
CZEラピッドチャージバリアント分析 キット

PA 800 Plus医薬品分析システム用
オペレータガイド

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

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

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

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

研究専用。診断手順には使用しないでください。

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

AB SCIEX™ はライセンスの下で使用されています。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



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

目次

CZE Rapid Charge Variant

Analysisキット.....	5
安全性.....	5
使用目的.....	5
必要な機器と材料.....	5
保管条件.....	6
顧客が用意する機器および材料.....	6
必要な検出器.....	7
必要なカートリッジまたはキャピラリー.....	7
メソッドとシーケンス.....	7
サンプルの準備.....	8
IgGテストサンプルを準備する.....	8
タンパク質テスト混合サンプルを準備する.....	8
タンパク質サンプルの準備.....	8
タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施する.....	9
PA 800 Plus システムを準備する.....	9
UV検出器 の取り付け.....	10
インターフェースブロックをクリーニングする.....	10
カートリッジを取り付ける.....	10
緩衝液トレイをロードする.....	10
サンプルトレイをロードする.....	12
サンプルを実行する.....	14
サンプルプロジェクトを作成する.....	14
シーケンスを作成して実行を開始する.....	15
廃棄物処理.....	19
カートリッジを保管する.....	19
カートリッジを保管する.....	19
保管後のカートリッジを準備する.....	20
データの分析.....	20
NIST IgGサンプルのデータを分析する.....	20
タンパク質テスト混合サンプルのデータを分析する.....	21
トラブルシューティング.....	22
キャピラリーをクリーニング.....	25
A 有害物質情報.....	27
B メソッド.....	28
キャピラリーコンディショニングメソッド.....	28
分離メソッド.....	29
シャットダウンメソッド.....	31

目次

お問い合わせ先.....	33
お客様のトレーニング.....	33
オンライン学習センター.....	33
消耗品を購入する.....	33
SCIEXサポート.....	33
サイバーセキュリティ.....	33
ドキュメント.....	34

CZE Rapid Charge Variant Analysisキット

SCIEX CZE Rapid Charge Variant Analysisキットは、PA 800 Plus Pharmaceutical Analysis Systemを使用して、モビリティに基づいてタンパク質のチャージバリエーションを分析するために必要な試薬を提供します。このメソッドは、チャージバリエーションを定量化するために使用できる高速で単純な分離です。ベアフェーズドシリカキャピラリーの分離マトリックスと動的コーティングの両方として機能する緩衝液を使用します。

このドキュメントでは、CZE Rapid Charge Variant Analysisキットを使用したサンプル調製について説明します。また、PA800 Plusソフトウェアソフトウェアを使用したデータ収集およびデータ分析の手順も提供します。

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

安全性

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

使用目的

CZE Rapid Charge Variant Analysisは、検査室専用です。

必要な機器と材料

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

CZE Rapid Charge Variant Analysisキット

表 1 CZE Rapid Charge Variant Analysisキット(部品番号 C44790)

コンポーネント	数量	部品番号の再注文
酸洗浄/再生液 (0.1 M HCl)	125 mL	C44790
CZE Rapid Charge Variant Separation buffer	140 mL	該当なし
CE-Grade Water	140 mL	C48034
タンパク質テスト混合	3 mg	477436

表 2 SCIEX の追加材料

コンポーネント	数量	部品番号
PCRマイクロバイアル (200 µL)	100	144709
ユニバーサルバイアルキャップ、ブルー	100	A62250
ユニバーサルバイアル	100	A62251

表 3 追加の必要な試薬または材料

説明	ベンダー	部品番号
米国国立標準技術研究所 (NIST) ヒト化IgG1κモノクローナル抗体	NIST	8671
(オプション) Ultracel-10メンブレンを備えたAmicon Ultra-4遠心フィルターユニット	ミリポア	UFC801024

保管条件

- 受領後、CZE Rapid Charge Variant Analysisキットを2°C~8°Cで保管します。
- 受領後、NIST IgGサンプルを-35°C~-15°Cで保管します。NIST IgGサンプルを初めて解凍した後、必要な量を取り除き、残りを-35°C~-15°Cの分割量で保管します。

顧客が用意する機器および材料

- 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

- 実験用白衣
- マイクロ遠心分離機または同等品、および微小遠心分離管
- ボルテックスミキサー
- ピペットと適切なヒント。
- 分析バランス

必要な検出器

214 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またはキャピラリー

次のいずれか:

- 組み立て済みカートリッジ (部品番号 A55625)
- キャピラリーカートリッジ (部品番号 144738) およびキャピラリー、ベアフェーズドリカ、内径50 µm (部品番号 338451)

メソッドとシーケンス

sciex.com からメソッドとシーケンスをダウンロードします。メソッドとシーケンスは、32 Karat™ 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。[メソッド](#)を参照してください。

メソッドをPA 800 Plusコントローラー : C:\32Karat\projects\CZE\Method に保存します。

シーケンスを C:\32Karat\projects\CZE\Sequence に保存します。

公開時点では、SCIEX のウェブサイトで見つけられ、シーケンスと次のメソッドを利用できます。

- **CZE Analysis.seq:** シーケンス。
- **CZE Rapid Charge Variant Analysis.met:** サンプルの分離を実行します。
- **CZE Capillary Conditioning.met:** 毎日の開始時にキャピラリーを調整します。
- **CZE Shutdown.met:** シーケンスの最後にキャピラリーをクリーニングし、UVランプをオフにします。

サンプルの準備

IgGテストサンプルを準備する

1. IgGテストサンプルを準備する。
 - 最初の実行では、NIST IgGサンプルを含むバイアルを室温で解凍し、10 µLずつ溶液を分取します。
分割量を1つ予約し、残りの分割量を-35°C~-15°Cで最大5年間保管します。
 - その後の実行では、10 µLの分割量の1つを室温で解凍します。
2. ストック溶液の入ったバイアルに90 µLのCEグレード水を加えます。
最終濃度は1 mg / mLです。
3. バイアルを最大速度で10秒間ボルテックスして混合します。
4. マイクロ遠心分離機で、バイアルを最大速度で5秒間遠心分離して、サンプルをバイアルの底に移動させます。
5. 95 µLをマイクロバイアルに慎重に移します。
バイアルの底に気泡がないことを確認してください。気泡が存在する場合は、手順 4 を繰り返します。

タンパク質テスト混合サンプルを準備する

タンパク質テスト混合はトラブルシューティングに使用できます。テスト混合で数回実行するか、通常のサンプルと同じ実行のコントロールとして含めます。タンパク質テスト混合の結果が正しい場合、分離は機能しており、他のサンプルに問題があります。

1. タンパク質テスト混合を含むバイアルに2 mLのCE-グレード水を加え、1分間ボルテックスして混合します。
溶液には、各分析試料に対してリゾチーム、シトクロムC、リボヌクレアーゼAが0.5 mg/mL含まれます。
2. 凍結と解凍の繰り返しを制限するには、溶液の一部を0.5 mLマイクロバイアルに分取します。実験計画に適したボリュームを選択してください。
使用していないときは、-35°C~-15°Cで最大2年間保管します。

注：タンパク質テスト混合は、CZE分離緩衝液の性能を確認するために使用されません。これは分子の性能を示すものではありません。

タンパク質サンプルの準備

IgGテストサンプルと同様に、1 mg/mLの最終タンパク質濃度が推奨されます。

1. サンプルをバイアルに加え、CE-Grade Waterで希釈します。
最終濃度は1 mg / mLです。
2. バイアルを最大速度で10秒間ボルテックスして十分に混合します。
3. マイクロ遠心分離機で、バイアルを最大速度で5秒間遠心分離して、サンプルをバイアルの底に移動させます。

注：CZE分離緩衝液は、pIが7以上の分子用に設計されています。

エレクトロフェログラムにピークが表示されない場合は、サンプルを最終濃度0.5 mg/mLに希釈してから、サンプルを再度実行します。

タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施する

この分析のシグナル強度と分解能は、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します。次の手順でMicrocon-10 kDa遠心分離フィルターユニットとの緩衝液交換を行います。

1. 1mLのサンプルをMicrocon-10 kDa遠心フィルターユニットに追加します。
2. 4,000 gで 15 分間遠心分離します。
3. 2 mLの20 mM トリス、pH 7.8をフィルターユニットに加え、4,000gで25分間遠心分離します。
4. ステップ 3を2回繰り返します。
5. Microcon-10 kDa遠心フィルターユニットをバイアルに取り付け、1,000gで3分間遠心分離します。
サンプル溶液がバイアルに回収されます。
6. 収集したタンパク質溶液を適切な滅菌チューブに移します。
7. SDS-MW Sample Bufferを最後の1 mLの容量に加えます。
タンパク質サンプルの最終濃度は1 mg/mLでなければなりません。

PA 800 Plus システムを準備する

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

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

UV検出器 の取り付け

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

インターフェースブロックをクリーニングする

注意：システムに損傷を与える恐れ。緩衝液が電極、オープニングレバー、キャピラリーの端、インターフェースブロックに結晶化しないようにしてください。塩の結晶は、キャピラリーの破損、電極の曲がり、バイアルの詰まり、注入の失敗につながる可能性があります。

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

定期的かつ徹底的な洗浄を行わないと、分離緩衝液が蒸発してシステム内に塩が堆積する可能性があります。

カートリッジを取り付ける

1. カートリッジを箱から取り出し、必要に応じてキャピラリーを取り付けます。
2. カートリッジをPA 800 Plusシステムに取り付けます。

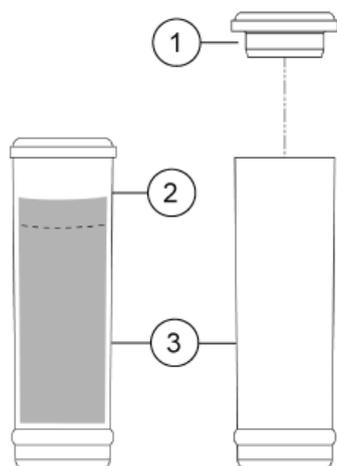
緩衝液トレイをロードする

注意：システムに損傷を与える恐れ。1.8 mLを超える液体をバイアルに入れしないでください。また、廃液バイアルには1.8 mLを超えて溜まらないようにしてください。バイアルの容量が1.8 mL以上が含まれている場合、圧力システムに損傷を与える恐れがあります。

1. 実行するサンプルの数に応じて、適切な数のバイアルを満たし、キャップします。☒ 1を参照してください。8つのサンプルの各設定について、次を準備します。
 - 5つのユニバーサルバイアル、それぞれ1.5 mL CZE Rapid Charge Variant Separation bufferが含まれます
 - 2つの汎用バイアル、1.5 mL CE-グレード水が含まれます
 - 1つの汎用バイアル、1.5 mL Acidic Wash solutionが含まれます

- 2つの汎用バイアル、アウトレットバッファトレイの廃棄物の位置向けとして、1 mL CEグレード水が含まれます

図 1 ユニバーサルバイアルとキャップのセットアップ

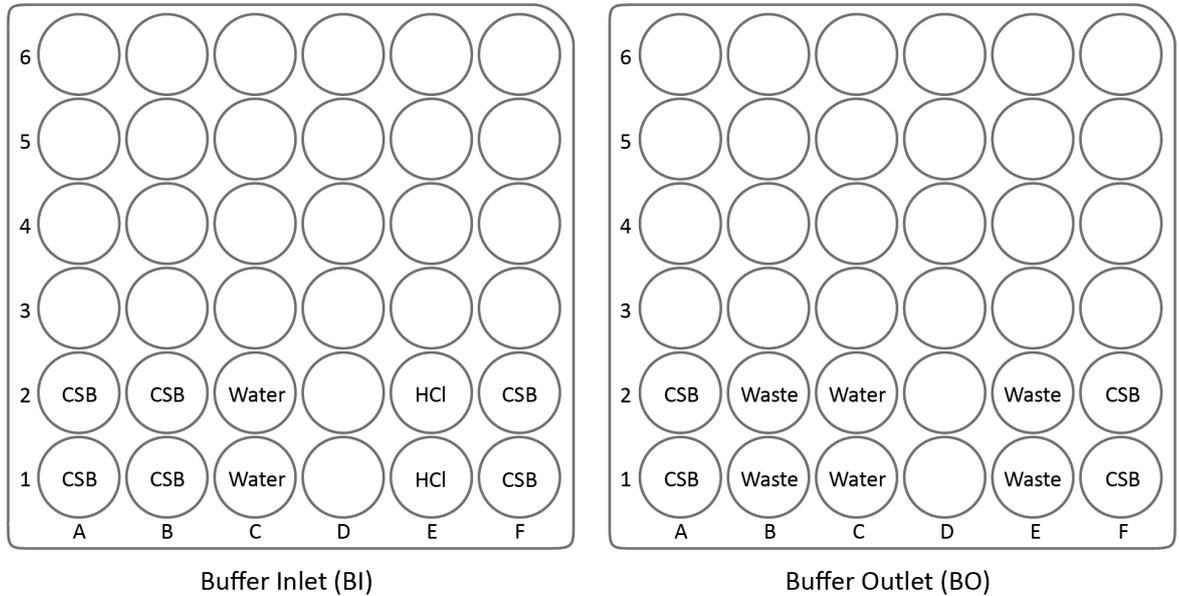


項目	説明
1	ユニバーサルバイアルキャップ
2	最大充填ライン
3	ユニバーサルバイアル

2. 次の図に示すように、バイアルをバッファトレイに入れます。図 2を参照してください。各行は少なくとも8回の実行に十分です。

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

図 2 16回実行のバッファトレイレイアウト



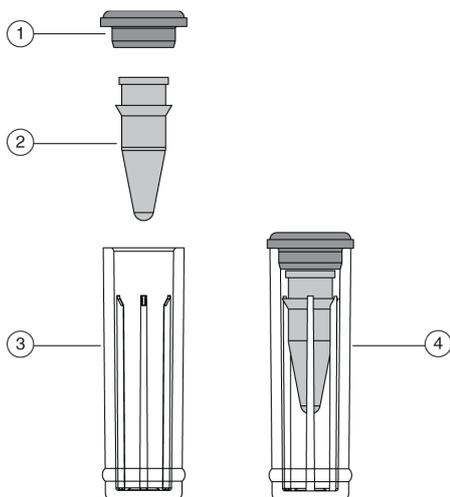
- CSB : CZE分離バッファ
- 水 : CE-グレード水
- HCL : 1.5 mL酸洗浄液
- 廃棄物 : CEグレード水1 mL

注：電気泳動中に、緩衝液のイオン強度が変化します。分離メソッドでは、イオンの消費を防ぐために、8回の実施後に緩衝液バイアルを増やすようにプログラムされています。

サンプルトレイをロードする

1. サンプルを準備します。各サンプルは次のとおりです。
 - a. 必要に応じて、サンプルを室温で5~10分間解凍します。
 - b. 少なくとも50 µLのサンプルをマイクロバイアルに移します。
 - c. サンプルが含まれるマイクロバイアルをユニバーサルバイアルに入れます。
 - d. ユニバーサルバイアルに青いキャップを取り付けます。

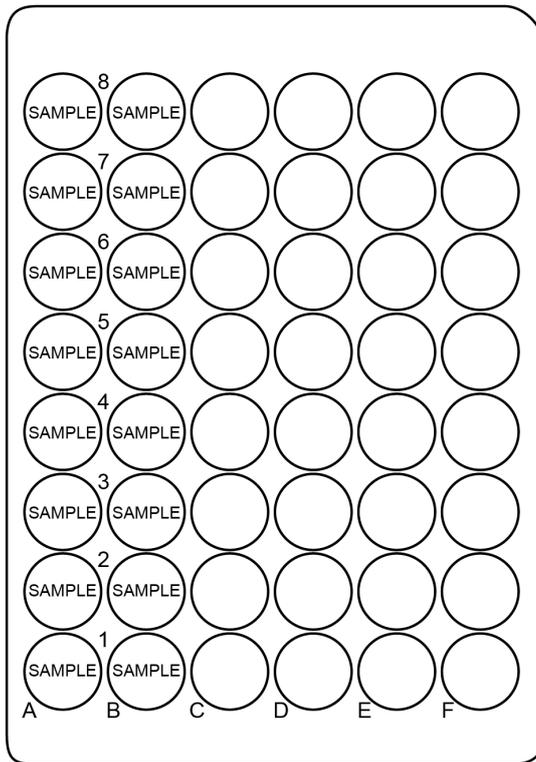
図 3 サンプルバイアルのセットアップ



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

2. 図 4に示すように、サンプルトレイにユニバーサルバイアルを入れます。

図 4 サンプルトレイレイアウト



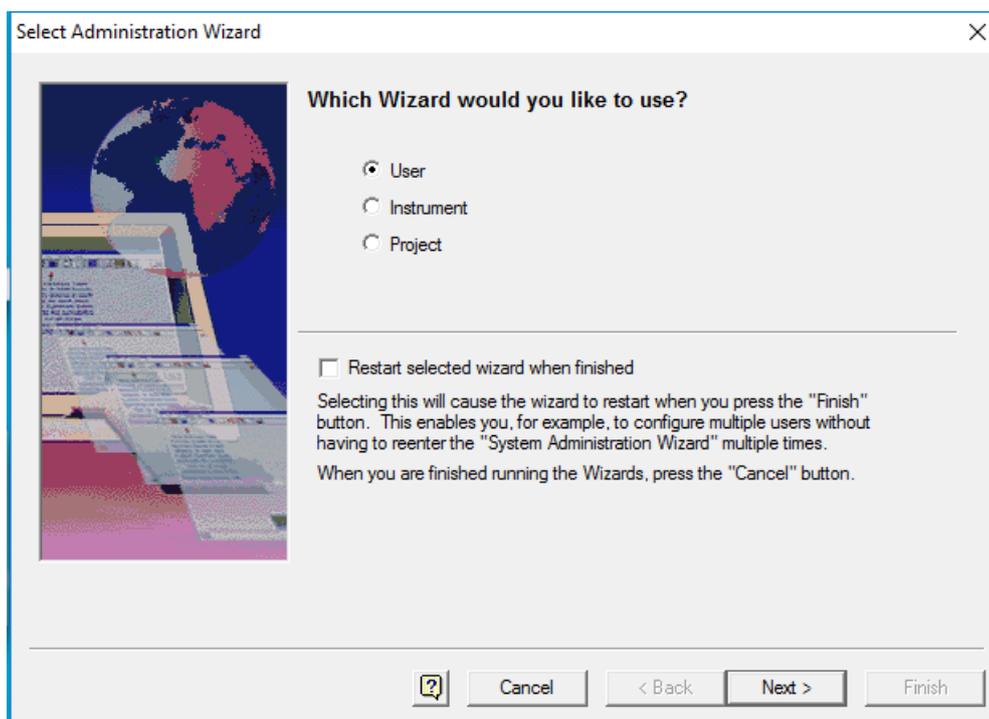
サンプルを実行する

サンプルプロジェクトを作成する

この手順では、32 Karat™ソフトウェアの管理権限を持つユーザーのユーザー名とパスワードが必要です。

1. デスクトップの32 Karat™ソフトウェアのアイコンをダブルクリックします。
2. **Tools > Enterprise Login** をクリックし、ユーザー名とパスワードを入力して、**Login** をクリックします。
3. **Tools > System Administration Wizard** をクリックします。

図 5 管理ウィザードのウィンドウを選択する



4. **Project** をクリックし、**Next.** をクリックします。
5. ウィザードの指示に従って、CZEプロジェクトを作成します。
詳細については、32 Karat™ソフトウェアヘルプまたはシステム管理ガイドを参照してください。
6. 必要に応じて、SCIEXウェブサイトからメソッドおよびシーケンスファイルをダウンロードします。[メソッド](#)と[シーケンス](#)を参照してください。
7. メソッドをプロジェクトのメソッドフォルダーにコピーします。デフォルトでは、これは C:\32Karat\projects\CZE\Method です。
8. シーケンスをプロジェクトのシーケンスフォルダーにコピーします。デフォルトでは、これは C:\32Karat\projects\CZE\Sequence です。

シーケンスを作成して実行を開始する

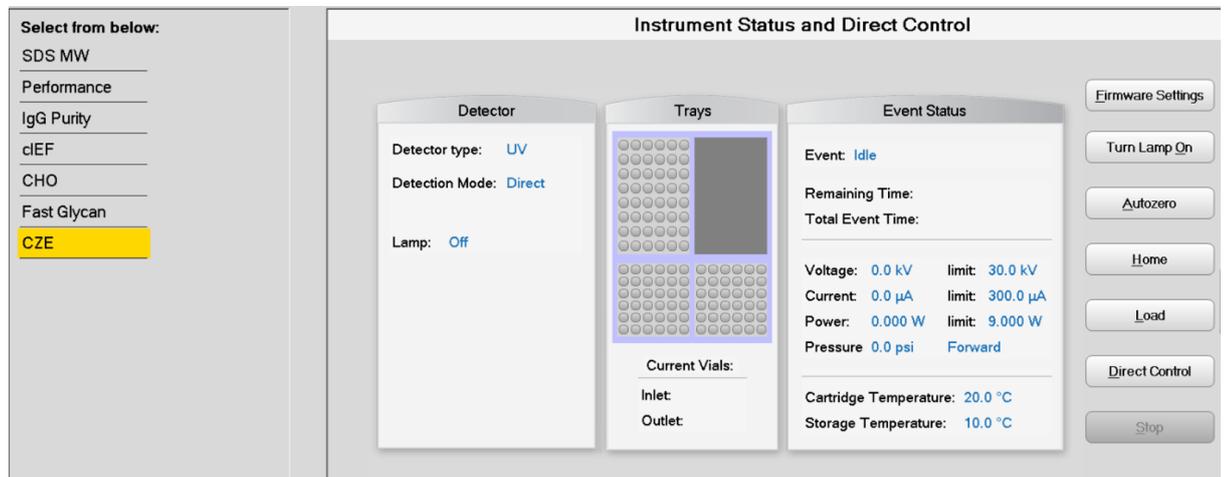
1. デスクトップのPA 800 Plusソフトウェアアイコンをダブルクリックして、PA 800 Plusソフトウェアを開きます。
2. **PA 800 plus** ウィンドウで、ウィンドウの右上の  (**Run**) をクリックします。

CZE Rapid Charge Variant Analysisキット

3. **CZE** 機器をクリックし、**CZE Analysis** をクリックします。システム管理が有効になっている場合、プロンプトが表示されたらユーザー名とパスワードを入力します。

Instrument Status and Direct Control ページが開きます。

図 6 Instrument Status and Direct Control ページ



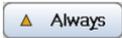
4.  (**Describe**) をクリックします。
5. **Application** リストの **CZE** をクリックします。 **Sequence** リストで、 **Browse** をクリックした後、 **CZE Analysis** シーケンスを参照します。プロンプトが表示されたら、ユーザー名とパスワードを入力します。
ページが更新され、選択したシーケンスが表示され、シーケンス内のすべての行がサンプルとして指定されます。
6. シーケンスの最初と最後の行のタイプを設定します。最初の行はキャピラリーコンディショニング用で、最後の行はシステムのシャットダウン用です。
 - a. 最初の行 (CZE Conditioning メソッド) をクリックして選択し、 **Rows** 領域の  (**Always**) をクリックします。
 - b. 最後の行 (CZE Shutdown メソッド) をクリックして選択し、 **Rows** 領域の  (**Always**) をクリックします。シーケンスの最初と最後の行の **Type** 列のアイコンは三角形になりました。

図7 Describe sequence rows and columns コンディショニングメソッドが「常に」に設定されたページ

Describe sequence rows and columns

Application: CZE

Sequence: C:\32Karat\projects\CZE\Sequence\CZE Se Browse...

Rows: Sample Control Always

Columns: Optional Required Fixed

Verification: 16 Samples

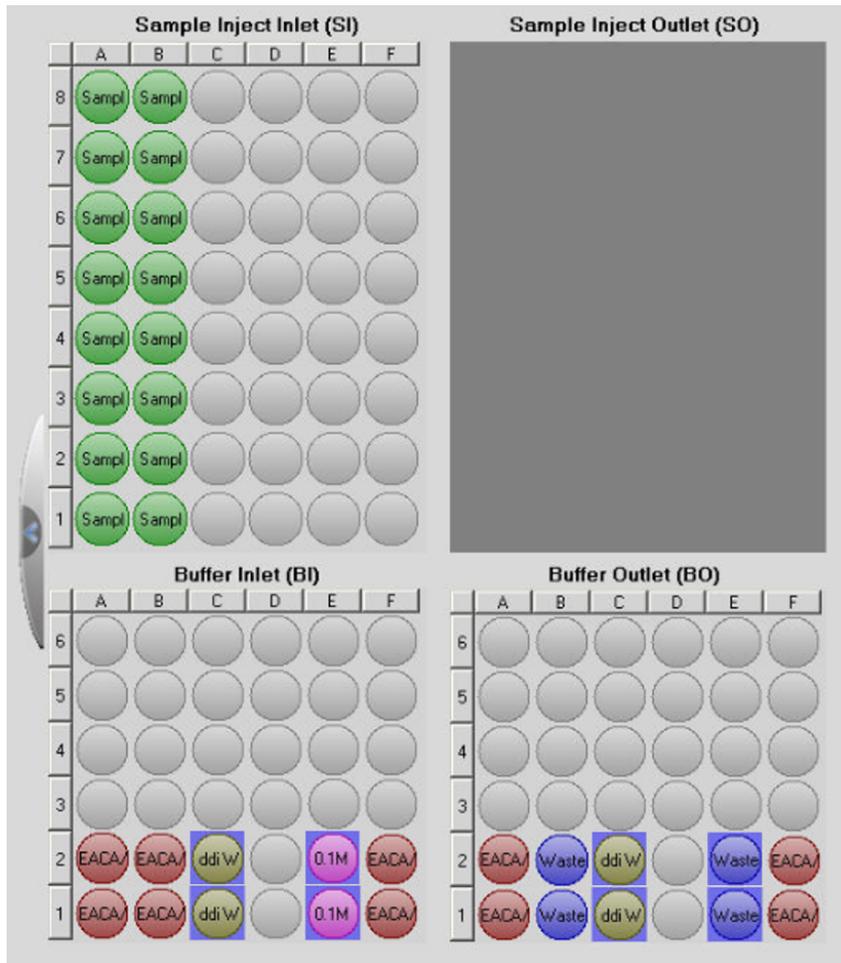
Run#	Type	Run Type	Reps	Inject Inlet	Sample ID	Method	Data File
1	▲	Unknown	1	None		C:\32Karat\project...	Capillary con...
2	●	Unknown	1	SI:A1	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_1.dat
3	●	Unknown	1	SI:A2	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_2.dat
4	●	Unknown	1	SI:A3	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_3.dat
5	●	Unknown	1	SI:A4	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_4.dat
6	●	Unknown	1	SI:A5	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_5.dat
7	●	Unknown	1	SI:A6	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_6.dat
8	●	Unknown	1	SI:A7	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_7.dat
9	●	Unknown	1	SI:A8	NIST IqG	C:\32Karat\project...	NIST_8.dat
10	●	Unknown	1	SI:B1	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_1.dat
11	●	Unknown	1	SI:B2	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_2.dat
12	●	Unknown	1	SI:B3	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_3.dat
13	●	Unknown	1	SI:B4	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_4.dat
14	●	Unknown	1	SI:B5	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_5.dat
15	●	Unknown	1	SI:B6	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_6.dat
16	●	Unknown	1	SI:B7	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_7.dat
17	●	Unknown	1	SI:B8	PTM	C:\32Karat\project...	PTM_8.dat
18	▲	Unknown	1	None		C:\32Karat\project...	Shutdown.dat

- (オプション) システム適合性サンプルを含む行の場合、行をクリックして選択し、 Control (Control) をクリックします。
- ウィンドウの右下の  Save (Save) をクリックし、 Finish (Finish完了) をクリックします。
- Number of samples** フィールドで矢印ボタンをクリックして、実行のサンプル数を設定します。

Number of samples:

サンプル数が変わると、右側のバッファとサンプルトレイの画像が更新され、正しい数のバイアルと実行の位置が表示されます。たとえば、図2では、8つのサンプルに対して1行の試薬が必要です。16サンプルには2行の試薬が必要です。

図 8 CZE分離のトレイマップ



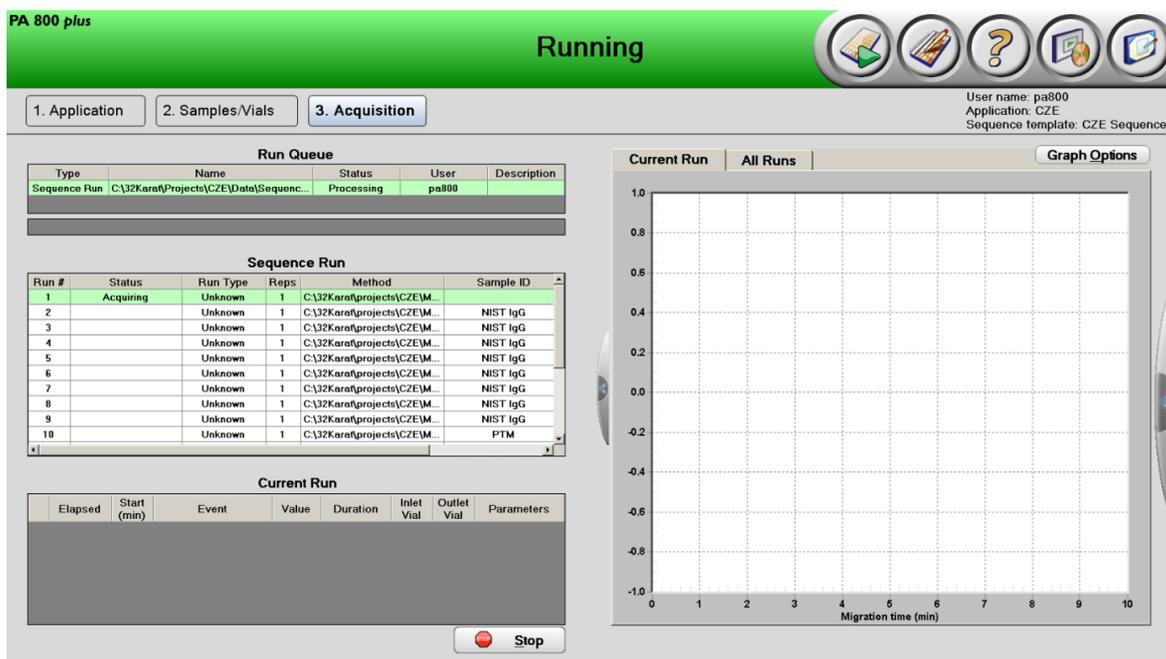
10. バッファおよびサンプルトレイがロードされていない場合、 **Load** (Load) をクリックし、PA 800 Plusシステムにバッファおよびサンプルトレイをロードしてから、ドアを閉じます。

11.  **Next** (Next) をクリックし、**Yes - run now** をクリックします。

図 9 ロードされたサンプルのプロンプト



図 10 データ収集時のPA 800ソフトウェア



廃棄物処理



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

カートリッジを保管する

カートリッジを保管する

1. シャットダウンメソッドを実行して、キャピラリーをクリーニングします。
2. 50 psiで5分間、0.1M HClでキャピラリーを洗浄します。
キャピラリーは0.1M HClで満たされます。
3. システムからカートリッジを取り外します。
4. キャピラリーの端をCE-グレード水CE-Grade Water

保管後のカートリッジを準備する

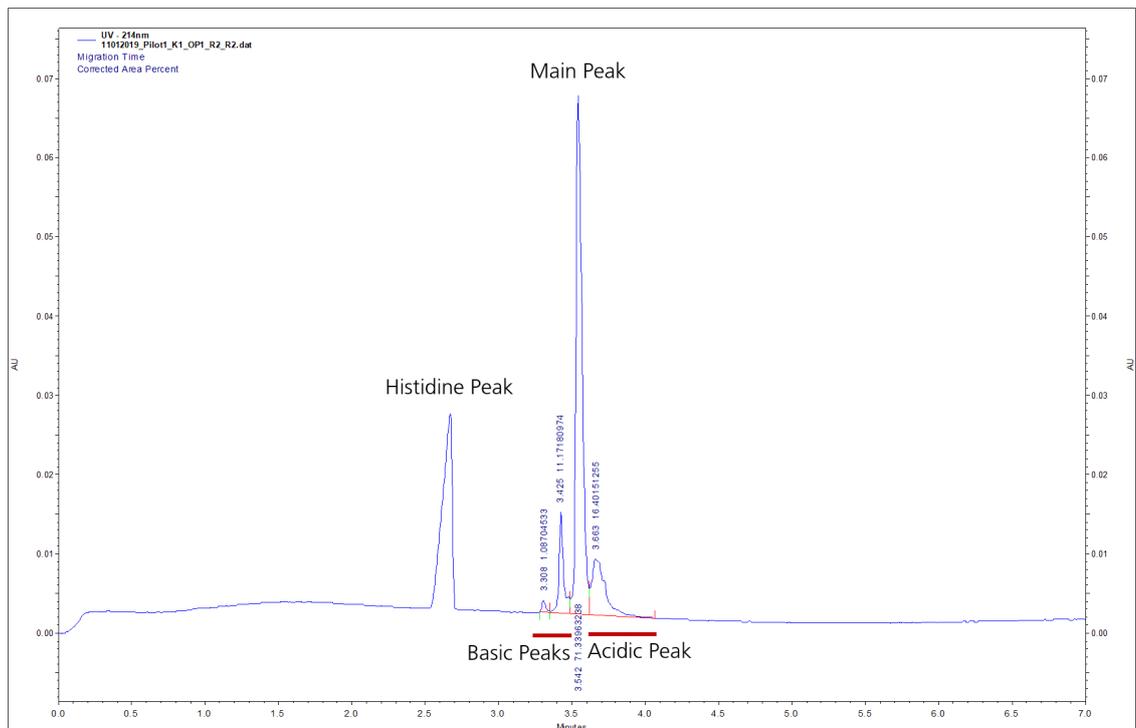
- カートリッジが1日以上使用されていないか、長期間保管されていた場合は、CZE コンディショニングメソッドを使用してキャピラリーをコンディショニングします。

データの分析

NIST IgGサンプルのデータを分析する

1. 32 Karat™ ソフトウェアで、実行からシーケンスを開きます。
2. 最初の実行用にデータファイルを開きます。
3. **File > Open > Method** をクリック、**CZE Rapid Charge Variant Data Analysis** を選択、次に **OK** をクリックします。
4. 統合イベントを調整し、テストサンプルのすべてのピークを正しく統合します。メソッド開発ガイドの「Integration（統合）」の章を参照してください。

図 11 NIST IgGサンプルのエレクトロフェログラムの例

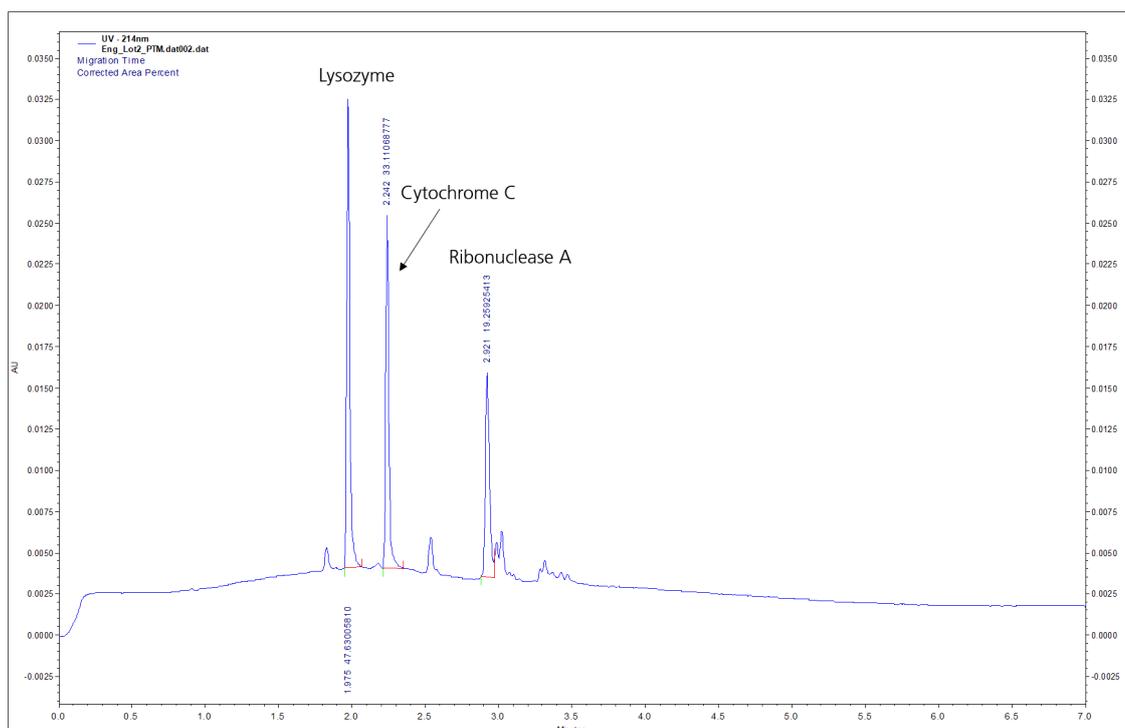


5. **File > Save** をクリックしてメソッドを保存し、サンプルを含むシーケンス内の行に適用します。

タンパク質テスト混合サンプルのデータを分析する

1. 32 Karat™ ソフトウェアで、実行からシーケンスを開きます。
2. 最初の実行用にデータファイルを開きます。
3. **File > Open > Method** をクリック、**CZE Rapid Charge Variant Data Analysis** を選択、次に **OK** をクリックします。
4. 統合イベントを調整し、テストサンプルのすべてのピークを正しく統合します。
メソッド開発ガイドの「Integration（統合）」の章を参照してください。

図 12 タンパク質テスト混合サンプルのエレクトロフェログラムの例



5. **File > Save** をクリックしてメソッドを保存し、タンパク質テスト混合サンプルを含むシーケンス内の行に適用します。

トラブルシューティング

症状	考えられる原因	修正アクション
ピークのプロード化、分解能の低下	<ol style="list-style-type: none"> タンパク質のpIは7未満です。 サンプル濃度が高すぎます。 サンプルの塩濃度が高すぎます。 キャピラリー端の切断が均等ではありません。 キャピラリーチップの端が汚れているか、詰まっています。 タンパク質はキャピラリー壁に吸着されています。 キャピラリーは、0.1 N NaOHなどの塩基性溶液で洗浄しました。 	<ol style="list-style-type: none"> タンパク質はこの分離技術には適合しません。 サンプルをさらに1.0 mg/mLの濃度に希釈して、サンプルの負荷を減らします。 緩衝液の交換を実施して、サンプルから塩分を除去します。タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施するを参照してください。 キャピラリーの端を拡大して検査します。断面がギザギザになっている場合は、端を再度カットするか、キャピラリーを交換します。 キャピラリーをクリーニングします。キャピラリーをクリーニングを参照してください。 次を実行します。 <ol style="list-style-type: none"> 分離メソッドでは、バイアルの増分間隔を8回未満の実行に減らします。これにより、分離緩衝液バイアルがより頻繁に変更されます。 シャットダウンメソッドでは、最後のキャピラリー水リンスステップを0.1 M HClまたは10 mMリン酸などの酸性溶液によるリンスに置き換えます。次に使用する前にキャピラリーに酸性溶液を充填することができます。キャピラリーの両端をCE-Grade Waterに保管します。 キャピラリーを交換します。 <p>注：塩基性溶液はキャピラリー壁をマイナスイオン化し、タンパク質との相互作用を引き起こすため、キャピラリーの洗浄には使用しないでください。</p>

症状	考えられる原因	修正アクション
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ます。 2. バイアルまたはキャップが汚染されています。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. サンプル濃度が0.5 mg/mLから1.0 mg/mLの間であることを確認します。必要に応じて、サンプルを水で希釈し、サンプルを再度実行します。 2. バイアルとキャップを交換するか、メソッドを変更します。 <ul style="list-style-type: none"> • 清潔なバイアルに新たに準備した試薬を満たした後、バイアルを清潔なキャップでカバーし、トレイのバイアルを交換します。 • Checkバイアル廃液バイアルに1.0 mLの水が含まれており、アウトレット緩衝液トレイにあることを確認します。 • サンプル注入手順の後に、タイムプログラムに1つ以上の水浸漬手順を追加します。
高電流	緩衝液トレイが正しくセットアップされていません。	緩衝液トレイ内のバイアルに正しい試薬が入っており、正しい場所にあることを確認してください。緩衝液トレイをロードするを参照してください。
低シグナル	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーチップの端が汚れているか、詰まっています。 2. サンプル量が少なすぎます。 3. サンプルの塩濃度が高すぎます。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーをクリーニングします。キャピラリーをクリーニングを参照してください。 2. サンプルバイアルに少なくとも 50 µL のサンプルがあることを確認してください。 3. 緩衝液の交換を実施して、サンプルから塩分を除去します。タンパク質サンプルの緩衝液交換を実施するを参照してください。

CZE Rapid Charge Variant Analysisキット

症状	考えられる原因	修正アクション
低強度ピーク	サンプル濃度が低すぎます。	最終サンプル濃度が少なくとも0.5 mg/mLであることを確認してください。すべての分析試料に適用するサンプル濃度が著しく低い場合は、10 kDa分子量カットオフ（MWCO）のスピンフィルターを使用してサンプルを濃縮します。 または、分離メソッドでサンプル注入の時間を増やします。
低電流	<ol style="list-style-type: none"> 1. キャピラリーの温度が正しくありません。 2. キャピラリーチップの端が汚れているか、詰まっています。 3. キャピラリーウィンドウまたは端が破損しています。 4. 試薬が汚染されています。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ソフトウェアで分離メソッドを開き、キャピラリー温度が正しいことを確認します。 2. キャピラリーをクリーニングします。キャピラリーをクリーニングを参照してください。 3. キャピラリーウィンドウとチップを検査します。どちらかが壊れている場合は、カートリッジを交換します。 4. 清潔なバイアルに新たに準備した試薬を満たした後、バイアルを清潔なキャップでカバーし、トレイのバイアルを交換します。

症状	考えられる原因	修正アクション
ピークなし	<ol style="list-style-type: none"> 1. 分離メソッドに誤りがあります。 2. サンプルがサンプルトレイの正しい位置にありません。 3. サンプルバイアルの底に気泡がありません。 4. キャピラリーウィンドウまたは端が破損しています。 5. サンプルはキャピラリー壁と相互作用しました。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 32 Karat™ソフトウェアで分離メソッドを開き、次のことを確認します。 <ul style="list-style-type: none"> • 正しい電圧です。 • Normal 極性チェックボックスが選択されています。 実行中、PA 800 Plusシステムのオレンジ色のLEDを観察します。通常の極性の電圧が印加されると点灯します。 2. サンプルがサンプルトレイの正しい場所にあることを確認します。サンプルトレイをロードするを参照してください。 3. サンプルチューブを遠心して、底に気泡がないことを確認します。 4. キャピラリーウィンドウとチップを検査します。どちらかが壊れている場合は、カートリッジを交換します。 5. 分離電流を検査します。安定していれば、サンプルはキャピラリーの壁に吸着していることとなります。キャピラリーを交換します。
同時低電流の有無にかかわらず、移行時間を短縮	キャピラリーチップの端が汚れているか、詰まっています。	キャピラリーをクリーニングします。 キャピラリーをクリーニング を参照してください。
不安定な電流により移行が遅くなる	分離緩衝液に気泡があります。	緩衝液を10秒~20秒超音波処理して、気泡を除去します。

キャピラリーをクリーニング

以下の手順を使用して、詰まっていたり汚れているキャピラリーをクリーニングします。

1. CE-Grade WaterIにより75 psiで2分間すすぎます。
2. 酸洗浄液 (0.1 M HCl) により75 psiで2分間すすぎます。
3. CE-Grade WaterIにより75 psiで2分間すすぎます。
4. それでもキャピラリーに問題がある場合は、キャピラリーのアウトレット端から1mmを切り取ってから、CE-Grade Water で75 psiで5分間すすぎます。

CZE Rapid Charge Variant Analysisキット

それでも問題が解決しない場合は、キャピラリーを交換してください。

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

HCS 2012 による危険物分類。

酸洗浄/再生液 (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。

CZEラピッドチャージバリエーション分離緩衝液



警告！ 軽度の皮膚炎を引き起こします。アレルギー性皮膚刺激を引き起こす可能性があります。水生生物に有害です。

タンパク質テスト混合



危険！ 吸入するとアレルギー、喘息の症状、呼吸困難を引き起こすことがあります。

その他の試薬

これらのコンポーネントは有害物質として分類されていません。

- CE-Grade Water

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。

CZE Rapid Charge Variant Analysisアプリケーションには、3つの方法が必要です。

キャピラリーコンディショニングメソッド

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

図 B-1 初期条件タブ

The screenshot shows the 'Initial Conditions' tab of a software interface. It contains several sections for configuring experimental parameters:

- Auxiliary data channels:** Includes checkboxes for Voltage (unchecked), Current (checked), Power (unchecked), and Pressure (unchecked). Voltage is set to 30.0 kV and Current to 300.0 µA.
- Mobility channels:** Includes checkboxes for Mobility (unchecked), Apparent Mobility (unchecked), and Plot trace after voltage ramp (checked).
- Analog output scaling:** Factor is set to 1.
- Temperature:** Cartridge is set to 25.0 °C and Sample storage is set to 20.0 °C.
- Peak detect parameters:** Threshold is set to 2 and Peak width is set to 9.
- Trigger settings:** Includes checkboxes for Wait for external trigger (unchecked), Wait until cartridge coolant temperature is reached (checked), and Wait until sample storage temperature is reached (unchecked).
- Inlet trays:** Buffer is set to 36 vials and Sample is set to 48 vials.
- Outlet trays:** Buffer is set to 36 vials and Sample is set to No tray.

図 B-2 UV検出器初期条件タブ

Initial Conditions | UV Detector Initial Conditions | Time Program

Electropherogram channel

Acquisition enabled

Wavelength: 214 nm

Data rate: 4 Hz

Filter

High sensitivity

Normal

High resolution

Peak width (points): 16-25

Relay 1

Off

On

Relay 2

Off

On

Absorbance signal

Direct

Indirect

図 B-3 キャピラリーコンディショニングメソッド時間プログラムタブ

Initial Conditions | UV Detector Initial Conditions | Time Program

	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1		Rinse - Pressure	50.0 psi	5.00 min	BI:E1	BO:E1	forward	Rinse with 0.1 M HCl
2		Rinse - Pressure	50.0 psi	5.00 min	BI:B1	BO:B1	forward	Rinse with CZE Buffer
3	0.00	Separate - Voltage	30.0 KV	30.00 min	BI:F1	BO:F1	0.17 Min ramp, normal polarity	Equilibrate with Voltage Separation
4	30.00	End						
5								

分離メソッド

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

図 B-4 初期条件タブ

Initial Conditions | UV Detector Initial Conditions | Time Program

Auxiliary data channels

Voltage max: 30.0 kV

Current max: 300.0 μ A

Power

Pressure

Mobility channels

Mobility

Apparent Mobility

Plot trace after voltage ramp

Analog output scaling

Factor: 1

Temperature

Cartridge: 25.0 °C

Sample storage: 20.0 °C

Peak detect parameters

Threshold: 2

Peak width: 9

Trigger settings

Wait for external trigger

Wait until cartridge coolant temperature is reached

Wait until sample storage temperature is reached

Inlet trays

Buffer: 36 vials

Sample: 48 vials

Outlet trays

Buffer: 36 vials

Sample: No tray

図 B-5 UV検出器初期条件タブ

Initial Conditions | UV Detector Initial Conditions | Time Program

Electropherogram channel

Acquisition enabled

Wavelength: 214 nm

Data rate: 4 Hz

Filter

High sensitivity

Normal

High resolution

Peak width (points): 16-25

Relay 1

Off

On

Relay 2

Off

On

Absorbance signal

Direct

Indirect

図 B-6 分離メソッド時間プログラムタブ

Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1	Rinse - Pressure	30.0 psi	1.00 min	BI:E1	BO:E1	forward, In / Out vial inc 8	Rinse with 0.1 M HCl
2	Rinse - Pressure	30.0 psi	2.00 min	BI:B1	BO:B1	forward, In / Out vial inc 8	Rinse with CZE Buffer
3	Inject - Pressure	0.5 psi	10.0 sec	SI:A1	BO:A1	Override, forward	Sample Injection
4	Separate - Voltage	30.0 KV	7.00 min	BI:A1	BO:A1	0.17 Min ramp, normal polarity, In / Out vial inc 8	Separation
5	End						
6							

シャットダウンメソッド

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

図 B-7 初期条件タブ

Initial Conditions	UV Detector Initial Conditions	Time Program
<p>Auxiliary data channels</p> <p><input type="checkbox"/> Voltage max: 30.0 kV</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Current max: 300.0 μA</p> <p><input type="checkbox"/> Power</p> <p><input type="checkbox"/> Pressure</p>	<p>Temperature</p> <p>Cartridge: 25.0 $^{\circ}$C</p> <p>Sample storage: 20.0 $^{\circ}$C</p>	<p>Peak detect parameters</p> <p>Threshold: 2</p> <p>Peak width: 9</p>
<p>Mobility channels</p> <p><input type="checkbox"/> Mobility</p> <p><input type="checkbox"/> Apparent Mobility</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Plot trace after voltage ramp</p>	<p>Trigger settings</p> <p><input type="checkbox"/> Wait for external trigger</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Wait until cartridge coolant temperature is reached</p> <p><input type="checkbox"/> Wait until sample storage temperature is reached</p>	
<p>Analog output scaling</p> <p>Factor: 1</p>	<p>Inlet trays</p> <p>Buffer: 36 vials</p> <p>Sample: 48 vials</p>	<p>Outlet trays</p> <p>Buffer: 36 vials</p> <p>Sample: No tray</p>

図 B-8 UV検出器初期条件タブ

図 B-9 シャットダウンメソッド時間プログラムタブ

	Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary	Comments
1	0.00	Separate - Pressure	50.0 psi	5.00 min	BI:E1	BO:E1	forward	Rinse with 0.1 M HCl
2	5.00	Wait		0.00 min	BI:C1	BO:C1		Place Capillary Tips in Water Vials
3	5.01	Lamp - Off						
4	5.01	End						
5								

お問い合わせ先

お客様のトレーニング

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

オンライン学習センター

- [SCIEX University™](#)

消耗品を購入する

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

SCIEXサポート

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

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

サイバーセキュリティ

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

ドキュメント

この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、<https://get.adobe.com/reader>にアクセスします。

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。

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

ドキュメントの最新版はSCIEXの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。
