

# BluePippin プログラム設定方法について

2013.11.25 改訂  
Rev1.2  
Software v5.3  
日本ジェネティクス(株)

## <BluePippinにおけるプログラム設定>

BluePippinでは、ゲルカセットの種類、使用するマーカーの種類、目標とするDNAのサイズや分布範囲などに合わせて、プログラムの設定条件を選択することが可能です。

ここでは、BluePippinのプログラム設定の基本的な操作の流れについて、下記の(A)(B)を事例として、それぞれご説明いたします。

### (A) 0.75 % ダイフリー ゲルカセット Externalマーカー-S1使用

\* Externalマーカーでは、レーンのうちの1つをマーカーレーンとして使用します。

### (B) 1.5 % ダイフリー ゲルカセット Internalマーカー-R1使用

\* Internalマーカーでは、各サンプルに直接Internalマーカーを混合します。  
(個別のマーカーレーンは不要になります。)

各設定項目の詳細については、オリジナルの英文取扱説明書もあわせてご確認ください。

## (1) Protocol Editor タブを開きます。 \* ここではProtocolは“プログラム”で用語統一いたします。

The screenshot shows the 'Protocol Editor' window with the following labeled components:

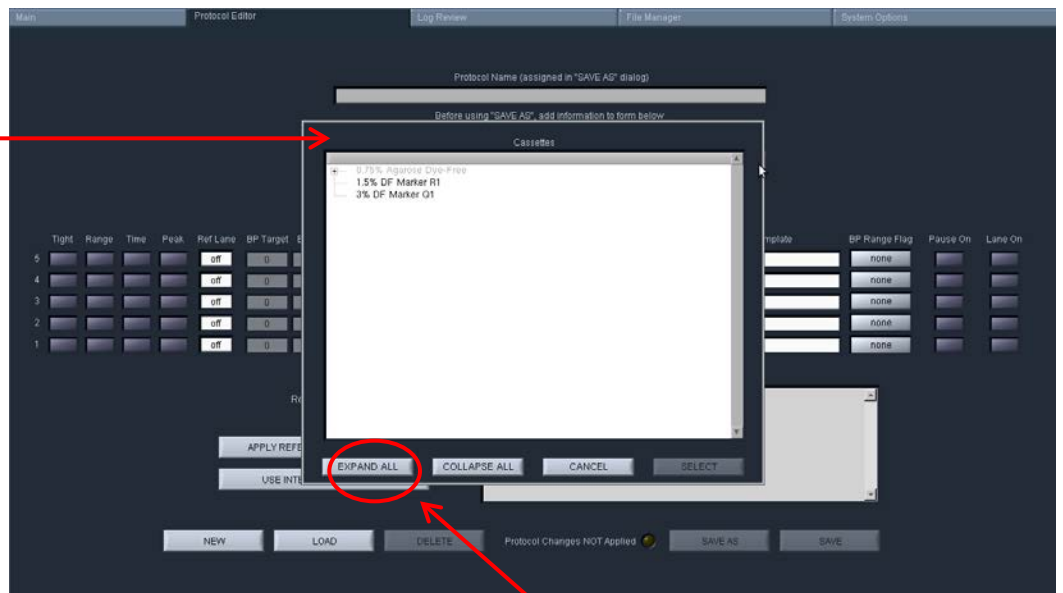
- Protocol Editorタブ**: Points to the 'Protocol Editor' tab at the top of the window.
- プログラム名表示欄**: Points to the 'Protocol Name (assigned in "SAVE AS" dialog)' field.
- カセットタイプの選択欄**: Points to the 'Cassette' dropdown menu.
- ランタイムの設定欄**: Points to the 'Run Time, Min' and 'End Run when Elution is Completed' fields.
- 各レーンのパラメーター設定表示欄**: Points to the table with columns: Tight, Range, Time, Peak, Ref Lane, BP Target, BP Start, BP End, BP Pause, T Start, T End, T Pause, BP Thresh, Sample ID Template, BP Range Flag, Pause On, Lane On.
- 警告表示欄**: Points to the 'Errors / Warnings' box showing the message: 'error: cassettes have not defined - error: no lanes are designated for elution'.
- マーカーの設定欄**: Points to the 'Reference Lane' section with buttons 'APPLY REFERENCE TO ALL LANES' and 'USE INTERNAL STANDARDS'.
- NEW**: Points to the 'NEW' button, described as 'プログラムを新規作成する場合'.
- LOAD**: Points to the 'LOAD' button, described as '保存したプログラムを呼び出して編集する場合'.
- DELETE**: Points to the 'DELETE' button, described as '保存したプログラムを削除する場合'.
- SAVE AS**: Points to the 'SAVE AS' button, described as '新しくプログラム名をつけて保存する場合'.
- SAVE**: Points to the 'SAVE' button, described as 'プログラムを上書き保存する場合'.

(2) カセットのフォルダボタンを押して選択ウィンドウを表示します。



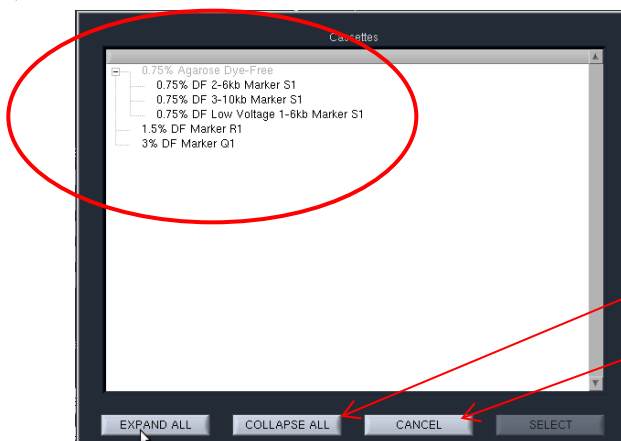
(3) カセット選択ウィンドウのEXPAND ALLボタンを押します。

カセット選択  
ウィンドウ



EXPAND ALLボタン

(4) 選択できるカセットのサイズセレクション方法が全て表示されます。



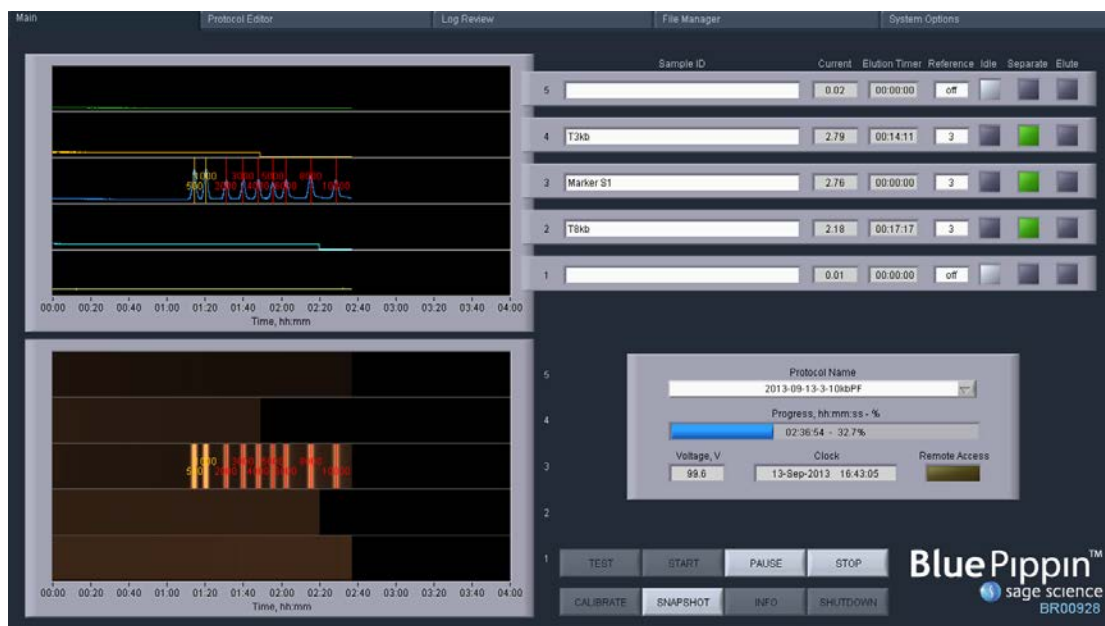
COLLAPSE ALLボタンを  
押すと、非表示に戻ります。

CANCELボタンを押すと、  
カセット選択ウィンドウが  
閉じます。

## 事例 (A) 0.75 % ダイフリー ゲルカセット

## ExternalマーカーS1使用

\* Externalマーカーでは、レーンのうちの1つをマーカーレーンとして使用します。 ⇒4~7ページ

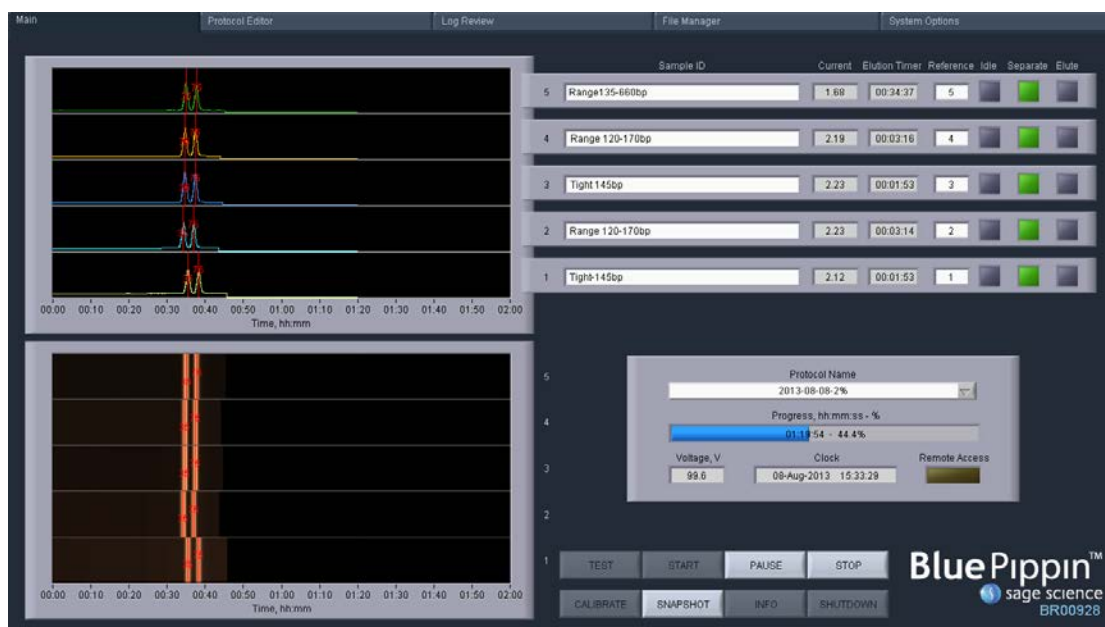


## 事例 (B) 1.5 % ダイフリー ゲルカセット

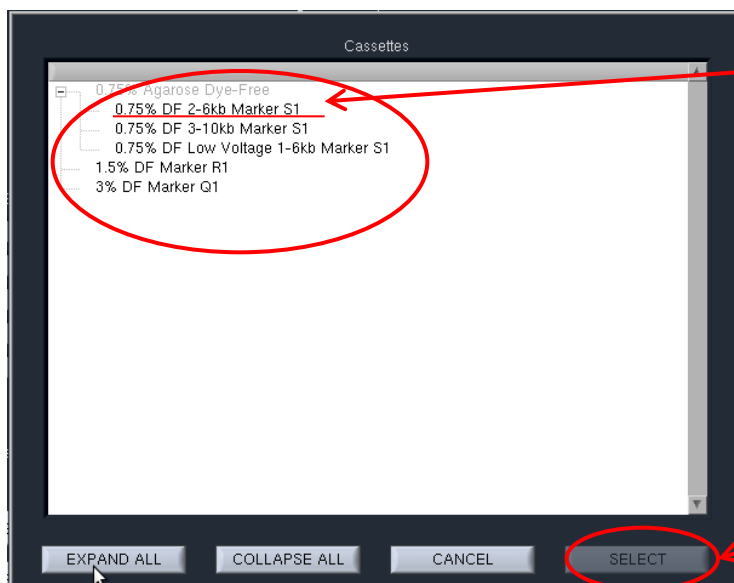
## InternalマーカーR1使用

\* Internalマーカーでは、各サンプルに直接Internalマーカーを混合します。  
(個別のマーカーレーンは不要になります。)

⇒8~11ページ



(5) サイズセレクション方法を選択し、SELECTボタンを押します。

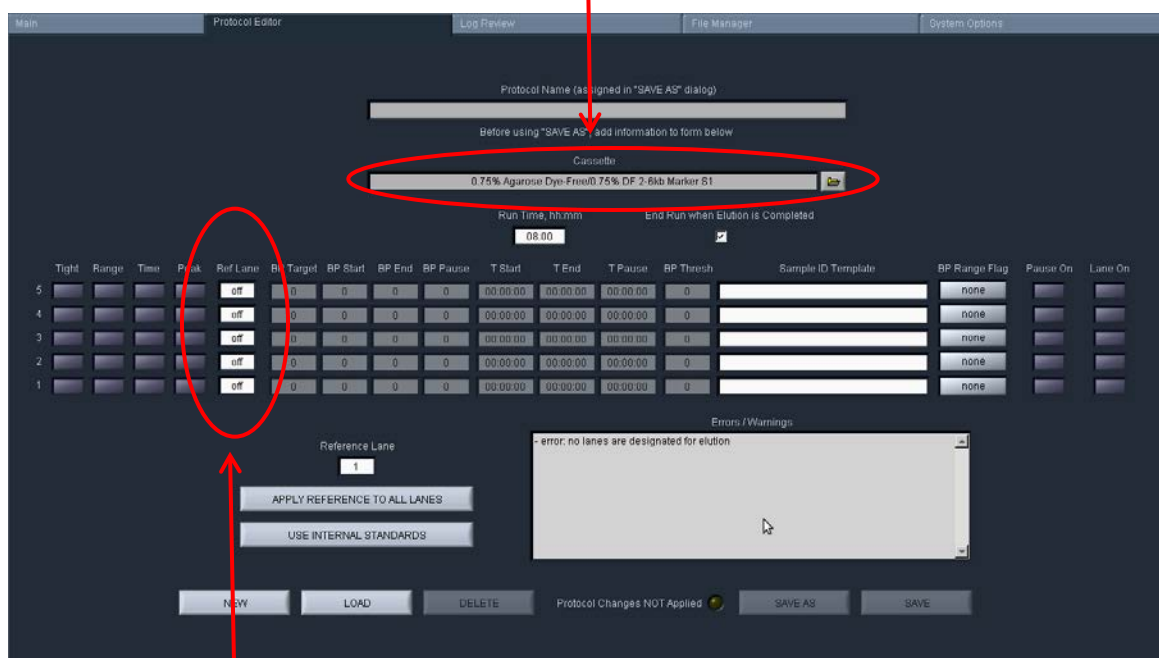


① サイズセレクションの方法をクリックして選択します。

0.75%ゲルカセットでは3種類の選択肢から選択できますが、今回は事例として“2-6kb”を選択します。

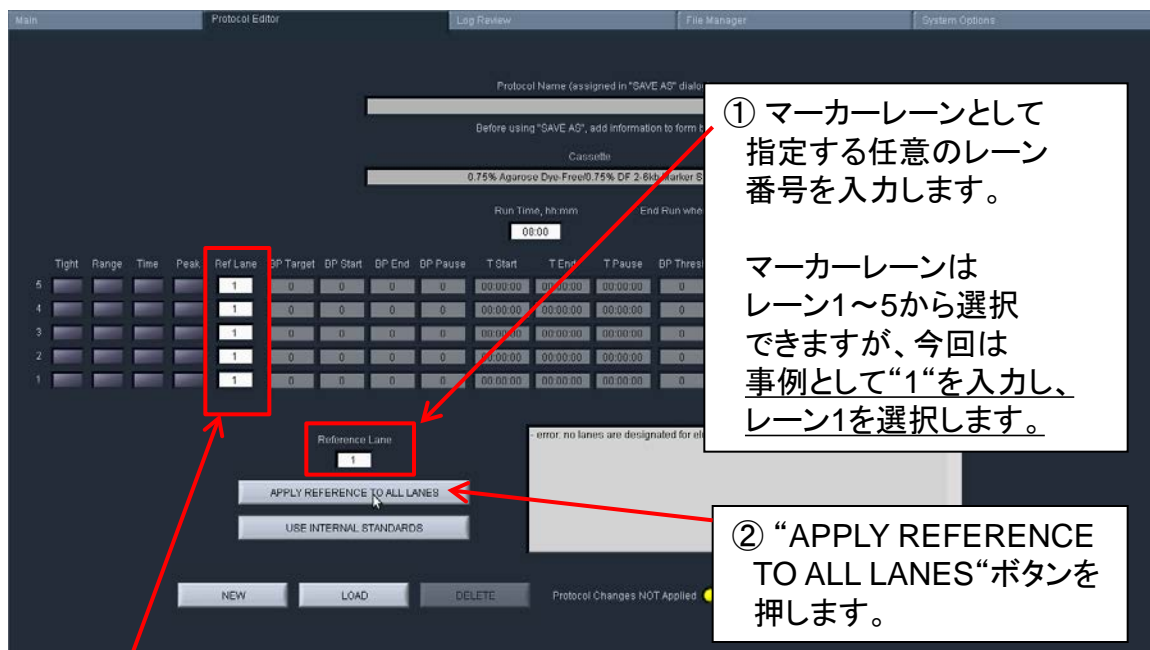
② SELECTボタンを押します。

(6) 選択したサイズセレクション方法が表示されます。



\* 未だマーカールーンが指定されていないため、Ref lane欄には全て“off”と表示されています。

## (7) 任意のマーカーレーンを指定します。



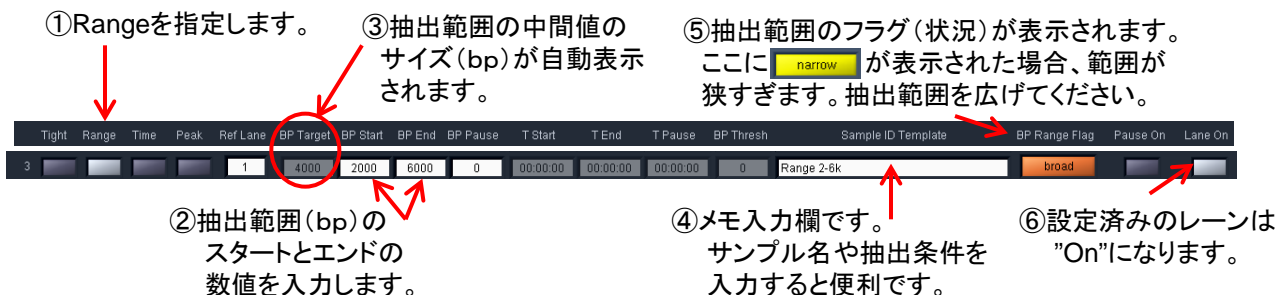
- ③ 指定したマーカーレーンの番号がRef Lane欄に表示されます。  
(これによりどのレーンをマーカーレーンとして参照するかが確認できます。)  
今回は事例として入力した“1”が表示されました。

## (8) サンプルをアプライする各レーンに抽出条件を設定します。

### Tightモードの入力例 (Tight 4kbの場合)



### Rangeモードの入力例 (Range 2-6kbの場合)



## (9) 入力漏れやエラーがないか最終確認します。

① 使用しないレーンがある場合、クリックして"off"に設定します。

② ランの自動終了\*を時間指定する場合、ここに入力します。

③ 全ての抽出が終了した時点でランを自動終了する場合、ここにチェックを入れます。

④ 警告表示欄に何も表示されていないことを確認します。  
(エラーが表示されている場合\*\* プログラムが保存できません。)

⑤ 使用するマーカーレーンとサンプルレーンのみが"On"になっていることを確認します。

Tight	Range	Time	Peak	Ref Lane	BP Target	BP Start	BP End	BP Pause	T Start	T End	T Pause	BP Thresh	Sample ID Template	BP Range Flag	Pause On	Lane On
5				off	0	0	0	0	00:00:00	00:00:00	00:00:00	0		none		
4				off	0	0	0	0	00:00:00	00:00:00	00:00:00	0		none		
3				1	4000	2000	6000	0	00:00:00	00:00:00	00:00:00	0	Range 2-6k	broad		
2				1	4000	3084	4916	0	00:00:00	00:00:00	00:00:00	0	Tight 4k	light		
1				1	0	0	0	0	00:00:00	00:00:00	00:00:00	0	Marker S1	none		

Run Time, hh:mm: 08:00

End Run when Elution is Completed: ☒

Reference Lane: 1

APPLY REFERENCE TO ALL LANES

USE INTERNAL STANDARDS

Errors / Warnings

\* : 全ての抽出が終了する前にランが自動終了しないよう設定時間に十分ご注意ください。

\*\* : エラーの表示内容を確認し、設定を修正ください。

## (10) プログラムを保存します。

② プログラム名を入力します。

③ OKボタンを押します。

① 新しくプログラム名を付けて保存するにはSAVE ASボタンを押します。

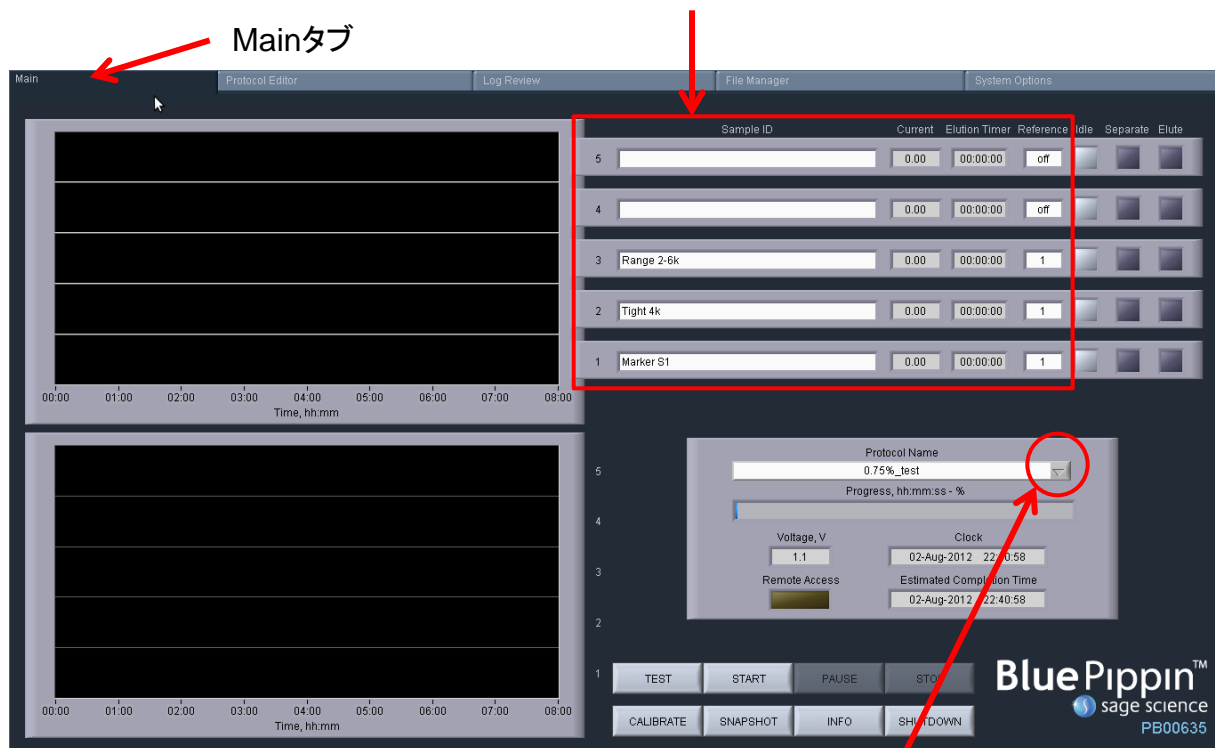
Protocol Name (assigned in "SAVE AS" dialog):

Protocol Name: 0.75%\_test

Custom Pattern: ppprot

SAVE AS

(11) Mainタブを表示すると設定保存したプログラムが指定されています。



ここをクリックし、別の保存プログラムを呼び出すことも可能です。

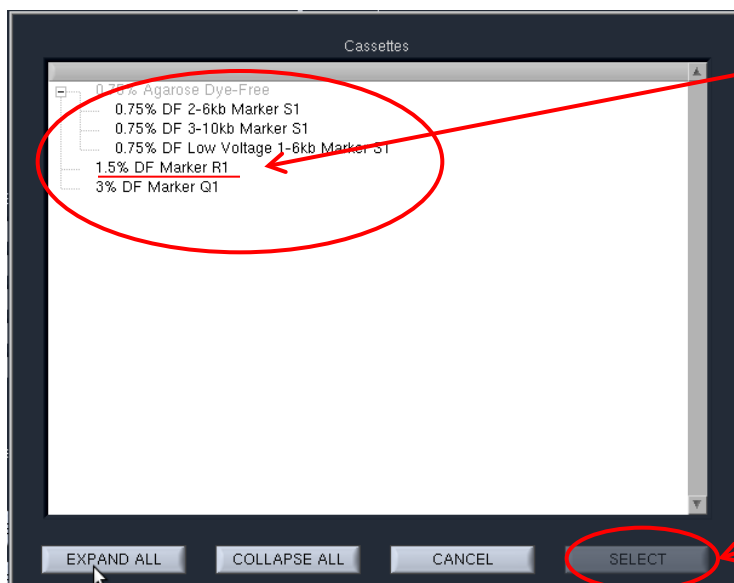
次ページからは事例(B)の説明です。



## 2ページからの続き

事例(B) 1.5 % ダイフリー ゲルカセット Internalマーカ－R1 を使用する場合

(5) サイズセクション方法を選択し、SELECTボタンを押します。

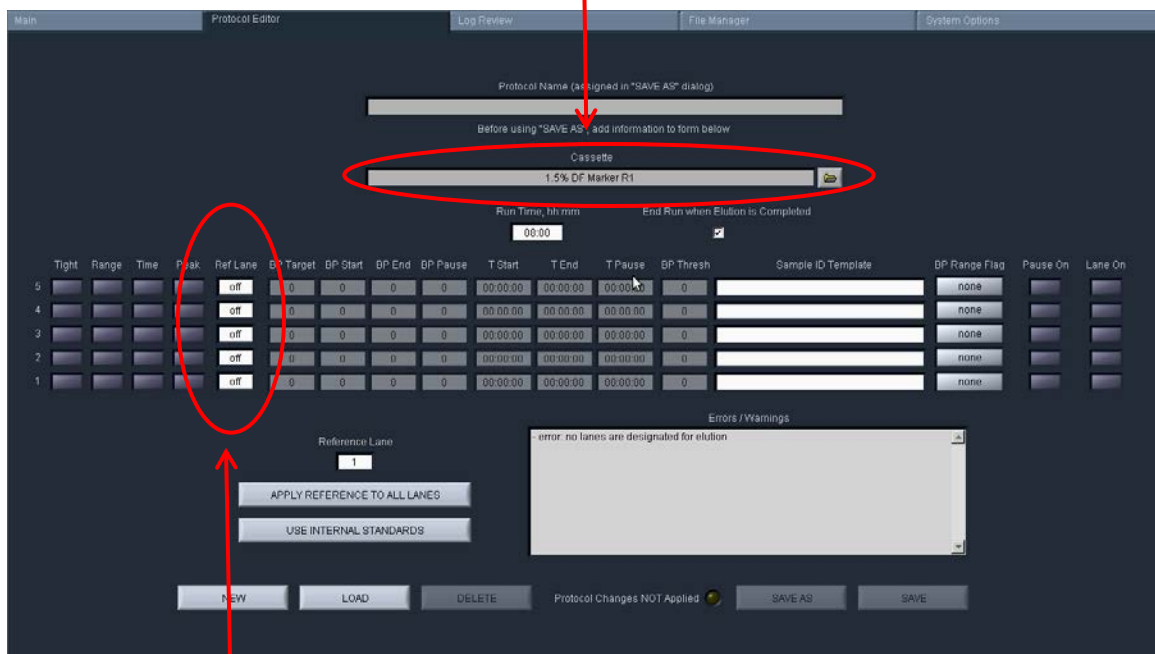


① サイズセクションの方法をクリックして選択します。

今回は事例として  
“1.5% DF Marker R1”  
を選択します。

② SELECTボタンを押します。

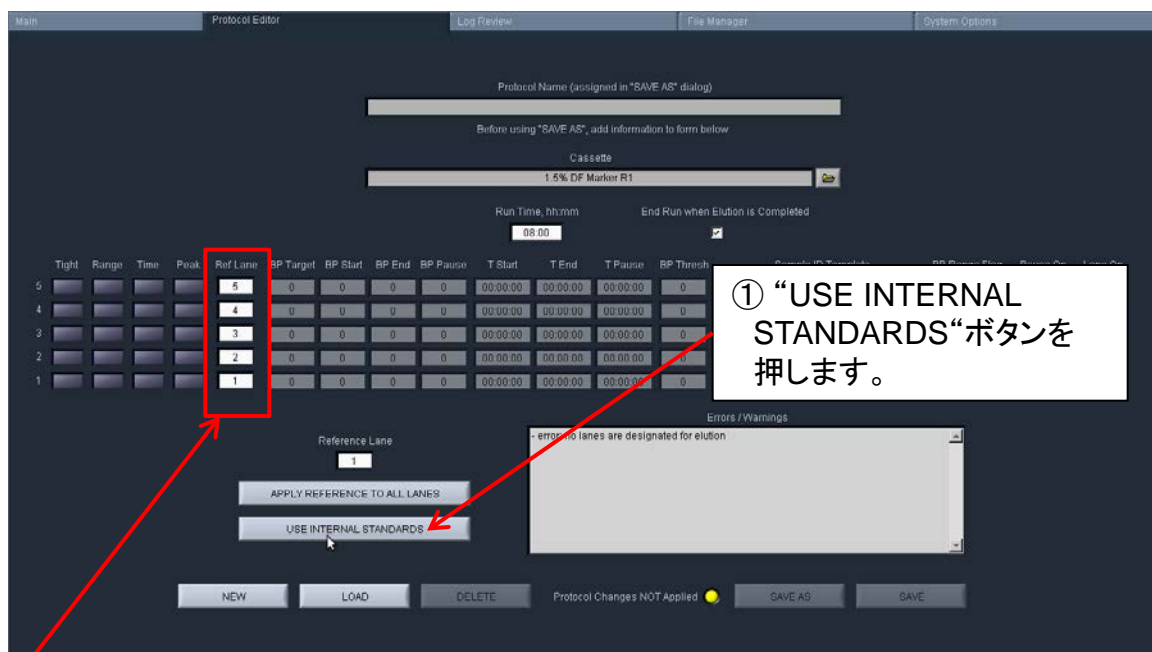
(6) 選択したサイズセクション方法が表示されます。



\* 未だマーカ－レーンが指定されていないため、  
Ref lane欄には全て“off”と表示されています。



## (7) Internalマーカーを設定します。



- ② 指定したマーカーレーンの番号がRef Lane欄に表示されます。  
(これによりどのレーンをマーカーレーンとして参照するかが確認できます。)  
今回は事例としてInternalマーカーを設定したため、各レーンが指定されました。

## (8) サンプルをアプライする各レーンに抽出条件を設定します。

### Tightモードの入力例 (Tight 500bpの場合)

①Tightを指定します。 ②ターゲットサイズ(bp)の数値を入力します。 ③抽出スタートとエンドのサイズ(bp)が自動表示されます。 ④メモ入力欄です。サンプル名や抽出条件を入力すると便利です。 ⑤抽出範囲のフラグ(状況)が表示されます。(Tightモードでは“tight”と表示されます。) ⑥設定済みのレーンは“On”になります。

Tight	Range	Time	Peak	Ref Lane	BP Target	BP Start	BP End	BP Pause	T Start	T End	T Pause	BP Thresh	Sample ID Template	BP Range Flag	Pause On	Lane On
				1	500	449	551	0	00:00:00	00:00:00	00:00:00	0	Tight 500bp	light		

### Rangeモードの入力例 (Range 350-650bpの場合)

①Rangeを指定します。 ②抽出範囲(bp)のスタートとエンドの数値を入力します。 ③抽出範囲の中間値のサイズ(bp)が自動表示されます。 ④メモ入力欄です。サンプル名や抽出条件を入力すると便利です。 ⑤抽出範囲のフラグ(状況)が表示されます。ここに“narrow”が表示された場合、範囲が狭すぎます。抽出範囲を広げてください。 ⑥設定済みのレーンは“On”になります。

Tight	Range	Time	Peak	Ref Lane	BP Target	BP Start	BP End	BP Pause	T Start	T End	T Pause	BP Thresh	Sample ID Template	BP Range Flag	Pause On	Lane On
				2	500	350	650	0	00:00:00	00:00:00	00:00:00	0	Range 350 - 650bp	narrow		

## (9) 入力漏れやエラーがないか最終確認します。



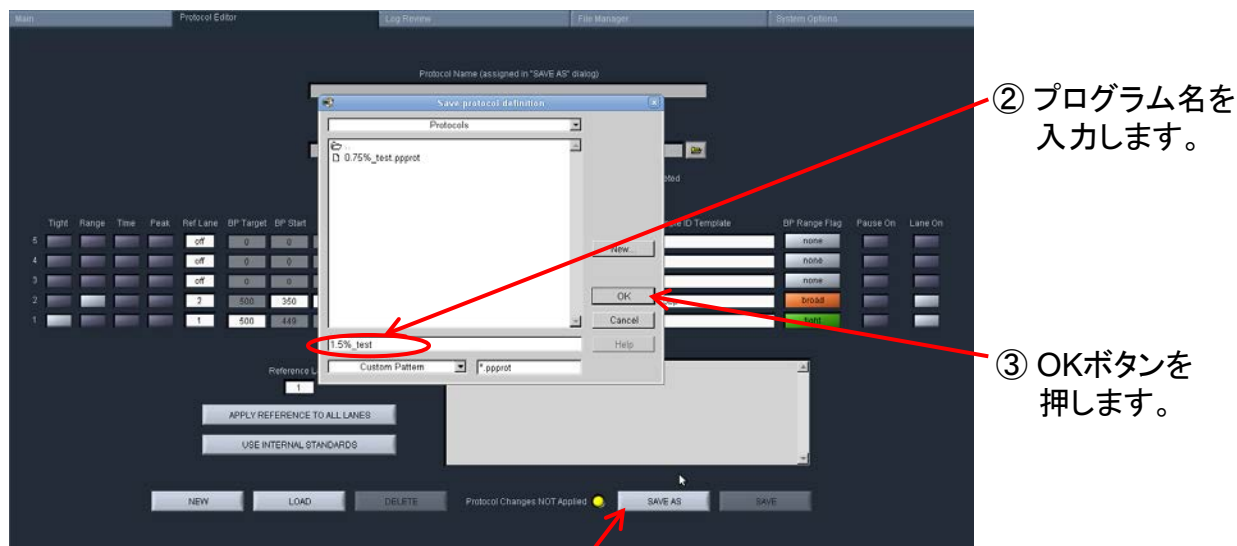
④ 警告表示欄に何も表示されていないことを確認します。  
(エラーが表示されている場合\*\* プログラムが保存できません。)

⑤ 使用するマーカーレーンとサンプルレーンのみが"On"になっていることを確認します。

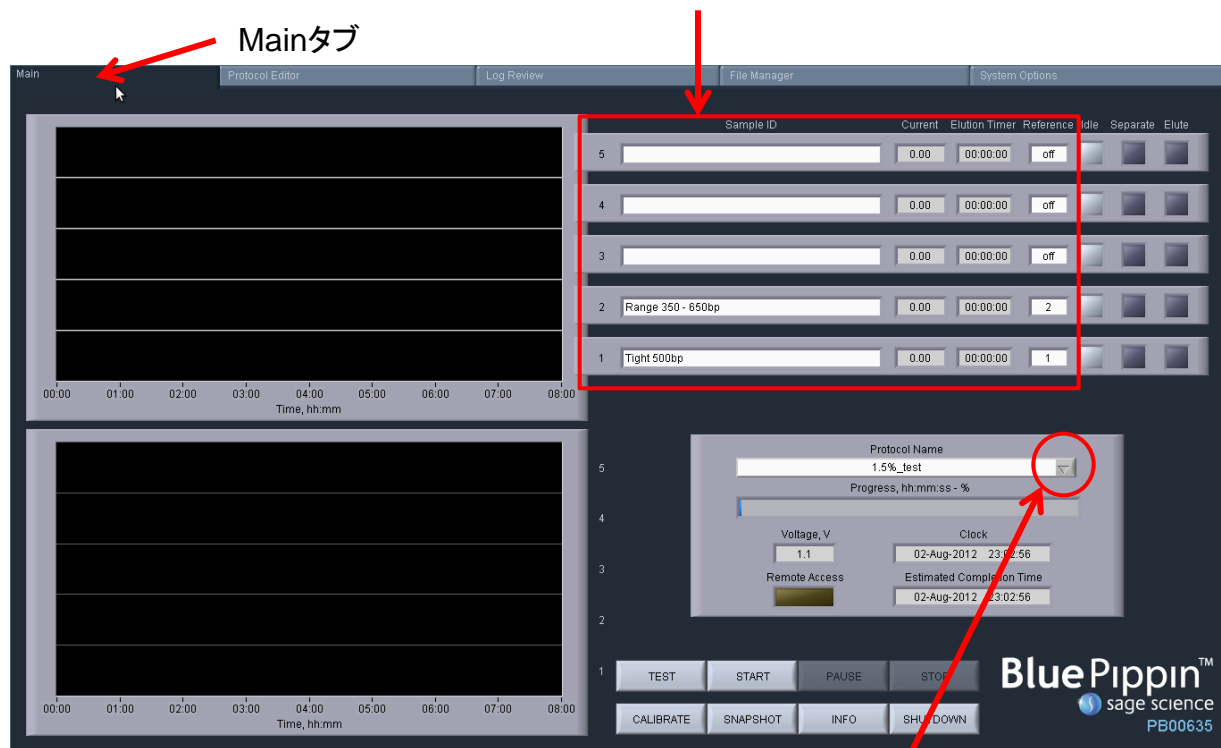
\* : 全ての抽出が終了する前にランが自動終了しないよう設定時間に十分ご注意ください。

\*\* : エラーの表示内容を確認し、設定を修正ください。

## (10) プログラムを保存します。



(11) Mainタブを表示すると設定保存したプログラムが指定されています。



ここをクリックし、別の保存プログラムを呼び出すことも可能です。

以上でプログラム設定は終了となります。

## BluePippin 推奨プログラム

\* 注: 2015年10月時点での推奨条件となります。  
必要に応じ最新情報はお問い合わせください。

0.75% Agarose Dye-Free	
0.75% Band Capture 2-5kb Marker D1	
0.75% Band Capture 5-10kb Marker D1	
0.75% DF 2-6kb Marker S1	Mate-Pair用 2-6kb 抽出用
0.75% DF 3-10kb Marker S1	
0.75% DF 50kb Marker W1- Broad	
0.75% DF 50kb Marker W1- Tight	
0.75% DF 50kb Marker Z1- Broad	
0.75% DF 50kb Marker Z1- Tight	
0.75% DF Low Voltage 1-6kb Marker S1	
0.75%DF 10-18kb Marker U1	Mate-Pair用 10-18kb 抽出用
0.75%DF 18-26kb Marker T1	
0.75%DF 3-10kb Marker S1- Improved Recovery	Mate-Pair用 3-10kb 抽出用
0.75%DF 40kb Marker W1- Broad	
0.75%DF 40kb Marker W1- Tight	
0.75%DF Marker S1 High-Pass 6-10kb vs3	
0.75%DF Marker S1 high-pass 15-20kb	
0.75%DF Marker S1 high-pass 4-10kb vs2	PacBio専用 * 要確認
0.75%DF Marker U1 high-pass 30-40kb vs3	
0.75%DF Marker U1 high-pass 30-40kb	
1.5% Band Capture Marker A1 250-1500bp	
1.5%DF Marker R2 250-1500bp high-pass	
1.5%DF Marker R2	Illumina Pair End 等標準ライブラリー用 250-1500bp抽出
2% DF Low Volume Marker X1	
2% DF Marker M1	
2%DF Marker F1	Ion Torrent / Ion PGMライブラリー用
2%DF Marker V1	100-600bp抽出
3%DF Marker Q2	* 要確認
5% SDS Protein Marker 100 18-80kDa	
	Illumina Small RNA ライブラリー用 約140bpピーク抽出