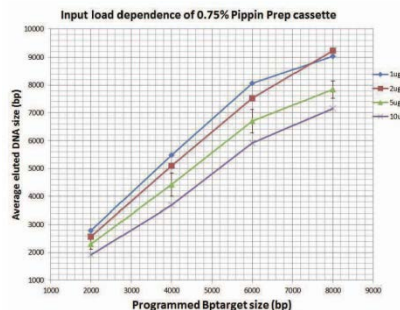


Pippin Prep ご注意いただきたい点について

2012.11.29
Rev2
Software v5.80 CD4
日本ジェネティクス(株)

* 01 0.75%ゲルカセットのBP設定

- ・0.75%ゲルカセットでは、DNAインプット量により、ターゲットBP値を補正する必要があります。
- ・予めDNA量を測定し、取扱説明書の補正グラフを参考に設定値の補正をしてください。



* 02 ゲルカセット&バッファの保存温度

- ・ホイルシール済みゲルカセット ⇒ **室温保存**してください。(冷蔵不可)
- ・試薬キット ⇒ **4℃冷蔵保存**してください。
試薬キットはご使用前に室温に戻してください。

* 03 ゲルカセットのバッファ量

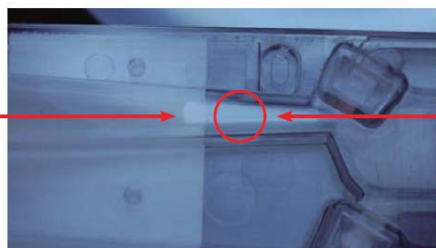
- ・ゲルカセットを開封したら、カセット両サイドのリザーバー中のバッファ量を確認ください。
- ・バッファが半量以下に減っている場合、カセット上面のシールを剥離後、付属のランニングバッファを追加してください。

* 04 ゲルカラム内の気泡

- ・ゲルカセットを開封したら、各レーンのゲルカラム内の気泡の有無をご確認ください。
- ・ゲルカセットとゲルの間に気泡が発生していた場合、、、
 - 1) **底面側に発生している場合、検出に影響を及ぼします。**
特にマーカーやピークモードでは、**そのレーンは使用しないでください。**
(Tightモード、Rangeモード、Timeモードのサンプルレーンとしては問題なくご使用いただけます。)
 - 2) 上面側に発生している場合、そのままご使用できます。(検出、泳動ともに影響ありません。)

アガロースの剥離

このレーンはDNAサイズマーカーに使用しないでください。

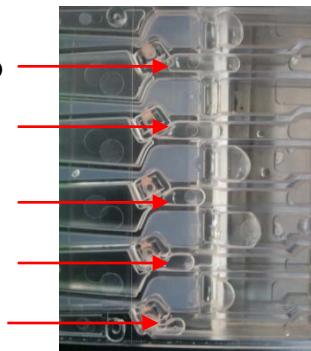


蛍光検出領域

* 05 溶出チャンネル内のバッファー中の気泡

- ・ゲルカセットからシールを剥離する前に、忘れずに溶出チャンネル内のバッファー中の気泡を抜いてください。

⇒本体にセットする際に、右側を高くし、チャンネル内の気泡を右側のリザーバーに逃がします。



* 06 サンプルウェルのバッファー量

- ・サンプルウェルがバッファーで完全に満たされるよう、不足しているウェルにはランニングバッファーを追加添加してください。

* 07 導通テストでFAILが表示された場合

- ・以下をご確認のうえ、再テストしてください。
再テストでもPASSしない場合、そのカセットは使用しないでください。
- 1) リザーバーのバッファー液量をご確認ください。
バッファーが不足している場合、追加添加してください。
- 2) サンプルウェルがバッファーで満たされているか、ご確認ください。
バッファーが不足している場合、添加してください。
- 3) “Elution”にFAILが表示されている場合、該当レーンの溶出ウェルからバッファーを全て抜き取り、新しいバッファー40μlを添加してください。
また、溶出チャンネル内に気泡がないか確認してください。
- 4) 使用環境温度が室温(17℃～32℃)であることをご確認ください。
環境温度が範囲外の場合や、ゲルカセットの保管場所が範囲外になってしまった場合、FAILを示す場合があります。
特に、全てのレーンで電流値が高く、過電流を示している場合は、カセットの温度が高すぎる可能性があります。

* 08 インプットするDNAサンプルについて

・泳動中の移動度に影響を及ぼさないよう、下記の点にご注意ください。

1) イオン強度

バッファのイオン強度 (80mM一価イオン) よりもサンプルのイオン強度が低くなるようにしてください。

2) タンパク質

ポリメラーゼなどのDNA結合タンパク質が混入しないよう、サンプルを精製し、タンパク質を除去してください。

3) DNAサイズ分布と最大インプット量

Bioanalyzerなどで、予めDNAサイズ分布をご確認ください。

最大インプット量: 断片化したブロードなサンプルは10 μ gまで。

PCR産物などのピークを持つサンプルは4 μ gまで。

* 09 サンプルのロード時の注意点

・一般的なアガロースゲル電気泳動と同様に、**チップでアガロースを貫通しないように、十分にご注意ください。**

・ウェルからのバッファ40 μ lの抜き取りは、完全でなくても問題ありません。

ローディングバッファには比重増大用のFicollが含まれるため、サンプルはウェル内の下層に沈みます。
このため、上層のバッファが多少ウェルから溢れても影響はありません。

* 10 画面の泳動状況の表示と溶出タイミングのずれ

・蛍光検出地点よりもサンプルの溶出分岐点のほうが後方にあるため、溶出のタイミングは、画面に表示されている泳動状況よりも数分以上ずれます。(遅れて溶出されます。)

* 11 エチジウムブロマイドのノイズピーク

・溶出が始まると、溶出チャンネルから新たに流入したエチジウムブロマイドのバックグラウンドシグナルがDNAサンプルのピークのように見えますので、ご注意ください。

* 12 サンプル回収時の注意点

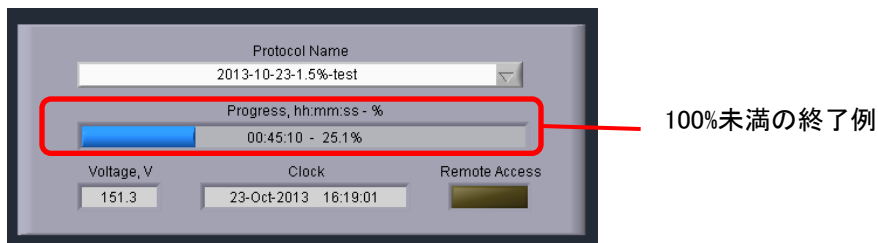
1) 以下の2点で、泳動が終了していることを確認してください。

A: Elution Timerに溶出時間が記録されている

B: Separate (緑) または Elute (オレンジ) のランプが点灯していない



*** 注:** Main 画面に表示されるプログレスバーは、プロトコルで設定された最長泳動時間に対する経過時間表示(%)のため、100%未満でもRun が終了となる場合があります!



2) 溶出時間やDNA量によっては、溶出サンプル液量が40 μ lよりも増えている場合があります。
チップ先端を溶出ウェルに差し込む際、溶出ウェル中の溶液が溢れないようご注意ください。

3) **ラン終了後2~3時間以内にサンプルを回収してください。**

オーバーナイトなどで抽出後に長時間放置した場合、拡散や吸着などにより、DNAサンプルをロスする可能性があります。

* 13 回収したDNAサンプル

- ・DNAサンプルは泳動バッファー（50mM Tris、30mM TAPS、0.1mM EDTA）中に溶出されます。
なお、エチジウムブロマイドは 5 μ g/ml含有します。また、EDTA濃度は1～2mMまで上昇する場合があります。
そのままライゲーションやライブラリー増幅に使用可能ですが、下記の点にご注意ください。
- 1) エチジウムブロマイドが含まれるため、吸光度測定やQubit等の蛍光核酸測定にはそのまま使用できません。
使用する場合には、溶出したDNAをAMPure XP等で精製してから測定してください。
- 2) BioanalyzerのHigh Sensitivityチップに使用する場合は、精製するか5倍希釈してからご使用ください。

* 14 サンプル回収後

- ・使用済みカセットは、すぐに本体から取り出してください。
フタを閉めてそのまま長時間放置した場合、本体カバー内側の電極部分が腐食劣化する場合があります。
- ・各Runが終了しましたら、蒸留水を添加したリンスカセットで約1分間、電極を洗浄・脱塩してください。
（必要な装置のメンテナンスは電極の洗浄のみです。）