

CE-SDS Protein Analysis Kit

Für das BioPhase 8800-System

Anwendungsrichtlinie

Dieses Dokument wird Käufern eines SCIEX-Geräts für dessen Gebrauch zur Verfügung gestellt. Dieses Dokument ist urheberrechtlich geschützt und jegliche Vervielfältigung dieses Dokuments, im Ganzen oder in Teilen, ist strengstens untersagt, sofern keine schriftliche Genehmigung von SCIEX vorliegt.

Die in diesem Dokument beschriebene Software unterliegt einer Lizenzvereinbarung. Das Kopieren, Ändern oder Verbreiten der Software auf einem beliebigen Medium ist rechtswidrig, sofern dies nicht ausdrücklich durch die Lizenzvereinbarung genehmigt wird. Darüber hinaus kann es nach der Lizenzvereinbarung untersagt sein, die Software zu disassemblieren, zurückzuentwickeln oder zurückzuübersetzen. Es gelten die aufgeführten Garantien.

Teile dieses Dokuments können sich auf andere Hersteller und/oder deren Produkte beziehen, die wiederum Teile enthalten können, deren Namen als Marken eingetragen sind und/oder die Marken ihrer jeweiligen Inhaber darstellen. Jede Nennung solcher Marken dient ausschließlich der Bezeichnung von Produkten eines Herstellers, die von SCIEX für den Einbau in die eigenen Geräte bereitgestellt werden, und bedeutet nicht, dass eigene oder fremde Nutzungsrechte und/oder -lizenzen zur Verwendung derartiger Hersteller- und/oder Produktnamen als Marken vorliegen.

Die Garantien von SCIEX beschränken sich auf die zum Verkaufszeitpunkt oder bei Erteilung der Lizenz für die eigenen Produkte ausdrücklich zuerkannten Garantien und sind die von SCIEX alleinig und ausschließlich zuerkannten Zusicherungen, Garantien und Verpflichtungen. SCIEX gibt keinerlei andere ausdrückliche oder implizite Garantien wie beispielsweise Garantien zur Marktgängigkeit oder Eignung für einen bestimmten Zweck, unabhängig davon, ob diese auf gesetzlichen oder sonstigen Rechtsvorschriften beruhen oder aus Geschäftsbeziehungen oder Handelsbrauch entstehen, und lehnt alle derartigen Garantien ausdrücklich ab; zudem übernimmt SCIEX keine Verantwortung und Haftungsverhältnisse, einschließlich solche in Bezug auf indirekte oder nachfolgend entstehenden Schäden, die sich aus der Nutzung durch den Käufer oder daraus resultierende widrige Umstände ergeben.

Nur für Forschungszwecke. Nicht zur Verwendung bei Diagnoseverfahren.

Die hier erwähnten Marken und/oder eingetragenen Marken, einschließlich deren Logos, sind Eigentum der AB Sciex Pte. Ltd. oder ihrer jeweiligen Inhaber in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern (siehe sciex.com/trademarks).

AB Sciex™ wird unter Lizenz verwendet.

Hergestellt in den USA mit Komponenten aus dem In- und Ausland.

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

Bevollmächtigter der EU-Kommission AB Sciex Netherlands B.V.
1e Tochtweg 11,
2913LN Nieuwerkerk aan den IJssel
Netherlands



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

Inhalt

1 CE-SDS Protein Analysis Kit	6
Sicherheit.....	6
Bestimmungsgemäße Verwendung.....	6
Einleitung.....	6
Workflow.....	6
2 Erforderliche Ausrüstung und Materialien	8
Lagerungsbedingungen.....	9
Vom Kunden beigestellte Ausrüstung und Materialien.....	9
Erforderlicher Detektor.....	10
Erforderliche Kartusche.....	10
3 Methoden und Sequenzen	11
Sequenz erstellen.....	11
4 Proben vorbereiten	15
Standard vorbereiten.....	15
Reduzierten MW Size Standard vorbereiten.....	15
Bereiten Sie den IgG Control Standard vor.....	16
Proben vorbereiten.....	18
Empfohlene Proteinkonzentration.....	18
Reduzierte Proben vorbereiten.....	18
Nicht reduzierte Proben vorbereiten.....	19
Pufferaustausch für die Proteinprobe durchführen.....	20
Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert verwenden.....	21
5 BioPhase 8800-System vorbereiten	22
Reagenzeinlass- und Auslassplatten laden.....	22
Probenzufuhr und Auslassplatten laden.....	23
Kapillarkartusche untersuchen.....	25
Kartusche installieren.....	26
6 Proben durchlaufen lassen	29
Die Sequenz auf der Vorderseite starten.....	29
Durchlauf auf dem vorderen Bedienfeld der BioPhase 8800 überwachen.....	30
Abfallentsorgung.....	38
Kartusche nach dem Durchlauf lagern.....	38
Lagern der Kassette für weniger als drei Tage.....	38
Lagern der Kartusche für mehr als drei Tage.....	38
Kartusche nach der Lagerung vorbereiten.....	38

Inhalt

7 Daten analysieren	40
Analysieren der Daten mit einer Analyseparameterdatei.....	40
Untersuchung der Ergebnisse.....	43
Ergebnisse auf der Registerkarte „Overlay“ überprüfen.....	44
Leitfaden für die Entwicklung von Akzeptanzkriterien.....	47
Mit „MW Size Standard“ das Molekulargewicht schätzen.....	47
Kalibrationskurve mithilfe von externen Markern erstellen.....	48
8 Proben mit der Waters Empower™-Software durchlaufen lassen	50
Importieren Sie die BioPhase Software-Methoden, um die Instrumentenmethoden zu erstellen.....	50
Probensatzmethode-Software erstellen.....	53
Probensatzmethode starten.....	56
Durchlauf in der Waters Empower™-Software überwachen.....	61
9 Fehlersuche	65
Blockade aus einer Kapillaren entfernen.....	72
Optionen für verstopfte oder beschädigte Kapillare.....	72
Kapillaren konditionieren.....	72
A Angaben zu gefährlichen Substanzen	73
B Literaturverzeichnis	75
C Erforderliche Dateien herunterladen	76
Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren (BioPhase-Software).....	76
Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren (Waters Empower™-Software)....	77
D Reagenzien, Plattenlayouts und Methoden	78
Reagenziensatz.....	78
Plattenlayouts.....	79
Methoden.....	82
Methodeneinstellung.....	82
Konditionierungsmethode.....	82
Trennmethode für nicht reduzierte Proben.....	83
Trennmethode für reduzierte Proben.....	84
Trennmethode für Proben, die in Low pH Sampl Buffer vorbereitet wurden.....	86
Ausschaltmethode.....	87
Kontakt	89
Kundenschulung.....	89
Online-Lernzentrum.....	89
Kauf von Materialien und Reagenzien.....	89
SCIEX Support.....	89

Cybersicherheit.....89
Dokumentation.....89

Der CE-SDS Protein Analysis Kit enthält die Reagenzien und Ausrüstung, die reduzierte und nicht reduzierte Proteine nach ihrer Größe auflösen, und Heterogenität und Verschmutzungen quantifizieren, die in einer Proteinzubereitung vorhanden sein können.

Dieses Dokument enthält Anweisungen zur Probenvorbereitung mit dem CE-SDS Protein Analysis Kit. Es enthält außerdem Anweisungen für die Datenerfassung mit der BioPhase-Software und der Waters Empower™-Software mit dem BioPhase 8800 Driver for Empower™. Dieses Dokument enthält auch Anweisungen für die Analyse von Daten, die mit der BioPhase-Software erfasst wurden. Die Analyse von Daten, die mit der Waters Empower™-Software erfasst wurden, muss mithilfe der Waters Empower™-Software erfolgen.

Nutzen Sie die Informationen in diesem Anwendungshandbuch als Startpunkt. Ändern Sie bei Bedarf Injektionszeit, Spannung, Injektionstyp oder andere Parameter, um die besten Bedingungen für Ihre Anforderungen zu finden.

Hinweis: Informationen für den sicheren Umgang mit dem System finden Sie im Dokument: *Bedienerhandbuch*.

Sicherheit

Weitere Informationen über die ordnungsgemäße Handhabung von Materialien und Reagenzien finden Sie auf den Sicherheitsdatenblättern (SDB) unter sciex.com/tech-regulatory. Beachten Sie die standardmäßigen Richtlinien für die Sicherheit in einem Labor. Informationen zur gefährlichen Substanz finden Sie im Abschnitt: [Angaben zu gefährlichen Substanzen](#).

Bestimmungsgemäße Verwendung

Der CE-SDS Protein Analysis-Kit ist nur für Laborzwecke geeignet.

Einleitung

Der CE-SDS Protein Analysis Kit enthält Reagenzien, um reduzierte und nicht reduzierte Proteine nach Größe aufzulösen und die Heterogenität und Unreinheiten, die eventuell im Protein vorhanden sind, zu quantifizieren. Die Methode umfasst Hitzedenaturierung einer festgelegten Konzentration des Proteins in der Gegenwart von Natriumdodecylsulfat (SDS). Nach der Denaturierung wird die Probe nach Größe in einer Kapillare mit einer auswechselbaren SDS-Polymermatrix getrennt, mit der die Siebtrennung durchgeführt werden kann.

Workflow

Der Workflow besteht aus folgenden Schritten:

1. Bestimmen Sie die Anzahl der zu analysierenden Proben und die Anzahl der Replikate.

2. Für Benutzer der BioPhase-Software:
 - a. Erstellen oder ändern Sie die Methoden. Siehe Abschnitt: [Methoden](#).
 - b. Erstellen Sie die Sequenz und die Reagenzplattenlayouts. Siehe Abschnitt: [Sequenz erstellen](#).
3. Für Benutzer der Waters Empower™-Software:
 - a. Importieren Sie BioPhase Software-Methoden. Siehe Abschnitt: [Importieren Sie die BioPhase Software-Methoden, um die Instrumentenmethoden zu erstellen](#).
 - b. Erstellen Sie die Probensatzmethoden sowie die Proben- und Reagenzplattenlayouts. Siehe Abschnitt: [Probensatzmethode-Software erstellen](#).
4. Bereiten Sie die Proben vor. Siehe Abschnitt: [Proben vorbereiten](#).

Es gibt zwei unterschiedliche Workflows: reduziert und nicht reduziert.
5. Verwenden Sie die Proben- und Reagenzplattenlayouts, um die Platten vorzubereiten.
6. Stellen Sie die Platten in das BioPhase 8800-System. Siehe die Abschnitte: [Probenzufuhr und Auslassplatten laden](#) und [Reagenzeinlass- und Auslassplatten laden](#).
7. Starten Sie die Datenerfassung.
 - (BioPhase-Software) Starten Sie die Sequenz über das vordere Bedienfeld. Siehe Abschnitt: [Proben durchlaufen lassen](#).
 - (Waters Empower™ software) Starten Sie die Probensatzmethode über die Waters Empower™-Software mit dem BioPhase 8800 Driver for Empower™. Siehe Abschnitt: [Probensatzmethode starten](#).
8. Analysieren Sie die Daten.
 - (BioPhase-Software) Analysieren Sie nach Abschluss der Sequenz die Daten mit der BioPhase Analysis -Software. Siehe Abschnitt: [Daten analysieren](#).
 - (Waters Empower™ -Software) Analysieren Sie nach Abschluss der Probensatzmethode die Daten mit der Waters Empower™-Software. Anweisungen zur Datenanalyse finden Sie in den Anleitungen und der Hilfedatei der Waters Empower™-Software.

Erforderliche Ausrüstung und Materialien

2

Hinweis: Bei Elementen mit einer Teilenummer für eine Nachbestellung kann die Menge der Nachbestellung von der Menge im Kit abweichen.

Tabelle 2-1: CE-SDS Protein Analysis-Kit (PN C30085)

Komponente	Menge	Nachbestell- artikelnummer
10 kDa Internal Standard	2	A26487
Acid Wash/Regenerating Solution (100 mL)	1	n. z.
Capillary Regenerator Solution A Basic Wash (100 mL)	1	n. z.
CE Grade Water (140 mL)	3	C48034
CE-SDS Gel Buffer (140 mL)	2	A30341
Low pH SDS Sample Buffer (55 mL)	1	C44807
SDS-MW Sample Buffer	1	n. z.

Tabelle 2-2: Zusätzliche Ausrüstung von SCIEX

Komponente	Menge	Artikel- nummer
(Optional) Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (40 mM Phosphat, pH 6,5, 1 % SDS) (140 mL)	1	C57805
Kühlmittel für Kapillarkartusche (450 mL)	1	359976
IgG Control Standard (1 mg) (1 mL)	3	391734
MW Size Standard (Größenleiter mit 10 kDa-, 20 kDa, 35 kDa-, 50 kDa-, 100 kDa-, 150 kDa- und 225 kDa-Proteinen) (100 µL)	3	A22196
BioPhase 8800 Kapillarkartusche aus glattem Quarzglas (50 µm ID × 30 cm Kapillare)	1	5080121
BioPhase 8800-Auslassplatten	20	5080315
BioPhase 8800-Reagenzplatten	20	5080314
BioPhase 8800-Probenplatten	20	5080313
BioPhase 8800 Starter Plate Pack (4 Probenplatten, 4 Reagenzplatten, 8 Auslassplatten)	1	5080311

Tabelle 2-3: Zuzuliche Anforderungen an Reagenzien oder Ausrüstungen

Beschreibung	Händler	Artikelnummer
(Optional) Amicon Ultra-4 Zentrifugenfiltergerät mit Ultracel-10 Membran	MilliporeSigma	UFC801024
(Optional) MicroCon-10 kDa Zentrifugenfiltergerät mit Ultracel-10 Membran	MilliporeSigma	MRCPRT010
(Optional) MicroCon-30 kDa Zentrifugenfiltergerät mit Ultracel-30 Membran	MilliporeSigma	MRCF0R030
2-Mercaptoethanol	MilliporeSigma	M7154
Iodoacetamid	MilliporeSigma	I-1149
X-Pierce Film	USA Scientific	2997-0100

Lagerungsbedingungen

Hinweis: Informationen zu den Lagerungsbedingungen für die vorbereiteten Reagenzien finden Sie in den Vorbereitungsanweisungen.

- Nach Empfang lagern Sie das 10 kDa Internal Standard bei 2 °C bis 8 °C.
- Lagern Sie den Restinhalt des Kits bei Raumtemperatur.

Vom Kunden beigestellte Ausrüstung und Materialien

- Puderfreie Handschuhe, Neopren- bzw. Nitrilhandschuhe werden empfohlen
- Schutzbrillen
- Laborkittel
- Passende Zentrifuge
- Mikrozentrifuge, oder gleichwertig, und Mikrozentrifugenröhrchen
- Vortexmischer
- Pipetten und geeignete Spitzen

Für die Vorbereitung von Reagenzplatten werden Repetierpipetten oder Gleichwertiges empfohlen.

- Parafilm
- Zentrifuge mit Ausschwingrotor zur Befestigung von Platten
- Wasserbad oder Wärmeblock mit Kapazität von 37 °C bis 100 °C Temperatur
- Analysenwaage

Erforderliche Ausrüstung und Materialien

- Spachtel

Erforderlicher Detektor

Ein UV-Detektor mit einem 220-nm-Filter ist erforderlich.

Erforderliche Kartusche

VORSICHT: Potenziell falsches Ergebnis. Wenn eine Kartusche mit dem CE-SDS Protein Analysis-Kit verwendet wird, dann verwenden Sie dieselbe Kartusche nicht für eine andere Anwendung. Wenn dieselbe Kartusche mit unterschiedlichen Puffern und Proben typen verwendet wird, dann kann es zu einer Verschleppung der Probe, unspezifischer Bindung und mangelhafter Trennung kommen.

Eine BioPhase 8800 BFS Kapillarkartusche mit 50 µm ID × 30 cm Kapillaren erforderlich.

Siehe die Tabelle: [Tabelle 2-2](#).

Für Systeme, die die BioPhase-Software verwenden

Hinweis: Wenn die validierten Methoden und Sequenzen nicht in der Software enthalten sind, können sie von der Website SCIEX heruntergeladen werden. Siehe Abschnitt: [Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren \(BioPhase-Software\)](#). Die Methoden können auch manuell mit der BioPhase-Software erstellt werden. Siehe Abschnitt: [Methoden](#).

Die folgenden Methoden und Sequenzen sind erforderlich.

- CE-SDS Conditioning: Konditioniert die Kapillaren.
- Trennmethode:
 - Reduced CE-SDS Separation: Für reduzierte Proben.
 - Non Reduced CE-SDS Separation: Für nicht-reduzierte Proben.
 - Low pH Sample Buffer Separation: Für Proben, die mit einem Probenpuffer mit niedrigerem pH-Wert vorbereitet wurden.
- CE-SDS Shutdown: Reinigt die Kapillaren am Ende einer Sequenz durch, spült die Kapillaren zur Lagerung ab und schaltet dann die Lampe aus.
- Sequenzvorlagen:
 - Reduced CE-SDS Separation: Für reduzierte Proben.
 - Non Reduced CE-SDS Separation: Für nicht-reduzierte Proben.
 - Low pH Sample Buffer Separation: Für Proben, die mit einem Probenpuffer mit niedrigerem pH-Wert vorbereitet wurden.

Für Systeme, die die Waters Empower™-Software verwenden

Erstellen Sie die erforderlichen Instrumentenmethoden, indem Sie die Methoden der BioPhase-Software importieren.

Hinweis: Wenn die Methoden nicht in der Software enthalten sind, können sie von der Website SCIEX heruntergeladen werden. Siehe Abschnitt: [Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren \(Waters Empower™-Software\)](#). Die Methoden können auch manuell mit der Method Editors for BioPhase System-Software erstellt werden. Siehe Abschnitt: [Methoden](#).

Sequenz erstellen

Hinweis: Wenn die Waters Empower™-Software zur Datenerfassung verwendet wird, entfällt dieses Verfahren. Siehe Abschnitt: [Probensatzmethode-Software erstellen](#).

Methoden und Sequenzen

Hinweis: Bei diesem Verfahren wird davon ausgegangen, dass der Benutzer mit der BioPhase-Software vertraut ist. Ausführliche Anweisungen finden Sie in folgendem Dokument: *Software Hilfesystem*.

Dieses Verfahren enthält Anweisungen zur Erstellung einer Sequenz mit einer Vorlage, die der BioPhase-Software beiliegt. Die Vorlage ist für acht Proben in der ersten Spalte vorgesehen und nutzt validierte Methoden, die mit der Software geliefert werden.

Sequenzen können auch ohne Vorlage erstellt werden. In den meisten Fällen sollte eine Sequenz mit einer Konditionierungsmethode beginnen, gefolgt von einer Trennmethode und mit einer Ausschaltmethode abschließen. Die Ausschaltmethode sollte als Fehlerkorrekturmethode zugewiesen werden. Siehe Dokument: *Software Hilfesystem*.

Hinweis: Wenn die Sequenz Wiederholungsproben umfasst, stellen Sie sicher, dass sich die Wiederholungen in derselben Reihe der Probenplatte befinden, um etwaige Abweichungen zwischen den Kapillaren zu verringern.

1. Klicken Sie auf der Startseite der BioPhase-Software auf **Sequence Editor**.
 2. Klicken Sie auf **Open Sequence**.
Das Dialogfeld „Open a Sequence“ wird geöffnet.
 3. Suchen Sie nach und wählen Sie dann die entsprechende Sequenz aus:
 - a. (Optional) Geben Sie ein **Start Date** und **End Date** für die Suche ein oder klicken Sie auf die Kalendersymbole, wählen Sie die Daten aus und klicken Sie danach auf **Search**.
Die verfügbaren Projektordner werden im Teilfenster „Folder Name“ angezeigt.
 - b. Klicken Sie auf den Projektordner **CE-SDS Project**.
Die verfügbaren Sequenzen im Projekt werden in der Tabelle rechts gezeigt.
 - c. Klicken Sie in der Tabelle auf die entsprechende Sequenzvorlage und dann auf **Open**.
 - Klicken Sie bei reduzierten Proben auf **CE-SDS Test Sequence**.
 - Klicken Sie bei nicht reduzierten Proben auf **Non Reduced CE-SDS Sequence**.
 - Für Proben, die mit einem Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert vorbereitet wurden, klicken Sie auf **Low pH Sample Buffer CE-SDS Sequence**.
- Das Dialogfeld „Open a Sequence“ wird geschlossen, und anschließend wird die Registerkarte „Sequence Summary“ geöffnet.
4. Klicken Sie oberhalb des Teilfensters „Sequence Summary“ auf **Edit**.
Die Registerkarte „Sample Plate Setup“ wird geöffnet.
 5. Gehen Sie bei Bedarf folgendermaßen vor:
 - Fügen Sie Proben hinzu oder entfernen Sie sie.
 - Löschen Sie eine Methode, die einem Proben-Well zugewiesen ist.
 - Weisen Sie einem Proben-Well eine andere Methode zu.

- Weisen Sie in der Tabelle „Sequence Summary“ die Korrekturmethode einer Methode in der Sequenz zu. Normalerweise sollte die Ausschaltmethode als Korrekturmethode zugewiesen werden.

Ausführliche Anweisungen finden Sie im Dokument: *Software Hilfesystem*.

6. Bearbeiten Sie bei Bedarf die Informationen in der Tabelle „Sequence Summary“.

Hinweis: Die Namen der Methoden unterscheiden sich für jede Sequenz.

Abbildung 3-1: Tabelle „Sequence Summary“: CE-SDS Test Sequence

	Run #	Column	Method Name	Rep. #	Error Recovery
	1	0	CE-SDS Conditioning	1	<input type="checkbox"/>
⊕	2	1	Reduced CE-SDS Separation	1	<input type="checkbox"/>
	3	0	CE-SDS Shutdown	1	<input checked="" type="checkbox"/>

7. Um Details zu einem Durchlauf anzuzeigen, klicken Sie auf + in der Zeile mit dem Durchlauf.

Abbildung 3-2: Erweiterte Tabelle „Sequence Summary“

	Run #	Column	Method Name	Rep. #	Error Recovery																																				
	1	0	CE-SDS Conditioning	1	<input type="checkbox"/>																																				
⊖	2	1	Reduced CE-SDS Separation	1	<input type="checkbox"/>																																				
			<table border="1"> <thead> <tr> <th>Well</th> <th>Sam...</th> <th>Run Type</th> <th>Data File</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> <tr> <td>B01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> <tr> <td>C01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> <tr> <td>D01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> <tr> <td>E01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> <tr> <td>F01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> <tr> <td>G01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> <tr> <td>H01</td> <td><WP></td> <td>Unknown</td> <td><Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID></td> </tr> </tbody> </table>	Well	Sam...	Run Type	Data File	A01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>	B01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>	C01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>	D01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>	E01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>	F01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>	G01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>	H01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>		
Well	Sam...	Run Type	Data File																																						
A01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
B01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
C01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
D01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
E01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
F01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
G01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
H01	<WP>	Unknown	<Prj>\<SN>\<DT>\<Cap>_<SID>																																						
	3	0	CE-SDS Shutdown	1	<input checked="" type="checkbox"/>																																				

8. Ändern Sie bei Bedarf die Informationen in den Spalten **Sample Id** und **Data File**.

Methoden und Sequenzen

9. Um die Layouts der Proben- und Reagenzplatten anzuzeigen, öffnen Sie die Registerkarte „Plates Layout“. Ändern Sie bei Bedarf die Positionen der Reagenzien auf der „Reagent Plate“.
10. Um die Sequenz zu speichern, klicken Sie auf **SAVE** und fügen Sie dann die erforderlichen Informationen hinzu.

Hinweis: Die Schaltfläche **SAVE** ist nicht verfügbar, wenn Fehler vorliegen. Beheben Sie alle Fehler im Teilfenster „Validation“ und klicken Sie danach auf **SAVE**.

11. (Optional) Gehen Sie wie folgt vor, um die Layouts der Proben- und Reagenzplatten zu drucken:
 - a. Klicken Sie auf **PRINT**.
Das Dialogfeld „Print Preview“ wird geöffnet.
 - b. Klicken Sie auf **Plate Layout Report** und dann auf **Print**.
 - c. Wählen Sie die Druckoptionen aus und klicken Sie dann auf **OK**.
Der Bericht wird gedruckt.
 - d. Klicken Sie auf das Feld zum Schließen (das × in der oberen rechten Ecke).
Das Dialogfeld „Print Preview“ wird geschlossen.

Der Vergleich der reduzierten und nicht reduzierten Zustände eines Proteins kann wichtige Strukturinformationen liefern. Dieser Abschnitt enthält Anweisungen zur Vorbereitung reduzierter und nicht reduzierter Standards und Proben.

Standard vorbereiten

Je nach Ziel der Analyse können unterschiedliche Standards angemessen sein. Verwenden Sie einen Standard, der für die Analyse angemessen ist.

Reduzierten MW Size Standard vorbereiten

Dieser Standard wird unter reduzierten Bedingungen zubereitet, um jegliche Proteinaggregation, die durch Disulfidbrücken gebildet werden, aufzubrechen oder zu verhindern.

Hinweis: Gehen Sie entsprechend den folgenden Anweisungen vor, um eine Menge für eine Probe zu erhalten.

1. Vermischen Sie den MW Size Standard gründlich und zentrifugieren Sie ihn dann einige Sekunden mit einer handelsüblichen Mikrozentrifuge.
2. Fügen Sie 10 μL des MW Size Standard zu einem 0,5 mL Mikrozentrifugenröhrchen hinzu.
3. Fügen Sie 85 μL des SDS-MW Sample Buffer zum Mikrozentrifugenröhrchen hinzu.
4. Fügen Sie 2 μL des 10 kDa Internal Standard zum Mikrozentrifugenröhrchen hinzu.
5. Fügen Sie 5 μL des 2-Mercaptoethanol zum Mikrozentrifugenröhrchen in einem Dunstabzug hinzu.
6. Verschließen Sie den Fläschchenverschluss mit Parafilm, mischen Sie sorgfältig mit einem Vortexmischer und erhitzen Sie danach die Mischung in einem Wärmebad bei 70 °C für 10 Minuten.
7. Zentrifugieren Sie das Röhrchen 1 Minute lang bei 300 g.
8. Entfernen Sie das Fläschchen aus dem Wasserbad und lassen Sie es mindestens 3 Minuten ruhen, um die Lösung auf Raumtemperatur abzukühlen.
Der Standard bleibt etwa 24 Stunden lang stabil.
9. Fügen Sie 100 μL des vorbereiteten Standards zum Probenplattenwell hinzu.
Stellen Sie sicher, dass für jede Spalte auf der Probenplatte mit Probe die entsprechende Spalte auf der Auslassplatte 2,0 ml des CE-SDS Gel Buffer aufweist.
10. Bringen Sie eine Folienabdeckung auf den Platten an und zentrifugieren Sie dann mithilfe einer Zentrifuge die Probenplatte 4 Minuten lang bei 30 g, um Luftbläschen am Boden des Wells zu entfernen.

Bereiten Sie den IgG Control Standard vor

Zur Analyse von Immunglobulin-Präparaten kann der SCIEX IgG Control Standard als Standard verwendet werden. Der Standard wird unter reduzierten und nicht reduzierten Bedingungen vorbereitet werden.

Bereiten Sie den reduzierten IgG Control Standard vor

Hinweis: Gehen Sie entsprechend den folgenden Anweisungen vor, um eine Menge für eine Probe zu erhalten.

1. Bereiten Sie den IgG Control Standard vor.
 - a. Nehmen Sie für den ersten Durchlauf ein Fläschchen des IgG Control Standard aus dem Gefrierschrank und lassen Sie es bei Raumtemperatur vollständig auftauen.
 - b. Mischen Sie es mithilfe eines Vortexmischers kurz für einige Sekunden und aliquotieren Sie die Lösung in 95- μ L-Portionen.
 - c. Legen Sie ein Aliquot beiseite und lagern Sie die verbleibenden Aliquots bei $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
2. Verwenden Sie eines der 95 μ L Aliquots des IgG Control Standard. Wenn es gefroren ist, tauen Sie es vor der Verwendung bei Raumtemperatur auf.
3. Fügen Sie 2 μ L des 10 kDa Internal Standard zum IgG-Behälter hinzu.
4. Fügen Sie 5 μ L des 2-Mercaptoethanol zum IgG-Behälter in einem Dunstabzug hinzu.
5. Verschließen Sie das Gefäß fest mit einem Gefäßverschluss und mischen Sie es dann mit einem Vortexmischer gründlich durch.
6. Zentrifugieren Sie das Fläschchen mit einer Zentrifuge 1 Minute lang bei 300 *g*.
7. Verschließen Sie die Kappe des Fläschchens mit Parafilm und erhitzen Sie danach die Mischung in einem Wasserbad bei $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 10 Minuten.
8. Entfernen Sie das Fläschchen aus dem Wasserbad und lassen Sie es dann mindestens 3 Minuten ruhen, um die Lösung auf Raumtemperatur abzukühlen.
9. Fügen Sie 100 μ L des vorbereiteten Standards zum Probenplattenwell hinzu.
10. Bringen Sie eine Folienabdeckung auf den Platten an und zentrifugieren Sie dann mithilfe einer Zentrifuge die Probenplatte 4 Minuten lang bei 30 *g*, um Luftbläschen am Boden des Wells zu entfernen.

Bereiten Sie den nicht reduzierten IgG Control Standard vor

Bevor Sie den nicht reduzierten IgG Control Standard vorbereiten, bereiten Sie eine 250 mM Iodacetamid (IAM) -Lösung vor. Siehe Abschnitt: [Bereiten Sie 250 mM Iodoacetamide Solution zu](#).

Bereiten Sie 250 mM Iodoacetamide Solution zu

1. Wiegen Sie 46 mg Iodacetamid (IAM) ab und geben Sie es in einen 1,5-mL-Mikrozentrifugenbehälter.

2. Fügen Sie 1 mL des CE Grade Water hinzu, um eine Lösung mit 46 mg/mL herzustellen.
3. Verschließen Sie das Fläschchen mit einem Verschluss und mischen Sie die Lösung, bis sich die festen Bestandteile vollständig aufgelöst haben.
4. Bewahren Sie die Lösung dunkel auf, wenn sie nicht benutzt wird.
Die Iodacetamidlösung ist bei Raumtemperatur ca. 24 Stunden stabil.

Bereiten Sie den nicht reduzierten IgG Control Standard vor

Hinweis: Gehen Sie entsprechend den folgenden Anweisungen vor, um eine Menge für eine Probe zu erhalten.

1. Bereiten Sie den IgG Control Standard vor.
 - a. Nehmen Sie für den ersten Durchlauf ein Fläschchen des IgG Control Standard aus dem Gefrierschrank und lassen Sie es bei Raumtemperatur vollständig auftauen.
 - b. Mischen Sie es mithilfe eines Vortexmischers kurz für einige Sekunden und aliquotieren Sie die Lösung in 95- μ L-Portionen.
 - c. Legen Sie ein Aliquot beiseite und lagern Sie die verbleibenden Aliquots bei $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
2. Verwenden Sie eines der 95 μ L Aliquots des IgG Control Standard. Wenn es gefroren ist, tauen Sie es vor der Verwendung bei Raumtemperatur auf.
3. Fügen Sie 2 μ L des 10 kDa Internal Standard zum IgG Control Standard-Behälter hinzu.
4. Fügen Sie 5 μ L der 250 mM IAM-Lösung hinzu.
5. Verschließen Sie das Fläschchen mit einem Verschluss und mischen Sie den Inhalt anschließend gründlich mit einem Vortexmischer.
6. Zentrifugieren Sie das Fläschchen in einer Zentrifuge 1 Minute lang bei 300 g.
7. Verschließen Sie die Kappe des Fläschchens mit Parafilm und erhitzen Sie danach die Mischung in einem Wasserbad bei $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 10 Minuten.
8. Entfernen Sie das Fläschchen aus dem Wasserbad und lassen Sie es dann mindestens 3 Minuten ruhen, um die Lösung auf Raumtemperatur abzukühlen.

Der Standard bleibt etwa 24 Stunden stabil.

9. Mischen Sie die Lösung im Fläschchen und zentrifugieren Sie das Fläschchen dann 1 Minute lang bei 300 g.
10. Fügen Sie 100 μ L des vorbereiteten Standard zur Standardplatte hinzu.
Stellen Sie sicher, dass für jede Spalte auf der Probenplatte mit Probe die entsprechende Spalte auf der Auslassplatte 2,0 ml des CE-SDS Gel Buffer aufweist.
11. Bringen Sie eine Folienabdeckung auf den Platten an und zentrifugieren Sie dann mithilfe einer Zentrifuge die Probenplatte 4 Minuten lang bei 30 g, um Luftbläschen am Boden des Wells zu entfernen.

Proben vorbereiten

Setzen Sie folgendes Verfahren ein, um eine Probe vorzubereiten.

Empfohlene Proteinkonzentration

Nachdem der SDS-MW Sample Buffer hinzugefügt wurde, muss die Gesamtkonzentration des Proteins zwischen 0,2 mg/mL und 2 mg/mL liegen. Die besten Ergebnisse werden erreicht, wenn die Proteinkonzentration von 1 mg/mL erreicht ist. Ist die Proteinkonzentration zu hoch, kann dies zu unzureichender SDS-Bindung führen, was umfassende Spitzen und schlechte Auflösung nach sich ziehen kann. Ist die Proteinkonzentration zu niedrig, kann es zu einem schwachen Signal führen.

Die Signalintensität und die Auflösung dieser Analyse reagieren auch empfindlich auf die Salzkonzentration in der Proteinprobe. Ist die Salzkonzentration zu hoch, kommt es wahrscheinlich zu schwachem Signal und schleppenden Spitzen. Siehe Abschnitt: [Pufferaustausch für die Proteinprobe durchführen](#).

Reduzierte Proben vorbereiten

Hinweis: Gehen Sie entsprechend den folgenden Anweisungen vor, um eine Menge für eine Probe zu erhalten.

1. Verdünnen Sie die Probe mit dem SDS-MW Sample Buffer auf ein Volumen von 95 µL, um eine endgültige Konzentration zwischen 0,2 mg/mL bis 2 mg/mL zu erreichen.

Hinweis: Stellen Sie sicher, dass nicht mehr als 45 µL der Probe zum SDS-MW-Probenpuffer hinzugefügt wird. Wenn mehr als 45 µL erforderlich ist, erhöhen Sie die Konzentration der Probe, bevor Sie sie mit Puffer verdünnen.

2. Fügen Sie 2 µL des 10 kDa Internal Standard zum Probenmikrozentrifugenröhrchen hinzu.
3. Fügen Sie im Dunstabzug 5 µL des 2-Mercaptoethanol zum Mikrozentrifugenröhrchen hinzu.
4. Verschließen Sie den Verschluss des Mikrozentrifugenröhrchens und mischen Sie den Inhalt dann gründlich mit einem Vortexmischer.
5. Verwenden Sie eine Zentrifuge, um das Röhrchen 1 Minute lang bei 300 g zu zentrifugieren.
6. Versiegeln Sie die Kappe des Fläschchens mit Parafilm und erhitzen Sie es anschließend bei 70 °C für 10 Minuten.

Hinweis: Wenn das Protein bei hohen Temperaturen stabil ist, kann es stattdessen 3 Minuten lang bei 100 °C erhitzt werden.

7. Entfernen Sie das Fläschchen aus dem Wasserbad und lassen Sie es dann mindestens 3 Minuten ruhen, um die Lösung auf Raumtemperatur abzukühlen.

8. Mischen Sie das Probenröhrchen und zentrifugieren Sie es anschließend 1 Minute lang bei 300 g.
9. Fügen Sie 100 µL der vorbereiteten Probe zur Probenplatte hinzu.
Stellen Sie sicher, dass für jede Spalte auf der Probenplatte mit Probe die entsprechende Spalte auf der Auslassplatte 2,0 ml des CE-SDS Gel Buffer aufweist.
10. Bringen Sie eine Folienabdeckung auf den Platten an und zentrifugieren Sie dann mithilfe einer Zentrifuge die Probenplatte 4 Minuten lang bei 30 g, um Luftbläschen am Boden des Wells zu entfernen.

Nicht reduzierte Proben vorbereiten

Bevor die nicht reduzierte Probe vorbereitet wird, bereiten Sie eine 250 mM Iodoacetamid-Lösung (IAM) vor. Siehe Abschnitt: [Bereiten Sie 250 mM Iodoacetamide Solution](#) zu. Die IAM-Lösung dient während der Vorbereitung der Probe als Alkylierungsmittel, um jegliche Heterogenität zu verringern, die durch eine teilweise automatische Reduktion des Proteins entsteht.

Unter nicht reduzierenden Bedingungen muss die Probenlösung auf eine hohe Temperatur erhitzt werden, um die SDS-Bindung zu erhöhen. Hohe Temperaturen können jedoch Fragmentierung und Aggregation verursachen, die zu Artefakten in der Probenanalyse führen können. SCIEX empfiehlt diesen Alkylierungsschritt, um durch die Temperatur hervorgerufene Artefakte in der Proteinprobe zu minimieren. SCIEX empfiehlt auch die Verwendung eines SDS-Probenpuffers mit niedrigem pH bei nicht reduzierten Proben. Der Low pH Phosphate SDS Sample Buffer verringert die durch Hitze verursachten Artefakte mehr als der SDS-MW Sample Buffer.

Hinweis: Gehen Sie entsprechend den folgenden Anweisungen vor, um eine Menge für eine Probe zu erhalten.

1. Verdünnen Sie die Probe mit dem SDS-MW Sample Buffer auf ein Volumen von 95 µL, um eine endgültige Konzentration zwischen 0,2 mg/mL bis 2 mg/mL zu erreichen.

Hinweis: Stellen Sie sicher, dass nicht mehr als 45 µl der Probe zum SDS-MW-Probenpuffer hinzugefügt wird. Wenn mehr als 45 µl erforderlich ist, erhöhen Sie die Konzentration der Probe, bevor Sie sie mit Puffer verdünnen.

2. Fügen Sie 2 µL des 10 kDa Internal Standard zum Probenmikrozentrifugenröhrchen hinzu.
3. Fügen Sie in einem Dunstabzug 5 µL der 250 mM IAM-Lösung zum Probenröhrchen hinzu.
4. Zentrifugieren Sie das Fläschchen 1 Minute lang bei 300 g.
5. Verschließen Sie das Fläschchen mit Parafilm.
6. Erhitzen Sie die Mischung in einem Wasserbad bei 70 °C für 10 Minuten.
7. Entfernen Sie das Fläschchen aus dem Wasserbad und lassen Sie es dann mindestens 3 Minuten ruhen, um die Lösung auf Raumtemperatur abzukühlen.
8. Fügen Sie 100 µL der vorbereiteten Probe zur Probenplatte hinzu.

Proben vorbereiten

Stellen Sie sicher, dass für jede Spalte auf der Probenplatte mit Probe die entsprechende Spalte auf der Auslassplatte 2,0 ml des CE-SDS Gel Buffer aufweist.

9. Bringen Sie eine Folienabdeckung auf den Platten an und zentrifugieren Sie dann mithilfe einer Zentrifuge die Probenplatte 4 Minuten lang bei 30 g, um Luftbläschen am Boden des Wells zu entfernen.

Pufferaustausch für die Proteinprobe durchführen

Die Signalintensität und die Auflösung dieser Analyse reagieren empfindlich auf die Salzkonzentration in der Proteinprobe. Wenn die Salzkonzentration über 1× phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) liegt, kann es zu geringer Signal- und Spitzenverfolgung kommen. Verwenden Sie die Schritte in diesem Verfahren, um einen Pufferaustausch durchzuführen.

Hinweis: Wenn eine Entsalzung oder ein Pufferaustausch mithilfe eines Geräts eines anderen Herstellers durchgeführt wird, dann ziehen Sie das *Benutzerhandbuch* dieses Herstellers zurate.

Hinweis: Verwenden Sie bei IgG-Proben keinen MicroCon-30kDa-Filter, da er die freien Leichtketten (25 kDa) in der IgG-Probe filtern kann, was zu verzerrten oder ungenauen Reinheitsergebnissen führt.

1. Fügen Sie 1 mL Proteinprobe zum entsprechenden Zentrifugenfiltergerät hinzu.
 - Verwenden Sie bei IgG-Proben ein Microcon-10kDa-Zentrifugenfiltergerät.
 - Verwenden Sie bei anderen Proteinen ein Amicon Ultra-4-Zentrifugenfiltergerät.
2. Zentrifugieren Sie die Probe 15 Minuten lang bei 4.000 g.
3. Fügen Sie 2 mL SDS-MW Sample Buffer hinzu und zentrifugieren Sie die Probe 25 Minuten lang bei 4.000 g.
4. Stellen Sie vorsichtig das Zentrifugenfiltergerät in invertierter Position in ein neues Fläschchen und zentrifugieren Sie dann das Fläschchen 3 Minuten lang bei 1.000 g. Die Proteinlösung wird im Fläschchen gesammelt.
5. Übertragen Sie die gesammelte Proteinlösung in einen passenden Behälter.
6. Bestimmen Sie die Proteinkonzentration.
7. Fügen Sie den SDS-MW Sample Buffer zu einer endgültigen Konzentration von 1 mL hinzu.

Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert verwenden

Hinweis: SCIEX bietet zwei unterschiedliche Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert an, den Low pH SDS Sample Buffer (Tris, pH 6,8) (einschließlich des CE-SDS Protein Analysis-Kits) und den optionalen Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (pH 6,5).

Einige Proben sind stabiler in einem Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert. Wenn das Trennprofil sich bei jeder Wiederholung ändert, dann ist das Protein eventuell nicht stabil in SDS-MW Sample Buffer, das einen pH-Wert von 9 hat. Bereiten Sie die Probe erneut mit einem Puffer mit niedrigem pH-Wert vor.

Um einen der Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert zu verwenden, bereiten Sie die Proben wie zuvor beschrieben ersetzen aber den SDS-MW Sample Buffer entweder mit dem Low pH SDS Sample Buffer (pH 6,8) oder dem Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (pH 6,5) vor.

Aufgrund der erhöhten Ionenstärke der Puffer mit niedrigem pH-Wert empfehlen wir eine Änderung der Trennmethode durch Erhöhung der Injektionsspannung oder -dauer, um einen Signalverlust zu vermeiden. Passen Sie die Trennzeit anhand der zu analysierenden Proben an. Alternativ können Sie eine Druckinjektion in der Trennmethode verwenden.

BioPhase 8800-System vorbereiten 5

Bereiten Sie mit den Verfahren in diesem Abschnitt das BioPhase 8800-System darauf vor, Daten zu erfassen.

Bei den Verfahren in diesem Abschnitt wird davon ausgegangen, dass das System bereits korrekt installiert und initialisiert wurde.

Tipp! Um Zeit zu sparen, schalten Sie die Lichtquelle 30 Minuten vor Start des Laufs ein, damit sie sich aufwärmen kann.

Reagenzeinlass- und Auslassplatten laden

Hinweis: Um der Bildung von Luftblasen vorzubeugen, darf der Gelpuffer nicht geschüttelt oder intensiv gemischt werden. Luftblasen können zu Problemen bei der Trennung führen.

1. Fügen Sie die Reagenzien zu den Reagenzeinlass- und Auslassplatten gemäß des Reagenzplattenlayouts hinzu. Siehe die Abbildung: [Abbildung D-4](#).

Verwenden Sie die Volumina in der folgenden Tabelle.

Hinweis: Achten Sie bei der Auslassplatte darauf, dass sich die abgeschrägte Ecke oben rechts befindet, und füllen Sie dann nur die Wells auf der linken Seite der Platte. Die Wells auf der rechten Seite sind für den Überlauf vorgesehen und müssen leer sein.

Tabelle 5-1: Reagenzien für die Reagenzeinlass- und Auslassplatten

Platte	Reagenz
Einlassplatte	800 µL pro Well
Auslassplatte	<ul style="list-style-type: none">• 2,8 mL Reagenz pro Well für Trenn- oder Wartevorgänge• 1,5 mL pro Well mit CE Grade Water für Abfallpositionen

2. Bringen Sie eine Folienabdeckung auf den Platten an.

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Verwenden Sie keinen erwärmten Plattenverschluss, um den Verschluss anzuwenden. Die Hitze kann die Oberfläche der Platten beschädigen und somit zu Problemen mit dem Drucksystem führen.

Hinweis: Nur X-Pierce-Folie von USA Scientific wurde validiert. Wird eine andere Folie verwendet, dann sollte diese vor Gebrauch getestet werden.

3. Geben Sie die Platten in einen Ausschwingrotor und drehen Sie sie 4 Minuten lang bei 30 g. Stellen Sie sicher, dass die Schaufeln ausgewuchtet sind.

VORSICHT: Potenziell falsches Ergebnis. Laden Sie keine Platten in das System, ohne sie drehen zu lassen, um Luftblasen zu entfernen. Durch vorhandene Luftblasen kann die Trennung fehlschlagen.

4. Achten Sie darauf, dass sich keine Luftblasen in den Platten befinden. Sind Luftblasen vorhanden, drehen Sie danach die Platten erneut bei höherer relativer Zentrifugalkraft (RCF).
Für die Reagenzplatte liegt die maximale RCF bei 1.000 g. Für die Probenplatte liegt die maximale RCF bei 375 g.
5. Berühren Sie auf dem vorderen Bedienfeld **Eject Reagent**.

Abbildung 5-1: Schaltfläche Eject Reagent



Die Plattenkammer wird geöffnet.

6. Entfernen Sie die Folienabdeckung von den Platten.

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Laden Sie Platten erst in das System, nachdem die Folienabdeckung entfernt wurde. Das Vorhandensein einer Folienabdeckung während eines Durchlaufs kann zu einer Beschädigung der Kapillarspitzen führen.

7. Enthält die Plattenkammer bereits Reagenzplatten, entfernen Sie die Reagenzplatten.
8. Richten Sie die Kerbe in der Reagenzeinlassplatte an der Lasche aus, und setzen Sie die Platte dann in den Plattenträger ein.
9. Vergewissern Sie sich, dass sich die abgeschrägte Ecke der Reagenzauslassplatte oben links befindet, und setzen Sie die Platte dann hinten in den Plattenträger ein.
10. Berühren Sie **Load Reagent**.

Abbildung 5-2: Schaltfläche Load Reagent



Die Plattenkammer wird geschlossen.

Probenzufuhr und Auslassplatten laden

1. Fügen Sie die Proben zur Probenzufuhrplatte gemäß des Probenplattenlayouts hinzu. Siehe die Abbildung: [Abbildung D-3](#).
Das empfohlene Probenvolumen beträgt 100 µl.

BioPhase 8800-System vorbereiten

Das minimale Probenvolumen beträgt 50 µl. Das maximale Probenvolumen beträgt 200 µl.

- Um eine Beschädigung der Kapillare zu vermeiden, fügen Sie bei Säulen, bei denen nicht jedes Well eine Probe enthält, 100 µL bis 200 µL Probenpuffer in jedes leere Well hinzu.

Wenn eine Säule keine Proben enthält, können die Wells leer gelassen werden.

- Geben Sie die Reagenzien entsprechend der Anordnung auf der Probenplatte in die Probenauslassplatte. Siehe Abbildung: [Abbildung D-3](#).

Das maximale Volumen beträgt 2,0 mL.

Verwenden Sie das Volumen, das in der folgenden Tabelle angegeben ist.

Stellen Sie sicher, dass für jede Spalte auf der Probenplatte mit Probe die entsprechende Säule auf der Auslassplatte 2,0 mL Trenngel aufweist.

Hinweis: Achten Sie bei der Auslassplatte darauf, dass sich die abgeschrägte Ecke oben rechts befindet, und füllen Sie dann nur die Wells auf der linken Seite der Platte. Die Wells auf der rechten Seite sind für den Überlauf vorgesehen und müssen leer sein.

Tabelle 5-2: Reagenzien für Probenauslassplatte

Platte	Reagenz
Auslassplatte	• 2,0 mL Gelpuffer pro Well

- Bringen Sie eine Folienabdeckung auf den Platten an.

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Verwenden Sie keinen erwärmten Plattenverschluss, um den Verschluss anzuwenden. Die Hitze kann die Oberfläche der Platten beschädigen und somit zu Problemen mit dem Drucksystem führen.

Hinweis: Nur X-Pierce-Folie von USA Scientific wurde validiert. Wird eine andere Folie verwendet, dann sollte diese vor Gebrauch getestet werden.

- Geben Sie die Platten in einen Ausschwingrotor und drehen Sie sie 4 Minuten lang bei 30 g. Stellen Sie sicher, dass die Schaufeln ausgewuchtet sind.

VORSICHT: Potenziell falsches Ergebnis. Laden Sie keine Platten in das System, ohne sie drehen zu lassen, um Luftblasen zu entfernen. Durch vorhandene Luftblasen kann die Trennung fehlschlagen.

- Achten Sie darauf, dass sich keine Luftblasen in den Platten befinden. Sind Luftblasen vorhanden, drehen Sie danach die Platten erneut bei höherer relativer Zentrifugalkraft (RCF).

Für die Reagenzplatte liegt die maximale RCF bei 1.000 g. Für die Probenplatte liegt die maximale RCF bei 375 g.

- Berühren Sie auf dem Bedienfeld **Eject Sample**.

Abbildung 5-3: Schaltfläche Eject Sample



Die Plattenkammer wird geöffnet.

8. Entfernen Sie die Folienabdeckung von den Platten.

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Laden Sie Platten erst in das System, nachdem die Folienabdeckung entfernt wurde. Das Vorhandensein einer Folienabdeckung während eines Durchlaufs kann zu einer Beschädigung der Kapillarspitzen führen.

9. Enthält die Plattenkammer bereits Probenplatten, entfernen Sie die Probenplatten.
10. Richten Sie die Probenplatte so aus, dass die Nut in der Platte sich am Etikett ausrichtet, und legen Sie die Platte in den Plattenträger.
11. Richten Sie die Probenauslassplatte so aus, dass die abgeschrägte Ecke sich oben links befindet, und legen Sie die Platte an die Rückseite des Plattenträgers.
12. Berühren Sie **Load Sample**.

Abbildung 5-4: Schaltfläche Load Sample



Die Plattenkammer wird geschlossen.

Kapillarkartusche untersuchen



WARNHINWEIS! Gefahr von Stichverletzungen. Seien Sie beim Umgang mit der Kartusche vorsichtig. Die Kapillarspitzen sind sehr scharf.

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Der Gelpuffer oder andere Reagenzien dürfen keine Kristalle auf den Elektroden, Kapillarenden, Kartuschendichtungen oder dem Kartuschenkörper bilden. Elektrolytsalzkristalle oder -präzipitat können zu verstopften Kapillaren, fehlerhafter Druckabdichtung, Fehler beim Injizieren der Proben, Funkendurchschlag oder Leckstrom führen.

1. Überprüfen Sie die Elektroden, Kapillarspitzen, Kartuschendichtungen und die Schnittstelle des Kartuschenkörpers vor dem Gebrauch.
2. Befindet sich Gel oder Flüssigkeit an der Außenseite der Kartusche, reinigen Sie die Kartusche mit einem feuchten, fusselfreien Labortuch. Stellen Sie nach der Reinigung sicher, dass die Kartusche abgetrocknet wird.

BioPhase 8800-System vorbereiten

Hinweis: Verwenden Sie zur Reinigung der Kartusche keine Seife oder Reinigungsmittel.

3. Sind die Kapillarspitzen blockiert, gehen Sie wie folgt vor:
 - a. Verwenden Sie CE Grade Water, um die Kapillareinläufe zu reinigen.
 - b. Verwenden Sie ein fusselfreies Labortuch, um die Kapillareingänge vorsichtig nach außen hin zu reinigen.
 4. Untersuchen Sie mit einer Lupe beide Seiten des Kapillarfensters. Finden sich Fussel oder andere Partikel, dann verwenden Sie kurze Stöße Druckluft in Elektronik-Qualität, um diese zu entfernen. Verwenden Sie kein Wasser oder andere Flüssigkeiten, um das Kapillarfenster zu reinigen.
-

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Verwenden Sie keine organischen Lösungsmittel wie Methanol oder Aceton zum Reinigen des Kapillarfensters. Organische Lösungsmittel können die Klebstoffe auflösen und Rückstände auf dem Kapillarfenster hinterlassen, wodurch der Detektor beeinträchtigt werden kann.

5. Befeuchten Sie ein fusselfreies Labortuch oder Wattestäbchen mit Ethanol oder Isopropylalkohol und wischen Sie dann die Oberfläche des Chips ab. Lassen Sie den Chip an der Luft trocknen, bevor Sie die Kartusche installieren.

Kartusche installieren



WARNHINWEIS! Gefahr von Stichverletzungen. Seien Sie beim Umgang mit der Kartusche vorsichtig. Die Kapillarspitzen sind sehr scharf.

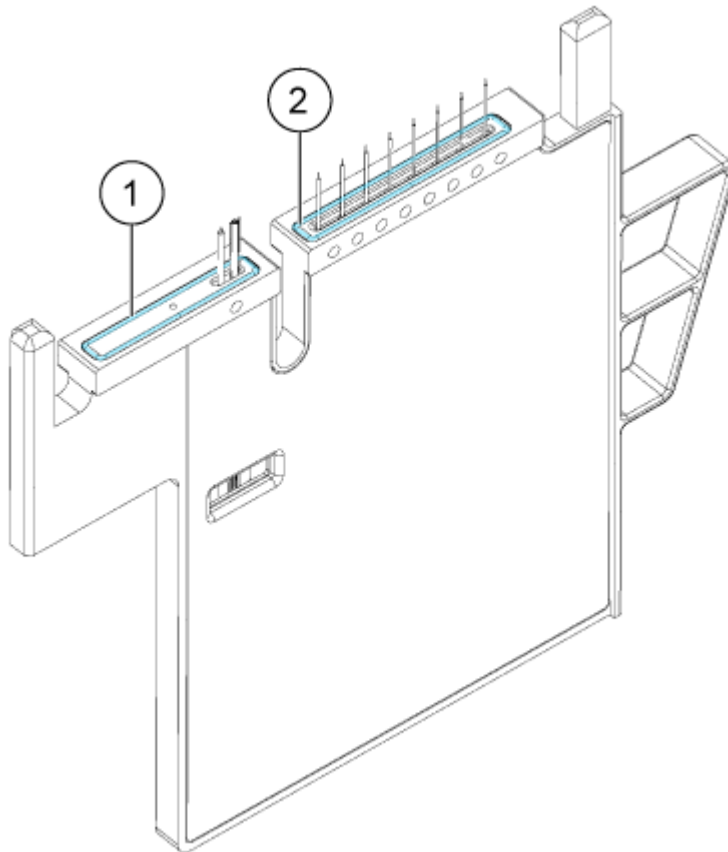


WARNHINWEIS! Quetschgefahr. Achten Sie beim Öffnen des vorderen Bedienfeldes darauf, keine Finger links vom vorderen Bedienfeld abzulegen.

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Vergewissern Sie sich, dass die Reagenzplatten im System installiert sind, bevor Sie die Kartusche installieren. Ein Unterlassen kann zu einer Beschädigung der Kartusche führen.

1. Wurde die Kartusche im Kühlschrank gelagert, lassen Sie die Kartusche etwa 30 Minuten auf Zimmertemperatur aufwärmen, um Kondensation im System zu verhindern.
 2. Nehmen Sie die Kartusche aus dem feuchten Träger.
 3. Trocknen Sie den Kartuschenkörper mit einem Einweg-Labortuch ab, um Bogenbildung zu verhindern.
 4. Drehen Sie die Unterseite der Kartusche nach oben.
 5. Verwenden Sie ein fusselfreies Einweg-Labortuch, um den Bereich, an dem die Kapillaren und Elektroden aus der Kartusche heraustreten, sehr vorsichtig abzutrocknen. Beschädigen Sie nicht die Abdichtungen.
-

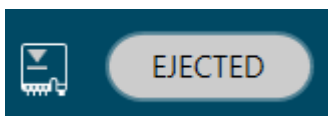
Abbildung 5-5: Unterseite der Kartusche



Element	Beschreibung
1	Abdichtung der Auslassplatte
2	Abdichtung der Einlassplatte


6. Sind die Reagenzplatten nicht im System installiert, dann installieren Sie sie. Siehe Abschnitt: [Reagenzeinlass- und Auslassplatten laden](#).
7. Öffnen Sie das vordere Bedienfeld und legen Sie die Kartusche in das System.
8. Schließen Sie das vordere Bedienfeld und berühren Sie dann **EJECTED**, um die Kartusche zu verriegeln.

Abbildung 5-6: Schaltfläche EJECTED



Wenn die Kartusche ihre Haltbarkeit überschritten hat, wird eine Warnmeldung zum Protokoll des vorderen Bedienfelds hinzugefügt. Um die Warnmeldung anzuzeigen,

BioPhase 8800-System vorbereiten

berühren Sie  im Statusbereich des vorderen Bedienfelds. Die Kartusche kann noch verwendet werden oder Sie können eine neue Kartusche installieren.

Bewegt das System die Reagenzplatte so, dass die Kapillaren in der Position über der Spalte 1 sind, und hebt dann die Platte so an, dass die Kapillarenden im CE Grade Water eintauchen.

9. Prüfen Sie den Füllstand des Kühlmittels auf dem vorderen Bedienfeld. Füllen Sie bei Bedarf Kühlmittel in den Füllanschluss am System.

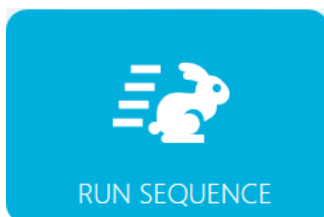
Siehe Abschnitt: „Kühler für Kapillarkartusche hinzufügen“ im Dokument:
Bedienerhandbuch.

Die Sequenz auf der Vorderseite starten

Informationen zur Verwendung der Waters Empower™-Software finden Sie im Abschnitt: [Probensatzmethode starten](#).

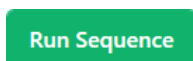
1. Laden Sie bei Bedarf Kartusche, Reagenzplättchen und Probenplättchen.
2. Berühren Sie auf dem vorderen Bedienfeld **RUN SEQUENCE**.

Abbildung 6-1: Schaltfläche RUN SEQUENCE



3. Berühren Sie im Teilfenster „Projects“ **CE-SDS Project**.
4. Berühren Sie im Teilfenster „Available Sequences“ die entsprechende Sequenz in der Liste.
 - Klicken Sie bei reduzierten Proben auf **CE-SDS Test Sequence**.
 - Klicken Sie bei nicht reduzierten Proben auf **Non Reduced CE-SDS Sequence**.
 - Für Proben, die mit einem Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert vorbereitet wurden, klicken Sie auf **Low pH Sample Buffer CE-SDS Sequence**.
5. (Optional) Um die Details der Methode, der Probenplatten oder der Reagenzplatten anzuzeigen, berühren Sie eine beliebige Stelle in der Spalte **Method**. Um die Details auszublenden, berühren Sie die Spalte oder das Feld erneut.
6. Berühren Sie **Run Sequence**.

Abbildung 6-2: Schaltfläche „Run Sequence“



Run Sequence ist nicht aktiviert, wenn die Sequenz eine Methode enthält, die mit der Systemkonfiguration nicht kompatibel ist.

Die Datendateien werden an dem Ort gespeichert, der in der Sequenz festgelegt ist.

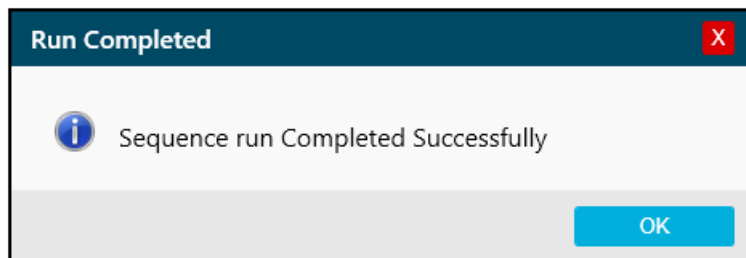
Tritt während des Durchlaufs ein Fehler auf und in der Sequenz ist eine Fehlerkorrekturmethode vorhanden, startet das System BioPhase 8800 die Fehlerkorrekturmethode.

Proben durchlaufen lassen

Während des Durchlaufs stehen mehrere Maßnahmen zur Verfügung. Siehe Abschnitt: [Durchlauf auf dem vorderen Bedienfeld der BioPhase 8800 überwachen](#).

Nach Abschluss des Durchlaufs wird das Dialogfeld „Run Completed“ geöffnet.

Abbildung 6-3: Dialogfeld „Run Completed“




7. Berühren Sie **OK**, um das Dialogfeld „Run Completed“ zu schließen.
8. Lagern Sie bei Bedarf die Kartusche ein. Siehe Abschnitt: [Kartusche nach dem Durchlauf lagern](#).

Durchlauf auf dem vorderen Bedienfeld der BioPhase 8800 überwachen

Mit diesem Verfahren können Sie den Fortschritt der Sequenz überwachen und die Sequenz bei Bedarf unterbrechen oder stoppen.

Informationen zur Verwendung der Waters Empower™-Software finden Sie im Abschnitt: [Durchlauf in der Waters Empower™-Software überwachen](#).

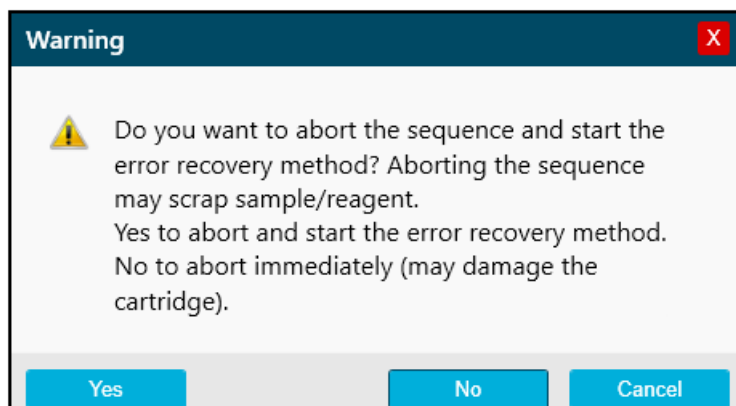
Hinweis: Die Sequenz in den folgenden Abbildungen dient ausschließlich der Illustration. Es wird keine Sequenz für das CE-SDS Protein Analysis Kit angezeigt.

1. Überwachen Sie die Kurven für den Detektor und den Strom, um sicherzustellen, dass die Sequenz läuft.
2. Wird ein Problem erkannt, berühren Sie , um den Durchlauf zu stoppen, und berühren Sie dann im Dialogfeld „Warning“ einen der folgenden Punkte:
 - **Yes:** Berühren Sie diese Schaltfläche, um die Fehlerkorrekturmethode zu starten, falls eine solche zugewiesen ist.
 - **No:** Berühren Sie diese Schaltfläche, wenn keine Fehlerkorrekturmethode zugewiesen ist.

Hinweis: Wird der Durchlauf gestoppt, können Probe oder Reagenz verloren oder die Kartusche beschädigt werden.

- Um den Durchlauf fortzusetzen, berühren Sie **Cancel**.

Abbildung 6-4: Dialogfeld „Warning“



VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Wird der Durchlauf gestoppt und nicht fortgesetzt, dann verwenden Sie die Ausschaltmethode, um die Kapillaren vor der Lagerung der Kartusche zu spülen. Werden die Kapillaren nicht gespült, können sich Elektrolytsalzkristalle oder -präzipitat bilden und zu verstopften Kapillaren, fehlerhafter Druckabdichtung, Fehlern beim Injizieren der Proben, Funkenüberschlag oder Leckstrom führen.

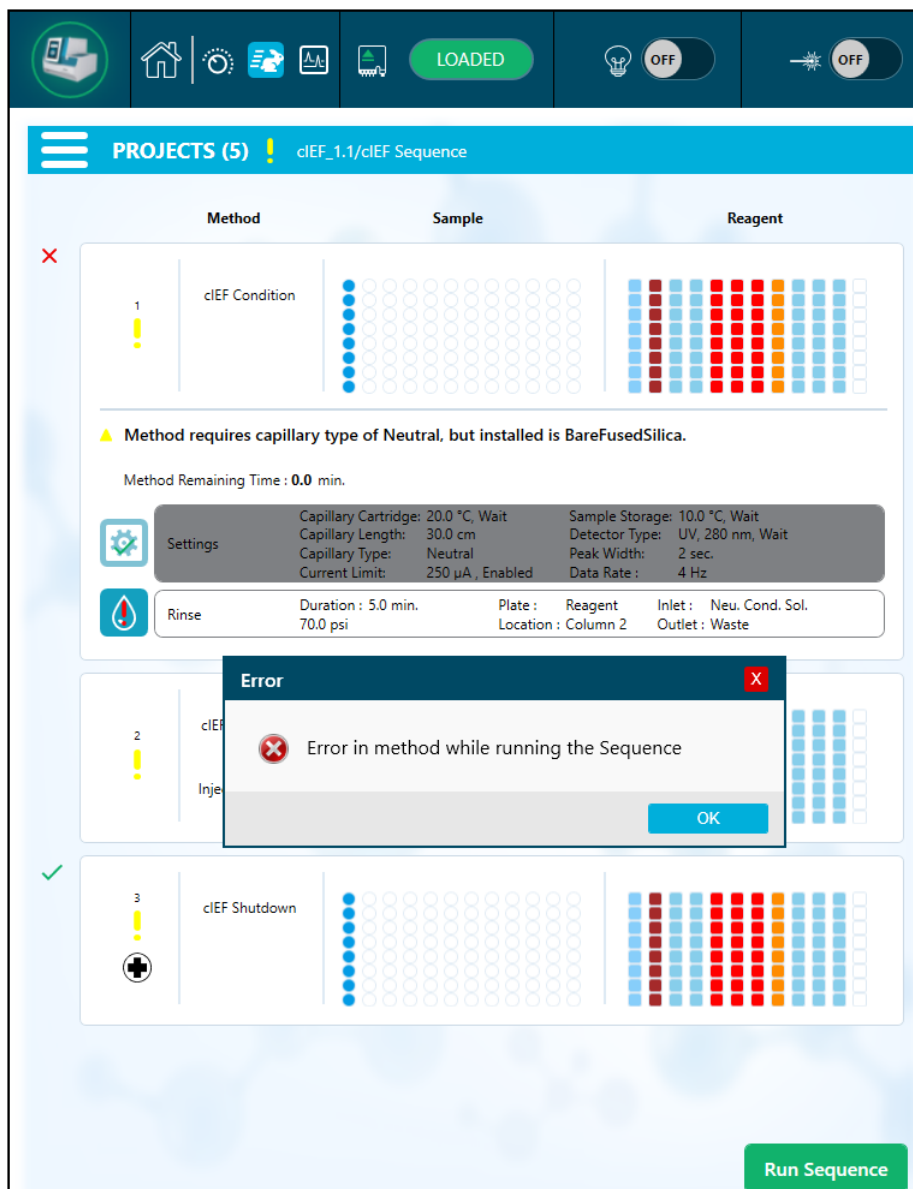
VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Bevor Sie den Durchlauf erneut starten, achten Sie darauf, die Auslassplatte zu entleeren oder auszutauschen, um ein Überlaufen von Reagenz und mögliche Schäden am Gerät zu vermeiden.

VORSICHT: Potenziell falsches Ergebnis. Bevor Sie den Durchlauf erneut starten, bereiten Sie neue Reagenzplatten vor. Wenn der Durchlauf gestoppt wurde, dann sind möglicherweise nicht genug Reagenzien verfügbar, um den Durchlauf abzuschließen.

VORSICHT: Potenziell falsches Ergebnis. Bevor Sie den Durchlauf erneut starten, werfen Sie die Proben, wenn diese sich länger als 24 Stunden im System befanden. Die Proben könnten eine verminderte Qualität aufweisen.

3. Wenn ein Fehler auftritt, berühren Sie **OK** im angezeigten Fehlerdialogfeld.

Abbildung 6-5: Run Sequence-Fehler



Hinweis: Das Symbol  zeigt einen Fehler bei der Aktion **Rinse** an. Die graue Schattierung in der Zeile über der Aktion **Rinse** zeigt an, dass die Aktion in Bearbeitung oder abgeschlossen ist.


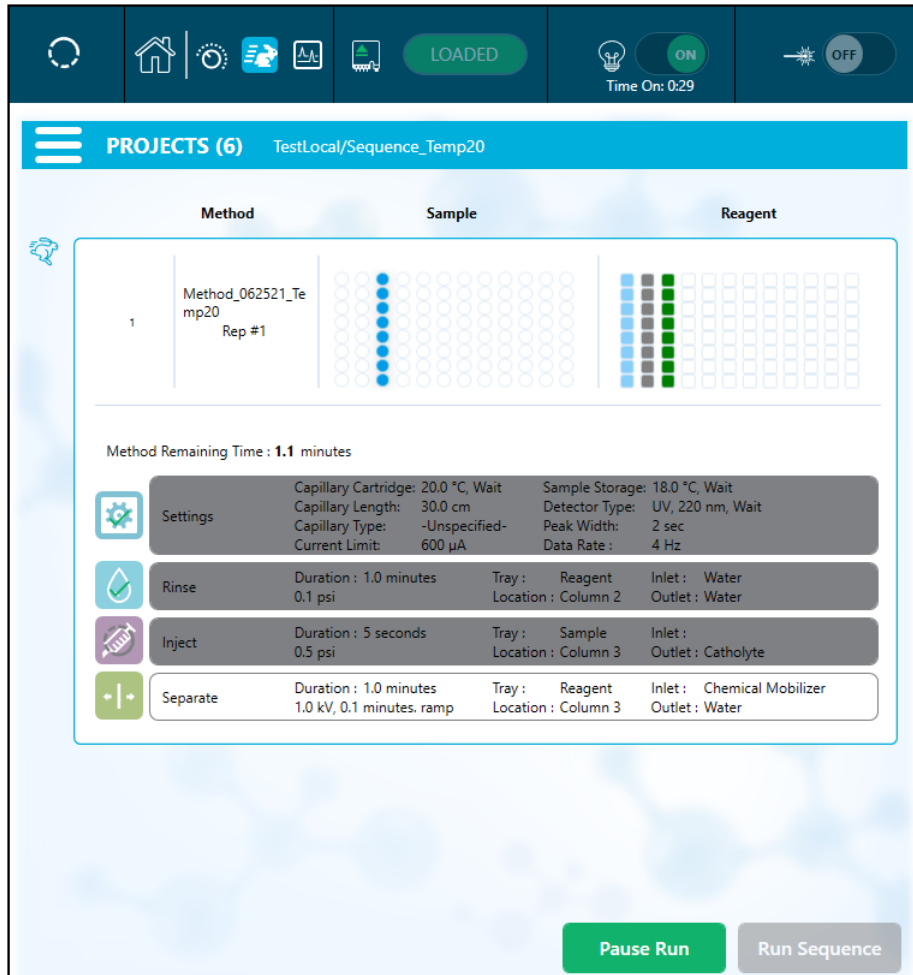
4. Überprüfen Sie den Fehler:
 - a. Berühren Sie  auf der Registerkarte **Events** des Protokolls des vorderen Bedienfelds.
 - b. Berühren Sie **Initialize System**, um das System neu zu initialisieren, und ändern Sie dann den Systemstatus in Leerlauf.

Abbildung 6-6: Sequenzfehlerereignis-Protokoll



5. Halten Sie den Durchlauf bei Bedarf an, indem Sie **Pause Run** berühren.

Abbildung 6-7: Durchlauf der Sequenz läuft



- Um den Durchlauf fortzusetzen, berühren Sie **Cancel Pause**.

Abbildung 6-8: Durchlauf der Sequenz wird neu gestartet



7. Um die Daten anzuzeigen, während sie erfasst werden, berühren Sie  im Menüband.

Hinweis: Die Daten der folgenden Abbildung dienen ausschließlich der Illustration. Sie zeigt keine Ergebnisse für Proben, die mit dem CE-SDS Protein Analysis Kit zubereitet wurden.

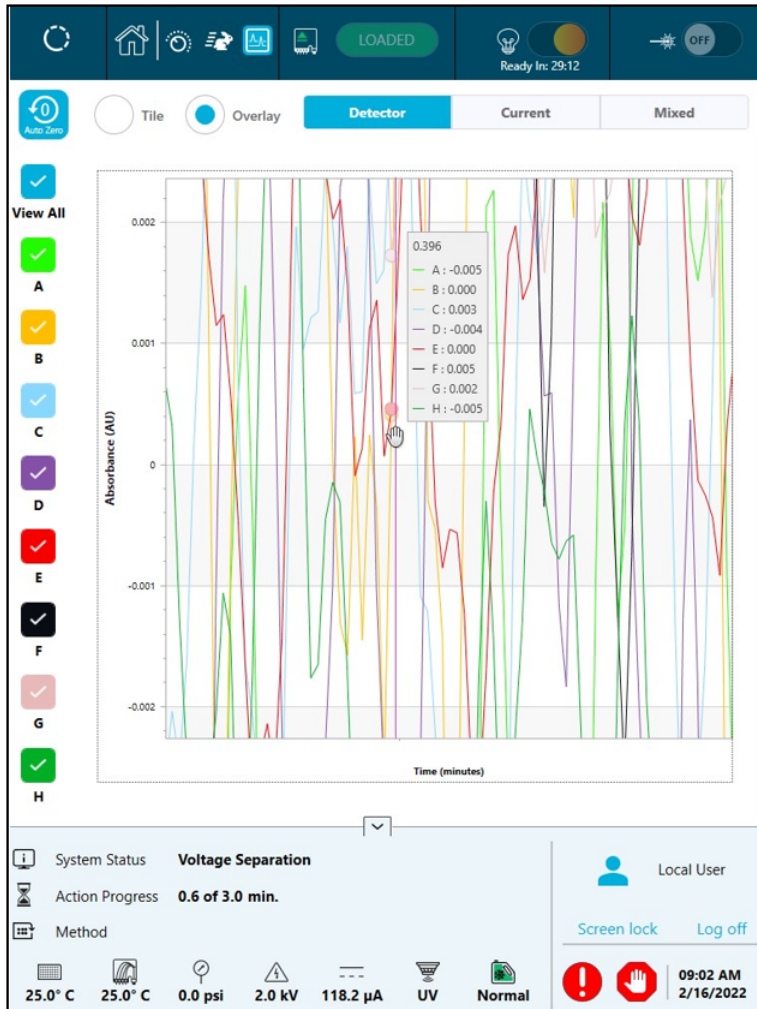
Abbildung 6-9: Kapillaranzeige



8. (Optional) Gehen Sie wie folgt vor, um auf die Daten einzuzoomen:
- Berühren Sie **Overlay**.
 - Verwenden Sie zwei Finger, um das Elektropherogramm zu vergrößern oder zu verkleinern.
 - Verwenden Sie das Handsymbol, um das Elektropherogramm zu verschieben.

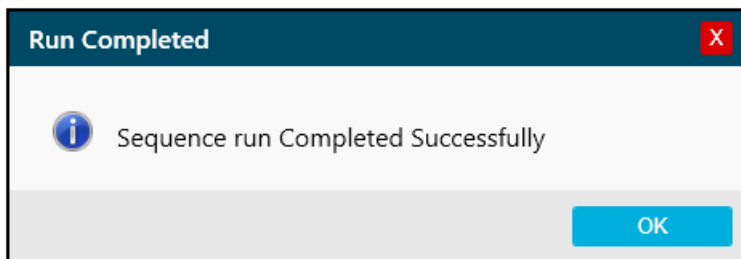
Hinweis: Die Zoomfunktion funktioniert nur bei der Überlagerungsansicht für Detektor und Stromstärke.

Abbildung 6-10: Herein- oder Herauszoomen



9. Vergewissern Sie sich, dass nach Abschluss des Durchlaufs die Meldung `Sequence run Completed Successfully` angezeigt wird. Berühren Sie im Dialogfeld **OK**.

Abbildung 6-11: Durchlauf abgeschlossen



Abfallentsorgung



WARNHINWEIS! Biogefährdung oder toxisch-chemische Gefahren. Befolgen Sie die lokalen Anweisungen bei der Entsorgung von Chemikalien, Kartuschen, Reagenzplatten, Probenplatten und Resten von vorbereiteten Proben. Sie können durch Vorschriften regulierte Verbindungen und biogefährliche Wirkstoffe enthalten.

Kartusche nach dem Durchlauf lagern




WARNHINWEIS! Gefahr von Stichverletzungen. Seien Sie beim Umgang mit der Kartusche vorsichtig. Die Kapillarspitzen sind sehr scharf.

Lagern der Kassette für weniger als drei Tage

1. Wenn die Sequenz oder Probensatzmethode nicht die Ausschaltmethode umfasst, dann verwenden Sie die Ausschaltmethode, um die Kapillare zu reinigen. Die Ausschaltmethode füllt die Kapillare mit CE-SDS Gel Buffer.
2. Lagern Sie die Kartusche bis zu drei Tage im System und lassen Sie die Kapillarenden im CE Grade Water eingetaucht.

Hinweis: Wenn die Kartusche für drei Stunden oder länger nicht benutzt wurde, lassen Sie die Konditionierungsmethode durchlaufen, bevor Sie eine Trennung durchführen.

Lagern der Kartusche für mehr als drei Tage

1. Wenn die Sequenz oder Probensatzmethode nicht die Ausschaltmethode umfasst, dann verwenden Sie die Ausschaltmethode, um die Kapillare zu reinigen. Die Ausschaltmethode füllt die Kapillare mit CE-SDS Gel Buffer.
2. Spülen Sie die Kapillare 10 Minuten bei 80 psi mit CE Grade Water, um sie zu reinigen.
3. Tippen Sie auf dem Menüband auf dem vorderen Bedienfeld des BioPhase 8800-Systems auf  (**Loaded**) und warten Sie dann etwa eine Minute lang. Durch das Abwarten kann das Kühlmittel in den Kühlmittelbehälter zurückfließen, bevor die Kartusche entfernt wird.
4. Entnehmen Sie die Kartusche aus dem System und lagern Sie sie aufrecht im Kartuschenbehälter bei 2–8 °C und tauchen Sie die Kapillarenden in CE Grade Water ein.

Hinweis: Tauschen Sie das CE Grade Water im Behälter regelmäßig aus, um zu verhindern, dass Mikroben im Behälter wachsen.

Kartusche nach der Lagerung vorbereiten

- Wurde die Kartusche länger als einen Tag nicht verwendet oder wurde sie über einen längeren Zeitraum gelagert, setzen Sie die CE-SDS Conditioningmethode ein.

Hinweis: Um Bogenbildung zu vermeiden, wischen Sie vor dem Einbau der Kartusche in das System sorgfältig das Wasser von den Elektroden und dem Kartuschenkörper ab.



Analysieren der Daten mit einer Analyseparameterdatei

Hinweis: Wenn die Waters Empower™-Software zur Erfassung der Daten verwendet wird, kann dieses Verfahren nicht verwendet werden.

Die folgende Anleitung erklärt, wie Daten mithilfe der BioPhase Analysis-Software und einer Analyseparameterdatei analysiert werden. Eine Analyseparameterdatei enthält alle Informationen, die erforderlich sind, um die Spitzen zu integrieren und Spitzen in den Daten zu identifizieren.

Hinweis: Bei diesem Verfahren wird davon ausgegangen, dass der Benutzer mit der BioPhase-Software vertraut ist. Ausführliche Anweisungen finden Sie in folgendem Dokument: *Software Hilfesystem*.

Hinweis: Die Analyseparameterdatei in diesem Verfahren ist ein Beispiel. Die Parameter sind eventuell nicht optimal für alle Datendateien.

1. Klicken Sie auf der Startseite der BioPhase-Software auf **Data Analysis**. Das Hauptfenster der BioPhase Analysis-Software wird geöffnet.
2. Klicken Sie auf **File > Open**, wählen Sie die zu analysierenden Datendateien aus, und klicken Sie dann auf **Open**.
3. Klicken Sie in der Symbolleiste **Project** auf , navigieren Sie zu CE-SDS Reduced IgG Analysis und klicken Sie dann auf **Open**. Die Datei „CE-SDS Reduced IgG Analysis“ ist ein Startpunkt für die Analyse.
4. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Apply & Analyze (all)**.

Die Software wendet alle Parameter in den Registerkarten „Integration“, „Library“ und „Post Analysis“ auf die Datendateien an und zeigt danach die Ergebnisse.

Im Teilfenster „Files“ wird der Dateiname in roter Schrift angezeigt, um anzuzeigen, dass die Daten analysiert wurden. Die Anzahl der identifizierten Peaks wird in der Spalte **Peaks** angezeigt.



Im Feld „Data“ werden die Analyseergebnisse in der Tabelle unterhalb des Diagramms angezeigt. Am Anfang der Tabelle werden **RMS Noise**, **P-P Noise** und **Drift** angezeigt. Im Diagramm wird die Basislinie in roter Schrift und der Grenzwert als graue, horizontale Linie angezeigt. Alle Spitzen, die in der Analyse identifiziert werden, haben eine blaue Markierung zu Beginn der Spitze und eine rote Markierung am Höhepunkt der Spitze und eine grüne Markierung am Ende der Spitze.

Spitzen im Diagramm sind wie folgt schattiert:

- Grün: Die Spitze entspricht einer Spitze in der Marker Table auf der Registerkarte Library.
- Blau: Die Spitze entspricht einer Spitze in der Peak Table auf der Registerkarte Library.
- Rot: Die Spitze ist keine benannte Spitze.

Siehe Abschnitt: [Untersuchung der Ergebnisse](#).

5. Zeigt die Peaknamen auf dem Diagramm.


- a. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf .
Das Dialogfeld „Information Setup“ wird geöffnet.
- b. Wählen Sie **Name** und alle anderen Informationen, die im Diagramm angezeigt werden sollen, z. B. **MT**, und klicken Sie dann auf **OK**.
- c. Klicken Sie auf .


Die Spitzennamen werden auf dem Diagramm angezeigt. Siehe Abschnitt: [Untersuchung der Ergebnisse](#).

Die Namen sind Teil der Analyseparameterdatei. Wenn Sie andere Namen verwenden möchten, lesen Sie den Abschnitt „Peaks identifizieren“ in diesem Dokument: *Software Hilfesystem*.






6. Klicken Sie in das Teilfenster „Files“ unter der Dateienliste und drücken Sie dann auf die Pfeiltasten **Up** und **Down**, um die Daten der einzelnen Dateien für jede Datei im Teilfenster „Data“ anzuzeigen.

Ziehen Sie bei Bedarf über eine Region auf dem Diagramm, um diese zu vergrößern und die Details der identifizierten Spitzen in dieser Region anzuzeigen.

Tipp! Um nicht jede Datendatei vergrößern zu müssen, klicken Sie auf , um dieselben Vergrößerungseinstellungen auf alle Datendateien anzuwenden.

7. Stellen Sie sicher, dass die Integration zufriedenstellend ist. Passen Sie die Integrationsparameter an und analysieren Sie danach bei Bedarf erneut.
8. Untersuchen Sie das Elektropherogramm für die Peaks in der „Marker Table“ und „Peak Table“.
 - a. Stellen Sie für jeden Peak in der „Marker Table“ und „Peak Table“ sicher, dass der korrekte Peak im Diagramm markiert ist.
 - b. Passen Sie bei Bedarf **MT** in der „Marker Table“ und **MT** (oder **Cal MT**) in der „Peak Table“ an.
 - c. Passen Sie bei Bedarf **Tol** und **Crit** an, und klicken Sie dann auf .

Daten analysieren

- **Tol** ist die Toleranz, um den Peak im Diagramm an einen Peak in der „Marker Table“ oder „Peak Table“ anzupassen. Geben Sie % ein, um die Toleranz als Prozentwert einzugeben.
 - **Crit** ist die anzugleichende Peak-Eigenschaft.
 - **Ctr**: Der Peak, der der Bereichsmitte am nächsten ist, wird abgeglichen.
 - **Ht**: Der höchste Peak im Bereich wird abgeglichen.
 - **Area**: Der größte Peak im Bereich wird abgeglichen.
- d. Wenn die Peak-Zuordnungen zufriedenstellend sind, klicken Sie mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Apply & Analyze (all)**.
- Die Software wendet die Änderungen auf alle Datendateien an.
9. (Optional) Klicken Sie in der Werkzeugleiste auf **Project**, dann auf , geben Sie einen Namen ein, wählen Sie eine Position und klicken Sie danach auf **OK**.
Die Analyseparameter können zum späteren Gebrauch in eine Datei gespeichert werden.
10. (Optional) Klicken Sie in der Werkzeugleiste **File** mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Print (all)**.
Der Inhalt des Teilfensters „Data“ wird in der aktuellen Berichtsvorlage gedruckt. Informationen zum Erstellen einer Berichtsvorlage finden Sie im Abschnitt „Bericht konfigurieren“ im Dokument: *Bedienerhandbuch*.
11. Klicken Sie in der Werkzeugleiste **File** mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Save (all)**.
Alle Änderungen an den Ergebnissen einschließlich der Analyseparameter werden in den Datendateien gespeichert.
12. Klicken Sie in der Werkzeugleiste **File** mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Close (all)**.
Alle Datendateien werden geschlossen.

Untersuchung der Ergebnisse

Abbildung 7-1: Nicht-reduzierte IgG-Probe in SDS-MW Sample Buffer

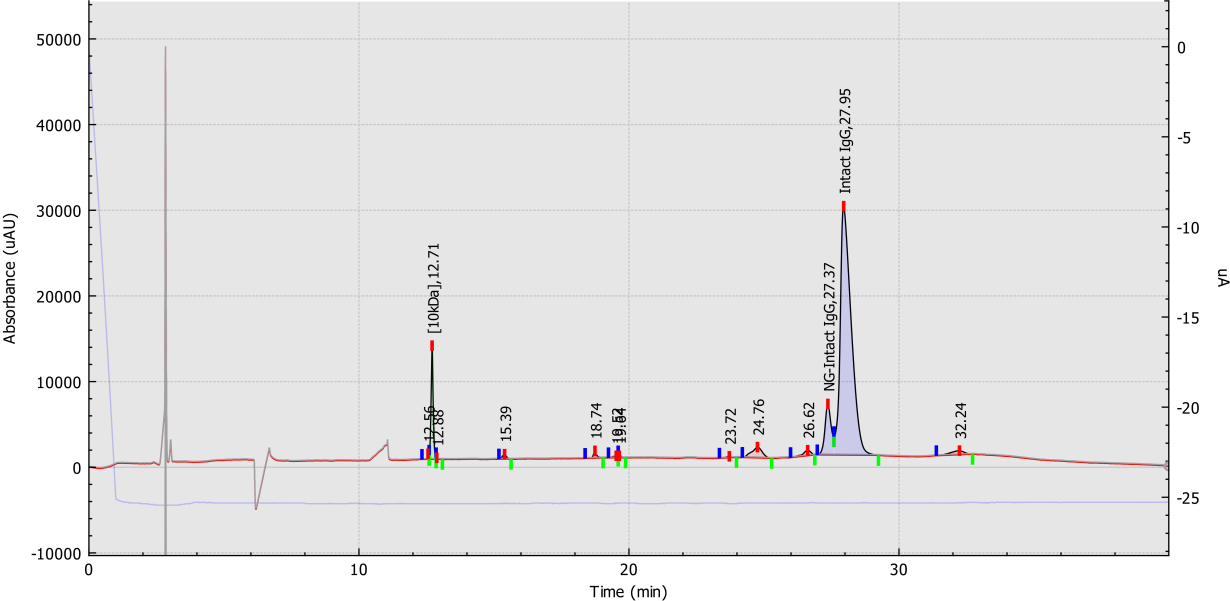


Abbildung 7-2: Reduzierte IgG-Probe in SDS-MW Sample Buffer

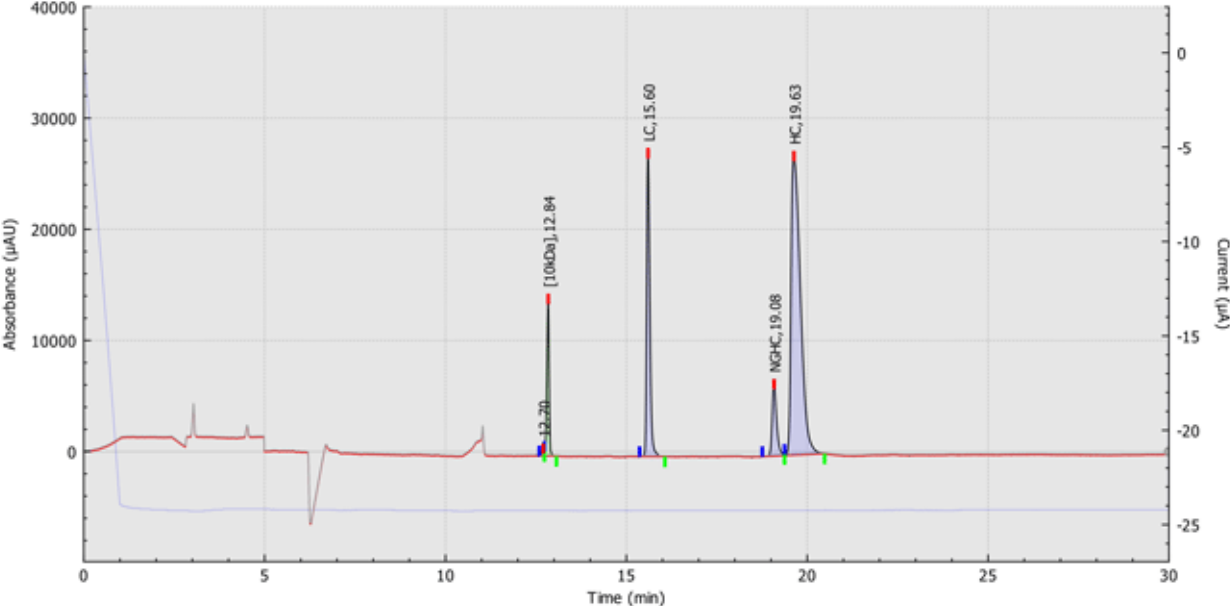


Abbildung 7-3: NIST-IgG-Probe in Low pH SDS Sample Buffer

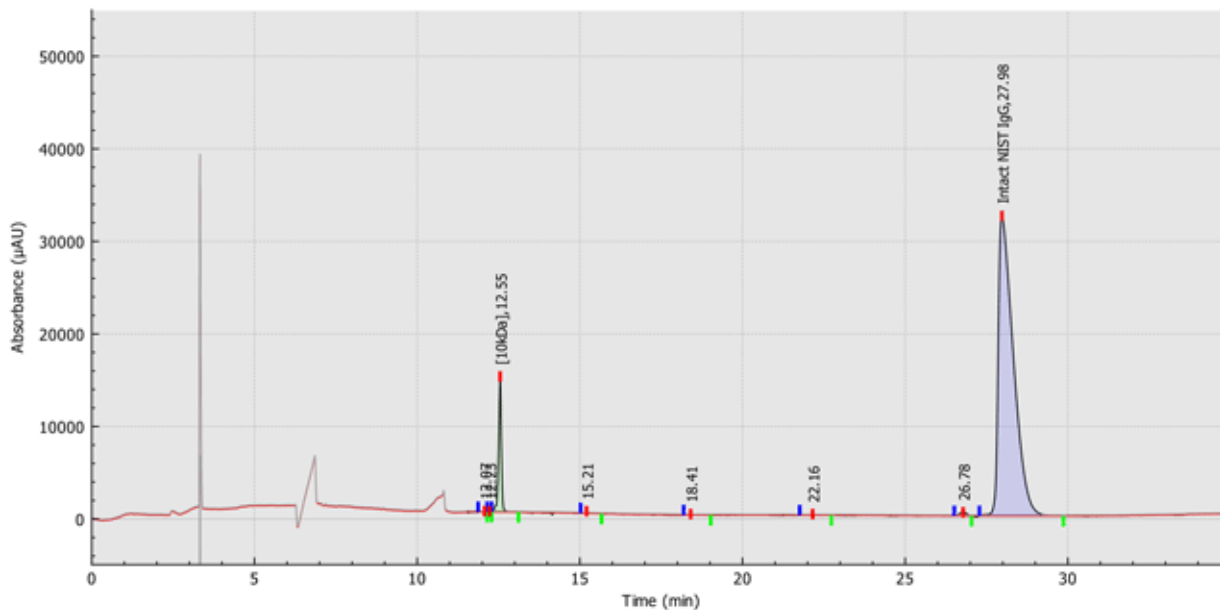
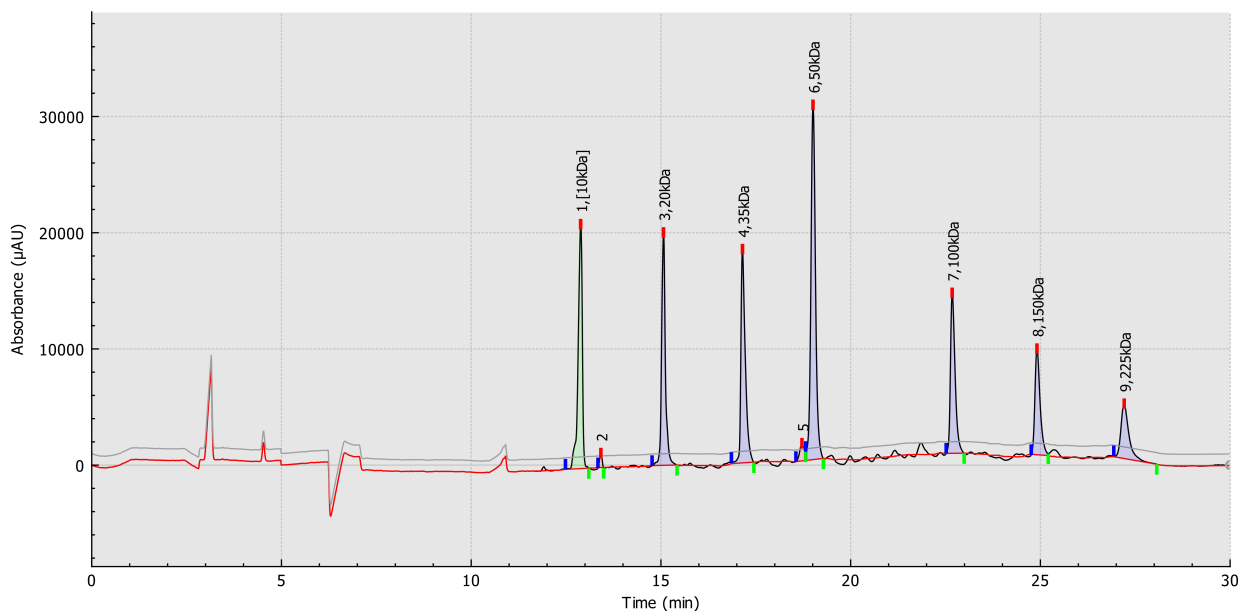


Abbildung 7-4: MW Size Standard in SDS-MW Sample Buffer



Ergebnisse auf der Registerkarte „Overlay“ überprüfen

Die Registerkarte „Overlay“ zeigt die Abbildungen für die ausgewählten Datendateien. Diese Registerkarte enthält die Statistiken der ausgewählten Datendateien sowie den Systemeignungsbericht.

Hinweis: Dieser Abschnitt beschreibt nicht die Systemeignungsfunktion. Informationen über die Eignung des Systems finden Sie im Dokument: *Bedienerhandbuch*.


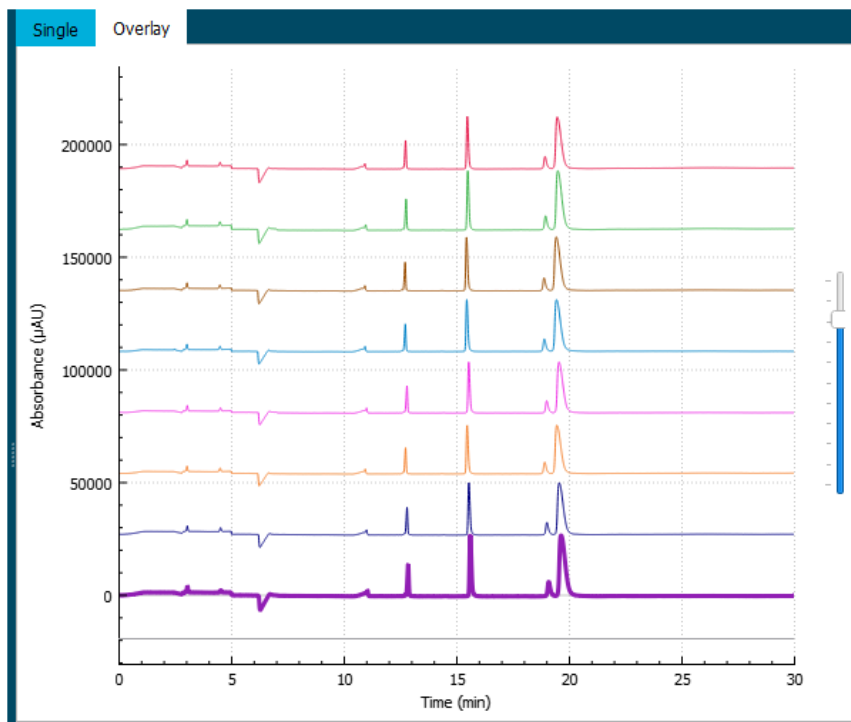
1. Öffnen Sie einen Datendateisatz und die entsprechende Analyseparameterdatei und analysieren Sie danach die Daten. Passen Sie bei Bedarf die Analyseparameter an, bis die Ergebnisse zufriedenstellend sind.
2. Klicken Sie im Teilfenster „Files“ auf  und öffnen Sie dann die Registerkarte „Overlay“.

Abbildung 7-5: Registerkarte „Overlay“



Die Farbe der Linie auf dem Diagramm entspricht der Farbe im Kreis neben dem Dateinamen im Teilfenster „Files“.

Die dickere Linie ist die Linie, die der im Feld „Files“ ausgewählten Datei entspricht.

3. Verschieben Sie den Regler rechts vom Diagramm nach oben oder unten, um die Linien anzupassen.

Hinweis: Um die Linien als Reihe von gekachelten Diagrammen anzuzeigen, verschieben Sie den Schieberegler ganz nach oben.

4. Berechnen Sie die Ergebnisse aller Dateien auf der Registerkarte „Overlay“.

Abbildung 7-6: Results Table

RED122-06 Reduced IgG_20201229_171339_Cap_H				
Reference - All		Save		
(1)	Name	MT (2)	Cal MT	St (3)
RED122-06 Reduced IgG_20201229_171339_Cap_H	<1>	12.2000	0.98	11.86
RED122-06 Reduced IgG_20201229_171339_Cap_F	<1>	12.1750	1.00	11.86
RED122-06 Reduced IgG_20201229_171339_Cap_G	<1>	12.1500	1.00	11.71

Element	Beschreibung
1	Referenzdatei
2	Art der Analyse
3	Speichern Sie die Ergebnisse in einer durch Trennzeichen getrennten Datei

- a. Klicken Sie auf die Liste rechts von der Überschrift der „Results Table“, um die Art der Analyse auszuwählen.

Diese Optionen stehen zur Verfügung:

- **Reference - All:** In der „Results Table“ zum Anzeigen von Statistiken für jeden Peak in der Referenzdatei, der in allen anderen Datendateien vorhanden ist.
- **Reference - Peak Table:** In der „Results Table“ zum Anzeigen von Statistiken für jeden benannten Peak in der Referenzdatei, der in allen anderen Datendateien vorhanden ist.
- **Named Peaks:** In der „Results Table“ zum Anzeigen von Statistiken für alle benannten Peaks in allen Datendateien.
- **All Data (not displayed):** Zum Berechnen jedoch nicht zur Anzeige von Statistiken für alle Peaks in allen Datendateien.
- **System Suitability:** Zum Anzeigen des Systemeignungsberichts, wenn die Systemeignung bei der Analyse der Daten aktiviert wurde.

Ein Peak in einer Datendatei wird als übereinstimmend mit einem Peak in der Referenzdatei betrachtet, wenn die Migrationszeiten der Peak-Scheitelpunkte innerhalb von 5 % übereinstimmen.

- b. Klicken Sie auf die Liste links und wählen Sie danach die Referenzdatei.

Die Referenzdatei ist die Datei, mit der alle anderen Dateien verglichen werden.



Nur die Analysen **Reference - All** und **Reference - Peak Table** verwenden eine Referenzdatei.

Die „Results Table“ wird aktualisiert, um die ausgewählte Analyse oder den Systemeignungsbericht anzuzeigen.

Wenn **All Data (not displayed)** ausgewählt ist, ist die „Results Table“ leer. Um die Ergebnisse anzuzeigen, klicken Sie auf **Save**, um die Ergebnisse in einer kommaseparierten Datei zu speichern und die Datei in einem anderen Programm zu öffnen.

5. (Optional) Wiederholen Sie den Schritt 4, um eine andere Referenzdatei oder eine andere Art der Analyse zu verwenden.
6. (Optional) Klicken Sie auf **Save**. Die „Results Table“ wird in einer kommaseparierten Textdatei gespeichert. Nur die in der Tabelle angezeigten Spalten werden gespeichert.

Hinweis: Um die Systemeignungsergebnisse zu speichern, klicken Sie auf **File > Save Report**. Die Ergebnisse werden als PDF-Datei gespeichert.

7. (Optional) Klicken Sie auf **File > Print**. Der Inhalt der Registerkarte „Overlay“ wird mithilfe der aktuellen Berichtsvorlage gedruckt.
8. (Optional) Klicken Sie in der Werkzeugleiste **File** mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Save (all)**. Alle Änderungen an den Ergebnissen und Analyseparametern werden in den Datendateien gespeichert.
9. Klicken Sie in der Werkzeugleiste **File** mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Close (all)**. Alle Datendateien werden geschlossen.

Leitfaden für die Entwicklung von Akzeptanzkriterien

Akzeptanzkriterien, die für die Verwendung dieses Kits für standardisierte Betriebsverfahren (SOP) oder andere Zwecke erstellt werden, sollten auf Parametern beruhen, die sich auf die Qualität der Trennung beziehen, sowie auf Attributen, die kritische Probenqualitäten widerspiegeln. Unterschiede zwischen Gel- und Kapillarchargen und verschiedenen Systemen können zu Abweichungen bei den absoluten Migrationszeiten führen.

Die Reinheit des Peaks (als korrigierter Flächenprozentsatz des Peaks), Peakauflösung und relative Migrationszeit (mit dem 10 kDa Internal Standard von SCIEX oder dem Hauptpeak in der Probe als Referenzmarker) sind allgemein anerkannte Kriterien für die Eignung des Systems für die CE-SDS-Analyse. SCIEX rät dringend von der Verwendung der absoluten Migrationszeit als Akzeptanzkriterium ab.

Mit „MW Size Standard“ das Molekulargewicht schätzen

Um das Molekulargewicht eines unbekanntes Proteins zu schätzen, verwenden Sie die Kalibrationsfunktion des externen X-Achsenmarkers. Siehe Abschnitt: [Kalibrationskurve mithilfe von externen Markern erstellen](#).

Daten analysieren

Hinweis: Liegt der 10 kDa Internal Standard in der unbekanntem Probe vor, kann der 10 kDa Internal Standard als Referenzspitze verwendet werden, um Variationen bei der Migrationszeit zu korrigieren und die Genauigkeit des geschätzten Molekulargewichts zu erhöhen.

1. Führen Sie einen Durchlauf mit dem MW Size Standard durch.
2. Verwenden Sie in der BioPhase Analysis-Software die Migrationszeiten und Molekulargewichte des MW Size Standard, um eine Kalibrationskurve zu erstellen.
3. Wenden Sie die Kalibrationskurve auf die Daten an. Das geschätzte Molekulargewicht des unbekanntem Proteins wird in der „Results Table“ und den Anmerkungen auf dem Diagramm als **Cal MT** angezeigt, sofern dieser Wert dargestellt wird.

SCIEX empfiehlt, die externe Kalibrationskurve nach 24 Durchläufen erneut zu kalibrieren. Um die Kurve erneut zu kalibrieren, führen Sie einen weiteren Durchlauf mit dem MW Size Standard durch und aktualisieren Sie die Migrationszeit für jeden Standard mit den Ergebnissen des Durchlaufs.





Kalibrationskurve mithilfe von externen Markern erstellen

Verwenden Sie diese Funktion, um die Kalibrationskurve für die X-Achse aus einem Satz von externen Markern zu erstellen. Wenn ein Referenzmarker im externen Markersatz und der unbekanntem Probe vorliegt, kann der Referenzmarker verwendet werden, um Variationen in der Migrationszeit zu korrigieren.

1. Legen Sie die Parameter für die Kalibrationskurve fest.
 - a. Öffnen Sie die Datendatei, die die Ergebnisse aus der Trennung der Standards enthält.
 - b. Integrieren Sie die Daten.
 - c. Weisen Sie in der Marker Table die Spitzen für die MW Size Standard als Marker zu.
 - d. Geben Sie für jeden Marker das Molekulargewicht in der entsprechenden **Cal MT**-Zelle ein.
 - e. Wählen Sie **External markers** oberhalb der „Marker Table“ auf der rechten Seite der Registerkarte.
 - f. Geben Sie den **X-axis Name** und die **Units** ein.
 - g. Wählen Sie in der Liste **Fit Type** die Art der Kalibrationskurve aus.
2. (Optional) Legen Sie die Parameter für die Übereinstimmung einer Referenzspitze mit einer Spitze in den Daten für die Probe, die eine Unbekannte enthält, fest.
 - a. Wählen Sie **Ref** in der „Marker Table“ für den Referenzpeak.
 - b. Klicken Sie auf .
 - c. Geben Sie in das Feld **Ref MT** die erwartete Migrationszeit des Referenzpeaks in den Daten für die Probe ein, die die Unbekannte enthält.
 - d. Geben Sie in das Feld **Tol** die Toleranz ein.
 - e. Wählen Sie in der Liste **Crit** die Kriterien aus.

f. Klicken Sie auf **OK**.

Wird ein Referenzpeak ausgewählt, werden die Migrationszeiten in der Kalibrationskurve korrigiert, indem die Migrationszeit mit dem Verhältnis von **Ref Peak MT** (unbekannt) und **Ref Peak MT** (externer Markersatz) multipliziert wird. Dies führt zu einer genaueren Bestimmung der **Cal MT** trotz Variationen in der Migrationszeit.

3. Klicken Sie auf  und untersuchen Sie das Diagramm und die „Results Table“, um sicherzustellen, dass **Cal MT**-Werte korrekt sind.
4. Klicken Sie auf **Show Graph** und stellen Sie sicher, dass die Datenpunkte aus der „Marker Table“ zur Kalibrationskurve passen.
Die Kalibrationskurve basiert auf Werten für **MT** und **Cal MT** in der „Marker Table“.
5. Klicken Sie auf  und speichern Sie die Parameter in einer Analysenparameter (dana)-Datei.
6. Klicken Sie auf **File > Open** und wählen Sie dann die zu analysierenden Dateien aus.
7. Öffnen Sie die Analysenparameterdatei, die in Schritt 5 erstellt wurde.
8. Klicken Sie mit der rechten Maustaste auf  und wählen Sie dann **Apply & Analyze (all)** oder **Apply & Analyze (checked)**.
Ist der Referenzpeak im externen Markersatz und den unbekanntenen Daten vorhanden, überprüfen Sie die Ergebnisse. Klicken Sie bei Bedarf auf  und passen Sie die Werte für **Ref MT**, **Tol** und **Crit** im Dialogfeld so an, dass der Referenzpeak in der Unbekannten sich im Migrationszeitfenster befindet.

Proben mit der Waters Empower™ - Software durchlaufen lassen

8

Dieser Abschnitt enthält Anweisungen für die Verwendung der Waters Empower™-Software und des BioPhase 8800 Driver for Empower™ mit dem BioPhase 8800-System.

Importieren Sie die BioPhase Software-Methoden, um die Instrumentenmethoden zu erstellen

Hinweis: Methoden, die mit der BioPhase Software erstellt wurden, werden mit der BioPhase 8800 Driver for Empower™-Software geliefert. Die Methoden stehen auch auf der Website SCIEX zum Download zur Verfügung. Siehe Abschnitt: [Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren \(Waters Empower™-Software\)](#).

Instrumentenmethoden können auch in der Method Editors for BioPhase System-Software erstellt werden. Siehe Dokumente: *Bedienerhandbuch* und *Software Hilfesystem*.

In der Regel sind drei Arten von Verfahren erforderlich: ein Konditionierungsverfahren, ein Trennverfahren und ein Ausschaltverfahren. Für einige Arbeitsabläufe gibt es zusätzliche Methoden.

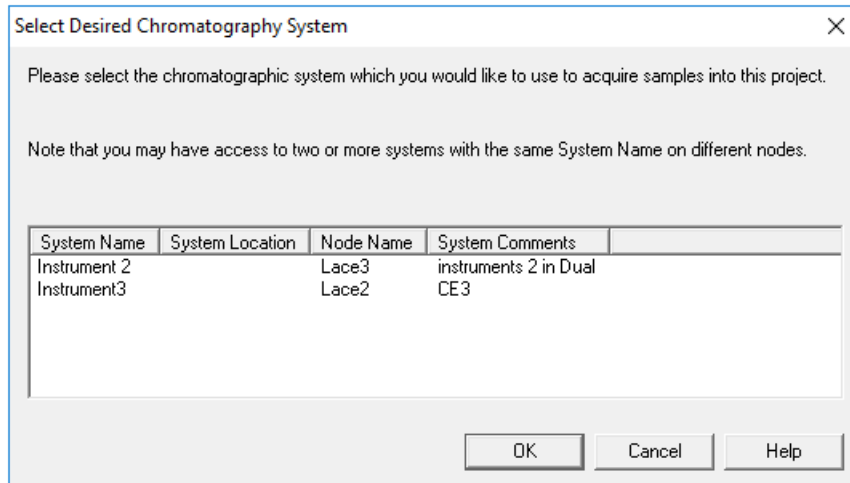
Die folgenden Methoden sind verfügbar.

- CE-SDS Conditioning: Konditioniert die Kapillaren.
- Trennmethoden:
 - Reduced CE-SDS Separation: Für reduzierte Proben.
 - Non Reduced CE-SDS Separation: Für nicht-reduzierte Proben.
 - Low pH Sample Buffer Separation: Für Proben, die mit einem Probenpuffer mit niedrigem pH-Wert vorbereitet wurden.
- CE-SDS Shutdown: Reinigt die Kapillaren am Ende einer Sequenz durch, spült die Kapillaren zur Lagerung ab und schaltet dann die Lampe aus.

Gehen Sie wie folgt vor, um BioPhase-Software-Methoden zu importieren und Instrumentenmethoden sowie Methodensätze zu erstellen, die mit der Waters Empower™-Software verwendet werden können. Erstellen Sie die entsprechenden Methoden und Methodensätze für den Workflow.

1. Klicken Sie im Fenster „Waters Empower™ Software Project“ auf **File > New Method > Instrument Method**.

Abbildung 8-1: Dialogfeld „Select Desired Chromatography System“



2. Klicken Sie auf das zu verwendende System und dann auf **OK**.
Der „Instrument Method Editor“ wird geöffnet.
3. Klicken Sie auf **Import** und suchen Sie dann nach der Konditionierungsmethode.
Die Methode öffnet das Fenster „Instrument Method Editor“ mit aktiver Registerkarte „Method Settings“.

Hinweis: Dieses Fenster ist schreibgeschützt. Wenn Änderungen an der Methode erforderlich sind, speichern Sie die Instrumentenmethode und bearbeiten Sie sie anschließend in der Method Editors for BioPhase System-Software. Siehe Abschnitt: „Vorhandene Instrumentenmethode bearbeiten“ im Dokument: *Software-Hilfe*.

Abbildung 8-2: Registerkarte „Method Settings“ im Instrument Method Editor

4. (Optional) Öffnen Sie die Registerkarte „Method Program“, um die Aktionen zu sehen.
5. Um die Parameter für eine Aktion anzuzeigen, klicken Sie auf die Zeile in der Tabelle. Das Fenster „Parameters“ wird aktualisiert und zeigt die Parameter an.

Abbildung 8-3: Registerkarte „Method Program“ im Instrument Method Editor

#	Action	Duration	Pressure (psi)	Pressure Direction	Inlet	Outlet	Voltage (kV)	Ramp Time (min)	Voltage Polarity	Advance After	Auto Zero (min)	Data Collection	Mode
1	Rinse	2.0 min	70.0		Basic Wash	Waste							
2	Rinse	8.0 min	20.0		Basic Wash	Waste							
3	Rinse	5.0 min	20.0		Acid Wash	Waste							
4	Rinse	2.0 min	20.0		Water Rinse	Waste							
5	Rinse	10.0 min	80.0		CE-SDS Gel Buffer R...	Waste							
6	Separate	10.0 min	20.0	Both	CE-SDS Gel Buffer S...	CE-SDS Gel ...	15.0	5.0	Reverse	0 actions	5.0	True	
7	Wait	0.0 min			Water Dio 1	Water Dio				0 actions			

6. Speichern Sie die Konditionierungsinstrumentenmethode.
 - a. Klicken Sie auf **File > Save with Method Set**.

Das Dialogfeld „Save current Instrument Method“ wird geöffnet.

- b. Geben Sie einen Namen in das Feld **Name** ein.

Hinweis: Der Name muss weniger als 30 Zeichen lang sein und kann alphanumerische Zeichen, Leerzeichen und die Sonderzeichen @, _ und % enthalten. Obwohl einige Versionen der Waters Empower™-Software mehr als 30 Zeichen und andere Sonderzeichen akzeptieren, können diese Zeichen Probleme verursachen, wenn die Methode in den Method Editors for BioPhase System-Software bearbeitet wird.

- c. (Optional) Geben Sie Informationen in das Feld **Method Comments** ein.
- d. Wenn Sie dazu aufgefordert werden, geben Sie in das Feld **Password** das Kennwort für die Waters Empower™-Software für den aktuellen Benutzer ein und klicken Sie dann auf **Save**.

Die Instrumentenmethode und der Methodensatz werden im aktuellen Projekt gespeichert.

7. Klicken Sie auf **File > Exit**.

Hinweis: Nachdem eine Methode importiert wurde, ist die Schaltfläche **Import** im Fenster „Instrument Method Editor“ nicht mehr verfügbar, es sei denn, das Fenster wird geschlossen und dann wieder geöffnet.

8. Wiederholen Sie die Schritte 3 bis 7, um die anderen Instrumentenmethoden und Methodensätze zu erstellen.

Probensatzmethode-Software erstellen

Die folgenden Anweisungen erstellen eine Probensatzmethode für acht Proben, d. h. für die Anzahl der Wells in einer Säule einer Probenplatte.

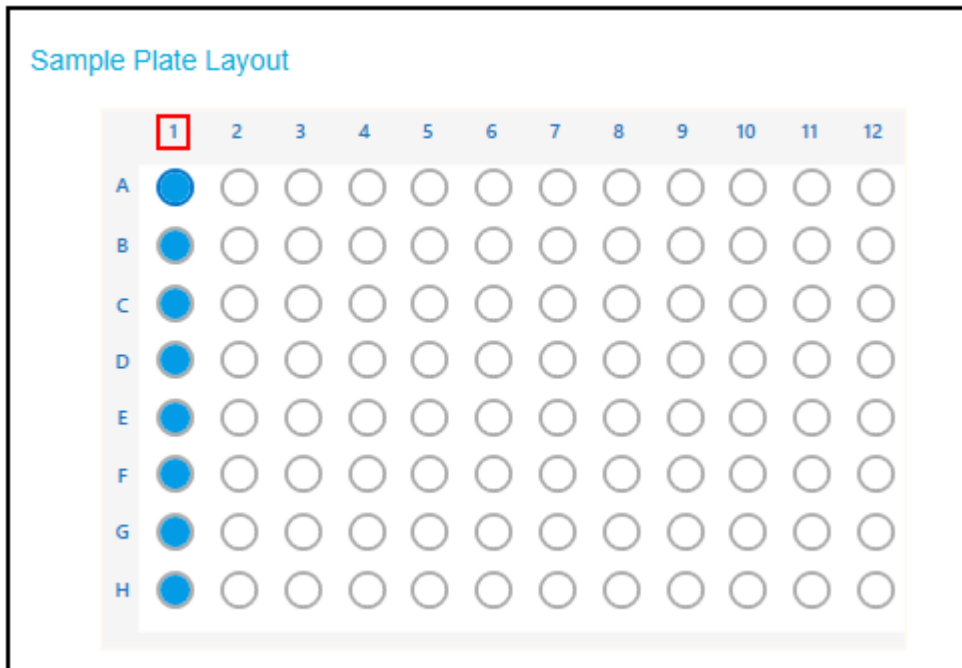
Hinweis: Eine Probensatzmethode erfordert Methodensätze. Stellen Sie sicher, dass jede benötigte Instrumentenmethode Teil eines Methodensatzes ist.

1. Klicken Sie im Fenster „Waters Empower™ Software Run Samples“ auf **BioPhase 8800 > BioPhase Sample Set Editor**.

Die Method Editors for BioPhase System-Software wird geöffnet und zeigt den Arbeitsbereich „Sample Set Method Editor“ an.

2. Klicken Sie auf **New Sample Set Method**.
Der „Sample Set Method Editor“ wird geöffnet und die Registerkarte „Sample Plate Setup“ wird angezeigt.
3. Klicken Sie in der ersten Zeile der Tabelle „Sample Set Summary“ auf die Zelle **Method Set Name** und wählen Sie dann **CE-SDS Conditioning**.
4. Klicken Sie im Teilfenster „Sample Plate Layout“ auf den Wert **1**.
Die erste Spalte in der Probenplatte wird ausgewählt und die Tabelle „Sample Set Summary“ wird aktualisiert und zeigt die ausgewählten Wells an.

Abbildung 8-4: Teilfenster „Sample Plate Layout“



5. Fügen Sie die erforderlichen Probeninformationen in die Tabelle „Sample Set Summary“ ein. Gehen Sie in den Zeilen 2 bis 9 wie folgt vor:
 - a. Geben Sie in der Zelle **Sample Name** einen Namen für die Probe ein.
 - b. Klicken Sie auf die Zelle **Method Set Name** und wählen Sie dann **Reduced CE-SDS Separation** oder die entsprechende Trennmethode aus der Liste aus.

Tipp! Nachdem Sie den Methodensatz für Zeile 2 ausgewählt haben, klicken Sie mit der rechten Maustaste und wählen Sie **Apply method to all samples in column**, um die Methode allen Proben zuzuweisen.

6. Klicken Sie in der letzten Zeile auf die Zelle **Method Set Name** und wählen Sie dann **CE-SDS Shutdown**.

Abbildung 8-5: Tabelle „Sample Set Summary“

Sample Set Summary

Column	# of Injs	Plate/Well	Sample Name	Method Name	Run Time (Minutes)
				CE SDS Conditioning	37.0
1	1	1:A,1	Washington	Low pH Sample Buffer	61.5
1	1	1:B,1	Hoover	Low pH Sample Buffer	61.5
1	1	1:C,1	Polk	Low pH Sample Buffer	61.5
1	1	1:D,1	Coolidge	Low pH Sample Buffer	61.5
1	1	1:E,1	Jackson	Low pH Sample Buffer	61.5
1	1	1:F,1	Eisenhower	Low pH Sample Buffer	61.5
1	1	1:G,1	Kennedy	Low pH Sample Buffer	61.5
1	1	1:H,1	Truman	Low pH Sample Buffer	61.5
				CD SDS Shutdown	27.0

7. Wenn das Teilfenster „Validation“ angezeigt wird, klicken Sie auf das Feld, um die Fehler anzuzeigen. Klicken Sie auf einen Fehler, um die Stelle zu markieren, an der er auftritt, und nehmen Sie dann die gewünschte Änderung vor.

Liegen keine Fehler vor, wird das Teilfenster „Validation“ nicht angezeigt.

8. Speichern Sie die Methode des Probensatzes.

- a. Klicken Sie auf **SAVE AS**.

Hinweis: Die Schaltfläche **SAVE AS** ist nicht verfügbar, wenn Fehler vorliegen. Beheben Sie alle Fehler im Teilfenster „Validation“ und klicken Sie danach auf **SAVE AS**.

Das Dialogfeld „Save Sample Set“ wird geöffnet.

- b. Geben Sie einen Namen in das Feld **Sample Set Name** ein.

Hinweis: Der Name muss weniger als 30 Zeichen lang sein und kann alphanumerische Zeichen, Leerzeichen und die Sonderzeichen @, _ und % enthalten. Obwohl einige Versionen der Waters Empower™-Software mehr als 30 Zeichen und andere Sonderzeichen akzeptieren, können diese Zeichen Probleme verursachen, wenn die Methode in den Method Editors for BioPhase System-Software bearbeitet wird.

- c. (Optional) Geben Sie Informationen in das Feld **Description** ein.
- d. Klicken Sie auf **Save** und dann auf **OK**, um die gespeicherte Methode zu bestätigen.

Die Probensatzmethode wird in der Datenbank der Waters Empower™-Software gespeichert.

9. Zum Anzeigen, Speichern oder Drucken der Plattenlayouts:

- a. Öffnen Sie die Registerkarte „Plate Layouts“.
- b. (Optional) Klicken Sie auf **PRINT**.
Das Fenster „Print Preview“ wird geöffnet.

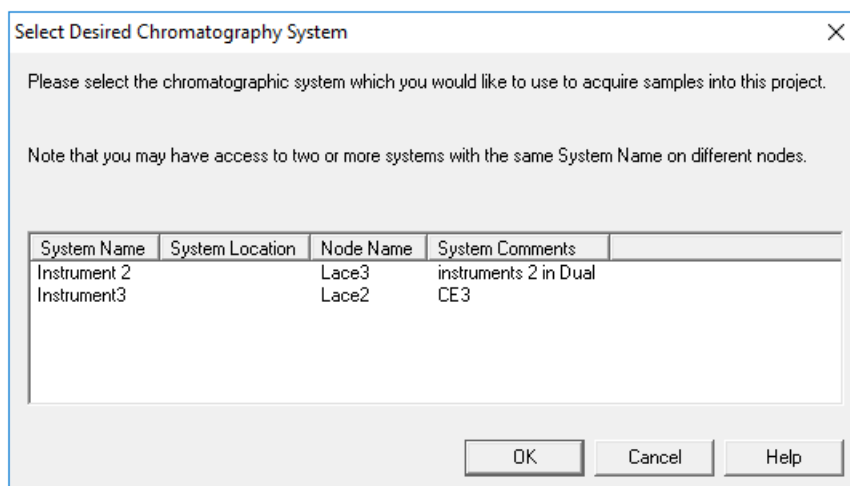
Proben mit der Waters Empower™-Software durchlaufen lassen

- c. Klicken Sie bei Bedarf auf die Schaltflächen, um die Plattenlayouts zu drucken oder zu speichern.
Siehe Abschnitt: „Dialogfeld „Print Preview“ im Dokument: *Software Hilfesystem*.
 - d. Klicken Sie auf das Feld zum Schließen (das × in der oberen rechten Ecke).
Das Dialogfeld „Print Preview“ wird geschlossen.
10. Klicken Sie im Fenster „Method Editors for BioPhase System“ auf das Feld zum Schließen (das × in der oberen rechten Ecke).
Die Method Editors for BioPhase System-Software wird geschlossen und das Fenster „Run Samples“ wird angezeigt.

Probensatzmethode starten

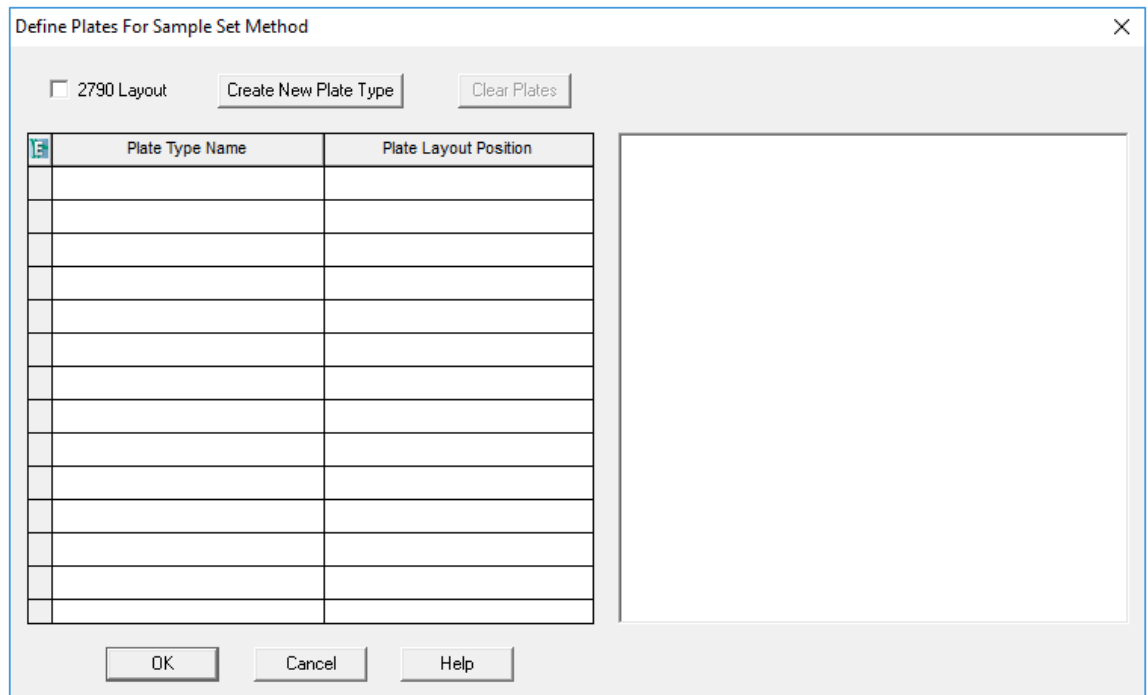
1. Legen Sie die Kartusche und die Platten ein. Siehe Abschnitt: [BioPhase 8800-System vorbereiten](#).
2. Klicken Sie im Fenster „Waters Empower™ software Project“ auf **Tools > Run Samples**.

Abbildung 8-6: Dialogfeld „Select Desired Chromatography System“




3. Klicken Sie auf das zu verwendende System und dann auf **OK**.
Das Fenster „Run Samples“ wird geöffnet.
4. Konfigurieren Sie den Plattentyp.
 - a. Klicken Sie auf **Edit > Plates**.

Abbildung 8-7: Dialogfeld „Define Plates for Sample Set Method“



Hinweis: Wenn das Dialogfeld nicht wie in der vorangegangenen Abbildung aussieht, deaktivieren Sie das Kontrollkästchen **2790 Layout**.

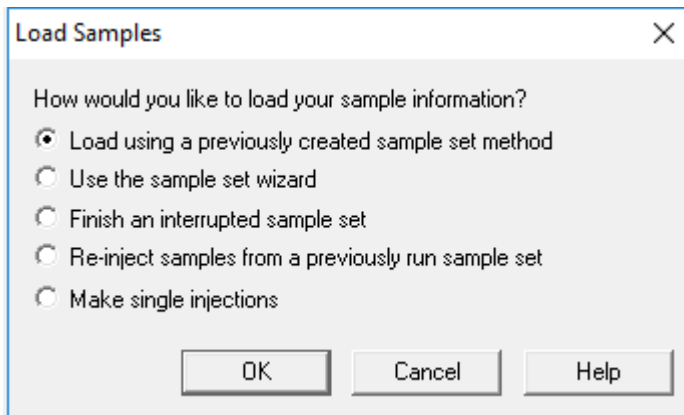
- b. Klicken Sie auf die Zelle **Plate Type Name** und wählen Sie dann **ANSI-96well2mL**. Das Dialogfeld wird mit einem Bild der Platte und der Schaltflächen für den Plattensequenzierungsmodus aktualisiert.
- c. Klicken Sie auf die Zelle **Plate Layout Position** und geben Sie 1 ein.
- d. Klicken Sie auf , um die Reihenfolge anzugeben, in der während des Durchlaufs auf die Wells zugegriffen wird.
- e. Klicken Sie auf **OK**, um die Änderungen zu speichern, und schließen Sie dann das Dialogfeld.

Tipp! Um den Plattentyp dauerhaft zu konfigurieren, klicken Sie auf **Customize > Defaults**, klicken Sie auf **Plates**, führen Sie die Schritte 4.b bis 4.e aus und klicken Sie dann auf **OK**.

In der Tabelle „Sample Set Method“ ändert sich die Überschrift der Spalte **Vials** in **Plate/Well**.

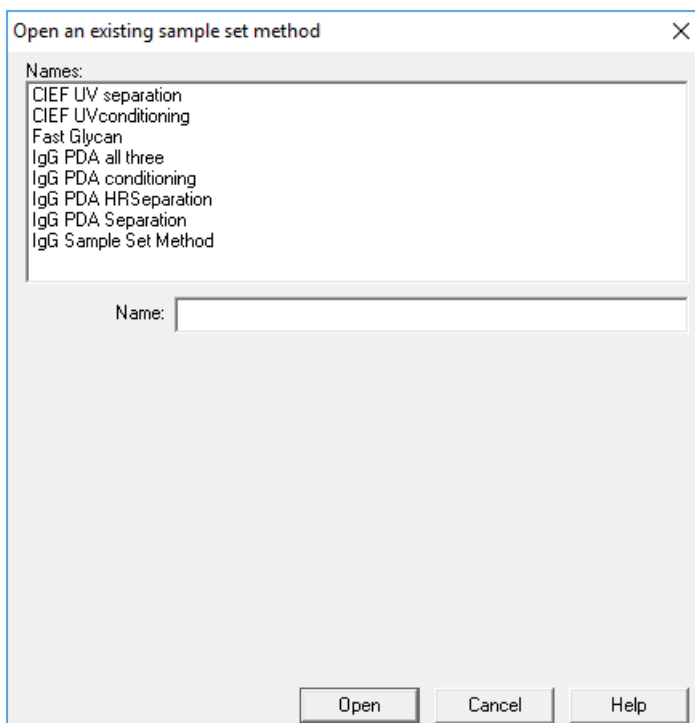
5. Klicken Sie auf  (**Load Sample Set**).

Abbildung 8-8: Dialogfeld „Load Samples“



6. Klicken Sie auf **Load using a previously created sample set method** und klicken Sie dann auf **OK**.

Abbildung 8-9: Dialogfeld „Open an existing sample set method“




7. Klicken Sie in der Liste auf **CE-SDS Kit Sample Set Method** und dann auf **Open**. Die Probensatzmethode wird auf der Registerkarte „Samples“ geöffnet.
8. (Optional) Konfigurieren Sie die Tabelle so, dass nur die Spalten angezeigt werden, die für das BioPhase 8800-System relevant sind.
 - a. Klicken Sie mit der rechten Maustaste und wählen Sie dann **Table Properties**. Das Dialogfeld „Table Properties“ wird geöffnet.

- b. Klicken Sie auf **Hide All** und deaktivieren Sie dann die Kontrollkästchen für **Plate/Well, # of Injs, SampleName, Function** und **Method Set / Report or Export Method**.
- c. Klicken Sie auf **OK**.

Die Tabelle wird aktualisiert und zeigt die ausgewählten Spalten an.

Abbildung 8-10: Registerkarte „Samples“

Sample Set Method: CE SDS Kit Sample Set Method					
	Plate/Well	# of Injs	SampleName	Function	Method Set / Report or Export Method
1				Condition Column	CE SDS Conditioning
2	1:A,1	1	Washington	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
3	1:B,1	1	Hoover	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
4	1:C,1	1	Polk	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
5	1:D,1	1	Coolidge	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
6	1:E,1	1	Jackson	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
7	1:F,1	1	Eisenhower	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
8	1:G,1	1	Kennedy	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
9	1:H,1	1	Truman	Inject Samples	Low pH Sample Buffer
10				Condition Column	CD SDS Shutdown


9. Überprüfen Sie die Probensatzmethode. Vergewissern Sie sich, dass das richtige Reagenzplattenlayout verwendet wurde. Wenn Änderungen erforderlich sind, bearbeiten Sie die Methode in der Method Editors for BioPhase System-Software. Alle Änderungen an den Instrumentenmethoden oder Methodensätzen werden automatisch auf die Methode des Probensatzes übertragen.
10. Klicken Sie im Fenster „Waters Empower™ Software Project“ auf  (**Start**).

Abbildung 8-11: Dialogfeld „Run Sample Set“

Run Sample Set

Name for this sample set : One column cIEF

Sample set method name : One column cIEF

Settings for this Sample Set

Wait For User

Run Mode : Run Only

Suitability Mode : Continue on Fault

Printer :

Shutdown Method : Capillary Rinse

Do Not Run Shutdown Method During User Abort

11. Bearbeiten Sie bei Bedarf die Informationen im Dialogfeld „Run Sample Set“.

- a. Bearbeiten Sie bei Bedarf das Feld **Name for this sample set**.
- b. (Optional) Klicken Sie auf **Shutdown Method** und wählen Sie dann eine Instrumentenmethode, die die Kapillaren spült.

Falls verfügbar, verwenden Sie eine von SCIEX bereitgestellte Spülmethode. Wenn eine Spülmethode nicht verfügbar ist, erstellen Sie eine. Verwenden Sie den gleichen Reagenziensatz wie bei der Probensatzmethode und die folgenden Parameter:

- Druck: 50 psi
- Dauer: 2 Minuten
- Einlass: Wasser
- Auslass: Abfall

Wenn das System während eines Durchlaufs auf einen Fehler stößt, führt es diese Instrumentenmethode aus und hält dann den Durchlauf an.

- c. Wählen Sie bei Bedarf **Do Not Run Shutdown Method During User Abort**.
- d. Klicken Sie auf **Run**.


Der Durchlauf beginnt. Während des Durchlaufs ist der Text in der Zeile im Fenster „Sample Set Method“ für die zu erfassende Probe rot.

VORSICHT: Möglicher Datenverlust. Initiieren Sie während eines Durchlaufs keine Aktionen über das BioPhase 8800 Driver for Empower™ Direct Control-Bedienfeld, auch dann nicht, wenn sich das System im Leerlauf befindet. Jede Aktion kann die Datenerfassung beeinträchtigen.

Durchlauf in der Waters Empower™-Software überwachen

Verwenden Sie dieses Verfahren, um den Fortschritt der Methode zu überwachen und sie bei Bedarf anzuhalten oder zu beenden.

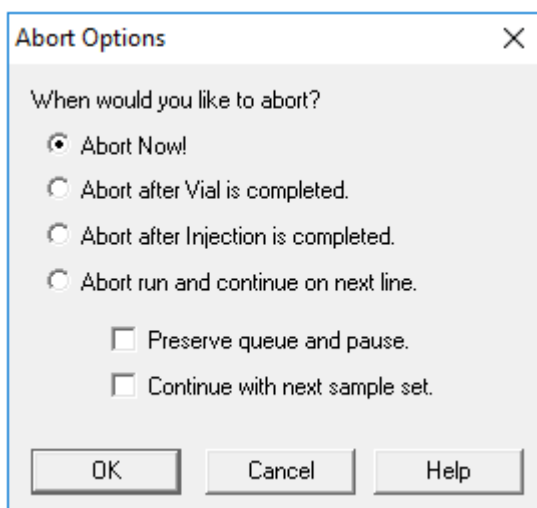
Hinweis: Die meisten Teilfenster der Waters Empower™-Software sind für die Chromatographie konzipiert. Verwenden Sie die folgenden Schritte, um den Fortschritt der Trennung durch Kapillarelektrophorese zu überwachen und ignorieren Sie die Informationen in den Fenstern „Time Remaining“ und „Solvent Required“.

1. Wenn ein Problem festgestellt wird, klicken Sie auf  (**Abort**), um den Durchlauf zu beenden.
-

VORSICHT: Möglicher Datenverlust. Beenden Sie den Durchlauf erst, wenn alle Daten gespeichert wurden. Die Daten wurden gespeichert, wenn die Probensatzmethode sich in der nächsten Zeile befindet.

Hinweis: Verwenden Sie nicht die Schaltfläche **Stop** im Teilfenster „Direct Control“. Diese Schaltfläche funktioniert nur bei Funktionen, die über das Teilfenster „Direct Control“ eingeleitet werden.

Abbildung 8-12: Dialogfeld „Abort Options“



Proben mit der Waters Empower™-Software durchlaufen lassen

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Wird der Durchlauf gestoppt und nicht fortgesetzt, dann verwenden Sie die Ausschaltmethode, um die Kapillaren vor der Lagerung der Kartusche zu spülen. Werden die Kapillaren nicht gespült, können sich Elektrolytsalzkristalle oder -präzipitat bilden und zu verstopften Kapillaren, fehlerhafter Druckabdichtung, Fehlern beim Injizieren der Proben, Funkenüberschlag oder Leckstrom führen.

VORSICHT: Mögliche Schäden am System. Bevor Sie den Durchlauf erneut starten, achten Sie darauf, die Auslassplatte zu entleeren oder auszutauschen, um ein Überlaufen von Reagenz und mögliche Schäden am Gerät zu vermeiden.

VORSICHT: Potenziell falsches Ergebnis. Bevor Sie den Durchlauf erneut starten, bereiten Sie neue Reagenzplatten vor. Wenn der Durchlauf gestoppt wurde, dann sind möglicherweise nicht genug Reagenzien verfügbar, um den Durchlauf abzuschließen.

VORSICHT: Potenziell falsches Ergebnis. Bevor Sie den Durchlauf erneut starten, werfen Sie die Proben, wenn diese sich länger als 24 Stunden im System befanden. Die Proben könnten eine verminderte Qualität aufweisen.

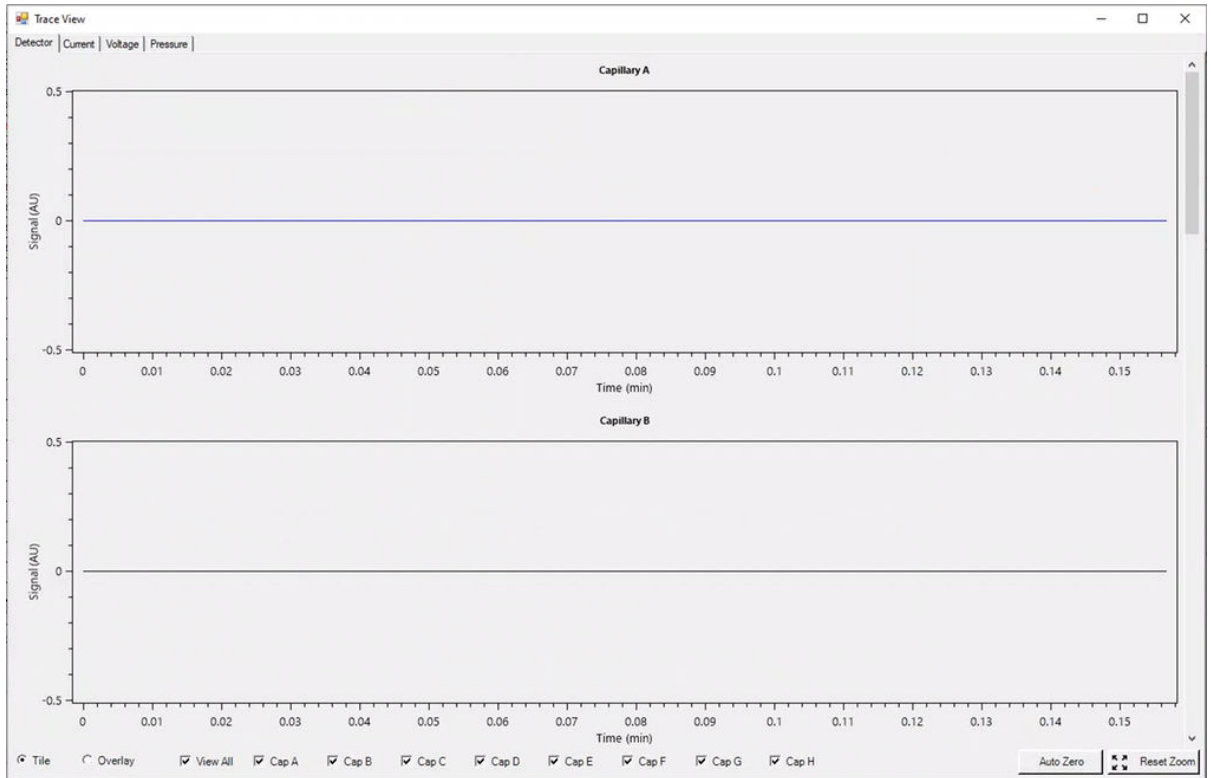
Wenn der Durchlauf beendet ist, ist der Text in allen Zeilen des Fensters „Sample Set Method“ rot.

2. Um die Daten während der Erfassung anzuzeigen, klicken Sie im Teilfenster „Direct

Control“ auf  (Monitor).

Das Fenster „Trace View“ wird geöffnet, und die Daten werden angezeigt.

Abbildung 8-13: Fenster „Trace View“



3. Gehen Sie bei Bedarf folgendermaßen vor:

- Um Strom, Spannung oder Druck anzuzeigen, öffnen Sie oben links die entsprechende Registerkarte.
- Um ein Diagramm mit den Daten für alle Kapillaren anzuzeigen, klicken Sie unten links auf **Overlay**.
- Um Daten für bestimmte Kapillaren anzuzeigen, aktivieren oder deaktivieren Sie die Kontrollkästchen unten im Fenster, um die interessierenden Kapillaren auszuwählen.
- Um die Zeit- und Detektorwerte für einen beliebigen Punkt auf einer Kurve anzuzeigen, klicken Sie auf der Kurve auf die interessierende Position.
- Um Daten vergrößert darzustellen, vergewissern Sie sich, dass **Overlay** ausgewählt ist, und ziehen Sie dann, um den zu vergrößernden Bereich auszuwählen. Das Bildlaufrad der Maus kann auch zum Zoomen verwendet werden.
- Um die Daten auf die ursprünglichen Abmessungen zurückzusetzen, klicken Sie unten rechts auf **Reset Zoom**.
- Um einen anderen Bereich eines gezoomten Diagramms anzuzeigen, klicken Sie mit der rechten Maustaste auf die X- oder Y-Achse und ziehen Sie dann.

4. Klicken Sie bei Bedarf unten rechts auf **Auto Zero**.
Das Detektorsignal wird auf Null gesetzt.

5. Warten Sie, bis die Schaltfläche **Abort** (🔴) von rot auf grün wechselt (🟢).

Proben mit der Waters Empower™-Software durchlaufen lassen

Es kann eine Verzögerung zwischen der Datenerfassung und der Speicherung aller Daten geben. Die grüne Schaltfläche zeigt an, wenn alle Daten gespeichert sind.

6. Entsorgen Sie die Proben und Reagenzien nach Bedarf. Siehe Abschnitt: [Abfallentsorgung](#).
7. Lagern Sie bei Bedarf die Kartusche ein. Siehe Abschnitt: [Kartusche nach dem Durchlauf lagern](#).

Nach Abschluss jeder Korrekturmaßnahme sollte erneut eine Analyse durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass das Symptom korrigiert wurde.

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
Fehler: Kartusche nicht erkannt	<ol style="list-style-type: none"> 1. Der ID-Chip auf der Kartusche ist nicht sauber. 2. Die Kontaktstifte des Systems sind nicht sauber. 3. Die Firmware des BioPhase 8800-Systems ist nicht auf dem neuesten Stand. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Befeuchten Sie ein fusselfreies Labortuch oder Wattestäbchen mit Ethanol oder Isopropanol und wischen Sie dann die Oberfläche des ID-Chips ab. Lassen Sie den ID-Chip an der Luft trocknen, bevor Sie die Kartusche einbauen. 2. Befeuchten Sie ein fusselfreies Labortuch oder Wattestäbchen mit Ethanol oder Isopropanol und wischen Sie dann die Kontaktstifte ab. Lassen Sie die Stifte an der Luft trocknen, bevor Sie die Kartusche einbauen. 3. Gehen Sie folgendermaßen vor: <ol style="list-style-type: none"> a. Berühren Sie auf der Vorderseite des BioPhase 8800-Systems das Symbol in der oberen linken Ecke. b. Erfassen Sie die Firmware-Version. c. Wenden Sie sich an den sciex.com/request-support.

Fehlersuche

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
Fehler zu Beginn des Durchlaufs aufgetreten	<ol style="list-style-type: none">1. Die optische Abtastung zu Beginn des Durchlaufs ist aufgrund von Kondensation auf dem Kartuschenfenster fehlgeschlagen.2. Das Öffnen und Schließen der Optik hat einen Sensorfehler verursacht.	<ol style="list-style-type: none">1. Erhöhen Sie bei der Ausschaltmethode die Sample Storage-Temperatur auf 20 °C, um Kondensation zu vermeiden.2. Schalten Sie das BioPhase 8800-System aus und dann wieder ein. Achten Sie darauf, dass Sie das Verfahren zum Wechseln der UV-Filter befolgen und öffnen Sie die Optikklappe nur nach Anweisung. Siehe Abschnitt: „UV-Filter installieren“ im Dokument: <i>Benutzerhandbuch</i>.

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
Breite Spitzen, schlechte Auflösung	<ol style="list-style-type: none"> 1. Das Kapillarende ist beschädigt. 2. Die Probenkonzentration ist zu hoch. 3. Die Kapillare sind verstopft. 4. Die interne Oberfläche des Kapillarende ist kontaminiert. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. So beurteilen Sie den Zustand des Kapillarendes: <ul style="list-style-type: none"> • Verwenden Sie eine Lupe, um es zu untersuchen. • Verwenden Sie ein fusselfreies Labortuch, um die Kapillareingänge vorsichtig nach außen hin zu reinigen. • Stellen Sie sicher, dass das Kapillarende etwa 2 mm über die goldene Kanülenelektrode hinausragt. • Stellen Sie sicher, dass das Kapillarende gerade abgeschnitten ist. Wenn die Kapillare nicht verwendet werden kann, lesen Sie den Abschnitt: Optionen für verstopfte oder beschädigte Kapillare. 2. Gehen Sie wie folgt vor: <ul style="list-style-type: none"> • Verringern Sie die Duration in der Aktion Inject in der Trennmethode, um weniger Probe zu injizieren. Sind die Ergebnisse nicht zufriedenstellend, senken Sie Pressure oder Voltage. • Verdünnen Sie die Probe erneut mit dem Probenverdünner. 3. Siehe Abschnitt: Optionen für verstopfte oder beschädigte Kapillare. 4. Bearbeiten Sie entweder die Sequenz, um die kontaminierte Kapillare auszulassen, oder tauschen Sie die Kartusche aus.

Fehlersuche

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
Verschleppung	<ol style="list-style-type: none"> 1. Die Probenkonzentration ist zu hoch. 2. Die Reagenzplatte ist mit der Probe kontaminiert. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gehen Sie wie folgt vor: <ul style="list-style-type: none"> • Verringern Sie die Duration in der Aktion Inject in der Trennmethode, um weniger Probe zu injizieren. Sind die Ergebnisse nicht zufriedenstellend, senken Sie Pressure oder Voltage. • Verdünnen Sie die Probe erneut mit dem Probenverdünner. 2. Fügen Sie bei der Trennmethode einen oder mehrere Wassereintauchschritte nach der Probeninjektion durch. Mit der bearbeiteten Methode: <ol style="list-style-type: none"> a. Erstellen Sie eine neue Sequenz, die diese Trennmethode verwendet. b. Bereiten Sie neue Reagenzplatten für die neue Sequenz vor. Siehe Abschnitt: Reagenzeinlass- und Auslassplatten laden.
Starker Strom	<ol style="list-style-type: none"> 1. Der Gelpuffer ist kontaminiert. 2. Die Positionen der Reagenzien auf der Reagenzplatte stimmen nicht mit den Plattenlayouts in der Sequenz überein. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bereiten Sie die Einlass- und Auslassreagenzplatten erneut vor, um den Gelpuffer auszutauschen. 2. Stellen Sie sicher, dass die Positionen der Reagenzien in den Reagenzplatten mit den Plattenlayouts übereinstimmen. Wenn die Positionen nicht korrekt sind, bereiten Sie die Platten erneut entsprechend dem Plattenlayout vor. Siehe Abschnitt: Plattenlayouts.

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
Geringer oder instabiler Strom	<ol style="list-style-type: none"> Das Kapillarende ist verstopft oder kontaminiert. Im Gelpuffer befinden sich Luftblasen. 	<ol style="list-style-type: none"> Siehe Abschnitt: Blockade aus einer Kapillaren entfernen. Ist der Strom zu gering oder instabil, tauschen Sie die Kartusche aus. Gehen Sie wie folgt vor: <ul style="list-style-type: none"> Drehen Sie die Platte mit einer Zentrifuge 5 Minuten lang bei 30 g, um Luftblasen zu entfernen. Entlüften Sie den Gelpuffer für 5 min bei 5 Zoll Hg bis 15 Zoll Hg Vakuum.
Fehlende Spitzen in der Elektropherogramprobe	<ol style="list-style-type: none"> Ein Pipettierfehler ist während der Vorbereitung der Probe. Die Methodenparameter sind nicht korrekt. Die Positionen der Reagenzien auf der Reagenzplatte stimmen nicht mit den Plattenlayouts in der Sequenz überein. 	<ol style="list-style-type: none"> Bereiten Sie eine neue Probe vor. Gehen Sie folgendermaßen vor: <ul style="list-style-type: none"> Stellen Sie in „Method Settings“ sicher, dass der Wert für Detector Type korrekt ist. Stellen Sie bei der Trennmethode sicher, dass die Werte für Type of Injection und Duration korrekt sind. Bei der Trennmethode ist darauf zu achten, dass der Wert für Wavelength 220 nm beträgt. Stellen Sie sicher, dass die Positionen der Proben auf der Probenplatte mit den Plattenlayouts übereinstimmen. Wenn die Positionen nicht korrekt sind, bereiten Sie die Platten erneut entsprechend dem Plattenlayout vor. Siehe Abschnitt: Reagenzien, Plattenlayouts und Methoden.

Fehlersuche

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
Kein elektrischer Strom während der Trennung	<ol style="list-style-type: none">1. Die Kapillare ist beschädigt.2. Die Elektrode ist gebrochen oder verbogen.3. Das Kapillarende ist verstopft oder kontaminiert.4. Die Positionen der Reagenzien auf der Reagenzplatte stimmen nicht mit den Plattenlayouts in der Sequenz überein.5. Eine Kapillare ist mit Luftblasen gefüllt.	<ol style="list-style-type: none">1. Siehe Abschnitt: Optionen für verstopfte oder beschädigte Kapillare.2. Tauschen Sie die Kartusche aus.3. Siehe Abschnitt: Blockade aus einer Kapillaren entfernen.4. Stellen Sie sicher, dass die Positionen der Proben und Reagenzien in den Platten mit den Plattenlayouts übereinstimmen. Wenn die Positionen nicht korrekt sind, bereiten Sie die Platten erneut entsprechend dem Plattenlayout vor. Siehe Abschnitt: Plattenlayouts.5. Gehen Sie wie folgt vor:<ul style="list-style-type: none">• Stellen Sie sicher, dass die Wells der Probe und die Reagenzplatten ausreichend mit Lösung gefüllt sind.• Stellen Sie sicher, dass die Positionen der Reagenzien in den Reagenzplatten mit den Plattenlayouts übereinstimmen. Wenn die Positionen nicht korrekt sind, bereiten Sie die Platten erneut entsprechend dem Plattenlayout vor. Siehe Abschnitt: Plattenlayouts.• Drehen Sie die Platte mit einer Zentrifuge 5 Minuten lang bei 30 g, um Luftblasen zu entfernen.

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
Keine Peaks	<ol style="list-style-type: none"> 1. Die Lebensdauer der UV-Lampe wurde übertroffen. 2. Die Methodenparameter sind nicht korrekt. 3. Luftblasen in einem Probenwell verhindern die Probeninjektion. 4. Das Kapillarfenster ist verstopft. 5. Das Kapillarende ist verstopft oder kontaminiert. 6. Das Probenvolumen ist zu niedrig. 7. Es ist keine Probe im Probenwell oder die Position der Probe auf der Probenplatte stimmt nicht mit den Plattenlayouts in der Sequenz überein. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Siehe Abschnitt: „UV-Lampe installieren“ im Dokument: <i>Benutzerhandbuch</i>. 2. Gehen Sie folgendermaßen vor: <ul style="list-style-type: none"> • Stellen Sie in „Method Settings“ sicher, dass der Wert für Detector Type UV lautet. • Stellen Sie bei den Aktionen Inject und Separate sicher, dass der Wert für Polarity Reverse ist. • Bei der Trennmethode ist darauf zu achten, dass der Wert für Wavelength 220 nm beträgt. • Stellen Sie sicher, dass am Einlass und Auslass während der Trennung Druck angewendet wird. 3. Drehen Sie die Platte mit einer Zentrifuge 5 Minuten lang bei 30 g, um Luftblasen zu entfernen. 4. Überprüfen Sie das Kapillarfenster. Stellen Sie sicher, dass das Fenster sauber und der Weg frei ist. Siehe Abschnitt: Kapillarkartusche untersuchen. 5. Siehe Abschnitt: Optionen für verstopfte oder beschädigte Kapillare. Zustand der Kapillare. Siehe Abschnitt: Kapillaren konditionieren. 6. Stellen Sie sicher, dass sich 100 µL der Probe im Probenwell befinden.

Symptom	Mögliche Ursache	Fehlerbehebung
		7. Stellen Sie sicher, dass die Position der Proben auf der Probenplatte mit dem Plattenlayout übereinstimmen. Siehe Abschnitt: Plattenlayouts .
Spitzen im Elektropherogramm	1. Im Gelpuffer befinden sich Luftblasen.	1. Gehen Sie wie folgt vor: <ul style="list-style-type: none"> • Drehen Sie die Platte mit einer Zentrifuge 5 Minuten lang bei 30 g, um Luftblasen zu entfernen. • Entlüften Sie den Gelpuffer für 5 min bei 5 Zoll Hg bis 15 Zoll Hg Vakuum.

Blockade aus einer Kapillaren entfernen

1. Spülen Sie die Kapillare mit CE Grade Water 10 Minuten lang mit 75 psi aus.
2. Verwenden Sie CE Grade Water, um die Kapillareinläufe zu reinigen.
3. Verwenden Sie ein fusselfreies Labortuch, um die Kapillareingänge vorsichtig nach außen hin zu reinigen.
4. Gehen Sie wie folgt vor, um den Zustand der Kapillare zu beurteilen:
 - a. Üben Sie direkte Kontrolle aus, um die Kapillare mit Trennungsgel zu füllen.
 - b. Geben Sie die Eingangs- und Ausgangskapillare in den Trennungspuffer im Reagenzträger.
 - c. Legen Sie die Trennspannung auf und überwachen Sie die Stabilität des Stroms.
5. Wird die Blockade nicht entfernt, dann bearbeiten Sie entweder die Sequenz, um die beschädigte Kapillare auszulassen, oder tauschen Sie die Kartusche aus.

Optionen für verstopfte oder beschädigte Kapillare

Wenn eine Verstopfung in einer Kapillare nicht entfernt werden kann oder eine Kapillare beschädigt ist, dann bearbeiten Sie die Sequenz, um die blockierte oder beschädigte Kapillare auszulassen. Siehe Abschnitt: [Sequenz erstellen](#).

Kapillaren konditionieren

- Konditionieren Sie bei Bedarf die Kapillaren mit der Methode CE-SDS Conditioning.

Angaben zu gefährlichen Substanzen

A

Folgende Angaben sind zu beachten und die notwendigen Sicherheitsmaßnahmen zu ergreifen. Weitere Informationen finden Sie in den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern. Die Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich oder können von unserer Website unter sciex.com/tech-regulatory heruntergeladen werden.

GefahrenEinstufung gemäß HCS 2012.

Acid Wash/Regenerating Solution (0,1 M HCl)



GEFAHR! Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

Capillary Regenerator Solution A Basic Wash (0,1 M NaOH)



GEFAHR! Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

CE-SDS Gel Buffer, pH 8, 0,2 % SDS



GEFAHR! Verursacht leichte Hautreizungen. Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder dem ungeborenen Kind schaden.

IgG Control Standard

WARNHINWEIS! Verursacht leichte Hautreizungen.

Low pH SDS Sample Buffer (100 mM Tris-HCL, pH 6,8, 1 % SDS)

WARNHINWEIS! Verursacht leichte Hautreizungen.

Andere Reagenzien

Diese Komponenten werden nicht als gefährlich eingestuft:

- CE Grade Water
- MW Size Standard
- SDS-MW Sample Buffer
- 10 kDa Internal Standard

Angaben zu gefährlichen Substanzen

Lesen Sie bei Reagenzien von anderen Händlern vor Gebrauch das Sicherheitsdatenblatt des anderen Händlers.

-
1. Liu, L. Y., Ratnayake, C. K., Chapman, J., Dontha, N., Choo, S., and Reddy, M.P., *Assay of IgG Purity and Heterogeneity using High-Resolution Sodium Dodecyl Sulfate Capillary Gel Electrophoresis*, SCIEX 2018
 2. Nunnally, B., Park, S.S., Patel, K., Hong, M., et. al., *Chromatographia*, volume 66, pp 955, 2007. "A Series of Collaborations between Various Pharmaceutical Companies and Regulatory Authorities Concerning the Analysis of Biomolecules Using Capillary Electrophoresis: Additional Instruments/Buffer."

Erforderliche Dateien herunterladen

C

Je nach verwendeter Software sind die Schritte unterschiedlich.

- Benutzer der BioPhase-Software lesen den Abschnitt: [Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren \(BioPhase-Software\)](#).
- Benutzer der Waters Empower™-Software lesen den Abschnitt: [Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren \(Waters Empower™-Software\)](#).

Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren (BioPhase-Software)

Dateien mit Methoden, Sequenzen, Reagenzien und Analyseparametern für das CE-SDS Protein Analysis-Kit sind unter sciex.com verfügbar. Befolgen Sie die folgenden Anweisungen, um die Dateien herunterzuladen, und kopieren Sie sie dann an den entsprechenden Speicherort.

Hinweis: Das folgende Verfahren ist nur erforderlich, wenn die BioPhase-Software Version 1.1 verwendet wird. Die erforderlichen Dateien für das CE-SDS Protein Analysis-Kit sind in der BioPhase-Software Version 1.2 oder höher enthalten.

1. Navigieren Sie zu sciex.com/software-support/software-downloads und klicken Sie dann auf **BioPhase Resources** im Abschnitt „More software downloads“.
2. Klicken Sie auf `BioPhase Project Files 1.2`.
3. Klicken Sie mit der rechten Maustaste im „File Explorer“ auf die Datei `BioPhase_1.2.zip` und klicken Sie danach auf **Extract All**, um das Installationspaket zu extrahieren.
4. Navigieren Sie zu einem Speicherort, klicken Sie auf **Select Folder** und dann auf **Extract**.
Die extrahierten Dateien werden in den ausgewählten Dateipfad kopiert.
5. Legen Sie die extrahierten Dateien in den richtigen Speicherorten ab. Gehen Sie folgendermaßen vor:

Hinweis: In den folgenden Anweisungen wird davon ausgegangen, dass sich die Projektordner der BioPhase-Software am Standard-Speicherort befinden: `C:\Biophase`. Wenn sich die Projektordner an einem anderen Speicherort befinden, legen Sie die extrahierten Dateien an diesem Speicherort ab.

- a. Ziehen Sie den Ordner `BioPhase_1.2\Projects\CE-SDS` auf `C:\Biophase\Projects`.

- b. Ziehen Sie den Ordner BioPhase_1.2\Reagents\CE-SDS auf C:\BioPhase\Reagents.
- c. Ziehen Sie den Ordner BioPhase_1.2\Data Analysis\CE-SDS auf C:\BioPhase\Data Analysis.

Erforderliche Dateien herunterladen und konfigurieren (Waters Empower™ -Software)

Die erforderlichen Dateien für das CE-SDS Protein Analysis-Kit sind unter sciex.com verfügbar. Befolgen Sie die folgenden Anweisungen, um die Dateien herunterzuladen, und kopieren Sie sie dann an den entsprechenden Speicherort.

1. Navigieren Sie zu sciex.com/software-support/software-downloads und klicken Sie dann im Abschnitt „More software downloads“ auf **BioPhase Driver Resources**.
2. Klicken Sie auf **BioPhase Method Files 1.3**.
3. Klicken Sie im „File Explorer“ mit der rechten Maustaste auf die Datei BioPhase-Empower-Method-Files-1.3.zip und dann auf **Extract All**.
4. Navigieren Sie zu dem Speicherort, an dem Sie die Methodendateien speichern möchten, klicken Sie auf **Select Folder** und dann auf **Extract**. Die extrahierten Dateien werden extrahiert und in den angegebenen Speicherort kopiert.

Reagenzien, Plattenlayouts und Methoden


D

Reagenziensatz

Wenn die Reagenzien nicht verfügbar sind, verwenden Sie die folgenden Abbildungen, um einen neuen Reagenziensatz zu erstellen. Siehe Abbildung: [Abbildung D-1](#) und [Abbildung D-2](#).

Abbildung D-1: CE-SDS Protein Analysis Kit Einlass-Reagenzien

Inlet Reagents from Reagent Set:











Name	Viscosity	Color
Basic Wash	0.89	 Blue
Acid Wash	0.89	 Red
CE-SDS Gel Buffer Rinse	80.00	 LawnGreen
CE-SDS Gel Buffer Sep	80.00	 Green
Water Rinse	0.89	 SkyBlue
Water Dip 1	0.89	 SkyBlue
Water Dip 2	0.89	 SkyBlue
Water Dip 3	0.89	 SkyBlue

Abbildung D-2: CE-SDS Protein Analysis Kit Auslass-Reagenzien

Outlet Reagents from Reagent Set:

Name	Viscosity	Color
Waste	0.89	 Black
CE-SDS Gel Buffer Sep	80.00	 Green
Water Dip	0.89	 SkyBlue
CE-SDS Gel Buffer Inj	0.89	 GreenYellow

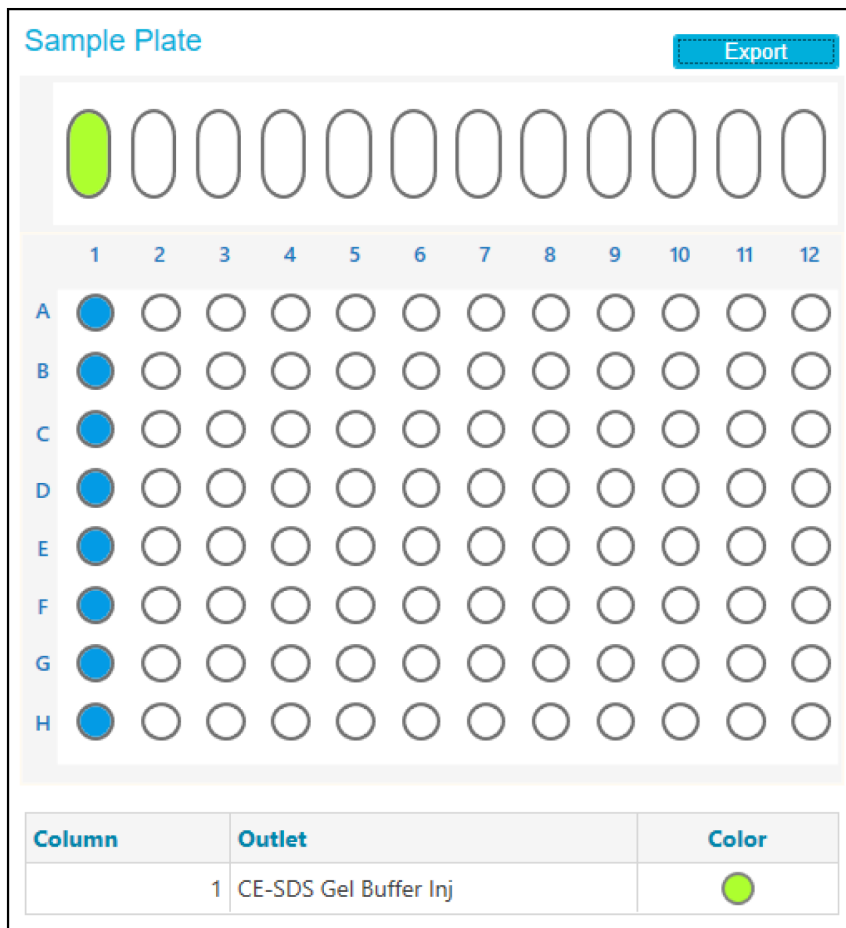
Plattenlayouts

Hinweis: Die folgenden Abbildungen zeigen die Plattenlayouts, die der Sequenz entsprechen, die der Software beiliegt. Die Plattenlayouts sind für alle Sequenzen gleich. Wenn zusätzliche Proben hinzugefügt wurden oder die Reagenzienpositionen bearbeitet wurden, dann sind die folgenden Layouts nicht korrekt.

Probenplatten

Hinweis: Die obere Reihe zeigt das Layout der Probenauslassplatte. Der untere Abschnitt zeigt das Layout der Probeneinlassplatte.

Abbildung D-3: Layouts für die Probeneinlassplatte und die Probenauslassplatte

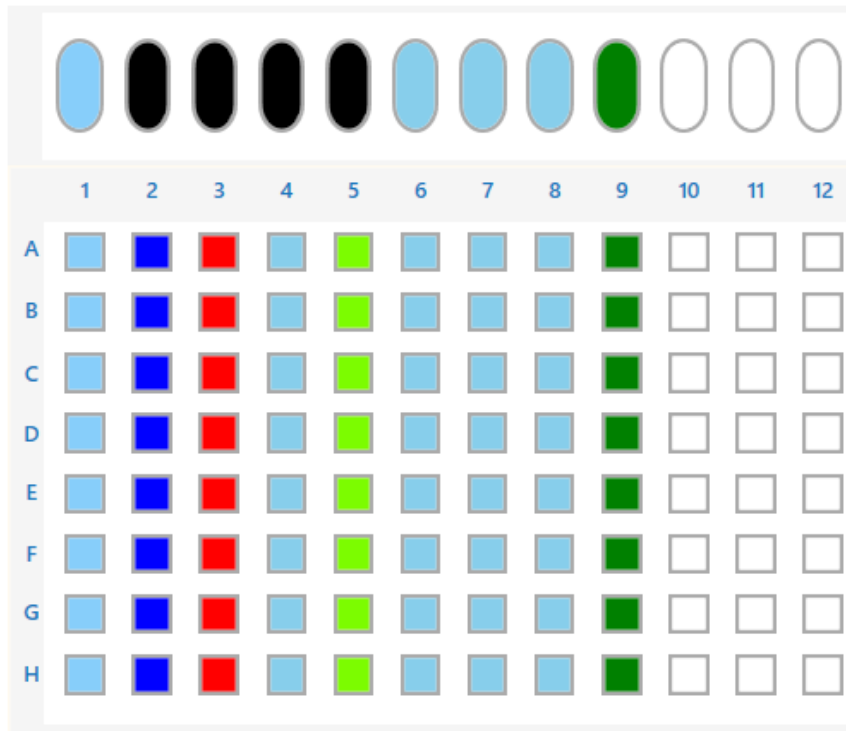


Reagenzplatten

Hinweis: Die obere Reihe zeigt das Layout der Reagenzauslassplatte. Der untere Abschnitt zeigt das Layout der Reagenzeinlassplatte.

Abbildung D-4: Layouts für die Reagenzeinlassplatte und die Reagenzauslassplatte

Reagent Plate



Column	Inlet	Color	Outlet	Color
1	Capillary Protect		Capillary Protect	
2	Basic Wash		Waste	
3	Acid Wash		Waste	
4	Water Rinse		Waste	
5	CE-SDS Gel Buffer Rinse		Waste	
6	Water Dip 1		Water Dip	
7	Water Dip 2		Water Dip	
8	Water Dip 3		Water Dip	
9	CE-SDS Gel Buffer Sep		CE-SDS Gel Buffer Sep	

Methoden

Informationen für die Erstellung einer Methode finden Sie im Dokument: *Software Hilfesystem*.

Methodeneinstellung

Hinweis: Verwenden Sie diese Einstellungen für alle Methoden.

Abbildung D-5: Methodeneinstellungen für die Methode CE-SDS Protein Analysis

Temperature		Detector Type	
Capillary Cartridge	<input type="text" value="25.0"/> °C <input checked="" type="checkbox"/> Wait	<input checked="" type="radio"/> UV	Wavelength <input type="text" value="220"/> nm
Sample Storage	<input type="text" value="25.0"/> °C <input checked="" type="checkbox"/> Wait	<input checked="" type="checkbox"/> Wait	
Cartridge Settings		<input type="radio"/> LIF	Emission Wavelength <input type="text" value="520"/> nm
Capillary Length	<input type="text" value="30.0"/> cm	<input type="checkbox"/> Wait	PMT Gain <input type="text" value="100"/>
Capillary Type	<input type="text" value="Bare Fused Silica"/>	<input type="radio"/> No Detector	
Current Limits		Data	
<input checked="" type="checkbox"/> Enable current limiting when using voltage		Data Collection Rate	<input type="text" value="2"/> Hz
Maximum Current	<input type="text" value="300"/> µA	Peak Width @ 50% Height	<input type="text" value="4"/> sec









Konditionierungsmethode

Abbildung D-6: Maßnahmen bei der Methode CE-SDS Conditioning



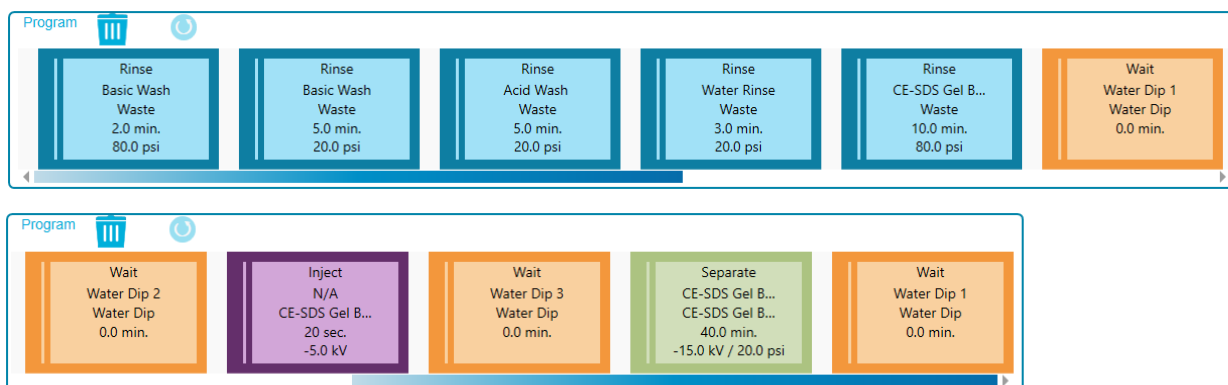
Abbildung D-7: Übersicht über die Maßnahmen bei der Methode CE-SDS Conditioning

Method Duration: 37.0 min. Number of Actions: 7

	Settings	Capillary Cartridge: 25.0 °C, Wait Capillary Length: 30.0 cm Capillary Type: Bare Fused Silica Current Limit: 300 µA , Enabled	Sample Storage: 25.0 °C, Wait Detector Type: UV, 220 nm, Wait Peak Width: 4 sec. Data Rate: 2 Hz
	Rinse	Duration: 2.0 min. 70.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 8.0 min. 20.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Acid Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 2.0 min. 20.0 psi	Inlet: Water Rinse Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 10.0 min. 80.0 psi	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Rinse Outlet: Waste
	Separate	Duration: 10.0 min. -15.0 kV, 20.0 psi, Both Ramp Time: 5.0 min. Autozero: 5.0 min.	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Sep Outlet: CE-SDS Gel Buffer Sep
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip

Trennmethode für nicht reduzierte Proben













Abbildung D-8: Maßnahmen bei der Methode Non Reduced CE-SDS Separation



Reagenzien, Plattenlayouts und Methoden

Abbildung D-9: Übersicht über die Maßnahmen bei der Methode Non Reduced CE-SDS Separation

Method Duration: 65.3 min. Number of Actions: 11

	Settings	Capillary Cartridge: 25.0 °C, Wait Capillary Length: 30.0 cm Capillary Type: Bare Fused Silica Current Limit: 300 µA, Enabled	Sample Storage: 25.0 °C, Wait Detector Type: UV, 220 nm, Wait Peak Width: 4 sec. Data Rate: 2 Hz
	Rinse	Duration: 2.0 min. 80.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Acid Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 3.0 min. 20.0 psi	Inlet: Water Rinse Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 10.0 min. 80.0 psi	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Rin... Outlet: Waste
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 2 Outlet: Water Dip
	Inject	Duration: 20 sec. -5.0 kV	Plate: Sample Outlet: CE-SDS Gel Buffer Inj
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 3 Outlet: Water Dip
	Separate	Duration: 40.0 min. -15.0 kV, 20.0 psi, Both Ramp Time: 1.0 min. Autozero: 5.0 min.	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Sep Outlet: CE-SDS Gel Buffer Sep
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip

Trennmethode für reduzierte Proben

Abbildung D-10: Maßnahmen bei der Reduced CE-SDS Separation Methode

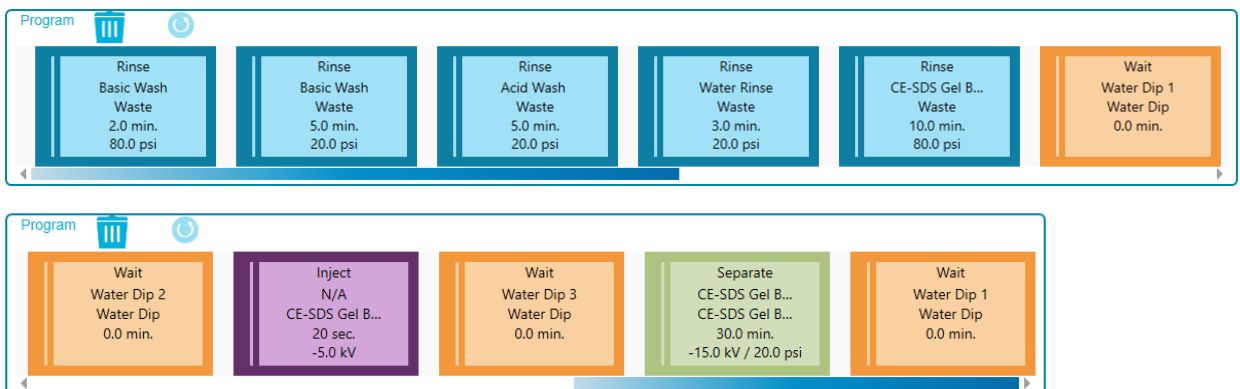














Abbildung D-11: Übersicht über die Maßnahmen bei der Methode Reduced CE-SDS Separation

Method Duration: 55.3 min. Number of Actions: 11

	Settings	Capillary Cartridge: 25.0 °C, Wait Capillary Length: 30.0 cm Capillary Type: Bare Fused Silica Current Limit: 300 µA , Enabled	Sample Storage: 25.0 °C, Wait Detector Type: UV, 220 nm, Wait Peak Width: 4 sec. Data Rate: 2 Hz
	Rinse	Duration: 2.0 min. 80.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Acid Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 3.0 min. 20.0 psi	Inlet: Water Rinse Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 10.0 min. 80.0 psi	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Rin... Outlet: Waste
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 2 Outlet: Water Dip
	Inject	Duration: 20 sec. -5.0 kV	Plate: Sample Outlet: CE-SDS Gel Buffer Inj
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 3 Outlet: Water Dip
	Separate	Duration: 30.0 min. -15.0 kV, 20.0 psi, Both Ramp Time: 1.0 min. Autozero: 5.0 min.	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Sep Outlet: CE-SDS Gel Buffer Sep
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip














Trennmethode für Proben, die in Low pH Sampl Buffer vorbereitet wurden

Abbildung D-12: Maßnahmen bei der Methode Low pH Sample Buffer Separation



Abbildung D-13: Übersicht über die Maßnahmen bei der Methode Low pH Sample Buffer Separation

Method Duration: 61.5 min. Number of Actions: 12

	Settings	Capillary Cartridge: 25.0 °C, Wait Capillary Length: 30.0 cm Capillary Type: Bare Fused Silica Current Limit: 300 µA , Enabled	Sample Storage: 25.0 °C, Wait Detector Type: UV, 220 nm, Wait Peak Width: 4 sec. Data Rate: 2 Hz
	Rinse	Duration: 2.0 min. 80.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Acid Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 3.0 min. 20.0 psi	Inlet: Water Rinse Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 10.0 min. 80.0 psi	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Rin... Outlet: Waste
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip
	Rinse	Duration: 0.5 min. 5.0 psi	Inlet: Water Rinse Outlet: Waste
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 2 Outlet: Water Dip
	Inject	Duration: 65 sec. 5.0 psi	Plate: Sample Outlet: CE-SDS Gel Buffer Inj
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 3 Outlet: Water Dip
	Separate	Duration: 35.0 min. -15.0 kV, 20.0 psi, Both Ramp Time: 1.0 min. Autozero: 5.0 min.	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Sep Outlet: CE-SDS Gel Buffer Sep
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip

Ausschaltmethode

Abbildung D-14: Maßnahmen bei der Methode CE-SDS Shutdown

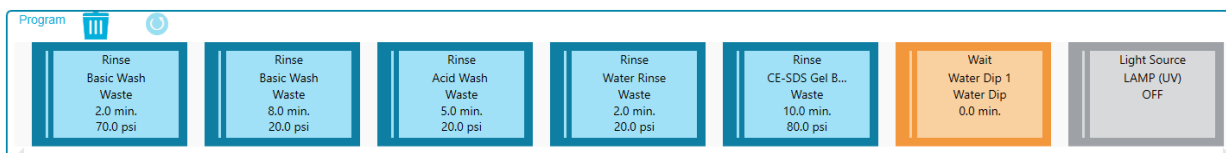










Abbildung D-15: Übersicht über die Maßnahmen bei der Methode CE-SDS Shutdown

Method Duration: 37.0 min. Number of Actions: 7

	Settings	Capillary Cartridge: 25.0 °C, Wait Capillary Length: 30.0 cm Capillary Type: Bare Fused Silica Current Limit: 300 µA , Enabled	Sample Storage: 25.0 °C, Wait Detector Type: UV, 220 nm, Wait Peak Width: 4 sec. Data Rate: 2 Hz
	Rinse	Duration: 2.0 min. 70.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 8.0 min. 20.0 psi	Inlet: Basic Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 5.0 min. 20.0 psi	Inlet: Acid Wash Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 2.0 min. 20.0 psi	Inlet: Water Rinse Outlet: Waste
	Rinse	Duration: 10.0 min. 80.0 psi	Inlet: CE-SDS Gel Buffer Rin... Outlet: Waste
	Wait	Duration: 0.0 min.	Inlet: Water Dip 1 Outlet: Water Dip
	UV Lamp	OFF	

Kontakt

Kundenschulung

- In Nordamerika: NA.CustomerTraining@sciex.com
- In Europa: Europe.CustomerTraining@sciex.com
- Die Kontaktinformationen für Länder außerhalb der EU und Nordamerikas finden Sie unter sciex.com/education.

Online-Lernzentrum

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

Kauf von Materialien und Reagenzien

Bestellen Sie SCIEX-Materialien und Reagenzien online unter store.sciex.com. Verwenden Sie zum Einrichten einer Bestellung die Kontonummer, die im Angebot, in der Auftragsbestätigung oder in den Versanddokumenten zu finden ist. Aktuell haben Kunden in den USA, dem Vereinigten Königreich und Deutschland Zugriff auf den Online Store. Der Zugriff wird in Zukunft jedoch auch in anderen Ländern möglich sein. Kunden in anderen Ländern wenden sich bitte an einen lokalen SCIEX-Vertreter.

SCIEX Support

SCIEX und seine Vertretungen beschäftigen weltweit einen Stab an ausgebildeten Servicekräften und technischen Spezialisten. Der Support kann Fragen zum System oder anderen auftretenden, technischen Problemen beantworten. Weitere Informationen finden Sie auf der SCIEX-Website unter sciex.com, oder kontaktieren Sie uns unter:

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

Cybersicherheit

Die aktuellsten Hinweise zur Cybersicherheit von SCIEX-Produkten finden Sie unter sciex.com/productsecurity.

Dokumentation

Diese Version des Dokuments ersetzt alle vorherigen Versionen.

Um dieses Dokument elektronisch anzuzeigen, ist Adobe Acrobat Reader erforderlich. Die neueste Version finden Sie unter <https://get.adobe.com/reader>.

Kontakt

Softwareprodukt dokumentationen entnehmen Sie den Versionshinweisen oder dem mit der Software mitgelieferten Software-Installationshandbuch.

Informationen zur Hardware-Produkt dokumentation finden Sie in der mit dem System oder der Komponente gelieferten Dokumentation.

Die neuesten Versionen der Dokumentationen sind auf der Website von SCIEX unter sciex.com/customer-documents verfügbar.

Hinweis: Wenn Sie eine kostenlose gedruckte Ausgabe dieses Dokuments wünschen, wenden Sie sich bitte an sciex.com/contact-us.
