

میکروپلیت واشر الایزا



میکروپلیت واشر که به الایزا واشر نیز معروف است برای انجام عملیات شستشو که در تکنیک الایزا لازم است، طراحی شده است. کار میکروپلیت واشر شستن چاهکهای الایزا در طی مراحل مختلف تکنیک الایزا است. برای اینکه الایزا به همان شکلی که ما انتظار داریم انجام شود کالیبراسیون میکروپلیت واشر نیز دارای اهمیت است. بر این اساس باید نکات زیر رعایت شوند:

1- موقعیت سوزن‌ها (سر تغذیه کننده و مکش):

تنظیم موقعیت افقی و عمودی نسبت به چاهک‌ها باید به دقت تأیید شود. اگر پلیت حاوی چاهکهای دارای انتهای مسطح است سوزن تغذیه کننده باید بررسی شود که آیا آن در یک موقعیت خیلی نزدیک به دیواره چاهک قرار می‌گیرد یا خیر. اگر انتهای چاهک گرد یا v شکل باشد، سوزن مکش باید در مرکز چاهک قرار گیرد. طبق حرکت عمودی، یک فاصله پایه در چاهک حفظ می‌شود که معمولاً بین ۳/۰ تا ۵/۰ میلی‌متر است. سوزن‌ها نباید انتهای چاهک‌ها را لمس کنند زیرا سبب تداخلات مکانیکی بین نوک سوزن و سطح چاهک در طی عمل مکش می‌شوند.

2 - زمان مکش:

زمان مکش را تنظیم کنید، زیرا یک لایه نازک از محلول متصل شده به دیواره چاهک می‌تواند به ته چاهک جریان پیدا کند. سپری شدن بیش از حد زمان، سبب خشک شدن مواد coat شده روی چاهک‌ها می‌شود. سوزن‌های سیستم مکش را از نظر تمیز بودن و عدم مسدود بودن بررسی کنید.

۳- حجم توزیع شده:

دقت کنید که حجم توزیع شده به اندازه ماکزیم ظرفیت چاهک باشد. دقت کنید که همه چاهک‌ها به طور یکسانی پر شوند. تائید کنید که سوزن‌های توزیع کننده تمیز و عاری از انسداد هستند.

۴- خلاء:

خلاء سیستم مکش باید به شکل مناسبی کالیبره شود. اگر خلاء خیلی قوی باشد، تست می‌تواند تغییر کند. در واقع، این موضوع سبب خشک شدن چاهک‌ها شده و به شکل قابل ملاحظه‌ای فعالیت آنزیم در چاهک‌ها را تضعیف کرده و نتایج تست را کاملاً تغییر دهد. اکثر واشرها با یک خلاء که فشار آن بین ۶۰ تا ۷۰ درصد است کار می‌کنند. در برخی واشرها خلاء در یک پمپ خارجی قرار گرفته که عمل آن توسط واشر کنترل می‌شود؛ بدین معنا که پمپ خلاء فقط وقتی که مورد نیاز است کار می‌کند.

تائید مراحل شستشو:

برای تائید اینکه فرایند شستشو طبق ویژگی‌های تکنیک الایزا انجام می‌شود سازندگان تست‌های الایزا روش‌هایی را برای انجام منظم این تکنیک گسترش داده‌اند، یکی از کنترل‌ها بر اساس کاربرد معرف پراکسیداز است که با استفاده از یک پیپت در چاهک‌های پلیت توزیع شده و در طول موج های ۴۰۵، ۴۵۰، ۴۹۲ نانومتر قرائت می‌شود. پس از آن چاهک‌ها شستشو داده شده و یک سوپسترای فاقد رنگ از قبیل TMB_{2O_2H} (تترا متیل بنزیدین/هیدروژن پراکسیداز) اضافه می‌شود. سپس باقیمانده‌های کونژوگه، آنزیم را هیدرولیز کرده و کروموژن به رنگ آبی تغییر خواهد یافت. پس از متوقف کردن واکنش به وسیله افزودن اسید، TMB مجدد رنگ زرد خواهد شد. شدت رنگ نهایی، مستقیماً با میزان موثر بودن مرحله شستشو مرتبط خواهد بود.

نگهداری اساسی (تکرار روزانه):

- ۱- تائید حجم توزیع شده
- ۲- تست یکسان پر شدن چاهک‌ها
- ۳- تائید اثربخش بودن سیستم مکش
- ۴- تائید تمیز بودن سوزن‌های مخصوص مکش و توزیع کننده محلول
- ۵- تمیز کردن واشر با آب مقطر پس از استفاده، تا بقایای نمک موجود در سوزن‌های مخصوص مکش و توزیع برداشته شود. سوزن‌ها ممکن است که لازم باشد تا در آب مقطر نگهداری شوند.

نگهداری پیشگیرانه (تکرار هر سه ماه یکبار):

۱- کانال‌ها و اتصالات را باز کرده و تمیز کنید.

۲- سالم بودن اجزای مکانیکی را تأیید کنید. طبق دستورالعمل کارخانه سازنده روغن کاری را انجام دهید.

۳- تنظیم بودن هر یک از اجزای سیستم سازنده را تست کنید. مطابق سفارشات کارخانه سازنده کالیبراسیون را انجام دهید.

راهنمای رفع عیب و حل خطاهای متداول در الیزا و اشتر

مشکل	علت احتمالی	راه حل
	سیستم استخراج شستشو دهنده دارای نقص است	بررسی کنید سیستم خلاء در یک فشار مناسب عمل می‌کند
	لوله‌های سیستم هدایت خلاء دارای ابعادی غیر از اندازه توصیه شده است	بررسی کنید که آیا ابعاد کانالها متناسب با توصیه‌های شرکت سازنده است
	خطوط مکش گرفتگی را نشان می‌دهند	سطح دریافت کننده مواد زائد را بررسی کنید
	ظرف ذخیره از ضایعات پر است	فیلتر سیستم مکنده و حالت آن را بررسی کنید
با پایان یافتن شستشو پسماند مایع در خانه‌ها (چاهک‌ها) باقی می‌ماند	فیلتر خاک گرفته یا نمدار است	فیلتر سیستم مکنده و حالت آن را بررسی کنید
	نوک سوزنها به طور صحیح قرار نگرفته و به ته چاهک‌ها نمی‌رسد	محل نوک سوزنها را بررسی کنید
	پلیت بطور صاف در داخل شستشو دهنده قرار نگرفته است	نوع پلیت مورد نیاز برای استفاده در تست را بررسی کنید
	شستشو دهنده به حد کافی خالی نشده است	پروسه تخلیه را بررسی کنید
	مایع ذخیره شده برای شستشو بخار شده است	مخزن ذخیره مایع تمیز کننده را بررسی و حجم از دست رفته را جایگزین کنید
چرخه شستشو نامناسب عمل می‌کند	شستشو دهنده در ابتدای چرخه کاری به اندازه کافی خالی نشده است	برای از بین بردن هر گونه رطوبت در فرآورده و جلوگیری از تولید حباب هوا آن را بخوبی تمیز کنید

جدول رفع عیب

مشکل	علت احتمالی	راه حل
	توزیع حجم مایع به اشتباه برنامه‌ریزی شده است	حجم مورد نیاز برای هر نوع آزمایشی و برای هر پلیت را بررسی کنید
	پلیت بطور غیر صحیح در داخل شستشو دهنده قرار گرفته است	نصب صحیح پلیت در شستشو دهنده را چک کنید
چرخه شستشو نا مناسب عمل می‌کند	چرخه شستشو نا مناسب عمل می‌کند	بررسی کنید که پلیت‌های مورد استفاده کاملاً با شستشو دهنده سازگار است
	پلیت‌های استفاده شده غیر از پلیت توصیه شده هستند	مشخصات ارائه شده از سوی شرکت سازنده را بررسی کنید در صورت نیاز آن را اصلاح کنید
	سطح محلول داخل چاهکها کافی نیست	مشخصات ارائه شده از سوی شرکت سازنده را بررسی کنید در صورت نیاز آن را اصلاح کنید
	شیلنگ توزیع کننده مایع شستشو از نظر ابعاد و ضخامت متناسب با نوع توصیه شده شرکت سازنده نیست	سیستم عرضه و کانال‌های عرضه را چک کنید. ممکن است در مسیر لوله انسدادی وجود داشته باشد
	فشار برای رساندن مقدار مناسب محلول شستشو کافی نیست	پروسه استفاده شده برای عدم رشد قارچ و باکتری را چک کنید
	سیستم متناوباً استفاده نشده است	فرایند استفاده شده برای عدم رشد قارچ و باکتری را چک کنید
مخزن شستشو اثراتی از رشد قارچ و باکتری را نشان می‌دهد	اتصالات و لوله‌ها برای یک دوره مناسب تعویض نشده‌اند	زمان تعویض توصیه شده از سوی سازنده و بخش فنی را چک کنید
	محلول شوینده آلوده شده است	پروسه استفاده شده در آماده سازی و مدیریت محلول شوینده را با هدف تعیین علت آلودگی تأیید کنید
	نگهداری طبق یک جدول زمانبندی انجام نشده است	زمان‌های برنامه‌ریزی شده برای تعمیرات را بررسی کنید و به اطلاع مسئولین برسانید