

NAVODILA ZA DELO Z APARATOM BIACORE T100



Slika 1: Biacore T100

1. REZERVACIJA APARATA

Aparat lahko rezervirate pri Vesni Hodnik po telefonu (01/320-34-33; interna št. 3433) ali e-pošti (vesna.hodnik@bf.uni-lj.si). Koledar z rezervacijami aparata najdete na spletni strani Centra (<http://www.bf.uni-lj.si/bi/sprcenter/index.html>). Odgovor o uspešnosti rezervacije boste prejeli po e-pošti v roku 48 ur, rezervacija pa bo zabeležena na spletnem koledarju. Dobro preberite spodnja osnovna navodila. **Pred pričetkom dela podpišite Izjavo o seznanjenosti z delovanjem in vzdrževanjem aparature Biacore T100!** Podrobnejše informacije dobite v knjigah in priročnikih, shranjenih na polici nad aparatom. Po koncu dela trajanje uporabe instrumenta vpišite v seznam, shranjen na polici nad aparatom. Z aparaturom Biacore T100 lahko upravlja samostojno raziskovalec, ki je opravil osnovno šolanje. V nasprotnem primeru mora biti vedno prisotno osebje centra.

2. DELO Z APARATOM

2.1 PRIPRAVA RAZTOPIN

- Lahko pripravite svoje raztopine (pufre, NaOH, SDS), ki jih morate vedno **prefiltrirati** skozi 0.22 µm filter.
- Vse raztopine naj vsebujejo 0.005% surfaktant P20 (v hladilniku na 4°C), ki preprečuje nespecifično adsorpcijo na stene mikrotekočinskega sistema.

- Raztopine shranjujte v hladilniku, da preprečite rast mikroorganizmov. Pred ponovno uporabo vsakokrat preverite, da v pufri ni precipitiranih snovi.

2.2 PRIČETEK DELA

- Če je aparat ugasnjen: T100 prižgete z gumbom na zadnji strani aparata desno. Prižgite računalnik in zaženite program Biacore T100 Control Software. Odprite desna vratca in preverite, če je spona peristaltične črpalke zatesnjena: ročica mora biti navpično:



Slika 2: ročica v mirovanju aparata



Slika 3: ob delovanju mora biti ročica navpično

- Če je aparat v delovanju: ustavite standby postopek (*Tools*→*Stop Standby*).
- Postavite nosilni pufer na levi pladenj in vstavite vanj cevko A. Preverite, če je na desnem pladnju steklenica z Milli Q vodo in steklenica za odpadno tekočino.
- Pri delu z Biacore T100 se uporablja čipe z oznako **Series S** Sensor Chip, ki so shranjeni v originalnih vrečkah v dušikovi atmosferi v hladilniku na 4°C. Ko vrečko odprete, čip čimprej uporabite. Porabo čipov in ostalih kemikalij obvezno vpisujte v seznam na omarici nad aparatom. Čip ekvilibrirajte na sobno T in ga vstavite v aparat (*Tools*→*Insert chip* oz. *Tools*→*Eject chip*, če je bil aparat prižgan in je v njem Maintenance čip). Čip vstavite tako, da sta puščici na zgornji strani čipa usmerjeni proti aparatu. Pokrov nato ročno zaprite, tako da zaslišite klik.



Slika 4: Mesto za čip

- Če hočete vzeti nosilec za vzorce iz Biacore T100, z ukazom *Tools*→*Eject rack* odprete vratca komore. Nato **pritisnite na gumb pod** črnim jezičkom na sprednji strani nosilca. Rahlo privzdignite nosilec in ga potegnite k sebi.

2.3 PRIPRAVA VZORCEV IN PUFROV

- **Mikrotitrne plošče:** vzorce injicirate tako, kot vam pokaže okence *Rack position*. Vzorci morajo biti na dnu, brez zračnih mehurčkov, plošča pa pokrita s folijo. Ploščo na nosilec postavite tako, da najprej odmaknete črn zatič na sprednji desni strani nosilca: nato vstavite ploščo in vrnite zatič v prvotni položaj. Položaj A1 na plošči mora biti obrnjen proti sprednjemu koncu nosilca. Plošče morajo biti vedno pokrite z ustrezno folijo.
- **Stojalo za viala:** pazite, da stojalo na nosilec postavite pravilno obrnjenega: črke na sprednji strani morajo biti obrnjene proti sprednjemu koncu nosilca. Viale morajo biti vedno pokrite z ustreznimi zamaški.
- Preverite, da so vsi vzorci in reagenti injicirani na pravih položajih in da so **viale pokrite s pokrovčki, mikrotitrna plošča pa s folijo.**
- Postavite pufer/pufre na levi pladenj. Pazite: po koncu dela se prične postopek *Standby*, ki uporablja pufer A.
- Preverite, če je na desnem pladnju dovolj MilliQ vode in po potrebi izpraznite steklenico za odpad.

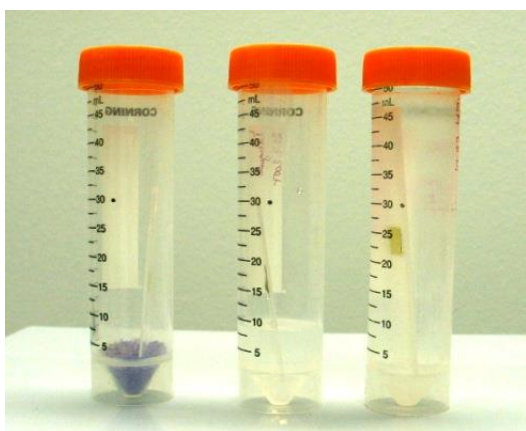
2.4 KONEC DELA

- **Standby mode** (*Tools*→*Standby*): sistem spira z MilliQ vodo 4 dni, poraba 65 ml/24 ur. Aparat avtomatsko preide v *standby mode* tudi po vsaki končani metodi.
- **Izključitev T100:** izvedite *Desorb and Sanitaze* (*Tools*→*Maintenance Tools*→*Desorb and Sanitaze*), vzemite nosilec za vzorce iz aparata in izvedite

Shutdown (*Tools*→*Shutdown*). Potrebujete MilliQ vodo in 70% etanol. Trajanje ≈ 20 min. Sprostite spono peristaltične črpalke, ko vam to naroči software.

2.5 SHRANJEVANJE RABLJENIH ČIPOV

- SHRANJEVANJE V ATMOSFERI, NASIČENI Z VLAGO (tak način shranjevanja priporočajo pri Biacoru): izberite Eject chip (*Tools*→*Eject chip*) in vzemite čip iz aparata. Odstranite čip iz kasete s pomočjo pincete. Vstavite ploščico s čipom v 50 ml Falcon epruveto, v katero ste pred tem nalili nekaj mililitrov pufera. Epruveto zaprite in spravite v hladilnik na 4°C v stojalo z rabljenimi čipi. Pred ponovno uporabo čipa ga ekvilibrirajte na sobno temperaturo, vstavite v kaseto in nato v instrument z Insert chip (*Tools*→*Insert chip*).
- MOKRO SHRANJEVANJE: postopek je enak kot v prejšnjem odstavku, le da nalijete pufer do vrha epruvete.
- SUHO SHRANJEVANJE (tak način shranjevanja priporočajo pri Xantecu): izberite Eject chip (*Tools*→*Eject chip*) in vzemite čip iz aparata. Odstranite čip iz kasete s pomočjo pincete. Odstranite odvečno tekočino s tresenjem ali previdno posušite čip s stisnjanim zrakom. Vstavite ploščico s čipom v 50 ml Falcon epruveto, v katero ste na dno dali 5g silika gela. Spravite epruveto v hladilnik na 4°C v stojalo z rabljenimi čipi. Pred ponovno uporabo čipa ga ekvilibrirajte na sobno temperaturo, vstavite čip v kaseto in nato v instrument z Insert chip (*Tools*→*Insert chip*).



Slika 5: Primeri shranjevanja čipov: suho, shranjevanje v atmosferi, nasičeni z vlagom in mokro shranjevanje.

3. VZDRŽEVANJE APARATA –v aparatu obvezno Maintenance čip!

3.1 DNEVNO, TEDENSKO

- DESORB (*Tools*→*More Tools*→*Maintenance Tools*→*Desorb*): izvedite tedensko ali dnevno, če pri delu ne uporabljate surfaktanta P20. Postopek odstrani adsorbirane snovi, traja 20 min. Potrebujete **BIAdesorb solution 1** (0,5% SDS, v omari na desni strani aparata) in **BIAdesorb solution 2** (50 mM glicin-NaOH pH 9.5, v hladilniku na 4°C) ter **MilliQ vodo**. Po opravljenem postopku gre aparat samodejno na postopek Standby.

3.2 MESEČNO

- DESORB AND SANITAZE (*Tools→More Tools→Maintenance Tools→Desorb and Sanitize*): izvedite mesečno ali pogosteje, postopek odstrani adsorbirane snovi in dezinficira pretočni sistem. Potrebujete **BIAdesorb solution 1** (0,5% SDS, v omari nad aparatom) in **BIAdesorb solution 2** (50 mM glicin-NaOH pH 9.5, v hladilniku na 4°C), **BIAdisinfektant solution** (v hladilniku na 4°C, redčite po navodilih na steklenički tik pred uporabo) ter **MilliQ vodo**. Po opravljenem postopku gre aparat samodejno na postopek Standby. Ne izvajajte meritev vsaj še 3-4 ure. Trajanje ≈ 1 ura
- SUPERCLEAN (*Tools→More Tools→Service Tools→Superclean*): postopek izvedite po potrebi-ko delate s celicami, virusi ali ligandi in analiti pri visokih koncentracijah (20 µM ali več). Izvedite po postopku Desorb and Sanitize, uporabite naslednje raztopine:

Tabela 1: Raztopine za Superclean

proteini	majhne molekule
MilliQ voda, 50°	MilliQ voda, 50°
1% očetna kislina	1% očetna kislina
0,2 M Na-bikarbonat	0,2 M Na-bikarbonat
6 M gvanidin-HCl	50% DMSO
10 mM HCl	10% DMSO

3.3 OSTALI POSTOPKI

- EMPTY BUFFER TUBING: spere in sprazni vse cevke. Uporabite, če ste uporabljali več pufrov. Potrebujete 70% etanol in MilliQ vodo.
- WASH BUFFER TUBING: uporabite, če boste menjali pufer in je prejšnji pufer vseboval snovi, ki se rade adsorbirajo na cevke. Potrebujete BIAdesorb solution 1 in 2 ter MilliQ vodo.

Na list na omarici nad T100 vpišite, kdaj ste opravili postopke vzdrževanja.