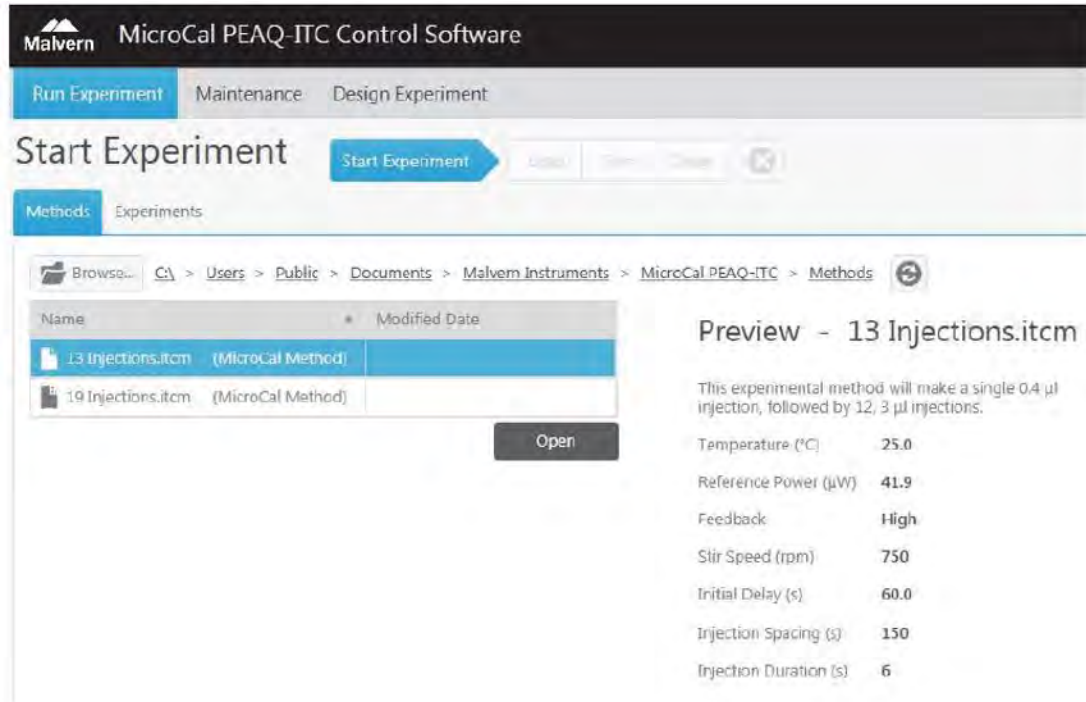# Malvernpanalytical Microcal PEAQ-ITC

中文簡易操作流程

1. 開啟電腦
2. 開啟位於儀器右後方的開關
3. 點選桌面上的 ITC 開啟實驗操作軟體，下方視窗將會彈出，並確認位於儀器前方的燈示為綠色確保軟體和儀器已相連
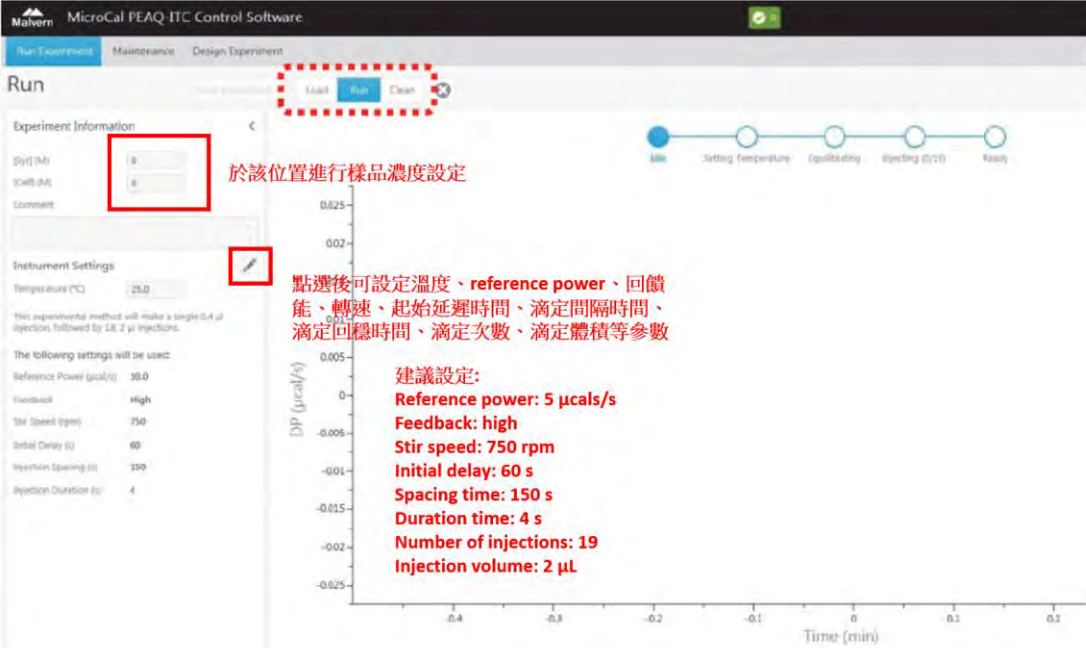

4. 確保自動清洗區域放置的血清瓶已填滿約一半以上的適當溶劑(蒸餾水、甲醇及清潔劑 ex: 20% Contrad 70 或 14% Decon 90)，此外亦須檢查廢液瓶及溢流瓶是空的，可參考下方圖表

Part	Description
1	Cell Cleaning Tool
2	Detergent bottle
3	Methanol bottle
4	Water bottle
5	Waste bottle
6	Overflow bottle

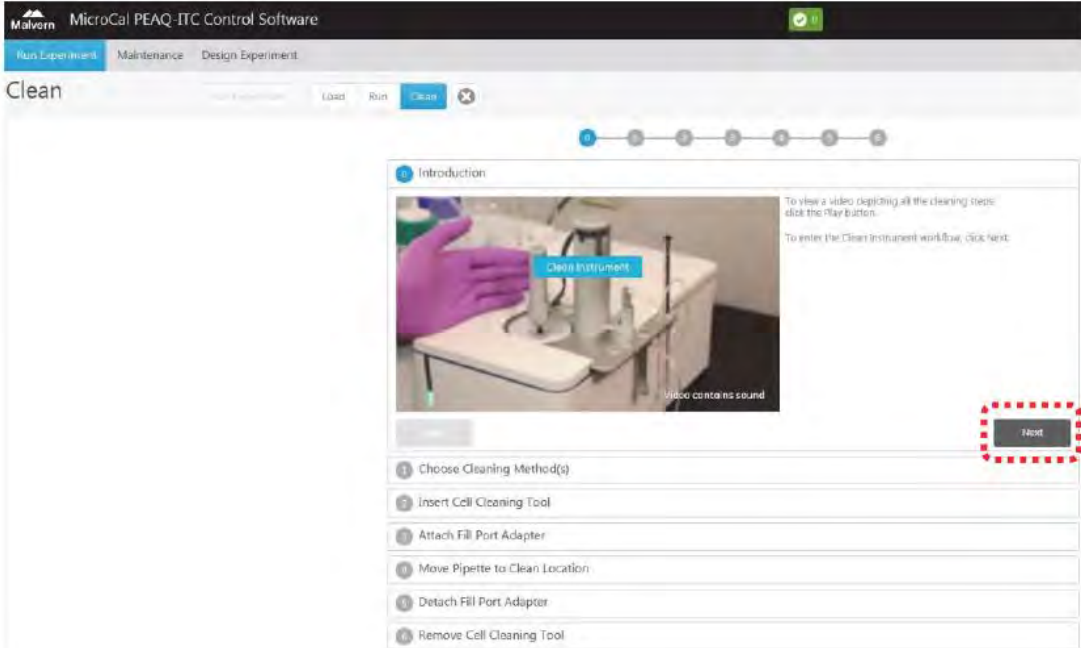5. 確認 reference cell 已充填蒸餾水，並留意每周更換一次(確保避免細菌滋生)
6. 在下方視窗左側進行包含樣品濃度在內的參數設定

於該位置進行樣品濃度設定

點選後可設定溫度、**reference power**、回饋能、轉速、起始延遲時間、滴定間隔時間、滴定回穩時間、滴定次數、滴定體積等參數

建議設定:
Reference power: 5 μcals/s
Feedback: high
Stir speed: 750 rpm
Initial delay: 60 s
Spacing time: 150 s
Duration time: 4 s
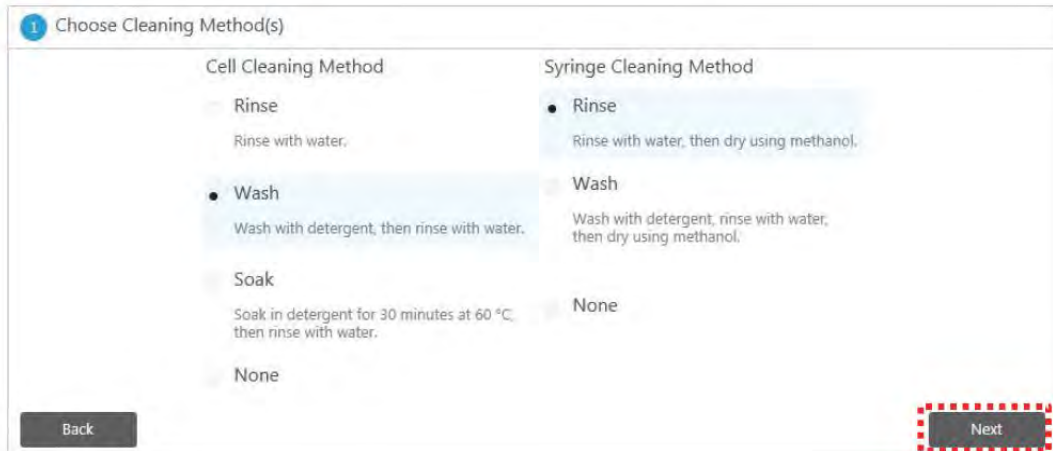**Number of injections: 19**
Injection volume: 2 μL

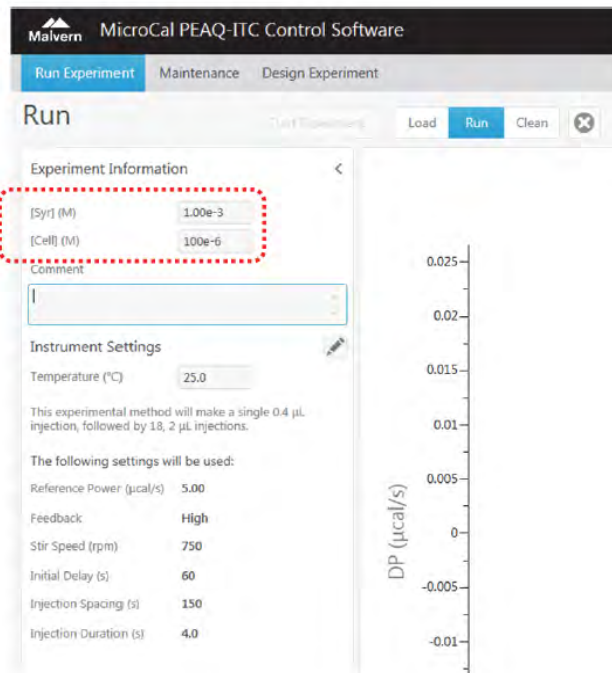7. 通常來說此時系統是乾淨的，但若擔心可以在此時點選下方示意圖的 Clean 按鍵並依序點選 next 進行清潔

8. 按完 next 鍵後，下個步驟是選擇清洗的模式，通常使用預設值即可(參見下圖)，接著依序按下每個步驟右下角的 next 按鍵，完成總計 6 步驟的清潔程序

9. 清洗的最後一個步驟將提示您移除清洗用具，按下右下角的 Done 完成清洗，並按下 Run 按鍵回到實驗執行頁面準備開始設定各個實驗參數

10. 在實驗設計處(Run 頁面的左側，參見下圖)進行參數設定，預設的方法為 CaCl2/EDTA 滴定實驗，使用者請先將下圖紅框處的濃度進行修改

11. 可以在 comment 欄位中填入跟樣品有關的描述，ex: cell: EDTA, syringe: CaCl2

12. 點選下圖紅框處的鉛筆圖示，針對滴定條件進行設定，建議設定可參照第六步驟示意圖，注意: 第一針滴定為平衡用，體積請改設為 0.4μL

13. 點選另存為方法將目前設置的方法保存以供日後使用，ex: EDTA method.itcm，然後點選保存，便會將該方法保存在預定義的方法文件夾中

14. 在開始實驗前，我們必須先將 sample cell 和 syringe 中的樣品填充完畢，點選下示意圖的 load 按鍵並依照指示影片一步步完成樣品填充
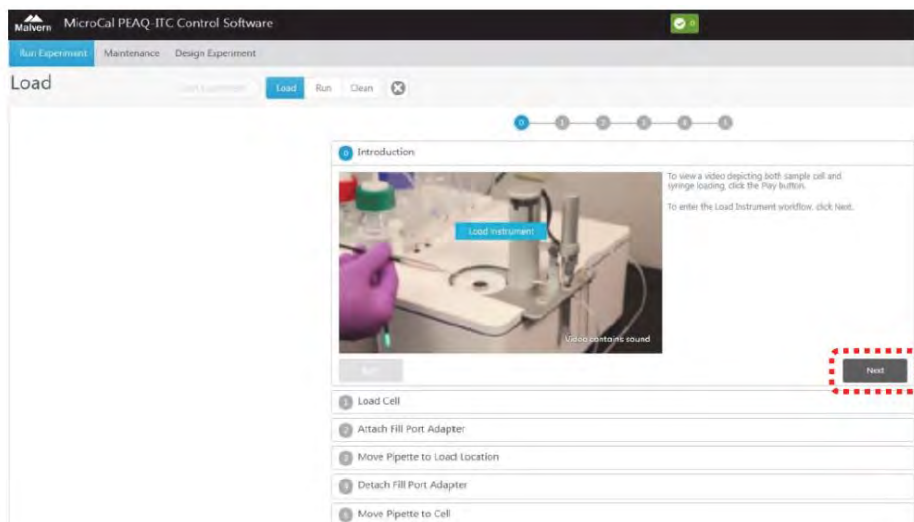
15. 在填樣開始前請使用 buffer 清洗 sample cell，再放入樣品，這可以使實驗後的接合位數(stoichiometry)較接近真實狀況，下面我們以 EDTA 溶液舉例說明

a. 將 loading syringe 輕輕地插入 sample cell 觸及底部，並將殘餘溶液移除
b. 準備 EDTA 溶液於 loading syringe 中約 300μL，注意過程中盡量不要產生氣泡
c. 將 loading syringe 輕輕地插入 sample cell 觸及底部，然後將其抬起 1-2mm 然後緩緩地將 EDTA 溶液注入並抽吐清洗約兩次
d. 盡可能地去除 EDT 溶液

16. 將樣品注入 sample cell，此步驟中可以準備約 350μL，在注入樣品後觀察 loading syringe 刻度以確保 sample cell 填充確實而無產生氣泡在其中
17. 確認參考樣品槽填充乾淨的水，如若需要更換則參考上述填樣流程回填乾淨的水於參考樣品槽
18. 將端口適配器(port adaptor)插入 Syringe 的孔洞並點選視窗右下角的 next，這會促使柱塞向下移動準備抽樣

19. 首先放置一已裝載 60μL 樣品的微量離心管(PCR tube)於下圖紅框處，接下來將 Syringe pipette 移至填樣位置，點選 next 開始抽樣

20. 待樣品填入 Syringe 完成後將其放在 storage 位置，移除端口適配器，點選 next

21. 將 Syringe 放入樣品槽中，點選視窗右下角的 done 並回到 run 頁面準備進行實驗

22. 點選下圖的 start 按鍵開始實驗，實驗時間取決於滴定數及間隔時間設定
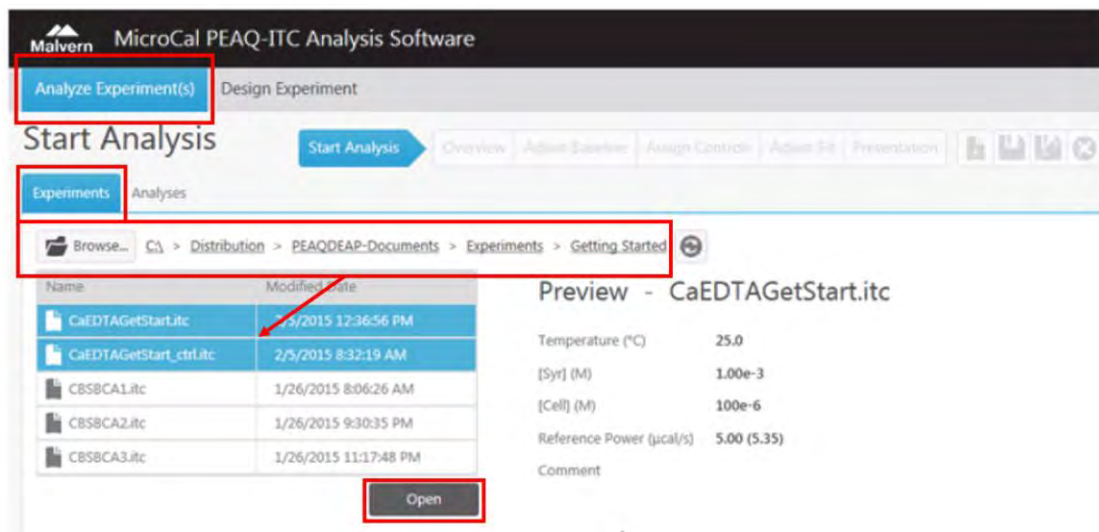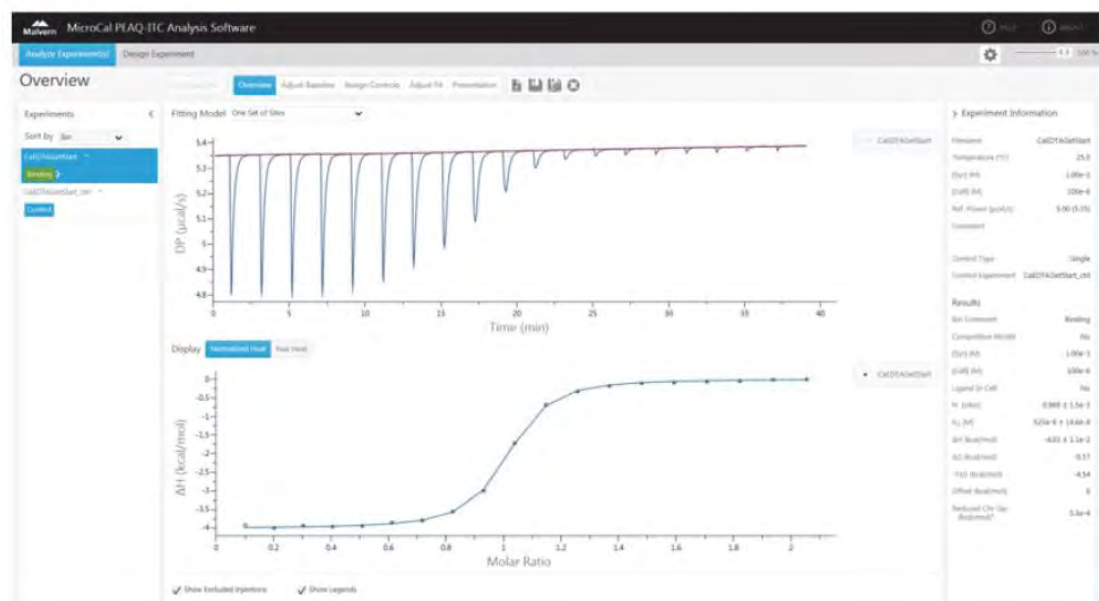
23. 實驗結束後數據將會自動存取，如若不繼續進行實驗，則如同步驟 7 一樣點選上方 Clean 鍵開始逐步清洗流程，之後我們可以關閉軟體前往分析軟體進行數據處理
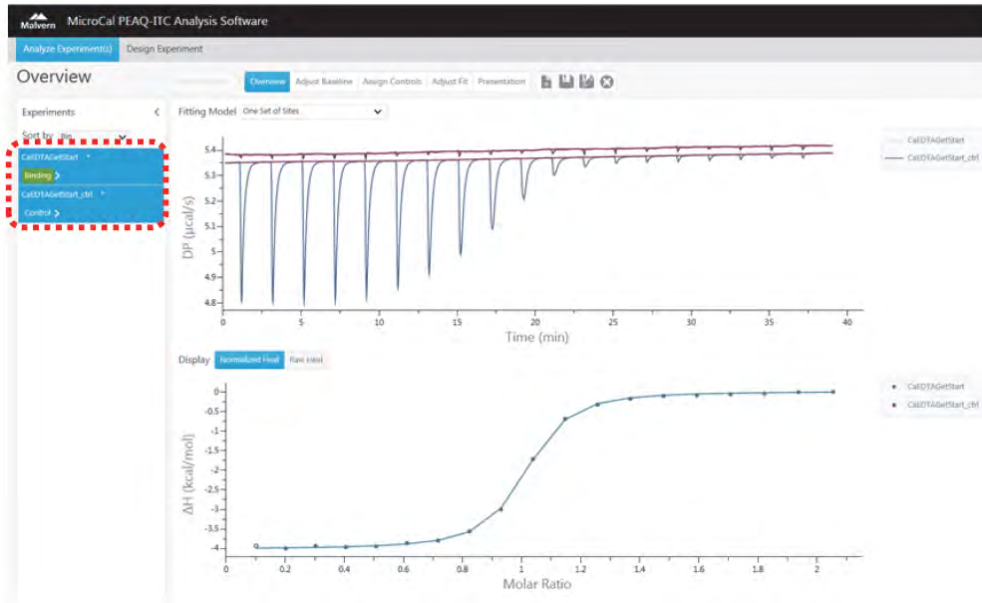
24. 分析數據，首先打開位於桌面的分析軟體快捷鍵

25. 在初始畫面的 Start Analysis 作業區，從 Experiment 分頁中選擇欲分析的數據並開啟，可參見下圖
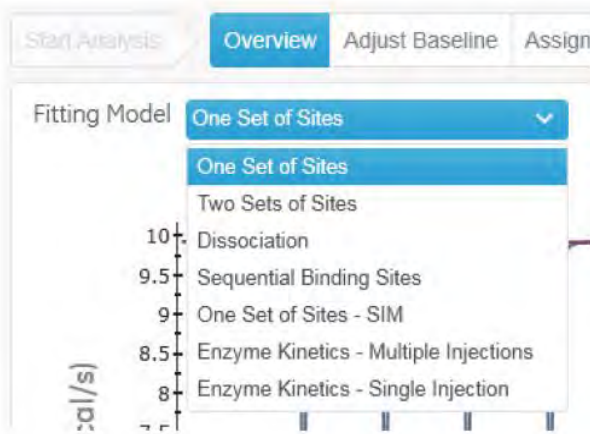

26. 在點選完 open 後軟體將完成對數據的分析，並開啟下圖的 Overview 分頁，於此您可以由左方點選複數筆數據進行數據比較，舉例如下方第二張圖片，注意只有在分類上被歸類為有反應的"binding"才會進行數據擬合，歸類為"Control"則不會
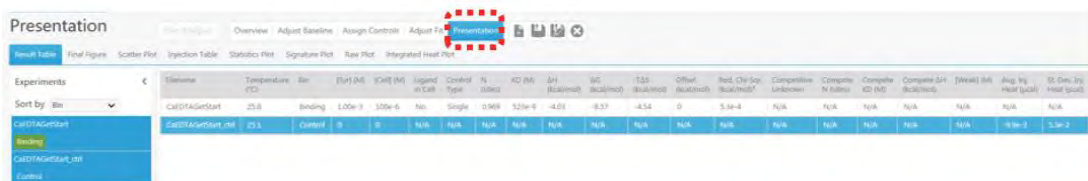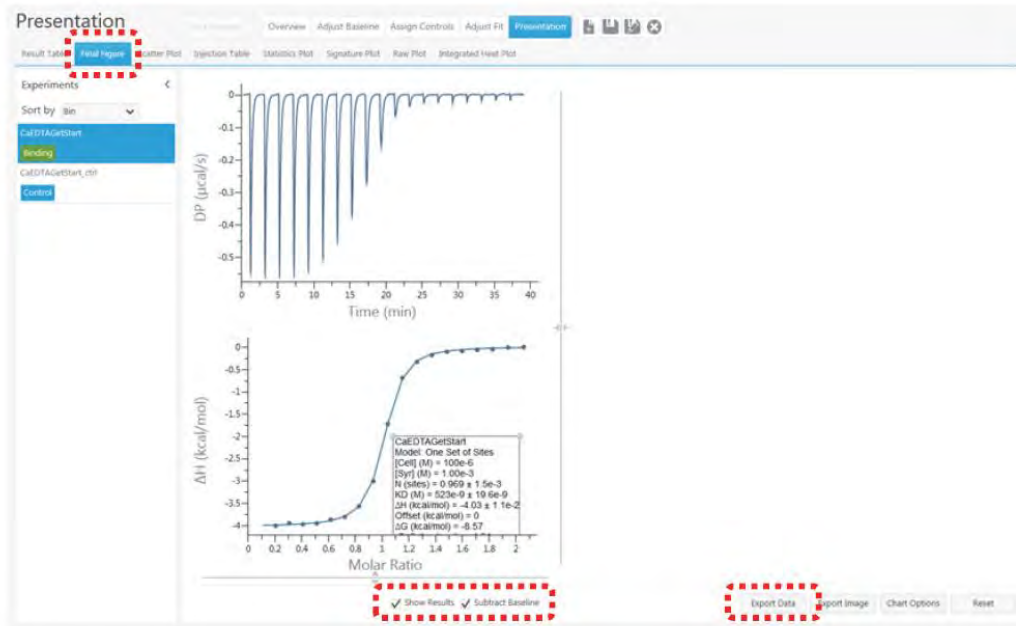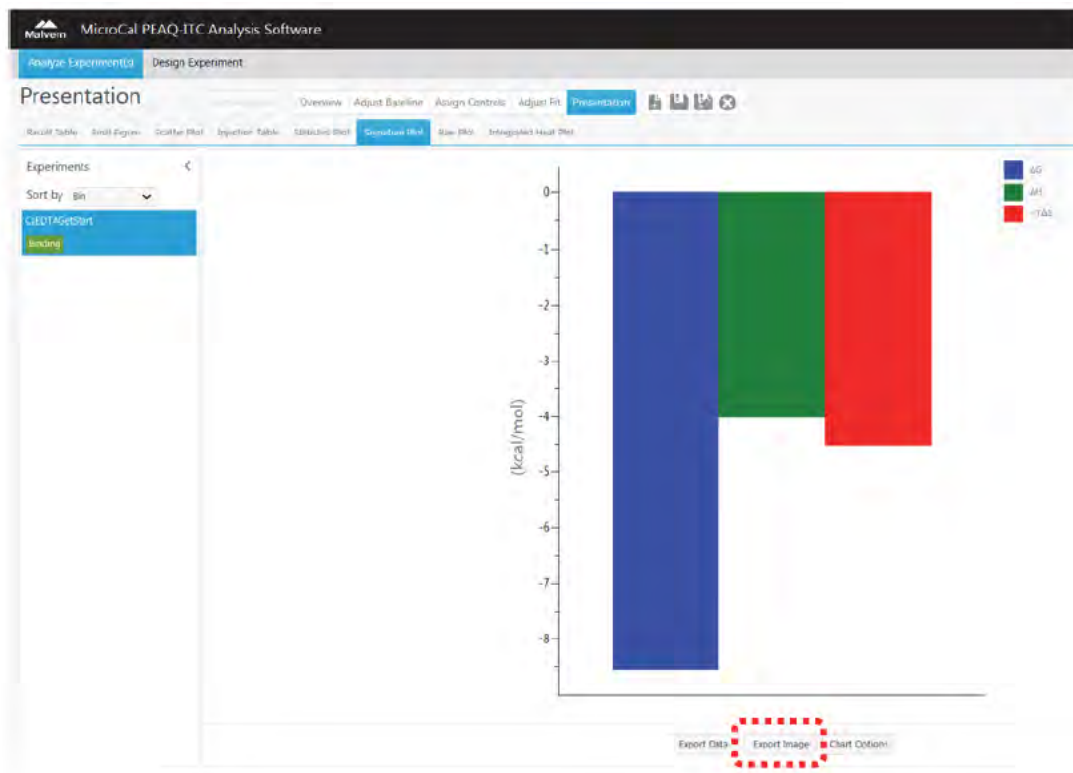
27. 可在 Overview 視窗中的上方下拉選單選擇樣品間的結合位數，重新擬合

28. 點選上方視窗的 presentaiton，會開啟新的分頁選項，其中包含有分析完的數據表格及用以呈現最終結果的 Final figure

29. 除了上述二者，可以選擇 Signature plot 觀察反應自由能及其組成(Gibbs free energy (ΔG), enthalpy change (ΔH), and change in entropy (ΔS))

30. 最後，可以按下存檔按鈕 ![icon] 將所有分析結果另存。