
LIFluor™ EnhancE dsDNA 1000 Dye

PA 800 Plus 医薬品分析システム用
アプリケーションガイド

本書はSCIEX機器をご購入され、実際に使用されるお客様にむけてのものです。本書の著作権は保護されています。本書および本書の一部を複製することは、SCIEXが書面で合意した場合を除いて固く禁止されています。

本書に記載されているソフトウェアは、使用許諾契約書に基づいて提供されています。使用許諾契約書で特に許可されている場合を除き、いかなる媒体でもソフトウェアを複製、変更、または配布することは法律で禁止されています。さらに、使用許諾契約書では、ソフトウェアを逆アSEMBル、リバースエンジニアリング、または逆コンパイルすることをいかなる目的でも禁止することがあります。正当とする根拠は文書中に規定されているとおりです。

本書の一部は、他の製造業者および/またはその製品を参照することがあります。これらには、その名称を商標として登録しているおよび/またはそれぞれの所有者の商標として機能している部分を含む場合があります。そのような使用は、機器への組み込みのためSCIEXにより供給された製造業者の製品を指定することのみを目的としており、その権利および/またはライセンスの使用を含む、または第三者に対しこれらの製造業者名および/または製品名の商標利用を許可するものではありません。

SCIEXの保証は販売またはライセンス供与の時点で提供される明示的保証に限定されており、またSCIEXの唯一かつ独占的な表明、保証および義務とされています。SCIEXは、明示的・黙示的を問わず、制定法若しくは別の法律、または取引の過程または商慣習から生じるかどうかに関わらず、特定の目的のための市場性または適合性の保証を含むがこれらに限定されない、他のいかなる種類の保証も行いません。これらのすべては明示的に放棄されており、購買者による使用またはそれから生じる不測の事態に起因する間接的・派生的損害を含め、一切の責任または偶発債務を負わないものとします。

研究専用。診断手順には使用しないでください。

ここに記載されている商標および/または登録商標は、関連するロゴを含め、米国および/またはその他の特定の国における AB Sciex Pte. Ltd.、またはその該当する所有者の所有物です。

AB SCIEX™ はライセンスの下で使用されています。

© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



AB Sciex Pte. Ltd.
Blk33, #04-06 Marsiling Industrial Estate Road 3
Woodlands Central Industrial Estate, Singapore 739256

目次

LIFluor™ Enhance dsDNA	
1000 Dyeキット.....	5
安全性.....	5
使用目的.....	5
必要な機器と材料.....	5
保管条件.....	6
顧客が用意する機器および消耗品.....	6
必要な検出器.....	7
必要なカートリッジまたはキャピラリー.....	7
メソッド.....	7
初期条件.....	8
LIF検出器の初期条件.....	8
タイムプログラム.....	9
試薬と原液の準備.....	10
dsDNA 1000ゲル緩衝液の調製.....	10
サンプルを準備する.....	11
テスト混合の調製.....	11
サンプルの調製.....	12
PA 800 Plus システムを準備する.....	12
LIF Detector のインストール.....	12
インターフェースブロックをクリーニングする.....	12
キャピラリーの取り付け.....	13
カートリッジを取り付ける検出器をキャリブレーションする.....	13
緩衝液トレイをロードする.....	14
サンプルトレイのロード.....	16
サンプルを実行する.....	18
シーケンスを作成して実行を開始.....	18
廃棄物処理.....	19
カートリッジを保管する.....	19
カートリッジを48時間未満保管する.....	19
カートリッジを48時間以上保管する.....	19
保管後のカートリッジを準備する.....	20
結果を分析する.....	20
テスト混合のデータの分析.....	20
『分離メソッドについての、推奨されるサンプル注入』を参照してください。.....	21
最良の結果を得るためのヒント.....	21
DNAアプリケーションガイドのトラブルシューティング.....	22
A 有害物質情報.....	26

目次

お問い合わせ先.....	27
お客様のトレーニング.....	27
オンライン学習センター.....	27
消耗品を購入する.....	27
SCIEXサポート.....	27
サイバーセキュリティ.....	27
ドキュメント.....	28

LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dyeキット

このドキュメントでは、LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dyeキットを使用したサンプル調製について説明します。また、32 Karat™ ソフトウェアを使用したデータ収集とデータ分析の手順についても説明します。

LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dyeには、dsDNA 1000キットで使用するための蛍光DNA挿入色素のバイアルが1つ含まれています。バイアルには、500 µLのメタノールに500 µgの色素が含まれています。レーザー誘起蛍光（LIF）検出と併用すると、DNAフラグメントのCE分析の検出限界が大幅に向上します。

注：システムを安全に使用する手順については、『システム概要ガイド』を参照してください。

安全性

原料と試薬の適切な取り扱いに関する情報については、sciex.com/tech-regulatory で入手可能な安全データシート (SDS) を参照してください。標準的なラボの安全ガイドラインに常に従ってください。有害物質情報については、[有害物質情報](#) を参照してください。

使用目的

LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dyeは、検査室専用です。

必要な機器と材料

注：再注文部品番号の付いたアイテムの場合、再注文数量はキット数量と異なる場合があります。

表 1 LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dye (部品番号 477409)

コンポーネント	数量	部品番号の再注文
蛍光DNA挿入色素、メタノール500 µL中500 µg	1	477.409

表 2 SCIEX の追加消耗品

コンポーネント	数量	部品番号
PCRマイクロバイアル、200 µL	100	144709
ナノバイアル	100	5.043.467
ユニバーサルバイアルキャップ、ブルー	100	A62250
ユニバーサルバイアル	100	A62251
キャピラリーカートリッジ、ブランク	1	144.738
カートリッジ再構築キット	1	144.645
dsDNA 1000キット	1	477.410
LIF Performance Test Mix	1	726.022
488 nm ノッチフィルター	1	144.941
LIFカートリッジアパチャプラグアセンブリ	1	721.125
LIFカートリッジプローブガイドアセンブリー	1	721.126
520 nm 発光フィルター	1	144.940

保管条件

- LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dyeのバイアルを-35°C~-15°C以下で保管します。

注：LIFluor™ Enhance Dyeは光に敏感です。使用しないときは、光を当てたままにしないでください。アルミホイルを使用してゲル緩衝液バイアルを覆うことで、光への露出を減らすことができます。

注：使用しないときは、常にLIFluor™ Enhance Dyeバイアルにしっかりと蓋をしてください。バイアルを開いたままにすると、メタノールが蒸発し、色素濃度が上昇します。

注：LIFluor™ Enhance Dyeは、室温で放置すると10時間後に劣化する可能性があります。

顧客が用意する機器および消耗品

- パウダーフリー加工の手袋 (ネオプレンまたはニトリル製のものを推奨)

- 安全メガネ
- 実験用白衣
- ボルテックスミキサー
- ピペットと適切なヒント.
- 二重精製脱イオン (DDI) 水 (0.2 μ m フィルターでろ過し、抵抗が18 M Ω 超のMSグレード水)
- パラフィルム
- 磁気攪拌板と攪拌棒
- 容量ピペット、20 mL
- 1 μ Lから100 μ Lの容量を供給するマイクロピペット
- メンブレンシリンジフィルター、0.45 μ mポア
- トリス-EDTA緩衝液、10 mM トリス-HCl、1 mM EDTA二ナトリウム、pH 8.0 (Sigma)
- 分析バランス

必要な検出器

励起波長488 nmのレーザー誘起蛍光 (LIF) 検出器と520 nmの発光フィルターが必要です。

必要なカートリッジまたはキャピラリー

- キャピラリーカートリッジ (部品番号 144738)
- DNAキャピラリー、65 cm、100 μ m i.d. (部品番号 477477)

メソッド

このガイドでは、キットに付属のテスト混合を分離する方法について説明します。

LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dyeキットには、コンディショニングメソッド、分離メソッド、シャットダウンメソッドが必要です。メソッドを作成するには、[初期条件](#)、[LIF検出器の初期条件](#)、および[タイムプログラム](#)を参照してください。

このキットは他のさまざまなアプリケーションで使用できるため、ここで説明する方法を出発点として使用して、関連するアプリケーションに適した方法を開発してください。具体的な推奨事項またはサポートについては、SCIEXwebサイトの技術的な注意事項を参照するか、SCIEXフィールドアプリケーションサイエンティストにお問い合わせください。

初期条件

注：Initial Conditionsタブと LIF Detector Initial Conditionsタブの値は、すべてのメソッドで同じになります。

図 1 LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 Dyeキットメソッドの初期条件タブ

The screenshot shows the 'LIF Detector Initial Conditions' tab. It contains several sections of settings:

- Auxiliary data channels:** Includes checkboxes for Voltage (unchecked), Current (checked), Power (unchecked), and Pressure (unchecked). Voltage and Current have maximum value inputs (30.0 kV and 40.0 μA).
- Mobility channels:** Includes checkboxes for Mobility (unchecked), Apparent Mobility (unchecked), and Plot trace after voltage ramp (checked).
- Analog output scaling:** A Factor input set to 1.
- Temperature:** Cartridge temperature set to 20.0 °C and Sample storage temperature set to 10.0 °C.
- Trigger settings:** Includes checkboxes for 'Wait for external trigger' (unchecked), 'Wait until cartridge coolant temperature is reached' (checked), and 'Wait until sample storage temperature is reached' (checked).
- Inlet trays:** Buffer set to 36 vials and Sample set to 48 vials.
- Outlet trays:** Buffer set to 36 vials and Sample set to No tray.

LIF検出器の初期条件

注：Initial Conditionsタブと LIF Detector Initial Conditionsタブの値は、すべてのメソッドで同じになります。

図 2 LIFluor™ Enhance dsDNA 1000 DyeキットメソッドのLIF検出器の初期条件タブ

Initial Conditions | LIF Detector Initial Conditions | Time Program

Electropherogram channel 1

Acquisition enabled

Dynamic range: 100 RFU

Filter settings

High sensitivity

Normal

High resolution

Peak width (pts): 16-25

Signal

Direct Indirect

Laser/filter description - information only

Excitation wavelength: 488 nm

Emission wavelength: 520 nm

Data rate

Both channels: 4 Hz

Relay 1

Off On

Relay 2

Off On

Electropherogram channel 2

Acquisition enabled

Dynamic range: 100 RFU

Filter settings

High sensitivity

Normal

High resolution

Peak width (pts): 16-25

Signal

Direct Indirect

Laser/filter description - information only

Excitation wavelength: 635 nm

Emission wavelength: 675 nm

タイムプログラム

注：[Time Program]（タイムプログラム）は各メソッドで異なります。

図 3 コンディショニングメソッドのタイムプログラムタブ

	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1		Rinse - Pressure	20.0 psi	10.00 min	BI:B6	BO:B6	forward	Filling with dsDNA gel
2		Wait		0.00 min	BI:D6	BO:D6		ddH2O dip
3	0.00	Separate - Voltage	5.0 KV	10.00 min	BI:C6	BO:C6	5.00 Min ramp, reverse polarity	
4	10.01	End						
5								

図 4 dsDNA 1000テスト混合メソッドのタイムプログラムタブ

Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1	Rinse - Pressure	20.0 psi	3.00 min	BI:B1	BO:B1	forward, In / Out vial inc 8	Filling with dsDNA gel- Increment every 8 runs
2	Wait		0.00 min	BI:D1	BO:D1	In / Out vial inc 8	Water dip to clean capillary tip- Increment every 8 runs
3	Inject - Voltage	1.0 KV	2.0 sec	SI:A1	BO:A6	Override, reverse polarity	Sample injection with 1ml dsDNA gel in outlet vial
4	Wait		0.00 min	BI:E1	BO:E1	In / Out vial inc 8	Water dip to clean capillary tip- Increment every 8 runs
5	Separate - Voltag	7.8 KV	25.00 min	BI:C1	BO:C1	0.17 Min ramp, reverse polarity, both, In / Out vial inc 8	Separation in dsDNA gel- Increment every 8 runs with 20psi pressure on both ends
6	1.00 Autozero						
7	25.00 End						
8							

図 5 シャットダウンメソッドのタイムプログラムタブ

Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1	Rinse - Pressure	20.0 psi	3.00 min	BI:E6	BO:E6	forward	Filling with dsDNA gel
2	Wait		0.00 min	BI:D6	BO:D6		Water dip
3	0.00 Separate - Voltag	5.0 KV	10.00 min	BI:C6	BO:C6	5.00 Min ramp, reverse polarity	
4	10.00 Wait		0.00 min	BI:D6	BO:D6		Water dip
5	10.01 End						
6							

試薬と原液の準備

dsDNA 1000ゲル緩衝液の調製

- dsDNA 1000 Gel Bufferバイアルに20.0 mLのDDI水を追加します。
- 磁気攪拌棒と攪拌板を使用して、dsDNA 1000 Gel Bufferが完全に溶解するまで溶液を攪拌します。
より効果的に攪拌するためには、dsDNA 1000 Gel Buffer ボトルの直径よりもわずかに短い攪拌棒を使用してください。
凍結乾燥したゲルが完全に溶解するまで最大24時間かかる場合があります。
- ゲル緩衝液を使用する直前に、0.45 µmフィルターでろ過し、1分間超音波処理して小さな気泡を取り除きます。
再水和した dsDNA 1000 Gel Bufferは、2 °C~8 °Cで保存すると 30 日間持続します。
- 15.0 µLLIFluor™ Enhance Dyeを20 mLの再水和、ろ過したゲル緩衝液に加え、よく混合します。
コンディショニング、8回のサンプル注入、およびシャットダウンには、12 mLのゲル緩衝液で十分です。

注意：データ損失の可能性。LIFluor™ Enhance Dyeを追加した後は、ゲル緩衝液をろ過しないでください。

注：ゲル緩衝液中のLIFluor™ EnhanCE Dyeの濃度は、10 µg/mLのDNAサンプルを飽和させるように最適化されています。ただし、DNA濃度が低い(<1 µg/mL)サンプルの場合は、再水和したゲル緩衝液のバイアルに追加するLIFluor™ EnhanCE Dye (<10 µL)を少なくします。

注：LIFluor™ EnhanCE Dyeは光に敏感です。使用しないときは、光を当てたままにしないでください。アルミホイルを使用してゲル緩衝液バイアルを覆うことで、光への露出を減らすことができます。

注：使用しないときは、常にLIFluor™ EnhanCE Dyeバイアルにしっかりと蓋をしてください。バイアルを開いたままにすると、メタノールが蒸発し、色素濃度が上昇します。

注：LIFluor™ EnhanCE Dyeは、室温で放置すると10時間後に劣化する可能性があります。

注意：データ損失の可能性。**dsDNA 1000 Gel Buffer**を加熱すると分離が悪くなる可能性がありますので、加熱しないでください。

サンプルを準備する

テスト混合の調製

1. 1 mLのDDI水をdsDNA 1000 Test Mixバイアルに加え、ボルテックスミキサーを使用してよく混合します。
2. 再構成したdsDNA 1000 Test Mix 100 µLをPCRマイクロバイアルに移します。100 µLのdsDNA 1000 Test Mixから1 µLのLIF Performance Test Mixをマーカーとしてマイクロバイアルに追加し、よく混合します。
3. PCRマイクロバイアルをユニバーサルバイアルに入れます。青いキャップで密封します。
4. 残りの再構成されたdsDNA 1000 Test Mixテスト混合の100 µLアリコートを追加のバイアルに移します。使用する前に、dsDNA 1000 Test Mix 100 µlあたり1 µLのLIF Performance Test Mixを追加します。
5. 再構成したテスト混合は、使用しないときは-35°C~-15°Cで保管してください。再構成されたテスト混合は、室温で保存すると劣化します。

サンプルの調製

1. DNA サンプルを DDI 水または トリス-EDTA緩衝液で約 10 ng/μL の DNA 濃度になるように希釈します。
2. 1 μLのLIF Performance Test Mixを100 μLの希釈したDNAサンプルに加え、十分に混合します。LIF Performance Test Mixはマーカーとして機能します。
3. 100 μLのサンプルをPCRマイクロバイアルに移して分析します。
利用可能なサンプル量が少ない場合は、5~10 μLのサンプルをnanoVialに移して分析します。

PA 800 Plus システムを準備する

本項では、データを取得するためにPA 800 Plusシステムを準備する手順について説明します。

本項で説明する手順は、システムがすでに適切にインストールされ、初期化されていることを前提としています。

LIF Detector のインストール

1. PA 800 Plusシステムの電源を切り、LIF検出器を取り付けます。システムメンテナンスガイドを参照してください。
2. システムの電源を入れます。
3. レーザーの電源を入れ、ランプが暖まるまで少なくとも 30 分間待ちます。

インターフェースブロックをクリーニングする

注意：ダメージを与える恐れ。ゲルが電極、オープニングレバー、キャピラリーエンド、およびインターフェースブロックに蓄積しないようにしてください。ゲルが蓄積すると、キャピラリーの破損、電極の曲がり、バイアルの詰まり、注入の失敗につながる可能性があります。

使用後または化学薬品の交換時に、電極、オープニングレバー、キャピラリー端、およびインターフェースブロックをクリーニングしてください。詳細な手順については、『システムメンテナンスガイド』を参照してください。

ゲル緩衝液は非常に粘性が高く、定期的かつ徹底的な洗浄を行わないと、システム内に蓄積する可能性があります。

キャピラリーの取り付け

注意：ダメージを与える恐れ。キャピラリーが脱水状態にならないようにしてください。キャピラリーの端を切り取ってから5～10分以内に、キャピラリー内部のコーティングの脱水が始まります。

注意：ダメージを与える恐れ。カートリッジに取り付ける前に、キャピラリーを最終的な長さまで切断しないでください。

- キャピラリーカートリッジの再構築手順を使用して、DNAキャピラリーをキャピラリーカートリッジに取り付けます。

推奨されるキャピラリー有効長は、窓まで30 cm、全長40.2 cmです。LIFアパチャを使用します。DNAサンプルが2 kbより大きい場合は、窓までの長さが40 cmである全長50.2cmなどのキャピラリーを使用できます。

長いDNAサンプルの分離の詳細については、SCIEX webサイトの技術的な注意事項を参照するか、またはSCIEX フィールドアプリケーションサイエンティストにお問い合わせください。

キャピラリーコーティングへの損傷を最小限に抑えるために、キャピラリーカートリッジの再構築手順の変更に従ってください。

- a. 2つのユニバーサルバイアルを1.5 mLのDDI水で満たし、青いキャップで覆います。
- b. キャピラリーインレット側のエンドキャップを切り取り、キャピラリーをカートリッジに取り付けます。キャピラリーをカートリッジに挿入した後、アウトレット側からエンドキャップを切り取り、カートリッジの組み立てを完了します。
- c. キャピラリーの両端を推奨された長さトリミングしてから、キャピラリーの両端をDDI水の入ったバイアルに沈めます。カートリッジの組み立て中は、キャピラリーの端部を5分～10分以上空気に触れさせないでください。

カートリッジを取り付ける検出器をキャリブレーションする

注：長期にわたって分析結果の一貫性を確保するため、PA 800 Plusシステムに取り付けるたびに、検出器をキャリブレーションすることを強くお勧めします。また、カートリッジのキャピラリーを交換した後、または別のカートリッジを取り付けた後に、検出器をキャリブレーションします。

1. バイアルからカートリッジを取り出します。
2. カートリッジをPA 800 Plusシステムに取り付けます。
3. 検出器をキャリブレーションします。

32 Karat™ ソフトウェアの機器の設定ダイアログから利用できるキャリブレーションウィザードを使用します。詳細な手順については、『システムメンテナンスガイド』を参照してください。キャリブレーションウィザードのステップ2で、次の表の値を使用します。

表 3 キャリブレーション校正パラメータ

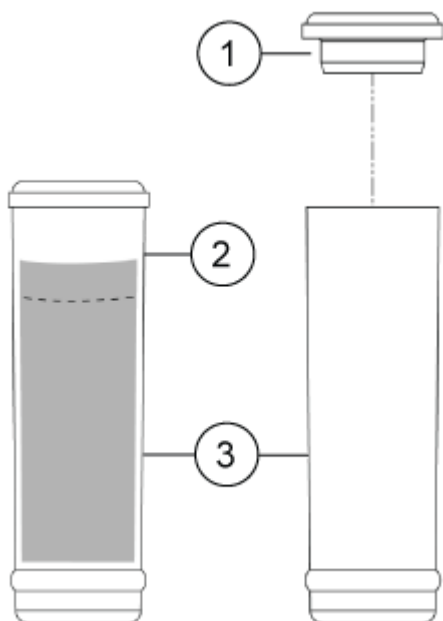
検出器チャンネル：	1
ターゲットRFU	62
キャピラリー寸法：	
内径	100 µm
全長	キャピラリーの長さに応じて、40cmまたは50cm

緩衝液トレイをロードする

注意：ダメージを与える恐れ。1.8 mLを超える液体をバイアルに入れないでください。また、廃液バイアルには 1.8 mLを超えて溜まらないようにしてください。バイアルの容量が 1.8 mL以上が含まれている場合、圧力システムが損傷する可能性があります。

1. 実行するサンプルの数に応じて、適切な数のバイアルを満たし、キャップします。☒
7を参照してください。

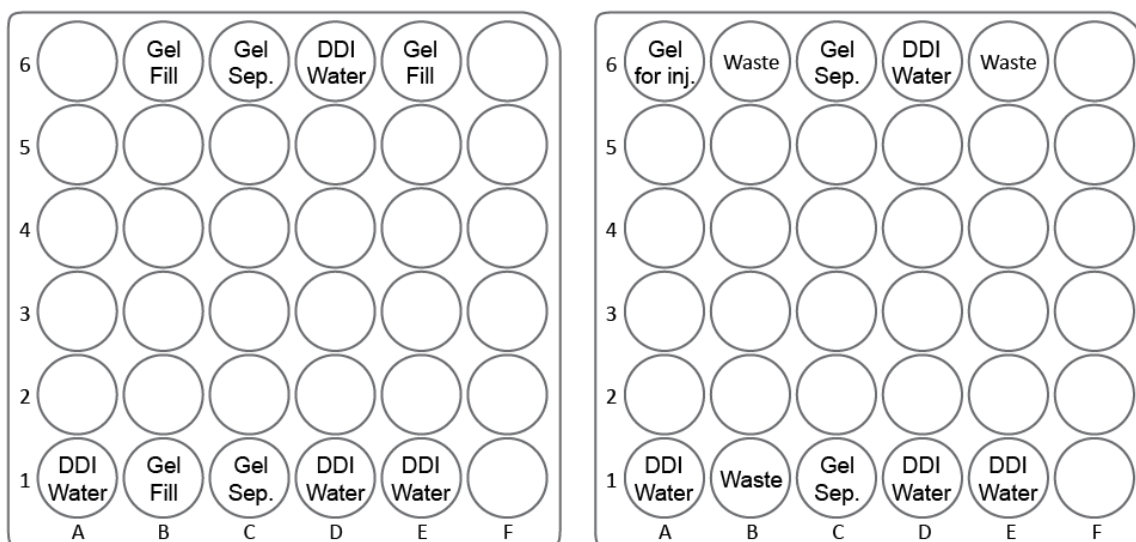
図 6 ユニバーサルバイアルとキャップのセットアップ



項目	説明
1	ユニバーサルバイアルキャップ
2	最大充填ライン
3	ユニバーサルバイアル

2. 次の図に示すように、バイアルを緩衝液トレイに入れます。各行は8回の実行に十分です。行6は増えません。

図 7 緩衝液インレットトレイ(BI)、左 および緩衝液アウトレットトレイ(BO)、右



- DDI H₂O : 1.5 mL DDI水
- ゲル充填 : LIFluor™ Enhance Dyeを含む1.5 mL dsDNA 1000 Gel Buffer
- ゲル分離 : LIFluor™ Enhance Dyeを含む1.5 mL dsDNA 1000 Gel Buffer
- ゲル注入 : LIFluor™ Enhance Dyeを含む1 mL dsDNA 1000 Gel Buffer
- 廃液 : 1 mL DDI水

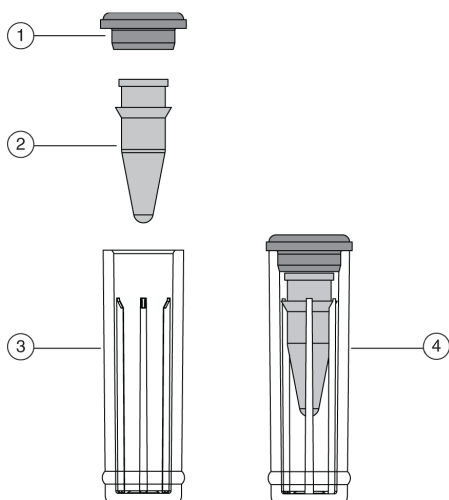
注 : このアプリケーションでは、すべてのバイアルとキャップは最大 8 回分析を行えるように設計されています。乾燥ゲルやその他の化学物質で汚染されている可能性があるため、キャップは再利用しないでください。

サンプルトレイのロード

1. サンプルを調製します。
 - PCRマイクロバイアル内のサンプルの場合、PCRマイクロバイアルをユニバーサルバイアルに入れ、バイアルをキャップで覆います。図 8を参照してください。

- ナノバイアルのサンプルの場合は、バイアルをキャップで覆います。

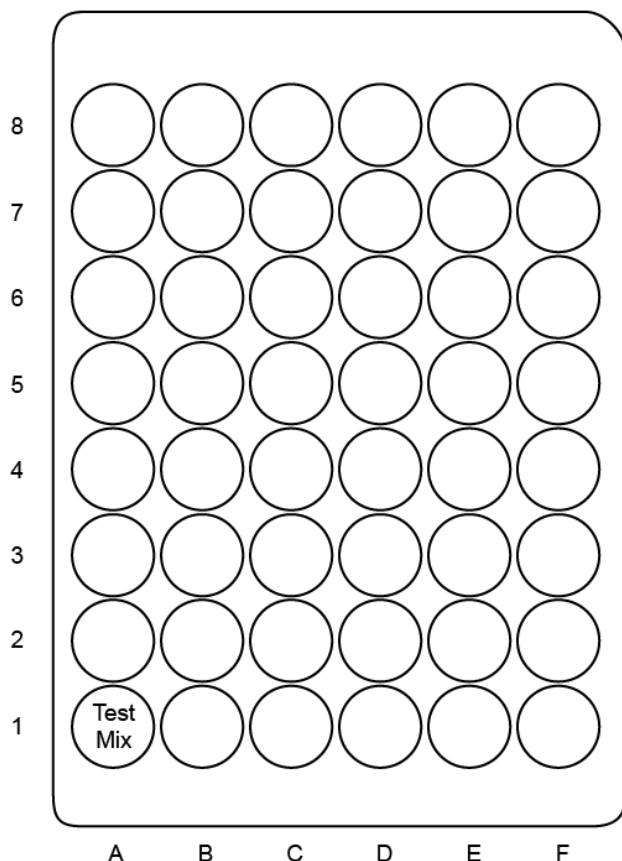
図 8 ユニバーサルバイアルに入ったPCRマイクロバイアル



項目	説明
1	ユニバーサルバイアルキャップ
2	PCRマイクロバイアル
3	ユニバーサルバイアル
4	ユニバーサルバイアル内のマイクロバイアル

2. サンプルバイアルをサンプルインレットトレイにロードします。
 サンプルを実行するには、A1の位置からサンプルトレイに入れ、他のウェルを充填する前にすべてのAウェルを充填します。

図 9 サンプルトレイインレット(SI)




サンプルを実行する

シーケンスを作成して実行を開始

注：以下の説明は、ユーザーが32 Karat™ソフトウェアを使用してシーケンスを作成および実行する方法に精通していることを前提としています。詳細な手順については、PA 800 Plus医薬品分析システムメソッド開発ガイドを参照してください。

1. 32 Karat™ソフトウェアを開きます。
2. 32 Karat™ソフトウェアウィンドウで、LIF検出器を搭載した装置を選択するか、新規に作成して装置を開きます。
3. テスト混合のみを実行するには、次の3行のシーケンスを作成します。
 - 行1 — コンディショニングメソッド

- 行2 —分離メソッド
 - 行3 —シャットダウンメソッド
4. 追加のサンプルを実行するには、各サンプルのコンディショニングメソッドの後に行を追加します。実行するサンプルの数に応じて、緩衝液トレイに十分なバイアルを充填します。各緩衝液バイアル行は5つのサンプルを実行します。
 5. LIF検出器レーザーがオンになっていること、サンプルトレイと緩衝液トレイがロードされていることを確認してから、
 をクリックしてシーケンスの実行ダイアログを開きます。
 6. ダイアログで必要な変更を行い、**Start**をクリックします。

廃棄物処理



警告！ 生物学的危険、有害化学物質の危険性。化学物質のバイアルおよびキャップ、および調製済みサンプルの残りを処分する際は、必要に応じて、地域の指令に従います。これらには、規制化合物や生物学的危険性のある物質が含まれていることがあります。

カートリッジを保管する

カートリッジを48時間未満保管する

1. シャットダウンメソッドを実行して、キャピラリーをクリーニングします。
シャットダウンメソッドは、キャピラリーをdsDNA 1000 Gel Bufferで満たします。
2. 二重脱イオン水のバイアルにキャピラリーの端を浸した状態で、カートリッジをシステムに最大48時間保管します。

カートリッジを 48 時間以上保管する

1. シャットダウンメソッドを実行して、キャピラリーをクリーニングします。
2. システムからカートリッジを取り外します。
3. キャピラリーの端を二重脱イオン水のバイアルに浸した状態で、カートリッジをカートリッジ保管ボックスに入れます。
4. カートリッジ保管ボックスを2℃から8℃の冷蔵庫に直立させて保管します。

保管後のカートリッジを準備する

- カートリッジが1日以上使用されていないか、長期間保管されていた場合は、コンディショニングメソッドを使用してキャピラリーをコンディショニングします。

結果を分析する

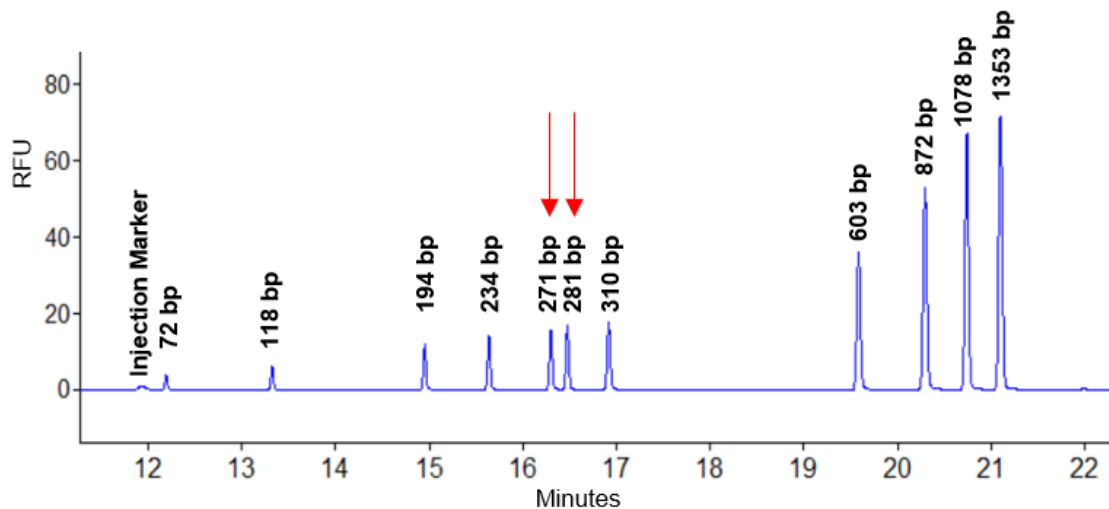
テスト混合のデータの分析

dsDNA 1000 Test Mixには、11個のフラグメントからなるPhi-X 174 DNA Hae IIIダイジェストが含まれています。テスト混合は、271 bp および281 bpフラグメントのベースライン分離で推奨される分離メソッドを使用して、25分以内に分離する必要があります。図10を参照してください。

電流は14 μ A~24 μ Aの間でかなり安定している必要があります。わずかな電流の変動は、キャピラリーが温度変動またはゲル緩衝液内の気泡の存在を経験していることを示している可能性があります。これにより、ノイズの多いベースライン、その他のスパイク、または幅広いピークが発生する可能性があります。使用前にゲル緩衝液バイアルを5秒間超音波処理して気泡を除去します。

DNAサンプルが2kbより大きい場合は、全長が50.2 cmなどの長いキャピラリーを使用できません。長いキャピラリーを反映するようにメソッドを変更します。長いDNAサンプルの分離の詳細については、SCIEX webサイトの技術的な注意事項を参照するか、またはSCIEX フィールド アプリケーション サイエнтиストにお問い合わせください。

図 10 テスト混合のエレクトロフェログラムの例



『分離メソッドについての、推奨されるサンプル注入』を参照してください。

分離メソッドに示されているように、1kVで2秒間実行される動電注入から始めます。必要に応じて、注入時間を5秒程度まで延長できます。

あるいは、塩濃度が高いサンプルの場合は、0.5 psiで10秒間実行される圧力注入から始めます。必要に応じて、注入時間を20秒程度まで延長できます。

最良の結果を得るためのヒント

- 異なる色素濃度を使用すると、移行時間にばらつきが生じる可能性があります。
 - 15 µLを超える LIFluor™ EnhanCE Dyeを使用すると、dsDNAフラグメントの移行時間が長くなります。
 - 15 µLを超える LIFluor™ EnhanCE Dyeを使用すると、dsDNAフラグメントが急速に移動します。たとえば、2 µLの LIFluor™ EnhanCE Dyeを使用した場合、72 bpフラグメントはLIF Performance Test Mixの前に移動します。
 - dsDNAピークのいずれかに負のベースラインアプセットが続く場合は、すべてのdsDNAを染色するのに十分なLIFluor™ EnhanCE Dyeがゲル緩衝液にありません。注入するサンプルを減らすか、ゲル緩衝液中のLIFluor™ EnhanCE Dyeの量を増やして、このアーチファクトを排除します。
- LIFluor™ EnhanCE DyeをdsDNAサンプルに直接添加すると、極端なピークテーリングが発生する可能性があります。LIFluor™ EnhanCE Dyeを分離ゲル緩衝液のみに添加します。
- 常に電流を監視します。平均電流の変化や電流の変動は、イオン強度の変化、ゲル緩衝液の劣化、気泡の形成を示すことがあります。これにより、ノイズの多いベースライン、その他のスパイク、または幅広いピークが発生する可能性があります。

DNAアプリケーションガイドのトラブルシューティング

表 4 LIFluorトラブルシューティング

症状	考えられる原因	修正アクション
低電流	キャピラリーはブロックされています。	次のいずれか： <ul style="list-style-type: none"> キャピラリーを二重脱イオン水で20 psiで10分間すすぎ、ゲル緩衝液を除去した後、コンディショニング法を用いてキャピラリーをコンディショニングします。 キャピラリーを交換します。『キャピラリーの取り付け』を参照してください。
広いピークまたは移行時間は実行ごとに変化	<ol style="list-style-type: none"> ゲルは電極上で乾燥しています。 ゲル緩衝液またはテスト混合が劣化しています。 	<ol style="list-style-type: none"> 電極、キャピラリーの端、レバーアームをクリーニングします。『インターフェースブロックのクリーニング』を参照してください。 必要に応じて、ゲル緩衝液またはテスト混合を交換してください。

表 4 LIFluorトラブルシューティング (続き)

症状	考えられる原因	修正アクション
ピークなし	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーはブロックされています。 2. キャピラリーウィンドウまたはチップが破損しています。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 次のいずれか： <ul style="list-style-type: none"> • キャピラリーを二重脱イオン水で20 psiで10分間すすぎ、ゲル緩衝液を除去した後、コンディショニング法を用いてキャピラリーをコンディショニングします。 • キャピラリーを交換します。『キャピラリーの取り付け』を参照してください。 2. キャピラリーを交換します。『キャピラリーの取り付け』を参照してください。
エレクトロフェログラムのスパイク	気泡はゲル緩衝液にあります。	再構成された緩衝液が室温になっていることを確認してください。使用前にゲル緩衝液を脱ガスしてください。ゲル緩衝液バイアルを5秒間超音波処理して、気泡を取り除きます。
ノイズの多いベースライン	ゲル緩衝液に微粒子が入っています。	0.45 µmポアフィルターを使用してゲル緩衝液をろ過し、微粒子を除去します。5秒間超音波処理して、気泡を取り除きます。
ピーク高さの減少	色素が劣化しました。	新鮮なLIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を準備します。LIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を光から保護します。

表 4 LIFluorトラブルシューティング (続き)

症状	考えられる原因	修正アクション
移行時間の変化	<ol style="list-style-type: none"> 1. 色素が劣化しました。 2. LIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液不均一です。 3. LIFluor™ Enhance Dyeが蒸発しました。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 新鮮なLIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を準備します。LIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を光から保護します。 2. LIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液が十分に混合されていることを確認してください。 3. 新鮮なLIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を準備します。LIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を光から保護します。
電流の変化	<ol style="list-style-type: none"> 1. 色素が劣化しました。 2. 電極が汚れています。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 新鮮なLIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を準備します。LIFluor™ Enhance Dye-ゲル溶液を光から保護します。 2. 電極とレバーアームをクリーニングします。インターフェースブロックをクリーニングするを参照してください。

表 4 LIFluorトラブルシューティング (続き)

症状	考えられる原因	修正アクション
低ピーク信号	<ol style="list-style-type: none">1. サンプル濃度が低すぎます。2. 色素濃度が高すぎます。3. キャピラリーウィンドウと検出器の位置が合っていない。	<ol style="list-style-type: none">1. 注入量を増やします。2. 希釈したサンプルのゲルに加える色素の量を減らします。3. カートリッジを調べて、キャピラリーウィンドウがカートリッジと正しく位置合わせされていることを確認します。
ピーク分解能の低い高ピークシグナル	サンプル濃度が高すぎます。	サンプルを希釈するか、注入するサンプルを減らします。サンプル負荷を減らすと、分離能とピーク効率の両方が向上します。

次の情報に注意して、関連する安全対策を講じる必要があります。詳細については、それぞれの安全性データシートを参照してください。これらは要求に応じて入手できるか、弊社のウェブサイト (sciex.com/tech-regulatory) からダウンロードできます。

HCS 2012 による危険物分類。

LIFluor Enhance Dye



危険！ 引火性の高い液体および蒸気。飲み込むと有毒です。皮膚に接触すると有毒です。吸入すると有毒です。臓器に損傷を与えます。

その他の試薬

他のベンダーの試薬については、使用前にベンダーの安全性データシートをお読みください。

お問い合わせ先

お客様のトレーニング

- 北米 : NA.CustomerTraining@sciex.com
- ヨーロッパ : Europe.CustomerTraining@sciex.com
- ヨーロッパおよび北米以外 : sciex.com/education

オンライン学習センター

- [SCIEX University™](#)

消耗品を購入する

SCIEX消耗品の再注文はオンライン (store.sciex.com) をご利用ください。ご注文の場合は見積書、注文確認書、または発送書類に記載されているアカウント番号をお使いください。現在、SCIEXオンラインストアは米国、英国、ドイツのみに対応しておりますが、将来的に他の国にも拡大予定です。米国、英国、ドイツ以外のお客様は、地域のSCIEXサービス担当者までご連絡ください。

SCIEXサポート

SCIEX およびその代理店は、十分に訓練を受けた保守／技術専門要員を世界中に有しています。システムまたは起こり得る技術的問題に関するご質問にお答えします。詳細な情報については、SCIEX ウェブサイト (sciex.com) を参照するか、以下の連絡先までお問い合わせください。

- sciex.com/contact-us
- sciex.com/request-support

サイバーセキュリティ

SCIEX製品のサイバーセキュリティに関する最新のガイダンスについては、sciex.com/productsecurityを参照してください。

ドキュメント

このマニュアルの本バージョンは、以前のバージョンに優先します。

このマニュアルを電子的に閲覧するにはAdobe Acrobat Readerが必要です。最新バージョンをダウンロードするには、<https://get.adobe.com/reader>にアクセスします。

ソフトウェア製品のマニュアルについては、ソフトウェアに付属のリリースノートまたはソフトウェアインストールガイドを参照してください。

ハードウェア製品のドキュメントを検索するには、システムまたはコンポーネントに付属のカスタマーリファレンス DVD を参照してください。

ドキュメントの最新版はSCIEXのウェブサイト (sciex.com/customer-documents) で入手できます。

注：このドキュメントの無料の印刷版を請求するには、sciex.com/contact-usまでお問い合わせください。
