

DS3000的主要指标

■ 主机指标

项目	内容
毛细管数量	4道
毛细管长度	36 cm
样品架	8联管×4
设备控制	触摸屏
荧光通道数	6种
应用	测序/片段解析
尺寸	400 (W)×600 (D)×600 (H) mm
重量	45 kg
最优温度范围	15-30 °C
最优湿度范围	20-80% RH(不结露)
电源	100-240 ±10% VAC, 50/60 Hz
额定功率	260 VA
推荐的二次解析软件	·Mutation Surveyor (SoftGenetics公司生产, 单独出售) ·GeneMarker® (SoftGenetics公司生产, 单独出售) ·GeneMarker® HID (SoftGenetics公司生产, 单独出售)

■ 运行模块指标

运行模块	应用数据	聚合物类型	读取碱基长度 <sup>※1</sup> (QV20 CRL)	平均运行时间 (分)
Fast_Sequence36_Polymer7	测序解析	聚合物7	≥600	≤32
Standard_Sequence36_Polymer7	测序解析	聚合物7	≥700	≤60
BDx_Fast_Sequence36_Polymer7	BDx 测序解析	聚合物7	≥600	≤32
BDx_Standard_Sequence36_Polymer7	BDx 测序解析	聚合物7	≥700	≤60

运行模块	应用数据	聚合物类型	平均运行时间 (分)	碱基对范围精度 <sup>※2</sup> (50-400 bp)
Fragment_Analysis36_Polymer7	片段解析	聚合物7	≤35	NA
Fragment_Analysis36_Polymer4	片段解析	聚合物4	≤44	<0.16

■ 耗材指标

名称	内容	备注
毛细管 36 cm	1个	保存温度: 15-30 °C
缓冲液	阳极缓冲液×2个 阴极缓冲液×2个	保存温度: 2-10 °C
聚合物7	聚合物 7×4个	保存温度: 2-10 °C
聚合物4	聚合物 4×4个	保存温度: 2-10 °C

※1. 读取碱基长度(QV20 CRL)使用BigDye™ Terminator v3.1 Sequencing Standard Kit (Thermo Fisher Scientific公司生产, 另售) 进行验证。  
 ※2. 片段大小识别精度(50-400 bp)使用PowerPlex® ESI17 Fast Allelic Ladder及WEN ILS 500 ESS (Promega公司生产, 另售) 进行验证。

仅限科研使用,不可用于医疗诊断及其相关用途。  
 ·本产品通过ISO9001、ISO14001认证的日立高新技术那珂工厂设计并生产。  
 ·本资料中的公司名称、商品名称为各公司的商标及注册商标。  
 ·BigDye是Thermo Fisher Scientific Inc.的商标。  
 ·GeneMarker是SoftGenetics的注册商标。  
 ·PowerPlex是Promega Corporation的注册商标。  
 ·本资料中刊登的数据仅为测试示例, 不确保数据的准确性。

提示: 为正确操作仪器, 操作前请阅读“使用说明书”。  
 NOTICE: For correct operation, follow the instruction manual when using the instrument.  
 版权归日本株式会社日立高新技术所有。  
 Copyright (C) Hitachi High-Tech Corporation 2021. All rights reserved.

日立诊断产品(上海)有限公司

<b>上海总部</b> 地址: 上海恒生银行大厦21层 电话: 86-21-6163-1200 传真: 86-21-6841-5420	<b>北京分公司</b> 地址: 北京发展大厦1408室 电话: 86-10-6590-8700 传真: 86-10-6590-8710	<b>大连分公司</b> 地址: 大连森茂大厦10层 电话: 86-411-8360-7098 传真: 86-411-8360-7998	<b>广州分公司</b> 地址: 广州航海大厦704室 电话: 86-20-8666-9382 传真: 86-20-8668-7002	<b>西安分公司</b> 地址: 西安市科技四路187号 电话: 86-29-8799-9253 传真: 86-29-8799-9251
--	---	---	--	---

Hitachi High-Tech Corporation

邮编105-6409 东京都港区虎之门 1-17-1  
 Toranomon Hills Business Tower, 1-17-1 Toranomon, Minato-ku,  
 Tokyo 105-6409, Japan  
 customercenter.ev@hitachi-hightech.com

HTB-DS-C003 | 2021.08

HITACHI  
Inspire the Next

应用DS3000进行微卫星不稳定性检测

概要

微卫星不稳定性(MSI)是在短片段、重复的微卫星序列处产生的突变,因其可以作为多种肿瘤的生物标记物而广为人知。MSI是由用于DNA复制时修复错配碱基的DNA错配修复(MMR)系统的缺陷导致的。由于MSI分析需要以单个碱基的分辨率检测并对比每一个信号,因此,对片段大小识别准确性与重现性的要求较高。  
 此处以MSI分析举例,使用商品化的石蜡包埋切片介绍从DNA提取到数据分析的一系列流程。

关于标准品

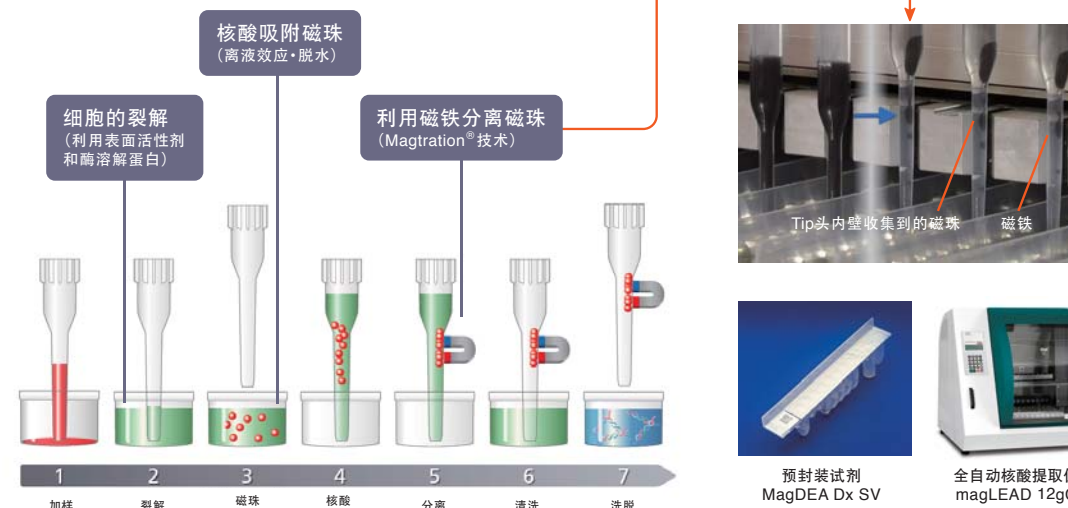
首批样品采用MSI FFPE DNA Reference Standard (Horizon Discovery, Ltd) 的微卫星不稳定(MSI, HD830) 和微卫星稳定(MSS, HD831) 标准品。标准品为长条形切片,采用同一细胞株的培养细胞,由福尔马林固定,石蜡包埋制备而成。



【基因组提取】

采用全自动核酸提取仪magLEAD 12 gC (精密系统科学株式会社生产)提取基因组DNA。从约15 μm厚的切片中得到约10 μg的优质基因组DNA,充分满足下游分析需求(样品A260/A280在1.95-1.96之间)。

■ 全自动核酸提取仪magLEAD的技术原理



■ 提取到的基因组DNA的质量

样品	浓度 (ng/μl)	产量 (μg)	A260/A280	A260/A230
MSS	54.8	11.0	1.96	1.80
MSI	59.4	11.8	1.95	1.85

图1: 基因组提取的概述

【MSI PCR以及电泳】

用MSI analysis system ver.1.2(Promega 公司),同时对2ng 基因组DNA中的5个MSI标记物(单核苷酸重复)和2个质控标记物(五核苷酸重复)进行荧光标记和扩增。扩增后,以Internal Lane Standard 600(Promega 公司)作为分子量内标,利用聚合物7在DS3000上进行电泳。

表1:聚合物7的运行设置

聚合物	电泳时间	电泳电压
聚合物7	约35分钟	13 kV

【数据分析】

基于SoftGenetics公司的MSI panel及ILS600的片段大小标准文件,使用GeneMarker® v3.0.1(SoftGenetics公司)分析电泳得到的数据,进行峰识别及片段大小识别。通过与正常峰型对比,可以识别MSI特异性峰。

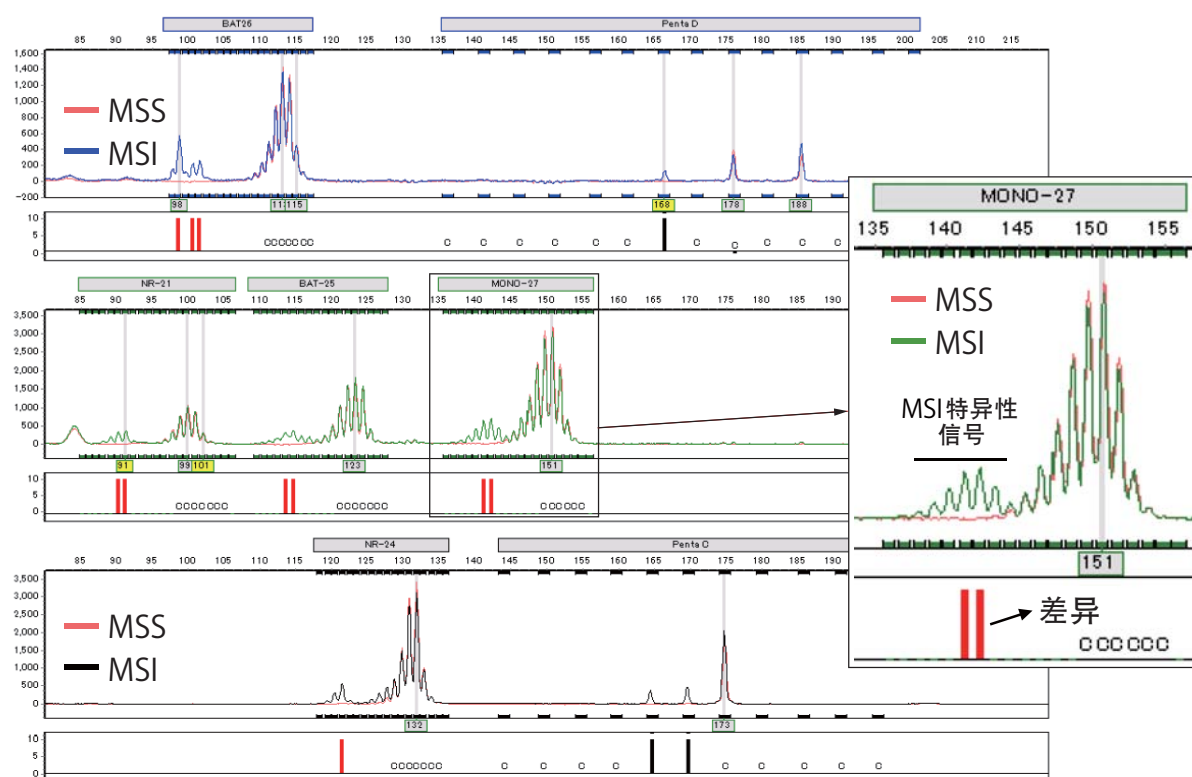


图2: MSI样品的分析结果

上图表示MSS(桃红色线)与MSI(蓝色、绿色、黑色线)的重叠峰图。红色竖道表示两个样品间存在超过阈值差异的区域。标记'C'的位置表示预设会出现MSS峰型的参照位点。基于每一个信号峰处MSS和MSI的对比,MSI在所有五个位点中均检测到了MSI特异性峰。相反地,MSI与MSS共有的信号峰型基本重合,差异在 $\pm 0.1$  bp范围内。

【从DNA提取到分析的工作流程】



每步骤的时间为大概的反应时间,不包括手工准备时间。

结论

利用商品化的石蜡包埋切片进行MSI分析,运行结果数据使用GeneMarker® v3.0.1进行分析,MSI特异性峰在五个位点中均被检测到,无一遗漏。而且,MSI与MSS共有的信号峰型基本重合,差异在0.1 bp以内。以上实验结果显示DS3000具有可靠的表现。

注意

- 紧凑型毛细管电泳测序仪DS3000非医疗器械。
- 本资料仅为指定样品在限定环境下得到的验证示例。
- 不保证所有样品在任何环境下均可得到与本资料相同的数据。

DS3000的主要指标

■ 主机指标

项目	内容
毛细管数量	4道
毛细管长度	36 cm
样品架	8联管×4
设备控制	触摸屏
荧光通道数	6种
应用	测序/片段解析
尺寸	400 (W)×600 (D)×600 (H) mm
重量	45 kg
最优温度范围	15-30 °C
最优湿度范围	20-80% RH(不结露)
电源	100-240 ±10% VAC, 50/60 Hz
额定功率	260 VA
推荐的二次解析软件	·Mutation Surveyor (SoftGenetics公司生产, 单独出售) ·GeneMarker (SoftGenetics公司生产, 单独出售) ·GeneMarker HID (SoftGenetics公司生产, 单独出售)

■ 运行模块指标

运行模块	应用数据	聚合物类型	读取碱基长度 <sup>※1</sup> (QV20 CRL)	平均运行时间 (分)
Fast_Sequence36_Polymer7	测序解析	聚合物7	≥600	≤32
Standard_Sequence36_Polymer7	测序解析	聚合物7	≥700	≤60
BDx_Fast_Sequence36_Polymer7	BDx 测序解析	聚合物7	≥600	≤32
BDx_Standard_Sequence36_Polymer7	BDx 测序解析	聚合物7	≥700	≤60

运行模块	应用数据	聚合物类型	平均运行时间 (分)	碱基对范围精度 <sup>※2</sup> (50-400 bp)
Fragment_Analysis36_Polymer7	片段解析	聚合物7	≤35	NA
Fragment_Analysis36_Polymer4	片段解析	聚合物4	≤44	<0.16

■ 耗材指标

名称	内容	备注
毛细管 36 cm	1个	保存温度: 15-30 °C
缓冲液	阳极缓冲液×2个 阴极缓冲液×2个	保存温度: 2-10 °C
聚合物7	聚合物 7×4个	保存温度: 2-10 °C
聚合物4	聚合物 4×4个	保存温度: 2-10 °C

※1. 读取碱基长度(QV20 CRL)使用BigDye™ Terminator v3.1 Sequencing Standard Kit (Thermo Fisher Scientific公司生产, 另售) 进行验证。  
 ※2. 片段大小识别精度(50-400 bp)使用PowerPlex™ ES117 Fast Allelic Ladder及WEN ILS 500 ESS (Promega®公司生产, 另售) 进行验证。

仅限科研使用, 不可用于医疗诊断及其相关用途。  
 · 本产品通过ISO9001、ISO14001认证的日立高新技术那珂工厂设计并生产。  
 · 本资料中的公司名称、商品名称为各公司的商标及注册商标。  
 · BigDye是Thermo Fisher Scientific Inc.的商标。  
 · PowerPlex是Promega Corporation的商标。  
 · Promega是Promega Corporation的商标。  
 · 本资料中刊登的数据仅为测试示例, 不确保数据的准确性。

提示: 为正确操作仪器, 操作前请阅读“使用说明书”。  
 NOTICE: For correct operation, follow the instruction manual when using the instrument.  
 版权归日本株式会社日立高新技术所有。  
 Copyright (C) Hitachi High-Tech Corporation 2021. All rights reserved.

日立诊断产品(上海)有限公司

<b>上海总部</b> 地址: 上海恒生银行大厦21层 电话: 86-21-6163-1200 传真: 86-21-6841-5420	<b>北京分公司</b> 地址: 北京发展大厦1408室 电话: 86-10-6590-8700 传真: 86-10-6590-8710	<b>大连分公司</b> 地址: 大连森茂大厦10层 电话: 86-411-8360-7098 传真: 86-411-8360-7998	<b>广州分公司</b> 地址: 广州海航大厦704室 电话: 86-20-8666-9382 传真: 86-20-8668-7002	<b>西安分公司</b> 地址: 西安市科技四路187号 电话: 86-29-8799-9253 传真: 86-29-8799-9251
--	---	---	--	---

Hitachi High-Tech Corporation

邮编105-6409 东京都港区虎之门 1-17-1  
 Toranomon Hills Business Tower, 1-17-1 Toranomon, Minato-ku,  
 Tokyo 105-6409, Japan  
 customercenter.ev@hitachi-hightech.com

HTB-DS-C004 2021.10

应用DS3000进行贝类过敏原检测

概要

食物过敏在成人中的发生率为1%-3%, 在儿童中的发生率为4%-6%<sup>(1)</sup>, 过敏严重时可能会危及生命。因此, 过敏原的检测与标记在保障食品安全方面是一项十分重要的课题。ELISA是常用的过敏原检测方法, 但从灵敏度、成本、操作的简便性等出发, 可通过间接的方法, 如PCR等来检测过敏原。

此实验将以贝类为主的软体动物中普遍存在的原肌球蛋白基因作为检测目标, 介绍一种联合多重PCR与毛细管电泳, 进行高灵敏度分析(片段分析)的方法。



DS3000  
Compact CE Sequencer

结果

- 从4种贝类(文蛤、鲍鱼、海虹、牡蛎)中提取的基因组DNA, 同时检测到原肌球蛋白遗传基因和阳性对照的18 SrDNA。
- 使用了0.01 ng至10 ng的基因组DNA, 在4种贝类样品中均检测到了预期的峰值。
- 此外, 为避免峰信号饱和或超过检测范围, 需要对PCR循环数和进样时间进行优化。

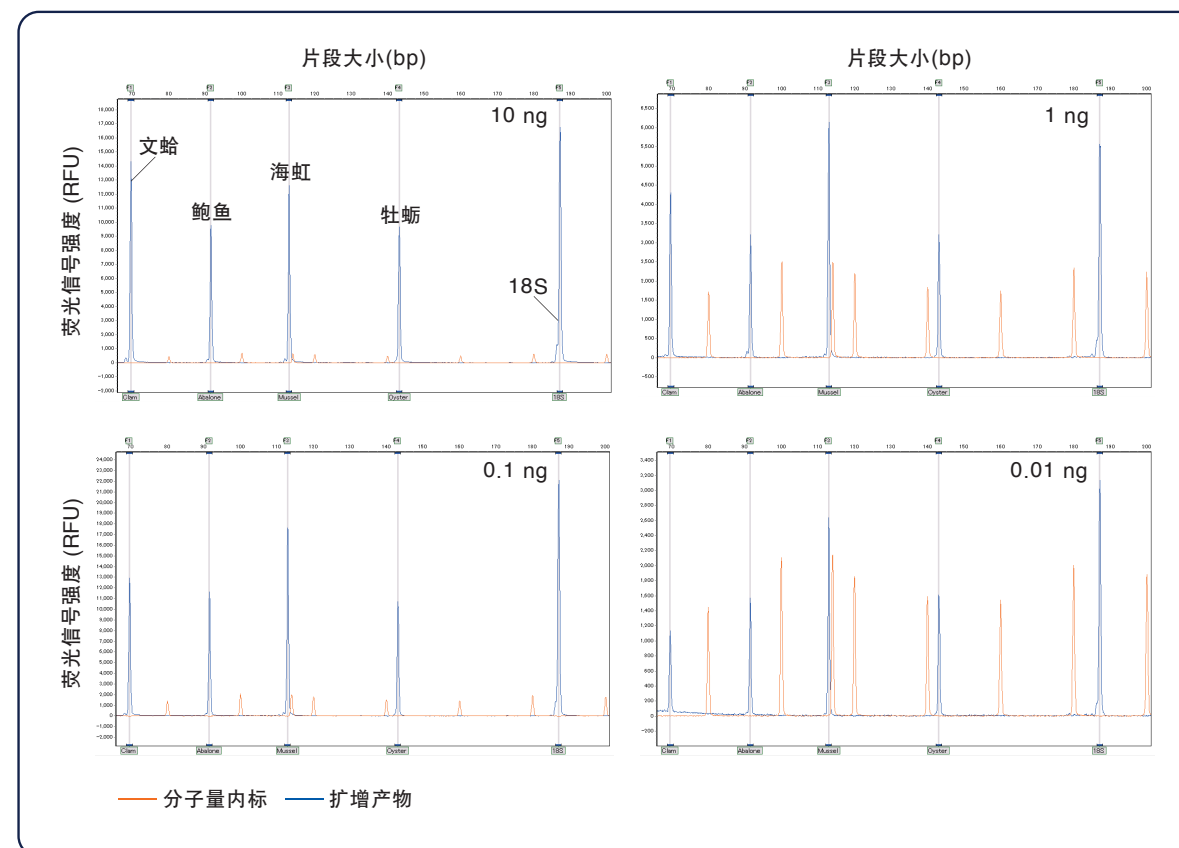


图1: 贝类原肌球蛋白基因检测

上图为电泳结果峰图示例。  
 NTC(无模板对照)样本结果未检测到峰值(数据未显示)。

### 实验材料和方法

从商品化的贝类(文蛤、鲍鱼、海虹、牡蛎)中取10~20 mg左右的切片,使用 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN®公司)进行基因组DNA提取。根据常规方法定量分析获得DNA,且都以相同的量混合。然后,取混合的基因组DNA 0.01 ng、0.1 ng、1 ng、10 ng进行多重PCR。使用<sup>(2)</sup>中用过的引物序列,但为了优化适用于DS3000的PCR流程,将DNA聚合酶换成TdT活性低的Phusion™ Hot Start II DNA聚合酶(Thermo Fisher Scientific公司)。其他PCR条件设置见下方表格1、2和3。PCR产物与分子量内标 GeneScan™ 600 LIZ® dye Size Standard v 2.0 (Thermo Fisher Scientific公司)混合,并通过DS3000进行分离,聚合物选择聚合物4。

在GeneMarker v.3.0.1 (SoftGenetics公司)中分析得到的数据,计算每个信号峰的碱基长度。图1为截取的局部电泳图,以便能更清晰地观察每个峰值。

表1: PCR反应设置

溶液	体积(μl)	温度(°C)	时间(s)	循环数
DNA	1	98	30	1
x5 HF buffer	8	98	10	26 或 31
2.5 mM dNTPs	2	62	30	
primer Fw	1	72	30	
primer Rv	1	72	300	1
Phusion™ HS II	0.4	4	hold	
Amp. grade water	26.6			

总反应时间: 50-60分钟左右

表2: 引物浓度

检测靶标	最终浓度(n M)
18S rDNA	60
文蛤	500
鲍鱼	125
海虹	250
牡蛎	500

表3: PCR循环及进样设置

DNA进样量(ng)	循环数	进样时间(s)
10	26	3
1	26	9
0.1	31	9
0.01	31	9

表4: 聚合物4的运行设置

聚合物	运行模式	电泳时间	电泳电压
聚合物4	AB_5Dye_LIZ600(60-600)_36_P4	约45分钟	13 kV

#### 参考文献

- (1) Jablonski, J. E., Fu, T. J., Jackson, L. S., & Gendel, S.M.(2010). Determination of protein levels in Soy and Peanut oils by colorimetric assay and ELISA. Journal of AOAC INTERNATIONAL, 93(1), 213-220.  
 (2) Suh S-M., Kim M-J., Kim H-I., Kim H-J., Kim H-Y., (2020). A multiplex PCR assay combined with capillary electrophoresis for the simultaneous detection of tropomyosin allergens from oyster, mussel, abalone, and clam mollusk species. Food Chemistry, 317, 126451

#### 注意

- 紧凑型毛细管电泳测序仪DS3000非医疗器械。
- 本资料仅为指定样品在限定环境下得到的验证示例。
- 不保证所有样品在任何环境下均可得到与本资料相同的数据。

DS3000 的主要指标

■ 主机指标

项目	内容
毛细管数量	4道
毛细管长度	36 cm
样品架	8联管×4
设备控制	触摸屏
荧光通道数	6种
应用	测序/片段解析
尺寸	400 (W)×600 (D)×600 (H) mm
重量	45 kg
最优温度范围	15 - 30 °C
最优湿度范围	20 - 80% RH(不结露)
电源	100 - 240 ±10% VAC, 50/60 Hz
额定功率	260 VA
推荐的二次解析软件	·Mutation Surveyor (SoftGenetics公司生产, 单独出售) ·GeneMarker (SoftGenetics公司生产, 单独出售) ·GeneMarker HID (SoftGenetics公司生产, 单独出售)

■ 运行模块指标

运行模块	应用数据	聚合物类型	读取碱基长度 <sup>※1</sup> (QV20 CRL)	平均运行时间 (分)
Fast_Sequence36_Polymer7	测序解析	聚合物7	≥600	≤32
Standard_Sequence36_Polymer7	测序解析	聚合物7	≥700	≤60
BDx_Fast_Sequence36_Polymer7	BDx 测序解析	聚合物7	≥600	≤32
BDx_Standard_Sequence36_Polymer7	BDx 测序解析	聚合物7	≥700	≤60

运行模块	应用数据	聚合物类型	平均运行时间 (分)	碱基对范围精度 <sup>※2</sup> (50 - 400 bp)
Fragment_Analysis36_Polymer7	片段解析	聚合物7	≤35	NA
Fragment_Analysis36_Polymer4	片段解析	聚合物4	≤44	<0.16

■ 耗材指标

名称	内容	备注
毛细管 36 cm	1个	保存温度: 15 - 30 °C
缓冲液	阳极缓冲液×2个 阴极缓冲液×2个	保存温度: 2 - 10 °C
聚合物7	聚合物 7×4个	保存温度: 2 - 10 °C
聚合物4	聚合物 4×4个	保存温度: 2 - 10 °C

※1. 读取碱基长度(QV20 CRL)使用BigDye™ Terminator v3.1 Sequencing Standard Kit (Thermo Fisher Scientific公司生产, 另售) 进行验证。  
 ※2. 片段大小识别精度(50 - 400 bp)使用PowerPlex™ ES117 Fast Allelic Ladder及WEN ILS 500 ESS (Promega®公司生产, 另售) 进行验证。

仅限科研使用, 不可用于医疗诊断及其相关用途。  
 · 本产品在通过ISO9001、ISO14001认证的日立高新技术那珂工厂设计并生产。  
 · 本资料中的公司名称、商品名称为各公司的商标及注册商标。  
 · BigDye是Thermo Fisher Scientific Inc.的商标。  
 · PowerPlex是Promega Corporation的商标。  
 · Promega是Promega Corporation的商标。  
 · 本资料中刊登的数据仅为测试示例, 不确保数据的准确性。

提示: 为正确操作仪器, 操作前请阅读“使用说明书”。  
 NOTICE: For correct operation, follow the instruction manual when using the instrument.  
 版权归日本株式会社日立高新技术所有。  
 Copyright (C) Hitachi High-Tech Corporation 2021. All rights reserved.

日立诊断产品(上海)有限公司

<b>上海总部</b> 地址: 上海恒生银行大厦21层 电话: 86-21-6163-1200 传真: 86-21-6841-5420	<b>北京分公司</b> 地址: 北京发展大厦1408室 电话: 86-10-6590-8700 传真: 86-10-6590-8710	<b>大连分公司</b> 地址: 大连森茂大厦10层 电话: 86-411-8360-7098 传真: 86-411-8360-7998	<b>广州分公司</b> 地址: 广州海航大厦704室 电话: 86-20-8666-9382 传真: 86-20-8668-7002	<b>西安分公司</b> 地址: 西安市科技四路187号 电话: 86-29-8799-9253 传真: 86-29-8799-9251
--	---	---	--	---

Hitachi High-Tech Corporation

邮编105-6409 东京都港区虎之门 1-17-1  
 Toranomon Hills Business Tower, 1-17-1 Toranomon, Minato-ku,  
 Tokyo 105-6409, Japan  
 customercenter.ev@hitachi-hightech.com

HTB-DS-C005 | 2021.10

HITACHI  
Inspire the Next

DS3000 使用聚合物7 进行片段分析

概要

紧凑型毛细管电泳测序仪 DS3000 可根据实验需求, 从两种聚合物聚合物4和聚合物7中择优选取。其中, 聚合物7主要用于DNA测序分析, 但也可用于片段解析。  
 此实验使用GenePrint™ 24 System (Promega® 公司) 验证了聚合物7的片段分析性能。



【密集区间峰信号的检测】

Allelic Ladder (等位基因分型标准物) 是DNA分型鉴定中常用的标准品, 其含有目标STR (短串联重复序列) 的所有等位基因。GenePrint™ 24 System 在60-500 bp之间出现的388个峰, 间隔2~4 bp。为确保在如此密集区间内无遗漏的检测到所有峰, 对仪器的分辨率提出了极高的要求。图1表示GenePrint™ 24 System Allelic Ladder的典型电泳图。此次实验的80次重复验证中, 均检测到了所有峰值。

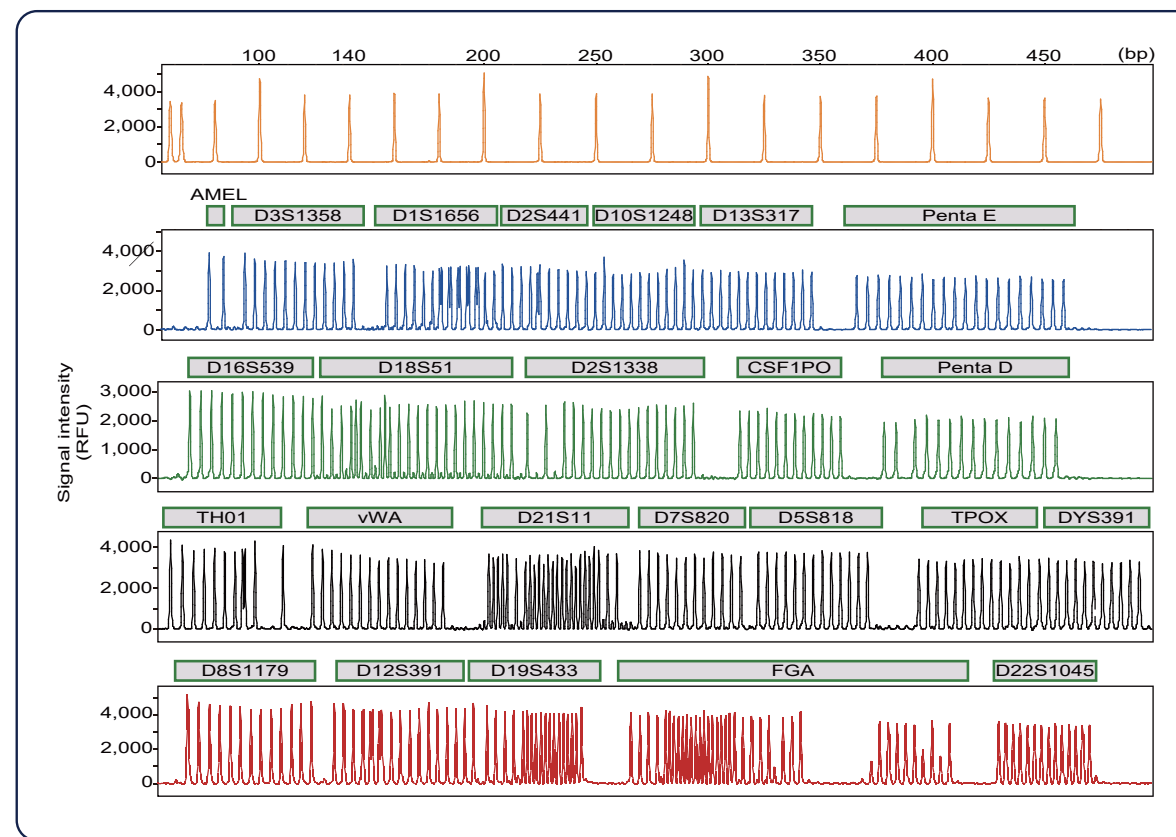


图1: GenePrint™ 24 system Allelic Ladder 电泳图

图示为使用GeneMarker HID绘制的电泳示意图。为方便观察, 特别修改了峰的颜色和线宽。各等位基因标签外侧的绿色方框表示所有峰值被无一遗漏的检测到。

### 【与聚合物4性能对比】

与聚合物4对比分析性能的各项指标。验证聚合物7所使用的GenePrint™ 24 System不推荐在聚合物4的分析中使用。相反地,使用PowerPlex™ ESI 17 Fast System (Promega® 公司)的Allelic Ladder来验证聚合物4的性能,使用两种聚合物分别进行了80次实验,得出的结果汇总于表1。

### EQ (电泳质量)

表示可分离两个碱基长度差异1 bp的峰值的最大碱基长度。每次片段分析运行完成后,其EQ结果便会显示在Result界面上。聚合物4和聚合物7之间无明显差异。注意:本指标与测序分析中的CRL(连续读长)无关。

### 500 bp 电泳迁移时间

表示检测到分子量内标500 bp长度片段峰所需的时间。分子量内标使用的是Promega® WEN ILS 500 ESS (聚合物4)或WEN ILS 500 (聚合物7)。结果表明,聚合物7的迁移时间更短,而且能够比聚合物4更快地完成电泳。

### 片段大小识别精度

表示四根毛细管间的片段大小差异。对四根毛细管间检测到的所有峰的片段大小的标准差进行计算(N=4),并记录其最大值。结果表明,无论是使用哪种聚合物进行DNA分型鉴定,片段大小识别精度范围均在0.16 bp以下(参考文献1)。

表1: 聚合物4和聚合物7的分析性能对比

聚合物	聚合物4	聚合物7
Allelic Ladder	PowerPlex™ ESI 17 Fast System	GenePrint™ 24 System
实验次数	80	80
EQ(bp)	平均值	506.8
	标准差	7.04
500 bp 电泳迁移时间(分钟)	平均值	25.5
	标准差	0.11
片段大小识别精度(bp, 最大值)	< 0.16	< 0.16

### 实验材料和方法

在DS3000上根据表2的分析模式,对两个试剂盒中的Allelic Ladder进行电泳。使用GeneMarker HID ver.2.9.0 (SoftGenetics公司)进行等位基因识别及片段大小计算。

表2: 此报告使用的分析模式

聚合物	运行模块	电泳电压
聚合物4	Promega_5Dye_WENILS_36_P4	13 kV
聚合物7	Promega_5Dye_WENILS_36_P7	13 kV

### 注意

- 紧凑型毛细管电泳测序仪DS3000非医疗器械。
- 本资料仅为指定样品在限定环境下得到的验证示例。
- 不保证所有样品在任何环境下均可得到与本资料相同的数据。

### 参考文献1

Lazaruk, K., Walsh, P., Oaks, F., Gilbert, D., Rosenblum, B., Menchen, S., Scheibler, D., Wenz, H., Holt, C., and Wallin, J. Genotyping of forensic short tandem repeat (STR) systems based on sizing precision in a capillary electrophoresis instrument, Electrophoresis (1998)19:86-93