

SOP 番号 GEN101

Ver.5

標準操作手順書

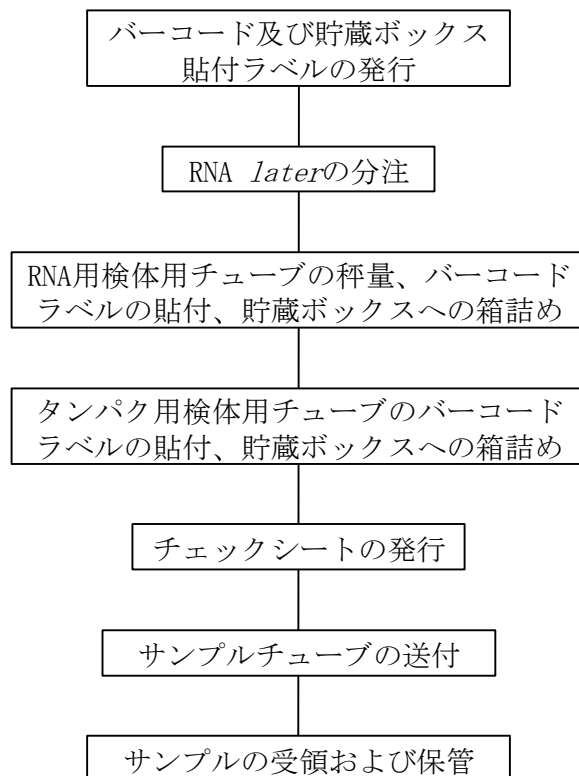
検体用チューブ準備

承認 _____ 年 月 日

目 次

分類	項目	ページ
GEN101 Ver.5	作業手順の流れ図	1
	1. 序	2
	2.試薬・器具	2
	3.使用機器	2
	4.バーコード及び貯蔵ボックス添付ラベルの発行	3-7
	5.RNAlater の分注	7
	6.RNA 用検体用チューブの秤量、バーコードラベルの貼付、貯蔵ボックスへの箱詰め	8-10
	7.予備チューブの秤量	11
	8.タンパク用検体用チューブのバーコードラベルの貼付、貯蔵ボックスへの箱詰め	11
	9.血漿用検体チューブのバーコードの貼付、貯蔵ボックスへの箱詰め	11-12
	10.Check Sheet Print の発行	12-13
	11.サンプルチューブの送付	13
12.サンプルの受領および保管	13	

作業手順



1 序

本 SOP には検体用のチューブに貼付するバーコードラベルの発行、チューブ重量の測定法および検体用チューブの授受について記載する。

2 試薬・器具

- 1) RNAlater (Ambion、cat.#.7020(100 mL)、cat.#.7021(500 mL)) 室温保存。
- 2) マイクロチューブ 2.0 mL 用 (Eppendorf、DNA LoBind Tubes、cat.#.95296)
- 3) 凍結保存チューブ (NALGENE、クライオバイアル、cat.#.NL-5000-0020)
- 4) クライオバイアルカラーコード (青) (NALGENE、cat.#.NL-5045-0003)
- 5) 貯蔵ボックス (エル・エム・エス、クライオボックス、型番 LCB-2-81)
- 6) バーコードラベル、カーボンリボン(SATO)
- 7) 輪ゴム
- 8) ビニール袋 (A4 サイズの用紙が入るもの)
- 9) カラークリップ (スパークリップ : OHTO)
- 10) クーラーボックス
- 11) 分注器 (Eppendorf、Multipette advantage)
- 12) コンピチッププラス (Eppendorf、combitips Plus 10 mL、cat.#.93867)

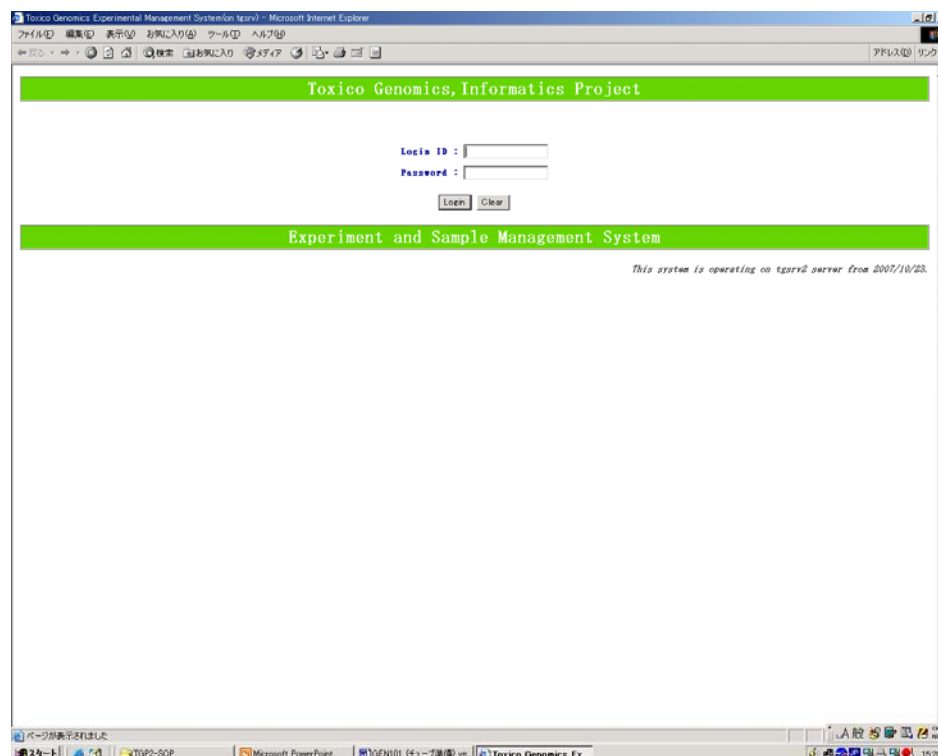
3 使用機器

- 1) 電子天秤 (島津製作所、AW220)
- 2) バーコード印刷機械(SATO、MR410e)
- 3) PC (富士通、FMV-6000SL、FMV-7000FL)

4 バーコード及び貯蔵ボックス貼付ラベルの発行

4-1 バーコードの発行（腎臓および肝臓用）

- 1) バーコードプリンターと接続されている PC を立ち上げ、Windows2000 を起動する。
- 2) パスワードを入力し、ログインする。
- 3) Internet Explorer で実験動物管理システムデータベースサーバーへアクセスし、以下の画面を表示させる(通常はホームページ設定となっている。)



- 4) Login ID と Password を入力し、「Login」をクリックする。

Login ID :

Password :

- 5) System Menu 画面の、「Experiment Condition」メニューから「Barcode Printout (# 1)」を選択しクリックする。

System Menu

<div style="background-color: #FFD700; text-align: center; padding: 2px; font-weight: bold;">Experiment Condition</div> New Registration(in vivo) Modify Registration(in vivo) New Registration(in vitro) Modify Registration(in vitro) Barcode Printout(#1) Tare Measurement Check Sheet Printout Reference of Experiment Condition	<div style="background-color: #FFD700; text-align: center; padding: 2px; font-weight: bold;">Organ/Tissue Sample Registration</div> Sample Receipt Sample Weight Organ/Tissue Type In vivo Experiment Information In vitro Experiment Information Image link of vitro	<div style="background-color: #FFD700; text-align: center; padding: 2px; font-weight: bold;">RNA Registration</div> RNA Information Modify RNA Information Protein Information Modify Protein Information Barcode Printout(#2) Sample(#2) Preservation Storage
<div style="background-color: #FFD700; text-align: center; padding: 2px; font-weight: bold;">Experiment Results</div> In vivo Experiment Results In vitro Experiment Results Barcode Printout(#3-#9) Sample(#3-#9) Preservation Storage	<div style="background-color: #FFD700; text-align: center; padding: 2px; font-weight: bold;">Experiment Plan</div> Plan Registration Plan Modification Refer the Plan	

- 6) Print of Experiment Condition List 画面が開く。

Print of Experiment Condition List Login ID

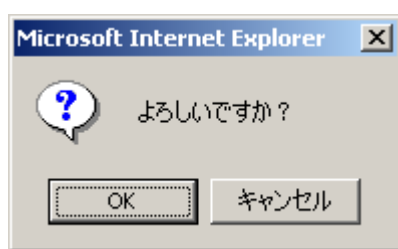
Sel	ExpNo.	Name	Plan Date	Chemical
<input checked="" type="checkbox"/>	0069	VPA_dosefinding_6wk(JBRC)	2003/03/07	VPA
<input type="checkbox"/>	0070	Isoniazid_dose setting_6wk(FDSC)	2003/03/12	INAH
<input type="checkbox"/>	0071	Acetaminophen_dose setting_6wk(FDSC)	2003/03/12	AAP
<input type="checkbox"/>	0072	Acetaminophen_dose setting_6wk(JBRC)	2003/03/12	AAP
<input type="checkbox"/>	0073	PB_dose setting_6wk(FDSC)	2003/03/12	PB
<input type="checkbox"/>	0081	CFB_dose setting_6wk_JBRC	2003/04/02	CFB
<input type="checkbox"/>	0083	RIF_dose setting_6wk_FDSC	2003/04/02	RIF
<input type="checkbox"/>	0084	ANIT_dose setting_6wk_JBRC	2003/04/02	ANIT
<input type="checkbox"/>	0086	AA_dose setting_6wk_JBRC	2003/04/02	AA
<input type="checkbox"/>	0087	PhB_dose setting_6wk_FDSC	2003/04/02	PhB
<input type="checkbox"/>	0105	IM_dose setting_6wk (FDSC)	2003/05/09	IM
<input type="checkbox"/>	0106	CPZ_dose setting_6wk (FDSC)	2003/05/09	CPZ
<input type="checkbox"/>	0107	TAA_dose setting_6wk (FDSC)	2003/05/09	TAA
<input type="checkbox"/>	0114	CPZ_single_6W_FDSC	2003/05/29	CPZ
<input type="checkbox"/>	0115	CPZ_repeat_6W_FDSC	2003/05/29	CPZ
<input type="checkbox"/>	0116	TAA_single_6W_FDSC	2003/05/29	TAA
<input type="checkbox"/>	0117	TAA_repeat_6W_FDSC	2003/05/29	TAA
<input type="checkbox"/>	0118	UT - Physostigmine(PO)	2003/05/29	PSGM

- 7) バーコードを打ち出す試験の EXP.ID にチェックを入れ、OK をクリックする。
Print of Experiment Condition 画面を表示させる。Cut Num に切りたい長さのラベル数を入力する(通常は「12」、12 枚ごとにラベルがカットされる。12 枚で 1 個体分。)

Print of Experiment Condition

Person	: Kayoko Takashina
Experiment No.	: 0069
Experiment Division	: Vivo
Experiment Name	: VPA_dosefinding_6wk(JBRC)
Experiment Plan Date	: 2003/03/07
Experiment Protocol	: 予備試験(Vivo)
Chemical	: VPA
Species	: Rat
Vehicle	: corn oil
Route	: 強制経口(PO)
Organ ID	: L:Liver(3) K:Kidney(3)
Circulation	: 144
Cut Num	: <input style="width: 40px;" type="text" value="12"/>

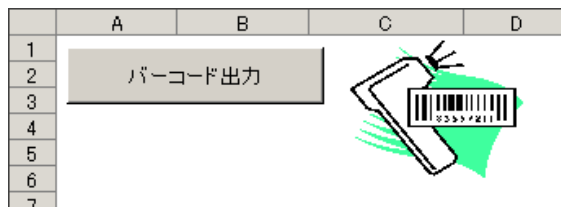
- 8) 「PRINTS」をクリックし、確認画面で「OK」をクリックし、印刷を開始する。
- 9) 印刷が終了したら、バーコードの枚数、試験番号を確認する。
- 10) 「COMPLETED」をクリックし、確認画面で「OK」をクリックすると、印刷の完了が確定する。



- 11) 印字されたバーコードラベルをハサミで切り分け、サンプル種毎 (RNA 採取用肝臓および腎臓、タンパク質採取用肝臓および腎臓) に群単位で並べる。数を確認して、クリップで留める (タンパク質採取サンプルは A ラベルのみを使用するので、B 及び C ラベルは廃棄する。)

4-2 バーコードの発行（血漿用）

- 1) バーコード再印刷.xls ファイルを開く。「バーコード出力」をクリックする。



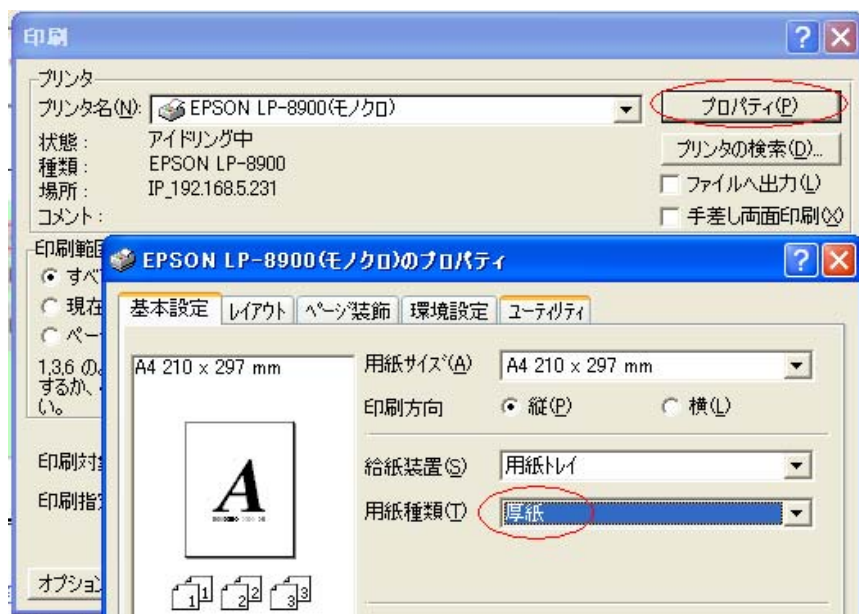
- 2) 「バーコード出力」画面が表示されるので、実験番号を指定した後に臓器 ID を「P」に指定し、「①検索実行」ボタンを押す。

- 3) 「1枚ずつ印刷」にチェックを入れ、「②印刷開始」ボタンを押す。

バーコード番号の末尾に「-1」が
付加されていることを確認。

4-3 貯蔵ボックス貼付ラベルの発行

- 1) [YYTgfsYTGP2¥01-Research¥21-Experiment¥16-管理台帳¥箱ラベル CRO](#) にある「箱ラベル単回&反復.xls」ファイルを開く（CRO 毎にファイルが存在するので、適当なファイルを使用する）。
- 2) エクセルの置換機能を用いて、ファイル中の実験番号を目的の実験番号に置換する。
- 3) 印刷する際は、印刷画面の「プロパティ」をクリックし、プロパティ画面で用紙種類を「厚紙」に指定する。



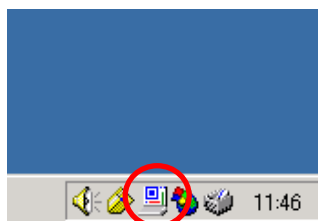
- 4) 用紙トレイにシール用紙をセットし、印刷ボタンを押す。

5 RNAlater の分注

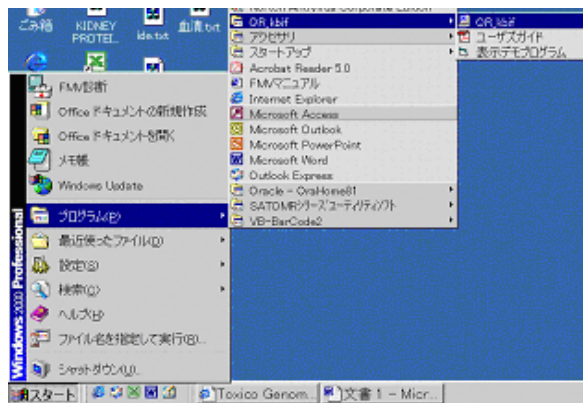
- 1) 4,11)で確認した数+10本(予備チューブ用)のマイクロチューブを用意する。
- 2) 分注器を用いて、RNAlater を 500 μ L ずつ分注し、キャップを閉める(予備チューブは秤量前に、キャップに油性ペンで 1~10 までナンバリングする。)

6 RNA用検体用チューブの秤量、バーコードラベルの貼付、貯蔵ボックスへの箱詰め

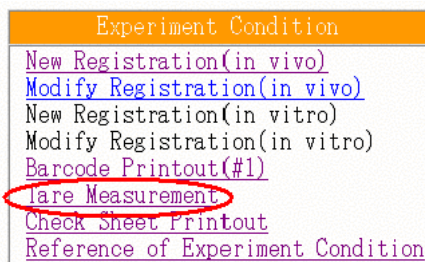
- 1) 天秤と接続されている PC を立ち上げ、Windows2000 を起動する。
(User ID:TGP、ログオン先:TGP)
- 2) パスワードを入力し、ログインする。
- 3) 「ユーザー補助のオプション」をクリックする。「全般」タブをクリックし、「シリアルキーデバイスを使う」チェックボックスのチェックを外し、再度チェックを入れ「OK」ボタンを押す。
- 4) 画面右下で、「QR_kbif」が起動していることを確認する。起動していない場合は、5)に従い、「QR_kbif」を起動する。



- 5) 「スタート」→「プログラム」→「QR_kbif」→「QR_kbif」を選択し、「QR_kbif」を起動する。



- 6) Internet Explorer で実験動物管理システムサーバーへアクセスし、System Menu 画面の「Experiment Condition」メニューから「Tare Measurement」をクリックする。



- 7) 「List of Tare Weight」 から、秤量を行う試験を選択し、「OK」をクリックする。

List of Tare Weight				
<input type="button" value="O K"/> <input type="button" value="CANCEL"/>				
Sel	ExpNo.	Name	Plan Date	Chemical
<input checked="" type="radio"/>	0104	TTG17 - Hydroxycitric Acid 4weeks repeat	2003/05/08	HCA
<input type="radio"/>	0112	IM_single_6W_FDSC	2003/05/29	IM
<input type="radio"/>	0113	IM_repeat_6W_FDSC	2003/05/29	IM
<input type="radio"/>	0118	UT - Physostigmine(PO)	2003/05/29	PSGM

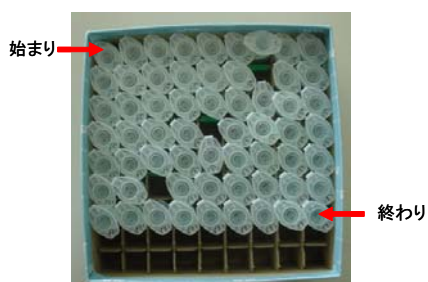
- 8) 画面の Barcode のセルにカーソルを合わせ、スキャナーでバーコードラベルをスキャンする。Barcode セルにサンプル ID が入力される。

Input of Tare Weight	
Person	: Katsumi Morishita
Experiment No.	: 0112
Experiment Division	: Vivo
Experiment Name	: IM_single_6W_FDSC
Experiment Plan Date	: 2003/05/29
Experiment Protocol	: 本試験(単回投与)
Chemical	: IM
Species	: Rat
Count/Total	: <input type="text" value="0"/> / 960
Barcode	: <input type="text" value="0112011LRA1-"/>
Tare Weight[mg]	: <input type="text"/> <input type="button" value="Set"/> <input type="button" value="CLEAR"/>
<input type="button" value="SAVE"/> <input type="button" value="CANCEL"/>	

- 9) RNAlater を分注したチューブを電子天秤に載せ秤量を行う。秤量が自動的に行われ、Tare Weights セルに重量が入力される(通常は一時保存が自動で行われる、行われない場合は電子天秤の PRINT ボタンを押すと保存される)。なお、1700 mg 以下は不採用とする。

Barcode	: <input type="text" value="0112011LRA1-"/>
Tare Weight[mg]	: <input type="text" value="1740.6"/> <input type="button" value="Set"/>

- 10) スキャンを行ったバーコードラベルシールの台紙の小片を剥がし、チューブの側面に貼付する。
- 11) バーコードを貼付したチューブを貯蔵ボックスに詰める。この際、群が変わる毎に1マスを空け、カラークリップをはさみ目印とする。



- 12) すべてのチューブについて 8)-11) を繰り返す。
- 13) 貯蔵ボックスに詰めたあと、腎臓用のチューブはフタの中央に黒色油性ペンで線を書く。
- 14) 「Save」をクリックしデータを保存する。「Save」をクリックすると以下の画面が表示されるので、「OK」をクリックする（注：「OK」をクリックするまでデータは保存されない。）。
- *長時間 Save を行わずに秤量作業を続けると、データが消失する可能性がある。従って、秤量作業中は約 20 分ごとに Save を行う。

```
Person           : Katsumi Morishita
Experiment No.   : 0112
Experiment Division : Vivo
Experiment Name   : IM_single_6W_FDSC
Experiment Plan Date : 2003/05/29
Experiment Protocol : 本試験(単回投与)
Chemical         : IM
Species         : Rat
Count/Total     : 1/960
```

OK CANCEL

- 15) 以下の表示がされ、データの保存が完了する(「OK」をクリックすると、6.7)の画面に戻る)。

INFORMATION
TOXICO-017501:施設重量測定結果を保存,完了。
OK

- 16) 貯蔵ボックスのフタをして、フタの側面、上部、本体の側面に、識別ラベルを貼付する。貯蔵ボックスのフタが開かないように、輪ゴムを十文字にかける。
- 17) 各解剖時点で、組織毎に 8)–16)を繰り返す。
- 18) 電子天秤、PC の電源を切る。

7 予備チューブの秤量

- 1) 天秤と接続されている FMV-6000SL を立ち上げ、Windows2000 を起動する。
- 2) パスワードを入力し、ログインする。
- 3) 「ユーザー補助のオプション」をクリックする。「全般」タブをクリックし、「シリアルキーデバイスを使う」チェックボックスのチェックを外し、再度チェックを入れ「OK」ボタンを押す。
- 4) アプリケーション：メモ帳を開く。
- 5) 予備チューブのフタに油性ペンで 1～10 の番号を書く。
- 6) 予備チューブを電子天秤で秤量する。チューブの重量が自動的に、入力される。
- 7) 秤量したデータに名前をつけてテキスト形式で ¥¥Tgfs¥TGP2 ¥01-Research¥21-Experiment¥21-輸送用予備チューブ 上のフォルダに保存する。ファイル名は「EXP 試験 ID.txt」とする。(例：EXP0001.txt)
- 8) 貯蔵ボックスのフタをして、フタの上部に、識別ラベル(「予備チューブ」「実験番号」の明記)を貼付する。貯蔵ボックスのフタが開かないように、輪ゴムを十文字にかける。
- 9) 電子天秤、PC の電源を切る。

8 タンパク用検体チューブのバーコードラベルの貼付、貯蔵ボックスへの箱詰め

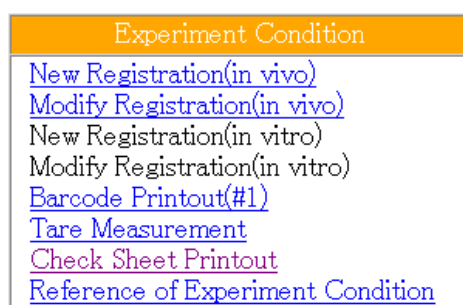
- 1) 4-1 11)で確認した数の凍結保存チューブを用意する。
- 2) 肝臓用のチューブのフタにクライオバイアルカラーコード(青)を嵌め込む。
- 3) バーコードラベルシールの台紙の小片を剥がし、チューブの側面に貼り付ける。
- 4) バーコードを貼付したチューブを貯蔵ボックスに詰める。この際、群が変わる部分に 1 マス開けてカラークリップをはさみ目印とする。
- 5) すべてのチューブについて 3)–4) を繰り返す。
- 6) 貯蔵ボックスのフタをして、フタの側面、上部、本体の側面に、識別ラベルを貼付する。貯蔵ボックスのフタが開かないように、輪ゴムを十文字にかける。
- 7) 各解剖時点で、組織毎に 3)–6)を繰り返す。

9 血漿用検体チューブバーコードラベルの貼付、貯蔵ボックスへの箱詰め

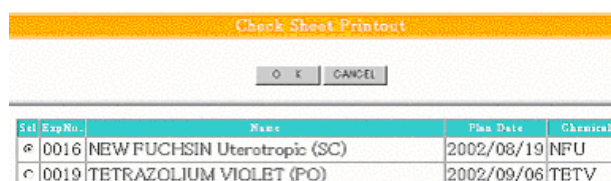
- 1) 4-11)で確認した数の凍結保存チューブを用意する。
- 2) バーコードラベルシールの台紙の小片を剥がし、チューブに貼り付ける。
- 3) バーコードを貼付したチューブを貯蔵ボックスに詰める。この際、群が変わる部分を1マス空けてカラークリップを挟み目印とする。
- 4) 全てのチューブについて2)–3)を繰り返す。
- 5) 貯蔵ボックスのフタをして、フタの側面、上部、本体の側面に、識別ラベルを貼付する。貯蔵ボックスのフタが開かないように、輪ゴムを十文字に掛ける。

10 「Check Sheet Print」の発行

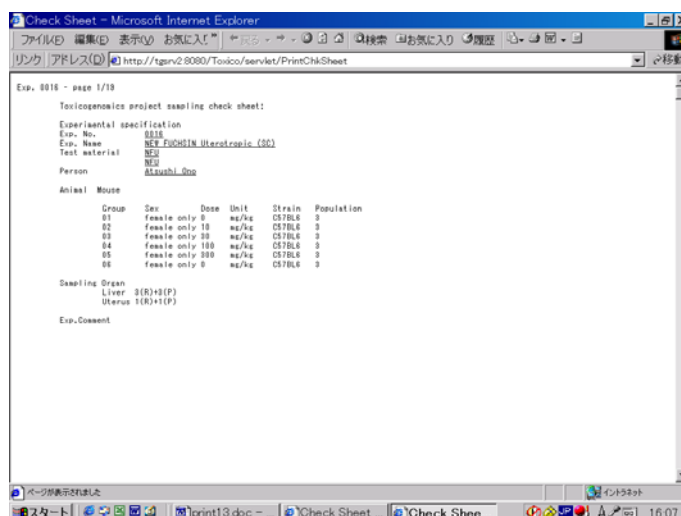
- 1) ステータスの変更を行う。全ての準備が終了していることを確認した後、ステータス変更担当者に、Exp ID を連絡し、ステータスの変更を実施してもらう。
- 2) ネットワークとプリンターに接続されている PC を立ち上げ、Windows2000 を起動し、パスワードを入力し、ログインする。
- 3) Internet Explorer を起動し、実験動物管理システムサーバーへアクセスする。System Menu 画面の「Experiment Condition」メニューから「Check Sheet Printout」をクリックする。



- 4) 「Check Sheet」を打ち出す試験を選択して「OK」をクリックする。



- 5) 以下の画面が表示される。「ファイル」→「印刷」を選択し「Check Sheet」の印刷を行う。



- 6) 印刷された「Check Sheet」の枚数と印刷状態を確認して A4 サイズの用紙が入るビニール袋に袋詰めする。
- 7) PC の電源を切る。

11 サンプルチューブの送付

- 1) クーラーボックスに貯蔵ボックス、ビニール袋に入れたチェックシートを入れる。隙間に緩衝材等を詰める。

12 サンプルの受領および保管

- 1) 受領後、チェックシート、サンプルチューブの内容を確認する。CRO にてチューブ入れ替えなどにより風袋重量の変更があった場合は、担当者が風袋重量の訂正を行う。
- 2) 保管場所にサンプルチューブを保存し、「-80℃冷凍庫管理帳」に記入する。
- 3) RNA 採取用サンプルは-80℃で保管。タンパク質採取用サンプルは液体窒素タンクに移動して保管。

以下余白