



The Power of Precision

---

# SDS-MW 分析キット

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 装置などの操作に使用する SCIEX 装置を購入した顧客に供給されます。本書は、著作権で保護されており、SCIEX が書面で許可した場合を除いて、本書またはその一部を複製することが固く禁じられています。

本書に記載のあるソフトウェアは、使用許諾契約の範囲内で提供されるものです。これらを複製、改修、配布することは、使用許諾契約で特別に定めがない限りいかなる場合においても禁じられています。また、当該ソフトウェアの解体、リバースエンジニアリング、およびデコンパイルを行うことも禁止とされます。保証については使用許諾契約に記載されています。

本書の一部には、各商標や機能の保有者として、他製造業者および / またはその製品名称の記載がなされている場合があります。そのような使用は、SCIEX によって提供されているように、製造業者の製品を装置への組込に指定することだけを目的とし、他者がそのような製造業者や製品名を商標として使用する権利やライセンスではありません。

SCIEX の保証は、販売時または製品のライセンスに提供される明示的保証に限られ、SCIEX の唯一かつ排他的な表明や保証、義務です。SCIEX は、明示または暗示的に関わらず、その他のいかなる保証もしません。また、法律または取引過程から生じるかどうかに関わらず、特定の目的の市販性または適合性の保証を含みます（ただし必ずしもこれらに限定されない）。これらはすべて明示的に排除されており、購入者による使用やそれから生じる悪状況に関して、間接的または派生的な損害を含む責任および偶発責任を一切負いません。

(GEN-IDV-09-10816-C)

本機器は研究専用です。診断目的での使用はできません。

本書に記載されている商標または登録商標は、関連するロゴを含め、米国またはその他の特定の国の AB Sciex Pte. Ltd. または各所有者の財産です。

AB SCIEX™ はライセンスに基づいて使用している商標です。

©2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



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

# コンテンツ

---

<b>SDS-MW 分析キット</b> . . . . .	<b>5</b>
安全性 . . . . .	5
使用目的 . . . . .	5
はじめに . . . . .	6
タンパク質サイズ標準 . . . . .	6
Internal Standard . . . . .	6
サンプル緩衝液 . . . . .	6
必要な機器と材料 . . . . .	7
保管条件 . . . . .	8
顧客が用意する機器および消耗品 . . . . .	8
必要な検出器 . . . . .	8
必要なカートリッジまたはキャピラリー . . . . .	8
メソッドとシーケンス . . . . .	9
サンプルを準備する . . . . .	9
SDS-MW Size Standard を準備する . . . . .	9
タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施する . . . . .	10
タンパク質サンプル濃度を判別する . . . . .	11
還元タンパク質サンプルを調製する . . . . .	11
非還元タンパク質サンプルを調整する . . . . .	12
アルキル化剤を調製する (250mM IAM ソリューション) . . . . .	12
アルキル化剤を使用して非還元サンプルを調製する . . . . .	12
PA 800 Plus System を準備する . . . . .	13
PDA 検出器を設置する . . . . .	13
インターフェースブロックをクリーニングする . . . . .	13
カートリッジを挿入して検出器を較正する . . . . .	14
緩衝液トレイをロードする . . . . .	14
サンプルトレイをロードする . . . . .	18
サンプルを実行する . . . . .	20
シーケンスを作成して実行を開始する . . . . .	20
廃棄物処理 . . . . .	24
カートリッジを保管する . . . . .	24
カートリッジを 10 日間未満保管する . . . . .	24
カートリッジを 10 日間以上保管する . . . . .	25
保管後のカートリッジを準備する . . . . .	25
結果を分析する . . . . .	25
タンパク質の分子量を推定する . . . . .	26
トラブルシューティング . . . . .	27
<b>A 有害物質情報</b> . . . . .	<b>29</b>
酸洗浄 / 再生液 (0.1 M HCl) . . . . .	29
酸洗浄 / 再生液 (0.1 M NaOH) . . . . .	29
低 pH SDS サンプルバッファー (100 mM Tris-HCl, pH 6.8, 1% SDS) . . . . .	29
低 pH リン酸塩 SDS サンプルバッファー (40 mM Phosphate, pH 6.5, 1% SDS) . . . . .	30

## コンテンツ

---

SDS-MW サンプルバッファー (100 mM Tris-HCl、pH 9.0、1% SDS) . . . . .	30
SDS-MW ゲル緩衝液、独自仕様 (pH 8.0、0.2% SDS) . . . . .	30
その他の試薬 . . . . .	30
<b>B メソッド . . . . .</b>	<b>31</b>
初期条件 . . . . .	31
検出器の初期条件 . . . . .	32
タイムプログラム . . . . .	32
<b>C 低 pH SDS サンプルバッファーの使用 . . . . .</b>	<b>35</b>
SDS MW 分離メソッドに圧力注入の追加 . . . . .	35
Low pH SDS Sample Buffer を使用して得られた結果 . . . . .	37
<b>D 低 pH リン酸塩 SDS サンプルバッファーの使用 . . . . .</b>	<b>39</b>
Low pH Phosphate SDS Sample Buffer について . . . . .	39
Low pH Phosphate SDS Sample Buffer を使用して得られた結果 . . . . .	40
非還元条件を使用した一般的な結果 . . . . .	40
還元条件を使用した一般的な結果 . . . . .	41
<b>E Waters Empower™ Software でサンプルを実行 . . . . .</b>	<b>43</b>
装置メソッドの作成 . . . . .	43
メソッドセットの作成 . . . . .	47
複数のプレートを使用するようにソフトウェアを構成する . . . . .	49
サンプルセットメソッドの作成とサンプルの実行 . . . . .	52
<b>改訂履歴 . . . . .</b>	<b>57</b>
<b>お問い合わせ先 . . . . .</b>	<b>59</b>
お客様のトレーニング . . . . .	59
オンライン学習センター . . . . .	59
消耗品を購入する . . . . .	59
SCIEX サポート . . . . .	59
サイバーセキュリティ . . . . .	60
ドキュメント . . . . .	60

# SDS-MW 分析キット

SCIEX SDS-MW 分析キットでは、PA 800 Plus 医薬品分析システムを使用して、還元タンパク質と非還元タンパク質の両方を分析するためのサンプル調製およびメソッドのための試薬と消耗品が提供されています。

このドキュメントでは、サンプル調製の手順と、PA 800 Plus 医薬品分析システムを使用してサイズごとに還元タンパク質と非還元タンパク質の両方を解決する方法を説明します。

---

注：システムを安全に使用するための手順については、[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](http://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。標準的な実験室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

---

SDS-MW 分析キットの使用目的は実験室での使用に限定されています。

## はじめに

---

キャピラリー電気泳動 (CE) は自動化、定量化でき、高速で効率が高いため、手動スラブゲル電気泳動プロセスの効果的に代替するようになりました。タンパク質、炭水化物、核酸などの多くの生体分子は、キャピラリーゲル電気泳動 (CGE) と呼ばれる技術により、ゲルマトリックスを使用した分子ふるい電気泳動によって分離されます。分離は、ゲルマトリックスを通過する検体の移動の差から生じます。この場合、小さな分子は大きな分子よりも速く分離ゲルを通過します。ポリペプチドおよびタンパク質の場合、SDS の存在下でサンプルを変性する必要があります。SDS は、タンパク質を 1 : 1.4 の一定の比率で結合するアニオン性界面活性剤です。SDS 結合タンパク質の一定の質量電荷特性により、タンパク質 1 グラム : SDS 1.4 グラムの一定の比率で分離できます。

このメソッドには、交換可能なゲルマトリックスを使用したタンパク質 SDS 複合体の分離が含まれます。ゲルは約 10 kDa ~ 225 kDa の有効な分画範囲になるように調製されています。このサイズ範囲内では、タンパク質分子量の対数は、その相互電気泳動移動度と線形になります。そのため、未知のタンパク質の分子量は、既知のタンパク質サイズの標準曲線から推定できます。このキットは、タンパク質の量を定量化し、タンパク質製品の純度を判別するためにも使用できます。

---

注: このアプリケーションガイドは、PA 800 Plus 医薬品分析システムで検証されています。

---

### タンパク質サイズ標準

SDS-MW Size Standardには、10kDa、20kDa、35kDa、50kDa、100kDa、150kDa、および 225kDa のタンパク質が含まれています。SDS-MW Size Standardは、ゲルをキャリブレーションし、サンプルのタンパク質分子量を推定するために使用されます。これにより実験の分解能を確認することもできます。

### Internal Standard

10 kDa タンパク質 Internal Standardは、モビリティマーカースとして使用されます。すべてのタンパク質サンプルの移動度は、この移動度マーカースと比較して計算されるため、より正確なサイズの推定と分析物の識別が可能になります。

### サンプル緩衝液

- ・ SDS-MW Sample Buffer: SDS-MW Sample Bufferは、SDS-MW 分析キットの一部として提供されます。この緩衝液は、1% SDS を含む pH 9.0 の 100 mM Tris-HCl で構成されています。
- ・ Low pH SDS sample buffers: 場合によっては、低 pH のサンプルバッファースは ( SDS-MW Sample Buffer サンプルバッファースと比較して)、タンパク質の分解を最小限に抑えることでサンプルの安定性を向上させる可能性があります。これらのサンプルについては、SCIEX low pH SDS sample buffersを個別に入手できます。
  - Low pH SDS Sample Buffer: この緩衝液は、1% SDS を含む pH 6.8 の 100 mM Tris-HCl で構成されています。
  - Low pH Phosphate SDS Sample Buffer: この緩衝液は、1% SDS を含む pH 6.5 の 40 mM リン酸塩で構成されています。このバッファースは、中国薬局方の仕様を満たしています。

## 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 キット内訳 (PN 390953)

コンポーネント	数量	部品番号の再注文
キャピラリー、内径 50 $\mu$ m ベアフューズドシリカ	2	338451
SDS-MW Gel Buffer、独自仕様、pH 8.0、0.2% SDS	140 mL、 4 パック	A30341
SDS-MW Sample Buffer、100 mM Tris-HCl、pH 9.0、1% SDS	50 mL	該当なし
SDS-MW Size Standard、10 kDa~225 kDa、16 mg/mL	100 $\mu$ L	A22196
Internal Standard、10 kDaタンパク質、5 mg/mL	0.4 mL	A26487
Acid Wash/Regenerating Solution、0.1 M HCl	100 mL	該当なし
Basic Wash Solution、0.1 M NaOH	100 mL	338424

表 2 SCIEX の追加消耗品

コンポーネント	数量	部品番号
(オプション)Low pH SDS Sample Buffer、100 mM Tris-HCl、pH 6.8、1% SDS	140 mL	G44807
(オプション)Low pH Phosphate SDS Sample Buffer、40 mM リン酸塩、pH 6.5、1% SDS	140 mL	C57805
マイクロバイアル、200 $\mu$ L	100	144709
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

表 3 追加の必要な試薬と機器

コンポーネント	数量	Part Number
2-メルカプトエタノール	シグマアルドリッチ	M7154
ヨードアセトアミド	シグマアルドリッチ	I-1149
(オプション) Ultracel-10メンブレンを備えたAmicon Ultra-4遠心フィルターユニット	ミリポア	UFC801024

## 保管条件

- ・ 受け取り次第、SDS-MW Size Standardと10 kDa Internal Standardを2 ° C~8 ° Cで保管します。
- ・ キャピラリー、SDS-MW Sample Buffer、SDS-MW Gel Buffer、Acid Wash/Regenerating Solution、およびBasic Wash Solutionは室温で保管してください。
- ・ Low pH SDS Sample BufferおよびLow pH Phosphate SDS Sample Bufferは室温で保管してください。

---

注：ゲル緩衝液またはサンプルバッファーを冷蔵保存すると、沈殿物が生じる可能性があります。沈殿物が存在する場合は、使用前に沈殿物が完全に溶解するまで緩衝液を攪拌します。

---

## 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
- ・ テーブルトップ小型遠心分離機
- ・ マイクロ遠心分離機または同等品、および微小遠心分離管
- ・ ウォーターバスまたはヒートブロック、37 ° C ~ 100 ° C
- ・ ボルテックスミキサー
- ・ 分析バランス
- ・ ピペットと適切なヒント
- ・ パラフィルム
- ・ へら
- ・ 二重脱イオン（DDI）水（0.2 μm フィルターでろ過され、抵抗が 18MΩ を超える MS グレードの水）

## 必要な検出器

フォトダイオードアレイ（PDA）型検出器が必要です。

## 必要なカートリッジまたはキャピラリー

次のいずれか：

- ・ 組み立て済みカートリッジ（PN A55625）
- ・ キャピラリーカートリッジ（部品番号 144738）およびキャピラリー、ベアフェーズドシリカ、内径50μm（部品番号 338451）
- ・ カートリッジ再構築キット（PN 144645）



---

## メソッドとシーケンス

---

注: 次の情報は、PA 800 Plusと32 Karat™ Softwareを備えるPA 800 Plus Systemを使用するユーザーに適用されます。システムがEmpower™ソフトウェアで使用される場合、メソッドは異なります。[Waters Empower™ Softwareでサンプルを実行](#) を参照してください。

---

メソッドとデータファイルは、PA 800 Plusコントローラーにインストールされます。ダウンロードすることはできません。メソッドとシーケンスは、32 Karat™ Softwareを使用して手動で作成することもできます。[メソッド](#) を参照してください。

メソッドは C:\¥32Karat¥¥projects¥¥SDS-MW¥¥Method の PA 800 Plus コントローラーにあります。

- ・ SDS MW Conditioning - PA 800 plus.met: 毎日の開始時にキャピラリーを調製します。
- ・ SDS MW Separation - PA 800 plus.met: SDS-MW 分離を実施します。
- ・ SDS MW Shutdown - PA 800 plus.met: シーケンスの最後にキャピラリーをシャットダウンしてクリーニングし、キャピラリーを洗浄して保管し、UV ランプをオフにします (PDA 検出器のレーザーをオフにします)。

シーケンスファイルは、C:\¥32Karat¥¥projects¥¥SDS-MW¥¥Sequence のPA 800 Plusコントローラーにあります。

- ・ SDS MW - 24 サンプル - PA 800 plus.seq

---

## サンプルを準備する

---

### SDS-MW Size Standard を準備する

---

- 1 SDS-MW Size Standardを室温で 15 分間解凍します。
  - 2 SDS-MW Size Standardを完全に混合し、標準マイクロ遠心分離機を使用して、チューブを軽く回転させます。
  - 3 ピペットで 10 µL のSDS-MW Size Standardを 0.5 mL マイクロ遠心分離機に入れます。
  - 4 SDS-MW Sample Buffer 85 µL を微量遠心管に加えます。
  - 5 10 kDa のInternal Standard 2 µL を微量遠心管に加えます。
  - 6 ドラフト内で、微小遠心管に 5µL の 2-メルカプトエタノールを加えます。
-

- 7 バイアルキャップをパラフィルムで密封し、完全に混合し、100 ° C の熱湯で 3 分間加熱します。
  - 8 遠心分離機を使用して、300gでチューブを1分間回転させます。
  - 9 チューブを室温の水に浸し、注入前に 5 分間冷却します。サンプルは約 24 時間安定するはずですが。
  - 10 調製したサンプル 70  $\mu\text{L}$ ~90  $\mu\text{L}$  をマイクロバイアルに移し、マイクロバイアルをユニバーサルバイアルに入れ、ユニバーサルバイアルにキャップをします。
- 

## タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施する

---

注：この分析のシグナル強度と分解能は、タンパク質サンプルの塩濃度に敏感に反応します。サンプル濃度が高すぎる場合、信号レベルが低くなるか、ピークテーリングが発生する可能性があります。以下の手順で、SDS-MW Sample Bufferを Amicon Ultra-4 遠心フィルターユニットと交換します。

---

注：別のベンダーのデバイスを使用した脱塩/バッファー交換手順については、使用する前にベンダーのユーザーガイドをお読みください。

---

- 1 タンパク質サンプル 1 mL をフィルターユニットに加えます。
  - 2 遠心分離機を使用して、4,000g でサンプルを 15 分間回転させます。
  - 3 SDS-MW Sample Buffer 2 mL を加え、遠心分離機を使用して、4,000g で 25 分間回転させます。
  - 4 反転した位置でフィルターユニットを新しいバイアルに入れてから、遠心機を使用して、1,000g でバイアルを 3 分間回転させます。タンパク質溶液がバイアルに集まります。
  - 5 収集したタンパク質を適切な滅菌チューブに移します。SDS-MW Sample Bufferを加えて最終容量を 1 mL にします。
-

## タンパク質サンプル濃度を判別する

SDS-MW Sample Bufferの添加後、総タンパク質濃度は 0.2 mg/mL ~ 2 mg/mL の範囲になります。最良の結果を得るため、タンパク質濃度は 1 mg/mL が推奨されています。タンパク質濃度が高すぎると、SDS 結合が不十分になり、ピークがブロード化し、分解能が低下する可能性があります。タンパク質濃度が低すぎる場合、信号レベルが低すぎることになりかねません。

## 還元タンパク質サンプルを調製する

ジスルフィド結合の還元により、タンパク質の分子量のより正確な評価が提供され、特定のタンパク質に関する追加の構造情報を取得できるようになります。

- 1 SDS-MW Sample Bufferでサンプルを 95  $\mu$ L の総量に希釈して、最終タンパク質濃度を 0.2mg/mL ~ 2mg/mL にします。
- 2 10kDa のInternal Standard 2  $\mu$ L をタンパク質サンプルチューブに加えます。
- 3 ドラフト内で、タンパク質サンプルチューブに 5  $\mu$ L の 2-メルカプトエタノールを加えます。
- 4 チューブにしっかりと蓋をし、パラフィルムで密封し、完全に混合します。
- 5 チューブを 100 ° C の熱湯で 3 分間加熱します。
- 6 遠心分離機を使用して、300gでチューブを1分間回転させます。
- 7 チューブを室温の水に浸し、注入前に 5 分間冷却します。
- 8 調製したサンプル 70  $\mu$ L~90  $\mu$ L をマイクロバイアルに移します。マイクロバイアルをユニバーサルバイアルに入れ、ユニバーサルバイアルにキャップします。マイクロバイアルに気泡がないことを確認してください。

**ヒント!** マイクロバイアルから気泡を取り除くには、ピペットを使用して気泡を静かに吸引します。

## 非還元タンパク質サンプルを調整する

タンパク質の還元状態と非還元状態の比較により、重要な構造情報が得られます。

非還元サンプルを調製する前に、250 mM のヨードアセトアミド (IAM) 溶液を調製します。IAM 溶液は、サンプルの調製中にアルキル化剤として機能し、タンパク質の部分的な自己還元から生じる不均一性を最小限に抑えます。

### アルキル化剤を調製する (250mM IAM ソリューション)

- 1 ヨードアセトアミド (IAM) 46mg を計量します。
- 2 IAM を 1.5 mL 遠心チューブに移します。
- 3 1 mL の二重脱イオン水を 1.5 mL 遠心チューブに加えます。
- 4 チューブにしっかりと蓋をし、溶解するまで完全に混合し、室温で暗所に保管します。溶液は室温で約 24 時間安定するはずです。

### アルキル化剤を使用して非還元サンプルを調製する

注: 非還元条件下では、SDS 結合を促進するためにサンプル溶液を高温で加熱する必要があります。ただし、タンパク質サンプルを高温で加熱すると、断片化と凝集が生じ、サンプル分析にアーチファクトが生じる可能性があります。

このアルキル化手順は、温度によって生成されるタンパク質サンプルのアーチファクトを最小限に抑えるために推奨されます。また、非還元サンプルには、low pH SDS sample buffers のいずれかを使用することをお勧めします。Low pH SDS Sample Bufferは、メソッドに起因するアーチファクトをさらに削減することが証明されています。

- 1 SDS-MW Sample Bufferでサンプルを 95  $\mu$ L の総量に希釈して、最終タンパク質濃度を 0.2mg/mL ~ 2mg/mL にします。
- 2 10 kDa のInternal Standard 2 $\mu$ L をタンパク質サンプルチューブに加えます。
- 3 ドラフト内で、サンプルタンパク質チューブに 250 mM IAM 溶液 5 $\mu$ L を加えます。
- 4 チューブにしっかりと蓋をし、パラフィルムで密封し、完全に混合します。
- 5 遠心分離機を使用して、300gでチューブを1分間回転させます。

- 6 バイアルを 70 ° C の熱湯で 3 分間加熱します。
- 7 遠心分離機を使用して、300gでチューブを1分間回転させます。
- 8 チューブを室温の水に浸し、注入前に 5 分間冷却します。
- 9 調製したサンプル 70  $\mu\text{L}$ ~90  $\mu\text{L}$  をマイクロバイアルに移します。マイクロバイアルをユニバーサルバイアルに入れ、ユニバーサルバイアルにキャップします。マイクロバイアルに気泡がないことを確認してください。

**ヒント!** マイクロバイアルから気泡を取り除くには、ピペットを使用して気泡を静かに吸引します。

## PA 800 Plus System を準備する

このセクションでは、データを取得するためのPA 800 Plus System準備の手順について説明しています。

このセクションで説明する手順は、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。

## PDA 検出器を設置する

- 1 PA 800 Plus Systemの電源を切り、PDA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:** システムが損傷する可能性があります。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。

電極、オープニングレバー、キャピラリーチップ、およびインターフェースブロックは、毎週定期的に、あるいは化学物質を交換する際に清掃してください。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。

SDS-MW Gel Buffer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。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。

### カートリッジを挿入して検出器を校正する

---

注：分析結果が長期にわたって一貫したものとなるように、PA 800 Plus Systemに検出器を取り付けるたびに、キャリブレーションを行う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。

---

注：Empower™ Softwareの場合、キャリブレーション手順はPA 800 Plus Empower™ドライバーユーザーガイドに記載されています。

---

- 1 カートリッジを箱から取り出し、必要に応じてキャピラリーを取り付けます。
  - 2 カートリッジをPA 800 Plus Systemに取り付けます。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。
  - 3 前面パネルを閉じます。
  - 4 検出器をキャリブレーションします。  
32 Karat™ Softwareの[Instrument Configuration]（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。
- 

### 緩衝液トレイをロードする

---



**危険！有害化学物質の危険性があります。**使用前にAcid Wash/Regenerating Solution (0.1 M HCl)、Basic Wash Solution (0.1 M NaOH)、およびSDS-MW Gel Bufferについて、**安全性データシート**をお読みください。

---

詳細については、[有害物質情報](#) を参照してください。

---

注：分離を開始する前に、SDS-MW Gel BufferおよびSDS-MW Sample Bufferを室温にします。

---

試薬バイアルの数は、メソッドサイクルの数によって異なります。8 サイクル後に試薬バイアルを自動的に前進させ、8 サイクルごとに新しい緩衝液セットを供給するメソッドが開発されています。

1 ゲルリンス (Gel-R) バイアルに 1.2 mL の SDS-MW Gel Buffer を入れます。

注：泡立たないように緩衝液バイアルを推奨量になるまで SDS-MW Gel Buffer で満たしてください。量が少なすぎる場合（バイアルの容量の半分未満）、分離時にキャピラリーとエレクトロードを SDS-MW Gel Buffer に浸せない可能性があります。量が多すぎる場合、SDS-MW Gel Buffer がキャピラリーの端とエレクトロードに蓄積し、システム障害が発生する可能性があります。

2 ゲル分離 (Gel-S) バイアルに 1.1 mL の SDS-MW Gel Buffer を入れます。

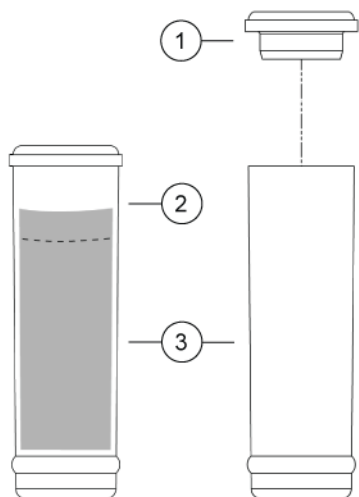
3 水 (H<sub>2</sub>O) バイアルに 1.5 mL の二重脱イオン水を満たします。

4 NaOH および HCl バイアルに、それぞれ 1.5 mL の 0.1 M NaOH および 0.1 M HCl 溶液を満たします。

5 廃棄バイアルに 1.0 mL の二重脱イオン水を満たします。

注：システムが損傷する可能性があります。廃液バイアルに 1.8 mL を超えて充填しないでください。バイアルの容量が 1.8 mL を超えると、圧力システムが損傷する可能性があります。

図 1 ユニバーサルバイアルとキャップのセットアップ



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

---

6 ユニバーサルバイアルに青いキャップをかぶせます。

---

7 図 2 および 図 3 に示すように、試薬バイアルを緩衝液トレイにロードします。

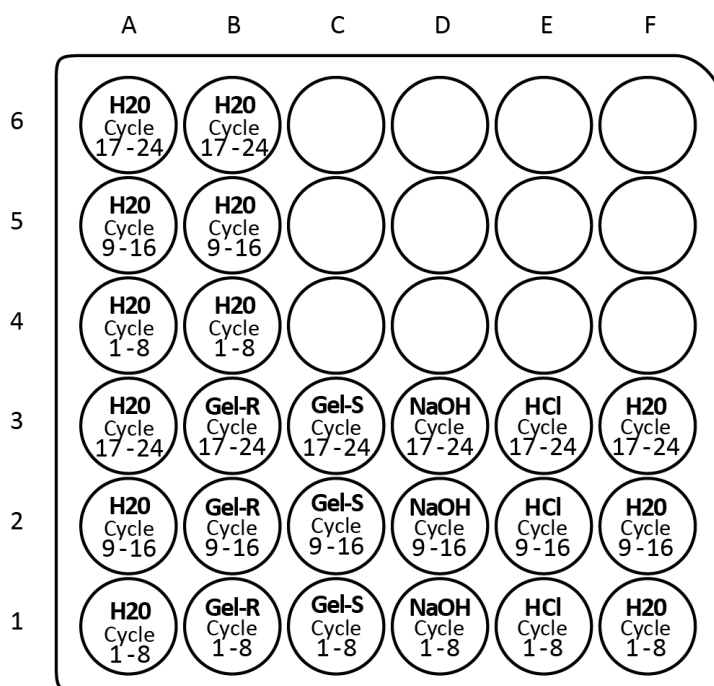
---

**重要:** 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ランを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。

---



図 2 インレットバッファートレイのレイアウト



A1 から A6 : 1.5 mL DDI H<sub>2</sub>O、浸漬ステップで使用して、キャピラリーチップを洗浄

B4 から B6 : 1.5 mL DDI H<sub>2</sub>O、浸漬ステップで使用して、キャピラリーチップを洗浄

B1 から B3 : SDS-MW Gel Buffer 1.2 mL、各サイクルの前にキャピラリーを洗浄/充填するために使用 (Gel-R)

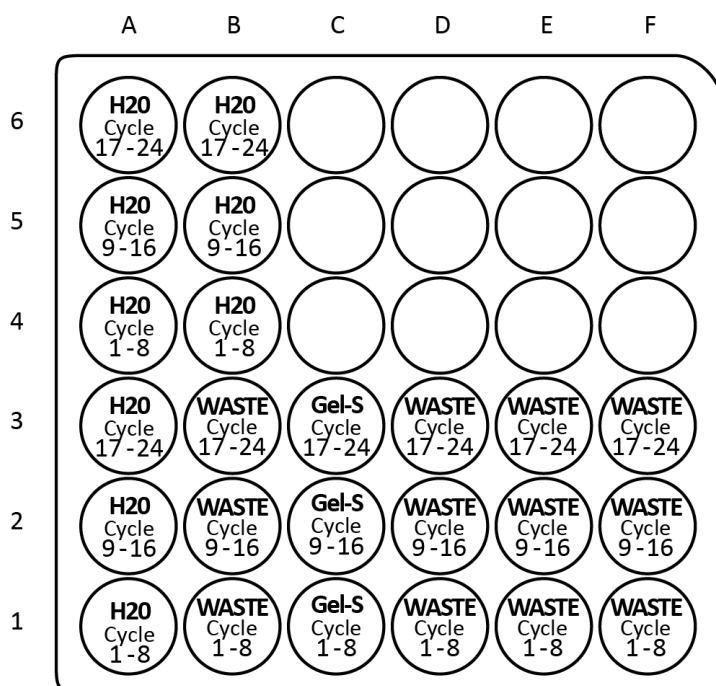
C1 から C3 : SDS-MW Gel Buffer 1.1 mL、分離に使用 (Gel-S)

D1 から D3 : 1.5 mL 0.1 M NaOH 溶液、キャピラリーの調整に使用

E1 から E3 : 1.5 mL 0.1 M HCl 溶液、キャピラリーの調整に使用

F1 から F3 : 1.5 mL DDI H<sub>2</sub>O、キャピラリーの調整に使用

図 3 アウトレットバッファートレイのレイアウト



A1 から A6 : 1.5 mL DDI H<sub>2</sub>O、浸漬ステップで使用して、キャピラリーチップを洗浄

B4 から B6 : 1.5 mL DDI H<sub>2</sub>O、浸漬ステップで使用して、キャピラリーチップを洗浄

B1 から B3 : 1.0 mL DDI H<sub>2</sub>O、SDS-MW ゲル緩衝液リンス用の廃液

C1 から C3 : SDS-MW Gel Buffer 1.1 mL、分離に使用

D1 から D3 : 1.0 mL DDI H<sub>2</sub>O、0.1 M NaOH 溶液リンス用の廃液

E1 から E3 : 1.0 mL DDI H<sub>2</sub>O、0.1 M HCl 溶液リンス用の廃液

F1 から F3 : 1.0 mL DDI H<sub>2</sub>O、DDI H<sub>2</sub>Oリンス用の廃液

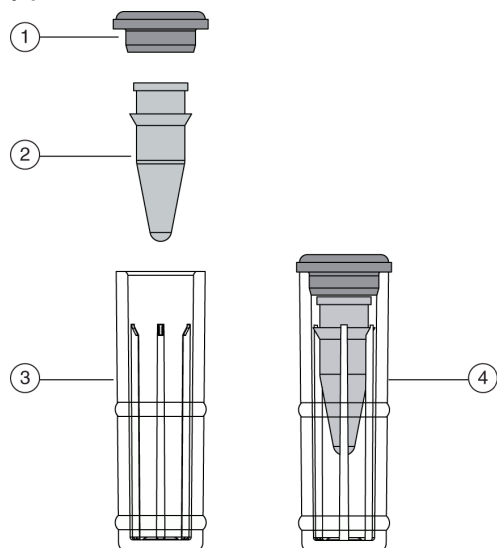
注：電気泳動中に、緩衝液のイオン強度が変化します。分離メソッドは、イオンの消費を避けるため、8回のランを実施した後、バッファバイアルを次のものに進めるようにプログラムされています。

## サンプルトレイをロードする

- 1 サンプルを準備します。各サンプルは次のとおりです。
  - a. 準備したサンプルが室温であることを確認してください。
  - b. サンプル 70  $\mu$ L ~ 90  $\mu$ L をマイクロバイアルに入れます。
  - c. バイアルの底に気泡がないことを確認します。気泡が存在する場合は、遠心機を使用し、1,000 g でマイクロバイアルを 2 分間回転させます。必要に応じて繰り返します。

2 マイクロバイアルをユニバーサルバイアルに入れ、ユニバーサルバイアルにキャップします。

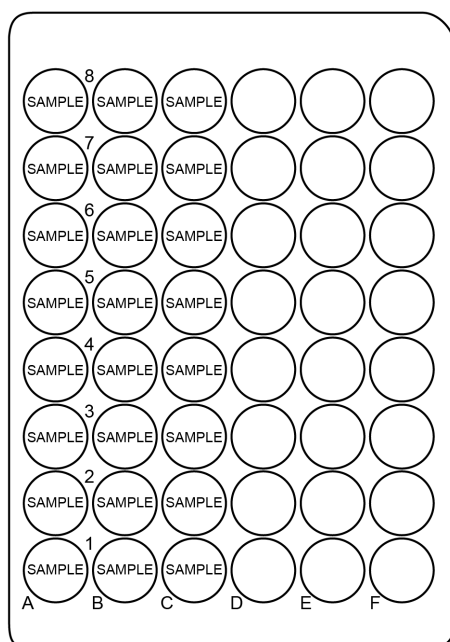
図 4 サンプルバイアルのセットアップ



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

3 ユニバーサルバイアルを 48 ポジションのインレットサンプルトレイの A1 から C8 の位置にします。

図 5 サンプルトレイレイアウト



## サンプルを実行する

### シーケンスを作成して実行を開始する

注: Empower™ Softwareユーザーの場合は、[Waters Empower™ Software](#)でサンプルを実行を参照してください。


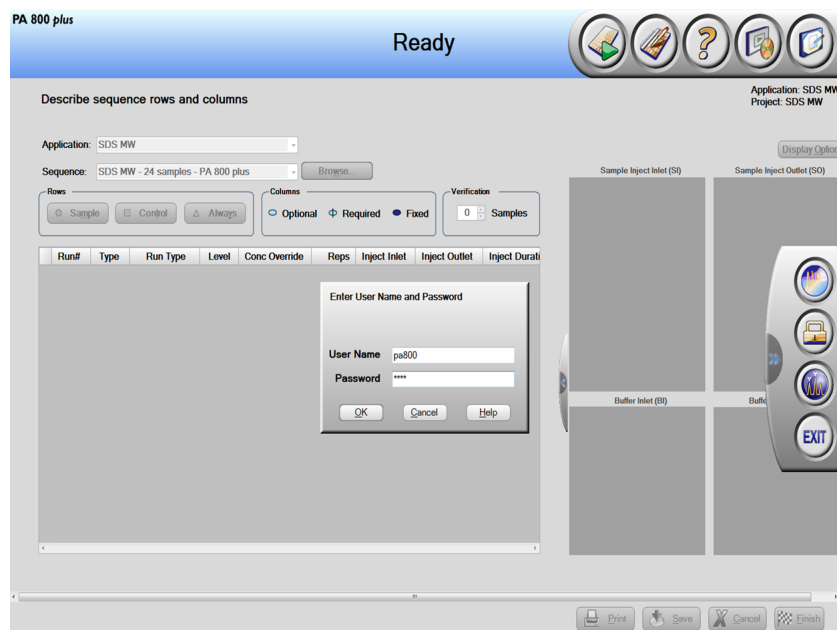
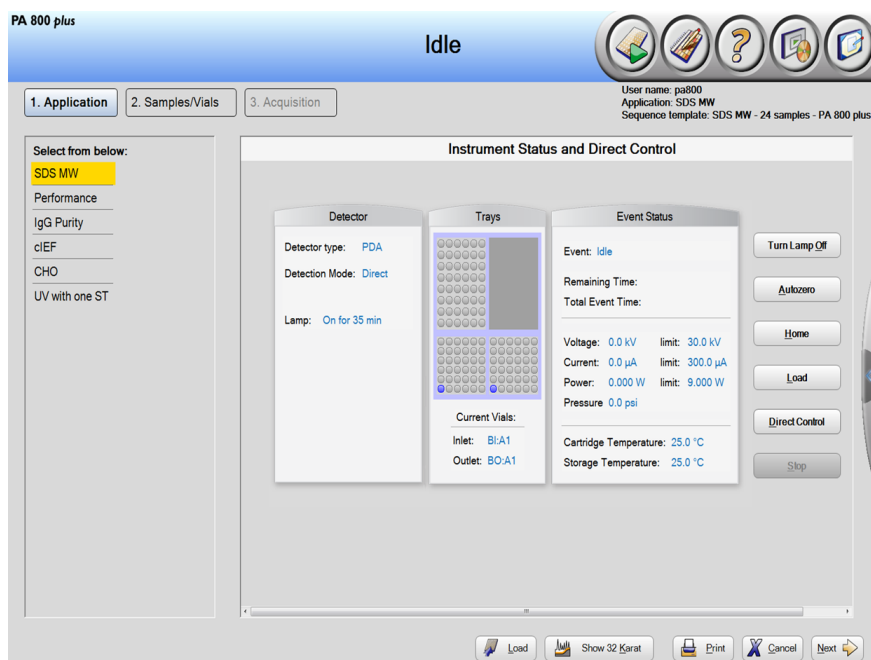
- 1 デスクトップのPA 800 Plus Softwareアイコンをダブルクリックします。
- 2 PA 800 Plus ウィンドウで、ウィンドウの右上の  ([Run] (実行)) をクリックします。
- 3 [Application] (アプリケーション) リストで、[SDS MW] をクリックします。シーケンスリストで、[Browse] (参照) をクリックし、SDS MW - 24 samples - PA 800 plus. seqを選択します。  
システム管理が有効になっている場合は、プロンプトが表示されたらユーザー名とパスワードを入力し、[OK] をクリックします。[図 6](#)を参照してください。デフォルトのユーザー名は pa800 で、デフォルトのパスワードは plus です。

図 6 ユーザー名とパスワードの入力




[Instrument Status and Direct Control] (機器の状態と直接制御) ウィンドウが開きます。[図 7](#) を参照してください。

図 7 [Instrument Status and Direct Control] (機器の状態と直接制御) ウィンドウ: アイドル状態



- 4 [Instrument Status and Direct Control] (機器の状態と直接制御) ウィンドウで、ウィンドウの右下の **Next** (次へ) をクリックします。  
シーケンスが開きます。

- 5 SDS MW - 24 samples - PA 800 plus を選択してシーケンスを開きます。このシーケンスは、サンプル 1 が (常時) 制御基準となる最大 24 のサンプルを実行します。

- 6 シーケンスを編集するには、ウィンドウの右上の  (説明) をクリックします。

**注:** 説明機能は、[説明] アイコンをクリックして、PA 800 Plusウィンドウ、[アプリケーション] ウィンドウ、または [サンプル/バイアル] ウィンドウからアクセスできます。

説明機能を使用して、シーケンステーブルをカスタマイズし、シーケンスで実行できるサンプルの数を編集します。説明機能では行タイプをコントロールとして設定し、システム適合性標準、ブランク、未知のサンプル、およびキャピラリー調整とシャットダウン実行を準備できます。

- 7 [Application] (アプリケーション) リストで、[SDS MW] をクリックします。シーケンスリストで [Browse] (参照) をクリックし、SDS MW - 24 samples - PA 800 plus を選択します。プロンプトが表示されたら、ユーザー名とパスワードを入力します。  
ページが更新され、選択したシーケンスが表示され、シーケンス内のすべての行がサンプルとして指定されます。

- 8 (オプション) 必要に応じて[Sample ID] (サンプルID)および[Data File Name] (データファイル名)を編集します。

[Sample ID] (サンプルID) や[Data] (データ) [File Name] (ファイル名) などの編集可能なフィールドは、必須、オプション、または固定として設定できます。

- 9 シーケンスをロードしたら、行を[Sample] (サンプル)、[Control] (管理)、または、[Always] (常時)に設定します。行をクリックして選択し、[Rows] (行)領域のボタンをクリックします。

[Capillary Conditioning] (キャピラリーコンディショニング)および[Shutdown] (シャットダウン)の実行は[Always] (常時)として設定されます。図 8を参照してください。[Sample ID] (サンプルID) は [Optional] (オプション) として設定されます。[Reps] (繰り返し) は [Required] (必須) として設定されます。

図 8 [シーケンスの行と列の説明] ウィンドウ - 調整メソッドを「常時」に設定

Describe sequence rows and columns

Application: SDS MW

Sequence: SDS MW - 24 samples - PA 800 plus

Rows:  Sample  Control  Always

Columns:  Optional  Required  Fixed

Verification: 22 Samples

Run#	Type	Run Type	Reps	Inject Inlet	Sample ID	Method	Data File Name
1	Always	Unknown	1	None		SDS MW Condition...	Capillar
2	Control	Begin Summ...	1	SI:A1		SDS MW Separati...	<D>.da
3	Sample	Summary Run	1	SI:A2		SDS MW Separati...	<D>.da
4	Sample	Summary Run	1	SI:A3		SDS MW Separati...	<D>.da
5	Sample	Summary Run	1	SI:A4		SDS MW Separati...	<D>.da
6	Sample	Summary Run	1	SI:A5		SDS MW Separati...	<D>.da
7	Sample	Summary Run	1	SI:A6		SDS MW Separati...	<D>.da
8	Sample	Summary Run	1	SI:A7		SDS MW Separati...	<D>.da
9	Sample	Summary Run	1	SI:A8		SDS MW Separati...	<D>.da
10	Sample	Summary Run	1	SI:B1		SDS MW Separati...	<D>.da
11	Sample	Summary Run	1	SI:B2		SDS MW Separati...	<D>.da
12	Sample	Summary Run	1	SI:B3		SDS MW Separati...	<D>.da
13	Sample	Summary Run	1	SI:B4		SDS MW Separati...	<D>.da
14	Sample	Summary Run	1	SI:B5		SDS MW Separati...	<D>.da
15	Sample	Summary Run	1	SI:B6		SDS MW Separati...	<D>.da
16	Sample	Summary Run	1	SI:B7		SDS MW Separati...	<D>.da
17	Sample	Summary Run	1	SI:B8		SDS MW Separati...	<D>.da
18	Sample	Summary Run	1	SI:C1		SDS MW Separati...	<D>.da
19	Sample	Summary Run	1	SI:C2		SDS MW Separati...	<D>.da
20	Sample	Summary Run	1	SI:C3		SDS MW Separati...	<D>.da
21	Sample	Summary Run	1	SI:C4		SDS MW Separati...	<D>.da



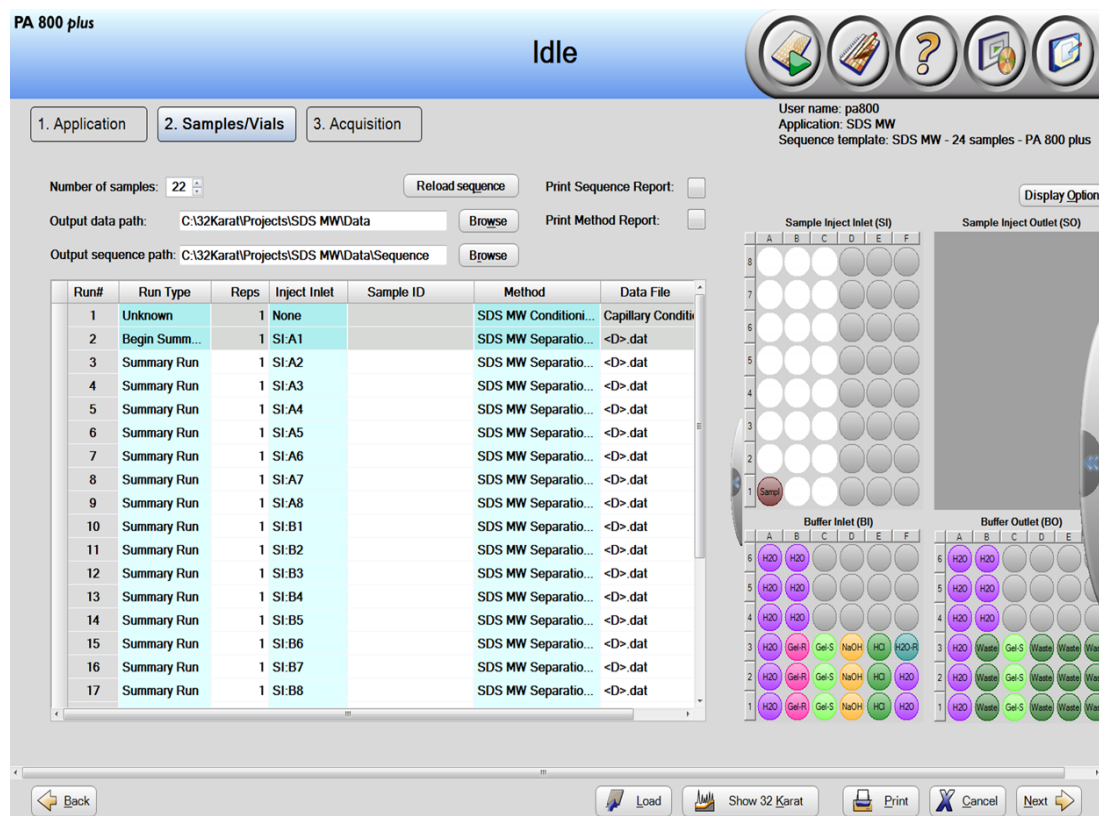

- 10 ウィンドウの右下の  **Save** (保存) をクリックしてから、 **Finish** (完了) をクリックします。  
[Run Sequence] (シーケンスの実行) ウィンドウが開きます。図 9 を参照してください。

図 9 [シーケンスの行と列の説明] ウィンドウ - シーケンスの再ロード



注：説明機能は、[説明] アイコンをクリックして、PA 800 Plusウィンドウ、[アプリケーション] ウィンドウ、または [サンプル/バイアル] ウィンドウからアクセスできます。

注：図 9の表の「Run #1」の左上となりの、点滅する赤色の感嘆符（非表示）は、シーケンスが変更され、ソフトウェアがユーザーからのアクションを待っていることを示しています。感嘆符の上にカーソルを移動して、必要なアクションを含むツールチップを表示します。この例では、ユーザーは  (シーケンスの再読み込み) をクリックしてシーケンスを更新するように求められます。

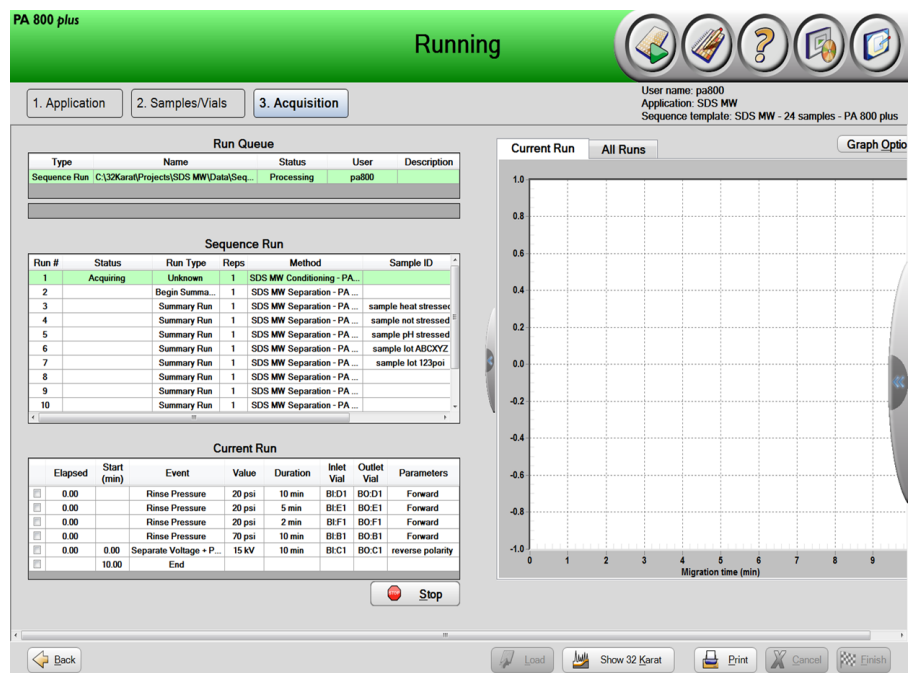
データファイル名は必須フィールドであり、データファイルに情報が含まれていない場合も、必要なアクションが使用されます。この場合、ユーザーは適切なデータファイル名を入力する必要があります。

最初の実行は制御基準のため、このシーケンスに表示されるサンプルの数は 23 ではなく 22 となります。必要に応じて、ユーザーは [Number of samples] (サンプルの数) リストを編集して、[Run Sequence] (シーケンスの実行) ウィンドウでシーケンスで実行するサンプルの数を減らすことができます。

11 **[Load]** (ロード) をクリックして、**図 9**に示すように、サンプルと試薬バイアルをロードし、ドアを閉じます。

12 **[Next]** (次へ) をクリックし、**[Yes - run now]** (はい - 今すぐ実行) をクリックします。

図 10 PA 800 plusシステム (データ収集時)



## 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、バイアルとキャップ、および調製済みサンプルの残りを処分する際は、地域の指令に従ってください (該当する場合)。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10日間未満保管する

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では、キャピラリーを水で満たします。



- 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 10 日間保管します。

## カートリッジを 10 日間以上保管する

- 1 シャットダウンメソッドを実施して、キャピラリーをクリーニングします。
- 2 100psi で 10 分間、二重脱イオン水でキャピラリーを洗浄します。
- 3 システムからカートリッジを取り外します。
- 4 カートリッジ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ボックスに垂直に立てて室温で保管します。

## 保管後のカートリッジを準備する

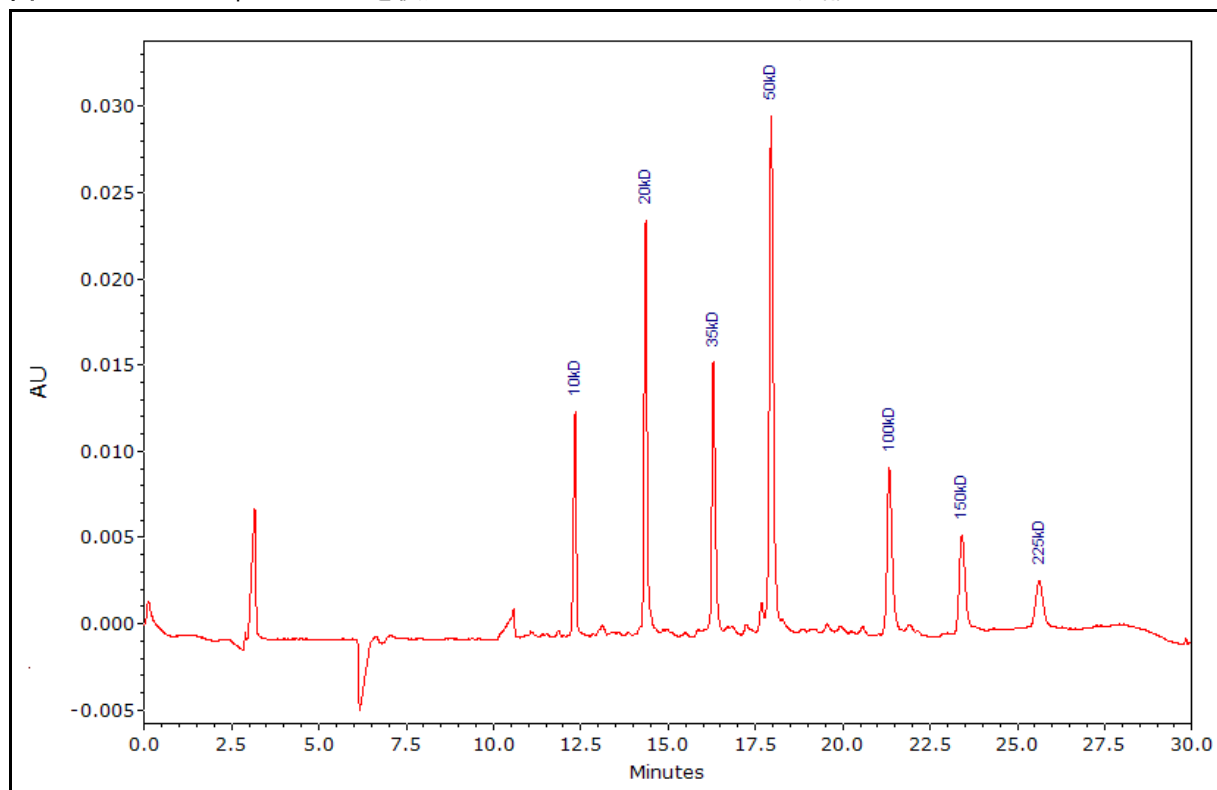
- ・ カートリッジが 1 日以上使用されていないか、長期間保管されていた場合は、SDS MW コンディショニングメソッドを使用してキャピラリーをコンディショニングします。

## 結果を分析する

SDS-MW Size Standardには、7 種類のタンパク質 (10 kDa、20 kDa、35 kDa、50 kDa、100 kDa、150 kDa、225 kDa) が含まれています。推奨される方法を使用して、すべてのタンパク質を 30 分以内に完全に分離する必要があります。SDS-MW Size Standardの通常の分離については [図 11](#) を参照してください。

注：以下の図は、理想的な結果に基づいています。ピークの高さは、サンプルの調製と UV ランプの寿命によって変わる可能性があります。

図 11 SDS-MW Sample Bufferを使用したSDS-MW Size Standardの分離

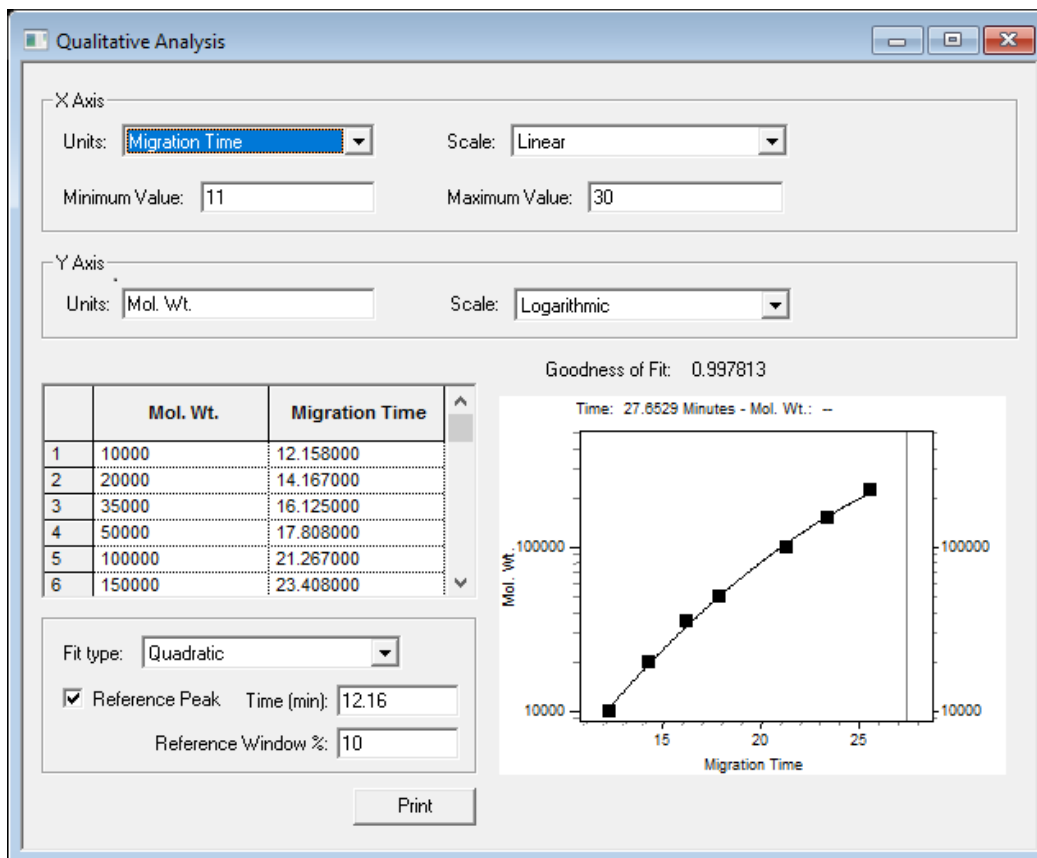


## タンパク質の分子量を推定する

SDS-MW Size Standardで既知の分子量と各タンパク質の移動時間をプロットすることにより得られる一般的なキャリブレーションカーブについては、[図 12](#)を参照してください。この較正曲線を使用して、未知のタンパク質の分子量を推定できます。[Quality]（品質）を注釈として選択すると、計算された分子量がエレクトロフェログラムに表示されます。

24 サイクルごとにこの曲線を再較正します。これは、SDS-MW Size Standardを実行し、各標準の移行時間の値を更新して新しい実行を反映することで行います。この更新は、32 Karat™ Softwareの定性分析で実行されます。[図 12](#) を参照してください。

図 12 [Qualitative Analysis] (定性分析)



## トラブルシューティング

図 4 のトラブルシューティング

問題	考えられる原因	修正アクション
電流が小さいか安定していないと、移行が遅くなり、分解能が低下し、システム適合性テストに失敗する。電流は 25 $\mu$ A に近づける必要がある	キャピラリーの詰まり	1) キャピラリーを二重脱イオン水で 100psi で 10 分間すすぎ、その後キャピラリー調整メソッドを実行します。 2) 電流が低いまたは不安定な状態が続く場合は、キャピラリーを交換します。
	ゲル内の気泡	5 Hg~15 Hgの真空下でSDS-MW Gel Bufferを 5 分間脱気します。
高電流	汚染されたゲル緩衝液	必要に応じてSDS-MW Gel Bufferを交換します。
	電極の汚染	電極を清掃します。システムメンテナンスガイドを参照してください。

図 4 (続き) のトラブルシューティング

問題	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	ゲル緩衝液中の気泡	5 Hg~15 Hgの真空下でSDS-MW Gel Bufferを 5 分間脱気します。
ピークのプロード化、分解能の低下	キャピラリーエンドカットの不良	キャピラリーの端を拡大して検査します。断面がギザギザになっている場合は、端を再度カットするか、キャピラリーを交換します。
	サンプルの不適切な還元	推奨手順に基づいてサンプルを還元します。サンプルを還元するには、新鮮な 2-メルカプトエタノールを使用します。サンプルを準備するを参照してください。
	劣化したキャピラリー	ピークのプロード化を減少させる他の試行が失敗した場合、キャピラリーを交換します。 1) キャピラリーを二重脱イオン水で 100 psi で 10 分間洗浄し、キャピラリーコンディショニングメソッドを実行します。 2) 同じ問題が観察される場合、新しいキャピラリーを取り付けます。
	キャピラリーの端のほこりやゲル	二重脱イオン水を使用してキャピラリーチップ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。
ピークなしまたは低信号	キャピラリーの注入口が電極より長い	カートリッジ内でキャピラリーを押し上げるか、キャピラリーの注入口を切断して、エレクトロードと同じ長さにします。
	キャピラリーチップの汚れまたは詰まり	1) 二重脱イオン水を使用して、キャピラリーチップ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。 2) プラグを取り外せない場合は、キャピラリーを交換します。
	十分なサンプルがない	サンプルバイアルに少なくとも 20 $\mu$ L のサンプルがあることを確認してください。
	サンプルの移行が遅い	メソッドの分離時間を増やして、分析を繰り返します。
	タンパク質サンプル中の塩分が高い	緩衝液の交換を実施して、サンプルから塩分を除去します。タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施するを参照してください。

# 有害物質情報

以下の情報に注意し、関連する安全対策を講じる必要があります。詳細な情報については、それぞれの安全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](http://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。

## Acid Wash/Regenerating Solution (0.1 M HCl)

---



危険！ 重度のやけどおよび眼の損傷を引き起こします。

---

## Basic Wash Solution (0.1 M NaOH)

---



危険！ 重度のやけどおよび眼の損傷を引き起こします。

---

## Low pH SDS Sample Buffer (100 mM Tris-HCl、pH 6.8、1% SDS)

---

警告！ 軽度の皮膚炎を引き起こします。

---

## Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (40 mM Phosphate、pH 6.5、1% SDS)

---

警告! 軽度の皮膚炎を引き起こします。

---

## SDS-MW Sample Buffer (100 mM Tris-HCl、pH 9.0、1% SDS)

---

警告! 軽度の皮膚炎を引き起こします。

---

## SDS-MW Gel Buffer、独自仕様 (pH 8.0、0.2% SDS)

---



危険! 軽度の皮膚炎を引き起こします。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。

- ・ SDS-MW Size Standard
- ・ Internal Standard、10 kDaタンパク質、5 mg/mL

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。

## メソッド

PA 800 Plus医薬品分析システムのアプリケーションには 3 つのメソッドが必要です。メソッドはソフトウェアと共にインストールされますが、ダウンロードすることはできません。以下の図は参照目的で提供されています。

注: [Initial Conditions] (初期条件) タブと [PDA Detector Initial Conditions] (PDA 検出器の初期条件) タブの値は、すべてのメソッドで同じになります。

## 初期条件

注: [Initial Conditions] (初期条件) タブと [Detector Initial Conditions] (PDA 検出器の初期条件) タブの値は、すべてのメソッドで同じになります。

図 B.1 すべてのメソッドの初期条件

The screenshot displays the 'Initial Conditions' configuration window for a PDA Detector. The window has three tabs: 'Initial Conditions', 'PDA Detector Initial Conditions', and 'Time Program'. The 'Initial Conditions' tab is active.

- Auxiliary data channels:**
  - Voltage max: 30.0 kV
  - Current max: 300.0  $\mu$ A
  - Power
  - Pressure
- Mobility channels:**
  - Mobility
  - Apparent Mobility
  - Plot trace after voltage ramp
- Analog output scaling:**
  - Factor: 1
- Temperature:**
  - Cartridge: 25.0  $^{\circ}$ C
  - Sample storage: 25.0  $^{\circ}$ C
- Trigger settings:**
  - Wait for external trigger
  - Wait until cartridge coolant temperature is reached
  - Wait until sample storage temperature is reached
- Inlet trays:**
  - Buffer: 36 vials
  - Sample: 48 vials
- Outlet trays:**
  - Buffer: 36 vials
  - Sample: No tray
- Peak detect parameters:**
  - Threshold: 2
  - Peak width: 9

## 検出器の初期条件

図 B.2 すべてのメソッドの PDA 検出器の初期条件

Initial Conditions | PDA Detector Initial Conditions | Time Program

Electropherogram scan data

Acquisition enabled

Data rate: 2 Hz

Scan range from 190 to 400 nm

Electropherogram channel data

Data Rate: 2 Hz

	Acquisition enabled	Reference channel	Wavelength (nm)	Bandwidth (nm)
Channel 1:	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	220	10
Channel 2:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	254	10
Channel 3:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	280	10

Peak detect:   250 120

Filter

High sensitivity

Normal

High resolution

Peak width (points): 16-25

Relay 1:  Off  On

Relay 2:  Off  On

Reference channel

Wavelength: 350 nm

Bandwidth: 10 nm

Absorbance signal

Direct  Indirect

## タイムプログラム

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

図 B.3 SDS MW コンディショニングメソッドのタイムプログラム

Initial Conditions | PDA Detector Initial Conditions | Time Program

	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1		Rinse - Pressure	20.0 psi	10.00 min	BI:D1	BO:D1	forward	0.1 N NaOH rinse to clean capillary surface
2		Rinse - Pressure	20.0 psi	5.00 min	BI:E1	BO:E1	forward	0.1 N HCl rinse to neutralize capillary surface silanol group
3		Rinse - Pressure	20.0 psi	2.00 min	BI:F1	BO:F1	forward	ddH2O rinse to remove the acid residue
4		Rinse - Pressure	70.0 psi	10.00 min	BI:B1	BO:B1	forward	SDS Gel rinse to fill the capillary
5	0.00	Separate - Voltage	15.0 KV	10.00 min	BI:C1	BO:C1	5.00 Min ramp, reverse polarity, both	SDS Gel for voltage equilibration
6								

Apply



図 B.4 SDS MW 分離メソッドのタイムプログラム

Initial Conditions   PDA Detector Initial Conditions   Time Program									
	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments	
1		Rinse - Pressure	70.0 psi	3.00 min	BI:D1	BO:D1	forward, In / Out vial inc 8	0.1 N NaOH rinse to clean capillary surface - Automatic increment every 8 runs	
2		Rinse - Pressure	70.0 psi	1.00 min	BI:E1	BO:E1	forward, In / Out vial inc 8	0.1 N HCl rinse to neutralize capillary surface silanol group - Automatic increment every 8 runs	
3		Rinse - Pressure	70.0 psi	1.00 min	BI:F1	BO:F1	forward, In / Out vial inc 8	Water rinse to remove the acid residue - Automatic increment every 8 runs	
4		Rinse - Pressure	70.0 psi	10.00 min	BI:B1	BO:B1	forward, In / Out vial inc 8	SDS Gel rinse to fill the capillary with SDS gel - Automatic increment every 8 runs	
5		Wait		0.00 min	BI:A1	BO:A1	In / Out vial inc 8	ddH2O, use for dipping to clean capillary tip - Automatic increment every 8 runs	
6		Wait		0.00 min	BI:A4	BO:A4	In / Out vial inc 8	ddH2O, use for dipping to clean capillary tip - Automatic increment every 8 runs	
7		Inject - Voltage	5.0 KV	20.0 sec	SI:A1	BO:C1	Override, reverse polarity	Sample injection	
8		Wait		0.00 min	BI:B4	BO:B4	In / Out vial inc 8	ddH2O, use for dipping to avoid sample carry over - Automatic increment every 8 runs	
9	0.00	Separate - Voltage	15.0 KV	30.00 min	BI:C1	BO:C1	1.00 Min ramp, reverse polarity, both, In / Out vial inc 8	SDS Gel for separation - Automatic increment every 8 runs	
10	5.00	Autozero							
11									

Apply

図 B.5 SDS MW シャットダウンメソッドのタイムプログラム

Initial Conditions   PDA Detector Initial Conditions   Time Program									
	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments	
1		Rinse - Pressure	70.0 psi	10.00 min	BI:D1	BO:D1	forward	0.1 N NaOH rinse to clean capillary surface	
2		Rinse - Pressure	50.0 psi	5.00 min	BI:E1	BO:E1	forward	0.1 N HCl rinse to neutralize capillary surface silanol group	
3		Rinse - Pressure	50.0 psi	2.00 min	BI:F1	BO:F1	forward	Water rinse to remove the acid residue	
4		Rinse - Pressure	70.0 psi	10.00 min	BI:B1	BO:B1	forward	SDS Gel rinse to fill the capillary with SDS gel	
5	0.00	Separate - Voltage	15.0 KV	10.00 min	BI:C1	BO:C1	5.00 Min ramp, reverse polarity, both	SDS Gel for separation	
6	10.00	Wait		0.00 min	BI:A1	BO:A1		ddH2O use for capillary dip to prevent capillary from drying	
7	10.00	Lamp - Off							
8									

Apply



## Low pH SDS Sample Buffer の使用

---

**注:** SCIEX には、Low pH SDS Sample Buffer (Tris; pH 6.8) と Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (pH 6.5) の 2 つの異なる低 pH サンプルバッファーがあります。

---

サンプルによっては、低い pH のサンプルバッファーの方が安定している場合があります。Low pH SDS Sample Buffer (pH 6.8) を使用するには、前述のようにサンプルを準備しますが、SDS-MW Sample Buffer を Low pH SDS Sample Buffer (pH 6.8) に置き換えます。

低 pH サンプルバッファーのイオン強度が増加しているため、信号の損失を防ぐために、注入電圧または持続時間を増やすことによって SDS-MW 分離メソッドを変更することをお勧めします。分析するサンプルに基づいて分離時間を調整します。たとえば、Rituxan (rituximab) サンプルの分析では、分離時間を 35 分に変更します。

または、分離メソッドで圧力注入を使用します。SDS-MW Sample Buffer で調製したサンプルと同じ分離メソッドから開始し、次のセクションで説明するようにメソッドを編集します。

### SDS MW 分離メソッドに圧力注入の追加

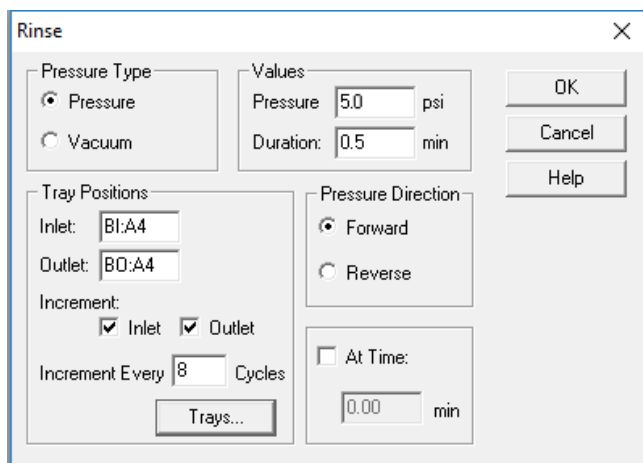
---

以下の指示に従って圧力注入を追加し、分離メソッドに他の必要な変更を加えます。

---

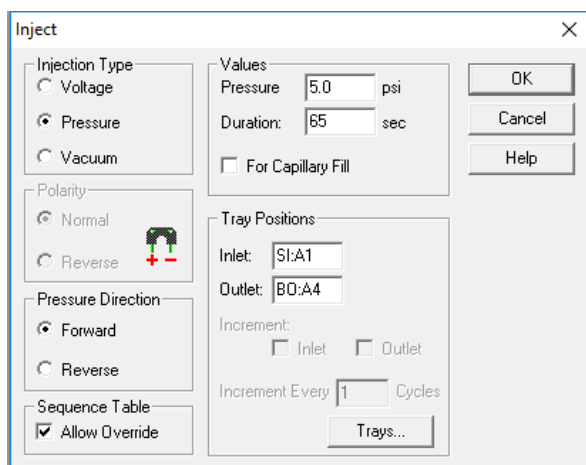
- 1 32 Karat™ Software で SDS MW 分離メソッドを開きます。  
初期条件または PDA 検出器の初期条件を変更する必要はありません。
- 2 [Time Program] (タイムプログラム) タブをクリックします。
- 3 行 5 の後に [Rinse] (リンス) イベントを追加します。以下のようにパラメーターを設定します。

図 C.1 [Rinse] (リンス) ダイアログ



4 [Inject-Voltage] (電圧注入) イベントを編集して、次の図に一致させます。

図 C.2 [Inject] (インジェクト) ダイアログ



5 分析するサンプルに基づいて、[Separation-Voltage] (電圧分離) イベントの期間を調整します。

[Time Program] (タイムプログラム) は次の図と一致する必要があります。

図 C.3 編集後の分離メソッドタイムプログラム (リンスおよび注入圧カイベントを表示)

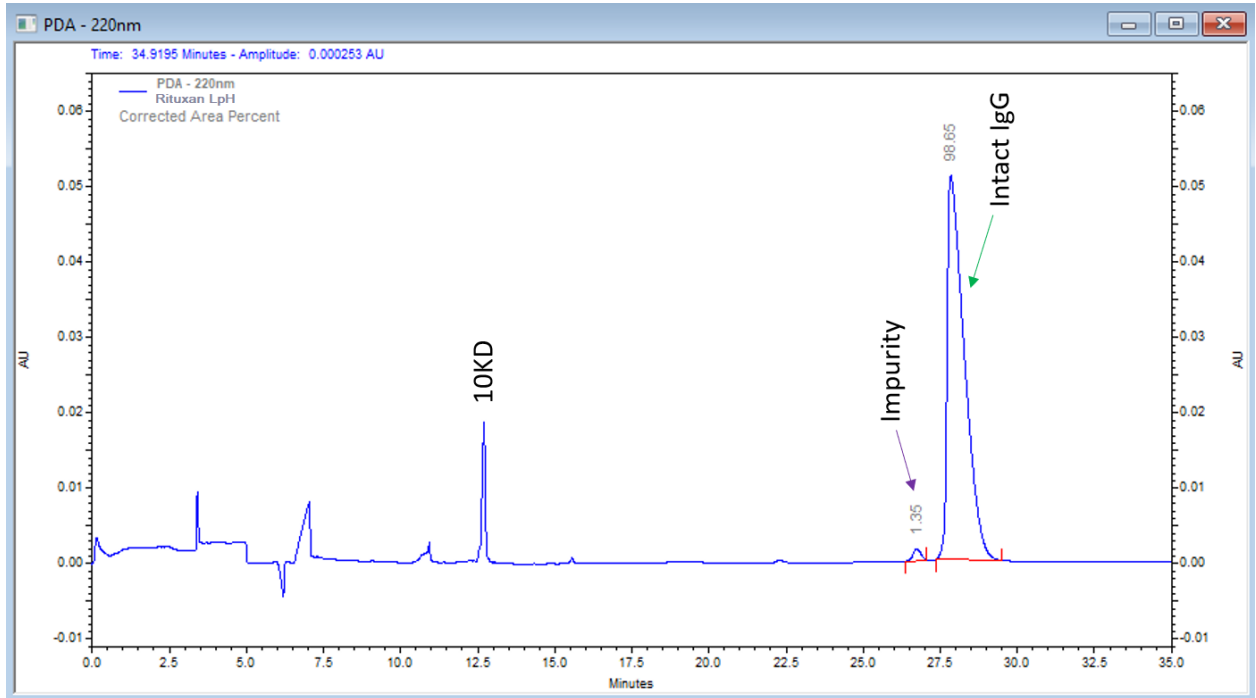
Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1	Rinse - Pressure	70.0 psi	3.00 min	BI:D1	BO:D1	forward, In / Out vial inc 8	0.1 M NaOH rinse to clean capillary surface - Automatic increment every 8 runs
2	Rinse - Pressure	70.0 psi	1.00 min	BI:E1	BO:E1	forward, In / Out vial inc 8	0.1 M HCl rinse to neutralize capillary surface - Automatic increment every 8 runs
3	Rinse - Pressure	70.0 psi	1.00 min	BI:F1	BO:F1	forward, In / Out vial inc 8	Water rinse to remove the residual acid - Automatic increment every 8 runs
4	Rinse - Pressure	70.0 psi	10.00 min	BI:B1	BO:B1	forward, In / Out vial inc 8	SDS Gel rinse to fill the capillary with SDS gel - Automatic increment every 8 runs
5	Wait	0.00 min	0.00 min	BI:A1	BO:A1	In / Out vial inc 8	Water dip to clean capillary tip - Automatic increment every 8 runs
6	Rinse - Pressure	5.0 psi	0.50 min	BI:A4	BO:A4	forward, In / Out vial inc 8	Introduce a water plug
7	Wait	0.00 min	0.00 min	BI:A4	BO:A4	In / Out vial inc 8	Water dip to clean capillary tip - Automatic increment every 8 runs
8	Inject - Pressure	5.0 psi	65.0 sec	SI:A1	BO:A4	Override, forward	Sample injection
9	Wait	0.00 min	0.00 min	BI:B4	BO:B4	In / Out vial inc 8	Water dip to prevent sample carry over - Automatic increment every 8 runs
10	Separate - Voltag	15.0 KV	35.00 min	BI:C1	BO:C1	1.00 Min ramp, reverse polarity, both, In / Out vial inc 8	SDS Gel for separation - Automatic increment every 8 runs
11	5.00	Autozero					
12							

6 メソッドを保存します。メソッド名が変更されていない場合、シーケンスを変更する必要はありません。

## Low pH SDS Sample Buffer を使用して得られた結果

次の図は、Rituxan (rituximab) とLow pH SDS Sample Bufferで得られた結果を示しています。図 C.4 を参照してください。サンプルの不純物は 1.35% でした。

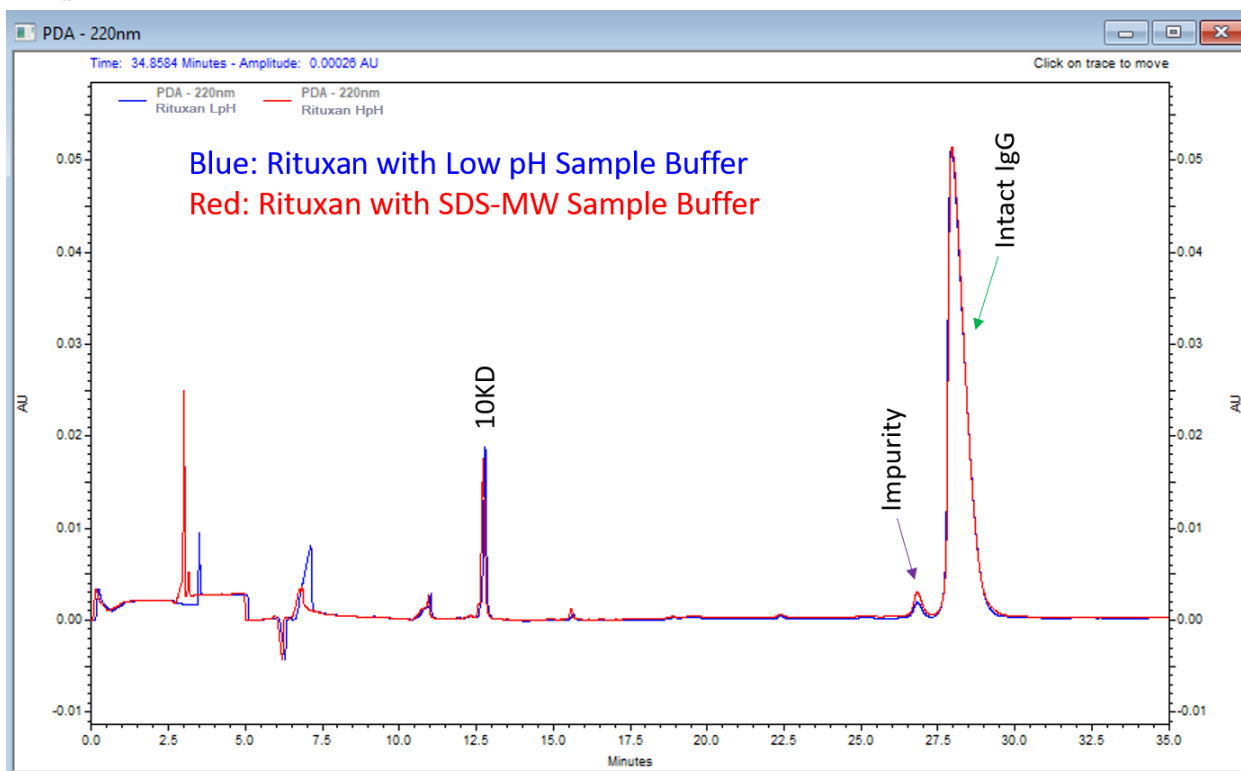
図 C.4 Low pH SDS Sample Buffer (Tris) を使用した Rituxan (rituximab) 電気泳動図



## Low pH SDS Sample Buffer の使用

次の図は、SDS-MW Sample Buffer（赤のトレース）とRituxan (rituximab) のLow pH SDS Sample Buffer（青のトレース）で得られた結果の比較を示しています。

図 C.5 Rituxan (rituximab) についての SDS-MW Sample Buffer と Low pH SDS Sample Buffer (Tris) の比較



# Low pH Phosphate SDS Sample Buffer の使用

---

注: SCIEX には、Low pH SDS Sample Buffer (Tris; pH 6.8) と Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (pH 6.5) の 2 つの異なる低 pH サンプルバッファーがあります。

---

## Low pH Phosphate SDS Sample Bufferについて

---

Low pH Phosphate SDS Sample Bufferは、中華人民共和国保健省の薬局方委員会によって定められた、中国薬局方で提供されているキャピラリー電気泳動 SDS 分離の仕様を満たすように設計されています。

バッファーを指定することに加えて、中国薬局方 (2019-06-27) には分離メソッドについての推奨事項があります。中国薬局方 2020 Edition、Chapter 3127、3127 単抗分子大小変異体測定法 (CE-SDS法)、または<https://www.chp.org.cn/gjydw/swzp/5032.jhtml>を参照してください。リンクは発行時のものです。

---

注: 中国薬局方では、単一の値ではなく、一部のパラメーターの範囲を指定しています。以下の図の結果については、中央値が使用されました。具体的には、サンプルのインキュベーション温度は70 ° C、サンプルの保管とキャピラリーの温度は20 ° Cでした。

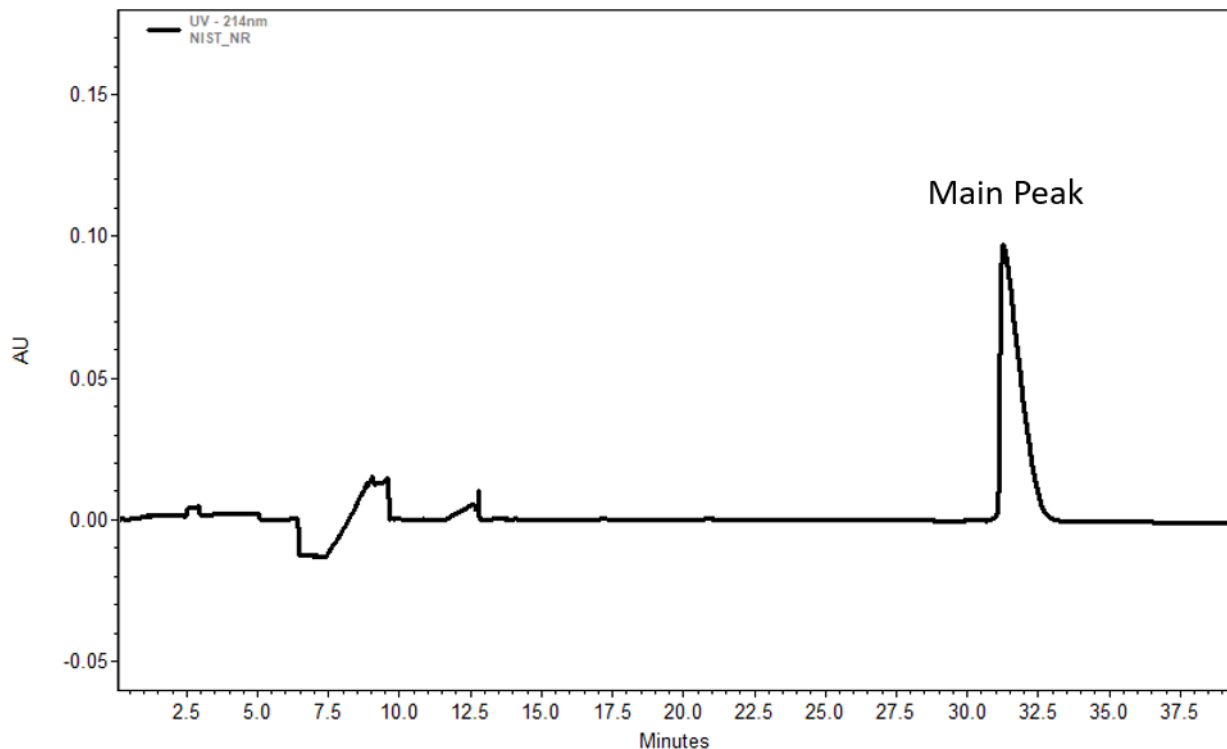
---

## Low pH Phosphate SDS Sample Buffer を使用して得られた結果

### 非還元条件を使用した一般的な結果

次の図は、非還元条件下で NIST mAb および中国薬局方メソッドに準拠するLow pH Phosphate SDS Sample Bufferで得られた結果を示しています。

図 D.1 中国薬局方メソッドに準拠したLow pH Phosphate SDS Sample Bufferを使用する非還元 NIST mAb の電気泳動図

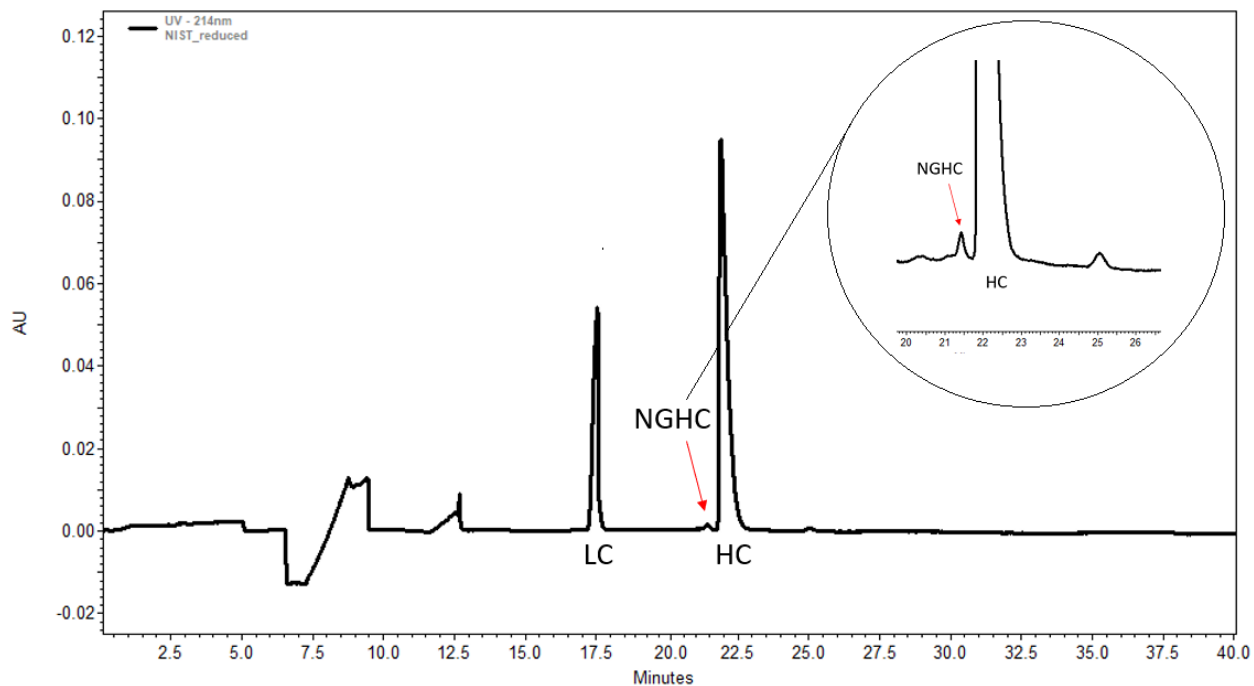




## 還元条件を使用した一般的な結果

次の図は、還元条件下で NIST mAb および中国薬局方メソッドに準拠する Low pH Phosphate SDS Sample Buffer で得られた結果を示しています。

図 D.2 中国薬局方メソッドに準拠した Low pH Phosphate SDS Sample Buffer を使用する還元 NIST mAb の電気泳動図



- ・ LC: light chain (軽鎖)
- ・ NGHC: non-glycosylated heavy chain (非グリコシル化重鎖)
- ・ HC: heavy chain (重鎖)



# Waters Empower™ Softwareでサンプルを実行

このセクションでは、Empower™ Softwareを使用したデータ収集の手順について説明します。データ分析の手順については、Empower™ Softwareガイドおよびヘルプファイルを参照してください。

---

注： データを収集する前に、PDA 検出器をキャリブレーションします。手順については、『PA 800 Plus Empower™ Driverユーザーガイド』を参照してください。

---

## 装置メソッドの作成

---

注：low pH SDS sample buffer を使用する場合、緩衝液のイオン強度の増加に対応するために、装置メソッドを調整する必要がある場合があります。Low pH SDS Sample Bufferの使用を参照してください。

---

3 つの装置メソッドが必要です。

- ・ SDS MW\_CONDITIONING
- ・ SDS MW\_SEPARATION
- ・ SDS MW\_SHUTDOWN

---

注： [General] (一般) および [Detector] (検出器) タブの値は、すべてのメソッドで同じです。

---

注： 圧力値は、Empower™ Softwareのレジストリ設定に応じて、ミリバール (mbar) またはポンド/平方インチ (psi) で表示できます。デフォルトの単位はミリバールです。単位を変更する方法については、PA 800 PlusEmpower™ ドライバーリリースノートを参照してください。

---

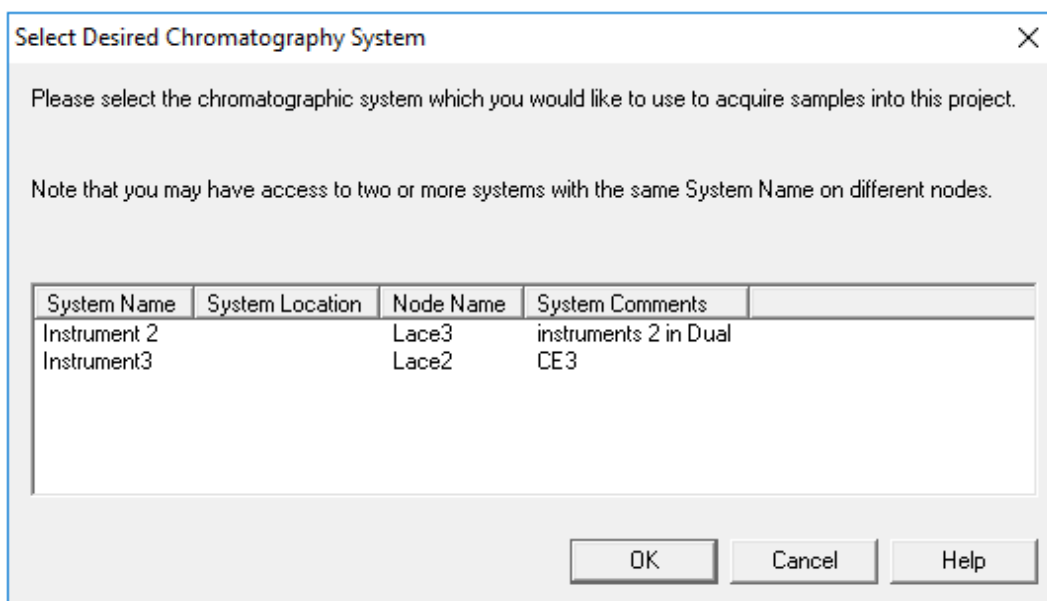
注： 以下の装置メソッドは、SDS-MW Sample Bufferを使用して検証されました。

---

- 1 Empower™ Softwareプロジェクトウィンドウで、[File] (ファイル) ♪ [New Method] (新規メソッド) ♪ [Instrument Method] (装置メソッド) をクリックします。

[Select Desired Chromatography System] (目的のクロマトグラフィーシステムを選択) ダイアログが開きます。

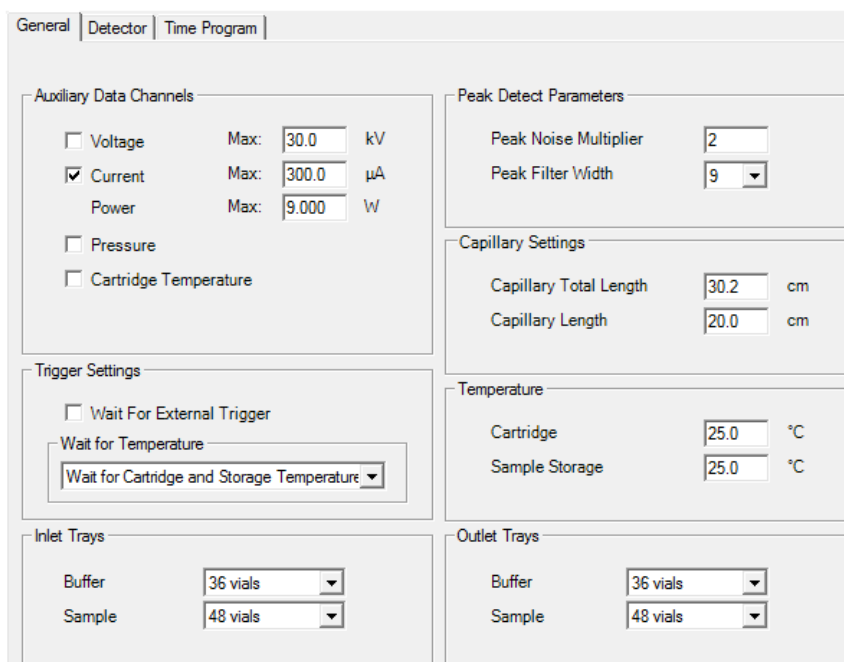
図 E.1 [Select Desired Chromatography System] (目的のクロマトグラフィシステムを選択)



- 2 使用するシステムをクリックし、[OK]をクリックします。装置が PDA 検出器で構成されていることを確認してください。  
装置メソッドエディタが開きます。

- 3 [General] (一般) タブでパラメーターを設定します。

図 E.2 SDS MW\_CONDITIONING装置メソッドの一般パラメーター



- 4 [Detector] (検出器) タブをクリックし、[Detector Type] (検出器の種類) リストからPDAを選択して、パラメーターを設定します。

注: 3D データの場合、電気泳動図スキャンデータで、[Data Rate] (データレート) で [On] (オン) を選択します。

図 E.3 SDS MW\_CONDITIONING装置メソッドの検出器パラメーター

General | Detector | Time Program

Detector Type: PDA

Electropherogram Scan Data

Data Rate: 2 Hz  
Scan Range from: 190 to 400 nm

Filter: General Purpose 16-25

Electropherogram Channel Data

Data Rate: 2 Hz

	Acquire	Ref	Wl [nm]	Bw [nm]
Channel 1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	220	10
Channel 2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	254	10
Channel 3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	280	10
Peak Detect.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	250	120

Relays

Relay 1: Closed  
Relay 2: Closed

Reference Channel

Wavelength: 350 nm  
Bandwidth: 10 nm

Absorbance Signal

Signal: Direct

- 5 次の図のイベントを[Time Program] (タイムプログラム) に追加します。

注: 分離電圧圧カイベント (ステップ5) の圧力には、20 と入力します。

図 E.4 SDS MW\_CONDITIONING装置メソッドのタイムプログラム

Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Inlet tray	Outlet vial	Outlet tray	Summary	Comments
1	Rinse Pressure	20.0 psi	10.00 min	D1	Buffer	D1	Buffer	Forward:0.0	0.1 N NaOH rinse to clean capillary surface
2	Rinse Pressure	20.0 psi	5.00 min	E1	Buffer	E1	Buffer	Forward:0.0	0.1 N HCl rinse to neutralize capillary surface silanol group
3	Rinse Pressure	20.0 psi	2.00 min	F1	Buffer	F1	Buffer	Forward:0.0	Water rinse to remove the acid residue
4	Rinse Pressure	70.0 psi	10.00 min	B1	Buffer	B1	Buffer	Forward:0.0	SDS Gel buffer rinse to fill the capillary
5	0.00 Separate Voltage Pressure	15.0 kV	10.00 min	C1	Buffer	C1	Buffer	Reverse (:);5:Simultaneous:0.0	SDS Gel Buffer Voltage Separation
6	10.00 End								
7									

注: システムが圧力の単位として mbar を使用している場合は、次のように入力します。

- ・注: リンス圧カイベント (ステップ1、2、3) の圧力には、1379.0 と入力します。
- ・注: リンス圧カイベント (ステップ4) の圧力には、4826.3 と入力します。
- ・分離電圧圧カイベント (ステップ5) の圧力には、1379.0 と入力します。

## 6 装置メソッドを保存します。

- a. [File] (ファイル) > [Save] (保存) をクリックします。[Save current Instrument Method] (現在の装置メソッドを保存) ダイアログが開きます。
- b. [Name] (名前) フィールドに SDS MW\_CONDITIONING と入力します。
- c. (オプション) メソッドのコメントフィールドに情報を入力します。
- d. 要求されたら、現在のユーザーの Empower™ Software パスワードを [Password] (パスワード) フィールドに入力し、[Save] (保存) をクリックします。

装置メソッドは現在のプロジェクトに保存されます。

## 7 分離装置メソッドを作成します。

- a. [General] (一般) タブでパラメーターを設定します。図 E.2 を参照してください。
- b. [Detector] (検出器) タブでパラメーターを設定します。図 E.3 を参照してください。
- c. 次の図のイベントを [Time Program] (タイムプログラム) に追加します。

注: 分離電圧圧カイベント (ステップ9) の圧力には、20 と入力します。

図 E.5 SDS MW\_SEPARATION 装置メソッドのタイムプログラム

Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Inlet tray	Outlet vial	Outlet tray	Summary	Comments
1	Rinse Pressure	70.0 psi	3.00 min	D1	Buffer	D1	Buffer	Forward:8:8	0.1 N NaOH rinse to clean capillary surface
2	Rinse Pressure	70.0 psi	1.00 min	E1	Buffer	E1	Buffer	Forward:8:8	0.1 N HCl rinse to neutralize capillary surface silanol group
3	Rinse Pressure	70.0 psi	1.00 min	F1	Buffer	F1	Buffer	Forward:8:8	Water rinse to remove the acid residue
4	Rinse Pressure	70.0 psi	10.00 min	B1	Buffer	B1	Buffer	Forward:8:8	SDS Gel rinse to fill the capillary with SDS gel
5	Wait		0.00	A1	Buffer	A1	Buffer	8:8	Water clean capillary tip
6	Wait		0.00	A4	Buffer	A4	Buffer	0:0	water clean capillary tip
7	Inject Voltage	5.0 kV	20.0 s	A0	Sample List	C1	Buffer	Reverse (-):0:0	Inject sample
8	Wait		0.00	B4	Buffer	B4	Buffer	0:0	Water use for dipping to avoid sample carry over
9	Separate Voltage Pressure	15.0 kV	30.00 min	C1	Buffer	C1	Buffer	Reverse (-):1:Simultaneous:0:0	SDS MW Gel Separation
10	Autozero								
11	Stop Data								
12	End								

注: システムが圧力の単位として mbar を使用している場合は、次のように入力します。

- ・注: リンス圧カイベント (ステップ 1~4) の圧力には、4826.3 と入力します。
- ・分離電圧圧カイベント (ステップ9) の圧力には、1379.0 と入力します。

- d. メソッドを「SDS MW\_SEPARATION」として保存します。

## 8 シャットダウン装置メソッドを保存します。

- [General] (一般) タブでパラメーターを設定します。図 E.2 を参照してください。
- [Detector] (検出器) タブでパラメーターを設定します。図 E.3 を参照してください。
- 次の図のイベントを [Time Program] (タイムプログラム) に追加します。

注: 分離電圧圧カイベント (ステップ5) の圧力には、20 と入力します。

図 E.6 SDS MW\_SHUTDOWN装置メソッドのタイムプログラム

Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Inlet tray	Outlet vial	Outlet tray	Summary	Comments
1	Rinse Pressure	70.0 psi	10.00 min	D1	Buffer	D1	Buffer	Forward:0.0	0.1 N NaOH rinse to clean capillary surface
2	Rinse Pressure	50.0 psi	5.00 min	E1	Buffer	E1	Buffer	Forward:0.0	0.1 N HCl rinse to neutralize capillary surface silanol group
3	Rinse Pressure	50.0 psi	2.00 min	F1	Buffer	F1	Buffer	Forward:0.0	Water rinse to remove the acid residue
4	Rinse Pressure	70.0 psi	10.00 min	B1	Buffer	B1	Buffer	Forward:0.0	SDS Gel buffer rinse to fill the capillary
5	Separate Voltage Pressure	15.0 kV	10.00 min	C1	Buffer	C1	Buffer	Reverse (:).5:Simultaneous:0.0	SDS Gel Buffer Voltage Separation
6	Wait		0.00	A1	Buffer	A1	Buffer	0.0	Store tips in water
7	Lamp Off								
8	End								
** 9									

注: システムが圧力の単位として mbar を使用している場合は、次のように入力します。

- ・注: リンス圧カイベント (ステップ 1、4) の圧力には、4826.3 と入力します。
- ・注: リンス圧カイベント (ステップ 2、3) の圧力には、3447.4 と入力します。
- ・分離電圧圧カイベント (ステップ 5) の圧力には、1379.0 と入力します。

- メソッドを「SDS MW\_SHUTDOWN」として保存します。

## メソッドセットの作成

3 つのメソッドセットが必要です。

- ・ SDS MW Conditioning メソッドセット
- ・ SDS MW分離メソッドセット
- ・ SDS MW Shutdown メソッドセット

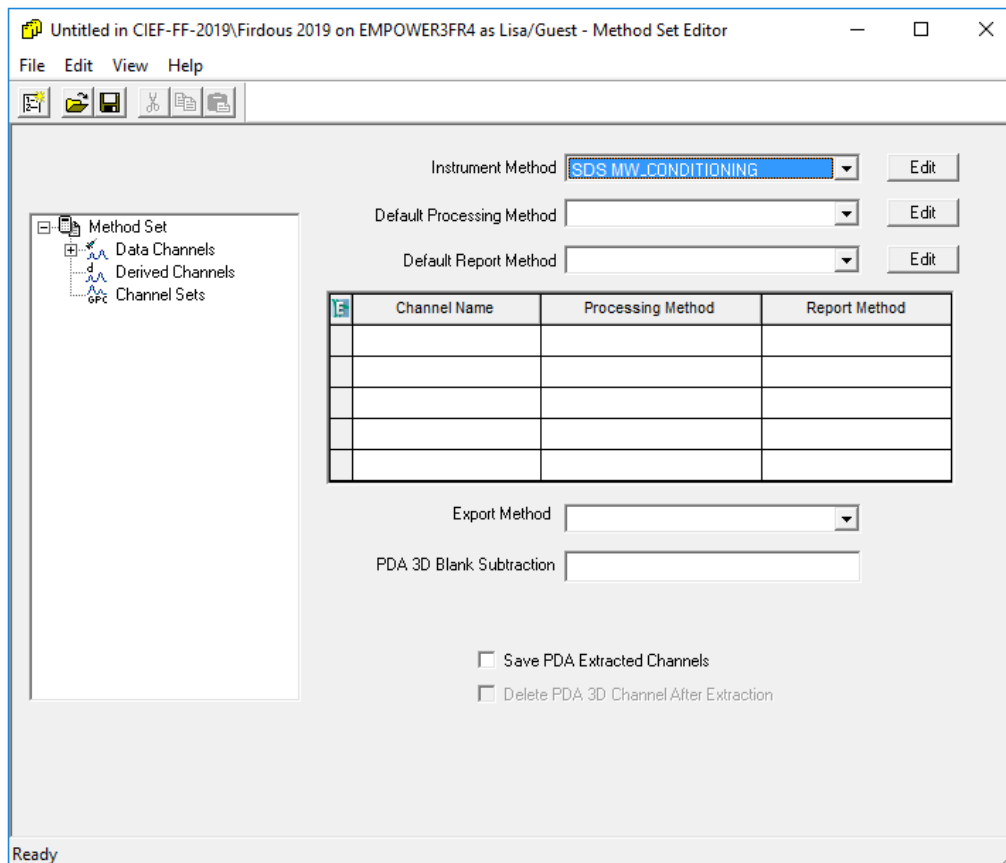
注: メソッドセットには、処理メソッドとレポートメソッドを含めることもできます。これらのメソッドを作成するには、Empower™ Softwareに付属の説明書を参照してください。

1 Empower™ Softwareプロジェクトウィンドウで、[File] (ファイル) ¥> [New Method] (新規メソッド) ¥> [Method Set] (メソッドセット) をクリックします。

2 メッセージ内の [No] (いいえ) をクリックします。  
メソッドセットエディタウィンドウが開きます。

- 3 [Instrument Method] (装置メソッド) リストで、[SDS MW\_CONDITIONING] をクリックします。その他のパラメーターは変更しないでください。

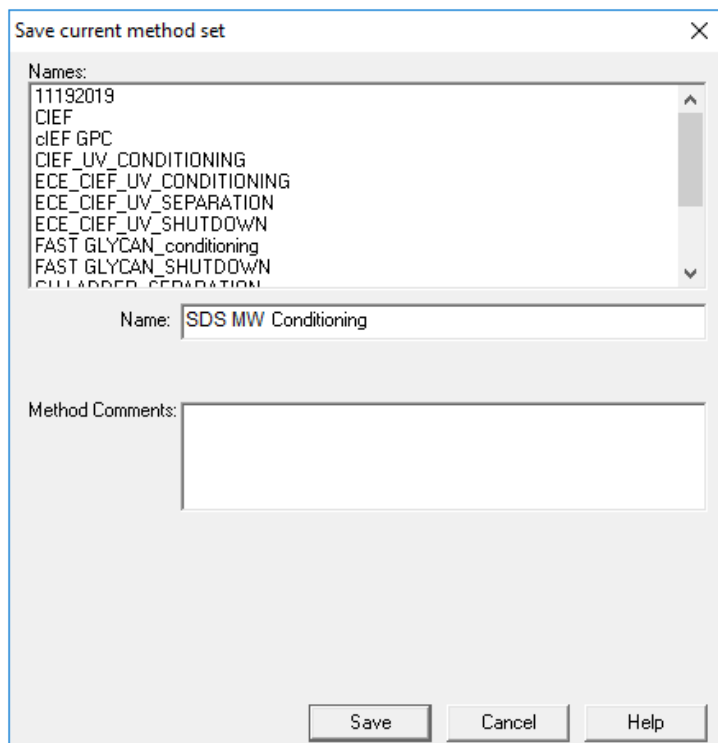
図 E.7 メソッドセットエディタウィンドウ



- 4 メソッドセットを保存します。
  - a. [File] (ファイル) ¥> [Save] (保存) をクリックして、[Save current Instrument Method] (現在の装置メソッドを保存) ダイアログを開きます。
  - b. [Name] (名前) フィールドに SDS MW Conditioning と入力します。
  - c. (オプション) メソッドのコメントフィールドに情報を入力します。
  - d. 要求されたら、現在のユーザーの Empower™ Software パスワードを [Password] (パスワード) フィールドに入力し、[Save] (保存) をクリックします。



図 E.8 [Save current method set] (現在のメソッドセットを保存) ダイアログ



メソッドセットは現在のプロジェクトに保存されます。

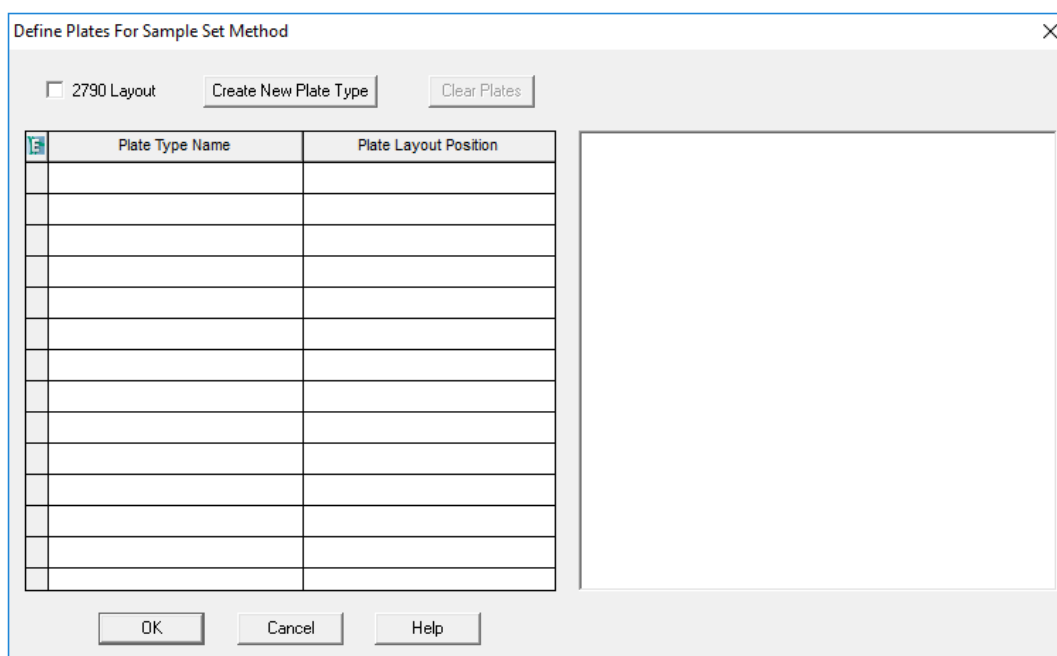
- 5 前の手順を繰り返して、さらに 2 つのメソッドセットを作成します。
  - a. [Instrument Method] (装置メソッド) リストで [SDS MW\_SEPARATION] を選択して、分離メソッドセットを作成します。  
メソッドを「SDS MW Separation」として保存します。
  - b. [Instrument Method] (装置メソッド) リストで [SDS MW\_SHUTDOWN] を選択して、シャットダウンメソッドセットを作成します。  
メソッドを「SDS MW Shutdown」として保存します。

## 複数のプレートを使用するようにソフトウェアを構成する

Empower™ Software は、バッファートレイがないクロマトグラフィーシステム用に設計されています。バッファートレイを使用するには、以下のように Empower™ Software を構成します。

- 1 [Empower™ Softwareのサンプルを実行] ウィンドウで、[Edit] (編集) ♪ [Plates] (プレート) をクリックします。  
[Define Plates for Sample Set Method] (サンプルセットメソッド用のプレートの定義) ダイアログが開きます。

図 E.9 [Define Plates for Sample Set Method] (サンプルセットメソッド用のプレートの定義) ダイアログ



注: ダイアログが前の図のように表示されない場合は、2790レイアウトチェックボックスをオフにします。

- 2 最初の行で、バッファインレットトレイをセットアップします。
  - a. [Plate Type Name] (プレートの種類名) セルをクリックし、[PA 800 Plus Buffer Tray] (PA 800 Plusバッファートレイ) を選択します。

注: [PA 800 Plus Buffer Tray] (PA 800 Plusバッファートレイ) がない場合は、バッファートレイとサンプルトレイが定義されていない可能性があります。PA 800 Plus 『Empower™ Driverユーザーガイド』を参照してください。

ダイアログが更新され、プレートの画像とプレートシーケンスモードのボタンが表示されます。


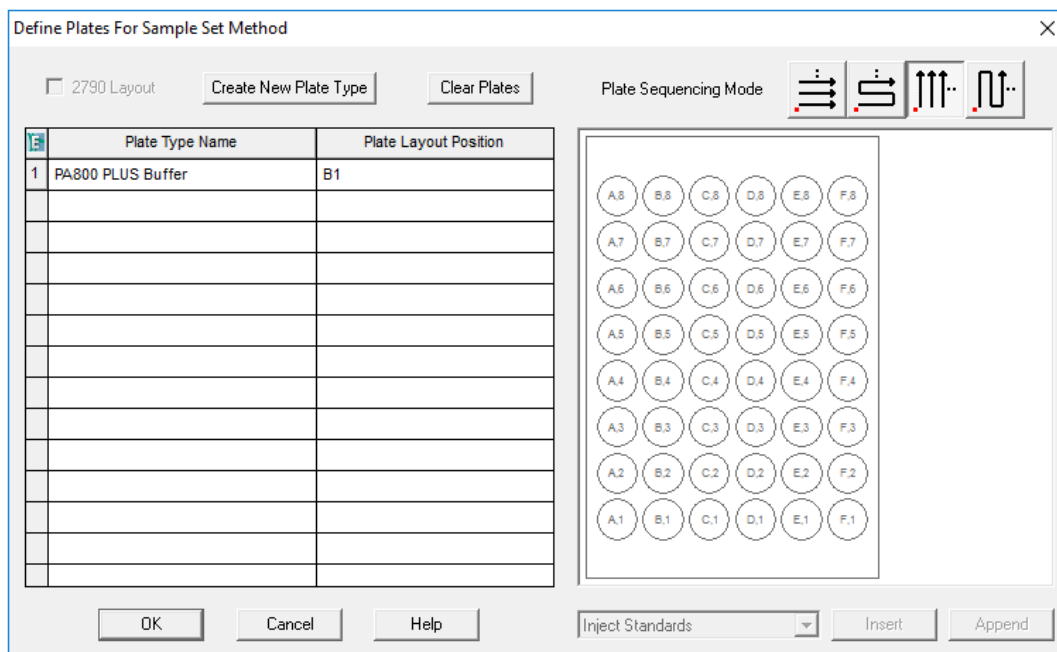
- b. [Plate Layout Position] (プレートレイアウト位置) セルをクリックして、BIと入力します。
    - c.  (垂直不連続プレートシーケンスモード) をクリックして、実行中にバイアルにアクセスする順序を示します。

図 E.10 バッファインレットプレートの定義後




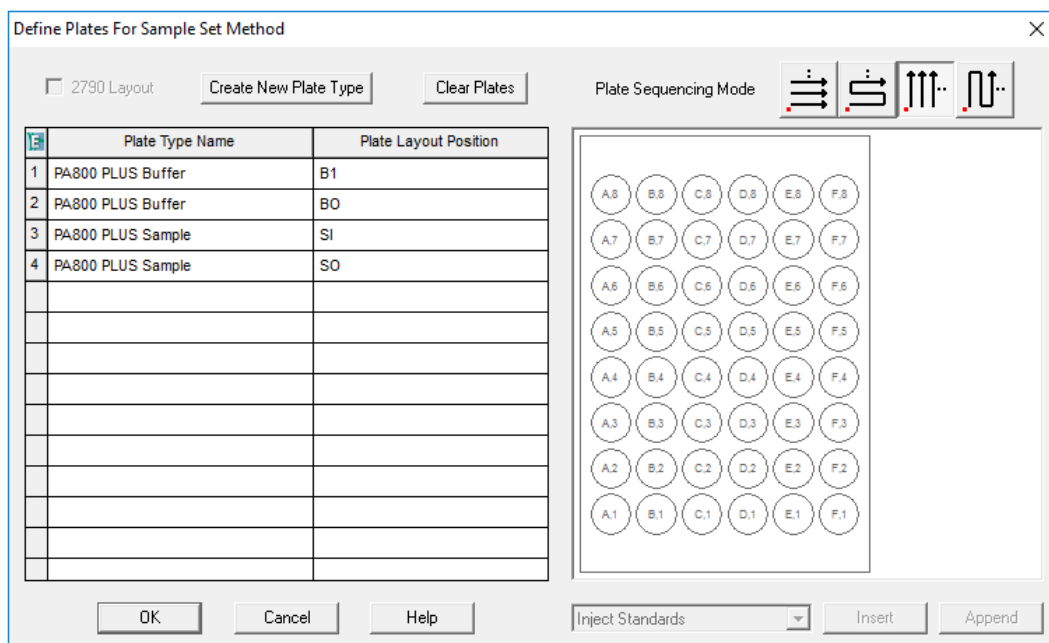
- 3 ステップ2を繰り返して、2行目のバッファアウトレットトレイをセットアップします。  
[Plate Layout Position] (プレートレイアウト位置) にB0と入力します。
- 4 3行目で、サンプルインレットトレイをセットアップします。
  - a. [Plate Type Name] (プレートの種類名) セルをクリックし、正しいプレート種類を選択します ( PA 800 Plusサンプルトレイ またはPA 800 Plus 96ウェルサンプルトレイ)。
  - b. [Plate Layout Position] (プレートレイアウト位置) セルをクリックして、S1と入力します。
  - c.  (垂直不連続プレートシーケンスモード) をクリックして、実行中にバイアルにアクセスする順序を示します。
- 5 ステップ4を繰り返して、4行目のサンプルアウトレットトレイをセットアップします。  
[Plate Layout Position] (プレートレイアウト位置) にS0と入力します。

図 E.11 すべてのプレート種類の定義後

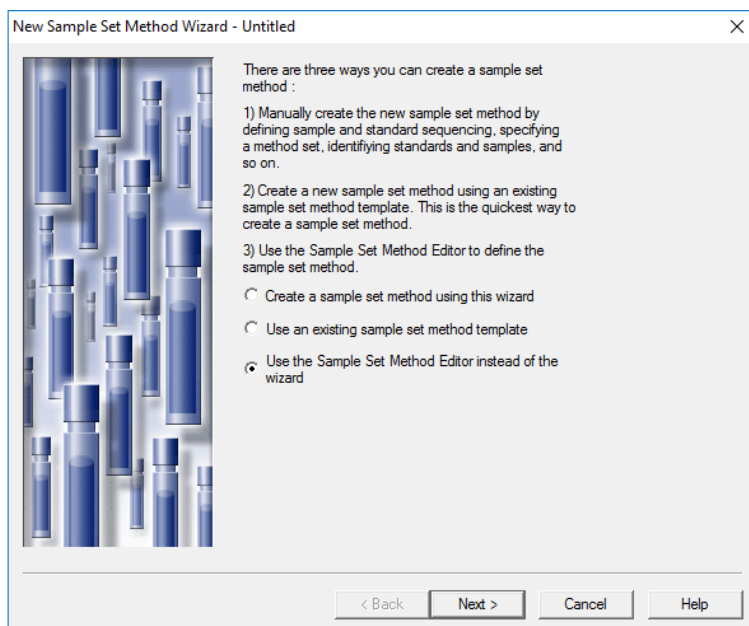


- 6 [OK]をクリックして変更を保存し、ダイアログを閉じます。

## サンプルセットメソッドの作成とサンプルの実行

- 1 Empower™ Softwareプロジェクトウィンドウで、[File] (ファイル) ¥> [New Method] (新規メソッド) ¥> [Sample Set Method] (サンプルセットメソッド)をクリックします。メソッド。サンプルセットメソッドの新規作成ウィザードが開きます。
- 2 [Use the Sample Set Method Editor instead of the wizard] (ウィザードの代わりにサンプルセットメソッドエディタを使用) をクリックし、[Next] (次へ) をクリックします。

図 E.12 サンプルセットメソッドの新規作成ウィザード



サンプルセットメソッドエディタが開きます。

### 3 サンプルセットメソッドを設定します。

- a. 最初の行で、[Method Set/Report or Export Method] (メソッドセット/レポートまたはメソッドのエクスポート) セルで [SDS MW Conditioning] (SDS MW コンディショニング) を選択します。
- b. 2~17 行で、[Method Set/Report or Export Method] (メソッドセット/レポートまたはメソッドのエクスポート) セルで [SDS MW Separation] (SDS MW 分離) を選択します。
- c. 18 行で、[Method Set/Report or Export Method] (メソッドセット/レポートまたはメソッドのエクスポート) セルで [SDS MW Shutdown] (SDS MW シャットダウン) を選択します。
- d. サンプルに必要な情報を追加します。表 E.1 を参照してください。他のフィールドにはデフォルト値を使用します。

表 E.1 サンプルセットメソッドの必須フィールド

名称	説明
[Plate/Well] (プレート/ウェル)	サンプルトレイ内のサンプルの位置。
[# of Injs] (注入回数)	サンプルが注入される回数。
[SampleName] (サンプル名)	サンプルの名前。
[Run Time (Minutes)] (実行時間 (分))	実行の期間。  <b>注意:</b> 間違った結果になる可能性があります。実行時間は、装置メソッドの時間プログラムの時間以上であることを確認してください。実行時間が短い場合、時間プログラムが完了する前に、システムは実行を停止します。

完成したサンプルセットメソッドを次の図に示します。

注: 次の図では、[Level] (レベル) 列と [Reference Level] (参照レベル) 列が非表示になっています。

図 E.13 サンプルセットメソッド

	Plate/Well	Inj Vol (uL)	# of Injs	Label	SampleName	Function	Method Set / Report or Export Method	Processing	Run Time (Minutes)
1	Bl:A,1	10.0	1		Conditioning	Inject Samples	SDS MW CONDITIONING	Normal	10.00
2	Sl:A,1	10.0	1	S0101	SDS MW STD	Inject Standards	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
3	Sl:A,2	10.0	1	U0101	SAMPLE1	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
4	Sl:A,3	10.0	1	U0102	SAMPLE2	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
5	Sl:A,4	10.0	1	U0103	SAMPLE3	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
6	Sl:A,5	10.0	1	U0104	SAMPLE4	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
7	Sl:A,6	10.0	1	U0105	SAMPLE5	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
8	Sl:A,7	10.0	1	U0106	SAMPLE6	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
9	Sl:A,8	10.0	1	U0107	SAMPLE7	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
10	Sl:B,1	10.0	1	U0108	SAMPLE8	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
11	Sl:B,2	10.0	1	U0109	SAMPLE9	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
12	Sl:B,3	10.0	1	U0110	SAMPLE10	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
13	Sl:B,4	10.0	1	U0111	SAMPLE11	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
14	Sl:B,4	10.0	1	U0112	SAMPLE11	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
15	Sl:B,6	10.0	1	U0113	SAMPLE13	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
16	Sl:B,7	10.0	1	U0114	SAMPLE14	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
17	Sl:B,8	10.0	1	U0115	SAMPLE15	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
18	Sl:C,1	10.0	1	U0116	SAMPLE16	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
19	Sl:C,2	10.0	1	U0117	SAMPLE17	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
20	Sl:C,3	10.0	1	U0118	SAMPLE18	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
21	Sl:C,4	10.0	1	U0119	SAMPLE19	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
22	Sl:C,5	10.0	1	U0120	SAMPLE20	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
23	Sl:C,6	10.0	1	U0121	SAMPLE21	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
24	Sl:C,7	10.0	1	U0122	SAMPLE22	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
25	Sl:C,8	10.0	1	U0123	SAMPLE23	Inject Samples	SDS MW SEPARATION	Normal	30.00
26	Bl:A,1	10.0	1		SAMPLE23	Inject Samples	SDS MW SHUTDOWN	Normal	10.00

#### 4 サンプルセットメソッドを保存します。

- a. [File] (ファイル) > [Save] (保存) をクリックします。

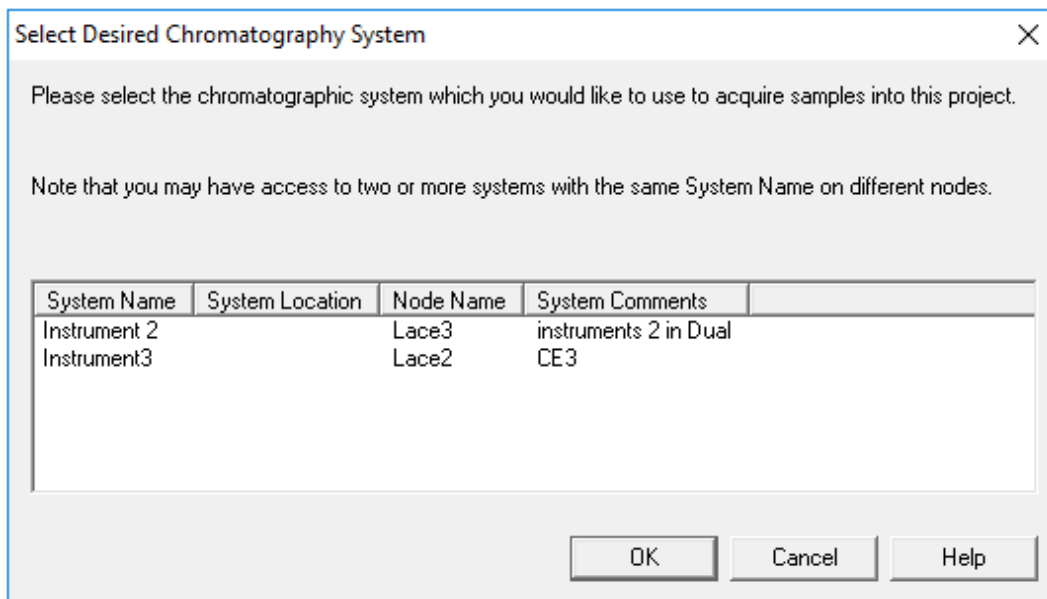
[Save current method set] (現在のメソッドセットを保存) ダイアログが開きます。

- b. [Name] (名前) フィールドに SDS MW サンプルセットメソッド と入力します。
- c. (オプション) メソッドのコメントフィールドに情報を入力します。
- d. 要求されたら、現在のユーザーの Empower™ Software パスワードを [Password] (パスワード) フィールドに入力し、[Save] (保存) をクリックします。


メソッドセットは現在のプロジェクトに保存されます。

- 5 [Tools] (ツール) ¥ [Run Samples] (サンプルを実行) をクリックします。

図 E.14 [Select Desired Chromatography System] (目的のクロマトグラフィーシステムを選択) ダイアログ



- 6 使用するシステムをクリックし、[OK]をクリックします。装置が PDA 検出器で構成されていることを確認してください。  
[Run Samples] (サンプルを実行) ウィンドウが開きます。

- 7  (サンプルセットのロード) をクリックします。  
[Load Samples] (サンプルのロード) ダイアログが開きます。

- 8 [Load using a previously created sample set method] (以前に作成したサンプルセットメソッドを使用してロード) をクリックし、[OK] をクリックします。

図 E.15 [Load Samples] (サンプルのロード) ダイアログ

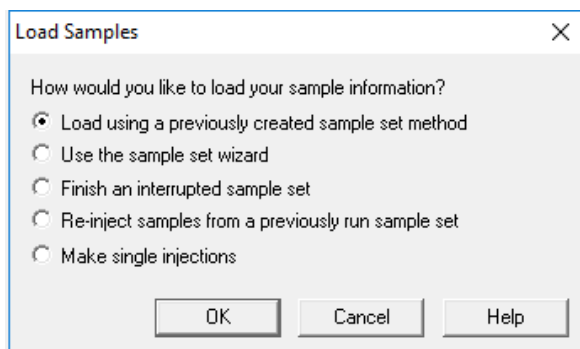
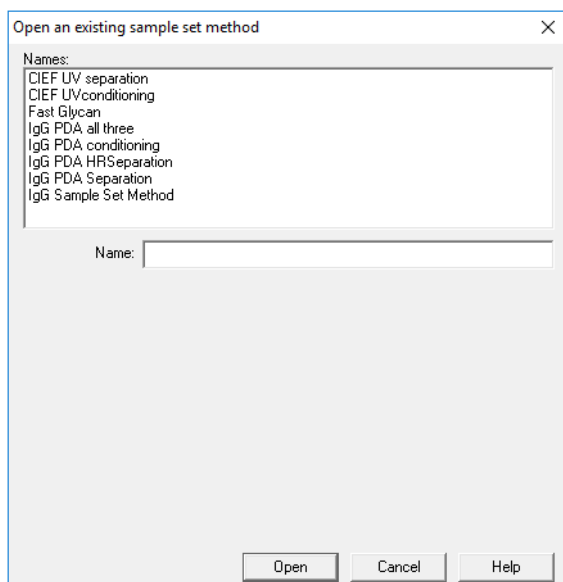



図 E.16 [Open an existing sample set method] (既存のサンプルセットメソッドを開く) ダイアログ




- 9 リストで [SDS MW Sample Set Method] (SDS MW サンプルセットメソッド) をクリックし、[Open] (開く) をクリックします。

サンプルセットメソッドが [Samples] (サンプル) タブで開きます。

- 10 Empower™ Software プロジェクトウィンドウで、 ([Start] (開始)) をクリックします。データ収集が開始します。

実行中、収集中のサンプルの [Sample Set Method] (サンプルセットメソッド) ウィンドウの行内のテキストが赤色で表示されます。

- 11 実行中、次のアクションを使用できます。

- ・ (オプション)  ([Stop] (停止)) をクリックして、データ収集を停止します。
- ・ 電圧と電流のデータを表示します。

実行が終了すると、[Sample Set Method] (サンプルセットメソッド) ウィンドウのすべての行内のテキストが赤色で表示されます。



---

# 改訂履歴

## 最初の問題、A51970AA、2009 年 4 月

32 Karat™ Software バージョン9.1  
PA 800 プラスソフトウェアバージョン 1.1  
PA 800 プラスファームウェアバージョン 9.0

## 最初の改訂、A51970AB、2009 年 12 月

会社住所の修正

## 改訂 2 版、A51970AC、2011 年 2 月

32 Karat™ Software バージョン9.1 パッチ  
PA 800 Plusソフトウェアバージョン 1.1 パッチ  
PA 800 Plusファームウェアバージョン 9.2  
多数の構文と文法の編集

## 改訂 3 版、A51970AD、2014 年 1 月

寸法と指示の編集

## 改訂 4 版、A51970AE、RU0-IDV-05-6934-A、2018 年 4 月

リブランド。新規テンプレートを適用。法的コンテンツを更新。安全に関する章を削除し、「システム概要ガイド」にある安全に関するコンテンツへの参照を追加。メソッドの作成手順を PA 800 Plus ソフトウェアの使用手順に置き換えました。有害物質情報の付録を追加。

## 改訂 5 版、RU0-IDV-05-6934-B、2019 年 11 月

新規テンプレートを適用。法的コンテンツを更新。サンプル調製手順を含むlow pH SDS sample bufferを追加。メソッドの付録を追加。連絡先を追加。

## 改訂 6 版、RU0-IDV-05-6934-JA-C、2020 年 7 月

「法的コンテンツ」を更新。「はじめに」を更新。「カートリッジを10日間未満保管する」を追加。付録A、有害物質情報を更新付録 C、サンプル調製手順を含むLow pH SDS Sample Bufferを追加。付録 D、Low pH Phosphate SDS Sample Bufferを追加。付録 E「Waters Empower™ Software でサンプルを実行」を追加。連絡先を更新。

このガイドは、上記の最新のソフトウェアとファームウェア、およびそれ以降のバージョンに適用されます。以降のソフトウェアまたはファームウェアのバージョンにより、このガイドの情報に影響が及ぶ場合、SCIEX Web サイトに新しい問題が公表されます。アップデートするには、[sciex.com](http://sciex.com) にアクセスして、ガイドの最新バージョンをダウンロードしてください。



## お客様のトレーニング

---

- ・ 北米 : [NA.CustomerTraining@sciex.com](mailto:NA.CustomerTraining@sciex.com)
- ・ ヨーロッパ : [Europe.CustomerTraining@sciex.com](mailto:Europe.CustomerTraining@sciex.com)
- ・ ヨーロッパおよび北米以外 : [sciex.com/education](http://sciex.com/education)のお問い合わせ情報を参照してください。

## 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ストアをご利用ください。[sciex.com](http://sciex.com)。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](http://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](http://sciex.com/contact-us)
- ・ [sciex.com/request-support](http://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](https://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> にアクセスしてください。

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](https://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](https://sciex.com/contact-us)までお問い合わせください。

---