

■ SolB 용액 제조 (Preparation)

Problem	Possible Cause	Recommended Corrective Action
1. SolB chip 이 잘 만들어지지 않았을 때 (예, 어세이 시 결과가 안 나옴. 스팟이 깨지거나 잘 마르지 않음)	SolB mixture 제조 시 첨가 순서가 틀렸을 경우	매뉴얼을 확인하고 순서를 따라 다시 제조한다.
	Vortex 를 충분히 하지 않았을 경우	SolBH 를 첨가한 후에는 20 초 정도 강하게 vortex 한다.
	SolB1, 2, 3 가 오래되었거나 변성되었을 경우	상태를 체크하여 침전이 있거나, 색이 변했을 때는 사용하지 않고 새로운 병을 개봉하여 사용한다.
	SolBH, S 가 오래되었을 경우	시약병의 뚜껑을 개봉한 지 1 개월 이상이 되었거나 5 회 이상 사용했을 때는 새로운 병을 개봉하여 사용한다.
2. SolBH 을 첨가하여 vortex 한 후에 혼합용액이 혼탁하거나 viscosity 가 증가됨 (액체가 벽에 남아 있음)	SolB1, 2, 3 가 오래되었거나 변성되었을 경우	상태를 체크하여 침전이 있거나, 색이 변했을 때는 버리고 새로운 병을 개봉하여 사용한다. 시약병의 뚜껑을 개봉한 지 1 개월 이상이 되었거나 5 회 이상 사용했을 때는 새로운 병을 개봉하여 사용한다.
	SolBH, S 가 오래되었을 경우	시약 튜브를 개봉한지 6 개월 이상 되었을 때는 버리고 새로운 시약을 개봉하여 사용한다.
3. 분주 시 SolB 혼합용액이 빨리 굳음	SolB1, 2, 3 가 오래되었거나 변성되었을 경우	상태를 체크하여 침전이 있거나, 색이 변했을 때는 사용하지 않고 새로운 병을 개봉하여 사용한다. 시약병의 뚜껑을 개봉한 지 1 개월 이상이 되었거나 5 회 이상 사용했을 때는 새로운 병을 개봉하여 사용한다.
	SolBH, S 가 오래되었을 경우	시약 튜브를 개봉한지 6 개월 이상 되었을 때는 버리고 새로운 시약을 개봉하여 사용한다.
	샘플의 염 농도가 너무 높을 경우	샘플을 1X PBA 에 희석하여 사용하거나 dialysis, fast protein liquid chromatography (FPLC) or high-performance liquid chromatography (HPLC) 로 정제하여 가능한 1XPBS 에 녹인다.
	샘플의 pH 가 낮을 때	샘플을 1X PBA 에 희석하여 사용하거나 dialysis, FPLC, HPLC 로 정제한다.
	온도가 높거나 습도가 낮을 때	분주 시 온도는 20°C, 습도는 70% 이상을 유지하고 건조 시 온도는 20°C, 습도는 60% 이상을 유지한다.

Problem	Possible Cause	Recommended Corrective Action
4. 건조 후 SolB chip 표면에 크랙이 많이 생김	분주 시나 건조 시 온도가 높거나 습도가 낮았을 경우	분주 시 온도는 20°C, 습도는 70% 이상을 유지하고 건조 시 온도는 20°C, 습도는 60% 이상을 유지한다.
	샘플의 pH 가 낮을 때	샘플을 1X PBA 에 희석하여 사용하거나 dialysis, FPLC, HPLC 로 정제 하여 가능한 1XPBS 에 녹인다.
	샘플의 염 농도가 높을 경우	샘플을 1X PBA 에 희석하여 사용하거나 dialysis, FPLC, HPLC 로 정제하여 가능한 1XPBS 에 녹인다.
5. 표면에서 SolB chip 이 떨어짐	칩이 덜 말랐을 경우	3 시간 이상 충분히 건조시킨다.
	SolB chip 에 맞는 표면 물질 (slide, microwell plate 등) 을 사용하지 않았을 경우	공급사에서 추천하는 표면 물질을 사용한다.
	SolB1, 2, 3 가 오래되었거나 변성되었을 경우	시약병의 뚜껑을 개봉한 지 1 개월 이상이 되었거나 5 회 이상 사용했을 때는 새로운 병을 개봉하여 사용한다.
6. 보관 중에 SolB chip 의 상태가 나빠짐	보관 조건이 잘못되었을 경우	상온의 빛이 통하지 않고 건조한 곳에서 보관한다.
	너무 오래 보관하였을 경우	적절한 보관조건에서 90 일까지는 보관 가능하다.

■ 표면에 분주 (Spotting)

Problem	Possible Cause	Recommended Corrective Action
1. SolB chip의 크기가 너무 큼	핸드 스팟팅 시 파이펫 팁의 끝 부분에 용액이 맺혀 있을 경우	<p>혼합액을 파이펫을 이용하여 빨아들인 후 첫번째는 깨끗한 다른 표면에 짚고 두번째부터 원하는 칩 표면에 스팟팅 한다.</p> <p>파이펫을 이용하여 분주할 때 plunger 에 맨 엄지손가락에 힘을 주지 말고 파이펫 팁을 표면에 직각으로 갖다 대었다 떼다.</p>
	sciFlexarrayer 이용 시 조건이 잘 맞지 않을 경우	<p>“Target setup”/“Field setup” 창에서 drop 수를 적절하게 조절한다.</p> <p>Voltage 와 Pulse 를 조절하여 drop 의 부피를 조절한다.</p>
2. sciFlexarrayer 이용 시 분주가 잘 되지 않음	혼합액의 점도가 너무 높을 경우	SolB1, 2, 3 를 새것으로 교체하여 혼합액을 다시 제조하여 사용한다.
	혼합액을 제조한 지 오래되었거나 보관 방법이 잘못되었을 경우	<p>Target tube (혹은 source plate) 를 장착하는 부분은 가능한 15~17 도 정도로 냉각해 둔다.</p> <p>혼합액을 제조한 후에는 -20°C 에 보관해 두고 사용하며 분주 직전에 고정 물질과 혼합한다.</p>
	PDC (Piezo dispensing capillary) 표면의 세척이 안 되었을 경우	<ol style="list-style-type: none"> 1. sciClean6 를 이용하여 PDC 의 안쪽을 세척한다. 2. 70% 에탄올을 묻힌 KimWipes 로 노즐의 바깥쪽 표면을 세척한다. 3. sciClean kit 이나 glass paper 를 이용하여 PDC 의 끝 (tip) 을 세척한다.
3. sciFlexarrayer 이용 시 스팟이 옆으로 퍼지거나 spray 된 것처럼 짝힘	Voltage 나 Pulse 등의 분주 조건이 맞지 않을 경우	<p>Voltage 와 Pulse 를 조절하여 drop 의 모양 및 위치를 일정하게 조절한다.</p> <p>PDC 를 표면에서 300~500 μm 정도까지 최대한 아래로 내려서 분주 한다.</p>
	SolB chip 을 짚을 슬라이드나 96-well plate 의 표면이 균일하지 않거나 먼지 등이 묻어 있을 경우	Slide 의 경우 70% EtOH 를 묻힌 KimWipes 를 이용하여 표면을 닦고 96-well plate 의 경우 압축 공기나 먼지 제거제 등을 이용하여 표면의 먼지를 제거한다.
4. 여러 샘플을 고정했을 경우 샘플에 따라 스팟의 크기가 다름	샘플 별로 농도가 다르거나 buffer 의 조성이 차이가 날 경우	1XPBS 에 녹인 1mg/ml BSA 를 이용하여 샘플을 희석하여 분주한다.

■ 어세이 (Assay)

Problem	Possible Cause	Recommended Corrective Action
1. 음성 대조군 chip 에서 양성 신호가 보임	음성 대조군 chip 에 1X PBS 을 SolB 혼합액과 섞어 만든 경우	음성 대조군 chip 을 찍을 때 1mg/ml BSA (bovine serum albumin) 이나 IgG (Immunoglobulin) 을 SolB 혼합액과 섞어 칩을 제작한다.
	칩이 덜 말랐을 때 어세이를 시작한 경우	칩을 찍은 후 3 시간 이상 건조시킨 후 어세이 한다.
	어세이 시 칩의 세척이 덜 된 경우	세척 횟수를 1~2 회 더 늘리거나 세척 시 5 분간 방치할 동안 slide 나 96-well plate 를 흔들어준다.
		Blocking 시간을 늘려서 실시한다
	Blocking 조건이 맞지 않을 경우	Blocking buffer 의 종류를 변경하여 실시한다. (예, surfactant, BSA, skim milk 등) Blocking buffer 의 농도를 높여서 실시한다. 어세이 샘플이 핵산이라면 tRNA (20 µg/mL) 을 이용하여 blocking 한다.
2. 위양성 신호 (False positive signal) 이 보임	칩에 고정된 샘플에 urea 가 높은 농도로 포함되어 있을 경우	투석이나 FPLC, HPLC 등의 방법으로 샘플을 정제하여 urea 를 제거한 후 칩을 제작한다.
	어세이 도중에 칩이 말랐을 경우	어세이 중에는 칩을 절대로 말리지 않는다.
3. 결과에서 형광 시그널이 보이지 않음	스캐너 또는 형광 현미경에 문제가 있을 경우	레이저 광원의 예상 수명이 다했다면 레이저 광원을 교체한다. 스캐너 사용시 PMT (Photomultiplier) 세기를 높인다.
		어세이 후 5~10 분 정도 건조시킨 후 형광현미경 또는 형광 스캐너로 관찰한다.
	칩이 덜 말랐을 경우	어세이 후 O/N 으로 칩을 건조시킨 후 다음날 다시 형광 현미경 또는 형광 스캐너로 관찰한다.