

NAVODILA ZA UPORABO APARATA

SEBIA HYDRASYS LC za elektroforezo



Kratka navodila za rokovanje z instrumentom.

Pred uporabo dobro preberi tudi originalna navodila, posebej za uporabo vseh možnih funkcij!

Navodila za uporabo instrumenta naj bodo zmeraj v bližini instrumenta.

KAZALO

1.) Levi del aparata – del v katerem poteka elektroforeza.....	4
Pomen ostalih tipk:.....	4
2.) Desni del aparata – del v katerem poteka barvanje, izpiranje, sušenje.....	5
1.) Raztopina za barvanje:.....	5
2.) Raztopina za razbarvanje (destaining solution):.....	5
3.) Raztopina za izpiranje (washing solution):.....	5
3. Vzdrževanje aparata:.....	6
PROTEINOGRAMI NA APARATU HYDRASYS.....	7
Postopek.....	7
Priprava aplikatorja (nanos vzorcev):.....	7
Priprava gela:.....	7
Priprava raztopin za barvanje, razbarvanje, izpiranje:.....	8
1.) Raztopina za barvanje:.....	8
2.) Raztopina za razbarvanje (destaining solution):.....	8
3.) Raztopina za izpiranje (washing solution):.....	8
Potek elektroforeze.....	8
Potek barvanja.....	8

1.) Levi del aparata – del v katerem poteka elektroforeza

Ta del deluje neodvisno od desnega dela aparata, ki je namenjen barvanju in izpiranju. Ko aparat vklopimo se prične faza inicializacije, potem se na zaslonu prikaže slika, katere levi del (MIGRATION) je namenjen spremljanju poteka elektroforeze, desni del (STAINING) pa spremljanju poteka barvanja.

PROTEIN 15/30	II	PROTEIN
20°C	II	
1 SELECT MIGRATION	II	2 SELECT STAINING
2 SERVICE PROGRAM	II	3 REAGENT LINES

Program za elektroforezo (migracijo) izberemo s pritiskom na tipko: 1-SELECT MIGRATION. Pojavi se naslednja slika:

PROTEIN	II	PROTEIN
20°C	II	
1 SELECT MIGRATION	II	3 SELECT STAINING
2 TESTS	II	4 REAGENT LINES

Do zelenega programa pridemo s pomočjo puščic ter tipke ENTER ali z vstavitvijo številke programa in tipke ENTER. Za preklic izbire uporabimo tipko CE.

Start migracije (začetek elektroforezne ločbe) izbranega programa sprožimo s pritiskom na zeleni gumb ► na levi strani tipkovnice.

Pomen ostalih tipk:

II PAUZA (začasna ustavitev poteka elektroforeze v nujnih primerih)

— STOP (ustavitev poteka elektroforeze v nujnih primerih)

Aplikacija je opisana v postopku za posamezno preiskavo in je priložena k vsakemu kompletu reagentov. Migracija in sušenje potekata avtomatično; le pred inkubacijo v postopku za imunoelektroforezo moramo ročno aplicirati antiserume.

Med migracijo vidimo na displeju podatke o času, temperaturi, napetosti, jakosti in moči električnega toka. Opazuj te podatke in jih občasno beleži v zvezek za servisiranje aparata. (Če je gel nepravilno hranjen ali prestar in zato tanjši, bo začetna napetost višja in tok nižji. Če so med transportom plošče stale pokonci se pufer steka v spodnji del gela, zgornji postane tanjši in to opazimo v spremenjenih začetnih pogojih napetosti in jakosti). Čas aplikacije lahko spremeni le serviser v softveru (daljši čas pomeni povečan nanos). Če kontakt med gelom in hladilno ploščo ni dober (dobro navlažena podlaga), bo elektroforeza potekala pri previsoki temperaturi in bo hitrost migracije večja.

Po vsaki končani elektroforezi ostane temperatura v elektroforeznem modulu na 50°C dokler ne odstranimo gel. Na ta način je onemogočena rekristalizacija soli in kondenzacija vode.

Ko je dosežena temperatura 50°C smemo odpreti pokrov:

1. dvignemo aplikator in ga zavržemo
2. dvignemo nosilec
3. odstranimo gobice s pufrom in jih zavržemo
4. vzamemo gel in ga položimo v nosilec za barvanje in razbarvanje

Pomembno: elektrode pazljivo obrišemo po dolžini z vlažno staničevino vsakič po končani elektroforezi.

Modul je pripravljen za naslednjo elektroforezo takoj, ko temperatura zopet doseže 20°C. Če začnemo prej, se pojavi opozorilo: PLATE COOLING.

2.) Desni del aparata – del v katerem poteka barvanje, izpiranje, sušenje

Reagente za barvanje, razbarvanje in izpiranje aparata razredčimo po navodilih:

1.) Raztopina za barvanje:

Priprava je opisana v postopku za posamezno preiskavo.

2.) Raztopina za razbarvanje (destaining solution):

5 ml raztopine razredčimo v 5 l destilirane vode. Za eno razbarvanje potrebujemo 600 ml te raztopine. V sestavi raztopine je citronska kislina: pH razredčene raztopine je med 4.0 – 4.5. Pri večji pH vrednosti (v alkalnem) se albumini izperejo in bodo vrednosti prenizke.

3.) Raztopina za izpiranje (washing solution):

80 ml razredčimo z 5l destilirane vode. Aparat izpiramo najmanj enkrat tedensko in obvezno ob petkih po navodilih, ki so priložena k raztopini ali opisana v knjigi navodil (instruction manual).

Program za barvanje izberemo s pritiskom na tipko: 3 – SELECT STAINIG.

Pojavi se naslednja slika:

STAINING: SELECT ANALYSIS	
>>> 1 PROTEIN	4 Hb TOTAL
2 LIPO + Lp(a)	5 Hb A1c (TTF)
3 IF	6 TANK CLEANING

Do zelenega programa pridemo s pomočjo puštic ter tipke ENTER ali z vstavitvijo številke programa in tipke ENTER. Za preklic izbire uporabimo tipko CE.

Start barvanja izbranega programa sprožimo s pritiskom na zeleni gumb ► na desni strani tipkovnice.

Postopek barvanja delimo na več faz, ki avtomatično sledijo druga drugi:

- barvanje
- razbarvanje
- sušenje
- izpiranje pri programih za IF in LIPO + Lp(a)

3. Vzdrževanje aparata:

Dnevno:

Vsakič po končani elektroforezi obrišemo elektrode z vlažno staničevino.

Tedensko:

1. Nosilec za elektroforezo položimo vodoravno v taso z destilirano vodo do višine 5 mm in pustimo čez noč. Pazljivo obrišemo s suho krpo. S tem postopkom preprečimo nalaganje soli na elektrodah.
2. Izperemo del aparata, ki je namenjen barvanju z izpiralno raztopino. Na zaslonu pritisnemo tipko SELECT STAINING s puščico izberemo TANK CLEANING program, vstavimo prazen nosilec za gel in pritisnemo tipko za start. Raztopina za izpiranje bo krožila po sistemu 5 minut, nato raztopina za razbarvanje 1 minuto in 40 sekund. Na koncu je faza sušenja, ki traja 10 minut. Zvočni signal oznani konec postopka. Za izpiranje potrebujemo najmanj 1l izpiralne raztopine. Podrobnejša navodila glej v prilogi.

Mesečno:

Odstranimo zračni filter na desni strani aparata, operemo ga z milnico in toplo vodo, posušimo in vrnemo na mesto.

Letno:

Serviser naj zamenja cevke in tesnila na črpalki in ventilih. Postopek je potrebno izvajati bolj pogosto, če uporabimo več kot povprečno 2 gela na dan.

PROTEINOGRAMI NA APARATU HYDRASYS

Uporabljamo lahko kit za 7, 15 ali 30 določitev na eni agarozni plošči:

Hydragel 7 protein, kat. št. 4100

Hydragel 15 protein, kat. št. 4120

Hydragel 30 protein, kat. št. 4140

Postopek je pri vseh enak, le aplikatorje (papirnate glavničke) moramo postaviti v različne položaje na nosilcih za elektroforezo:

Hydragel 7, Hydragel 15: aplikator v položaj 6

Hydragel 30: aplikatorja v položaje 3 in 9

Postopek

Vklopimo aparat, odpremo prostor za elektroforezo, dvignemo nosilec aplikatorja in elektrode ter z destilirano vodo navlažimo spodnjo tretjino podlage. Če izvajamo test Hydragel 7 protein dodamo 120ml za test Hydragel 15 oz. 30 protein pa 200ml destilirane vode.

Priprava aplikatorja (nanos vzorcev):

- aplikator položimo na ravno podlago, oštevilčen del naj bo zgoraj in v vsako odprtino pipetiramo po **10 µl vzorca**. Pipetiranje naj ne traja dlje kot **2 minuti**,
- aplikator postavimo za 5 minut v vlažno komoro (hranimo jo v hladilniku) tako, da so zobčki aplikatorja obrnjeni navzgor. Tako se ne steka preveč vzorca v papir aplikatorja,
- napipetirani vzorci lahko čakajo v vlažni komori v hladilniku do **8 ur**.

Priprava gela:

- gel vzamemo iz ovojnice tako, da je obrnjen navzdol – tako kondenz odteče na pokrov,
- odvečno tekočino odstranimo s tankim filter papirjem (če papir držimo dalj časa na površini gela, bo ta posejal preveč pufra in bo zato aplicirano preveč vzorca),
- položimo gel na podlago tako, da ni zaostalih mehurčkov zraka – pomembno za enakomerno in uspešno hlajenje gela med potekom elektroforeze.
- namestimo gobice s pufrom (koncentriran barbituratni pufer), ki je lahko rumeno obarvan in spustimo nosilec elektrod in aplikatorja v spodnji položaj,
- namestimo aplikator z vzorci v predpisan položaj (številke obrnjene proti nam), zapremo prostor in takoj sprožimo začetek elektroforezne ločbe (migracije) s pritiskom na zeleni gumb za start ► na levi strani tipkovnice.

Priprava raztopin za barvanje, razbarvanje, izpiranje:

1.) Raztopina za barvanje:

15 ml diluenta za barvanje dodamo v vialo z koncentriranim barvilom amidoblack. Pazljivo zapremo vialo in jo stresamo približno 5 sekund. To raztopino nato prenesemo v kontejner za barvalno raztopino. Korak ponovimo 2-3x nato preostali diluent zlijemo v kontejner za barvalno raztopino in napolnimo z destilirano vodo do 300 ml. Celotno vsebino še mešamo 5-10 minut. Pufer v katerem poteka elektroforeza je alkalen in zato se kislina v barvilu postopoma neutralizira. Imeli bomo prenizke vrednosti albuminov, če bomo predolgo uporabljali isto barvo. Barvilo zamenjamo vsakič ob novem kompletu. Percipitat v barvilu ne vpliva na barvanje.

2.) Raztopina za razbarvanje (destaining solution):

5 ml raztopine razredčimo v 5 l destilirane vode. Za eno razbarvanje potrebujemo 600 ml te raztopine. V sestavi raztopine je citronska kislina: pH razredčene raztopine je med 4.0 – 4.5. Pri večji pH vrednosti (v alkalnem) se albumini izperejo in bodo vrednosti prenizke.

3.) Raztopina za izpiranje (washing solution):

80 ml razredčimo z 5l destilirane vode. Aparat izpiramo najmanj enkrat tedensko in obvezno ob petkih po navodilih, ki so priložena k raztopini ali opisana v knjigi navodil (instruction manual).

Potek elektroforeze

Aplikacija vzorcev traja 30 sekund. Migracija poteka pri konstantni moči električnega toka, ki znaša 10W za Hydragel 7 protein in 20W za Hydragel 15 oz. 30 protein. Temperatura je konstantna 20°C, kontrolirana z Peltier efektom. Migracija traja dokler parameter v h. ne doseže številke 33 (približno 7 minut). Sušenje poteka 10 minut pri temperaturi 65°C, hlajenje do 50°C (ko lahko odpremo pokrov) traja nekaj sekund. Ko odpremo pokrov in odstranimo gel, se temperatura spusti na 20°C v manj kot 5 minut in aparat je pripravljen na novo serijo. Ves postopek elektroforeze traja okoli 20 minut.

Potek barvanja

Po končani elektroforezi v levem delu aparata odpremo pokrov, odstranimo in zavržemo aplikatorje, odstranimo in zavržemo puferne gobice. Gel vstavimo v nosilec za barvanje ter ga namestimo v barvalno komoro v desnem delu aparata.

Pred začetkom barvanja preverimo:

- kontejner za barvanje vsebuje 300ml barvalne raztopine,
- kontejner za razbarvanje vsebuje najmanj 1l razbarvalne raztopine,
- kontejner za odpad je prazen.

Izberemo "protein" barvalni program v meniju in pritisnemo zeleni gumb ► na desni strani tipkovnice.

Mikro+Polo Servis

Rešujemo težave.



Kolektiv servisa Mikro+Polo sestavljamo posamezniki s širokim obsegom znanj s področij strojništva, elektrotehnike, elektronike in računalništva. Imamo dolgoletne izkušnje s področij tehnične podpore za medicinsko, laboratorijsko, Hi-Tech, industrijsko in merilno opremo.

Naš osnovni namen je **REŠEVATI VAŠE TEŽAVE** in s tem skrbeti za nemoten potek dela v vaših organizacijah. To počnemo s ponosom in veseljem.

DEJAVNOSTI SERVISIA:

inštalacije | redno in izredno vzdrževanje | deinštalacije odsluženih aparatov in opreme
demonstracije delovanja opreme | nastavitve parametrov in modifikacije | kalibracija

Servisiramo tudi opremo, ki je niste kupili pri nas!

Prilagajamo se potrebam strank in po njihovih željah izvajamo projekte povezane z laboratoriji, industrijo in spremljajočo opremo.

V sklopu servisnega oddelka vam ponujamo tudi storitve našega akreditiranega kalibracijskega laboratorija.

V primeru težav pokličite naš **SERVISNI CENTER** na telefonsko številko: **+386 (0)2 614 33 57** ali nam pišite na e-pošto: **service@mikro-polo.si**