

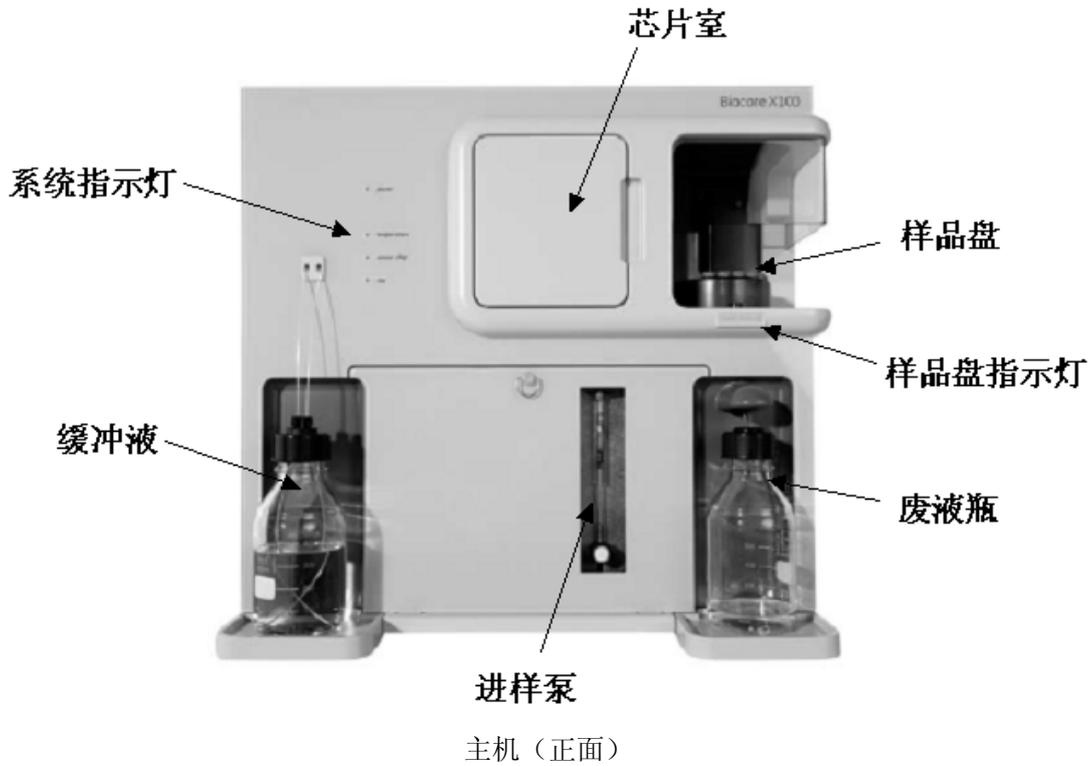
# Biacore X100 简易操作指南

## 目 录

1. Biacore X100 系统组件简介 .....	2
2. 仪器常规操作 (Basic instrument operation) .....	3
3. Biacore X100 实验操作:	
(I) 向导模式 (Wizard Mode) .....	5
(II) 手动模式 (Manual Run) .....	8
4. 系统定期维护 (System Maintenance) .....	9

\* 本手册仅供简单操作参考，实际内容请参照说明书中的相关内容

## 1. BIAcore X100 系统组件简介



## 2. 仪器常规操作 (Basic instrument operation)

### 2.1 开机

#### 2.1.1 从关机状态开机

- (1) 启动电脑和打印机，打开 Biacore X100 主机电源（右后侧下方），待主机面板上 TEMP 指示灯停止闪烁，即表示温度已稳定；
- (2) 启动 Biacore X100 Control Software，登入；
- (3) 待软件和主机建立连接，约 30 秒；
- (4) 确认左侧缓冲液瓶已装入新鲜缓冲液且两根缓冲液管均插入瓶中；
- (5) 确认右侧废液管已插入废液瓶中；

#### 2.1.2 从待机状态开机

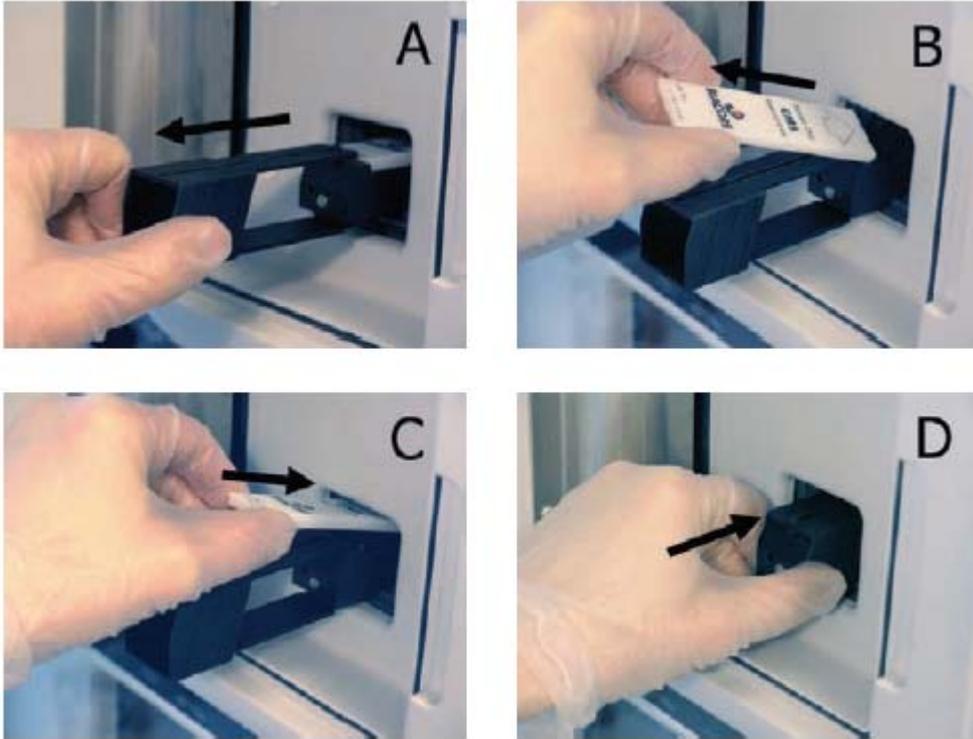
- (1) 确认左侧缓冲液瓶已装入新鲜缓冲液且两根缓冲液管均插入瓶中；
- (2) 确认右侧废液管已插入废液瓶中；启动控制软件并登入；

#### \*关于缓冲液：

- (1) 请使用新鲜配置的缓冲液，200  $\mu$  l 缓冲液约可使用 24 小时；
- (2) 缓冲液必须用 0.22  $\mu$  m 进行过滤，去除杂质；
- (3) 缓冲液或去离子水必须经过脱气处理（装有 X100 Plus Package 用户无需脱气）；
- (4) 在 Standby 状态调换缓冲溶液时，先在 Tools 中选择 Stop Standby，换上缓冲液后，选择 Prime 即可。

### 2.2 芯片的放置

- (1) 打开芯片室的门；
- (2) 点击 Undock Chip 按钮 ，弹出对话框；
- (3) 拉开芯片槽导轨，图 A；
- (4) 取出旧芯片，图 B；
- (5) 把新芯片按箭头朝内方向插入，放平，图 C；
- (6) 推入芯片槽导轨，图 D；
- (7) 关上芯片室的门；
- (8) 点击对话框内的 Dock Chip 按钮。
- (9) 确认缓冲液瓶中有足够的溶液；
- (10) 点击 Tools—> Prime，用缓冲液润洗整个管道系统。



### 2.3 调节温度

装备 Plus Package 的用户可在 Tools—> Set Temperature 选择所需的实验温度 (4-40°C)。待温度指示灯 Temp 停止闪烁后表明系统已达到设置温度。

### 2.4 样品的放取

- (1) 点击 Load Samples 图标 ;
- (2) 待 Rack Locked 指示灯熄灭后, 将样品盘轻轻提起取出;
- (3) 将样品放入正确的位置:
  - 1-15 号可放置 1.5ml 标准 EP 管 (必须剪去盖子, 为防止溶液挥发, 最好加上 Biacore 专配的橡皮塞)。
  - H<sub>2</sub>O 处放置专配的 4ml 塑料管, 每次实验前加入去离子水 (切勿加盖), 用于清洗进样针。
- (4) 放回样品盘, 点击 OK。

### 3. Biacore X100 实验操作模式

Biacore X100 实验设置和控制全部通过 Control Software 实现。实验可通过两种模式进行：向导模式和手动模式。

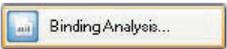
向导模式又分为两种：Workflow 模式和 Template 模式。Workflow 模式是将一个完整实验的所有步骤都通过一个流程图贯穿起来，结构十分清晰，适合初学者使用。Template 模式是将每一个实验步骤分开设置，便于操作，适合有经验的使用者。

#### 3.1 WorkFlow 向导模式

##### 3.1.1 建立 Workflow

(1) 根据实验目的，选择正确的流程。如果要测定生物分子间的亲和力和

动力学，选择 ；如果测定两者间有无结合作用，点

击  图标。以下只以亲和力/动力学流程为例说明。

(2) 点击模式按键后，弹出对话框

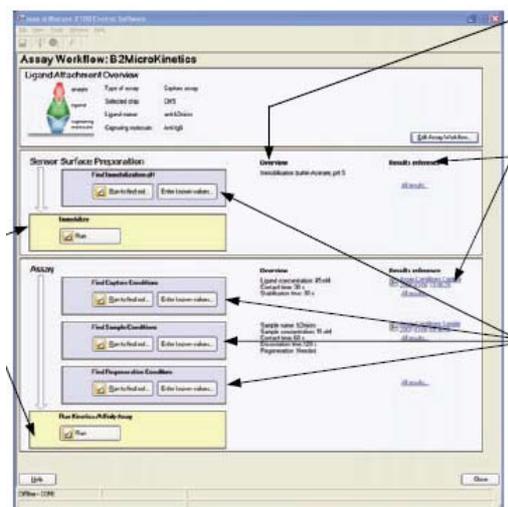


根据提示，输入正确的配体 (Ligand) 名称，种类等信息。

(3) 软件根据输入的信息，会推荐适合的芯片和偶联方式。请根据实际情况选择（例如：直接偶联或捕获方式偶联）。选择后下方和右侧会出现示意图和流程图。

(4) 点击 Continue 键，保存。

此时，完整的实验流程图出现。图中黄色对话框是必要的实验步骤，浅蓝色对话框内的是可选择的实验步骤。主流程分为两大部分：Sensor Surface Preparation（芯片表面准备）和 Assay（实验）。



### 3.1.2 芯片表面准备

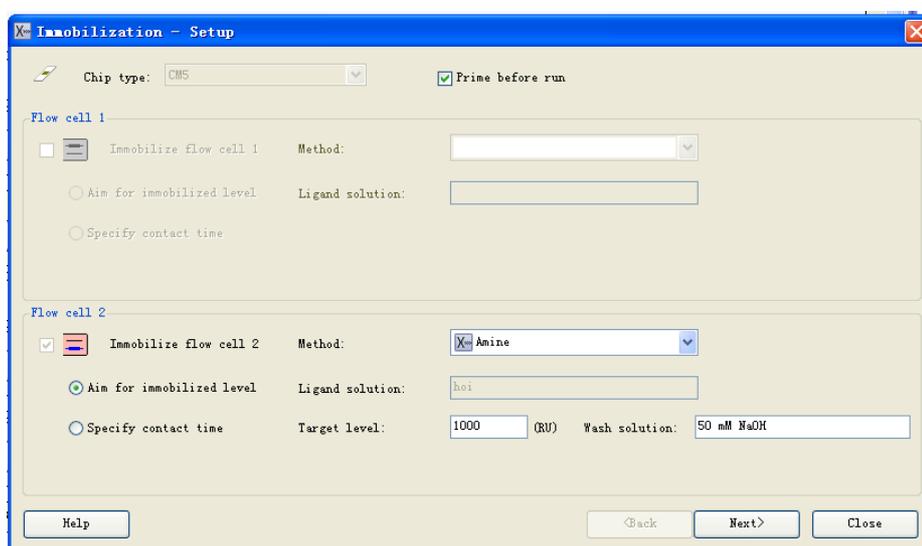
该步骤主要是将配体偶联到芯片表面。如果是首次偶联一个新样品，需要找到合适的偶联 pH 条件。

#### 3.1.2.1 Find Immobilization pH

如果样品等电点 (PI) 未知，推荐顺序使用 pH 5.5、5.0、4.5、4.0 的醋酸钠溶液进行测试，样品浓度可选择 10–50  $\mu\text{g/ml}$ ，但四个样品浓度需保持一致。进样时间 180 秒，用 50mM NaOH 作为清洗溶液。最后可根据结果，选择合适的 pH 浓度作为偶联条件。

#### 3.1.2.2 Immobilization

该步骤将配体偶联到芯片上。点击 ，弹出对话框



- (1) 选择芯片种类 (flowwork 模式下不可用)。
- (2) 选择通道 (flowwork 模式下不可用)，通常将 Flow Cell 1 作为参照通道，Flow cell 2 作为样品通道。
- (3) 选择偶联方法，通常为氨基偶联 Amine。
- (4) 选择偶联方式：  
Aim for immobilized level: 以偶联量为目标，输入配体名称，偶联水平 (很重要，根据公式计算)，洗脱液 50 mM NaOH。  
Specify contact time: 以固定的接触时间为偶联标准。
- (5) 点击 next，选 load sample，取出样品盘
- (6) 按照表格中的示意图，一一对应放入所需试剂。加入试剂的量不得少于软件要求的用量。试管要去除盖子，样品加入试管后离心一下，去除气泡。
- (7) 将样品盘放回托架，点击 next；检查缓冲液等，保存方法和结果文件；点击 Run，开始正式偶联。
- (8) 偶联完成后会显示最终偶联水平。

### 3.1.3 实验

#### 3.1.3.1 Find Sample Conditions

该步骤为可选步骤，可帮助用户了解：

- (1) 配体是否有活性；
- (2) 确定适合的浓度和接触时间；
- (3) 确定是否需要再生；
- (4) 观察是否有非特异性结合现象存在。

#### 3.1.3.2 Find Regeneration Conditions

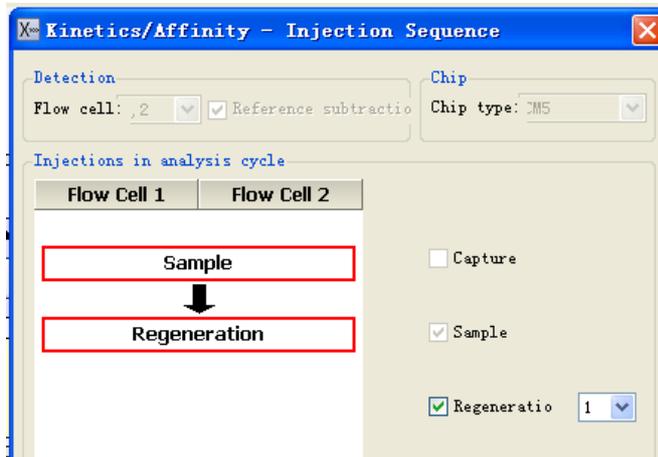
该步骤为可选步骤，可帮助用户选择合适的再生条件。

#### 3.1.3.3 Run Kinetics/Affinity Assay



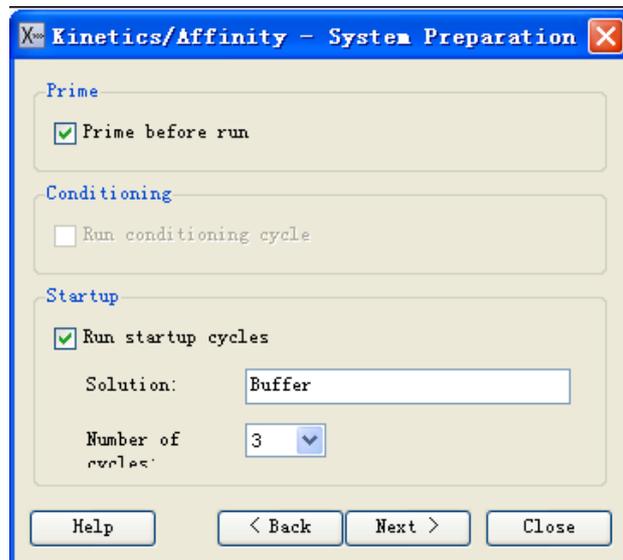
点击 **Run**，设定测定亲和力的实验参数。

- (1) 选择 Flow Call 和芯片种类 (Work Flow 模式下不可选)。



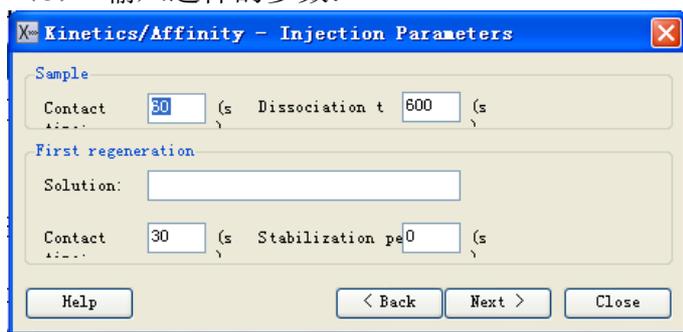
根据实验要求，选择实验的流程和再生的次数。点击 Next。

- (2) 建议勾取 prime before run，用缓冲液冲洗管道。



Startup 的 solution 可用缓冲液，次数建议为 3-5 次，点击 Next。

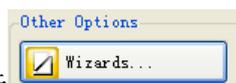
(3) 输入进样的参数:

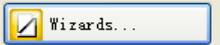


进样时间 (contact time) 推荐在 180 秒, 解离时间长短需视样品而定, 对未知样品可用 600 秒尝试。填写再生试剂名称, 进样时间通常在 30-60 秒间。如果再生试剂为 SDS, 之后需要稳定 30-60 秒时间。点击 Next。

- (4) 填写样品名称, 分子量, 浓度。注意, 必须要有一个零浓度和一个重复浓度的样品。点击 next。
- (5) 按照要求放置样品, 检查缓冲液, 保存文件, 点击 Run 开始实验。
- (6) 实验结束后, 结果文件会自动在 Evaluation 软件中被打开。

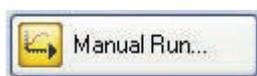
### 3.1.4 Template 模板模式

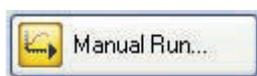


点击 , 可打开模板向导模式。上文 Workflow 中所有的功能模块都可在模板中找到, 并且独立运行。对照如下:

Wizard	Corresponding workflow step
Immobilization pH Scouting	Find immobilization pH
Immobilization	Immobilization
Assay Conditions Capture	Find capture conditions
Assay Conditions Sample	Find sample conditions
Regeneration Scouting	Find regeneration conditions
Concentration Analysis	-
Kinetics/Affinity	Assay step, kinetics/affinity workflow
Binding Analysis	Assay step, binding analysis workflow
Custom Assay Wizard	-

### 3.2 手动模式 Manual Run



点击 , 打开手动模式。

详细的按钮功能请参阅 Support Navigator。

## 4. 系统定期维护 ( System Maintenance)

### 4.1 每日或每次实验结束:

任务: 清空废液。将芯片取出, 用保鲜膜包好置于密闭的塑料袋中, 放入 4 度冰箱冷藏。将缓冲液换成去离子水, 确认系统处于 Standby 状态。请每隔 3-4 日置换一次去离子水, 避免生长细菌。如果超过 4 天无人值守换水, 请关机。

### 4.2 每周

任务: 清洁流路系统。使用 Tools—> More Tools—> Desorb; 放入维护芯片 (Maintenance Chip); 根据程序指令完成清洗工作。

所需试剂: BIA Desorb Solution 1&2; Maintenance Chip; 去离子水。

### 4.3 每月

任务: 清洁流路系统, 除菌。使用 Tools—> More Tools—> Desorb and Sanitize; 放入维护芯片 (Maintenance Chip); 根据程序指令完成清洁工作。

所需试剂: BIA Desorb Solution 1&2; BIA Disinfectant solution; Maintenance Chip; 去离子水。

### 4.4 系统检测

任务: 定期检测系统状态。使用 Tools—> More Tools—> System Check and Pump Calibration。放入新的 CM5 芯片, 根据程序指令完成检测工作。

所需试剂: BIA Test Solution, 新 CM5 芯片, HBS-EP buffer。

### 4.5 关机

任务: 关机系统。

- (1) 准备一瓶去离子水和一瓶 70%乙醇;
- (2) 退出芯片;
- (3) 选择 Tools—> Shutdown, 根据程序要求完成指令;
- (4) 程序将冲洗流路并排空 IFC 内的液体, 约十分钟。当系统要求打开管道夹时, 请打开前部下方面板, 翻起管道夹, 如图;



- (5) 关闭控制软件, 清空玻璃瓶