

ssDNA 100-R

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

ssDNA 100-R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
UV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
トリス-ホウ酸-尿素緩衝液の調製.....	10
Prepare the ssDNA 100-R Gelの調製.....	11
サンプルを準備する.....	12
テスト混合の調製.....	12
サンプルの調製.....	12
PA 800 Plus システムを準備する.....	12
UV検出器 の取り付け.....	12
インターフェースブロックをクリーニングする.....	13
キャピラリーの取り付け.....	13
カートリッジを取り付ける.....	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.....	17
シーケンスを作成して実行を開始.....	17
廃棄物処理.....	18
カートリッジを保管する.....	18
カートリッジを48時間未満保管する.....	18
カートリッジを 48 時間以上保管する.....	18
保管後のカートリッジを準備する.....	19
結果を分析する.....	19
テスト混合のデータの分析.....	19
最良の結果を得るためのヒント.....	20
DNAアプリケーションガイドのトラブルシューティング.....	20
A 有害物質情報	24
お問い合わせ先.....	25

目次

お客様のトレーニング.....	25
オンライン学習センター.....	25
消耗品を購入する.....	25
SCIEXサポート.....	25
サイバーセキュリティ.....	25
ドキュメント.....	26

ssDNA 100-Rキット

このドキュメントでは、ssDNA 100-R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。

ssDNA 100-Rキットには、10~100塩基長のオリゴヌクレオチドの迅速な分離と分析に必要な材料が含まれています。このキットには交換可能なゲル緩衝液とコーティングキャピラリーが含まれており、再現性を最大限に高めることができます。

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

ssDNA 100-R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 ssDNA 100-Rキット（部品番号 477480）。

コンポーネント	数量	部品番号の再注文
DNAキャピラリー、65 cm、100 µm i.d.	2	477477
ssDNA 100-R Gel、凍結乾燥	1.0 g	477621

ssDNA 100-Rキット

表 1 ssDNA 100-Rキット（部品番号 477480）。（続き）

コンポーネント	数量	部品番号の再注文
トリス-ホウ酸緩衝液	1	（次の注を参照）
7M尿素	1	（次の注を参照）
pd(A) 40-60 Test Mix	0.2 O.D.	477626

注： トリス-ホウ酸緩衝液と尿素は、キットとして再注文できます。部品番号 338481を使用してください。

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 μ L	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

保管条件

- DNAキャピラリーとssDNA 100-R Gelを2°C～8°Cで保管します。
- pd(A) 40-60 Test Mixを-35°C～-15°Cで保管します。
- 再構成されていないトリス-ホウ酸緩衝液と尿素ボトルは室温で保管してください。

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）
 - 磁気攪拌板と攪拌棒
 - 10mLディスポーザブルシリンジ
 - メンブレンシリンジフィルター、0.2 μ mおよび0.45 μ mポア
 - （オプション）LABQUAKEローテーター（Barnstead International 部品番号 400110）
 - 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

254 nmフィルター付きのUV検出器が必要です。

注：このキットは、フォトダイオードアレイ（PDA）検出器との使用はお勧めしません。

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。

ssDNA 100-Rキットには、コンディショニングメソッド、ゲル充填メソッド、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](#)、[UV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 UV 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 ssDNA 100-Rキットメソッドの初期条件タブ

The screenshot displays the 'Initial Conditions' tab of a software interface. It features several configuration sections:

- Auxiliary data channels:** Includes checkboxes for Voltage (unchecked), Current (checked), Power (unchecked), and Pressure (unchecked). Voltage is set to 30.0 kV and Current to 40.0 µA.
- Mobility channels:** Includes checkboxes for Mobility (unchecked), Apparent Mobility (unchecked), and Plot trace after voltage ramp (checked).
- Analog output scaling:** Factor is set to 1.
- Temperature:** Cartridge is set to 30.0 °C and Sample storage to 15.0 °C.
- Peak detect parameters:** Threshold is set to 2 and Peak width to 9.
- 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 is set to 36 vials and Sample to 48 vials.
- Outlet trays:** Buffer is set to 36 vials and Sample to No tray.

UV検出器の初期条件

注：Initial Conditionsタブと UV 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 ssDNA 100-RキットメソッドのUV検出器初期条件 タブ

Initial Conditions | UV Detector Initial Conditions | Time Program

Electropherogram channel

Acquisition enabled

Wavelength: 254 nm

Data rate: 4 Hz

Filter

High sensitivity

Normal

High resolution

Peak width (points): 16-25

Relay 1

Off

On

Relay 2

Off

On

Absorbance signal

Direct

Indirect

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	2.00 min	BI:F1	BO:F1	forward	ddH2O Rinse
2		Rinse - Pressure	20.0 psi	2.00 min	BI:C1	BO:C1	forward	TBE Urea Buffer Rinse
3		Rinse - Pressure	50.0 psi	10.00 min	BI:D	BO:D1	forward	ssDNA Gel Fill
4	0.00	Separate - Voltag	3.0 KV	5.00 min	BI:B1	BO:B1	0.17 Min ramp, reverse polarity	Pre-electrophoresis between Buffer Vials
5	5.00	Separate - Voltag	9.0 KV	10.00 min	BI:B1	BO:B1	0.17 Min ramp, reverse polarity	Pre-electrophoresis between Buffer vials
6	15.00	End						
7								

図 4 ゲル充填メソッドのタイムプログラムタブ

Initial Conditions UV Detector Initial Conditions Time Program								
	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1		Rinse - Pressure	50.0 psi	10.00 min	BI:D1	BO:D1	forward, In / Out vial inc 5	ssDNA Gel Fill
2	0.00	Separate - Voltage	9.0 KV	10.00 min	BI:B1	BO:B1	0.17 Min ramp, reverse polarity, l	Pre-electrophoresis between Buffer vials
3	10.00	End						
4								

図 5 分離メソッドのタイムプログラムタブ

Initial Conditions UV Detector Initial Conditions Time Program								
	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1		Wait		0.00 min	BI:A1	BO:A1	In / Out vial inc 5	ddH2O dip
2		Inject - Voltage	5.0 KV	4.0 sec	SI:A1	BO:B1	Override, reverse polarity	Sample injection
3		Wait		0.00 min	BI:A1	BO:A1	In / Out vial inc 5	ddH2O Dip
4	0.00	Separate - Voltage	9.0 KV	45.00 min	BI:E1	BO:E1	0.17 Min ramp, reverse polarity, b	Separation Between Buffer Vials
5	1.00	Autozero						
6	45.01	End						
7								

図 6 シャットダウンメソッドのタイムプログラムタブ

Initial Conditions UV Detector Initial Conditions Time Program								
	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1		Rinse - Pressure	20.0 psi	2.00 min	BI:C1	BO:C1	forward	TBE Urea Buffer Rinse
2		Rinse - Pressure	50.0 psi	10.00 min	BI:D1	BO:D1	forward	ssDNA Gel Fill
3	0.00	Separate - Voltage	9.0 KV	10.00 min	BI:B1	BO:B1	5.00 Min ramp, reverse polarity	Pre-electrophoresis between Buffer vials
4	10.00	Lamp - Off						Lamp Off
5								

試薬と原液の準備

トリス-ホウ酸-尿素緩衝液の調製

1. 乾燥したトリス-ホウ酸緩衝液を入れたボトルに、135 mLのDDI水を加えます。
2. 大きなマグネット攪拌棒をメタノールで洗浄し、DDI水ですすぎます。
3. マグネット攪拌棒を使用して、ホウ酸が完全に溶解するまで溶液を20分から30分間攪拌します。

次のステップに進む前に、ホウ酸が完全に溶解していることを確認してください。

-
4. 溶液を攪拌し続けながら、7M尿素ボトルからのトリス-ホウ酸緩衝液に乾燥尿素をゆっくりと加えます。

注：処理を高速化するために緩衝液を加熱しないでください。これにより、緩衝液の使用可能寿命が短くなります。

尿素の溶解は吸熱性であるため、ボトルは非常に冷たくなる可能性があります。

5. 尿素が完全に溶解し、緩衝液が透明になるまで、室温で約2時間溶液を攪拌します。

注：磁気攪拌機の中には尿素を分解する熱を発生させるものがあります。緩衝液と攪拌機との間の絶縁体として段ボールの小片を使用すると、加熱を最小限に抑えることができます。

6. 2°C~8°Cでトリス-ホウ酸-尿素緩衝液を保管します。再構成されたトリス-ホウ酸-尿素緩衝液は、調製後最大30日間使用できます。

保存後のトリス-ホウ酸-尿素緩衝液の調製

1. 緩衝液を再構成して冷蔵保管していた場合は、使用前に緩衝液の容器全体を周囲温度に戻し、清潔な攪拌棒でゆっくりと連続的に攪拌します。
2. その日に使用するのに必要な量を取り除き、0.2 µmの使い捨てシリンジフィルターでろ過してきれいな容器に入れます。

Prepare the ssDNA 100-R Gelの調製

1. トリス-ホウ酸-尿素緩衝液をろ過します。
 - a. 緩衝液を再構成して冷蔵保管していた場合は、使用前に緩衝液の容器全体を周囲温度に戻し、清潔な攪拌棒でゆっくりと連続的に攪拌します。
 - b. 1日に必要なトリス-ホウ酸-尿素緩衝液の量を取り除き、0.2 µmの使い捨てシリンジフィルターでろ過し、その量を保持するのに十分な大きさの清潔な容器に入れます。
2. ろ過したトリス-ホウ酸-尿素緩衝液5.0 mLをssDNA 100-R Gelバイアルに加えます。
3. ssDNA 100-R Gelバイアルの直径よりわずかに短い清潔で乾燥した磁気バーを使用して、ゲルが完全に溶解するまで溶液を4時間~6時間攪拌します。または、ゲル溶液を冷蔵室（2°C~8°C）のローテーターに72時間置きます。
4. ゲルが完全に溶解した後、ssDNA 100-R Gel溶液を0.45 µmの使い捨てシリンジフィルターでろ過します。

サンプルを準備する

テスト混合の調製

1. 500 μ LのDDI水をpd(A) 40-60 Test Mixバイアルに加え、よく混合します。
2. 再構成したpd(A) 40-60 Test Mix100 μ LをPCRマイクロバイアルにピペットで移します。または、5~10 μ Lのサンプルをナノバイアルに加えます。
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テスト混合の100 μ L分割量を密封可能なバイアルに移します。
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. オリゴヌクレオチドサンプルをDDI水または0.2 μm のろ過したトリス-EDTA緩衝液で5 OD/mL~10 OD/mLの濃度に希釈します。
2. 100 μ L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 μ L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。

UV検出器の取り付け

1. PA 800 Plusシステムの電源を切り、UV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、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20 cm、全長30.2 cmです。100 μm × 200 μmのアパチャを使用します。

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

1. バイアルからカートリッジを取り出します。
-

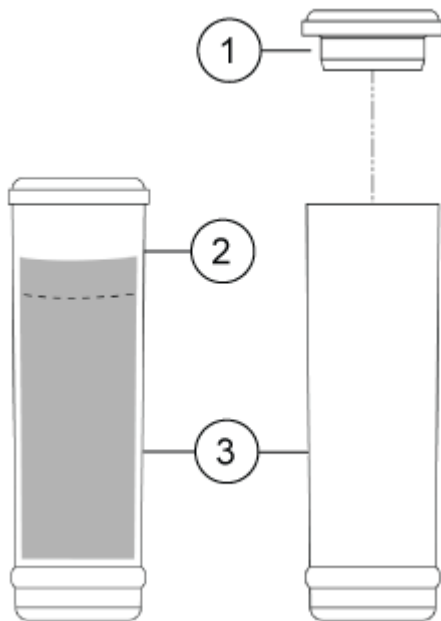
2. カートリッジをPA 800 Plusシステムに取り付けます。

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、圧カ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。☒ 8を参照してください。

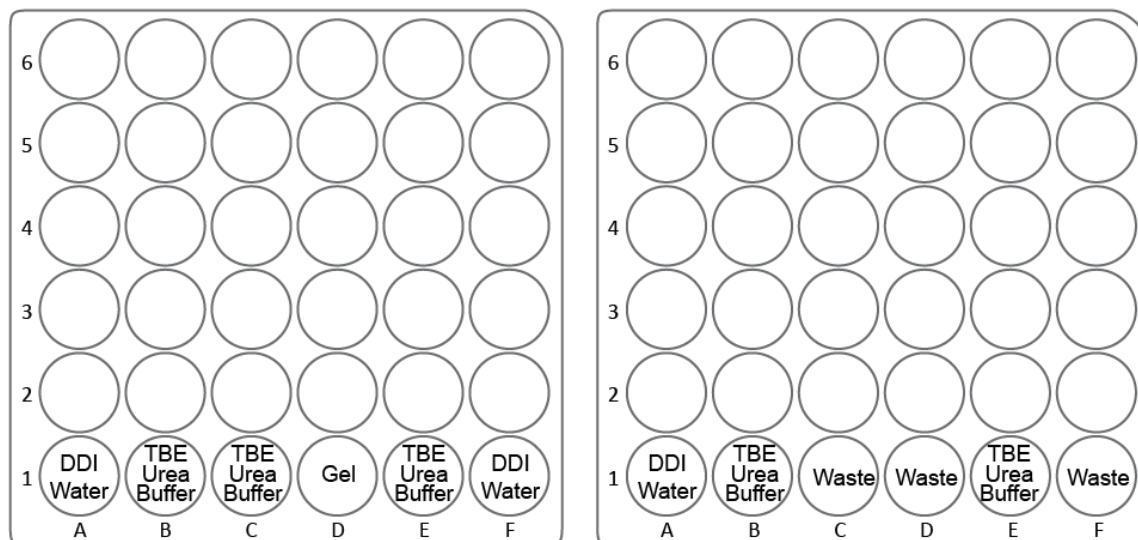
図7 ユニバーサルバイアルとキャップのセットアップ



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5回の実行に十分です。

図 8 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水 : 1.5 mL DDI水
- TBE尿素緩衝液 : 1.5mL トリス-ホウ酸-尿素緩衝液
- ゲル :
 - 5回以下の実行の場合 : 200 μ L ssDNA 100-R Gel.
 - 6回以上の連続場合の場合 : 1.5 mL ssDNA 100-R Gel.

注 : キャピラリー内のssDNA 100-R Gelは、ゲル充填法を使用して5回実行ごとに交換する必要があります。

- 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5回実行でき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。

注 : ssDNA 100-R Gelは、室温で24時間安定です。シーケンスが24時間以上続く場合は、ssDNA 100-R Gelを交換してください。

注 : ゲル緩衝液で充填されたバイアルのオンボード安定性は24時間です。

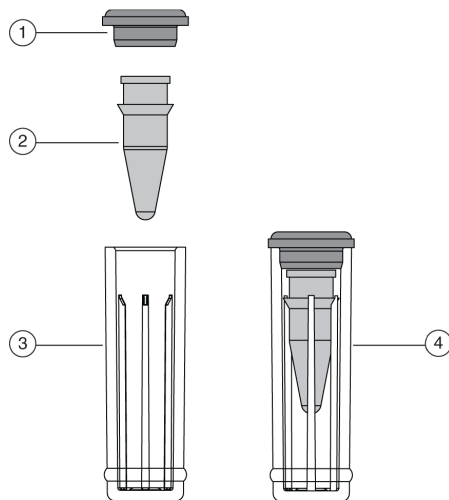
注：200 μ Lのゲル緩衝液を使用する場合は、ゲル緩衝液を緩衝液トレイに5時間以上放置しないでください。これにより、ゲル緩衝液の粘度が上昇するため、移行時間が長くなる可能性があります。

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9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9 ユニバーサルバイアルに入ったPCRマイクロバイアル

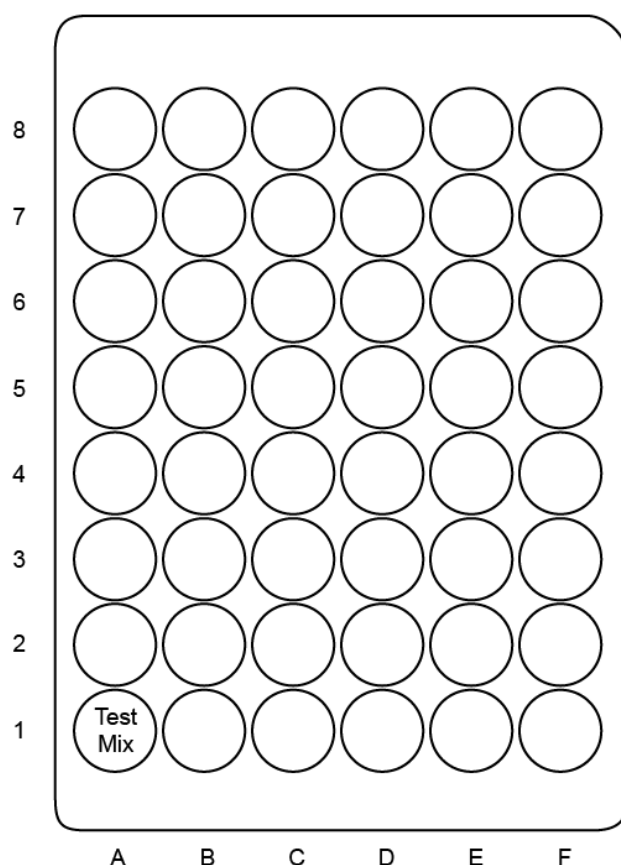


項目	説明
1	ユニバーサルバイアルキャップ
2	PCRマイクロバイアル
3	ユニバーサルバイアル
4	ユニバーサルバイアル内のマイクロバイアル

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 10 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、UV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. テストサンプルのみを実行するには、次の4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—ゲル充填法-5回の分離ごとに繰り返されます
 - 行3—分離メソッド
 - 行4—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. UVランプ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ssDNA 100-R Gel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 °Cから8 °C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

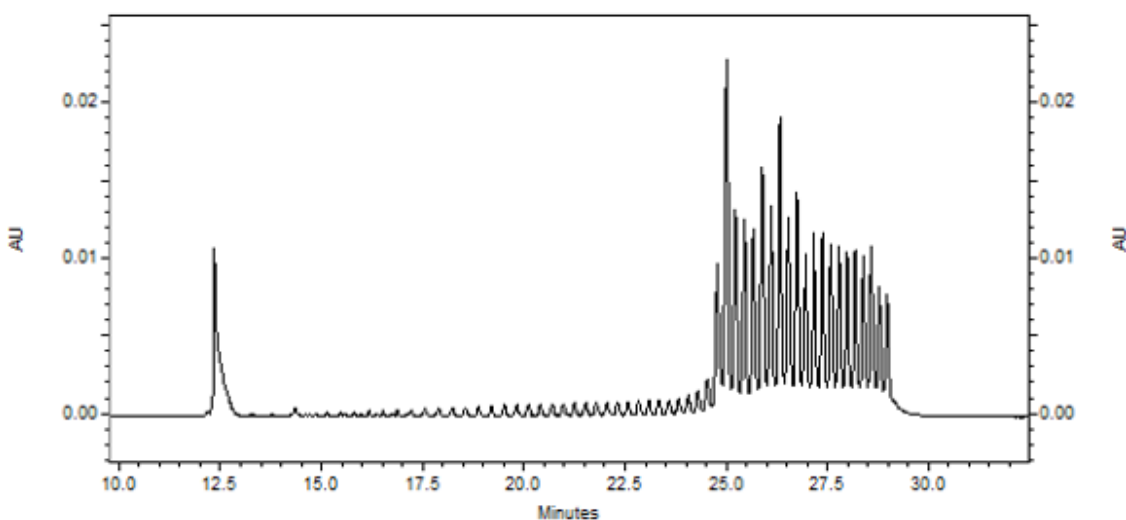
テスト混合のデータの分析

pd(A) 40-60 Test Mixは、300 V/cmの電界強度で30.2cmキャピラリーを使用した場合、45分で21個のオリゴヌクレオチドすべてのベースライン分離が得られます。図 11を参照してください。ピーク強度は、バッチ間のばらつきの結果として変化することがあります。結果が正しいことを確認するためにテスト混合に同梱されているエレクトロフィログラムを参照してください。電流は6 μ A~8 μ Aの間でかなり安定している必要があります。

注：12.5分間隔で図 11に発生するピークは、システムのピークです。

このキットの高い分解能は、各オリゴヌクレオチドの単一塩基分解能を達成するだけでなく、各オリゴヌクレオチドの脱リン酸化形態または他の汚染物質である可能性のある主要なピークの肩の出現を示すこともできます。しかし、これらの肩の強度は、テスト混合の調製におけるロット間のばらつきのために変化することがあります。

図 11 テスト混合のエレクトロフェログラムの例



最良の結果を得るためのヒント

- 時間の経過とともに分離能が低下する場合は、ゲル充填メソッドを使用してssDNA 100-R Gelを交換します。テストを実行して、分解能が向上したことを確認します。
- ベースライン分離が達成されない場合は、同じ電界強度（V/cm）を使用し、必要に応じてキャピラリー長を増やします。
- 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。

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 3 ssDNA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
分解能の低下	<ol style="list-style-type: none"> 1. 緩衝液またはテスト混合が劣化しています。 2. ゲルはキャピラリー内で劣化しています。 3. キャピラリーコーティングが悪い。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 新しい緩衝液またはテスト混合に変更します。 2. 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。 3. 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。

表 3 ssDNA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
低電流または不安定な低電流	<ol style="list-style-type: none"> 1. 緩衝液が劣化しています。 2. キャピラリーはブロックされています。 3. 気泡はゲルにあります。 4. 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. 緩衝液を交換します。 2. 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。 3. 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。 4. 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。

表 3 ssDNA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
実行から実行への移行時間に一貫性がない	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーは平衡化されていません。 2. ユニバーサルバイアルのゲルが劣化しています。 3. 電極が汚染されています。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 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。 2. ゲルバイアルを交換します。 3. 電極をクリーニングしてから、キャピラリーの端をクリーニングします。
ピークなしまたは低UV吸収	<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。 3. キャピラリーは平衡化されていません。 	<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。 3. 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。

表 3 ssDNA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
エレクトロフェログラムのスパイク	<ol style="list-style-type: none"> 1. 気泡はゲルにあります。 2. ゲルや緩衝液が汚染されていたり、微粒子が含まれています。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ゲルが室温であること、気泡が除去されていることを確認します。 2. 使用済みのバイアルを清潔なバイアルと交換します。ゲルと緩衝液を新たにろ過した溶液と交換します。
ベースラインが不安定またはシフトしている	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーは平衡化されていません。 2. ユニバーサルバイアルのゲルが劣化しています。 3. トリス-ホウ酸-尿素緩衝液が劣化しています。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 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。 2. ゲルバイアルを交換します。 3. 緩衝液を交換します。

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。

トリス-ホウ酸緩衝液



危険！ 飲み込むと有害な場合があります。皮膚に接触すると有害な場合があります。皮膚炎を引き起こします。目に深刻な刺激を引き起こします。呼吸器に刺激を与える場合があります。生殖能力または胎児への損傷が生じる可能性があります。

その他の試薬

これらのコンポーネントは有害物質として分類されていません。

- 7M尿素
- ssDNA 100-Rゲル
- pd(A) 40-60テスト混合

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。
