

LabChip GX Touch 培训手册



目录

- 一、 LabChip GX Touch 系统介绍
- 二、 实验所需仪器设备
- 三、 实验所需试剂耗材及样品要求
- 四、 培训内容及日程安排
- 五、 实验操作流程
- 六、 芯片试剂基本注意事项

一、 LabChip GX Touch 系统介绍

LabChip GX Touch 是美国 PerkinElmer 公司于 2014 年新推出的一款小型化触屏式生物分析仪。“芯片上的实验室” (Lab-on-Chip) 被认为是生命科学分析设备的未来发展方向。自 1990 年这一概念被提出以来, 该技术已有了长足的发展。“Lab-on-Chip” 的核心, 是通过集成化、微型化的设备, 实现分析速度的提高、样品与试剂消耗的极大降低、以及由于整个实验流程的标准化、自动化而带来的更好的数据准确性与重现性, 从而使得更高通量、更低成本的研究成为可能。

一维琼脂糖及 SDS-PAGE 电泳无疑是目前生命科学中使用最广泛, 最不可或缺的技术之一, 但同时也是数据最不标准、规范的实验之一。有鉴于此, “Lab-on-Chip” 领域的佼佼者, 拥有数百项相关专利的 PerkinElmer 公司, 陆续推出了几款基于 Lab-on-Chip 技术的分析设备。LabChip GX Touch 具有高质量的数字化数据, 强大的分析功能, 数十数百倍于传统技术的速度, 齐全的配套试剂耗材, 可提供 4Q 认证, 并且操作简便, 性能安全可靠, 这些无疑将使传统的手工一维电泳成为历史。

主要特点

- 适用于 DNA 与 RNA 定性及定量分析; 一个平台上可实现对多种样品、多种检测指标、不同灵敏度及分辨率要求的不同检测分析, 并有进一步扩展的空间
- 高质量的数字化实验结果: 除实时提供样品的分子量大小、浓度、纯度、糖基化程度等多种指标外, 还提供基因组 DNA 及 RNA 样品的完整性指数; 准确性、重现性、灵敏度、分辨率、定量线性范围均优于传统一维电泳
- 快速: 可达 28s/样品, 包括进样、分离、检测、分析及管路系统清洗全过程
- 操作简便, 自动化程度高, 可实时给出实验结果
- 通量灵活: 1-384 样品/工作日
- 低消耗: 低至纳升级的样品消耗, 且一张芯片可重复使用
- 软件功能强大:
 - 提供峰图、胶图及数据表格
 - 可对不同批次乃至不同实验室间的数据进行平行比对
 - 具备过滤功能, 用于快速筛选或比对具备特定条带特征的样品
 - RNA 样品更可提供综合质量评分及多项具体评估参数
- 拓展性强: 可与实验室液体处理工作站整合以达成全自动无缝衔接的核酸或蛋白样品制备检测流程

LabChip GX Touch 的应用领域:

1. DNA 分析实验

检测 DNA 样品的片段大小及浓度

- PCR, RT-PCR 样品检测
- 病原体鉴定分型
- 种质资源鉴定
- 基因分型

2. RNA 分析实验

样品 QC——浓度及完整性，从而保证下游芯片、QPCR 等基因表达分析实验的准确性与成功率

二、实验所需仪器设备

1. LabChip GX Touch 主机

DNA 芯片试剂，或 RNA 芯片试剂

2. 离心机

3. 微孔板离心机（最好有，可将样品板离心以去除一切气泡）

4. 涡旋震荡器（Vortex）

5. 移液枪（20 μ l，100 μ l，200 μ l，1ml 各一）及相应尺寸 tip

6. 真空泵（带有瓶子、盖子及相应塑胶管，能够直接连上 tips 真空吸取液体的）

7. 做 RNA 芯片时，需 PCR 仪或金属浴

三、实验所需试剂耗材及样品要求

1. 芯片、试剂盒

DNA 芯片：

DNA 1K Chip (PN 760517) & Reagent Kit (PN CLS 760673)

DNA 5K Chip (PN 760435) & Reagent Kit (PN CLS 760675)

RNA 芯片：

RNA Chip (PN 760435) & Reagent Kit (PN CLS960010)

2. 1.5ml EP 管若干

3. 经 0.22 μ m 滤膜过滤过的 MilliQ 水（18.2 M Ω .cm）

4. 70%异丙醇溶液（去离子水稀释）

5. 96 孔或 384 孔全裙边 PCR 板（ABgene Thermo-fast skirted plate, PN AB-0800 或 BioRad Hard-Shell Low-Profile Thin-Wall 96-Well Skirted PCR Plates, HSP-9631）

6. 无粉乳胶手套

7. 微孔板粘性封口膜或者粘性铝箔纸

8. 小剪刀

9. 做 RNA 样品检测时，还需 DEPC treated water (nuclease free) and PCR cap strips used to cover the micro-plates

10. 符合要求的（具体见实验流程部分）样品，如无，可用配套的 Ladder 作为演示样品

备注：样品的要求

1) 对照：芯片用试剂盒中的 ladder (用时先稀释 10 倍)

2) DNA 1K 芯片样品：分离范围 25-1000bp，线性范围 0.1-50 ng/ μ L/片段（DNA 5K 芯片样品：分离范围 100-5000bp，线性范围 0.25-50 ng/ μ L/片段）；PCR 产物和核酸样本为宜；样品一定不要含有 Loading Buffer；样品中所含的 BSA 或去垢剂浓度请勿超过 0.05mg/mL 或者 0.01%；总盐浓度请勿超过 125 mM；如果含有的话，样品中的质粒浓度必须低于 20ng/ μ L

3) RNA 芯片样品: 分离范围 100-6000 nucleotides (suitable for total RNA), 线性范围 25-250 ng/μL (Std Sens), 5-50 ng/μL (High Sens)

以上物品请用户提前准备妥当, 我公司应用专家将使用以上物品进行应用培训。如用户缺少上述条件, 请尽快订购, 并请及时通知我们, 以便合理安排培训时间。

四、培训程序及时间安排

为保证培训效果, 请安排不超过四名工作人员参加培训, 并指定其中一人作为仪器操作负责人全程参与培训并进行实际操作。培训时间为 **1-2** 天, 培训内容如下:

1. LabChip GX Touch 系统原理、技术特点和应用讲解;
2. 仪器操作讲解;
3. 分析软件操作讲解;
4. 使用符合要求的用户样本或者用试剂包中的 ladder 作为示范样本演示仪器上样、分析全过程
5. 用户实际操作练习以掌握仪器操作及软件使用;
6. 常见问题讨论及系统维护介绍。

五、实验操作流程

HT DNA 1K Specifications

	HT DNA 1K
Sizing Range	25 bp - 1000 bp
Sizing Resolution ¹	± 15% from 25 - 100 bp
	± 10% from 100 - 150 bp, 700 - 1000 bp
	± 5% from 150 - 700 bp
Sizing Accuracy	± 10 %
Sizing Precision	5% CV
Linear Concentration Range	0.1 ng/μL - 50 ng/μL per fragment
Sensitivity	0.1 ng/μL
Maximum Total DNA	80 ng/μL, 50 ng/μL per fragment
Carry-Over	< 0.25%
Quantification Accuracy	± 30% or ± 1 ng/μL, whichever is greater
Quantification Precision	20% from 25 - 500 bp, 10% from 500 - 1000 bp
Maximum Salt Concentration	125 mM
Additives	BSA/ detergents should not exceed 0.05mg/mL/ 0.01% v/v)
Chip Lifetime ²	2000 samples per chip
Reagent Kit Lifetime	10 chip preps for 384 samples each, or 20 chip preps for 48 samples
Samples per Chip Prep	384 samples for 10 chip preps, 48 samples for 20 chip preps
Standard Assay: Specifications are defined for this Assay	HT DNA 1K Standard: For sizing of DNA fragments in 25 to 1000 base pair range. (Analysis time per sample - 68 seconds)
Extra Assays	HT DNA 1K High Resolution: For sizing of DNA fragments in 25 to 1000 base pair range. Greater resolution with longer analysis time per sample. (Analysis time per sample - 120 seconds)

HT DNA 5K Specifications

	HT DNA 5K
Sizing Range	100 bp - 5000 bp
Sizing Resolution ¹	± 10% from 150 - 500 bp
	± 15% from 100 - 150 bp, 500 - 1500 bp
	± 20% from 1500 - 5000 bp
Sizing Accuracy	± 10 %
Sizing Precision	5% CV
Linear Concentration Range	0.25 ng/μL - 50 ng/μL per fragment
Sensitivity	0.25 ng/μL
Maximum Total DNA	80 ng/μL total, 50 ng/μL per fragment
Carry-Over	< 0.5%
Quantification Accuracy	± 30% or ± 1 ng/μL, whichever is greater
Quantification Precision	20% CV
Maximum Salt Concentration	125 mM
Additives	BSA/ detergents should not exceed 0.05mg/mL/ 0.01% v/v)
Chip Lifetime ²	2000 samples per chip
Reagent Kit Lifetime	10 chip preps for 384 samples each, or 20 chip preps for 48 samples
Samples per Chip Prep	384 samples for 10 chip preps, 48 samples for 20 chip preps
Standard Assay: Specifications are defined for this Assay	HT DNA 5K Standard: For sizing of DNA fragments in 100 to 5000 base pair range. Fastest analysis time per sample compared with all available assays. (Analysis time per sample - 28 seconds)

¹Resolution is defined as half height or better separation of two peaks. Actual separation performance can depend on the sample and application. Peaks that are resolved less than half height can still be accurately identified by the system software.

²Expected chip lifetime is based on use under normal laboratory conditions and adherence to Caliper preparation protocols, sample guidelines and storage conditions. Individual results may vary.

DNA 样品要求

添加剂	Caliper 建议样品中所含的 BSA 或去垢剂浓度请勿超过 0.05 mg/mL 或者 0.01% (v/v)。浓度过高将造成芯片检测失败。此外，非水溶剂不适用于 LabChip 的 DNA 实验流程。
颗粒	所有的样品板在检测前必须离心。所有的试剂都必须经过 0.22μm 滤膜过滤。
盐浓度	总盐浓度切勿超过 125mM。
质粒	样品中的质粒浓度必须低于 20 ng/μL。如超过该浓度，将影响实验结果。

HT DNA Reagent Kit

- DNA 1K, Part Number CLS760673
- DNA 5K, Part Number CLS760675

The kit contains enough reagents for 20 Low-throughput (LT) or 10 High-throughput (HT) chip preparations. Up to 48 samples can be tested with a LT chip preparation. Up to 384 samples can be tested with a HT chip preparation.

Reagents	Label	Quantity
----------	-------	----------

DNA Dye Concentrate	Blue	1 vial, 0.09 mL
Chip Storage Buffer	White	9 vials, 1.8 mL each
DNA Gel Matrix	Red	5 vials, 1.1 mL each
10X DNA Ladder	Yellow	1 vial, 0.26 mL
DNA Marker	Green	1 vial, 1.2 mL

Consumable Items	Supplier Number	Quantity
Spin Filters	Costar, Cat. # 8160	10
Ladder Tubes	Genemate, Cat. # C-3258-1	20, 0.2 mL
Detection Window Cleaning Cloth	VWR, Cat. # 21912-046	1
Swab	ITW Texwipe®, Cat. # TX758B	3
Buffer Tubes	E&K Scientific, Cat. # 697075-NC	20, 0.75 mL

HT DNA LabChip, Version 2

- DNA 1K Chip, Part Number 760517
- DNA 5K Chip, Part Number 760435

Item	Quantity
DNA Chip	1

储存：当不再使用时，请将芯片和试剂保存在 **4°C** 冰箱，请勿将芯片和试剂在室温下放置过夜。

准备流程

1. Chip-Prep

➤ 准备胶-染料溶液

注意：染料浓缩液中含有 *DMSO*，在使用前必须完全解冻。另外，芯片和相关试剂在使用前也必须先平衡至室温（大约室温放置 **20-30** 分钟）。

1 管 DNA Gel Matrix（红色管盖）足够 4 次低通量 chip prep，或 2 次高通量 chip prep。每次低通量 chip prep 足够运行 48 个样本，每次高通量 chip prep 足够运行 384 个样品。

1. 使用前，先将已完全解冻的 DNA 浓缩染料管（蓝色管盖）放在 Vortex 上震荡 10 秒
2. 向 1 管胶（DNA Gel Matrix，红色管盖）中加入 **13 μL** 染料（HT DNA Dye Concentrate，蓝色管盖）
3. 将胶-染料溶液放在 Vertex 上震荡数秒，使其充分混匀，之后离心数秒。
4. 将混合液转入两个带有滤膜的离心管（大概每个 **550 μL**），常温下 **9200 rcf** 离心 **7.5** 分钟。
5. 将滤膜取出丢弃，在离心管上做好标记并注明日期，已过滤好的胶-染料混合液在 **4 °C** 避光保存可放置不超过三周。

➤ 准备 DNA 芯片

1. 将芯片储存盒静置桌上一段时间使之回复到室温。
2. 将移液枪枪头连接在真空泵上，用枪头吸去试剂孔内的全部液体。
3. 将孔（1, 3, 4, 7, 8 和 10）用 MilliQ 水润洗 2 次，并将水吸掉。同时请勿让这些孔长时间处于干燥状态（孔的编号请参照图 1 和 2）

- 如果在润洗过程中水溢到芯片表面（包括上部和下部），用真空管将水吸干。吸液时请勿用枪头碰触芯片上圆形检测窗的中心区域。
- 用反向移液法加一定量胶-染料溶液到孔 3, 7, 8, 10, 如图 1（低通量），图 2（高通量）
- 在孔 4 中加入 DNA Marker（绿色管盖），如图 1 和 2。对于高通量 Chip-Prep，如检测 96 孔板，加入 **50 μL** ；如检测 384 孔板或多个 96 孔板，加入 **140 μL** 。请注意，如芯片在机器内长时间处于待用状态，孔 4 内 marker 量需及时补充。

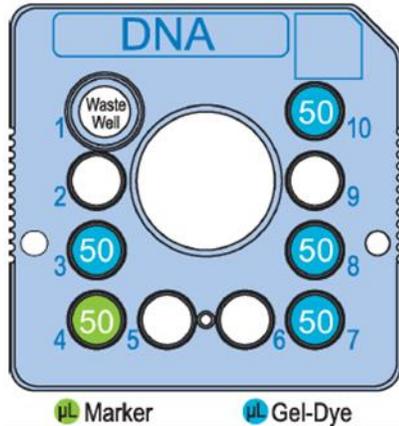


图1

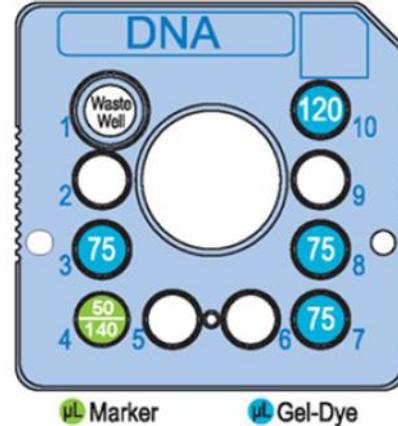


图2

- 芯片放入 LabChip GX Touch 前，确认孔 1（真空孔）是空的。

2. Sample-Prep

准备 DNA 样品，DNA ladder 和 Buffer Tube

注意：准备 DNA ladder 时应使用和您的 DNA 样本同样的 buffer。

- 在试剂盒提供的 0.2 ml Ladder Tube 中先加入 **108 μL** 的 1X DNA sample buffer solution，之后加入 **12 μL** HT DNA ladder（黄色管盖），用移液枪吹打数次，使之充分混匀。
- 向试剂盒里提供的 0.75ml Buffer Tube 中加入 **750 μL** 1X DNA Buffer solution
- 将 Ladder Tube，Buffer Tube 分别放入 LabChip GX Touch 样品板托架上的 ladder 和 buffer 管槽中
- 如使用 384 孔板，建议的样本体积是 **25 μL** ，如使用 96 孔板，建议的样本体积是 **40 μL**

3. Before run

将芯片放入 LabChip GX Touch

- 检查样品板，Buffer Tube，Ladder Tube 是否都已放置在合适的位置上。
- 将芯片从芯片储存盒中取出，检查圆形检测窗口是否干净。检测窗口如需清洁，使用 Caliper 提供的清洁布蘸 70%异丙醇擦拭即可。
- 点击触屏主界面上的 **Unload Chip** 按钮，将芯片放入 LabChip GX Touch 中，把机器舱门关上。
- 点击触屏主界面上的 **load Plate** 按钮，样品板会自动收回，此时芯片上的 Sipper 会插入 Buffer Tube 中。

注意：不要长时间地打开机器舱门。染料对光敏感，有可能会产生光漂白。

如果一天之内运行多次，在每次 Chip-Prep 之间，应将芯片像“芯片的储存”部分中描述的那样加入 Chip Storage Buffer 放入机器中清洗。

请定期清洁 LabChip GX Touch 上的圆形密封圈 (O-ring)。清洁时，先将随试剂盒附送的棉签用去离子水或 70% 异丙醇蘸湿，之后打圈擦拭。待密封圈晾干后可重新放入芯片。

4. Run

运行实验

注意：芯片可以在 *running assays* 前单独进行 *prime*。点击触屏主界面上的 **Prime** 按钮。确保 *Buffer Tube* 已提前放置在机器中。

1. 在主界面上，点击 **Run** 按钮。
2. 选择合适的 assay type, plate name, well pattern, 以及按列或者按行读取样品。在 “Adv. Settings” 选项下选择每孔进样的次数。点击绿色箭头按钮选择下一步。(图 3)

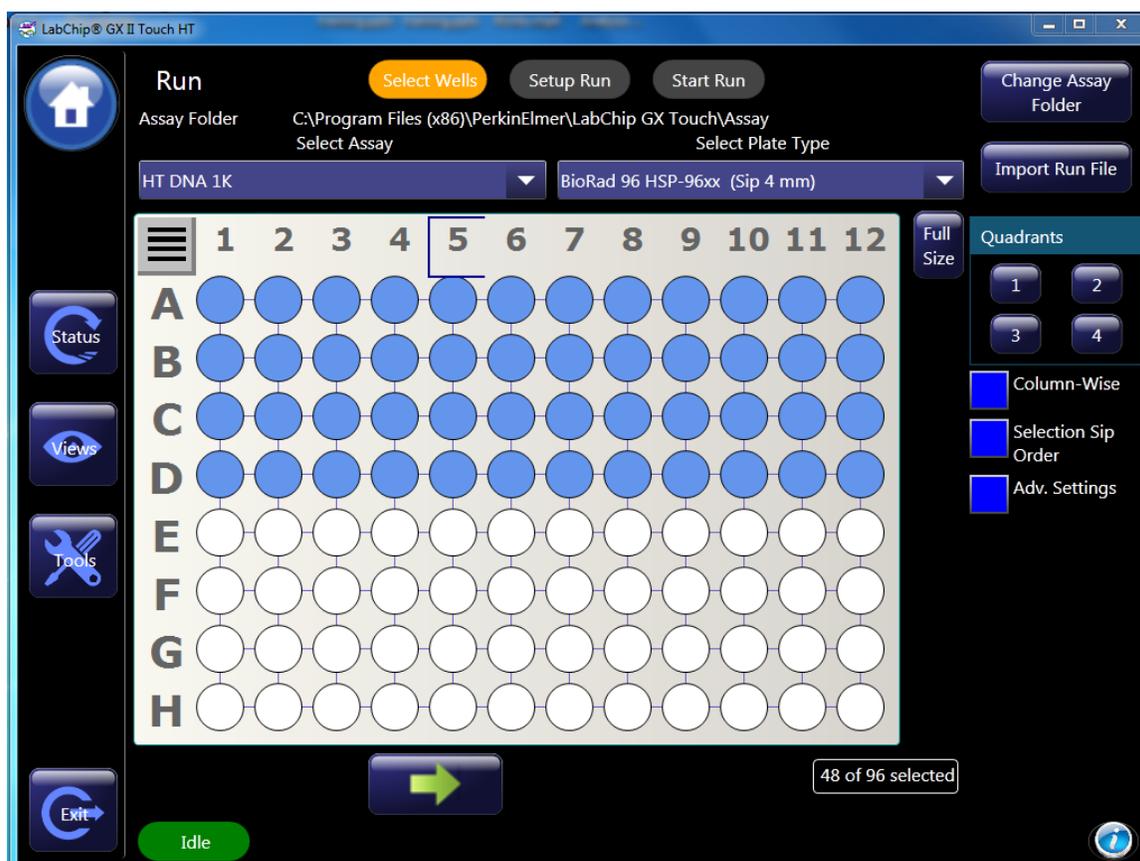


图 3 Selecting wells

3. 在 **Setup Run** 界面下，选择 operator name, 是否读取 read barcode, 文件保存路径, 是否包括 sample names, expected peaks 以及 excluded peaks 等。选择 **Auto Export** 来自动地导出数据和表格 (图4)。点击绿色箭头按钮选择下一步。

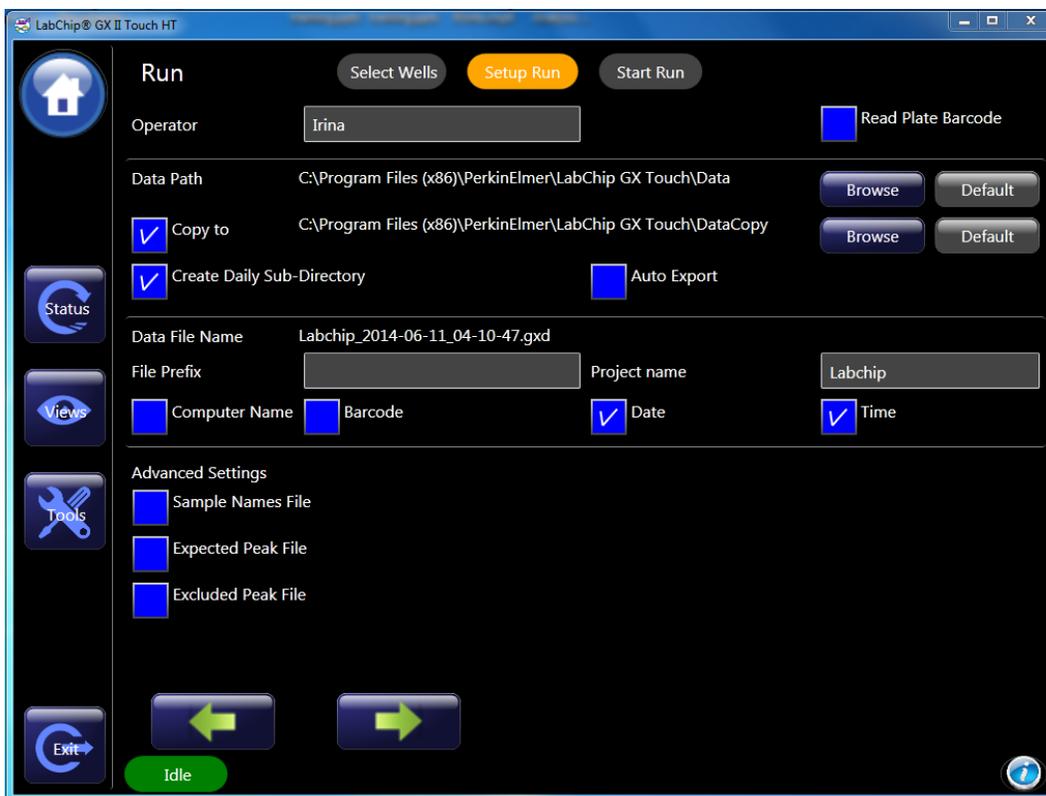


图 4 Run setup screen

4. 点击 **Start** 按钮开始检测（图 5）

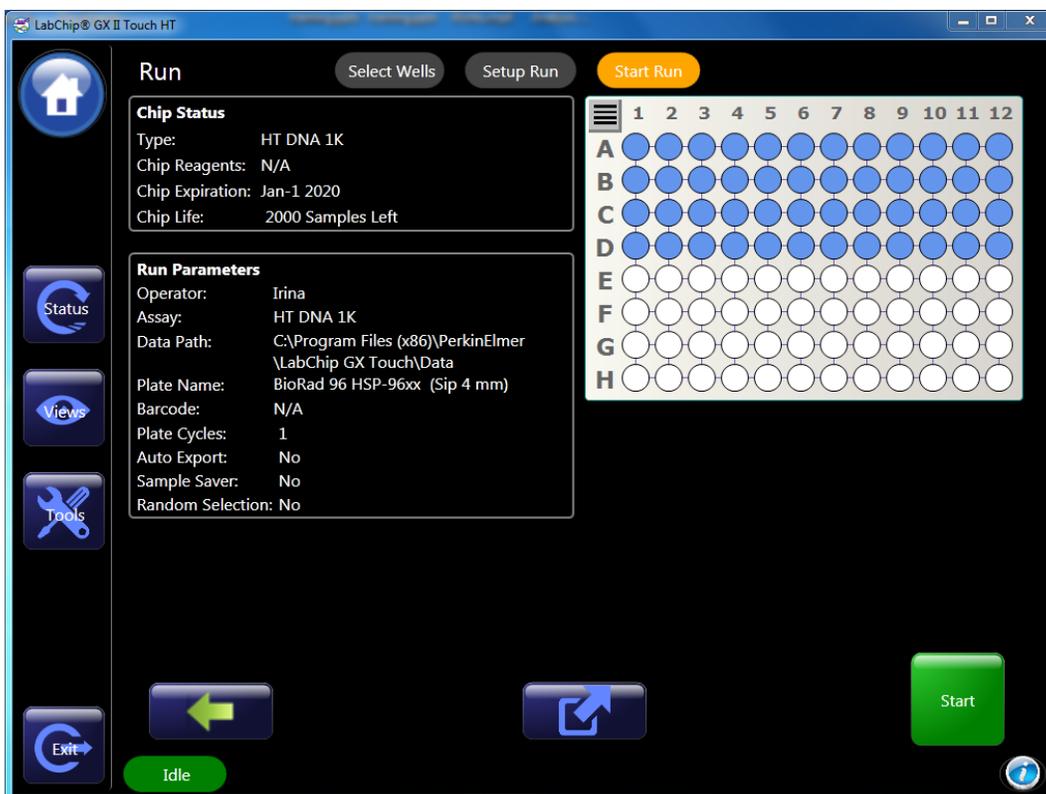


图 5 Starting a run

芯片的储存

1. 使用后，请务必清洁芯片并将之存放在芯片储存盒中
2. 用真空泵将芯片上试剂孔内的残留试剂全部吸出
3. 用 MilliQ 水分别润洗孔 1, 3, 4, 7, 8 和 10 两次
4. 在上述孔内各加入 **120 µL** HT DNA Storage Buffer (白色管盖)
5. 将芯片放入 LabChip GX Touch 机器，点击触屏主界面的 Wash 按钮
6. 清洗结束后，将芯片从机器里取出，放入塑料储存盒，在孔 1 内再添加一些 Storage Buffer。将所有孔用封口膜封住以避免溶液挥发。之后 4 °C 储存。如果储存时试剂孔内没有 buffer，将可能导致芯片堵塞。

芯片托架清洁

1. 每日
 - A. 检查托架内部以及密封圈 (O-ring) 上是否有残留物
 - B. 用提供的棉签蘸去离子水将密封圈打圈擦拭干净。如果密封圈粘在芯片上或者检测到压力泄露，请按照每月清洗流程操作。
2. 每月
 - A. 为避免芯片和电极间密封不紧密，密封圈需经常进行清洁。将密封圈从机器上取下，放入去离子水中浸泡数分钟。之后用手指揉搓密封圈表面进行清洁。
 - B. 为避免电流泄漏，芯片接触面需经常进行清洁。用去离子水浸湿提供的棉签清洁芯片接触面的顶板。
 - C. 使密封圈和芯片接触面自然晾干，将密封圈重新装到机器上。

六、芯片试剂基本注意事项

注意：确保芯片孔内、通道和毛细管中没有微小颗粒，这一点非常重要。以下指南帮助您更好地避免芯片中的颗粒。

总体上

- 在使用前将芯片、样品板和相关试剂平衡至室温（大约室温放置 20-30 分钟）。
- 每周清洁芯片接触面上的密封圈，每天清洁电极。
- 避免使用有粉末的乳胶手套。处理芯片、试剂和样品板，以及清洁机器电极和电极块时只使用无粉乳胶手套。
- 定期校正实验室的移液器，确保正确的试剂移液量。
- 只有 Caliper 提供的清洁布可以用于擦拭芯片检测窗口。使用其他未经检验的擦拭巾可能会残留影响荧光检测的碎片，这样会导致聚焦不稳定。
- 用于 Chip-Prep 的水必须经过 0.22µm 滤膜过滤，分子生物学纯度级别。
- 使用“反向吸液法”（如下述）可以帮助避免在吸取胶或者其他粘稠溶液时使芯片中引入气泡、

反向吸液法

第 1 步，将移液器按钮直接按到第二档

第 2 步，从管中吸取选定体积加上额外一定体积量的液体

第 3 步，将移液器按钮按到第一档，排出选定体积的液体到孔内的一角

第 4 步，从孔中取回移液器

试剂

- 当不再使用时，请将试剂保存在 4°C 冰箱。
- LabChip 染料包含 DMSO，使用前需充分解冻。建议将其分装成小份，以减少解冻时所用的时间
- 使用前轻轻地涡旋所有的试剂。
- 加试剂到芯片孔中时，慢慢进行以避免引入气泡。垂直地将移液器枪头插入芯片孔的底部。
- 将染料和胶-染料混合液避光保存。不再使用时请 4 °C 避光保存。
- 制备好的胶-染料混合液可如上述放置三周。

芯片

Repriming Chips:

注意：*Priming* 或 *Washing* 芯片时，应该把装有 1X DNA sample buffer 或水的 Buffer Tube 放入机器中。

- 点击触屏主界面上的 **Unload Chip** 按钮，将芯片放入 LabChip GX Touch 中。
- 将机器舱门关上，选择相应的 assay
- 点击触屏主界面的 **Prime** 按钮，reprime 芯片

Washing and Repriming Chips:

- 将芯片从机器中取出，放回芯片储存盒，确保芯片 sipper 浸没在液体中
- 用真空泵将芯片上试剂孔内的残留试剂全部吸出，将孔（1，3，4，7，8 和 10）用 MilliQ 水润洗 2 次。请勿让这些孔长时间处于干燥状态
- 向上述孔内加入 **120 µL Chip Storage Buffer**，把芯片放入机器，点击触屏主界面的 **Wash** 按钮
- **Washing** 结束后，取出芯片放回芯片储存盒，用真空泵将试剂孔内的残留试剂全部吸出
- 将上述孔用 MilliQ 水润洗 2 次，请勿让这些孔长时间处于干燥状态
- 用反向吸液法向 3，7，8，10 孔内加入规定量的胶-染料混合液
- 向孔 4 中加入 Lower Marker。
- 将芯片放入 LabChip GX Touch 机器中，重新 **Run**

其他注意事项

- 首次使用前 DNA 芯片必须冷藏保存。
- 用封口膜将芯片的孔封上。如果 24 小时内再使用该芯片，可以室温放置一段时间。
- 不可使芯片储存盒中的液体凝结，这样会导致芯片性能降低。不要使芯片浸在任何液体中。
- 使用前整个芯片表面必须是充分干燥的。
- 确保芯片 sipper 始终浸没在液体中，而且不要长时间暴露在外部环境中。
- 芯片处理过程中务必小心，不要损坏 sipper。Sipper 损坏将导致进样不一致。
- Chip-Prep 前后，请将芯片保存在密封环境比如芯片储存盒或机器中，以避免芯片接触灰尘。
- 芯片制备后，可在机器上放置 8 小时。这一工作流程可以在不用重新制备芯片的情况下完成每天所需通量的样品的分析，只要不超出一次 Chip-Prep 可测的最多样品数目。

样品

- 准备好的样品板应该完全没有气泡和微粒碎片，二者都会影响 sipper 的性能。

- 含有气泡和/或微粒碎片的样品板，在进行分析前应当经过离心（比如，常温下 3000 rcf 离心 5 分钟）。
- 如使用 384 孔板，建议的样本体积是 **25 μ L**，如使用 96 孔板，建议的样本体积是 **40 μ L**。