
CE-SDS Protein Analysis キット

BioPhase 8800 システム用

アプリケーションガイド

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

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

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

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

研究専用。診断手順には使用しないでください。

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

AB Sciex™ はライセンスの下で使用されています。

国内外の部品を使用した米国製品です。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

EC 認定者 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

目次

1 CE-SDS Protein Analysis キット	6
安全性.....	6
使用目的.....	6
はじめに.....	6
ワークフロー.....	6
2 必要装置および材料	8
保管条件.....	9
顧客が用意する装置および材料.....	9
必要な検出器.....	10
必要なカートリッジ.....	10
3 メソッドとシーケンス	11
シーケンスの作成.....	11
4 サンプルの調製	15
標準の調製.....	15
還元 MW Size Standard の調製.....	15
IgG Control Standard の調製.....	15
サンプルの調製.....	17
推奨タンパク質濃度.....	17
還元サンプルの調製.....	17
非還元サンプルの調製.....	18
タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施.....	19
低 pH サンプル緩衝液の使用.....	19
5 BioPhase 8800 システム用の準備	21
試薬のインレットとアウトレットのプレートを設定.....	21
サンプルのインレットとアウトレットのプレートを設定.....	22
キャピラリーカートリッジの検査.....	24
カートリッジの取り付け.....	25
6 サンプルを実行する	28
フロントパネルからシーケンスを開始.....	28
BioPhase 8800 フロントパネルで実行のモニタ.....	29
廃棄物処理.....	37
実行後にカートリッジを保管.....	37
カートリッジの保管期間は 3 日未満.....	37
カートリッジを 3 日以上保管.....	37
保管後のカートリッジを準備.....	37

目次

7 データの分析	38
分析パラメータファイルによるデータの分析.....	38
結果の確認.....	40
Overlay タブの Results を確認.....	42
合格基準作成のためのガイダンス.....	45
MW Size Standard を使用して分子量を推定.....	45
外部マーカーを用いたキャリブレーションカーブの作成.....	45
8 Waters Empower™ ソフトウェアでサンプルを実行	47
BioPhase のソフトウェアメソッドをインポートして装置メソッドを作成.....	47
でサンプルセットメソッドを作成.....	50
サンプルセットメソッドを開始.....	52
Waters Empower™ ソフトウェアで実行をモニタ.....	57
9 トラブルシューティング	60
キャピラリー内の詰まりを取り除く.....	66
キャピラリーが詰まった、または損傷した場合のオプション.....	66
キャピラリーの調整.....	66
A 有害物質情報	67
B 参考資料	68
C 必要なファイルのダウンロード	69
必要なファイルをダウンロードして構成 (BioPhase ソフトウェア).....	69
必要なファイルをダウンロードして設定 (Waters Empower™ ソフトウェア).....	70
D 試薬、プレートのレイアウト、メソッド	71
試薬セット.....	71
プレートのレイアウト.....	72
メソッド.....	75
メソッド設定.....	75
コンディショニングメソッド.....	75
非還元サンプルの分離メソッド.....	76
還元サンプルの分離メソッド.....	77
低 pH サンプル緩衝液で調製したサンプルの分離メソッド.....	78
シャットダウンメソッド.....	79
お問い合わせ先	81
お客様のトレーニング.....	81
オンライン学習センター.....	81
消耗品と試薬の購入.....	81
SCIEX サポート.....	81
サイバーセキュリティ.....	81

ドキュメント.....81

CE-SDS Protein Analysis キットは、還元型および非還元型タンパク質をサイズ別に分離し、タンパク製剤に存在する可能性のある不均一性や不純物を定量するための試薬および消耗品を提供します。

本書では、CE-SDS Protein Analysis キットを用いたサンプル調製法について説明します。また、BioPhase ソフトウェアおよび Waters Empower™ ソフトウェアを使用した BioPhase 8800 driver for Empower™ によるデータ取得の手順も説明します。このドキュメントには、BioPhase ソフトウェアで取得したデータの分析手順も記載されています。Waters Empower™ ソフトウェアで取得したデータの分析は、Waters Empower™ ソフトウェアを使用して行う必要があります。

このアプリケーションガイドの情報は、出発点としてご利用ください。必要に応じて、注入時間、電圧、注入タイプ、その他のパラメータを変更し、最適な条件を探し出してください。

注: システムを安全に使用する手順については、次のドキュメントを参照: [オペレータガイド](#)。

安全性

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

使用目的

CE-SDS Protein Analysis は、ラボ専用です。

はじめに

CE-SDS Protein Analysis キットには、還元型と非還元型のタンパク質をサイズ別に分離し、タンパク質中に存在する可能性のある不均一性や不純物を定量するための試薬が含まれています。このメソッドでは、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) の存在下で特定の濃度のタンパク質を熱変性します。変性されたサンプルは、交換可能な SDS ポリマーマトリックスを含むキャピラリー内でサイズ別に分離されます。このマトリックスは、分離のためのふるい分け選択性を提供します。

ワークフロー

ワークフローは次のステップで構成されています。

1. 分析するサンプル数、複製数を決定します。
2. BioPhase software users の場合:
 - a. メソッドを作成または変更します。次のセクションを参照: [メソッド](#)。
 - b. シーケンスとサンプルおよび試薬プレートのレイアウトを作成します。次のセクションを参照: [シーケンスの作成](#)。

3. Waters Empower™ ソフトウェアのユーザーの場合:
 - a. BioPhase ソフトウェアメソッドをインポートします。次のセクションを参照: [BioPhase のソフトウェアメソッドをインポートして装置メソッドを作成](#)。
 - b. サンプルセットメソッドとサンプルおよび試薬プレートのレイアウトを作成します。次のセクションを参照: [でサンプルセットメソッドを作成](#)。
4. サンプルを調製します。次のセクションを参照: [サンプルの調製](#)。
ワークフローは、還元と非還元の 2 つに分かれています。
5. サンプルと試薬のプレートレイアウトを使用して、プレートを準備します。
6. BioPhase 8800 システムにプレートをセットします。次のセクションを参照: [サンプルのインレットとアウトレットのプレートをセット](#)および [試薬のインレットとアウトレットのプレートをセット](#)。
7. データ取得を開始します。
 - (BioPhase ソフトウェア) で前面パネルからシーケンスを開始します。次のセクションを参照: [サンプルを実行する](#)。
 - (Waters Empower™ ソフトウェア) BioPhase 8800 driver for Empower™ を使用して、Waters Empower™ ソフトウェアからサンプルセットメソッドを起動します。次のセクションを参照: [サンプルセットメソッドを開始](#)。
8. データを分析します。
 - (BioPhase ソフトウェア) シーケンスが終了したら、BioPhase Analysis ソフトウェアでデータを分析します。次のセクションを参照: [データの分析](#)。
 - (Waters Empower™ ソフトウェア) サンプルセットメソッドが完了したら、Waters Empower™ ソフトウェアでデータを分析します。データ分析の手順については、Waters Empower™ ソフトウェアガイドおよびヘルプファイルを参照してください。

必要装置および材料

2

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

表 2-1 : CE-SDS Protein Analysis キット(PN C30085)

コンポーネント	数量	再注文部品番号
10 kDa Internal Standard	2	A26487
Acid Wash/Regenerating Solution (100 mL)	1	該当なし
Capillary Regenerator Solution A Basic Wash (100 mL)	1	該当なし
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	該当なし

表 2-2 : SCIEX の追加材料

コンポーネント	数量	部品番号
オプション Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (40 mM リン酸塩、pH 6.5、1%SDS) (140 mL)	1	C57805
キャピラリーカートリッジクーラント (450 mL)	1	359976
IgG Control Standard (1 mg/mL) (1 mL)	3	391734
MW Size Standard (10 kDa、20 kDa、35 kDa、50 kDa、100 kDa、150 kDa、225 kDa のタンパク質を含むサイジンググラダー) (100 µL)	3	A22196
BioPhase 8800 ベアフェーズシリカキャピラリーカートリッジ (内径 50 µm × 30 cm キャピラリー)	1	5080121
BioPhase 8800 アウトレットプレート	20	5080315
BioPhase 8800 試薬プレート	20	5080314
BioPhase 8800 サンプルプレート	20	5080313
BioPhase 8800 スタータープレートパック (サンプルプレート × 4、試薬プレート × 4、アウトレットプレート × 8)	1	5080311

表 2-3 : 追加の必要な試薬または材料

説明	ベンダー	部品番号
(オプション) Ultracel-10 メンブレンを備えた Amicon Ultra-4 遠心フィルターユニット	MilliporeSigma	UFC801024
(オプション) Ultracel-10 メンブレンを備えた MicroCon-10 kDa 遠心フィルターユニット	MilliporeSigma	MRCPRT010
(オプション) Ultracel-30 メンブレンを備えた MicroCon-30 kDa 遠心フィルターユニット	MilliporeSigma	MRCF0R030
2-メルカプトエタノール	MilliporeSigma	M7154
ヨードアセトアミド	MilliporeSigma	I-1149
X-Pierce フィルム	USA Scientific	2997-0100

保管条件

注: 調製した試薬の保管条件については、調製手順を参照してください。

- 受領後、10 kDa Internal Standard を 2 °C ~ 8 °C で保管します。
- 残りのキットの内容は室温で保管してください。

顧客が用意する装置および材料

- パウダーフリー加工の手袋(ネオプレンまたはニトリル製のものを推奨)
- 安全メガネ
- ラボ用白衣
- 適切な遠心分離機
- マイクロ遠心分離機または同等品、および微小遠心分離機
- ボルテックスミキサー
- ピペットと適切なヒント。

試薬プレートの調製には、リピーターピペットまたはそれに相当するものをお勧めします。

- パラフィルム
- プレートを保持するスイングバケットローター付き遠心分離機
- 37 °C ~ 100 °C の温度に対応したウォーターバスまたはヒートブロック
- 分析バランス
- へら

必要な検出器

220 nm フィルター付きの UV 検出器が必要です。

必要なカートリッジ

注意: 結果が不正確になる可能性。カートリッジを CE-SDS Protein Analysis キットで使用している場合、同じカートリッジを他の用途に使用しないでください。異なる緩衝液とサンプルタイプを備えた同じカートリッジが使用されている場合、サンプルのキャリーオーバー、非特異的結合、および分離不良が発生する可能性があります。

BioPhase 8800 BFS キャピラリーカートリッジと内径 50 μm \times 30 cm のキャピラリーが必要です。

次の表を参照: [表 2-2](#)。

BioPhase ソフトウェアを使用するシステムの場合

注: 検証済みのメソッドとシーケンスがソフトウェアに含まれていない場合は、SCIEX Web サイトからダウンロードできます。次のセクションを参照: [必要なファイルをダウンロードして構成 \(BioPhase ソフトウェア\)](#)。メソッドとシーケンスは、BioPhase ソフトウェアを使用して手動で作成することもできます。次のセクションを参照: [メソッド](#)。

以下のメソッドとシーケンスが必要です。

- CE-SDS Conditioning: キャピラリーのコンディションを整えます。
- 分離メソッド:
 - 還元 CE-SDS 分離: 還元サンプルの場合。
 - 非還元 CE-SDS 分離: 非還元サンプルの場合。
 - 低 pH サンプル緩衝液分離: 低 pH のサンプル緩衝液で準備したサンプルの場合。
- CE-SDS シャットダウン: シーケンスの終了時にキャピラリーをクリーニングし、保管のためにキャピラリーをすすいだ後、ランプを消灯します。
- シーケンスのテンプレート:
 - 還元 CE-SDS 分離: 還元サンプルの場合。
 - 非還元 CE-SDS 分離: 非還元サンプルの場合。
 - 低 pH サンプル緩衝液分離: 低 pH のサンプル緩衝液で準備したサンプルの場合。

Waters Empower™ ソフトウェアの検証済みコンピュータの設定

BioPhase ソフトウェア メソッドをインポートして、必要な装置メソッドを作成します。

注: メソッドがソフトウェアに含まれていない場合は、SCIEX Web サイトからダウンロードできます。次のセクションを参照: [必要なファイルをダウンロードして設定 \(Waters Empower™ ソフトウェア\)](#)。メソッドは、Method Editors for BioPhase System ソフトウェアを使用して手動で作成することもできます。次のセクションを参照: [メソッド](#)。

シーケンスの作成

注: Waters Empower™ ソフトウェアを使用してデータを取得する場合、この手順は適用されません。次のセクションを参照: [でサンプルセットメソッドを作成](#)。

注: この手順は、BioPhase ソフトウェアに精通していることを前提としています。詳細な手順については、次のドキュメントを参照: [ソフトウェアヘルプシステム](#)。

メソッドとシーケンス

この手順では、BioPhase ソフトウェアに付属のテンプレートを使用して、シーケンスを作成する方法を説明します。テンプレートは最初のカラムの 8 サンプルに設定され、ソフトウェアに付属する検証済みのメソッドを使用します。

テンプレートを使用せずにシーケンスを作成することも可能です。多くの場合、シーケンスはコンディショニング メソッドで始まり、次に分離メソッド、そしてシャットダウン メソッドで終わる必要があります。シャットダウンメソッドをエラー回復メソッドとして割り当てる必要があります。次のドキュメントを参照: *Software Help System*。

注: シーケンスに反復サンプルが含まれる場合は、キャピラリー間の変動を減らすために、反復サンプルがサンプル プレートの同じ行にあることを確認してください。

1. BioPhase ソフトウェアの Home ページで、**Sequence Editor** をクリックします。
2. **Open Sequence** をクリックします。
Open a Sequence ダイアログが開きます。
3. 適切なシーケンスを検索し、選択します:
 - a. (オプション) 検索の **Start Date** と **End Date** を入力するか、カレンダー アイコンをクリックして日付を選択し、**Search** をクリックします。
利用可能なプロジェクトフォルダが、Folder Name ペインに表示されます。
 - b. **CE-SDS Project** プロジェクトフォルダをクリックします。
プロジェクトで利用可能なシーケンスは、右表のとおりです。
 - c. 表で、適切なシーケンステンプレートをクリックしてから、**Open** をクリックします。
 - 還元サンプルの場合は、**CE-SDS テストシーケンス**をクリックします。
 - 非還元サンプルの場合は、**非還元 CE-SDS シーケンス**をクリックします。
 - 低 pH のサンプル緩衝液で準備したサンプルの場合、**低 pH サンプル緩衝液 CE-SDS シーケンス**をクリックします。

Open a Sequence ダイアログが閉じ、Sequence Summary タブが開きます。
4. Sequence Summary ペインの上にある **Edit** をクリックします。
Sample Plate Setup タブが開きます。
5. 必要に応じて、次のいずれかを行います。
 - サンプルを追加または削除します。
 - サンプルウェルに割り当てられたメソッドをクリアします。
 - サンプルウェルに別のメソッドを割り当てます。
 - Sequence Summary 表で、シーケンスのメソッドに回復メソッドを割り当てます。通常は、シャットダウンメソッドを回復メソッドとして割り当てる必要があります。

詳細な手順については、次のドキュメントを参照: *Software Help System*。
6. 必要に応じて、Sequence Summary 表の情報を編集します。

注: メソッド名は各シーケンスで異なります。

図 3-1 : Sequence Summary 表:CE-SDS テストシーケンス

	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. 実行の詳細を表示するには、実行のある行の+をクリックします。

図 3-2 : 展開された Sequence Summary 表

	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"/>
		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. 必要に応じて、**Sample Id** 列と **Data File** 列の情報を変更します。
9. サンプルプレートと試薬プレートのレイアウトを表示するには、Plates Layout タブを開きます。必要に応じて、Reagent Plate 内の試薬の位置を編集します。
10. シーケンスを保存するには、**SAVE** をクリックし、必要な情報を追加します。

注: エラーが発生した場合、**SAVE** ボタンは有効になりません。Validation ペインのエラーをすべて解決し、**SAVE** をクリックします。

11. (オプション) サンプルプレートと試薬プレートのレイアウトを印刷するには、次を実行します:
- PRINT** をクリックします。
Print Preview ダイアログが開きます。
 - Plate Layout Report** をクリックし、**Print** をクリックします。

メソッドとシーケンス

- c. 印刷オプションを選択し、**OK** をクリックします。
レポートが印刷されます。
- d. 右上隅のクローズボックス、[×]をクリックします。
Print Preview ダイアログが閉じます。

タンパク質の還元状態と非還元状態の比較により、重要な構造情報が得られます。このセクションでは、還元および非還元の標準サンプルを調製するための手順を説明します。

標準の調製

分析の目的によっては、異なる標準が適している場合もあります。分析に適した標準を使用します。

還元 MW Size Standard の調製

この標準物質は、ジスルフィド結合によるタンパク質の凝集を防ぐため、還元条件下で調製されています。

注: 次の手順では、1 つのサンプルの数量を示します。

1. MW Size Standard を十分に混合し、バイアルを標準マイクロ遠心分離機で数秒間回転させます。
2. 0.5 mL のマイクロ遠心分離管に MW Size Standard を 10 μ L 加えます。
3. 85 μ L の SDS-MW Sample Buffer をマイクロ遠心分離管に加えます。
4. 2 μ L の 10 kDa Internal Standard をマイクロ遠心分離管に加えます。
5. 換気フード内のマイクロ遠心分離管に 5 μ L の 2-メルカプトエタノールを加えます。
6. バイアルキャップをパラフィルムで固定し、ボルテックスミキサーで十分に攪拌して、混合物を 70 °C のウォーターバスで 10 分間加熱します。
7. 遠心分離機を使用して、チューブを 300g で 1 分間回転させます。
8. バイアルをウォーターバスから取り出し、3 分間以上放置して溶液を室温に冷やします。
この標準物質は約 24 時間安定した状態を保ちます。
9. 調製した標準液を 100 μ L サンプルプレートウェルに加えます。
サンプルがあるサンプルプレート上のカラムについては、アウトレットプレート上の対応するカラムに 2.0 mL の CE-SDS Gel Buffer があることを確認します。
10. プレートにフィルムカバーを付け、遠心分離機を使用してサンプルプレートを 30 g で 4 分間回転させて、ウェルの底にある気泡を取り除きます。

IgG Control Standard の調製

免疫グロブリン製剤の分析には、SCIEX IgG Control Standard を標準として使用できます。この標準物質は、還元条件または非還元条件下で調製できます。

還元 IgG Control Standard の準備

注: 次の手順では、1 つのサンプルの数量を示します。

サンプルの調製

1. IgG Control Standard を準備します。
 - a. 初回の場合は、IgG Control Standard の 1 バイアルをフリーザーから取り出し、室温で完全に解凍します。
 - b. ボルテックスミキサーで数秒間軽く混合し、溶液を 95 μ L ずつ分注します。
 - c. 1 分割量を取り分け、残りの分割量を -35°C ~ -15°C で保存します。
2. IgG Control Standard の 95 μ L 分割量のうち 1 つを使用します。凍っている場合は室温で解凍してからご使用ください。
3. 10 kDa Internal Standard 2 μ L を IgG バイアルに加えます。
4. 換気フード内の IgG バイアルに 5 μ L の 2-メルカプトエタノールを加えます。
5. バイアルキャップでバイアルを固定し、ボルテックスミキサーで十分に攪拌します。
6. 遠心分離機を使用して、バイアルを 300g 使用 1 分間回転させます。
7. バイアルキャップをパラフィルムで固定し、混合物を 70°C のウォーターバスで 10 分間加熱します。
8. バイアルをウォーターバスから取り出し、3 分間以上放置して溶液を室温に冷やします。
9. 調製した標準液を 100 μ L サンプルプレートウェルに加えます。
10. プレートにフィルムカバーを付け、遠心分離機を使用してサンプルプレートを 30 g で 4 分間回転させて、ウェルの底にある気泡を取り除きます。

非還元 IgG Control Standard の調製

非還元 IgG Control Standard を調製する前に、250 mM のヨードアセトアミド (IAM) 溶液を調製します。次のセクションを参照：[250 mM Iodoacetamide Solution の調製](#)。

250 mM Iodoacetamide Solution の調製

1. ヨードアセトアミド (IAM) 46 mg を秤量し、1.5 mL マイクロ遠心分離機バイアルに加えます。
2. CE Grade Water 1 mL を加え、46 mg / mL の溶液にします。
3. バイアルをキャップで密封し、固形物が完全に溶けるまで混合します。
4. 使用しないときは、溶液を暗所に保管してください。
ヨードアセトアミド溶液は室温で約 24 時間安定します。

非還元 IgG Control Standard の調製

注: 次の手順では、1 つのサンプルの数量を示します。

1. IgG Control Standard を準備します。
 - a. 初回の場合は、IgG Control Standard の 1 バイアルをフリーザーから取り出し、室温で完全に解凍します。
 - b. ボルテックスミキサーで数秒間軽く混合し、溶液を 95 μ L ずつ分注します。
 - c. 1 分割量を取り分け、残りの分割量を -35°C ~ -15°C で保存します。

2. IgG Control Standard の 95 μ L 分割量のうち 1 つを使用します。凍っている場合は室温で解凍してからご使用ください。
3. 10 kDa Internal Standard 2 μ L を IgG Control Standard チューブに加えます。
4. 250 mM IAM 溶液を 5 μ L 加えます。
5. キャップでバイアルを固定し、ボルテックスミキサーで十分に攪拌します。
6. 遠心分離機を使用して、バイアルを 300g で 1 分間回転させます。
7. バイアルキャップをパラフィルムで固定し、混合物を 70 °C のウォーターバスで 10 分間加熱します。
8. バイアルをウォーターバスから取り出し、3 分間以上放置して溶液を室温に冷やします。
この標準物質は約 24 時間安定した状態を保ちます。
9. バイアル内の溶液を攪拌し、遠心分離機を使用して 300 g で 1 分間回転させます。
10. 調製した標準液を 100 μ L サンプルプレートに加えます。
サンプルがあるサンプルプレート上のカラムについては、アウトレットプレート上の対応するカラムに 2.0 mL の CE-SDS Gel Buffer があることを確認します。
11. プレートにフィルムカバーを付け、遠心分離機を使用してサンプルプレートを 30 g で 4 分間回転させて、ウェルの底にある気泡を取り除きます。

サンプルの調製

次の手順で、1 つのサンプルを作成します。

推奨タンパク質濃度

SDS-MW Sample Buffer を加えた後、総タンパク質濃度が 0.2 mg/mL から 2 mg/mL の間であることが必要です。最良の結果を得るため、タンパク質濃度は 1mg/mL が推奨されています。タンパク質濃度が高すぎると、SDS の結合が不十分となり、ピークがブロード化し、分解能が悪化することがあります。タンパク質濃度が低すぎる場合、信号レベルが低下する恐れがあります。

また、このアッセイのシグナル強度と分解能は、タンパク質サンプルの塩濃度に敏感に反応します。塩分濃度が高すぎる場合、信号レベルが低くなるか、ピークテーリングが発生する可能性が高くなります。[タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施](#)を参照してください。

還元サンプルの調製

注: 次の手順では、1 つのサンプルの数量を示します。

1. SDS-MW Sample Buffer でサンプルを 95 μ L の量に希釈して、最終タンパク質濃度を 0.2 mg/mL ~ 2 mg/mL にします。

注: SDS-MW Sample Buffer に 45 μ L を超えるサンプルを追加していないことを確認します。45 μ L 以下では足りない場合は、サンプルを緩衝液で希釈する前に濃縮してください。

2. 2 μ L の 10 kDa Internal Standard をサンプルのマイクロ遠心分離管に加えます。
3. 換気フード内で、マイクロ遠心分離管に 5 μ L の 2-メルカプトエタノールを加えます。

サンプルの調製

4. マイクロ遠心分離管のキャップを固定し、ボルテックスミキサーで十分に撹拌します。
5. 遠心分離機を使って、300 g で1 分間チューブを回転させます。
6. バイアルキャップをパラフィルムで密封し、70 °C で 10 分間加熱します。

注: タンパク質が高温で安定する場合は、代わりに 100 °C で 3 分間加熱することができます。

7. バイアルをウォーターバスから取り出し、3 分間以上放置して溶液を室温に冷やします。
8. サンプルチューブを撹拌し、遠心分離機を使用して 300 g で 1 分間回転させます。
9. 調製したサンプルを 100 µL サンプルプレートに加えます。
サンプルがあるサンプルプレート上のカラムについては、アウトレットプレート上の対応するカラムに 2.0 mL の CE-SDS Gel Buffer があることを確認します。
10. プレートにフィルムカバーを付け、遠心分離機を使用してサンプルプレートを 30 g で 4 分間回転させて、ウェルの底にある気泡を取り除きます。

非還元サンプルの調製

非還元サンプルを調製する前に、250 mM のヨードアセトアミド (IAM) 溶液を調製します。次のセクションを参照: [250 mM Iodoacetamide Solution の調製](#)。IAM 溶液は、サンプルの調製中にアルキル化剤として機能し、タンパク質の部分的な自己還元から生じる不均一性を減少させます。

非還元条件の場合、SDS 結合を高めるためにサンプル溶液を高温で加熱する必要があります。ただし、高温により断片化や凝集が発生し、サンプル分析にアーチファクトが生じる可能性があります。SCIEX では、タンパク質サンプルの温度によるアーチファクトを最小限に抑えるために、このアルキル化工程を行うことをお勧めします。SCIEX は、非還元サンプルに対して低 pH SDS サンプル緩衝液のいずれかを使用することも推奨します。Low pH Phosphate SDS Sample Buffer は、SDS-MW Sample Buffer よりも熱誘導アーチファクトを減少させることが証明されています。

注: 次の手順では、1 つのサンプルの数量を示します。

1. SDS-MW Sample Buffer でサンプルを 95 µL の量に希釈して、最終タンパク質濃度を 0.2 mg/mL ~ 2 mg/mL にします。

注: SDS-MW Sample Buffer に 45 µL を超えるサンプルを追加していないことを確認します。45 µL 以下では足りない場合は、サンプルを緩衝液で希釈する前に濃縮してください。

2. 2 µL の 10 kDa Internal Standard をサンプルのマイクロ遠心分離管に加えます。
3. 換気フード内で、サンプルチューブに 250 mM IAM 溶液 5 µL を加えます。
4. 遠心分離機を使用してバイアルを 300 g で 1 分間回転させます。
5. バイアルをパラフィルムで密封します。
6. 混合物を 70 °C のウォーターバスで 10 分間加熱します。
7. バイアルをウォーターバスから取り出し、3 分間以上放置して溶液を室温に冷やします。
8. 調製したサンプルを 100 µL サンプルプレートに加えます。
サンプルがあるサンプルプレート上のカラムについては、アウトレットプレート上の対応するカラムに 2.0 mL の CE-SDS Gel Buffer があることを確認します。

9. プレートにフィルムカバーを付け、遠心分離機を使用してサンプルプレートを 30 g で 4 分間回転させて、ウェルの底にある気泡を取り除きます。

タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施

このアッセイのシグナル強度と分解能は、タンパク質サンプルの塩濃度に敏感に反応します。塩濃度が 1 × リン酸塩緩衝食塩水 (PBS) を超えていると、信号レベルが低くなるか、ピークテーリングが発生する可能性があります。この手順のステップを使用して、緩衝液の交換を実行します。

注: 他のメーカーのデバイスを使用する脱塩または緩衝液の交換手順については、メーカーのユーザー ガイドを参照してください。

注: IgG サンプルの場合、MicroCon-30kDa フィルターは IgG サンプル中の遊離軽鎖 (25 kDa) をろ過し、偏った純度結果や不正確な結果となることがあるため、使用しないでください。

1. 1 mL のタンパク質サンプルを適切な遠心フィルターユニットに追加します。
 - IgG サンプルには、Microcon-10kDa 遠心フィルターユニットを使用します。
 - その他のタンパク質については、Amicon Ultra-4 遠心フィルターユニットを使用してください。
2. 遠心分離機を使用してサンプルを 4,000 g で 15 分間回転させます。
3. 次に SDS-MW Sample Buffer 2 mL を加え、遠心分離器を用いて試料 4,000 g を 25 分間回転させる。
4. 遠心フィルターユニットを慎重に新しいバイアルに逆さに入れ、遠心分離機でバイアルを 1,000 g で 3 分間回転させます。
タンパク質溶液はバイアルに回収されます。
5. 収集したタンパク質溶液を適切なチューブに移します。
6. タンパク質濃度を判定します。
7. SDS-MW Sample Buffer を最終濃度 1 mL に加えます。

低 pH サンプル緩衝液の使用

注: SCIEX では、Low pH SDS Sample Buffer (トリス、pH 6.8) (CE-SDS Protein Analysis キットに含まれています) および Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (pH 6.5) という 2 種類の異なる低 pH サンプル緩衝液を用意しています。

サンプルによっては、低い pH のサンプル緩衝液の方が安定している場合があります。分離プロファイルが繰り返しのたびに变化する場合は、タンパク質が pH 9 である SDS-MW Sample Buffer において安定していない可能性があります。低 pH 緩衝液を使用してサンプルを再度調製します。

低 pH SDS サンプル緩衝液のいずれかを使用するには、前述のようにサンプルを調製し、SDS-MW Sample Buffer を Low pH SDS Sample Buffer (pH 6.8) または Low pH Phosphate SDS Sample Buffer (pH 6.5) に置き換えます。

サンプルの調製

低 pH 緩衝液ではイオン強度が増加するため、信号損失を防ぐために注入電圧または注入時間を増やして分離メソッドを変更することをお勧めします。分析するサンプルに基づいて分離時間を調整します。または、分離メソッドで圧力注入を使用します。

このセクションの手順で、BioPhase 8800 システムのデータ取得の準備をします。

このセクションの手順は、システムがすでに適切にインストールされ、初期化されていることを前提としています。

ヒント! 時間を節約するために、実行を開始する 30 分前に光源をオンにして、ウォームアップしておきます。

試薬のインレットとアウトレットのプレートをセット

注: 気泡を防ぐには、ゲル緩衝液を振ったり、激しく混ぜたりしないでください。気泡は分離不良の原因になることがあります。

1. 試薬プレートレイアウトに従って、試薬インレットおよびアウトレットのプレートに試薬を加えます。次の図を参照: [図 D-4](#)。

次の表の量を使用します。

注: アウトレットプレートの場合、面取りされた角が右上にあることを確認してから、プレートの左側のウェルのみを充填します。右側のウェルはオーバーフロー用であり、空である必要があります。

表 5-1: 試薬インレットプレートと試薬アウトレットプレートの試薬

プレート	試薬
インレットプレート	ウェルあたり 800 μ L
アウトレットプレート	<ul style="list-style-type: none">• 分離または待機のための試薬ウェルあたり 2.8 mL• 廃棄位置の CE Grade Water のウェルあたり 1.5 mL

2. プレートにフィルムカバーを付けます。

注意: システムに損傷を与える恐れ。加熱プレートシーラーを使用してシールを貼らないでください。熱によりプレートの表面が損傷し、圧力システムに問題が発生する可能性があります。

注: USA Scientific の X-Pierce フィルムのみが検証されています。別のフィルムを使用する場合は、使用前にテストしてください。

3. プレートをスイングバケットローターに入れ、30 g で 4 分間回転させます。バケットのバランスが良いことを確認します。

注意: 結果が不正確になる可能性。必ずプレートを回転させて気泡を取り除いてからシステムにセットしてください。気泡があると、分離に失敗することがあります。

4. プレート内に気泡がないことを確認してください。気泡がある場合は、相対遠心力(RCF)を大きくして再度プレートを回転させます。
試薬プレートの場合、最大 RCF は 1,000 g です。サンプルプレートの場合、最大 RCF は 375 g です。
5. 前面パネルで **Eject Reagent** をタッチします。

図 5-1 : Eject Reagent ボタン



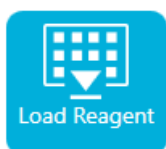
プレートコンパートメントが開きます。

6. プレートからフィルムカバーを取り外します。

注意: システムに損傷を与える恐れ。フィルムカバーを取り外す前に、プレートをシステムにロードしないでください。運転中にフィルムカバーが存在すると、キャピラリーチップが損傷する可能性があります。

7. プレートコンパートメントにすでに試薬プレートがある場合は、試薬プレートを取り外してください。
8. 試薬注入プレートのノッチをタブに合わせて、プレートをプレートキャリアに置きます。
9. 試薬アウトレットプレートの面取りされた角が左上にあることを確認して、プレートをプレートキャリアの背面に置きます。
10. **Load Reagent** をタッチします。

図 5-2 : Load Reagent ボタン



プレートコンパートメントが閉じます。

サンプルのインレットとアウトレットのプレートをセット

1. サンプルプレートレイアウトに従って、サンプルをサンプルインレットプレートに加えます。次の図を参照: [図 D-3](#)。
サンプル量は 100 μ L を推奨します。
最小サンプル量は 50 μ L です。最大サンプル量は 200 μ L です。

2. キャピラリーの損傷を防ぐため、すべてのウェルにサンプルがないカラムがある場合は、各空のウェルに 100 μ L から 200 μ L のサンプル緩衝液を加える。
カラムにサンプルがない場合、ウェルは空のままにすることができます。

3. サンプルレイアウトに従って、試薬をサンプルアウトレットプレートに加えます。次の図を参照：
[図 D-3](#)。
最大容量は 2.0mL です。

次の表の量を使用します。

サンプルがあるサンプルプレート上のカラムについては、アウトレットプレート上の対応するカラムに 2.0 mL の 分離ゲルがあることを確認します。

注: アウトレットプレートの場合は、面取りされた角が右上にあることを確認してから、プレートの左側のウェルのみを充填します。右側のウェルはオーバーフロー用であり、空である必要があります。

表 5-2 : サンプルアウトレットプレートの試薬

プレート	試薬
アウトレットプレート	• ウェルあたり 2.0 mL のゲル緩衝液

4. プレートにフィルムカバーを付けます。

注意: システムに損傷を与える恐れ。加熱プレートシーラーを使用してシールを貼らないでください。熱によりプレートの表面が損傷し、圧力システムに問題が発生する可能性があります。

注: USA Scientific の X-Pierce フィルムのみが検証されています。別のフィルムを使用する場合は、使用前にテストしてください。

5. プレートをスイングバケットローターに入れ、30 g で 4 分間回転させます。バケットのバランスが良いことを確認します。

注意: 結果が不正確になる可能性。必ずプレートを回転させて気泡を取り除いてからシステムにセットしてください。気泡があると、分離に失敗することがあります。

6. プレート内に気泡がないことを確認してください。気泡がある場合は、相対遠心力(RCF)を大きくして再度プレートを回転させます。

試薬プレートの場合、最大 RCF は 1,000 g です。サンプルプレートの場合、最大 RCF は 375 g です。

7. 前面パネルで **Eject Sample** をタッチします。

図 5-3 : Eject Sample ボタン



プレートコンパートメントが開きます。

8. プレートからフィルムカバーを取り外します。

注意: システムに損傷を与える恐れ。フィルムカバーを取り外す前に、プレートをシステムにロードしないでください。運転中にフィルムカバーが存在すると、キャピラリーチップが損傷する可能性があります。

9. プレートコンパートメントにすでにサンプルプレートがある場合は、サンプルプレートを取り外してください。
10. サンプルプレートのアライメントノッチがタブと合うように向けて、プレートをプレートキャリアにセットします。
11. サンプルアウトレットプレートの面取りされた隅が左上になるように向けて、プレートキャリアの奥にプレートをセットします。
12. **Load Sample** タッチします。

図 5-4 : Load Sample ボタン



プレートコンパートメントが閉じます。

キャピラリーカートリッジの検査



警告! 尖った部分により怪我をする危険。カートリッジの取り扱いには慎重に行ってください。キャピラリー先端は非常に尖っています。

注意: システムに損傷を与える恐れ。電極、キャピラリーの端、カートリッジシール、またはカートリッジ本体でゲル緩衝液またはその他の試薬を結晶化させないでください。電解質の塩の結晶または沈殿物は、キャピラリーの詰まり、不適切な圧カシール、サンプル注入時のエラー、アーク放電、または漏電を引き起こす可能性があります。

1. 使用前に、電極、キャピラリーチップ、カートリッジシール、カートリッジ本体のインターフェースを検査してください。
2. カートリッジの外側にゲルや液体が付着している場合は、湿らせた糸くずの出ないラボ用の布でカートリッジをクリーニングします。クリーニング後は、必ずカートリッジを乾燥させます。

注: カートリッジのクリーニングに石鹼や洗剤は使用しないでください。

3. キャピラリーチップが塞がっている場合は、次の手順を行います。
 - a. CE Grade Water を使用して、キャピラリーのインレットを洗浄します。
 - b. 糸くずの出ないラボ用の布を使って、キャピラリーのインレットを外側に向けて丁寧に拭きます。
4. 拡大鏡を使って、キャピラリーウィンドウの両側を点検してください。糸くずなどが付着している場合は、電子機器用の圧縮空気を短時間噴射して除去します。キャピラリーウィンドウのクリーニングには、水またはその他の液体を使用しないでください。

注意: システムに損傷を与える恐れ。キャピラリーウィンドウのクリーニングに、メタノール、アセトンなどの有機溶剤を使用しないでください。有機溶剤は接着剤を溶かしてしまい、キャピラリーウィンドウに残留物が残り、検出器に干渉する可能性があります。

5. 糸くずの出ないラボ用の布または綿棒をエタノールまたはイソプロピルアルコールで湿らせ、チップの表面を拭きます。カートリッジを取り付ける前に、チップを自然乾燥させてください。

カートリッジの取り付け



警告! 尖った部分により怪我をする危険。カートリッジの取扱いは慎重に行ってください。キャピラリー先端は非常に尖っています。

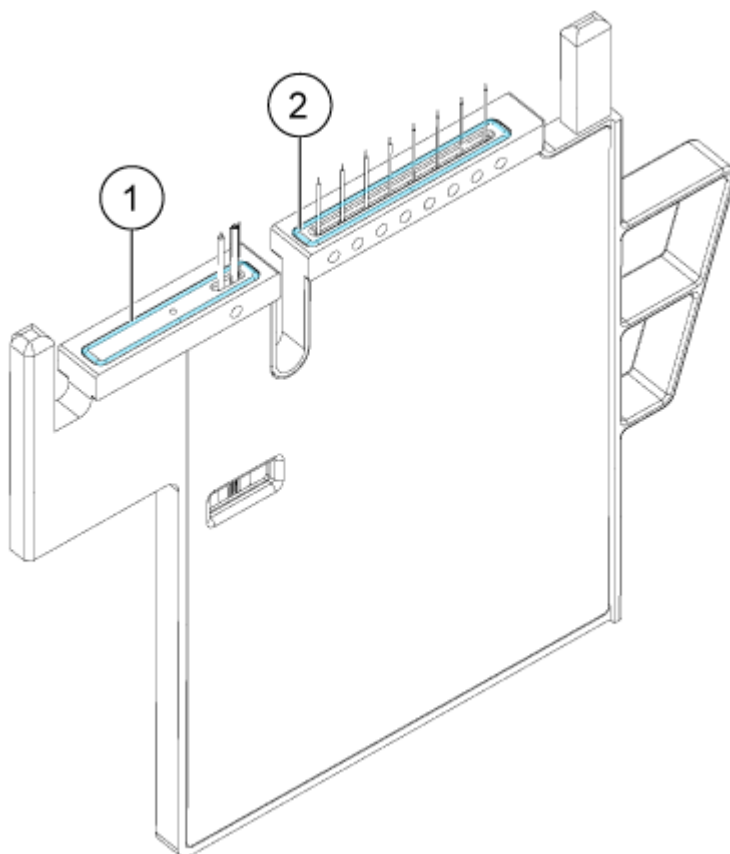


警告! 挟み込みの危険。前面パネルを開けるときは、前面パネルの左側に指を入れないように注意してください。

注意: システムに損傷を与える恐れ。カートリッジを取り付ける前に、試薬プレートがシステムに取り付けられていることを確認してください。取り付けていないとカートリッジが損傷する恐れがあります。

1. カートリッジが冷蔵庫に保管されていた場合は、システム内の結露を防ぐために、カートリッジを室温に均衡させます(約 30 分)。
2. ウェットトレイからカートリッジを取り外します。
3. アーク放電を防ぐために、使い捨てのラボ用の布を使用してカートリッジ本体を乾燥させます。
4. カートリッジの底面を上に向けます。
5. 糸くずの出ないラボ用の使い捨ての布を使用して、キャピラリーと電極がカートリッジから出ている部分をやさしく拭きます。シールを損傷しないように注意してください。

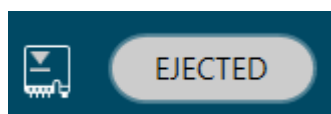
図 5-5 : カートリッジの底部




項目	説明
1	アウトレットプレートシール
2	インレットプレートシール

6. 試薬プレートがシステムに装着されていない場合は、装着します。次のセクションを参照: [試薬のインレットとアウトレットのプレートをセット](#)。
7. 前面パネルを開いて、カートリッジをシステムにセットします。
8. 前面パネルを閉じ、**EJECTED** をタッチしてカートリッジをロックします。

図 5-6 : イジェクトボタン



カートリッジの寿命を超えた場合は、警告メッセージが前面パネルのログに追加されます。警告メッセージを表示するには、前面パネルのステータス領域で  をタッチします。カートリッジはそのまま使用することも、新しいカートリッジを取り付けることもできます。

システムは、キャピラリーがカラム 1 の上に位置するように試薬プレートを移動し、プレートを上昇させて、キャピラリーの両端が CE Grade Water に浸るようにします。

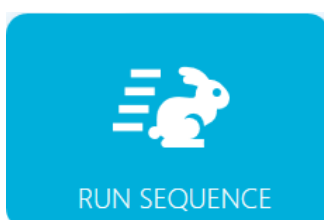
9. 前面パネルのクーラントレベルを検査します。必要に応じて、システムの注入口にクーラントを追加します。
次のセクションを参照:ドキュメントの「キャピラリーカートリッジクーラントの追加」:オペレータガイド。

フロントパネルからシーケンスを開始

Waters Empower™ ソフトウェアの使い方は、次のセクションを参照：[サンプルセットメソッドを開始](#)。

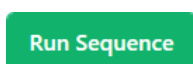
1. 必要に応じて、カートリッジ、試薬プレート、およびサンプルプレートをセットします。
2. 前面パネルで **RUN SEQUENCE** をタッチします。

図 6-1 : RUN SEQUENCE ボタン



3. Projects ペインで、**CE-SDS Project** をタッチします。
4. Available Sequences ペインで、リスト内の目的とするシーケンスにタッチします。
 - 還元サンプルの場合は、**CE-SDS テストシーケンス**をクリックします。
 - 非還元サンプルの場合は、**非還元 CE-SDS シーケンス**をクリックします。
 - 低 pH のサンプル緩衝液で準備したサンプルの場合、**低 pH サンプル緩衝液 CE-SDS シーケンス**をクリックします。
5. (オプション)メソッド、サンプルプレート、試薬プレートの詳細を表示するには、**Method** カラムの任意の場所をタッチします。
詳細を非表示にするには、カラムまたはボックスをもう一度タッチします。
6. **Run Sequence** をタッチします。

図 6-2 : Run Sequence ボタン



Run Sequence は、システム構成と互換性のないメソッドがシーケンスに含まれている場合、有効になりません。

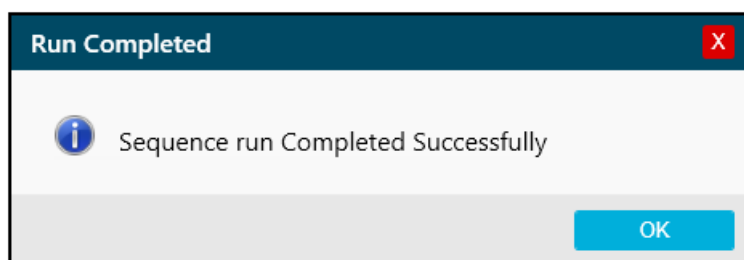
データファイルは、シーケンスで指定した場所に保存されます。

実行中にエラーが発生し、エラー回復方法がシーケンスに存在する場合、BioPhase 8800 システムはエラー回復方法を開始します。

実行中、さまざまなアクションが可能です。次のセクションを参照：[BioPhase 8800 フロントパネルで実行のモニタ](#)。

実行が完了すると、Run Completed ダイアログが開きます。

図 6-3 : Run Completed ダイアログ




7. **OK** をタッチして、Run Completed ダイアログを閉じます。
8. 必要に応じて、カートリッジを保管します。次のセクションを参照: [実行後にカートリッジを保管。](#)

BioPhase 8800 フロントパネルで実行のモニタ

シーケンスの進行状況をモニタし、必要に応じて、シーケンスの一時停止や停止を行う手順は、以下のとおりです。

Waters Empower™ ソフトウェアの使い方は、次のセクションを参照: [Waters Empower™ ソフトウェアで実行をモニタ。](#)

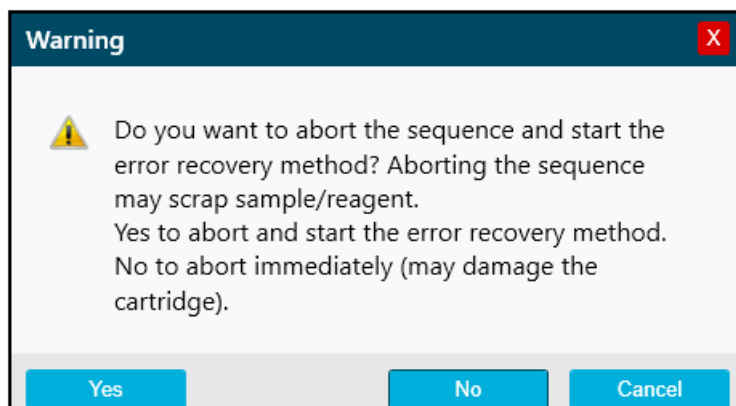
注: 以下の図に示すシーケンスは、説明のためのものです。CE-SDS Protein Analysis キットのシーケンスは表示されていません。

1. 検出器と電流のトレースをモニタし、シーケンスが実行されていることを確認します。
2. 問題が検出された場合は、 をタッチして実行を停止し、Warning ダイアログで次のいずれかをタッチします。
 - **Yes:** エラー回復方法が割り当てられている場合は、タッチして開始します。
 - **No:** エラー回復方法が割り当てられていない場合はタッチします。

注: 実行を停止すると、サンプルや試薬の損失、カートリッジの損傷につながる恐れがあります。

- 実行を続行するには、**Cancel** をタッチします。

図 6-4 : 警告ダイアログ



注意: システムに損傷を与える恐れ。実行が停止され、再開されない場合は、カートリッジを保管する前にシャットダウン方法を使用してキャピラリーをすすぎます。キャピラリーがすすがれていない場合、電解質の塩の結晶または沈殿物が蓄積し、キャピラリーの詰まり、不適切な圧力シール、サンプル注入時のエラー、アーク放電、または漏電を収集および引き起こす可能性があります。

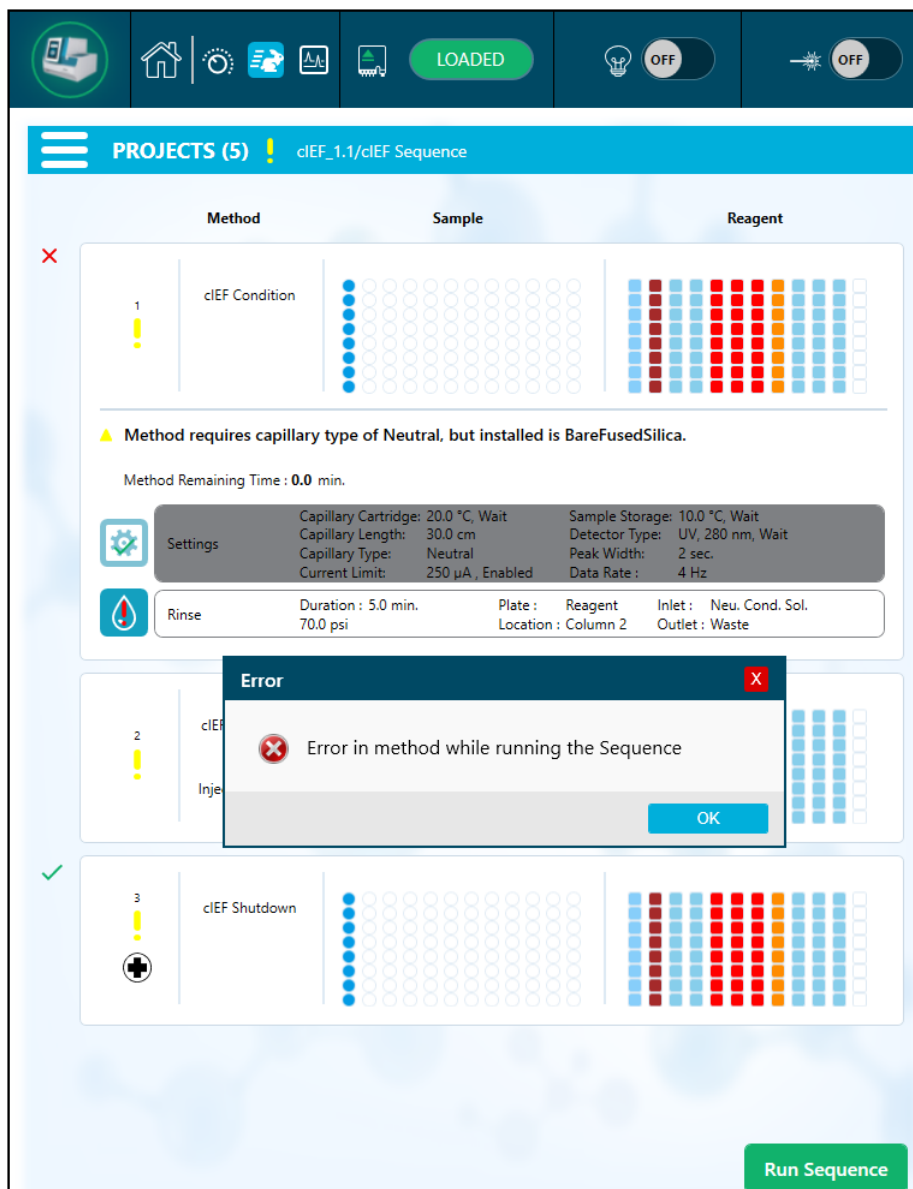
注意: システムに損傷を与える恐れ。分析を再開する前に、試薬のオーバーフローや装置の損傷を防ぐために、必ずアウトレットプレートを空にするか交換してください。


注意: 結果が不正確になる可能性。運転を再開する前に、新しい試薬プレートを準備します。運転が停止した場合は、運転の完了に利用できる試薬が十分でない可能性があります。

注意: 結果が不正確になる可能性。サンプルが 24 時間以上システム内にある場合は、分析を再開する前にサンプルを廃棄してください。劣化している可能性があります。

3. エラーが発生した場合は、表示されるエラーダイアログの **OK** をタッチしてください。

図 6-5 : シーケンスの実行エラー



 **注:** は、**Rinse** アクションでのエラーを示したものです。**Rinse** アクションの上の行のグレーの網かけは、そのアクションが進行中または完了したことを示します。

4. エラーの確認:


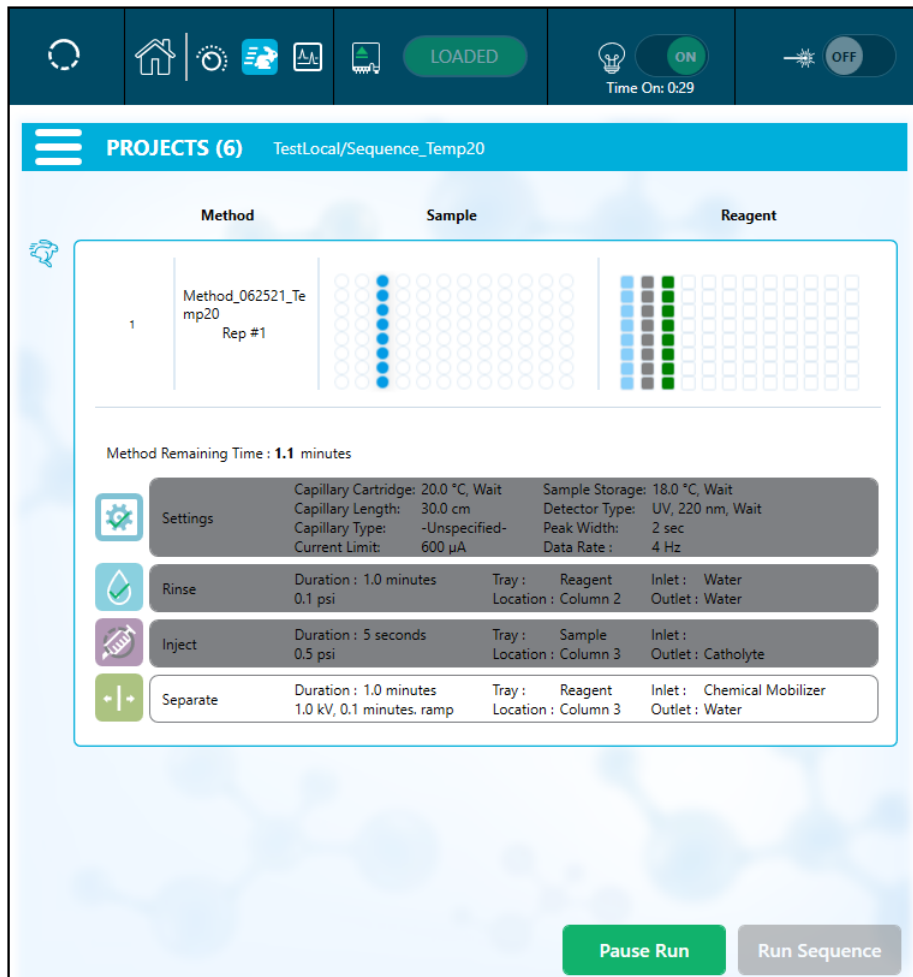
- a. 前面パネルログの **Events** タブの  をタッチします。
- b. **Initialize System** をタッチしてシステムを再初期化し、システムステータスをアイドルに変更します。

図 6-6 : シーケンスエラーイベントログ



5. 必要に応じて、**Pause Run** をタッチして実行を一時停止します。

図 6-7 : 進行中のシーケンス実行




6. 実行を続行するには、**Cancel Pause** をタッチします。

サンプルを実行する

図 6-8 : シーケンス実行の再開



7. 取得中のデータを表示するには、リボンのをタッチします。

注: 以下の図のデータは、説明のためのものです。CE-SDS Protein Analysis キットで準備したサンプルの結果を示すものではありません。

図 6-9 : キャピラリーレビュー



8. (オプション)データの表示をズームインするには、次を実行します。
 - a. **Overlay** をタッチします。
 - b. エレクトロフェログラムの表示を 2 本の指でズームインまたはズームアウトします。
 - c. 手のアイコンを使ってエレクトロフェログラムを動かします。

注: ズーム機能は、検出器と電流のオーバーレイ表示でのみ機能します。

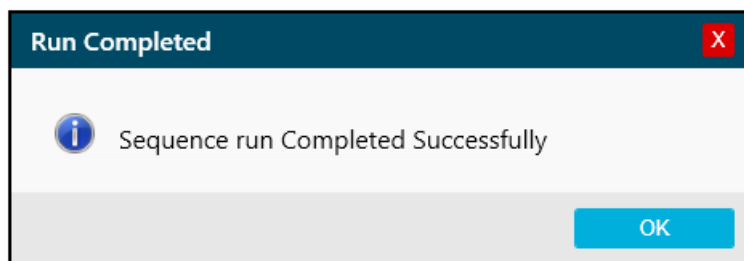
サンプルを実行する

図 6-10 : ズームインまたはズームアウト



9. 実行完了時に Sequence run Completed Successfully というメッセージが表示されることを確認します。ダイアログで **OK** をタッチします。

図 6-11 : 実行完了



廃棄物処理



警告! 生物学的危険、有害化学物質の危険。化学薬品、カートリッジ、試薬プレート、サンプルプレート、および調製したサンプルの残りを廃棄するには、地域の指示に従ってください。これらには、規制化合物や生物学的危険のある物質が含まれていることがあります。

実行後にカートリッジを保管




警告! 尖った部分により怪我をする危険。カートリッジの取り扱いは慎重に行ってください。キャピラリー先端は非常に尖っています。

カートリッジの保管期間は 3 日未満

- シーケンスまたはサンプルセットメソッドにシャットダウンメソッドが含まれていない場合は、シャットダウンメソッドを使用してキャピラリーをクリーニングします。
シャットダウンメソッドは、キャピラリーを CE-SDS Gel Buffer で満たします。
- キャピラリーの両端を CE Grade Water に浸した状態で、カートリッジをシステムに最大 3 日間保管します。

注: カートリッジを 3 時間以上使用しなかった場合は、分離を行う前にコンディショニングメソッドを実行してください。

カートリッジを 3 日以上保管

- シーケンスまたはサンプルセットメソッドにシャットダウンメソッドが含まれていない場合は、シャットダウンメソッドを使用してキャピラリーをクリーニングします。
シャットダウンメソッドは、キャピラリーを CE-SDS Gel Buffer で満たします。
- CE Grade Water を使用し、80 psi で 10 分間すすいで、キャピラリーをクリーニングします。
- BioPhase 8800 システム前面パネルのリボンで、 (Loaded) をタッチして約 1 分間待ちます。
カートリッジを取り外す前に、クーラントがクーラントリザーバーに戻るのを待ちます。
- システムからカートリッジを取り外し、キャピラリーの両端を CE Grade Water に浸した状態でカートリッジボックスに真っすぐ立てて、2 °C ~ 8 °C で保管します。

注: トレイ内の微生物増殖を防ぐため、トレイ内の CE Grade Water は定期的に交換します。

保管後のカートリッジを準備

- カートリッジを 1 日以上使用していないか、長期間保管していた場合は、CE-SDS Conditioning メソッドを使用してキャピラリーを調整します。

注: アークを防止するために、カートリッジをシステムに取り付ける前に、電極とカートリッジ本体の周りの水を注意深く拭き取ってください。



分析パラメータファイルによるデータの分析

注: Waters Empower™ソフトウェアを使用してデータを取得する場合、この手順は適用されません。

次の手順では、解析パラメータファイルを使用して BioPhase Analysis ソフトウェアを使用してデータを解析する方法を説明します。分析パラメータファイルには、データ中のピークの積算やピークの同定に必要な情報がすべて含まれています。

注: この手順は、BioPhase ソフトウェアに精通していることを前提としています。詳細な手順については、次のドキュメントを参照: [ソフトウェアヘルプシステム](#)。

注: 本手順の分析パラメータファイルは一例です。すべてのデータファイルに対して最適なパラメータであるとは限りません。

1. BioPhase ソフトウェアの Home ページで、**Data Analysis** をクリックします。BioPhase Analysis ソフトウェアのメインウィンドウが開きます。
2. **File > Open** をクリックし、分析するデータファイルを選択して、**Open** をクリックします。
3. **Project** ツールバーで、 をクリックし、CE-SDS Reduced IgG Analysis に移動し、**Open** をクリックします。CE-SDS Reduced IgG Analysis ファイルは、分析の開始点です。
4.  を右クリックし、**Apply & Analyze (all)** を選択します。

ソフトウェアは、Integration、Library、Post Analysis タブ内のすべてのパラメータをすべてのデータファイルに適用し、結果を表示します。

Files ペインでは、データの分析が済んだことを示すために、ファイル名が赤で表示されます。同定されたピークの数、**Peaks** カラムに表示されます。



Data ペインでは、グラフ下の表に分析結果が表示されます。表の上部には、**RMS Noise**、**P-P Noise**、および **Drift** が表示されます。グラフでは、ベースラインを赤で、しきい値をグレーの水平線で示しています。分析で確認されたピークには、ピーク開始に青、ピーク頂点に赤、ピーク終点に緑のマーカが表示されます。

グラフのピークは以下のように網かけされています。

- 緑: ピークは Library タブの Marker Table にあるピークに対応します。
- 青: ピークは Library タブの Peak Table にあるピークに対応します。
- 赤: 名前のないピークです。

次のセクションを参照: [結果の確認](#)。

5. グラフにピーク名を表示します。


- a.  を右クリックします。
Information Setup ダイアログが開きます。
- b. **Name** およびグラフに表示するその他の情報 **MT** などを選択し、**OK** をクリックします。
- c.  をクリックします。

ピーク名がグラフに表示されます。次のセクションを参照: [結果の確認](#)。

名前は分析パラメータファイルの一部です。別の名前を使用する場合は、次のドキュメントの「ピークの識別」セクションを参照: *Software Help System*。

6. ファイルリストの下にある Files ペインをクリックし、**Up** と **Down** の矢印キーを押すと、各ファイルのデータが Data ペインに表示されます。

必要に応じて、グラフ上の領域をドラッグしてズームインすると、その領域で同定されたピークの詳細を確認することができます。


ヒント! データファイルごとにズームインしなくて済むようにするには、 をクリックして、すべてのデータファイルに同じズーム設定を適用します。

7. 統合が適切であることを確認します。統合パラメータを調整し、必要に応じて再度データを分析します。




8. Marker Table と Peak Table のピークをエレクトロフェログラムで検査します。

- a. Marker Table と Peak Table の各ピークについて、グラフに正しいピークが表示されていることを確認します。
- b. 必要に応じて、Marker Table の **MT** と Peak Table の **MT** (または **Cal MT**) を調整します。
- c. 必要に応じて、**Tol** と **Crit** を調整し、 をクリックします。
 - **Tol** は、グラフのピークと Marker Table または Peak Table のピークを一致させる際の許容範囲です。許容範囲にパーセンテージを使用する場合は、% と入力します。
 - **Crit** は一致させるピーク特性です。
 - **Ctr**: 範囲の中央に最も近いピークが一致します。
 - **Ht**: 範囲内の最高のピークが一致します。
 - **Area** 領域: 範囲内の最大のピークが一致します。
- d. ピークの割り当てに問題がなければ、 を右クリックし、**Apply & Analyze (all)** を選択します。

ソフトウェアは、すべてのデータファイルに変更を適用します。

9. (オプション) **Project** ツールバーで、 をクリックし、名前を入力し、場所を選択し、**OK** をクリックします。
分析パラメータはファイルに保存され、後で使用できます。

データの分析

- (オプション) **File** ツールバーで、 を右クリックし、**Print (all)** を選択します。
Data ペインの内容は、最新のレポートテンプレートを使用して印刷されます。レポート テンプレートを作成する手順については、ドキュメントの「レポートの設定」セクションを参照: [オペレータガイド](#)
- File** ツールバーで  を右クリックし、**Save (all)** を選択します。
分析パラメータを含む結果の変更は、すべてデータファイルに保存されます。
- File** ツールバーで  を右クリックし、**Save (all)** を選択します。
すべてのデータファイルが閉じます。

結果の確認

図 7-1 : SDS-MW Sample Buffer 内の非還元 IgG サンプル

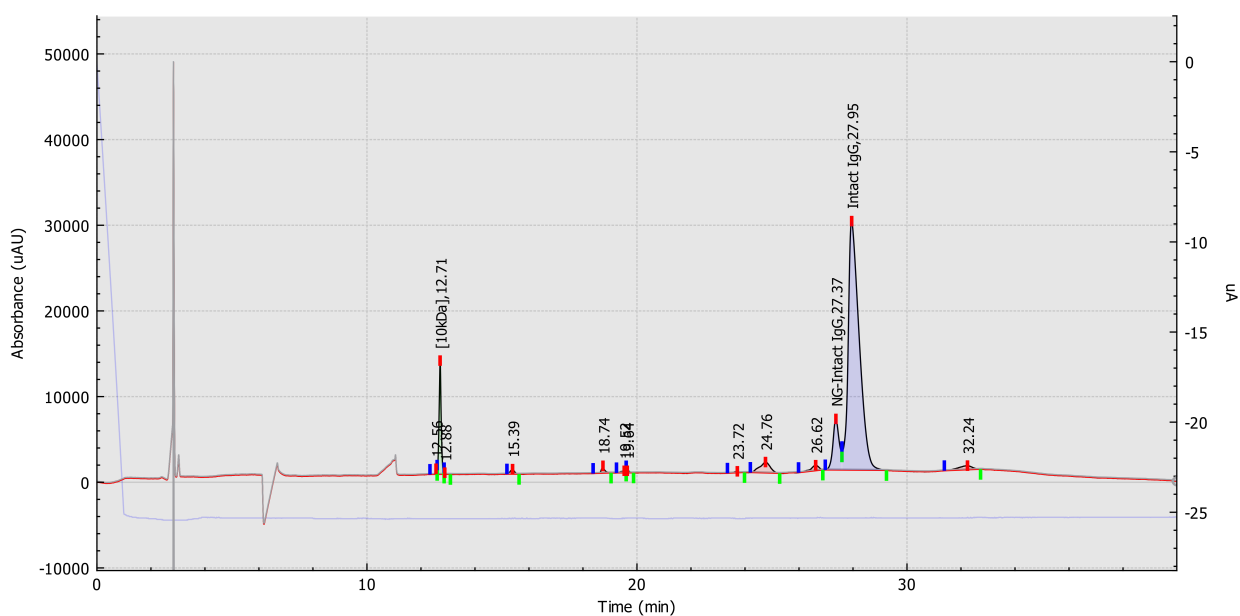


図 7-2 : SDS-MW Sample Buffer 中の還元 IgG サンプル

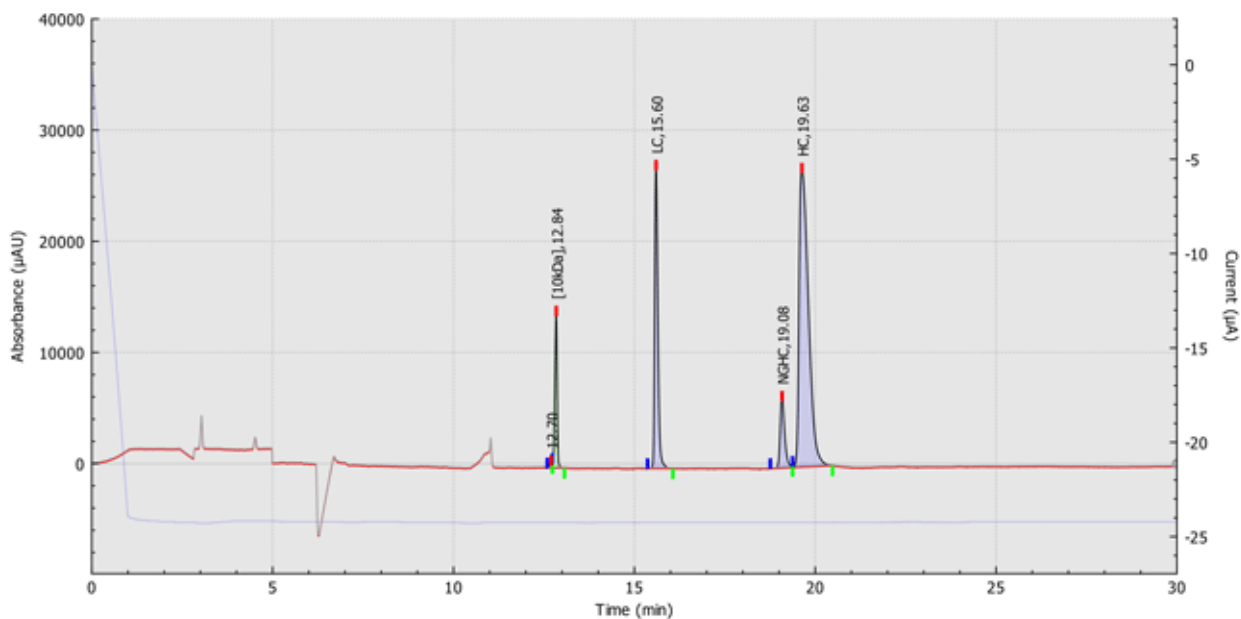


図 7-3 : Low pH SDS Sample Buffer 中の NIST IgG サンプル

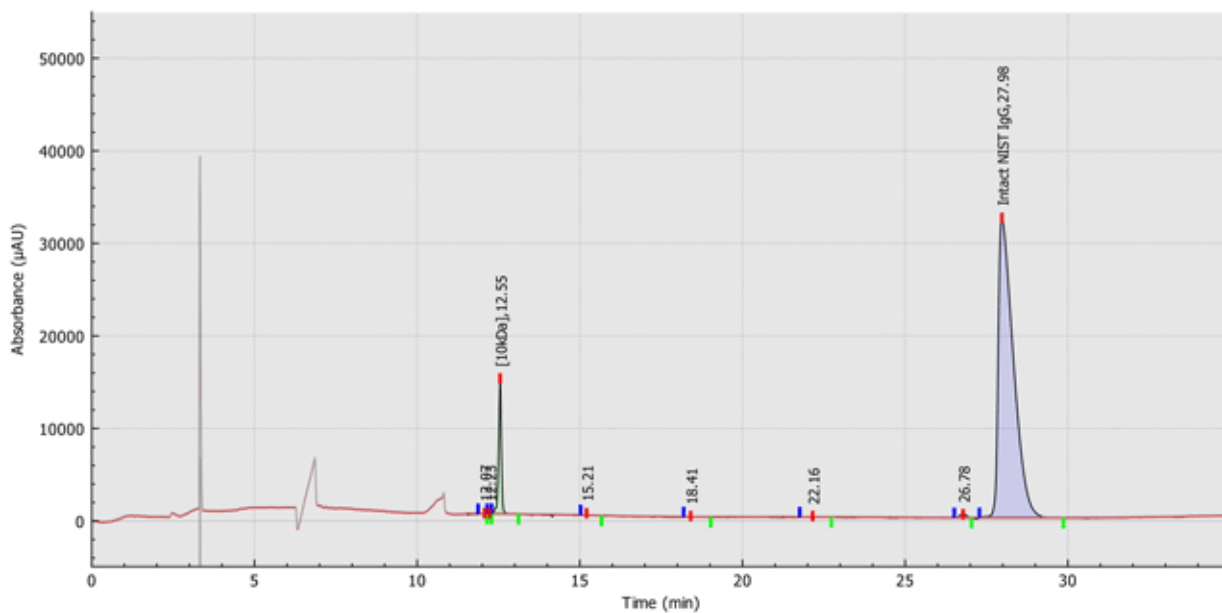
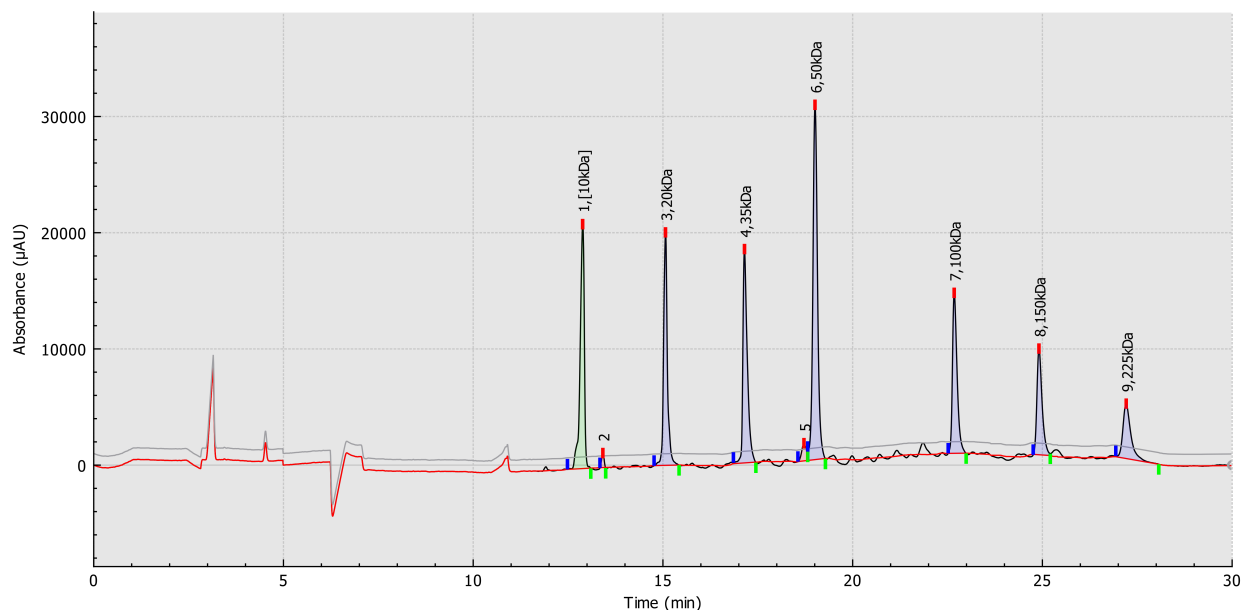


図 7-4 : SDS-MW Sample Buffer 中の MW Size Standard



Overlay タブの Results を確認

Overlay タブには、選択したデータファイルのグラフが表示されます。このタブには、選択したデータファイルの統計情報と、システム適合性レポートが含まれています。

注: このセクションでは、システム適合性機能については説明しません。システム適合性については、次のドキュメントを参照：オペレータガイド。


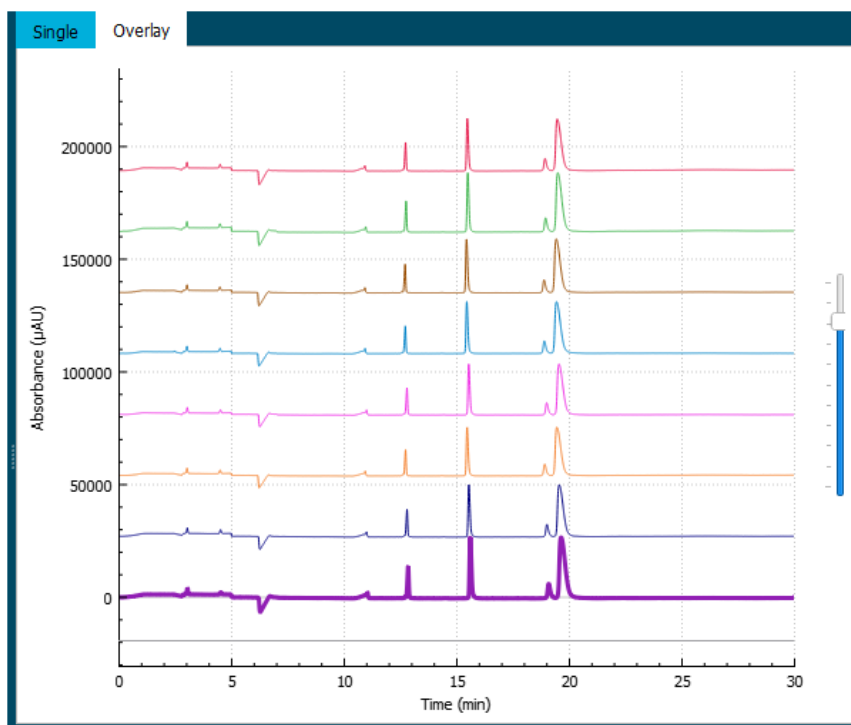
1. データファイルと適切な分析パラメータファイルのセットを開き、データを分析します。必要に応じて、満足のいく結果が得られるまで分析パラメータを調整します。
2. Files ペインで  をクリックし、Overlay タブをクリックします。

図 7-5 : Overlay タブ



グラフのトレースの色は、Files ペインのファイル名の横にある丸の色に対応しています。

太い線は、Files ペインで選択したファイルに対応するトレースです。

3. グラフ右側のスライダーを上下に動かして、トレースを調整します。

注: トレースを一連のタイル状のグラフとして表示するには、スライダーを一番上まで動かします。

4. Overlay タブのすべてのファイルについて結果を計算します。

図 7-6 : 定量テーブル

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

項目	説明
1	参照ファイル
2	分析の種類

データの分析

項目	説明
3	結果をコンマ区切りファイルに保存する

- a. 定量テーブルヘッダーの右側にあるリストをクリックし、分析の種類を選択します。

これらのオプションが利用できます。

- **Reference - All:** Results Table では、参照ファイルに含まれるすべてのピークのうち、他のすべてのデータファイルに存在するピークの統計情報を表示します。
- **Reference - Peak Table:** Results Table では、参照ファイルに含まれるすべての名前付きピークのうち、他のすべてのデータファイルに存在するピークの統計情報を表示します。
- **Named Peaks:** Results Table では、いずれかのデータファイルに含まれるすべての名前付きピークの統計情報を表示します。
- **All Data (not displayed):** すべてのデータファイルのすべてのピークの統計情報を計算しますが、表示しません。
- **System Suitability:** システムの適合性: データの解析中にシステムの適合性が有効だった場合、システムの適合性レポートを表示します。

データファイルのピークと参照ファイルのピークは、ピーク頂点の移動時間が 5% 以内で一致していれば、一致しているとみなします。

- b. 左のリストをクリックし、参照ファイルを選択します。

参照ファイルは、他のすべてのファイルと比較されるファイルです。


Reference - All 分析と **Reference - Peak Table** 分析のみが参照ファイルを使用します。


Results Table が更新され、選択した分析またはシステム適合性レポートが表示されます。

All Data (not displayed) を選択すると、定量テーブルは空になります。結果を表示するには、**Save** をクリックして結果をコンマ区切りファイルに保存し、そのファイルを別のプログラムで開きます。

5. (オプション)異なる参照ファイルを使用したり、異なるタイプの分析を表示したりする場合は、ステップ 4 を繰り返します。
6. (オプション) **Save** をクリックします。
Results Table は、コンマ区切りテキストファイルに保存されます。表中に表示されているカラムのみ保存されます。

注: システム適合性の結果を保存するには、**File > Save Report** をクリックします。結果は PDF で保存されます。

7. (オプション)**File > Print** をクリックします。
Overlay タブの内容は、最新のレポートテンプレートに印刷されます。
8. (オプション)**File** ツールバーで  を右クリックし、**Save (all)** を選択します。
結果と分析パラメータの変更は、すべてデータファイルに保存されます。

9. **File** ツールバーで  を右クリックし、**Save (all)** を選択します。
すべてのデータファイルが閉じます。

合格基準作成のためのガイダンス

SOP またはその他の目的でこのキットを使用するために作成される合格基準は、分離の品質に固有のパラメータと、重要なサンプルの品質を反映する属性に基づく必要があります。ゲルとキャピラリーのロットの違いや装置の違いにより、絶対移動時間にばらつきが生じる可能性があります。

ピーク純度 (ピークの補正面積 % として)、ピーク分解能、および相対移動時間 (10 kDa Internal Standard SCIEX からのピークまたはサンプル内のメインピークを基準マーカーとして使用) は、CE-SDS 分析で一般的に受け入れられているシステム適合性基準です。SCIEX は、絶対的な移行時間を合格基準として使用することを強く推奨しません。

MW Size Standard を使用して分子量を推定

未知のタンパク質の分子量を推定するには、X 軸外部マーカー キャリブレーション機能を使用します。次のセクションを参照: [外部マーカーを用いたキャリブレーションカーブの作成](#)。

注: 10 kDa Internal Standard が未知の試料中に存在する場合は、10 kDa Internal Standard を参照ピークとして用い、移動時間の変動を補正し、推定分子量の精度を高めます。

1. MW Size Standard を用いて実行します。
2. BioPhase Analysis ソフトウェアで、MW Size Standard の移動時間と分子量を使用してキャリブレーションカーブを作成します。
3. キャリブレーションカーブをデータに適用します。未知のタンパク質の推定分子量は、定量テーブルおよびグラフ上の注釈に **Cal MT** として表示されます (定量テーブルとグラフが表示されている場合)。


SCIEX は、外部キャリブレーションカーブは 24 回実行した後に再度キャリブレートすることをお勧めします。カーブを再度キャリブレーションするには、MW Size Standard でもう一度実行し、実行の結果で各標準の移行時間を更新します。

外部マーカーを用いたキャリブレーションカーブの作成





外部マーカーから X 軸のキャリブレーションカーブを生成する場合に使用する機能です。外部マーカーセットと未知のサンプルの両方に基準マーカーが存在する場合、基準マーカーを使用して移動時間のばらつきを補正することが可能です。

1. キャリブレーションカーブのパラメータを設定します。
 - a. 標準を分離した結果を含むデータファイルを開きます。
 - b. データを積算します。
 - c. Marker Table で、MW Size Standard のピークをマーカーとして割り当てます。
 - d. 各マーカーについて、対応する **Cal MT** セルに分子量を入力します。
 - e. タブの右側にある Marker Table の上で、**External markers** を選択します。
 - f. **X-axis Name** と **Units** を入力します。

データの分析

- g. **Fit Type** リストで、キャリブレーションカーブのタイプを選択します。
2. (オプション) 未知物質を含むサンプルのデータにおけるピークと参照ピークを照合するためのパラメータを設定します。
 - a. 参照ピークの Marker Table で **Ref** を選択します。
 - b.  をクリックします。
 - c. **Ref MT** フィールドには、未知物質を含むサンプルのデータにおける参照ピークの予想移動時間を入力します。
 - d. **Tol** フィールドに許容範囲を入力します。
 - e. **Crit** リストで、基準を選択します。
 - f. **OK** をクリックします。

参照ピークが選択済みの場合は、移動時間に **Ref Peak MT** (未知) と **Ref Peak MT** の比率を乗じることで、キャリブレーションカーブの移動時間が補正されます。この結果、移動時間にばらつきがあっても、**Cal MT** をより正確に判断できます。

3.  をクリックし、グラフと定量テーブルを検査して、**Cal MT** 値が正しいことを確認します。
4. **Show Graph** をクリックし、Marker Table のデータポイントがキャリブレーションカーブにフィットすることを確認します。
キャリブレーションカーブは、Marker Table の **MT** と **Cal MT** 値に基づいています。
5.  をクリックし、パラメータを分析パラメータ(dana)ファイルに保存します。
6. **File > Open** をクリックし、分析するファイルを選択します。
7. ステップ 5 で作成した分析パラメータファイルを開きます。
8.  を右クリックし、**Apply & Analyze (all)** または **Apply & Analyze (checked)** を選択します。
外部マーカーセットと未知データの両方に参照ピークが存在する場合は、その結果を検査します。必要に応じて、 をクリックし、未知の参照ピークが移行時間ウィンドウ内に見つかるようにダイアログで **Ref MT**、**Tol**、および **Crit** の値を調整します。

Waters Empower™ソフトウェアでサンプルを実行

8

このセクションでは、Waters Empower™ソフトウェアおよび BioPhase 8800 driver for Empower™を BioPhase 8800 での使用方法について説明します。

BioPhase のソフトウェアメソッドをインポートして装置メソッドを作成

注: BioPhase ソフトウェアで作成されたメソッドは、BioPhase 8800 driver for Empower™ に付属しています。これらのメソッドは、SCIEX Web サイトからダウンロードすることもできます。次のセクションを参照: [必要なファイルをダウンロードして設定 \(Waters Empower™ソフトウェア\)](#)。

装置メソッドは、Method Editors for BioPhase System ソフトウェアで作成することもできます。次のドキュメントを参照: *オペレータガイド* および *Software Help System*。

通常、コンディショニングメソッド、分離メソッド、シャットダウンメソッドの 3 種類のメソッドが必要です。一部のワークフローでは、追加のメソッドがあります。

次のメソッドがあります

- CE-SDS Conditioning: キャピラリーのコンディションを整えます。
- 分離メソッド:
 - 還元 CE-SDS 分離: 還元サンプルの場合。
 - 非還元 CE-SDS 分離: 非還元サンプルの場合。
 - 低 pH サンプル緩衝液分離: 低 pH のサンプル緩衝液で準備したサンプルの場合。
- CE-SDS シャットダウン: シーケンスの終了時にキャピラリーをクリーニングし、保管のためにキャピラリーをすすいだ後、ランプを消灯します。

次のステップに従って、BioPhase ソフトウェアメソッドをインポートし、Waters Empower™ソフトウェアで使用する装置メソッドとメソッド セットを作成します。ワークフローに適切なメソッドとメソッド セットを作成します。

1. Waters Empower™ Software Project ウィンドウで、**File > New Method > Instrument Method** をクリックします。

図 8-1 : Select Desired Chromatography System ダイアログ

Select Desired Chromatography System

Please select the chromatographic system which you would like to use to acquire samples into this project.

Note that you may have access to two or more systems with the same System Name on different nodes.

System Name	System Location	Node Name	System Comments
Instrument 2		Lace3	instruments 2 in Dual
Instrument3		Lace2	CE3

OK Cancel Help

2. 使用するシステムをクリックし、**OK** をクリックします。

Instrument Method Editor が開きます。

3. **Import** をクリックし、コンディショニング メソッドを参照します。

メソッドは、Method Settings タブが前面にある Instrument Method Editor ウィンドウで開きます。

注: このウィンドウは読み取り専用です。メソッドの変更が必要な場合は、装置メソッドを保存し、Method Editors for BioPhase System ソフトウェアでメソッドを編集します。次のセクションを参照:ドキュメントの「既存の装置メソッドを編集」: ソフトウェアヘルプ。

図 8-2 : 装置メソッドエディターの Method Settings タブ

Method Settings | Method Program

Temperature

Capillary Cartridge: 25.0 °C Wait

Sample Storage: 25.0 °C Wait

Capillary Settings

Capillary Length: 30.0 cm

Capillary Type: Bare Fused Silica

Current Limits

Enable Current Limiting when using Voltage

Maximum Current: 600 µA

Detector Type

UV Wavelength: 220 nm

Wait

LIF Emission Wavelength: nm

Wait PMT Gain:

No Detector

Data

Data Collection Rate: 2 Hz

Peak Width @50% Height: 4 sec

This is a read only window.

Click the Import button to open and save an existing SCIEX method.

To create or edit a method, open the BioPhase Method Editor from the BioPhase 8800 file option.

4. (オプション) Method Program タブを開いてアクションを確認します。
5. アクションのパラメータを表示するには、表内の行をクリックします。Parameters ペインが更新されてパラメータが表示されます。

図 8-3 : 装置メソッドエディターの Method Program タブ

#	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			

Parameters - Rinse

Duration: min

Pressure: psi

Reagent Type:

Inlet:

Outlet:

Comments:

6. コンディショニング装置メソッドを保存します。
 - a. **File > Save with Method Set** をクリックします。
Save current Instrument Method ダイアログが開きます。
 - b. **Name** フィールドに名前を入力します。

注: 名前は 30 文字未満である必要があり、英数字、スペース、特殊文字 @、_、% を含めることができます。Waters Empower™ソフトウェアの一部のバージョンでは、30 文字を超える文字やその他の特殊文字を使用できますが、メソッドを Method Editors for BioPhase System ソフトウェアで編集すると、それらの文字が問題を引き起こす可能性があります。

- c. (オプション) **Method Comments** フィールドに情報を入力します。
 - d. プロンプトが表示されたら、**Password** フィールドに現在のユーザーの Waters Empower™ソフトウェアのパスワードを入力し、**Save** をクリックします。

装置メソッドとメソッドセットが現在のプロジェクトに保存されます。

7. **File > Exit** をクリックします。

注: メソッドをインポートした後は、ウィンドウを閉じてから開かない限り、Instrument Method Editor ウィンドウの **Import** ボタンは使用できなくなります。

8. ステップ 3 から 7 を繰り返して、他の装置メソッドおよびメソッドセットを作成します。

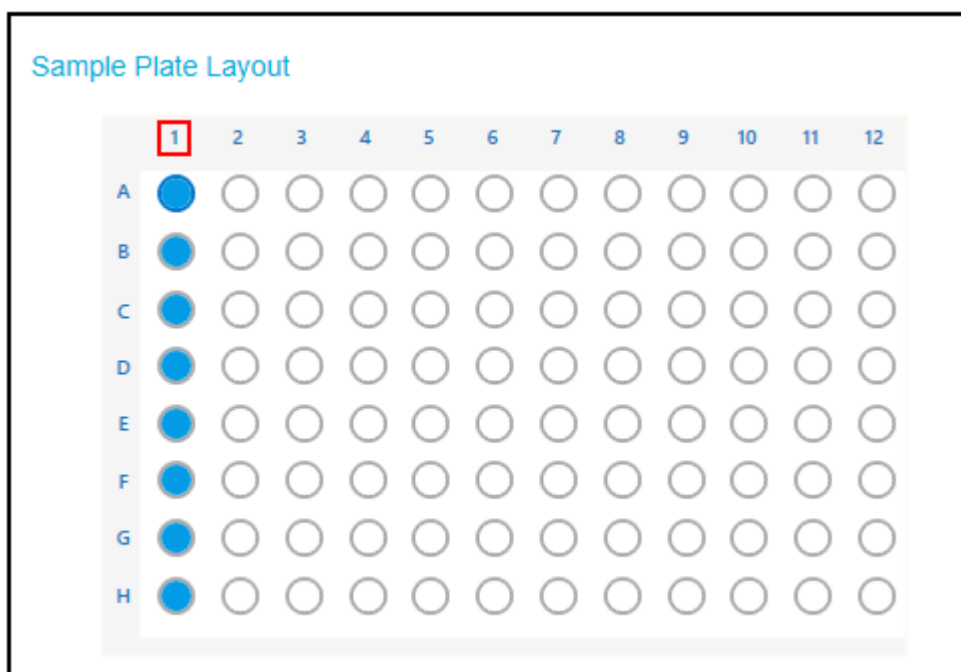
でサンプルセットメソッドを作成

次の手順では、サンプルプレートの1列のウェル数である8個のサンプルのサンプルセットメソッドを作成します。

注: サンプルセットメソッドにはメソッドセットが必要です。必要な装置メソッドがメソッドセットの一部であることを確認します。

1. Waters Empower™ Software Run Samples ウィンドウで、**BioPhase 8800 > BioPhase Sample Set Editor** をクリックします。
Method Editors for BioPhase System ソフトウェアが開き、Sample Set Method Editor ワークスペースが表示されます。
2. **New Sample Set Method** をクリックします。
Sample Set Method Editor が開き、Sample Plate Setup タブが表示されます。
3. Sample Set Summary 表の最初の行で、**Method Set Name** セルをクリックし、**CE-SDS Conditioning** を選択します。
4. Sample Plate Layout ペインで、**1** をクリックします。
サンプルプレートの最初の列が選択され、Sample Set Summary 表が更新されて、選択したウェルが表示されます。

図 8-4 : Sample Plate Layout ペイン



5. 必要なサンプル情報を、Sample Set Summary 表に追加します。行 2 ~ 9 で、次を実行します:
 - a. **Sample Name**、セルにサンプルの名前を入力します。

- b. **Method Set Name** セルをクリックし、リストから **還元 CE-SDS 分離** または適切な分離メソッドを選択します。

ヒント! 行 2 のメソッド セットを選択した後、右クリックして **Apply method to all samples in column** を選択し、メソッドをすべてのサンプルに割り当てます。

6. 最後の行で、**Method Set Name** セルをクリックし、**CE-SDS シャットダウン** を選択します。

図 8-5 : Sample Set Summary 表

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. Validation ペインが表示されている場合は、そのペインをクリックしてエラーを表示します。エラーをクリックして発生した場所を強調表示し、必要な変更を行います。
エラーがない場合、Validation ペインは表示されません。
8. サンプルセットメソッドを保存します。
- a. **SAVE AS** をクリックします。

注: エラーが発生した場合、**SAVE AS** ボタンは有効になりません。Validation ペインのエラーをすべて解決し、**SAVE AS** をクリックします。

Save Sample Set ダイアログが開きます。

- b. **Sample Set Name** フィールドに名前を入力します。

注: 名前は 30 文字未満である必要があり、英数字、スペース、特殊文字 @、_、% を含めることができます。Waters Empower™ソフトウェアの一部のバージョンでは、30 文字を超える文字やその他の特殊文字を使用できますが、メソッドを Method Editors for BioPhase System ソフトウェアで編集すると、それらの文字が問題を引き起こす可能性があります。

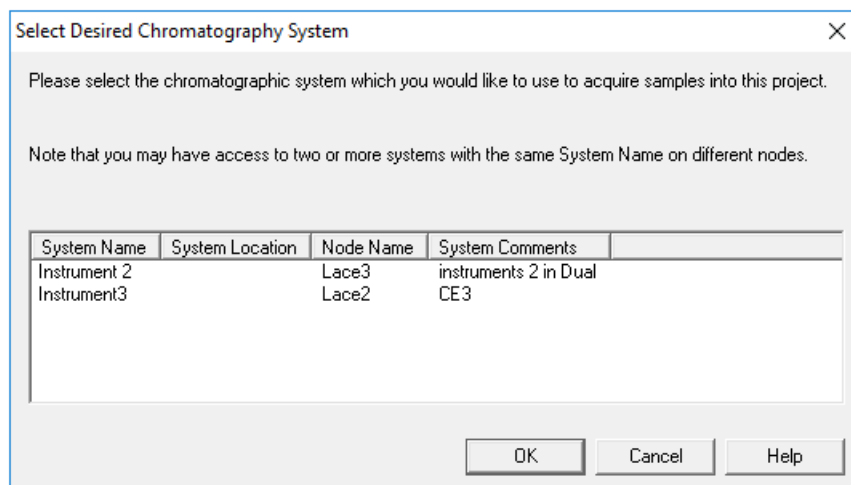
- c. (オプション) **Description** フィールドに情報を入力します。
- d. **Save** をクリックし、**OK** をクリックして保存されたメソッドを確認します。
サンプルセットメソッドは、Waters Empower™ソフトウェアデータベースに保存されます。
9. プレートレイアウトを表示、保存、または印刷するには:
- a. Plate Layouts タブを開きます。

- b. (オプション) **PRINT** をクリックします。
Print Preview ダイアログが開きます。
 - c. 必要に応じて、ボタンをクリックしてプレート レイアウトを印刷または保存します。
次のセクションを参照:ドキュメントの「印刷プレビュー ダイアログ」: ソフトウェア ヘルプ システム。
 - d. 右上隅のクローズボックス、[×]をクリックします。
Print Preview ダイアログが閉じます。
10. Method Editors for BioPhase System ウィンドウ内で、右上隅のクローズ ボックスの[×] をクリックします。
Method Editors for BioPhase System ソフトウェアが終了し、Run Samples ウィンドウが表示されます。

サンプルセットメソッドを開始

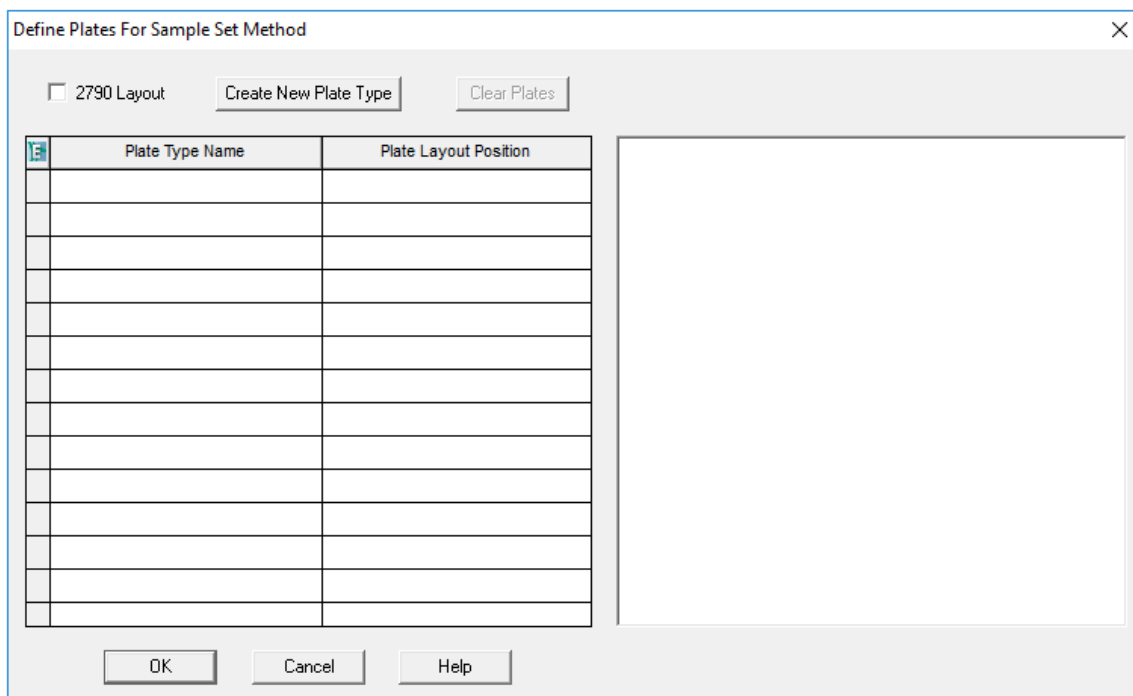
1. カートリッジとプレートをロードします。次のセクションを参照:[BioPhase 8800 システム用の準備](#)。
2. Waters Empower™ソフトウェア Project ウィンドウで、**Tools > Run Samples** をクリックします。

図 8-6 : Select Desired Chromatography System ダイアログ




3. 使用するシステムをクリックし、**OK** をクリックします。
Run Samples ウィンドウが開きます。
4. プレートタイプを設定します。
 - a. **Edit > Plates** をクリックします。

図 8-7 : Define Plates for Sample Set Method ダイアログ



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

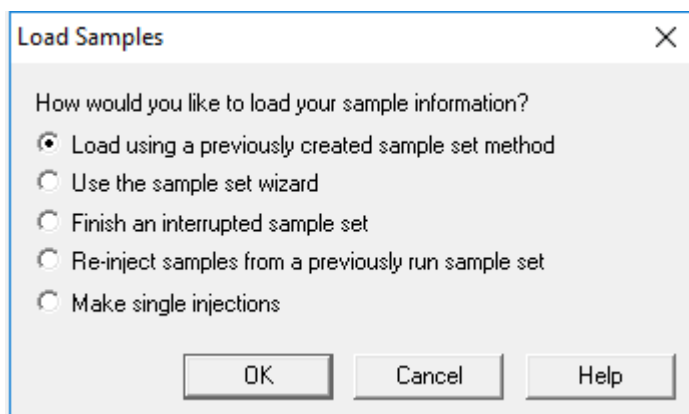
- b. **Plate Type Name** セルをクリックし、**ANSI-96well2mL** を選択します。
ダイアログが更新され、プレートの画像とプレートシーケンスモードのボタンが表示されます。
- c. **Plate Layout Position** セルをクリックして、**1** と入力します。
- d.  をクリックして、実行中のバイアルへのアクセス順を表示します。
- e. **OK** をクリックして変更を保存し、ダイアログを閉じます。

ヒント! プレートの種類を永続的に設定するには、**Customize > Defaults** をクリック、**Plates** をクリックして、**4.e** からステップ **4.b** を実行し、**OK** をクリックします。

Sample Set Method 表で、**Vials** 列の見出しが **Plate/Well** に変わります。

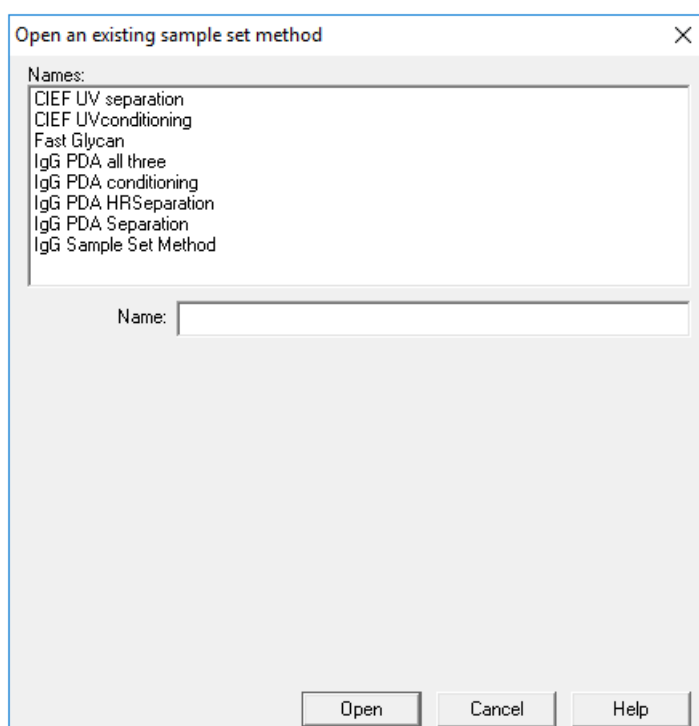
5.  (**Load Sample Set**) をクリックします。

図 8-8 : Load Samples ダイアログ



6. **Load using a previously created sample set method** をクリックし、**OK** をクリックします。

図 8-9 : Open an existing sample set method ダイアログ




7. リストで **CE-SDS Kit Sample Set Method** をクリックし、次に **Open** をクリックします。サンプルセットメソッドが Samples タブで開きます。
8. (オプション) BioPhase 8800 システムに関連する列のみを表示するように表を構成します。
 - a. 右クリックして、**Table Properties** を選択します。Table Properties ダイアログが開きます。
 - b. **Hide All** をクリックし、**Plate/Well**、**# of Injs**、**SampleName**、**Function**、および **Method Set / Report or Export Method** のチェックボックスをオフにします。

c. **OK** をクリックします。

表が更新され、選択した列が表示されます。

図 8-10 : Samples タブ

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


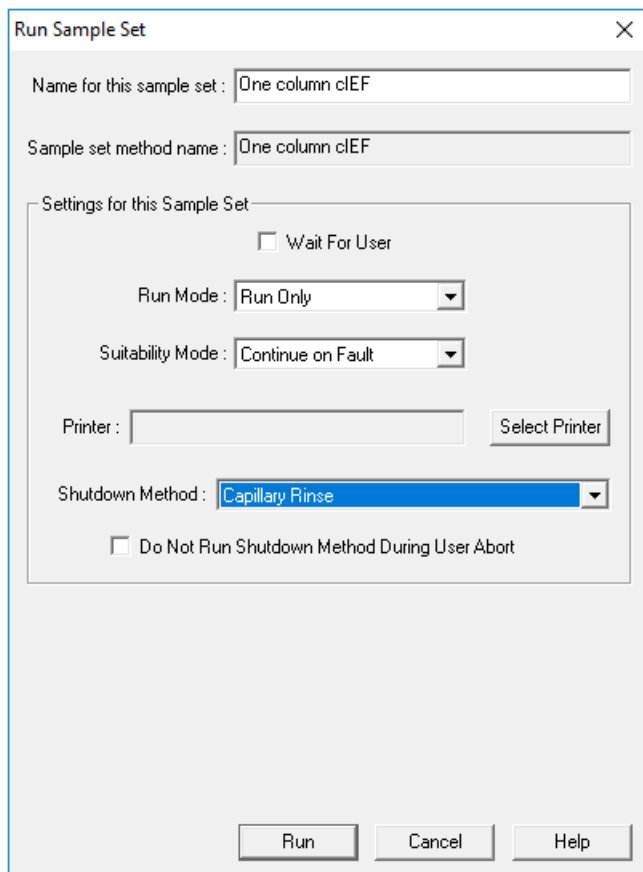
9. サンプルセットメソッドを確認します。正しい試薬プレートのレイアウトが使用されていることを確認してください。変更が必要な場合は、Method Editors for BioPhase System ソフトウェアでメソッドを編集します。装置メソッドまたはメソッドセットの変更は、自動的にサンプルセットのメソッドに反映されます。
10. Waters Empower™ Software Project ウィンドウで、 (**Start**) をクリックします。

図 8-11 : サンプルセットの実行ダイアログ



11. 必要に応じて、Run Sample Set ダイアログで情報を編集します。

- a. 必要に応じて、**Name for this sample set** フィールドを編集します。
- b. (オプション)**Shutdown Method** をクリックし、キャピラリーをすすぎ装置メソッドを選択します。

使用可能な場合は、SCIEX が提供するすすぎメソッドを使用します。すすぎメソッドが利用できない場合は、作成してください。サンプルセットメソッドと同じ試薬セットと次のパラメータを使用します。

- 圧力: 50 psi
- 持続時間: 2 分
- インレット: 水
- アウトレット: 水

実行中にエラーが発生した場合、システムはこの装置メソッドを実行し、その後実行を停止します。

- c. 必要に応じて、**Do Not Run Shutdown Method During User Abort** を選択します。
- d. **Run** をクリックします。

実行が開始されます。実行中、測定中のサンプルの Sample Set Method ウィンドウの行内のテキストが赤色で表示されます。

注意: データ損失の可能性。Empower 用の BioPhase 8800 driver for Empower™ システムステータスがアイドル状態であっても、実行中の Direct Control ペイン。いかなるアクションもデータの取得を妨げる可能性があります。

Waters Empower™ソフトウェアで実行をモニタ

この手順を使用して、サンプル セットメソッドの進行状況をモニタし、必要に応じて一時停止または停止します。

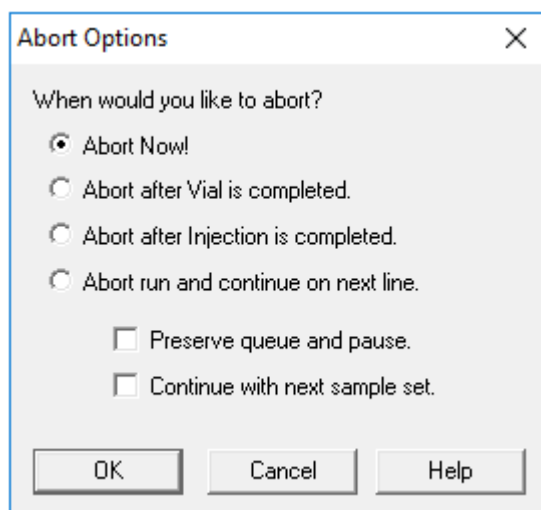
注: Waters Empower™ソフトウェアのほとんどのペインはクロマトグラフィー用に設計されています。次のステップに従って、キャピラリー電気泳動分離の進行状況を監視し、Time Remaining および Solvent Required ペインの情報を無視します。

1. 問題が検出された場合は、 (**Abort**) をクリックして実行を中止します。

注意: データ損失の可能性。すべてのデータが保存されるまで実行を停止しないでください。次の行にサンプルセットメソッドがあるときにデータが保存されます。

注: Direct Control ペインの **Stop** ボタンは使用しないでください。このボタンは、Direct Control ペインから開始された機能に対してのみ動作します。

図 8-12 : Abort Options ダイアログ



注意: システムに損傷を与える恐れ。実行が停止され、再開されない場合は、カートリッジを保管する前にシャットダウン方法を使用してキャピラリーをすすぎます。キャピラリーがすすがれていない場合、電解質の塩の結晶または沈殿物が蓄積し、キャピラリーの詰まり、不適切な圧力シール、サンプル注入時のエラー、アーク放電、または漏電を収集および引き起こす可能性があります。

注意: システムに損傷を与える恐れ。分析を再開する前に、試薬のオーバーフローや装置の損傷を防ぐために、必ずアウトレットプレートを空にするか交換してください。

注意: 結果が不正確になる可能性。運転を再開する前に、新しい試薬プレートを準備します。運転が停止した場合は、運転の完了に利用できる試薬が十分でない可能性があります。

注意: 結果が不正確になる可能性。サンプルが 24 時間以上システム内にある場合は、分析を再開する前にサンプルを廃棄してください。劣化している可能性があります。

実行が終了すると、Sample Set Method ウィンドウのすべての行内のテキストが赤色になります。


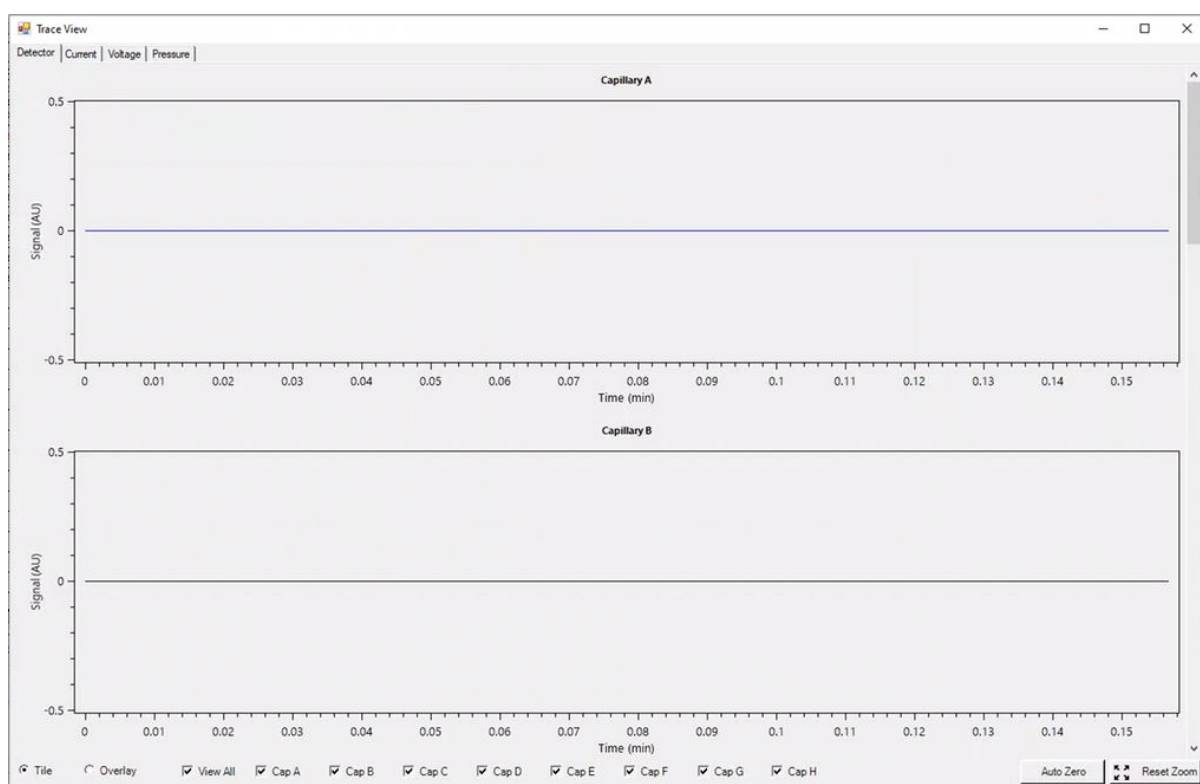


- データの取得中にデータを表示するには、Direct Control ペインで  (Monitor) をクリックします。
Trace View ウィンドウが開き、データが表示されます。

図 8-13 : Trace View ウィンドウ



- 必要に応じて、次のいずれかを行います。
 - 電流、電圧、または圧力を表示するには、左上の該当するタブを開きます。
 - すべてのキャピラリーのデータを含む 1 つのグラフを表示するには、左下の **Overlay** をクリックします。

- 特定のキャピラリーのデータを表示するには、ウィンドウの下部にあるチェックボックスをオンまたはオフにして、目的のキャピラリーを選択します。
 - トレース上の任意の点の時間と検出器の値を表示するには、目的の位置でトレースをクリックします。
 - データをズームするには、**Overlay** が選択されていることを確認し、ドラッグしてズームするエリアを選択します。マウスのスクロールホイールを使用してズームすることもできます。
 - データを元のサイズに戻すには、右下の **Reset Zoom** をクリックします。
 - ズームしたプロットの別の領域を表示するには、X 軸または Y 軸を右クリックしてドラッグします。
4. 必要に応じて、右下にある **Auto Zero** をクリックします。
検出器信号はゼロに設定されます。
 5. **Abort** ボタン () が赤から緑 () に変わるまで待ちます。
データの取得からすべてのデータが保存されるまでに時間がかかる場合があります。緑色のボタンは、すべてのデータが保存されたことを示します。
 6. 必要に応じて、サンプルと試薬を廃棄します。次のセクションを参照: [廃棄物処理](#)。
 7. 必要に応じて、カートリッジを保管します。次のセクションを参照: [実行後にカートリッジを保管](#)。

各対策が完了した後、症状が是正されたことを確認するために、再度分析を行うことをお勧めします。

症状	考えられる原因	対策
カートリッジ不検出エラー	<ol style="list-style-type: none"> 1. カートリッジの ID チップが汚れている。 2. システムの接続ピンが汚れている。 3. BioPhase 8800 システムファームウェアが最新ではない。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 糸くずの出ないラボ用の布または綿棒をエタノールまたはイソプロパノールで湿らせ、ID チップの表面を拭きます。ID チップを空気乾燥させてからカートリッジを取り付けます。 2. 糸くずの出ないラボ用の布または綿棒をエタノールまたはイソプロパノールで湿らせ、接続ピンを拭きます。ピンを空気乾燥させてからカートリッジを取り付けます。 3. 次を実行します。 <ol style="list-style-type: none"> a. BioPhase 8800 システムの前面パネルで、左上隅のアイコンをタッチします。 b. ファームウェアのバージョンを記録します。 c. お問い合わせ先 sciex.com/request-support。
実行開始時にエラーが発生	<ol style="list-style-type: none"> 1. カートリッジのウィンドウが結露したため、実行開始時光学スキャンに失敗しました。 2. 光学ドアの開閉によりセンサーエラーが発生しました。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. シャットダウン方法では、結露を防ぐために Sample Storage 温度を 20 °C に上げます。 2. 電源を切り、BioPhase 8800 システムの電源を入れます。必ず手順に従って UV フィルターを交換し、指示された以外は光学ドアを開けないでください。次のセクションを参照:ドキュメントの「UV フィルターの取り付け」:オペレータガイド。

症状	考えられる原因	対策
<p>ピークのプロード化、 分解能の低下</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーの端が損傷している。 2. サンプル濃度が高すぎる。 3. キャピラリーが詰まっている。 4. キャピラリーの内面が汚れている。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーの端の状態を評価するには、以下の手順に従います。 <ul style="list-style-type: none"> • 拡大レンズで点検します。 • 糸くずの出ないラボ用の布を使って、キャピラリーのインレットを外側に向けて丁寧に拭きます。 • キャピラリーの端が金のカニユーレ電極から約 2 mm 出ていることを確認します。 • キャピラリーの端が縦切りになっていることを確認します。キャピラリーが使用できない場合は、次のセクションを参照：キャピラリーが詰まった、または損傷した場合のオプション。 2. 次のいずれかまたはすべてを行ってください。 <ul style="list-style-type: none"> • 分離メソッドの Inject アクションの Duration を減らして、注入するサンプルを減らします。満足のいく結果が得られない場合は、Pressure または Voltage を下げます。 • サンプルをサンプル希釈液で再び希釈します。 3. 次のセクションを参照：キャピラリーが詰まった、または損傷した場合のオプション。 4. シーケンスを編集して汚染されたキャピラリーを省略するか、カートリッジを交換します。

症状	考えられる原因	対策
キャリーオーバー	<ol style="list-style-type: none"> 1. サンプル濃度が高すぎる。 2. 試薬プレートがサンプルで汚れている。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 次のいずれかまたはすべてを行ってください。 <ul style="list-style-type: none"> • 分離メソッドの Inject アクションの Duration を減らして、注入するサンプルを減らします。満足のいく結果が得られない場合は、Pressure または Voltage を下げます。 • サンプルをサンプル希釈液で再び希釈します。 2. 分離メソッドでは、サンプル注入後に 1 つ以上の水浸ステップを追加します。編集したメソッドで: <ol style="list-style-type: none"> a. この分離メソッドを使用する新しいシーケンスを作成します。 b. 新しいシーケンスに対応した新しい試薬プレートを準備します。次のセクションを参照: 試薬のインレットとアウトレットのプレートをセット。
高電流	<ol style="list-style-type: none"> 1. ゲル緩衝液が汚れている。 2. 試薬プレートの試薬の位置がシーケンス内のプレートレイアウトと一致していない。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ゲル緩衝液を交換するため、再度インレット試薬プレートとアウトレット試薬プレートを準備します。 2. 試薬プレート内の試薬の位置が、プレートレイアウトと一致していることを確認します。位置が正しくない場合は、プレートレイアウトに従ってプレートを再度準備します。次のセクションを参照: プレートのレイアウト。

症状	考えられる原因	対策
<p>低電流または不安定な低電流</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーの端が詰まっているか、汚染されている。 2. ゲル緩衝液に気泡がある。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 次のセクションを参照: キャピラリー内の詰まりを取り除く。電流が少ない、または安定していない場合は、カートリッジを交換します。 2. 次のいずれかまたはすべてを行ってください。 <ul style="list-style-type: none"> • 遠心分離機を使用して、プレートを 30 g で 5 分間回転させ、気泡を取り除きます。 • 5 インチ Hg から 15 インチ Hg の真空で 5 分間 5 インチ Hg から 15 インチ Hg の真空で 5 分間、ゲル緩衝液を脱気します。
<p>エレクトロフェログラムサンプルにおけるピークの欠落</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. サンプルの調製中にピペティングエラーが発生した。 2. メソッドパラメータが正しくない。 3. 試薬プレートの試薬の位置がシーケンス内のプレートレイアウトと一致していない。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 新しいサンプルを調製します。 2. 次を実行します。 <ul style="list-style-type: none"> • Method Settings で、Detector Type の値が正しいことを確認します。 • 分離メソッド、Type of Injection と Duration の値が正しいことを確認します。 • 分離メソッドでは、Wavelength の値が 220 nm であることを確認します。 3. サンプルプレート内のサンプルの位置が、プレートレイアウトと一致していることを確認します。位置が正しくない場合は、プレートレイアウトに従ってプレートを再度準備します。次のセクションを参照: 試薬、プレートのレイアウト、メソッド。

症状	考えられる原因	対策
分離時に電流がない	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーが損傷している。 2. 電極が破損しているか、曲がっている。 3. キャピラリーの端が詰まっているか、汚染されている。 4. 試薬プレートの試薬の位置がシーケンス内のプレートレイアウトと一致していない。 5. キャピラリーが気泡で満ちている。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 次のセクションを参照: キャピラリーが詰まった、または損傷した場合のオプション。 2. カートリッジを交換します。 3. 次のセクションを参照: キャピラリー内の詰まりを取り除く。 4. プレート内のサンプルや試薬の位置が、プレートレイアウトと一致していることを確認します。位置が正しくない場合は、プレートレイアウトに従ってプレートを再度準備します。次のセクションを参照: プレートのレイアウト。 5. 次のいずれかまたはすべてを行ってください。 <ul style="list-style-type: none"> • サンプルプレートと試薬プレートのウェルに十分な溶液があることを確認します。 • 試薬プレート内の試薬の位置が、プレートレイアウトと一致していることを確認します。位置が正しくない場合は、プレートレイアウトに従ってプレートを再度準備します。次のセクションを参照: プレートのレイアウト。 • 遠心分離機を使用して、プレートを 30 g で 5 分間回転させ、気泡を取り除きます。

症状	考えられる原因	対策
ピークなし	<ol style="list-style-type: none"> 1. UV ランプの寿命を超えた。 2. メソッドパラメータが正しくない。 3. サンプルウェル内に気泡があり、サンプル注入ができない。 4. キャピラリーウィンドウがブロックされている。 5. キャピラリーの端が詰まっているか、汚染されている。 6. サンプル量が少なすぎる。 7. サンプルウェルにサンプルが入っていない、またはサンプルプレートのサンプルの位置がシーケンス内のプレートレイアウトと一致していない。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 次のセクションを参照:ドキュメントの「UV ランプの取り付け」: オペレータガイド。 2. 次を実行します。 <ul style="list-style-type: none"> • Method Settings で、Detector Type の値が UV であることを確認します。 • Inject および Separate アクションでは、Polarity の値が Reverse であることを確認します。 • 分離メソッドでは、Wavelength の値が 220 nm であることを確認します。 • 分離中にインレットとアウトレットに圧力がかかっていることを確認します。 3. 遠心分離機を使用して、プレートを 30 g で 5 分間回転させ、気泡を取り除きます。 4. キャピラリーウィンドウを調べます。ウィンドウがきれいで、パスが明確であることを確認します。次のセクションを参照: キャピラリーカートリッジの検査。 5. 次のセクションを参照: キャピラリーが詰まった、または損傷した場合のオプション。キャピラリーを調整します。次のセクションを参照: キャピラリーの調整。 6. サンプルウェルに 100 µL のサンプルが入っていることを確認します。 7. サンプルプレート内のサンプルの位置が、プレートレイアウトと一致していることを確認します。次のセクションを参照: プレートのレイアウト。

症状	考えられる原因	対策
エレクトロフェログラムのスパイク	1. ゲル緩衝液に気泡がある。	1. 次のいずれかまたはすべてを行ってください。 <ul style="list-style-type: none"> • 遠心分離機を使用して、プレートを 30 g で 5 分間回転させ、気泡を取り除きます。 • 5 インチ Hg から 15 インチ Hg の真空で 5 分間 5 インチ Hg から 15 インチ Hg の真空で 5 分間、ゲル緩衝液を脱気します。

キャピラリー内の詰まりを取り除く

1. CE Grade Water を使用して、75 psi で 10 分間、キャピラリーを洗浄します。
2. CE Grade Water を使用して、キャピラリーのインレットを洗浄します。
3. 糸くずの出ないラボ用の布を使って、キャピラリーのインレットを外側に向けて丁寧に拭きま
- す。
4. キャピラリーの状態を評価するには、次の手順に従います。
 - a. Direct Control を使用して、キャピラリーに分離ゲルを充填します。
 - b. 試薬トレイの分離緩衝液の中に、インレットとアウトレットのキャピラリーを入れます。
 - c. 分離電圧を印加し、電流の安定性をモニタリングします。
5. 詰まりが取れない場合は、シーケンスを編集して破損したキャピラリーを省略するか、またはカートリッジを交換します。

キャピラリーが詰まった、または損傷した場合のオプション

キャピラリーの詰まりが除去できない場合やキャピラリーが損傷している場合は、シーケンスを編集して詰まりや損傷のあるキャピラリーを省きます。次のセクションを参照：[シーケンスの作成](#)。

キャピラリーの調整

- 必要に応じて、CE-SDS Conditioning メソッドを用いてキャピラリーを調整します。

有害物質情報

A

以下の情報に注意し、関連する安全対策を講じる必要があります。詳細な情報については、それぞれの安全データシートを参照してください。安全データシートは、ご要望に応じて提供していますが、当社のウェブサイト sciex.com/tech-regulatory からダウンロードすることもできます。

HCS 2012 による危険物分類。

Acid Wash/Regenerating Solution (0.1 M HCl)



危険! 重度のやけどおよび目の損傷を引き起こします。

Capillary Regenerator Solution A Basic Wash (0.1 M NaOH)



危険! 重度のやけどおよび目の損傷を引き起こします。

CE-SDS Gel Buffer、pH 8、0.2% SDS



危険! 軽度の皮膚炎を引き起こします。胎児の生殖能力を損なう恐れがあります。

IgG 制御基準

警告! 軽度の皮膚炎を引き起こします。

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

警告! 軽度の皮膚炎を引き起こします。

その他の試薬

これらのコンポーネントは有害物質として分類されていません。

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

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

-
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."

必要なファイルのダウンロード

C

使用するソフトウェアによって手順が異なります。

- BioPhase ソフトウェアのユーザー、次のセクションを参照: [必要なファイルをダウンロードして構成 \(BioPhase ソフトウェア\)](#)。
- Waters Empower™ソフトウェアのユーザー、次のセクションを参照: [必要なファイルをダウンロードして設定 \(Waters Empower™ソフトウェア\)](#)。

必要なファイルをダウンロードして構成 (BioPhase ソフトウェア)

CE-SDS Protein Analysis キットのメソッド、シーケンス、試薬、および分析パラメータを含むファイルは、sciex.com サイトで入手できます。次の手順に従ってファイルをダウンロードし、次に適切な場所にコピーします。

注: 以下の手順は、BioPhase ソフトウェアバージョン 1.1 を使用する場合にのみ必要です。CE-SDS Protein Analysis キットに必要なファイルは、BioPhase ソフトウェア バージョン 1.2 以降の一部として含まれています。

1. sciex.com/software-support/software-downloads にアクセスし、More software downloads セクションで **BioPhase Resources** をクリックします。
2. BioPhase Project Files 1.2 をクリックします。
3. File Explorer で BioPhase_1.2.zip ファイルを右クリックし、**Extract All** をクリックして、インストールパッケージを展開します。
4. 場所を参照し、**Select Folder** をクリックして、次に **Extract** をクリックします。展開したファイルは、選択したファイル パスにコピーされます。
5. 展開したファイルを正しい場所に配置します。次を実行します。

注: 次の手順では、BioPhase ソフトウェアプロジェクトフォルダがデフォルトの場所にあることを前提としています: C:\Biophase プロジェクトフォルダが別の場所にある場合は、展開したファイルをその場所に配置します。

- a. BioPhase_1.2\Projects\CE-SDS フォルダを C:\BioPhase\Projects にドラッグします。
- b. BioPhase_1.2\Reagents\CE-SDS フォルダを C:\BioPhase\Reagents にドラッグします。
- c. BioPhase_1.2\Data Analysis\CE-SDS フォルダを C:\BioPhase\Data Analysis にドラッグします。

必要なファイルをダウンロードして設定 (Waters Empower™ ソフトウェア)

CE-SDS Protein Analysis キットに必要なファイルは、[sciex.com](https://www.sciex.com) で入手できます。次の手順に従ってファイルをダウンロードし、次に適切な場所にコピーします。



1. [sciex.com/software-support/software-downloads](https://www.sciex.com/software-support/software-downloads) にアクセスし、More software downloads セクションで **BioPhase Driver Resources** をクリックします。
2. Click **BioPhase Method Files 1.3** をクリックします。
3. File Explorer で BioPhase-Empower-Method-Files-1.3.zip ファイルを右クリックし、次に **Extract All** をクリックします。
4. メソッドファイルを保存する場所を参照し、**Select Folder** をクリックして、**Extract** をクリックします。
抽出ファイルが抽出され、指定した場所にコピーされます。

試薬セット

試薬が利用できない場合は、次の図を使用して新しい試薬セットを作成します。次の図を参照：[図 D-1](#) および [図 D-2](#)。

図 D-1 : CE-SDS Protein Analysis キットインレット試薬

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

図 D-2 : CE-SDS Protein Analysis キット アウトレット試薬

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

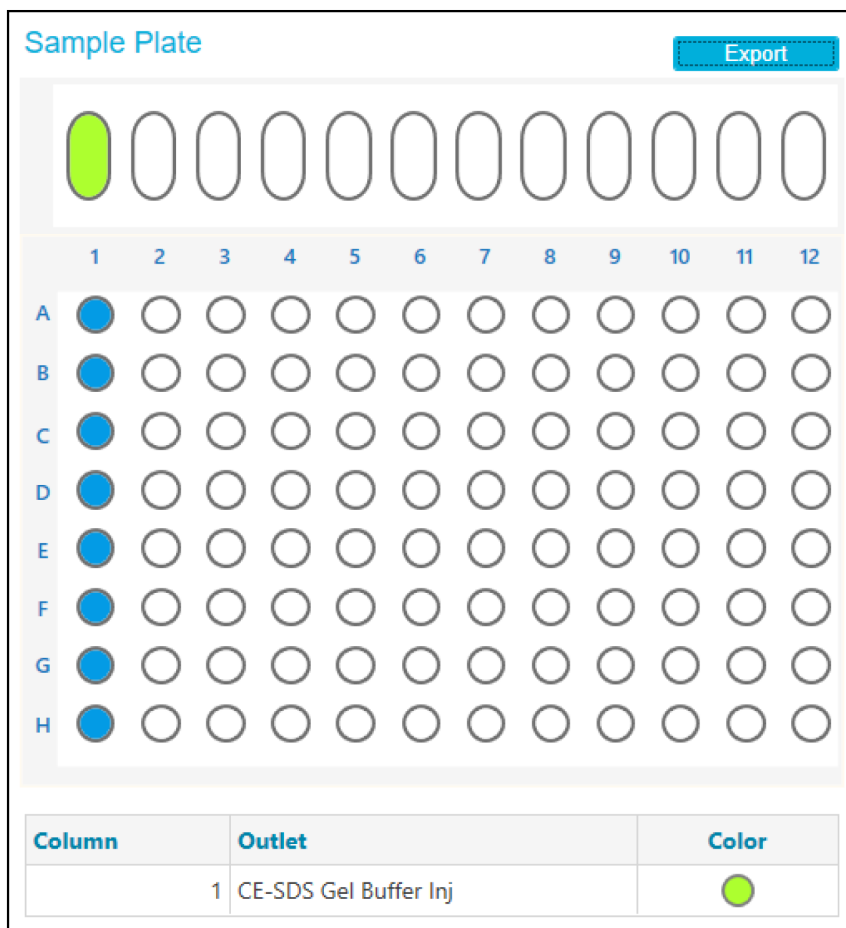
プレートのレイアウト

注: 以下の図は、ソフトウェアに付属のシーケンスに対応するプレートのレイアウトです。プレートのレイアウトはすべてのシーケンスで共通です。サンプルの追加や試薬の位置の編集を行った場合、以下のレイアウトは正しくありません。

サンプルプレート

注: 一番上の行は、サンプル出口プレートのレイアウトを示します。下のセクションは、サンプルインレットプレートのレイアウトを示します。

図 D-3 : サンプルインレットプレートとサンプルアウトレットプレートのレイアウト



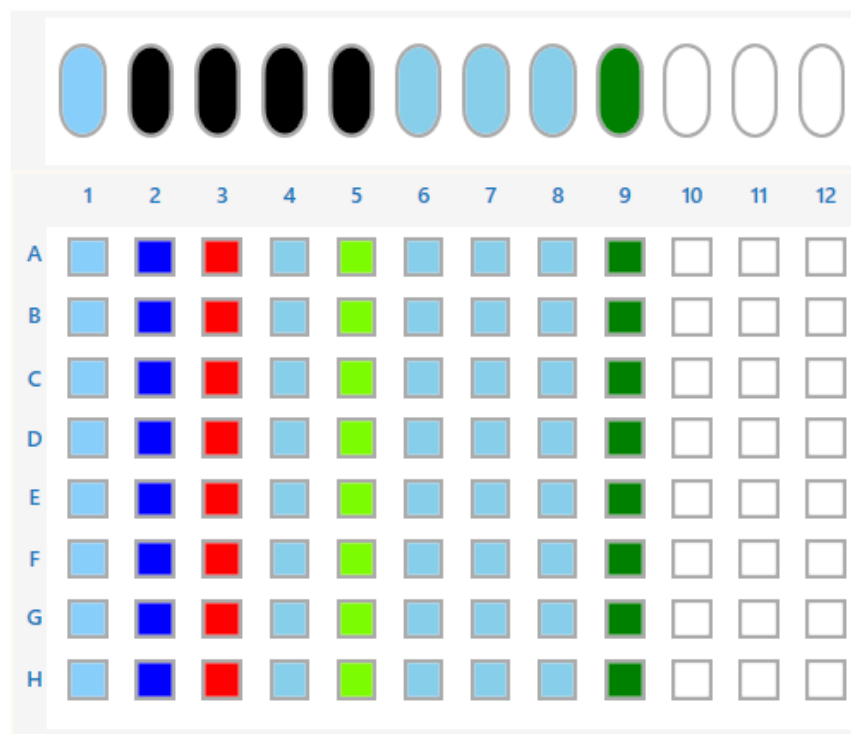
一番上の行は、試薬アウトレットプレートのレイアウトを示します。

注: 一番上の行は、試薬アウトレットプレートのレイアウトを示します。下のセクションは、試薬インレットプレートのレイアウトを示します。

試薬、プレートのレイアウト、メソッド

図 D-4 : 試薬インレットプレートと試薬アウトレットプレートのレイアウト

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	●

メソッド

メソッドの作成方法については、次のドキュメントを参照: *Software Help System*。

メソッド設定

注: すべてのメソッドでこの設定を使用します。

図 D-5 : CE-SDS Protein Analysis メソッドのメソッド設定

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









コンディショニングメソッド

図 D-6 : CE-SDS Conditioning メソッドにおけるアクション



図 D-7 : CE-SDS Conditioning メソッドにおけるアクションの概要

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

非還元サンプルの分離メソッド

図 D-8 : 非還元 CE-SDS 分離メソッドにおけるアクション

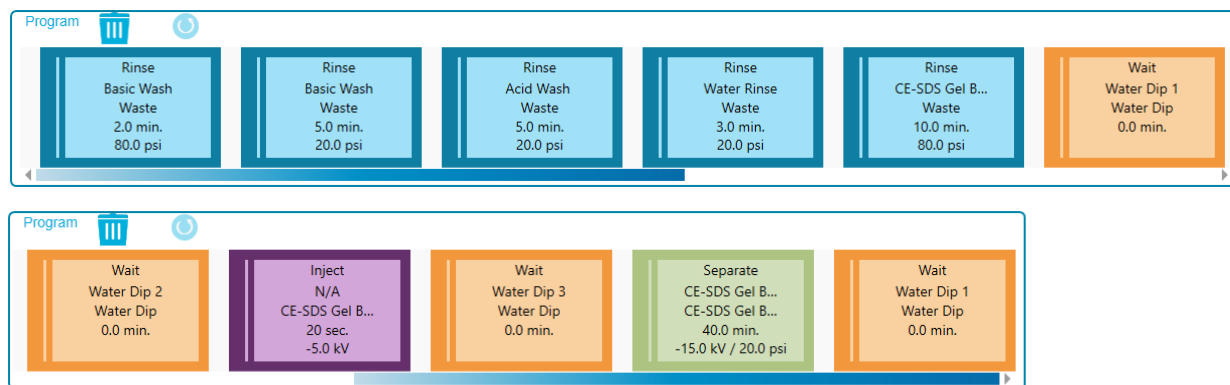














図 D-9 : 非還元 CE-SDS 分離メソッドにおけるアクションの概要

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

還元サンプルの分離メソッド

図 D-10 : 還元 CE-SDS 分離メソッドにおけるアクション

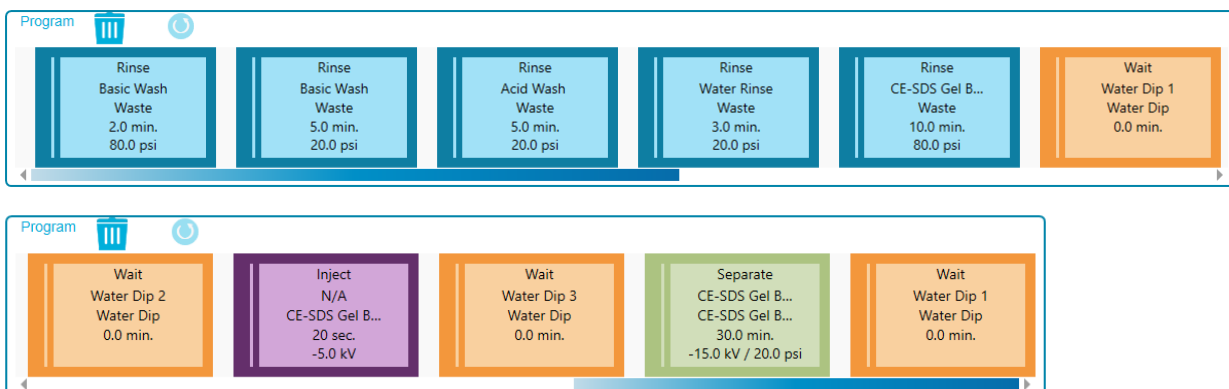














図 D-11 : 還元 CE-SDS 分離メソッドにおけるアクションの概要

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

低 pH サンプル緩衝液で調製したサンプルの分離メソッド

図 D-12 : 低 pH サンプル緩衝液分離メソッドにおけるアクション

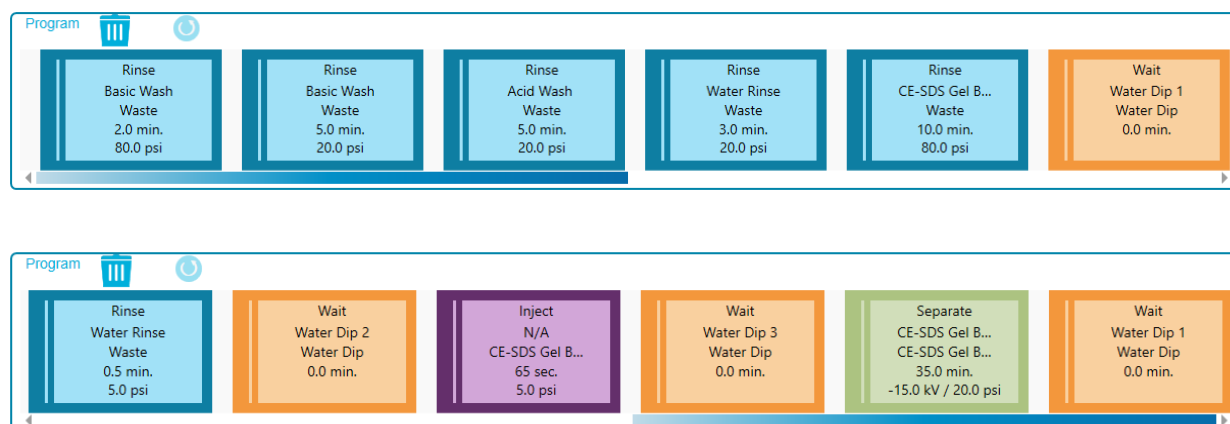















図 D-13 : 低 pH サンプル緩衝液分離メソッドにおけるアクションの概要

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









シャットダウンメソッド

図 D-14 : CE-SDS シャットダウン メソッドにおけるアクション



図 D-15 : CE-SDS シャットダウン メソッドにおけるアクションの概要

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	

お問い合わせ先

お客様のトレーニング

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

オンライン学習センター

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

消耗品と試薬の購入

SCIEX の消耗品と試薬は store.sciex.com からオンラインでご注文いただけます。ご注文の場合には見積書、注文確認書、または発送書類に記載されているアカウント番号をお使いください。現在は、米国、英国、ドイツのお客様がオンラインストアにアクセスできますが、今後、他の国にもアクセスを拡大する予定です。米国、英国、ドイツ以外のお客様は、地域の SCIEX サービス担当者までご連絡ください。

SCIEX サポート

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

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

サイバーセキュリティ

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

ドキュメント

このバージョンのドキュメントは、以前のすべてのバージョンのドキュメントに優先します。

このドキュメントを電子的に閲覧するには Adobe Acrobat Reader が必要です。最新バージョンをダウンロードするには、次にアクセスしてください <https://get.adobe.com/reader>。

ソフトウェア製品のドキュメントについては、ソフトウェアに付属のリリースノートまたはソフトウェアインストールガイドを参照してください。

お問い合わせ先

ハードウェア製品のマニュアルについては、システムまたはコンポーネントに付属の説明書を参照してください。

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

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