

PEAQ-ITC简易操作

1. 1, 双击桌面上的control software图标, 打开控制软件。
2. 2, 进入控制软件后, 通过左下角提示检查是否联机成功, 若显示“Instrument Online”则表示已正常联机, 若显示“Instrument Offline”则表示没有联机成功, 需检查仪器电源是否打开, 数据线是否已连接好。注意仪器的自检提示, 可能会提示cell需要清洗或需要更换耗材等。
3. 3, 点击左上角的“Run Experiment”, “Method”里会显示已有方法的保存路径, 单击后缀为.itcm的方法, 会有该方法的参数显示; 双击方法, 会进入到该参数的方法里。
4. 4, 双击进入选择好的方法后, 会有“Load”“Run”“Clean”显示, 默认是跳到“Run”的界面, 建议先点击“Clean”对仪器进行清洗。
5. 5, “Clean”----step 0是整个清洗的介绍, 可以观看视频, 看完之后“Next”按照步骤进行清洗; step 1是选择清洗方法, 建议cell和syringe都选择“Wash” (如果样品不容易清洗, cell的清洗可选择“Soak”) ; step 2是将cell的清洗工具插到sample cell里, 需要用力按压一下才能插紧; step 3是将pipette移到rest位置, 把FPA接头对准pipette上的孔插入, 切记要严格对准, 否则FPA接头容易损坏; step 4是将pipette移动到clean位置, 卡紧卡扣, 此时点击Next后清洗开始, 清洗大概需要12min时间; step 5清洗完后, 分离FPA接头; step 6是将cell的清洗工具放回原处。清洗过程的每一步都可以先看视频后操作, 建议新使用仪器的同学看完每一步的视频后再进行操作。
6. 6, “Load”----清洗完cell和syringe之后可以加样操作了, 同样step 0是“Load”的一个整体介绍, step 1是cell load, 使用上样针缓慢吸取蛋白样品300uL以上, 若有气泡需要轻弹赶走气泡, 插入cell, 针尖接触到cell底部后抬起1mm, 缓慢注入样品, 可以上下抽打或左右搅拌排除气泡 (如果样品粘度比较大则不建议此操作), 加样时可以加至溢出样品池, 随后用上样针将溢出的样品吸走, 参比池采用同样的方法加dd-water, 通常每周更换一次即可; step 2是将pipette移到rest位置, 把FPA接头对准pipette上的孔插入, 切记要严格对准, 否则FPA接头容易损坏; step 3是将75uL左右样品加到小样品管里, 放在“Load”位置, 并将pipette移动到“Load”位置, 注意卡扣要卡紧, 此时点击Next后syringe开始load样品; step 4是load完后, 分离FPA接头; step 5是将加好样品的pipette放到cell位置, 准备滴定测试。
7. 7, “Run”----编辑测试方法, 首先输入syringe及cell里各自的样品浓度, “Instrument Setting”可以修改temperature等参数, Temperature通常设置在25°C, Reference Power通常设“10uJ/s”, Feedback通常设“high”, Stir Speed通常设“750rpm”, Initial Delay通常设“60s”, Injection Setting里“# of Injections”通常设“19滴”, 每滴通常“2uL”, duration通常为“4s”, spacing通常为“120-180s”, 修改完之后点击“start”, 弹出提示框里选择文件夹并输入文件名后点击“save”, 样品进入准备测试阶段, 实验进度栏会有idle--setting temperature—equilibrating—injecting—ready显示, 进入最后的ready阶段表明样品已经测试完。实验开始基线的位置以在设置的Reference Power值 ± 1 范围内为佳。
8. 8, 实验完后先手动用上样针吸出样品, 然后重复步骤5的“Clean”。

9. 9, 建议至少每周进行一次cell的“soak”的清洗, 保持样品池的干净。

10, 水滴水是检验仪器性能的重要指标, 水滴水的峰以基线平滑, 各个峰的峰面积比较接近, 峰高不超过0.08为佳。