**PEAQ-ITC日常维护保养操作规程**

1. **工作原理**

任何两个化合物的反应都会伴随热量的变化，PEAQ-ITC（PEAQ等温滴定量热仪）可用于测定两个分子A和B相互作用时的热量变化。实验前，在滴定针中加入小分子配体A，在仪器热量测定核心有两个相同的池子（cell，参比池和样品池），在样品池加入280ul蛋白样品B，在参比池加入280ul相应的蛋白buffer或水。实验时，将滴定针放入样品池，给两个cell相等的热量和温度，滴定针边转动边滴定，在恒温过程中测定滴定针与样品池中两个分子的反应热。一次滴定反应便可得到蛋白质的亲和力（KD），焓变（H）和熵变（S）以及结合位点数目（N）。

1. **应用范围**

主要应用于测定蛋白质与配体相互作用的亲和力和热力学数据。以及二次筛选/hit 验证中快速得到 KD 值，测量靶点活性，确认药物与靶点的结合，用热力学指导先导化合物的优化，研究作用机制，确认 IC50 和 EC50 值，测定酶动力学等研究。

1. **维护内容及流程**
2. 实验前和实验后都需要彻底清洗Syringe和cell（14%Decon90或20%Controd70），及时清洗非常重要。
3. 仪器经常使用的话，cell要彻底清洗后加满ddH2O，Syringe要彻底清洗后用无水甲醇彻底干燥；若果很长时间不用，cell要彻底清洗后将水吸走，Syringe保持干燥。
4. 检查Syringe是否有腐蚀、裂纹和弯曲，如有以上情形，应马上更换Syringe。
5. 检查Pipette转动是否卡顿或者有异响，如有以上情形，应及时报修，否则会导致Pipette内部腐蚀加重而无法维修和使用。
6. FPA使用时应垂直缓慢送入Pipette上样口，不用时应套PCR管保护头部的密封垫。如果发现FPA漏气或者头部密封垫裂开，应及时更换FPA。
7. 每300次实验需更换plunger tip，以免导致漏液而腐蚀Pipette。
8. 洗液至少应每周更换一次，以免变质而污染样品。
9. **常见故障处理**
10. 机械故障：
11. 常见wash module清洗出现error，请检查对应洗瓶中是否缺少洗液，检查外部管路连接，检查pipette或syringe是否有堵塞，检查外部是否漏气等。
12. 仪器offline，请检查电源线和数据线是否连接良好，重启或重新安装控制软件。
13. 如果Syringe断裂或弯曲，应及时更换Syringe。如果plunger tip松动或者其上部有液体泄漏，应及时更换plunger tip。软件提示需要维护，请根据提示进行相关维护。
14. 数据问题：
15. Baseline偏离设定值过大（>±1ucal），过程中有怪峰出现，可能是cell不干净或者有气泡导致。应彻底清洗cell和重新上样。
16. 数据重复性差或者噪音过大，应彻底清洗cell，并做水滴水测试，并将.itc文件发给工程师远程分析协助解决。
17. **维护周期**
18. 每天维护：样品要离心或者过滤，实验前后均应彻底清洗syringe和cell。
19. 每周维护：更换洗液，并使用14%Decon90于60℃浸泡60min彻底清洗两个cell。观察syringe和plunger tip是否需要更换。
20. 年度维护：需工程师来维护（收费）。
21. **维护内容记录**

操作人员按此规程对仪器设备做好日常维护保养工作，并做好维护记录。