaspaseGlo		0	1	0			0	1
CellTiterGlo		0	1	0			0	1
DPPIV-Glo		0	1	0			0	1
Dual Glo		0	1	0			0	0.5
EnduRen		0	1	0			0	0.5
KinaseGlo		0	1	0			0	1
MAO-Glo		0	1	0			0	1
p450-Glo		0	1	0			0	1
SteadyGlo		0	1	0			0	1
ViviRen		0	1	0			0	0.5

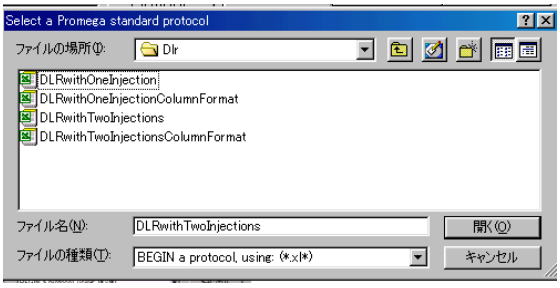
2 本のオートインジェクターを使ってアッセイを実施する場合
(例) Dual-Luciferase® Reporter Assay System

メソッドの選択および設定

1. 『Run Promega Protocol』を選択する。



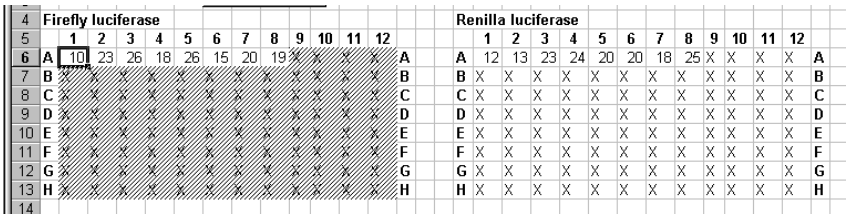
2. 『DLR』フォルダを開く。



3. 『DLRwithTwoInjections』または『DLRwithTwoInjectionsColumnFormat』を選択し、開く。

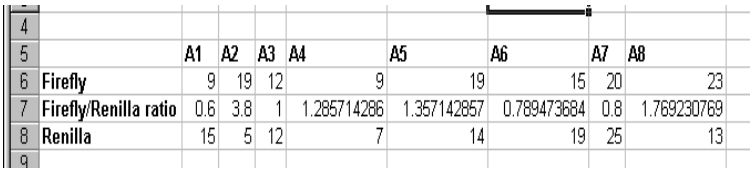
備考 ：

- 『DLRwithOneInjection』を選択した場合、利用するインジェクターは#2 になります。これはホタルルシフェラーゼとウミシイタケルシフェラーゼの発光半減期の違いから、ウミシイタケルシフェラーゼはインジェクターの利用が必須になるためです。
- 『DLRwithTwoInjections』は以下のように結果を表示します。発光値の比率の計算については 11 ページの”測定結果の解析”をご覧ください。



	Firefly luciferase														Renilla luciferase												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	A	10	23	26	18	26	15	20	19	X	X	X	X	A	A	12	13	23	24	20	20	18	25	X	X	X	X	A
B	B	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	B	B	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	B
C	C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	C	C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	C
D	D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	D	D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	D
E	E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	E	E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	E
F	F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	F	F	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	F
G	G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	G	G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	G
H	H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	H	H	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	H

また、『DLRwithTwoInjectionsColumnFormat』では以下のように結果を表示します。
こちらでは 11 ページの”測定結果の解析”をご利用いただけません。



	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
Firefly	9	19	12	9	19	15	20	23
Firefly/Renilla ratio	0.6	3.8	1	1.285714286	1.357142857	0.789473684	0.8	1.769230769
Renilla	15	5	12	7	14	19	25	13

4. 『Options』を選択し、次の項目を設定する。(カッコ)内の数値はデフォルトの設定です。【かっこ】内の数値は設定可能範囲です。

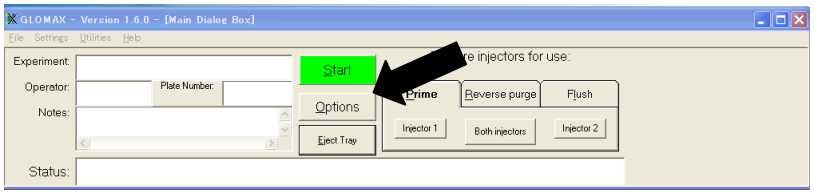
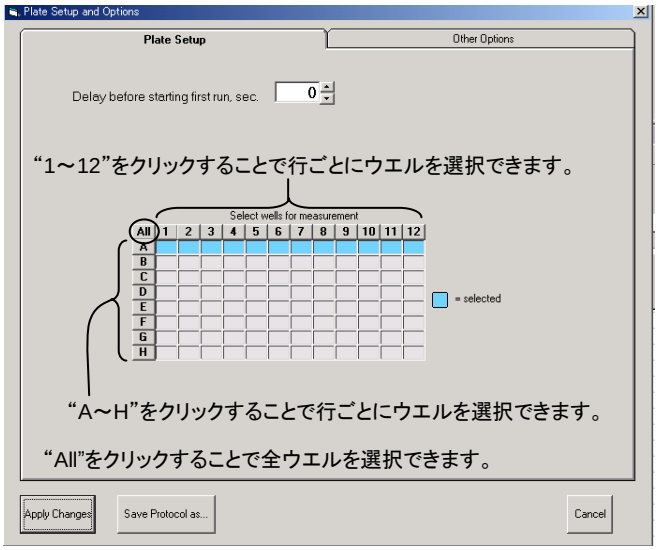


Plate Setup の画面 ：

A　Delay before starting first run, sec［測定前の待機時間］
(デフォルト値 0 seconds)【設定可能範囲 0-9,999 seconds】

B　Select wells for measurement［測定するウエル］
(デフォルト値 全ウエル)【設定可能範囲 任意のウエル】

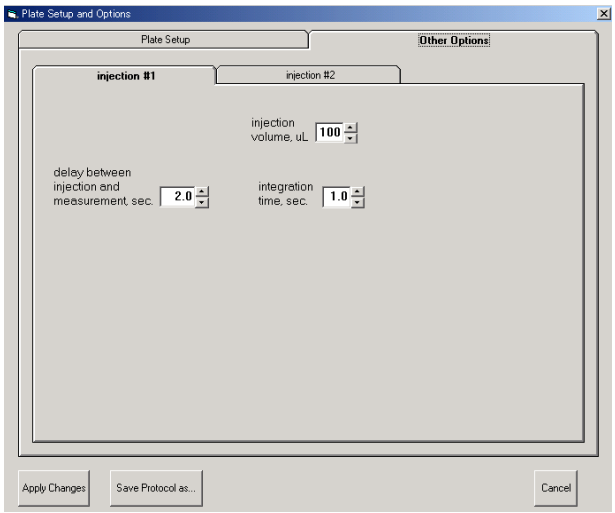


Other Options の画面 (Injection #1 & Injection #2)：

C　injection volume, µL［自動分注する液量］
(デフォルト値 100 µL)【設定可能範囲 25-250µL, 5µL 刻み, ただし injection #1 と injection #2 を併せて 300µL 以下】

D　delay between injection and measurement, sec［分注から測定までの待機時間］
(デフォルト値 0.4 seconds)【設定可能範囲 0-99.9 second】

E　integration time, sec［測定時間］
(デフォルト値 10 seconds)【設定可能範囲 0.5-10.0 second】

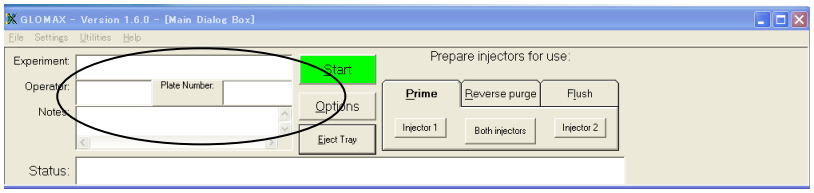


備考 ：

- ［A 測定前の待機時間］は、機器内に残存している外光が収まるまでの時間です。基本は 0 秒で問題ありません。最大で 5 秒あれば十分です。
- ［B 測定するウエル］は青いウエルが測定するウエルです。列や行ごとにも指定できます。
- ［C 自動分注する液量］は 25 から 250µl まで 1µl 間隔で設定できます。インジェクションのスピードは 333µl/second です。
- ［D 分注から測定までの待機時間］は 0.4 秒で十分です。
- ［E 測定時間］は 1 秒が推奨です。時間が長いほど正確な値が得られます。

5. 数値を変更した場合には、『Apply Changes』で決定する。また、次回もこのメソッドを使って、測定する場合には、『Save Protocol as…』で保存する。

6. 必要に応じて、Experiment、Operator、Plate No、Notes を記入する。



インジェクターの準備

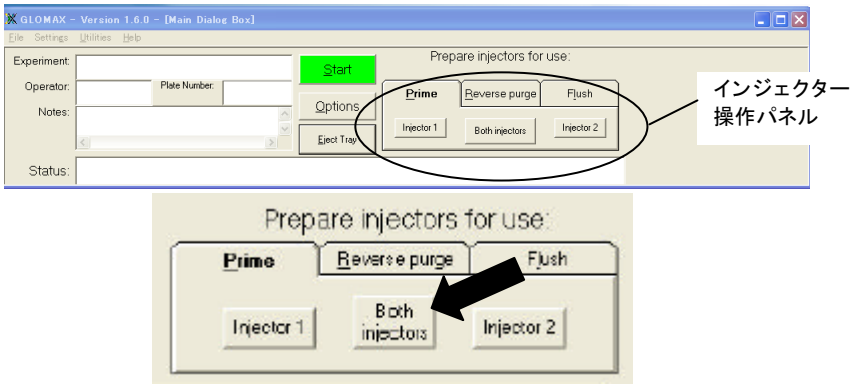
1. **試薬ボトルを試薬ボトル立てに置く。Injection #1 のインプット用チューブを Luciferase Assay Reagent II (以下、LARII)のボトルに、Injection #2 のインプット用チューブを Stop & Glo® Reagent (以下、S&G)のボトルに挿入する。**
2. **廃液用ボトルをボトルホルダーに立て、アウトプット用チューブを 2 本とも廃液用ボトルに挿入する。**

備考 ：

- 最後に使用した時の D.W.がインジェクターシリンジ内に、約 100µL が必ず残ります。このため、”Prime”の時に排出された 300µL の試薬の再利用はお薦めできません。
- このときにアウトプット用チューブ先端のチップの先に損傷や折曲が発生していないことを必ず確認してください。問題があった場合には、すぐに取り替えてください。購入時に予備のチップは８本添付されていますが、別途必要な場合には下記の製品を購入していただくか、プロメガ株式会社までご連絡ください。下記製品以外のチップは、定量性の保証ができません。

メーカー ：CLP Neptune (アメリカ)
国内取り扱い会社 ： フナコシ株式会社
メーカーコード ：CLP
カタログ番号 ：2040
製品名 ： 10µl Micro Tip, Non-Sterile, S3 Polymer, NEPTUNE
容量 ：1,000個
定価 ：2,900円
備考 ：S3 ポリマーコーティング，非滅菌

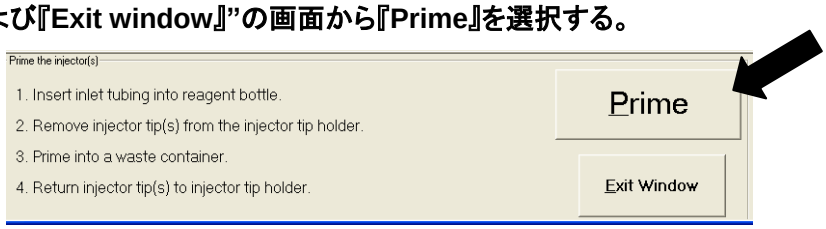
3. **チューブに注意して、カバーを閉める。**
4. **インジェクター操作パネルの『Prime』のタグを選択し、『Both injectors』を選択する。**



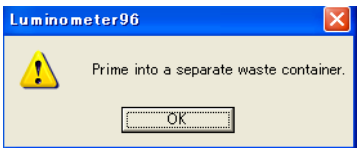
備考 ：

- 1 本ずつ『Prime』してもまったく同じ操作をすることできます。

5. **“『Prime』および『Exit window』”の画面から『Prime』を選択する。**



6. **“Prime into a separate waste container.”のメッセージが現れるので、アウトプット用チューブが廃液ボトルにセットされていることを確認する。『OK』を選択すると、ポンプが作動します。**



備考 ：

- “Prime”を実施することにより、700µL の各試薬が使われて、チューブ内に充填されます。700µL のうち、400µL がシリンジ～チューブ内に充填され、残りの 300µL が余剰分として排出されます。

7. **『Exit window』を選択する。**
8. **アウトプット用チューブを元の位置に戻す。**

備考 ：

- Status の欄に、”The PRIME completed successfully.”と表示されます。

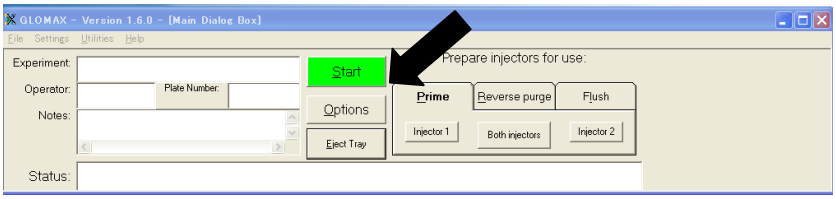
測定

1. **本体カバーとサンプルトレイカバーを開けて、96 ウエルプレートをセットし、サンプルトレイカバーを閉じる。**

備考 ：

- 右奥が A1 ウエルの位置です。
- 右奥に穴があります。インジェクターを使うメソッドの場合、ここを遮光することによりプレートがセットされたことを認識します。そのため、底面が透明のプレートは認識されません。プレート底面に遮光シールを貼付するか、穴に遮光性テープ(ビニールテープなど)を貼ってください。一方、インジェクターを使わないメソッドの場合、この穴を遮光しなくても機器は作動します。

2. **本体カバーを閉め、『Start』を選択し、測定を開始する。**



備考 ：

- 本体カバーを閉めずに『Start』を押すと、エラーメッセージが現れます。
- 1 ウエルごとに LARII のインジェクション、測定、S&G のインジェクション、測定、次のウエルに移動の順で測定します。
- 測定は、A1 から A12、B1 から B12･･･H1 から H12 の順に行われます。
- 結果は、ウエルごとに順次表示されます。

3. **96 ウエルプレートを取り出す。**
4. **測定結果は Excel ファイルに表示される。『Show Experiment Parameters』を選択することで測定条件や先に入力した Experiment、Operator、Plate No、Notes を表示できる。**

備考 ：

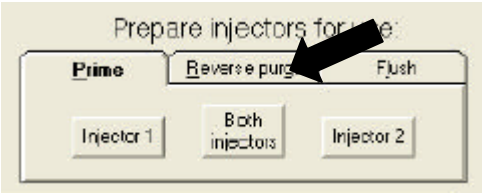
- 結果は画面上に表示されているのみであり、まだ PC に保存されていません。測定終了後には、速

やかに Excel ファイルの保存を実施してください。Excel ファイルに”名前を付けて保存”や”閉じる”を実行する場合、GloMax™ 96 ソフトウエアの File メニューから”Save as”や”Close”を利用して、実行します。

【オプション】インジェクターチューブに充填されている試薬の回収

試薬を回収する必要がなければ、この項は省略できます。

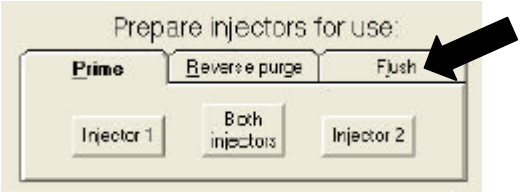
1. **チューブに充填されている試薬を試薬ボトルに戻すために、『Reverse purge』のタグを選択し、『Both injectors』を選択する。**



インジェクターチューブの洗浄

D.W. → 70% Ethanol → D.W. → Air の順で洗浄する。

1. **インプット用チューブを 2 本とも D.W.の入ったボトルに挿入する。**
2. **『Flush』のタグを選択し、『Both injectors』を選択する。**



3. **『Flush』を選択する。**

   備考 ：

   ● 1 回の”Flush”で約 900µL の D.W.が使用されます。

4. **インプット用チューブを D.W.のボトルから抜き、70% Ethanol のボトルに挿入し、『Both injectors』を選択する。『# flush cycles:』を”3”に設定し、『Flush』を選択する。チューブに 70% Ethanol が充填されるので、この状態で 10 分間程度放置する。**

   備考 ：

   ● 使用後すぐに洗浄する場合には、10 分程度の放置時間で十分です。洗浄までに時間を置くと、試薬がチューブ内に付着します。このときには、放置時間を延長してください。

5. **インプット用チューブを 70% Ethanol のボトルから抜き、D.W.のボトルに挿入し、『Both injectors』を選択する。『# flush cycles:』を”3”に設定し、『Flush』を選択する。**
6. **インプット用チューブを D.W.のボトルから抜き、『# flush cycles:』を”3”に設定し、『Flush』を選択する。ポンプとチューブから液体を除く。**
7. **『Exit window』を選択する。**

測定結果の解析

測定結果の表示されているエクセルには以下の 2 つのシートが含まれています。

- **Measurements** – 測定結果を表示しています。『Show Experimental Parameters』を選択することにより、測定日時やあらかじめ入力した情報を表示できます。『Hide Experimental Parameters』を選択することにより元に戻すことができます。
- **Analysis** – 測定結果を自動計算します。

“Analysis”の使用方法

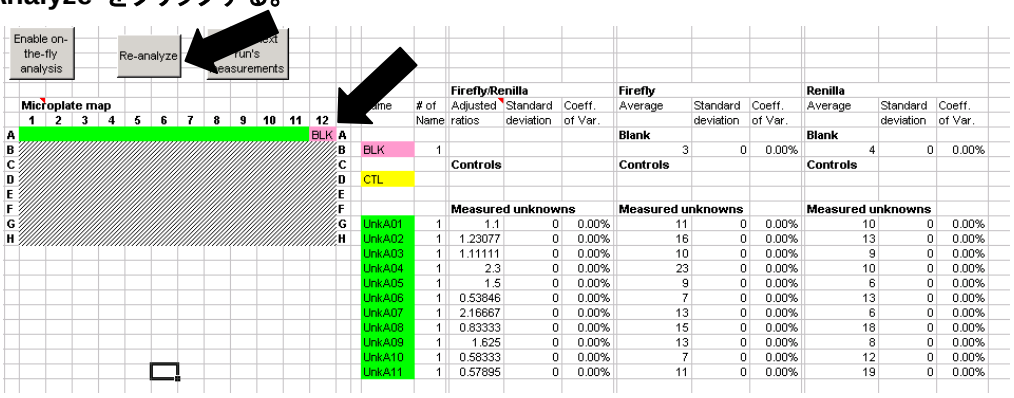
Run Promega Protocolから“DLRwithOneInjection”または“DLRwithTwoInjections”のメソッドを利用して得られた結果に対してのみ、このAnalysisは適用できます。

1. **GloMax® 96による測定結果は、"Measurements"のシートに表示される。**
2. **その右隣にある"Analysis"のシートには、Raw ratiosが示されています。**

バックグラウンド除去の設定 – “BLK”

"Analysis"のシートでバックグラウンドおよびブランクの測定値から除くことができます。

1. **"Microplate map"においてバックグラウンドと設定したウエルに"BLK"(小文字は不可)と入力する。**
2. **"Analyze"をクリックする。**



備考 ：

▲ 複数のセルに"BLK"と入力した場合には、それらの測定値の平均値を差し引きます。

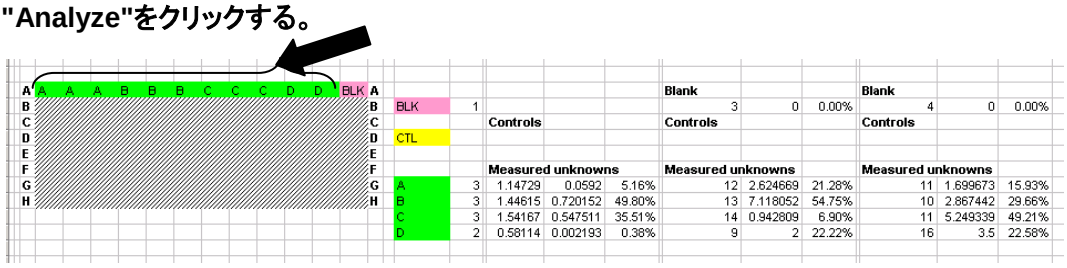
▲ 処理されたデータは、入力した”Microplate map”の右側に表示されるため、右にスクロールして確認してください。

▲ 再度計算を行う場合には、最も下にある計算されていない”Microplate map”に再度入力して、”Re-analyze”をクリックしてください。

サンプル名およびサンプルグループの設定

"Analysis"のシートで各サンプルに対して、サンプル名を割り当てることができます。

1. **"Microplate map"において、各セルにサンプル名を入力する。同一のサンプル間では、同一のサンプル名を入力する (アルファベット、漢字なども使えます)。**
2. **"Analyze"をクリックする。**



備考 ：

▲ 同一サンプル間での平均値、標準偏差、変動係数を計算して、表示します。

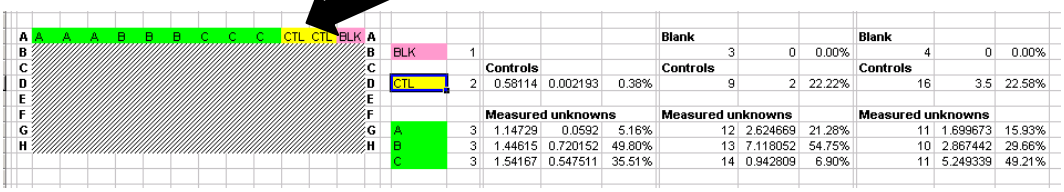
▲ 処理されたデータは、入力した"Microplate map"の右側に表示されるため、右にスクロールして確認してください。

▲ 再度計算を行う場合には、最も下にある計算されていない"Microplate map"に再度入力して、"Re-analyze"をクリックしてください。

コントロールの設定 - "CTL"

"Analysis"のシートで実験サンプルとコントロールを区別するために、コントロールのウエルを指定することができます。

1. **"Microplate map"において、コントロールに該当するセルに"CTL"または"ctl"と入力する。**
2. **"Analyze"をクリックする。**



備考 ：

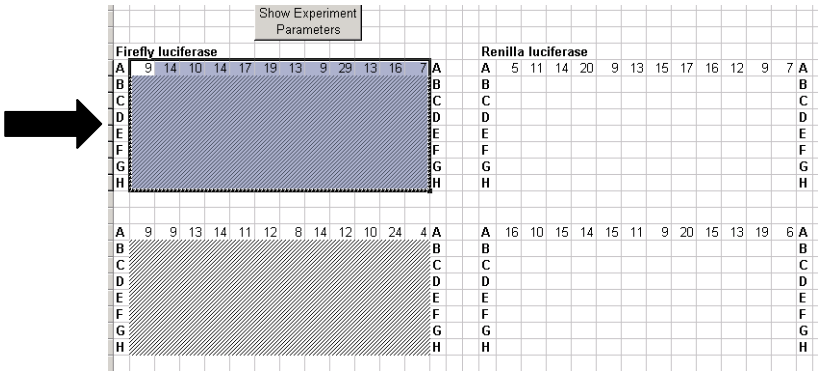
▲ 複数のコントロールのウエルを指定した場合、それらの測定値の平均値を表します。

▲ 処理されたデータは、入力した"Microplate map"の右側に表示されるため、右にスクロールして確認してください。

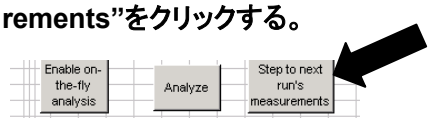
▲ 再度計算を行う場合には、最も下にある計算されていない"Microplate map"に入力して、"Re-analyze"をクリックしてください。

複数のプレートから得られた測定結果の解析 – "Step to next run's measurements"

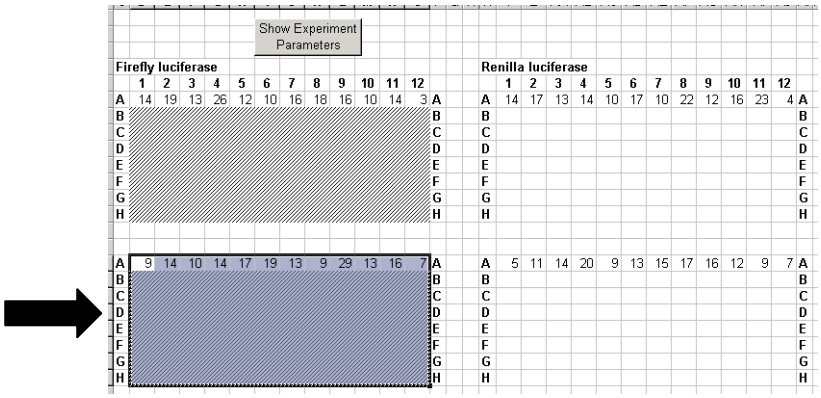
1. **単一のメソッドを用いて、複数のプレートから測定した場合、その測定結果は"Measurements"のシートに上下に並んで表示される。**



2. **“Analysis”のシートでは、“Measurement”のシートにおいて反転表示しているプレートの測定結果の解析を行うことができる。次のプレートの測定結果を解析する時には、”Analysis”のシートで”Step to next run’s measurements”をクリックする。**



3. **この操作により、“Measurement”のシートにおいて反転表示しているプレートは、次に移る。**



備考 ：

▲ ”Step to next run’s measurements”を選択して次のプレートに進んでしまった場合、それ以前のプレートの結果を”Re-analyze”することはできません。

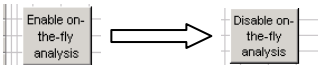
▲ 次のプレートの”Analyse”の結果は、それ以前のプレートの解析結果の下側に引き続いて表示されます。

▲ 複数のプレートの測定結果がない場合や最後のプレートが指定された場合には、”Step to next run’s measurements”のアイコンは表示されません。

On-the-Fly Analysis

複数のプレートの測定結果に対して、同一の解析を行う場合には、”On-the-Fly Analysis”が適用できます。

1. **通常の方法に従って、”Start”を押す前までの GloMax™ 96 の準備を行う。**
2. **”Start”を押す前に、”Analysis”のシートを選択し、”Microplate map”に BLK、CTL、サンプル名を入力する。**
3. **“Enable on-the-fly analysis”をクリックして、“Disable on-the-fly analysis”に変更する。**



備考 ：

▲ “Disable on-the-fly analysis”と表示されているときが、On-the-Fly Analysisモードはオンになっています。

▲ 画面は自動的に”Measurement”のシートに移行します。

4. **”Start”を選択して、測定を開始する。**
5. **測定の終了と同時に、結果は解析されています。**

備考 ：

▲ “Disable on-the-fly analysis”をクリックして、“Enable on-the-fly analysis”と表示を変更することにより、On-the-Fly Analysisモードをオフに戻せます。

Raw ratios = “Measurements”のシートに表示されている生データから計算されるホタル／レニラの比率の値

# of Name (同一サンプルの数) = トリプリケートを実施したときには”3”、デュプリケートを実施したときには”2”と表されます。

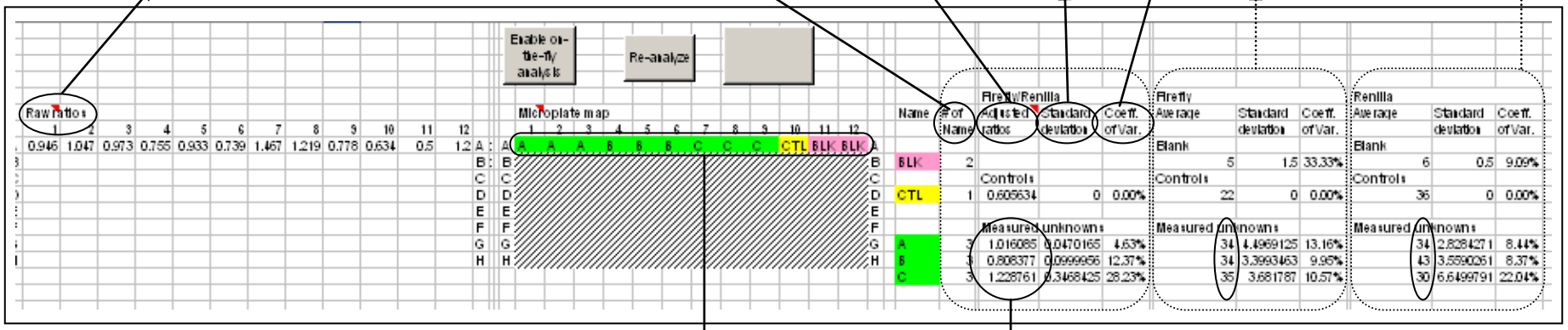
Adjusted of ratios (補正後のratio) = 実際の測定値からバックグラウンド(BLK)を差し引いた後、それらの平均値をホタル/レニラとして計算した比率の値

Standard deviation (標準偏差) = 分散の正の平方根として得られる値。全体の結果が平均値にまとまっているか、ちらばっているかを表す指標。

Coeff. of Var. (coefficient of variation; 変動係数または相対標準偏差) = サンプル値の標準偏差を平均値で割ることによって得られる。平均に対する相対誤差を示す量として用いられる。実質的なデータのばらつきの大きさ(ばらつき度)を評価する尺度

Firefly (ホタル)の測定結果の情報

Renilla (レニラ)の測定結果の情報



サンプル名A：ウエル1～3
サンプル名B ： ウエル4～6
サンプル名C ： ウエル7～9
コントロール(CTL) ： ウエル10
ブランク (BLK) ： ウエル 11～12

補正後の比率 = ホタルの補正値／レニラの補正値として算出された比率(ratio)

ホタルの補正値 = ホタルの実際の測定値からBlankの値を差し引いた値の平均値

レニラの補正値 = レニラの実際の測定値からBlankの値を差し引いた値の平均値

2 本のオートインジェクターを使ってアッセイを実施する場合
(例) Dual-Luciferase® Reporter Assay System

メソッドの選択および設定

5. GloMax™ 96 Microplate Luminometer と PC のスイッチを入れる。
6. PC のデスクトップにある GloMax™ 96 ソフトウエアのショートカットから起動する。
7. 『Run Promega Protocol』を選択する。
8. 『DLR』フォルダを開く。
9. 『DLRwithTwoInjections』または『DLRwithTwoInjectionsColumnFormat』を選択し、開く。
10. 『Options』を選択し、測定条件を設定する。

インジェクターの準備

11. Luciferase Assay Reagent II (以下、LARII)と Stop & Glo Reagent (以下、S&G)を準備する。
12. Injection #1 のインプット用チューブを LARII のボトルに、Injection #2 のインプット用チューブを S&G のボトルに挿入する。
13. アウトプット用チューブを 2 本とも廃液用ボトルに挿入する。
14. 『Auto-sense injectors』を選択する
15. 『Prime』のタグを選択し、『Both injectors』を選択する。
16. 『Prime』を選択する。
17. アウトプット用チューブが廃液ボトルにセットされていることを確認して、『OK』を選択する
18. 『Exit window to start a run』を選択する。
19. アウトプット用チューブを元の位置に戻す。

測定

20. 本体カバーとサンプルトレイカバーを開けて、96 ウエルプレートをセットし、サンプルトレイカバーを閉じる。
21. 本体カバーを閉め、『Start』を選択し、測定を開始する。
22. 96 ウエルプレートを取り出す。

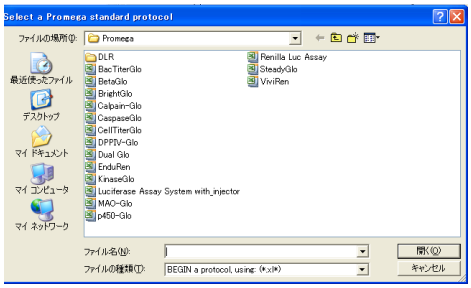
インジェクターチューブの洗浄

23. インプット用チューブを 2 本とも D.W.の入ったボトルに挿入する。
24. 『Flush』のタグを選択し、『Both injectors』を選択する。
25. 『Flush』を選択する。
26. インプット用チューブを D.W.のボトルから 70% Ethanol のボトルに差し替え、『Both injectors』を選択する。『# flush cycles:』を”3”に設定し、『Flush』を選択する。
27. 10 分間程度放置する。
28. インプット用チューブを 70% Ethanol のボトルから D.W.のボトルに差し替え、『Both injectors』を選択する。『# flush cycles:』を”3”に設定し、『Flush』を選択する。
29. インプット用チューブを D.W.のボトルから抜き、『# flush cycles:』を”3”に設定し、『Flush』を選択する。
30. 『Exit window』を選択する。

オートインジェクターを使わないアッセイを実施する場合
(例) CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay の場合

メソッドの選択および設定

1. 『Run Promega Protocol』を選択する。



2. 『CellTiterGlo』のフォルダを選択する。
3. 『CellTiterGlo』のファイルを選択する。
4. 『Options』を選択し、次の項目を設定する。(カッコ)内の数値はデフォルトの設定です。【かっこ】内の数値は設定可能範囲です。

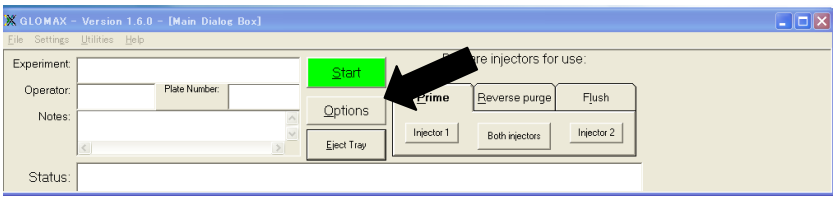


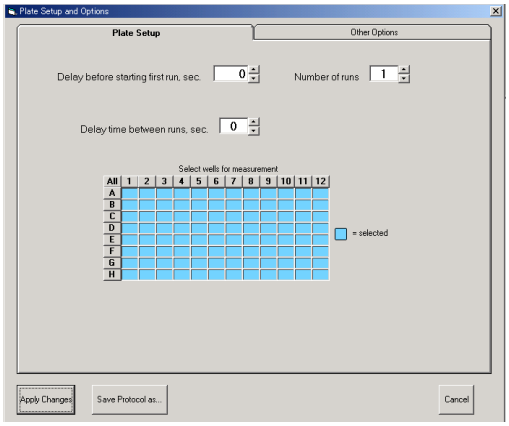
Plate Setup の画面 ：

A　Delay before starting first run, sec［測定前の待機時間］
(デフォルト値 0 seconds)【設定可能範囲 0-9999 seconds】

B　Number of runs［同一プレートを測定する回数］
(デフォルト値 1 回)【設定可能範囲 1-999 回】

C　Delay time between runs［B を 2 以上としたときの、その間の待機時間］
(デフォルト値 0 second)【設定可能範囲 0-999 second】

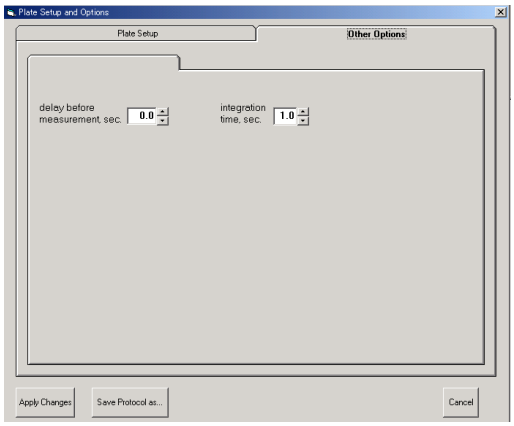
D　Select wells for measurement［測定するウエル］
(デフォルト値 全ウエル)【設定可能範囲 任意のウエル】



Other Options の画面 ：

E　delay before measurement, sec［測定までの待機時間］
(デフォルト値 0 seconds)【設定可能範囲 0-99.9 second】

F　integration time, sec［測定時間］
(デフォルト値 1 seconds)【設定可能範囲 0.5-10.0 second】



備考 ：

- ［A 測定前の待機時間］は、機器内に残存している外光が収まるまでの時間です。基本は 0 秒で問題ありません。最大で 5 秒あれば十分です。
- ［B 同一プレートを測定する回数］は、指定したウエルを全て測定した後に、再度はじめから同じウエルを測定する動作のリピート回数です。レポーターアッセイや CellTiter-Glo のような長時間発光試薬では、リピートの動作は不要なため、1 回に設定してください。
- ［C. B を 2 以上としたときの、その間の待機時間］は、指定したウエルを全て測定した後に、2 回目の測定を始めるまでの待機時間です。［B 同一プレートを測定する回数］が 1 回のため、待機時間は 0 秒です。
- ［D 測定するウエル］は、青いウエルが測定するウエルです。列や行ごとにも指定できます。2 秒が推奨です。
- ［E 測定までの待機時間］は、検出器が測定ウエルの真上に移動してから、測定開始までの待機時間です。CellTiter-Glo ではすでに発光は開始しているので、0 秒が推奨です。
- [F 測定時間]は、1 秒が推奨です。時間が長いほど正確な値が得られます。

5.　数値を変更した場合には、『Apply Changes』で決定する。また、次回もこのメソッドを使って、測定する場合には、『Save Protocol as…』で保存する。

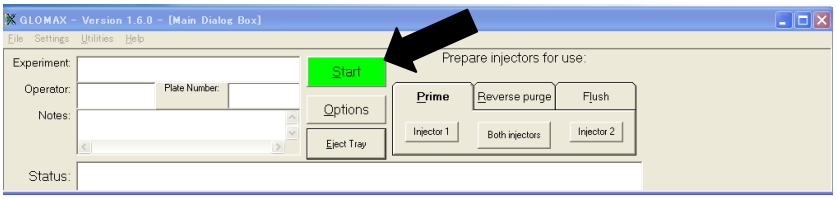
測定

1. サンプルトレイカバーをあけて、96 ウエルプレートをセットし、サンプルトレイカバーを閉じる。

備考 ：

- 右奥が A1 ウエルの位置です。

2. 本体カバーを閉め、『Start』を選択し、測定を開始する。



備考 ：

1. 結果は、ウエルごとに順次表示されます。

- 測定は、A1 から A12、B1 から B12･･･H1 から H12 の順に行われます。

3. 96 ウエルプレートを取り出す。

4. 測定結果は Excel ファイルに表示される。『Show Experiment Parameters』を選択することで測定条件を表示させることができる。

備考 ：

- 結果は画面上に表示されているのみであり、まだ PC に保存されていません。測定終了後には、速やかに Excel ファイルの保存を実施してください。Excel ファイルに”名前を付けて保存”や”閉じる”を実行する場合、GloMax™ 96 ソフトウエアの File メニューから”Save as”や”Close”を利用して、実行します。
- ホモジニアスアッセイ試薬(インジェクターを使わない試薬)のメソッドの初期設定は、基本的にすべて上述の CellTiter-Glo®用プロトコールと同一です。ただし、Beta-Glo®の integration time はデフォルト値が 0.5 秒になっています。

オートインジェクターを使わないアッセイを実施する場合
(例) CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay の場合

メソッドの選択および設定

6. GloMax™ 96 Microplate Luminometer と PC のスイッチを入れる。
7. PC のデスクトップにある GloMax™ 96 ソフトウエアのショートカットから起動する。
8. 『Run Promega Protocol』を選択する。
9. 『CellTiterGlo』のフォルダを選択する。
10. 『CellTiterGlo』のファイルを選択する。
11. 『Options』を選択し、測定条件を設定する。

測定

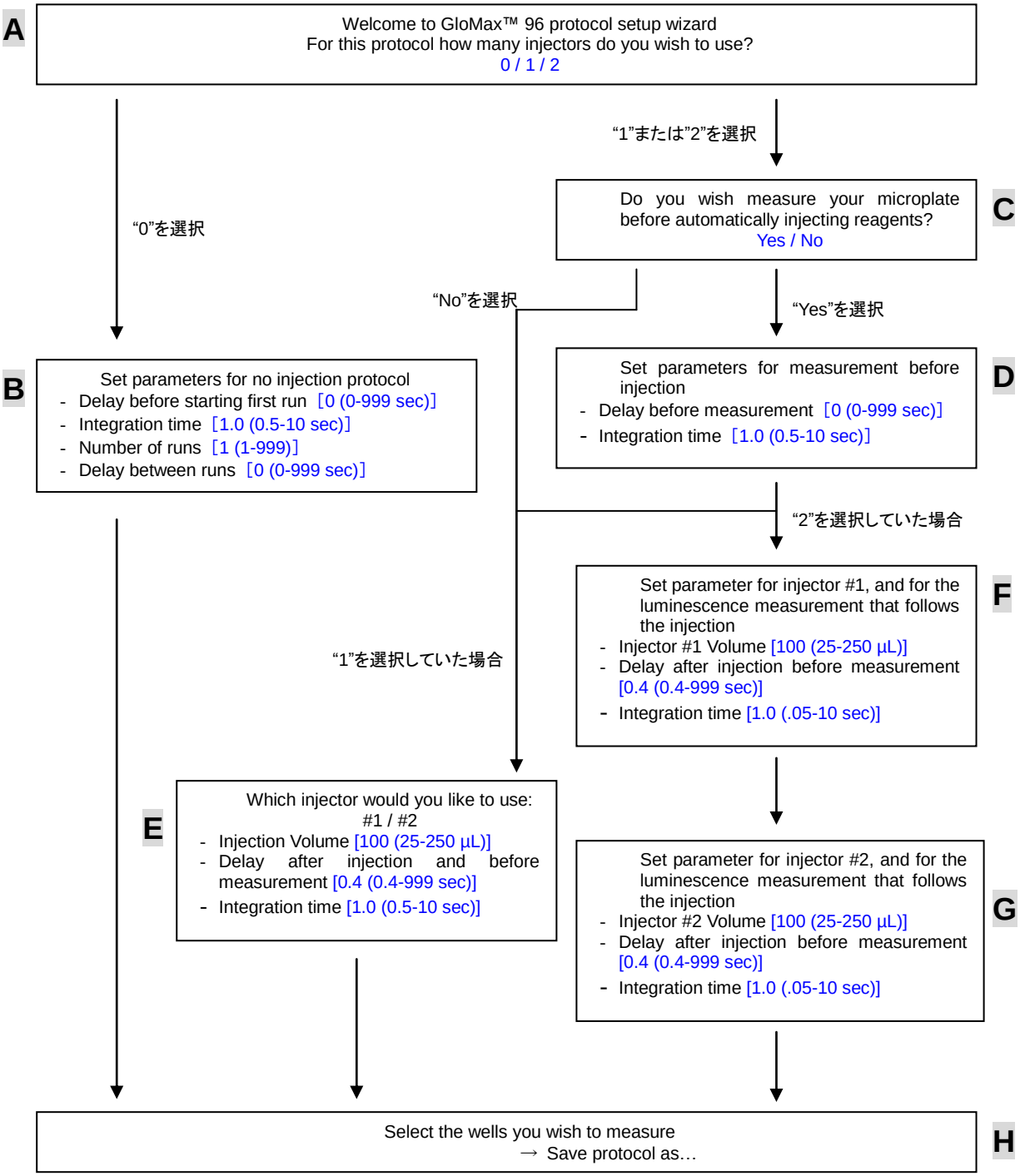
12. サンプルトレイカバーをあけて、96 ウエルプレートをセットし、サンプルトレイカバーを閉じる。
13. 本体カバーを閉め、『Start』を選択し、測定を開始する。
14. 96 ウエルプレートを取り出す。

自分でお好みのメソッドをデザインする場合

GloMax® 96 Microplate Luminometer では、2 つの方法でお好みのメソッドを作成することができます。

1. 『Create New Protocol』を利用する。
2. 『Advanced Protocol』を利用する。

1. 『Create New Protocol』を使った方法



各項目の内容は 24～25 ページの備考をご参照ください。

備考 ：

A. インジェクターを何本使ったメソッドを作成しますか?

0 を選択した場合、B へ進みます。1 または 2 を選択した場合、D へ進みます。

B. 次のパラメーターを設定してください。

- Delay before starting first run
- Integration time
- Number of runs
- Delay between runs

各パラメーターについては、6 ページのステップ 3 の備考を参照してください。

H へ進みます。

C. 試薬をインジェクションする前のプレートで発光しているバックグラウンドの発光量を測定しますか?

ほとんどの場合、プレート自体から発せられる光はほとんどありませんので、多くの場合、ここでは”No”を選択してください。例えば、プレートにあるサンプルが明らかに発光を示している場合には”Yes”を選択してください。

A で 1 本を選択し、かつ”No”を選択した場合には、E へ進みます。

A で 2 本を選択し、かつ”No”を選択した場合には、F へ進みます。

“Yes”を選択した場合、D へ進みます。

D. 次のパラメーターを設定してください。

- Delay before measurement
- Integration time

各パラメーターについては、6 ページのステップ 3 の備考を参照してください。

A で 1 本を選択した場合には、E へ進みます。

A で 2 本を選択した場合には、F へ進みます。

E. どちらのインジェクターを使いますか? 次のパラメーターを設定してください。

- インジェクター1 または 2 のどちらかを指定
- Injection volume
- Delay after injection and before measurement
- Integration time

H へ進みます。

F. インジェクター①と発光測定のためのパラメーターを設定してください。

- Injection volume

- Delay after injection and before measurement
- Integration time

G へ進みます。

G. インジェクター②と発光測定のためのパラメーターを設定してください。

- Injection volume
- Delay after injection and before measurement
- Integration time

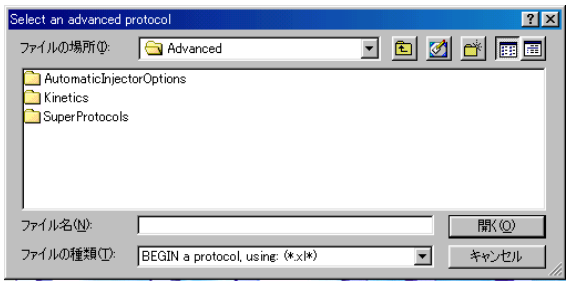
H へ進みます。

H. 測定するウエルを選択してください。

ここまで作成したメソッドを“Save Protocol as…”で Workbooks のフォルダに保存できます。

2. 『Advanced Protocols』を使った方法

1. 『Advanced Protocols』を選択する。

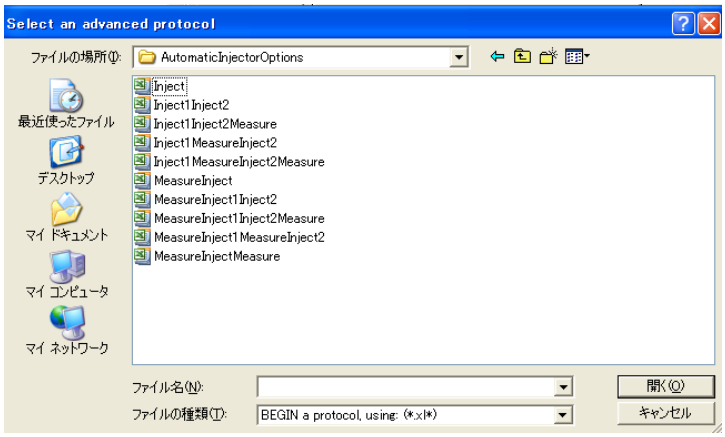


2. 『AutomaticInjectorOptions』、『Kinetics』、『SuperProtocols』から選択する。

■ AutomaticInjectorOptions

AutomaticInjectorOptions では、表 2 に示したように、測定とインジェクションを組み合わせたメソッドの実施が可能です。

1. 『AutomaticInjectorOptions』の選択により、下図が現れる。



2. 適当なメソッドのファイルを選択する。

3. 『Options』から設定を変更し、『Apply Changes』もしくは『Save Protocol as』で変更する。

4. サンプルが入ったプレートをセットする。

5. 『Start』で測定を開始する。

表 2. Advanced Protocols - AutomaticInjectorOptions

	Plate Setup				Other Options		
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay before measurement	integration time
Inject	0	1	0	①	100		

	Plate Setup				Other Options							
					injector #1				injector #2			
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time
Inject1Inject2	0	1	0	①②	100				100	0		
Inject1Inject2Measure	0			①②	100				100	0	0.4	1
Inject1MeasureInject2	0			①②	100		0.4	1	100	0		
Inject1MeasureInject2Measure	0			①②	100		0.4	1	100		0.4	1

	Plate Setup				Other Options							
					Measurement before injection				injection			
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between last operation and this injection	delay before measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time
MeasureInject	0			①			0.4	1	100			

	Plate Setup				Other Options											
					Measurement before injection				injector #1				injector #2			
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between last operation and this injection	delay before measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time
MeasureInject1Inject2	0			①②		0		1	100				100		0	

	Plate Setup				Other Options											
					Measurement before injection #1				injector #1				injector #2			
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between last operation and this injection	delay before measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time
MeasureInject1Inject2Measure	0			①②			0	1	100				100	0	0.4	1

	Plate Setup				Other Options											
					Measurement before injection				injector #1				injector #2			
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between last operation and this injection	delay before measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time
MeasureInject1MeasureInject2	0			①②				1	100		0.4	1	100	0		

	Plate Setup				Other Options							
					Measurement before injection				injecton			
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between last operation and this injection	delay before measurement	integration time	injection volume	delay between last operation and this injection	delay between injection and measurement	integration time
MeasureInjectMeasure	0			①			0	1	100		0.4	1

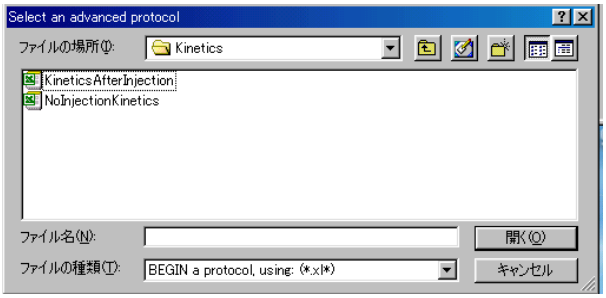
■ Kinetics

Kinetics では、経時的に発光量を測定することができます。表 3 に示したように、測定とインジェクションを組み合わせたメソッドの実施が可能です。

表 3. Advanced Protocols – Kinetics

	Plate Setup				Other Options			
	Delay before starting first run	Number of runs	Delay time between runs	Injector	injection volume	delay between injection and first data point	total integration per well	data point frequency
KineticsAfterInjection	0			①	100	0.4	1	10/s
NoInjectionKinetics	0					0	1	10/s

1. 『Kinetics』の選択により以下の画面が現れる。



2. 『KineticsAfterInjection』または『NoInjectionKinetics』のいずれかを選択する。

3. 『Options』を選択し、次の項目を設定する。(カッコ)内の数値はデフォルトの設定です。【かっこ】内の数値は設定可能範囲です。

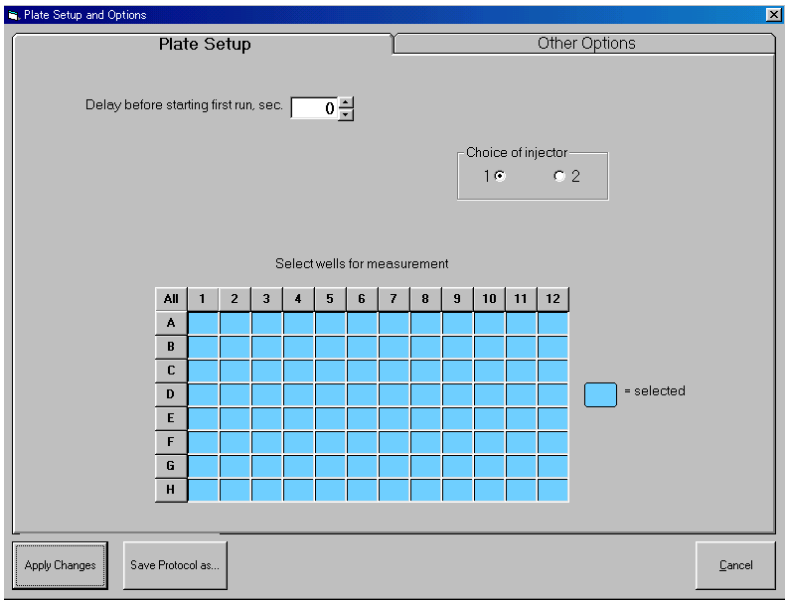


Plate Setup の画面 ：

A　Delay before starting first run, sec［測定前の待機時間］

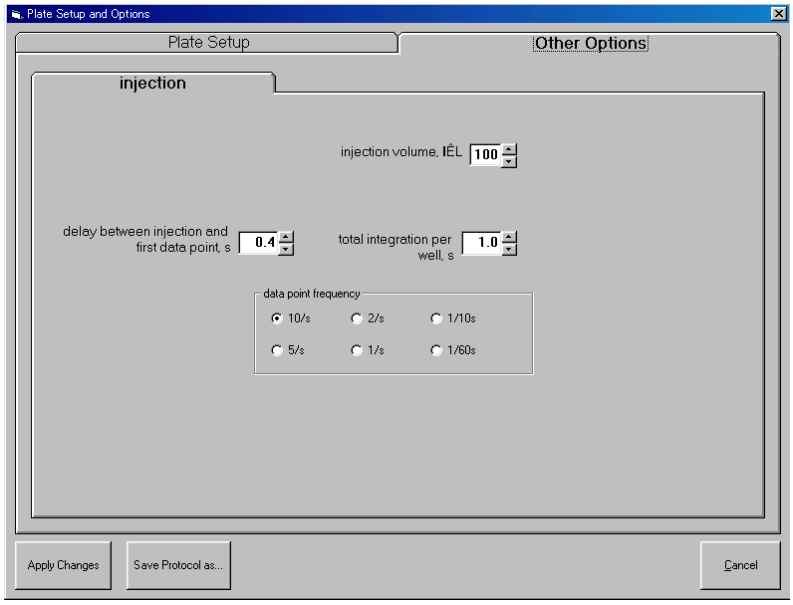
(デフォルト値 0 second)【設定可能範囲 0-9999 second】

B　Choice of injector [使用するインジェクターの選択]

(デフォルト値 injector 1)【設定可能範囲 1 または 2】

C　Select wells for measurement［測定するウエル］

(デフォルト値 全ウエル)【設定可能範囲 任意のウエル】



Other Options の画面 ：

D　injection Volume, µl［自動分注する液量］

(デフォルト値 100µl)【設定可能範囲 25-250µl】

E　delay between injection and first data point, s [インジェクション後、最初のデータを測定するまでの時間]

(デフォルト値 0.4 second)【設定可能範囲 0.4-99.9 second】

F　total integration per well, s［1 ウエルあたりの測定時間］

(デフォルト値 0.5 second)【設定可能範囲 0.5-6,000 second】

G　data point frequency［測定頻度］

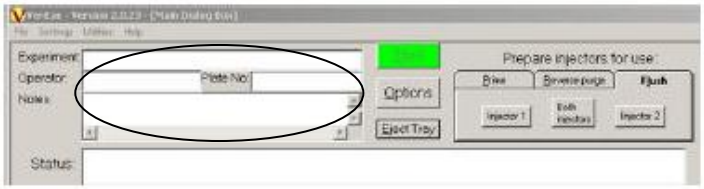
(デフォルト値 10/s)【設定可能範囲 10/s, 5/s, 2/s, 1/s, 1/10s, 1/60s より選択】

備考 ：

- デフォルトの 10/s で 1 秒測定とは、1 秒あたりに 10 回の測定という意味です。このように、デフォルトでは 0.1 秒ごとに 10 個の測定値が得られる。
- 『NoInjectionKinetics』を選択した場合には、“D. injection Volume, µl”は設定できません。また、“E. delay between injection and first data point, s”は、デフォルト値は 0 second になります。

4. 数値を変更した場合には、『Apply Changes』で決定する。また、次回もこのメソッドを使って、測定する場合には、『Save Protocol as…』で保存する。

5. 必要に応じて、Experiment、Operator、Plate Number、Notes を記入する。



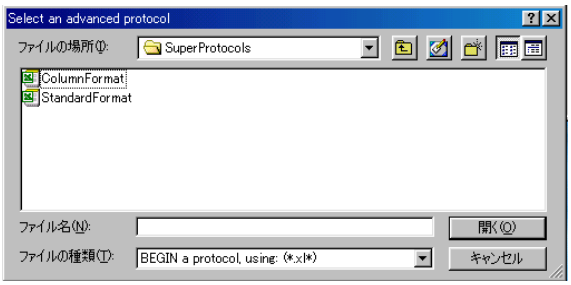
6. サンプルを含むプレートをセットし、『Start』を選択し、測定を開始する。

7. 測定結果は下図のようにウエルごとに表示される。

3												Parameters														
4	Data	Seconds since																								
5	point #	first measurement	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B
6	1	0.0	140	140	60	130	130	120	70	180	60	20	100	20	90	120	80	150	140	60	110	150	120	30	40	
7	2	0.1	150	160	130	170	120	140	150	150	70	40	0	40	120	130	180	150	150	150	100	110	40	20	0	
8	3	0.2	130	120	140	130	100	130	100	130	50	50	10	20	100	70	180	90	170	140	110	150	100	20	20	
9	4	0.3	80	90	130	100	70	150	100	130	70	40	10	30	150	80	100	180	140	180	190	90	90	40	50	
10	5	0.4	110	130	150	90	100	120	110	90	70	0	20	20	180	120	170	130	180	90	90	110	90	40	10	
11	6	0.5	150	80	140	90	100	110	90	170	60	30	20	0	90	160	90	170	110	140	90	90	80	50	20	
12	7	0.6	110	80	130	100	140	80	130	110	80	30	10	0	180	90	170	140	110	110	180	60	100	50	20	
13	8	0.7	180	100	120	110	130	120	90	170	110	50	60	10	150	80	80	30	110	90	120	150	90	40	40	
14	9	0.8	120	120	90	90	90	80	100	140	80	20	20	30	120	130	150	100	90	130	120	50	60	0	20	
15	10	0.9	180	60	140	120	100	120	110	100	60	10	0	0	170	80	160	150	140	50	110	90	80	60	30	
16																										

■ SuperProtocols ：

1. 『SuperProtocols』の選択により、下図が現れる。

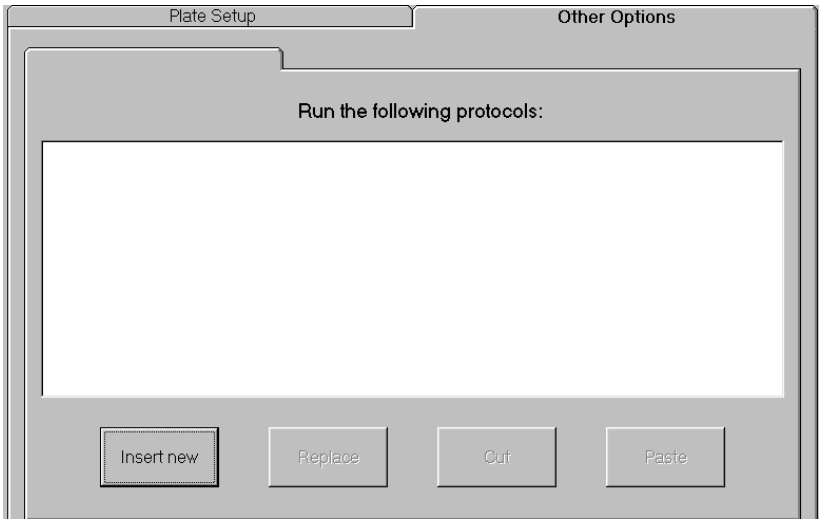


2. 『ColumnFormat』または『StandardFormat』のいずれかを選択する。

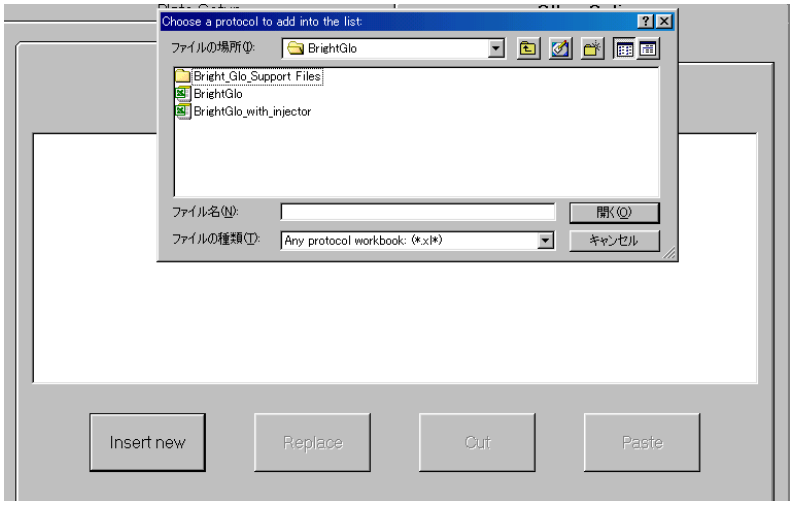
備考 ：

1. 『ColumnFormat』または『StandardFormat』の表示方法については 7 ページをご参照ください。

3. 『Options』を選択する。



4. 『Insert New』を選択する。



5. 目的のファイルを選択する。
6. 必要なメソッドをステップ 4～5 を繰り返すことにより、取り込む。

7. Save Protocol as で適当なドライブもしくはフォルダに保存する。
8. 次回からは『Open Saved Protocol』より呼び出すことができる。

SuperProtocols の使用例 ：

例えば、インジェクターを利用した CellTiter-Glo Reagent の利用が可能です。

Dual-Luciferase のプロトコールのように、1 ウエルごとに試薬の分注と測定を繰り返すのではなく、次のように全ウエルへの試薬の分注後に、全ウエルの測定を行います。

① CellTiter-Glo Reagent を指定したすべてのウエルへインジェクションする。

② インキュベーションのために 600 秒待機する

③ インキュベーション後、試薬を加えたすべてのウエルの発光値を測定する。

SuperProtocol の作成方法

1. 初期画面から『Advanced Protocols』を選択する。
2. 『AutomaticInjectorOptions』を開き、『Inject』を開く。
3. 『Options』を選択し、画面左下の『Save Protocol as…』よりデスクトップに『CTGinject』のファイル名で保存する。
4. GloMax ソフトウエアより『File』から『Promega』を選択する('CTGinject.xlt への変更を保存しますか' と確認されるので、『いいえ』を選択する)。
5. 『CellTiterGlo』を選択する。
6. 『Options』を選択し、『Delay before starting first run, sec』に"600"を入力する。
7. 画面左下の『Save Protocol as…』よりデスクトップに『CTGmeasure』のファイル名で保存する。
8. GloMax ソフトウエアより『File』から『Advanced』を選択する('CTGinject.xlt への変更を保存しますか' と確認されるので、『いいえ』を選択する)。
9. 『SuperProtocosl』→『ColumnFormat』を選択する(フォーマットの選択は 7 ページを参照)。
10. 『Options』を選択し、『Other Options』のタグを選択する。
11. 『Insert new』を選択し、デスクトップに保存した"CTGinject"を開く。
12. 再度、『Insert new』を選択し、デスクトップに保存した"CTGmeasure"を開く。
13. 『Plate setup』のタグを選択し、『Save Protocol as…』よりデスクトップに『CTGwithInjection』のファイル名で保存する。

SuperProtocols の使用方法

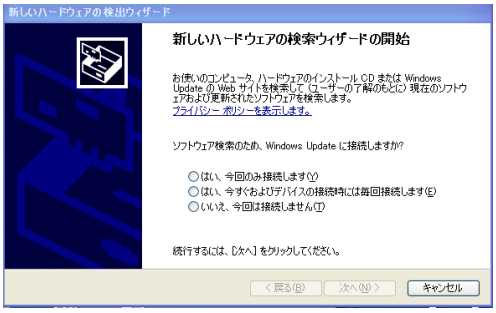
1. 初期画面から『Open Saved Protocol』を選択し、『CTGwithInjection』を開く。
2. 『Options』を選択し、測定するウエルを選択する。
3. 『Apply Changes』にて測定画面に戻る。
4. インジェクター①に CellTiter-Glo Reagent を Prime する。
5. プレートをトレイにセットする。
6. 『Start』を選択し、測定を開始する。

USB-RS232C 変換用ケーブル【TRIPP・LITE Adapter (型式 U209-000-R)】の接続

TRIPP・LITE Adapter
(型式 U209-000-R)

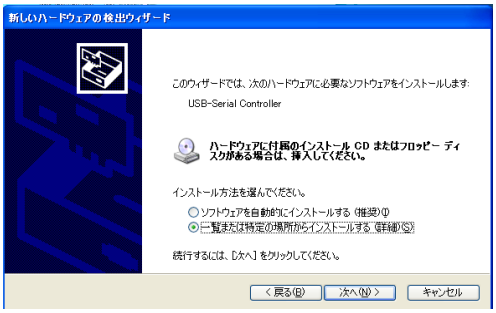
Windows XP に接続する

11. PC の任意の USB ポートに TRIPP・LITE USB to Serial Adapter の USB-A を挿入すると、以下のウィザードが立ち上がる。ドライバ CD を CD ドライブに入れる。
    “はい、今すぐおよびデバイスの接続時には毎回接続します(E)”を選択して、『次へ』をクリックして以下に進む。

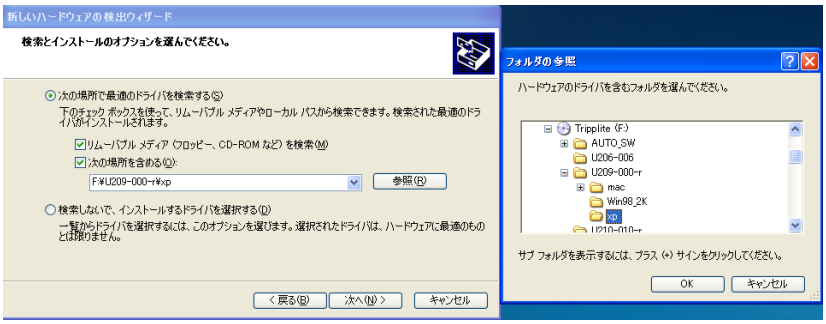


12. “ソフトウエアを自動的にインストールする（推奨）“を選択して、『次へ』をクリックして以下に進む。

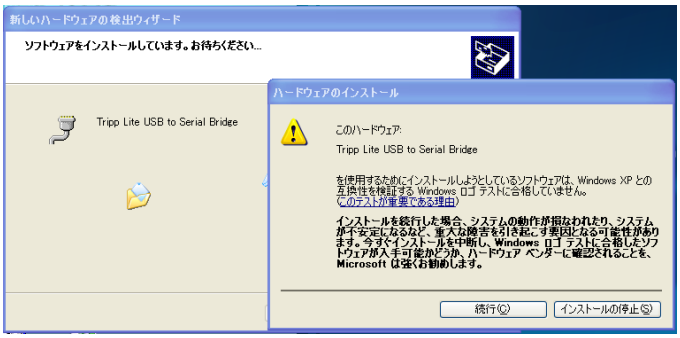
    “ソフトウエアが見つかりません”となった場合には、”一覧または特定の場所からインストールする(詳細)(S)” を選択して、『次へ』をクリックして以下に進む。



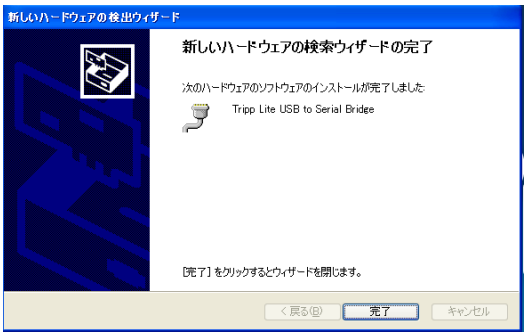
3. “次の場所で最適のドライバを検索する(S)”を選択し、” 次の場所を含める(D)”のチェックボックスをクリックする。
”参照”を選択し、CD もしくは DVD ドライブを選択する(ドライブは”Tripplite”と表示されています)。
さらに、U209-000-r のフォルダを開き、xp のフォルダを選択して、”OK”をクリックする。



4. TRIPP・LITE USB to Serial Adapter は、「Designed for Windows」のロゴマークを取得していないので、以下の確認画面が現れます。”続行”をクリックしてインストールを開始する。

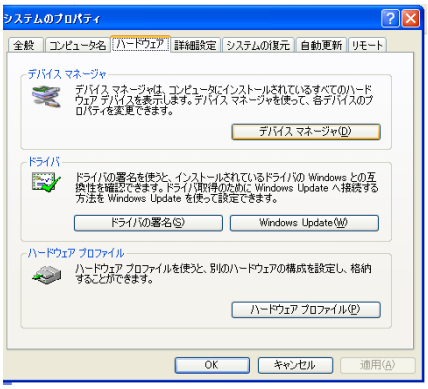


5. “完了”を選択し、インストールを終了する。

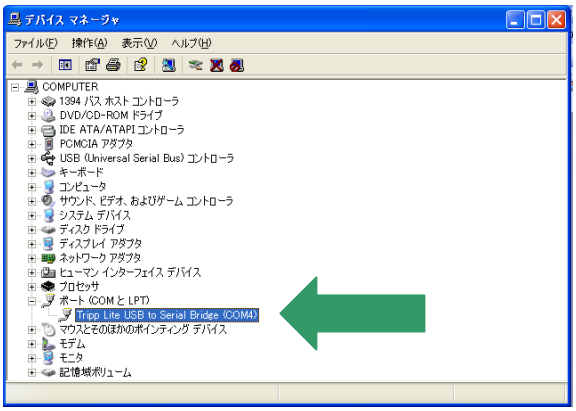


6. “スタート”から“マイコンピューター”で右クリックを行い、”プロパティ”を開く。

7. “ハードウェア”のタブを選択し、”デバイスマネージャ”をクリックする。

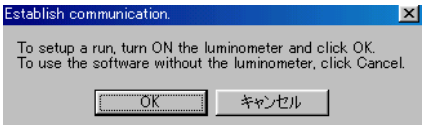


8. ポート(COM と LPT)の項において、Tripp Lite USB Serial Bridge が表示されていることを確認する。さらに、その後ろに設定されたポート番号(例、COM4)を書き留める。

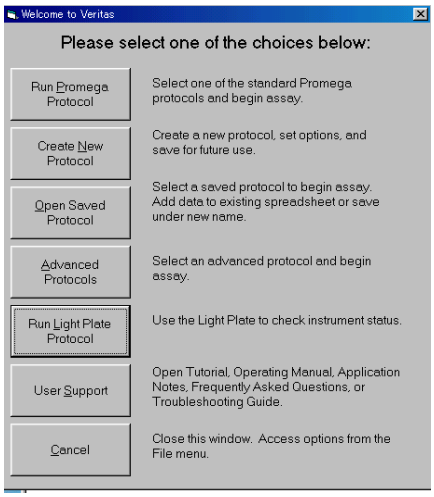


9. GloMax® 96 ソフトウエアを起動する。GloMax® 96 に接続されていないので、以下のエラーが表示されます。”OK”をクリックして続行する。

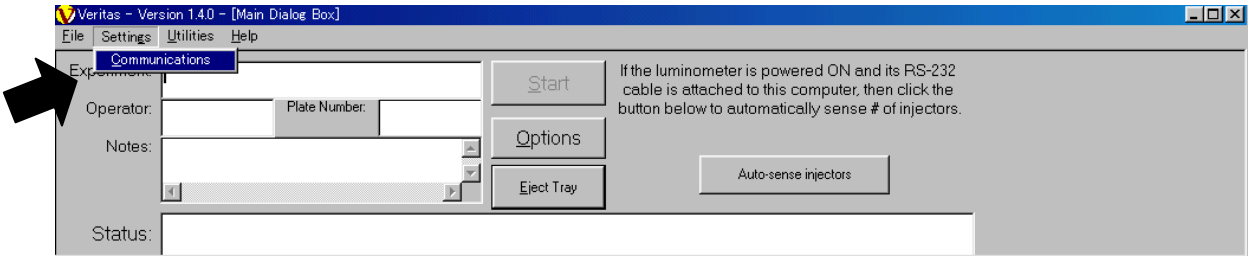
10. GloMax™ 96 ルミノメーターを使わないので“キャンセル” をクリックする。



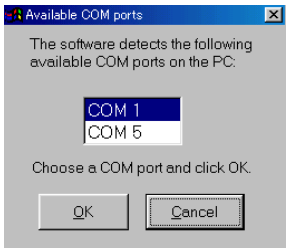
11. 初期画面が立ち上がるので、”Cancel”をクリックする。



12. GloMax® 96 ソフトウェアの”Setting”→”Communications”を選択する。



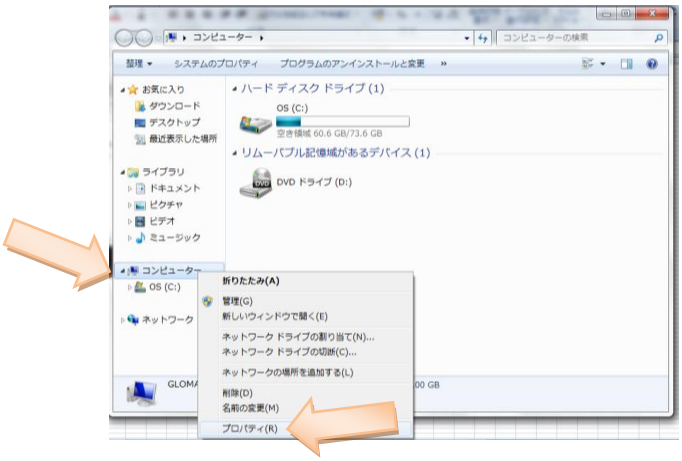
13. ステップ 8 で確認した COM ポートを選択し、”OK”をクリックする。



Windows 7 に接続する

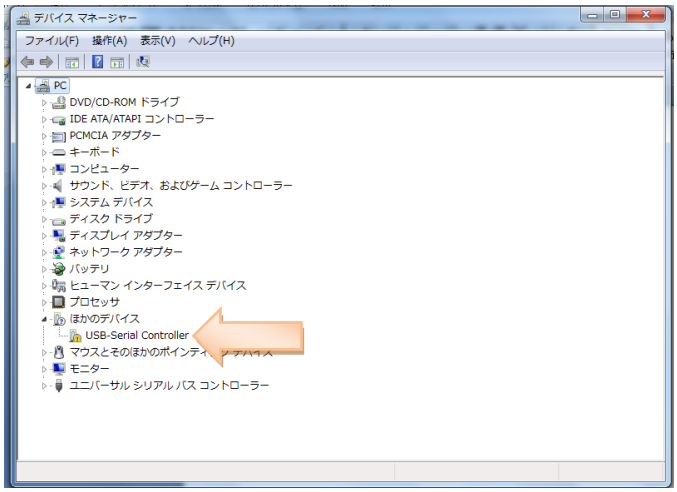
1. PC の任意の USB ポートに TRIPP・LITE USB to Serial Adapter を挿入する。

2. “スタート”から“コンピューター”を開き、”コンピューター”で右クリックを行い、”プロパティ”を開く。

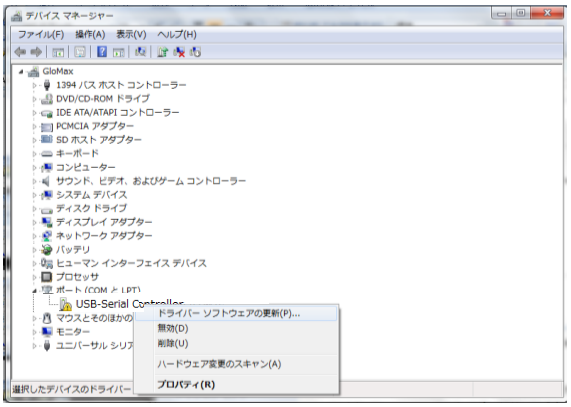


3. ”デバイスマネージャ”をクリックする。

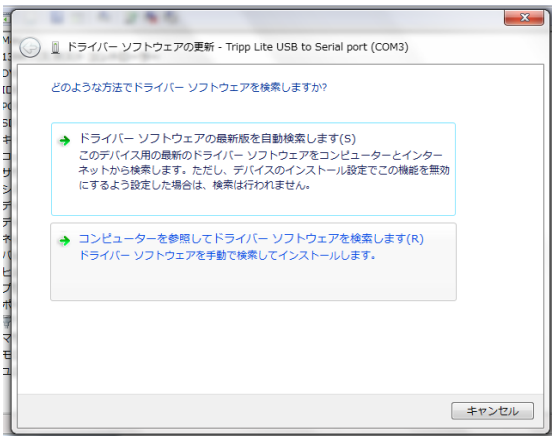
4. “ほかのデバイス”⇒“USB-Serial Controller”の項に、 の表示を確認する。



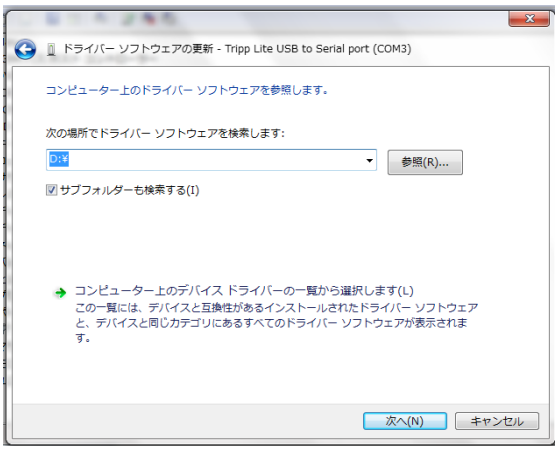
5. “ USB-Serial Controller”を右クリックして、”ドライバーソフトウェアの更新(P)”を選択する。



6. “コンピューターを参照してドライバーソフトウェアを検索します(R)”を選択する。

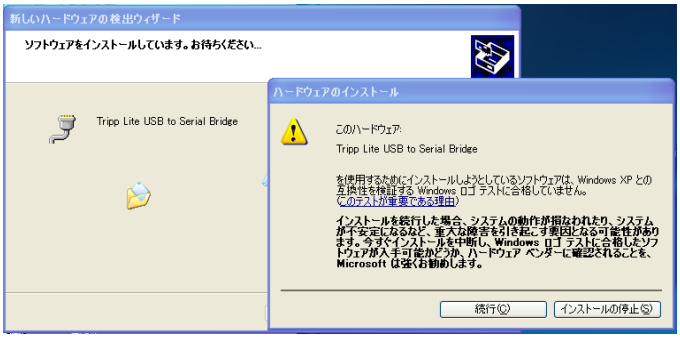


7. “次の場所でドライバーソフトウェアを検索します”の項で、”参照(R)”から CD ドライブを選択し、”サブフォルダ”も検索する(I)”にチェックを入れる。次へ(N)をクリックする。

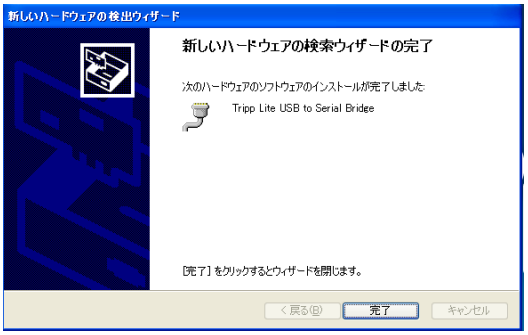


“ファイルが見つかりません”と表示された場合は、”参照(R)”から CD-ROM を選択し、”U209-000-r”フォルダ”内の Windows 7 もしくは Windows Vista のフォルダを指定してください。

8. TRIPP・LITE USB to Serial Adapter は、「Designed for Windows」のロゴマークを取得していないので、以下の確認画面が現れます。”続行”をクリックしてインストールを開始する。

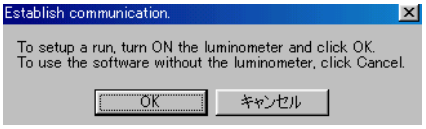


9. “完了”を選択し、インストールを終了する。

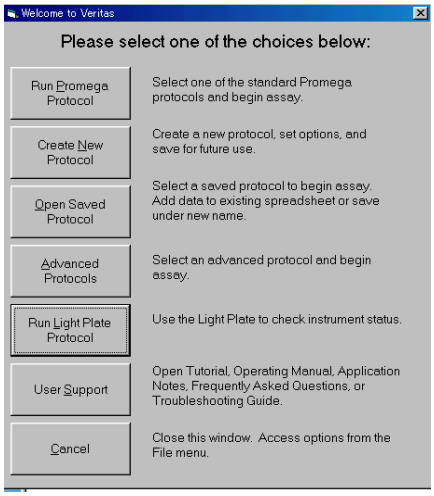


10. GloMax® 96 ソフトウエアを起動する。GloMax® 96 に接続されていないので、以下のエラーが表示されます。”OK”をクリックして続行する。

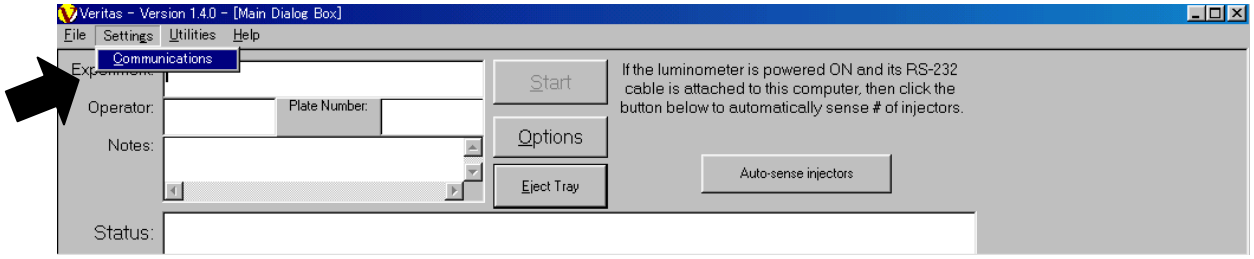
11. GloMax® 96 ルミノメーターを使わないので“キャンセル” をクリックする。



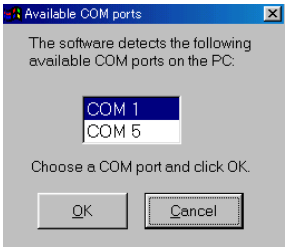
12. 初期画面が立ち上がるので、”Cancel”をクリックする。



13. GloMax® 96 ソフトウェアの”Setting”→”Communications”を選択する。



14. ステップ 8 で確認した COM ポートを選択し、”OK”をクリックする。



お問い合わせ先

ご不明な点やご質問はこちらまでご連絡ください。

プロメガ株式会社 テクニカルサービス部
電話 03-3669-7980 FAX. 03-5614-6079
e-mail ： prometec@jp.promega.com
〒103-0011
東京都中央区日本橋大伝馬町 14-15 マツモトビル 6F