

安捷伦 5200 片段分析系统维护方案的优化

周桢宁

(中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心, 上海 200031)

摘要: 安捷伦 5200 片段分析系统是一台并行毛细管电泳仪, 可对多种样品进行质量控制, 具有较高的分辨率, 是文库质控和 RNA 完整性分析方面的常用工具。作为该型号仪器的核心组件, 毛细管阵列易被样品中的微气泡和杂质阻塞, 因此保持毛细管阵列的畅通成为维护的重点。操作手册中建议了三种不同的毛细管清洗方案, 但在实践中发现用 2% 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液冲洗的效果更好, 不但能有效冲通毛细管, 还几乎不损伤管壁。在此基础上进一步总结并优化出了一套仪器维护方案。该方案操作简便, 在实操中已验证具有良好的维护效果, 对保持仪器稳定运行, 降低成本具有现实意义。

关键词 毛细管电泳; 管路冲洗; 维护方案; 十二烷基硫酸钠

Optimization of maintenance procedure for Agilent 5200 Fragment

Analyzer system

ZHOU Zhenning

(Center for Excellence in Brain Science and Intelligence Technology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: The Agilent 5200 fragment analyzer is a parallel capillary electrophoresis instrument for quality control of various samples with high resolution. It is a common tool for library quality control and RNA integrity analysis. As the core component of this instrument, the capillary array is prone to blockage by microbubbles and impurities in the sample. Therefore, maintaining the capillary array flow is crucial for instrument maintenance. Although three different capillary cleaning solutions are recommended in the operation manual, it was found in practice that flushing with a 2% sodium dodecyl sulfate (SDS) solution is more effective and without damaging the capillary walls. Based on this, a set of instrument maintenance procedures has been summarized and optimized. This procedure is simple to operate and has been verified in practical operations to have good maintenance effects. It is meaningful to maintain instrument stability and reduce costs.

Keywords: capillary electrophoresis; Capillary flushing; Maintenance procedure; sodium dodecyl sulfate

1 引言

安捷伦 5200 片段分析系统是一台并行毛细管电泳仪，可对 gDNA、小 RNA、cDNA、NGS 片段、大 DNA 片段、总 RNA 和 mRNA 等多种样品进行质量控制，具有较高的分辨率，是文库质控和 RNA 完整性分析方面的常用工具。

该型号仪器的核心组件是 12 根毛细管阵列。由于毛细管易被样品中的微气泡或杂质阻塞，因此厂商将毛细管阵列作为耗材处理，建议每年更换。在针对毛细管的维护中也建议了三种清洗方案，分别为每周用超纯水冲洗管路；管路堵塞时，将毛细管阵列的头部和电极浸没在 65°C 至 93°C 的热水中以及用 0.5N 氢氧化钠 (NaOH) 溶液冲洗管路。虽然在操作手册中已提及 0.5N NaOH 溶液可损伤毛细管并建议在 NaOH 冲洗后立即用调节液 (conditioning) 冲洗或跑胶，但在实操中我们发现哪怕严格按照操作手册操作，仍无法完全避免 NaOH 对毛细管的损伤。为此，我们实验并验证了一种既能有效排除毛细管堵塞又几乎不对毛细管产生损伤的方法，并在此基础上总结经验，优化了仪器维护方案。

2 材料与amp;方法

2.1、材料

安捷伦 5200 片段分析系统、高灵敏度大片段 50kb 试剂盒 (DNF-464-0500)、0.5N NaOH 溶液、2% SDS 溶液、超纯水、微波炉、玻璃锥形瓶、50ml 尖底离心管、96 孔深孔板、96 孔 PCR 板、枪头

2.2、实验方法

2.2.1、比较 0.5N NaOH 溶液和 2% SDS 溶液冲洗管路的效果

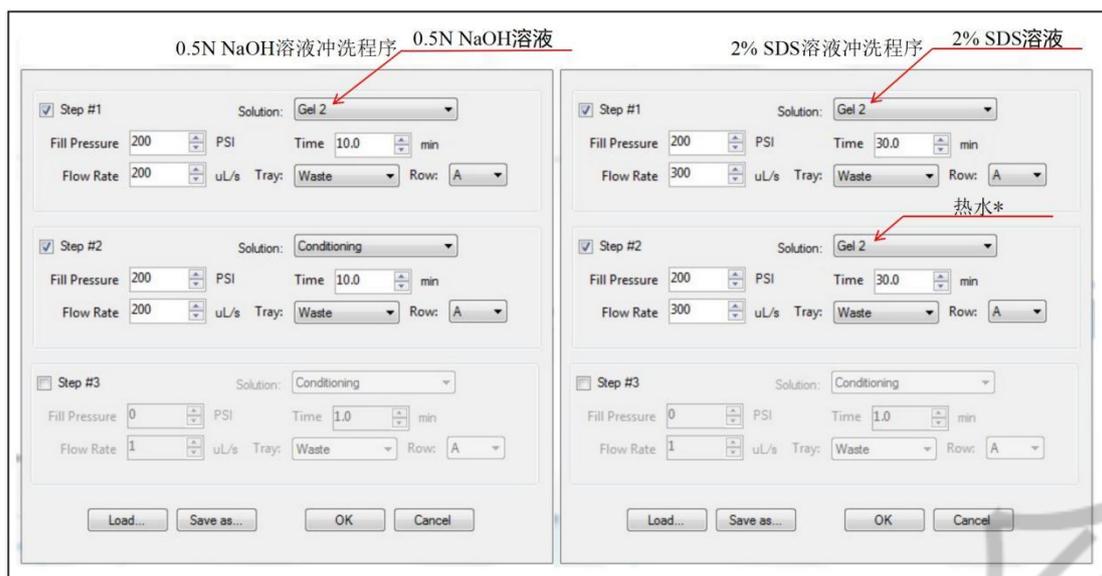


图 1 0.5N NaOH 溶液和 2% SDS 溶液冲洗程序

* 热水：40℃至 50℃左右的超纯水。

日常跑样过程中难免会出现毛细管堵塞的情况。堵塞的毛细管阵列用 NaOH 溶液或 2% SDS 溶液冲洗。两种冲洗程序见图 1，分别比较这两种冲洗程序在冲洗前后的峰图、基线和 RFU。实验中所涉的毛细管阵列为同一阵列，批号为 011017-02SFS。

2.2.2、总结并优化仪器维护方法

优化仪器维护方法。以跑样基线 RFU 值为指标，长期跟踪仪器状态。

3、实验结果

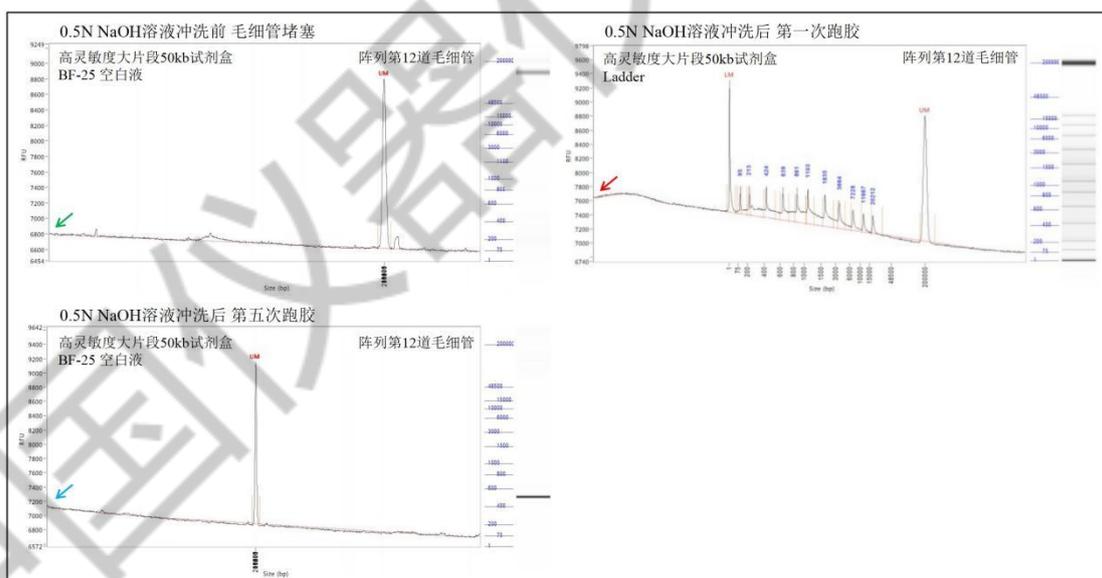


图 2 0.5N NaOH 溶液冲洗管路前后的跑胶图

0.5N NaOH 溶液冲洗管路前，毛细管阵列中有毛细管发生了堵塞（图 2 左上所示），BF-25 空白液的出峰时间发生了明显的延迟，RFU 在 6800 左右（绿色箭头所示）。反观 NaOH

溶液冲洗后的第一次跑胶（图 2 右上所示），LM 和 UM 的出峰时间恢复了正常，提示毛细管已冲通，但基线明显不稳，RFU 有较大幅度的上跳，至 7600 左右（红色箭头所示），Ladder 峰型偏矮且有条带缺失的现象。上述现象提示虽然根据操作手册，在 NaOH 溶液冲洗后立即进行了调节液的冲洗，但从冲洗后的基线和 RFU 即可看出仍发生了毛细管损伤。后续，在连续数次跑胶后（图 2 左下所示），基线可恢复平稳，但是 RFU 值较冲洗前会有几百至一千左右的升高（蓝色箭头所示）。

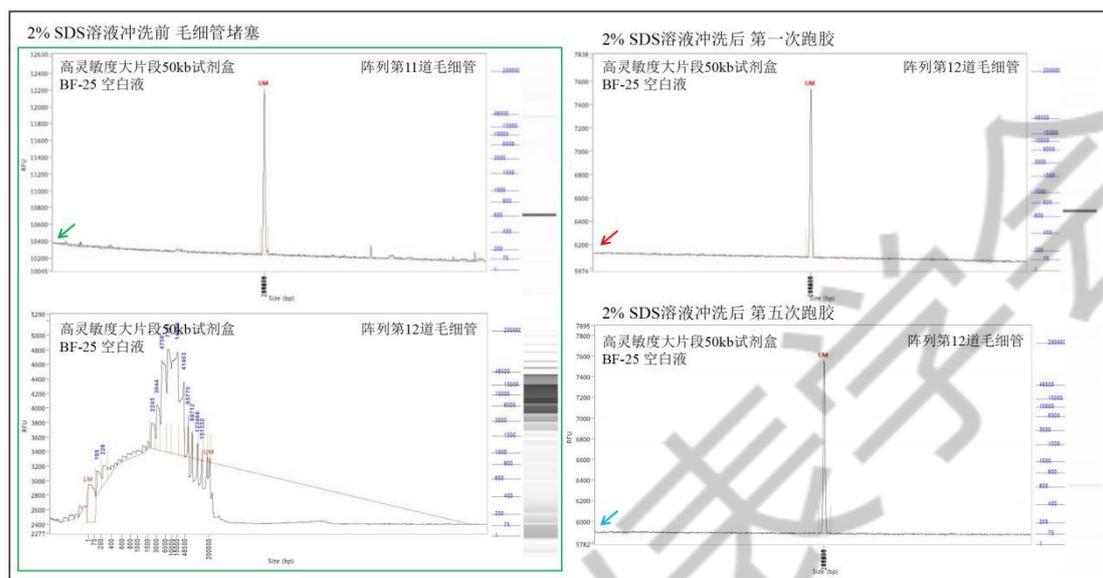


图 3 2% SDS 溶液冲洗管路前后的跑胶图

2% SDS 溶液冲洗前，堵塞的毛细管见图 3 左下。从图中可明显看出峰型混乱，RFU 已不可信，堵塞情况较为严重。毛细管阵列中的其他毛细管虽然尚未堵塞（图 3 左上所示），但 RFU 已升至 10400 左右（绿色箭头所示）。而相较冲洗前，2% SDS 溶液冲洗后的第一次跑胶（图 3 右上所示）基线即平稳，基线 RFU 值大幅降低至 6100 左右（红色箭头所示）。后续，在连续数次跑胶后（图 3 右下所示），基线和 RFU 依旧平稳。RFU 在 5900 左右（蓝色箭头所示）。该现象提示 2% SDS 溶液冲洗毛细管是一个既能有效排除堵塞又几乎不对毛细管产生损伤的较佳方法。

在将 2% SDS 冲洗法作为我们冲洗阻塞毛细管的标准方法之后，我们总结日常维护经验，形成了优化后的仪器维护方案（见表 1）。

表 1 优化前和优化后的仪器维护方案

优化前（根据操作手册）	优化后
每天维护	每天维护

清空废液板和废液瓶

清空废液板和废液瓶

每周维护

毛细管阵列头部和电极浸热水*

超纯水冲洗管路

热水冲洗毛细管管路**

每月维护

每周维护

更换贮存液

更换贮存液

每年维护

每年维护

清洗储液罐排气阀

清洗储液罐排气阀

校准毛细管阵列

校准毛细管阵列

必要时维护

必要时维护

毛细管阵列头部和电极浸热水*

2% SDS 冲洗毛细管管路***

0.5N NaOH 冲洗毛细管管路

* 毛细管阵列头部和电极浸热水: 用 65°C 至 93°C 的超纯水浸泡毛细管阵列头部和电极 30 分钟。

** 热水冲洗毛细管管路: 用 40°C 至 50°C 左右的超纯水冲洗管路。冲洗条件: 填充压力 200PSI, 流量 300μl/s, 时间 30 分钟。

*** 2% SDS 冲洗毛细管管路: 详细冲洗条件见图 1。

在实操中我们发现使用优化前的维护方法, 批号为 011017-02SFS 的毛细管在跑样 380 排后, 基线 RFU 值从 1706 至 9615, 上行了 7909。该的毛细管在封存了两年后再次启用, 先用热水冲洗毛细管管路, 发现出液量很少或几乎不出液。而后使用 2% SDS 冲洗管路, 出液量随即恢复正常, 基线 RFU 值直接从 9615 降至 6109。后续使用优化后的维护方法, 又跑样了 874 排, 基线 RFU 值没有明显的变化 (见图 3)。

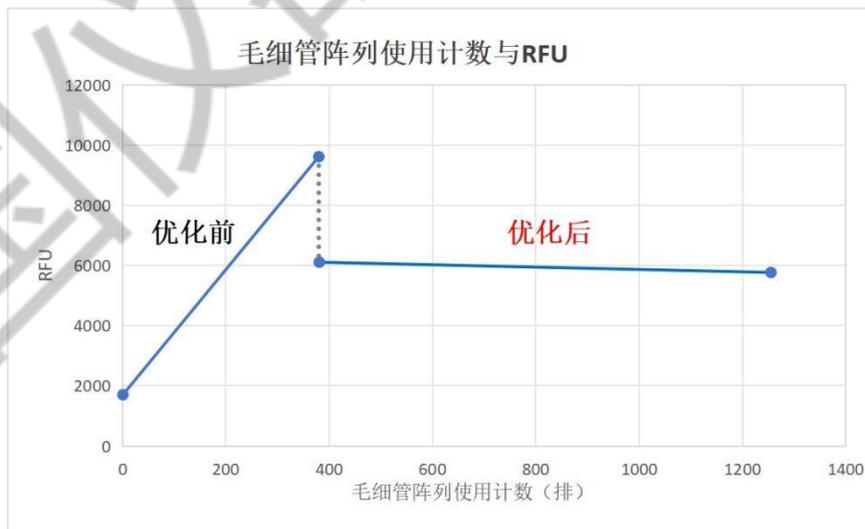


图 4 优化前后毛细管阵列使用计数与 RFU 的关系

从图 4 “优化前”部分能明显看出随着毛细管阵列使用次数的增加，基线 RFU 值快速升高。而“优化后”部分，随着毛细管阵列使用次数的增加，基线维持稳定，甚至略呈下降趋势。这表明相较优化前的维护方案，优化后的维护方案具有更好的仪器维护效果，延长毛细管阵列的使用寿命。

4、总结

- 1) 安捷伦 5200 片段分析系统的毛细管阵列发生堵塞时，使用 2% SDS 溶液冲洗效果更好。
- 2) 使用优化后的维护方案能更好地维护好仪器，有效增加毛细管阵列的使用寿命。

参考文献：

- [1] Chandra Shekhar Misra, M3rio R. Santos, Mariana Rafael-Fernandes, et al. Transcriptomics of Arabidopsis sperm cells at single-cell resolution[J]. Plant Reprod. 2019, 32(1), 29 - 38.
- [2] Mario D. Escobar, Jason L. Hunt. A Cost-Effective RNA Extraction Technique from Animal Cells and Tissue Using Silica Columns[J]. J. Biol. Methods 2017, 4(2), 72.
- [3] Fragment Analyzer system manual. [2022-03-21].
https://www.agilent.com.cn/cs/library/usermanuals/public/Fragment_Analyzer_system_manual_D0002110.pdf