

샘플의 크기에 따라 사용할 SolB 의 조성은 실제 실험 전에 테스트 하는 것이 좋다.

■ 화합물의 고정을 위한 조성 (~30 kDa)

- 매 단계에서 SolB 시약병의 뚜껑과 용액의 튜브 (e-tube) 뚜껑은 항상 단단히 닫혀 있어야 한다.
- 실험 시 장갑을 착용하여 샘플의 오염을 방지하여야 한다.
- 아래에 주어진 조성은 1 reaction 을 만들기 위한 부피이다.

1. SolB1 22 μl , SolB2 8 μl 를 튜브 (e-tube) 에 넣어 준다.
2. Vortex mixer 를 잠깐 돌려 섞어준 후 간이 원심분리기로 약 5초간 원심분리 한다.
3. 튜브에 SolBH 를 10 μl 넣어 준다.
4. Vortex mixer 를 이용하여 튜브를 20초 정도 강하게 섞어 용액이 잘 섞여 맑은 상태가 되도록 한다. 섞은 후에는 용액이 튜브 벽을 따라 깨끗하게 내려와야 하며, 만약 용액이 튜브 벽에 묻어 천천히 내려오거나, 맑지 않고 탁하거나 잘 섞이지 않으면 SolB1, 2 를 새것으로 교체해야 한다.
5. 간이 원심분리기로 5초 정도 원심분리 한다.
6. 튜브에 SolBS 10 μl , DW (증류수) 를 20 μl 넣어 준 후 Vortex mixer 로 섞어 주고 간이 원심분리기로 5초 정도 원심분리 한다.
(만약 어레이어를 이용하여 SolB Chip 을 제작할 경우, 실험실의 증류수를 사용할 때는 0.22 μm 필터로 여과한 후 사용해야 함. 키트에 포함된 DW 는 여과되어 있는 것임)
7. 튜브를 -20°C 냉동고나 4°C 냉장고에서 30분 정도 방치한다.
(이 단계가 끝난 후에는 용액을 -20°C 냉동고에서 1~2일 정도 보관 가능함)
8. 고정할 화합물을 1 : 7 (화합물 : 용액) 의 비율로 용액과 혼합한 후 Vortex mixer 로 섞어 주고 간이 원심분리기로 원심분리 한다. 대조군 칩을 만들기 위해 음성 대조군에는 고정할 샘플의 버퍼 용액이나 샘플을 희석한 용액을 섞어 준다. 보통 1X PBS 를 사용한다. 양성 대조군에는 실험 목적에 맞는 샘플을 섞어 준다.
(화합물의 농도는 $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도를 넘지 않도록 함. 샘플을 섞은 후 표면 위에 칩을 분주하기 전까지는 4°C 에 보관하는 것이 좋으며 샘플을 섞은 후에는 가능한 빨리 분주해야 함.)
9. 어레이어나 파이펫을 이용하여 용액을 제조사에서 제공하는 화합물 조성용 표면 위에 분주해 준다. 이 때 습도는 70% 이상, 온도는 20°C (혹은 상온) 을 유지하도록 한다.
(자세한 안내는 "Dispensing SolB chip on surface" 부분을 참고함)
10. SolB 칩을 3시간 이상 건조시킨다. 이 때 습도는 60%, 온도는 20°C 를 유지하여야 한다.
(SolB 칩을 1주일 이상 오래 보관할 경우, 알루미늄 호일에 싸서 상온의 건조 챔버에서 보관하거나 제습제를 넣어 밀폐한 후 상온의 어두운 장소에 보관함)

샘플의 크기에 따라 사용할 SolB 의 조성은 실제 실험 전에 테스트 하는 것이 좋다.

■ 단백질, 핵산 등 30~100 kDa 크기의 물질을 고정하기 위한 조성

- 매 단계에서 SolB 시약병의 뚜껑과 용액의 튜브 (e-tube) 뚜껑은 항상 단단히 닫혀 있어야 한다.
- 실험 시 장갑을 착용하여 샘플의 오염을 방지하여야 한다.
- 아래에 주어진 조성은 1 reaction 을 만들기 위한 부피이다.

1. SolB1 20 μl , SolB2 6 μl , SolB3 4 μl 를 튜브 (e-tube) 에 넣어 준다.
2. Vortex mixer 를 잠깐 돌려 섞어준 후 간이 원심분리기로 약 5초간 원심분리 한다.
3. 튜브에 SolBH 를 10 μl 넣어 준다.
4. Vortex mixer 를 이용하여 튜브를 20초 정도 강하게 섞어 용액이 잘 섞여 맑은 상태가 되도록 한다. 섞은 후에는 용액이 튜브 벽을 따라 깨끗하게 내려와야 하며, 만약 용액이 튜브 벽에 묻어 천천히 내려오거나, 맑지 않고 탁하거나 잘 섞이지 않으면 SolB1, 2, 3 를 새것으로 교체해야 한다.
5. 간이 원심분리기로 5초 정도 원심분리 한다.
6. 튜브에 SolBS 10 μl , DW (증류수) 를 20 μl 넣어 준 후 Vortex mixer 로 섞어 주고 간이 원심분리기로 5초 정도 원심분리 한다.
(만약 어레이어를 이용하여 SolB Chip 을 제작할 경우, 실험실의 증류수를 사용할 때는 0.22 μm 필터로 여과한 후 사용해야 함. 키트에 포함된 DW 는 여과되어 있는 것임)
7. 튜브를 -20°C 냉동고나 4°C 냉장고에서 30분 정도 방치한다.
(이 단계가 끝난 후에는 용액을 -20°C 냉동고에서 1~2일 정도 보관 가능함)
8. 고정할 샘플을 1 : 7 (샘플 : 용액) 의 비율로 용액과 혼합한 후 Vortex mixer 로 섞어 주고 간이 원심분리기로 원심분리 한다. 대조군 칩을 만들기 위해 음성 대조군에는 고정할 샘플의 버퍼 용액이나 샘플을 희석한 용액을 섞어 준다. 보통 1X PBS 또는 1 mg/ml BSA (bovine serum albumin) 이나 IgG (Immunoglobulin) 를 사용한다. 양성 대조군에는 실험 목적에 맞는 샘플을 섞어 준다.
(샘플의 농도는 $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도를 넘지 않는 것이 좋음. 샘플을 섞은 후 표면 위에 칩을 분주하기 전까지는 4°C 에 보관하는 것이 좋으며 샘플을 섞은 후에는 가능한 빨리 분주해야 함.)
9. 어레이어나 파이펫을 이용하여 용액을 표면 (96-well plate 나 PMMA 슬라이드) 위에 분주해 준다. 이 때 습도는 70% 이상, 온도는 20°C (혹은 상온) 를 유지하도록 한다.
(자세한 안내는 "Dispensing SolB chip on surface" 부분을 참고함)
10. SolB 칩을 3시간 이상 건조시킨다. 이 때 습도는 60%, 온도는 20°C 를 유지하여야 한다.
(SolB 칩을 1주일 이상 오래 보관할 경우, 알루미늄 호일에 싸서 상온의 건조 챔버에서 보관하거나 제습제를 넣어 밀폐한 후 상온의 어두운 장소에 보관함)

샘플의 크기에 따라 사용할 SolB 의 조성은 실제 실험 전에 테스트 하는 것이 좋다.

■ 단백질, 항체 등 100 kDa 보다 큰 물질을 고정하기 위한 조성

- 매 단계에서 SolB 시약병의 뚜껑과 용액의 튜브 (e-tube) 뚜껑은 항상 단단히 닫혀 있어야 한다.
- 실험 시 장갑을 착용하여 샘플의 오염을 방지하여야 한다.
- 아래에 주어진 조성은 1 reaction 을 만들기 위한 부피이다.

1. SolB1 2.5 μL , SolB2 2.5 μL , SolB3 5 μL 를 튜브에 넣어 준다.
2. Vortex mixer 를 잠깐 돌려 섞어준 후 간이 원심분리기로 약 5초간 원심분리 한다
3. 튜브에 SolBH 를 20 μL 넣어 준다.
4. Vortex mixer 를 이용하여 튜브를 20초 정도 강하게 섞어 용액이 잘 섞여 맑은 상태가 되도록 한다. 섞은 후에는 용액이 튜브 벽을 따라 깨끗하게 내려와야 하며, 만약 용액이 튜브 벽에 묻어 천천히 내려오거나, 맑지 않고 탁하거나 잘 섞이지 않으면 SolB1, 2, 3 를 새것으로 교체해야 한다.
5. 간이 원심분리기로 5초 정도 원심분리 한다.
6. 튜브에 SolBS 10 μL , DW (증류수) 를 50 μL 넣어 준 후 Vortex mixer 로 섞어 주고 간이 원심분리기로 5초 정도 원심분리 한다.
(만약 어레이어를 이용하여 SolB Chip 을 제작할 경우, 실험실의 증류수를 사용할 때는 0.22 μm 필터로 여과한 후 사용해야 함. 키트에 포함된 DW 는 여과되어 있는 것임)
7. 튜브를 -20°C 냉동고나 4°C 냉장고에서 30분 정도 방치한다.
(이 단계가 끝난 후에는 용액을 -20°C 냉동고에서 1~2일 정도 보관 가능함)
8. 고정할 샘플을 1 : 10 (샘플 : 용액) 의 비율로 용액과 혼합한 후 Vortex mixer 로 섞어 주고 간이 원심분리기로 원심분리 한다. 대조군 칩을 만들기 위해 음성 대조군에는 고정할 샘플의 버퍼 용액이나 샘플을 희석한 용액을 섞어 준다. 보통 1X PBS 또는 1 mg/ml BSA (bovine serum albumin) 이나 IgG (Immunoglobulin) 를 사용한다. 양성 대조군에는 실험 목적에 맞는 샘플을 섞어 준다.
(샘플의 농도는 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 의 농도를 넘지 않는 것이 좋음. 샘플을 섞은 후 표면 위에 칩을 분주하기 전까지는 4°C 에 보관하는 것이 좋으며 샘플을 섞은 후에는 가능한 빨리 분주해야 함.)
9. 어레이어나 파이펫을 이용하여 용액을 표면 (96-well plate 나 PMMA 슬라이드) 위에 분주해 준다. 이 때 습도는 70% 이상, 온도는 20°C 를 유지하도록 한다.
(자세한 안내는 "Dispensing SolB chip on surface" 부분을 참고함)
10. SolB 칩을 3시간 이상 건조시킨다. 이 때 습도는 60%, 온도는 20°C 를 유지하여야 한다.
(SolB 칩을 1주일 이상 오래 보관할 경우, 알루미늄 호일에 싸서 상온의 건조 챔버에서 보관하거나 제습제를 넣어 밀폐한 후 상온의 어두운 장소에 보관함)

■ Dispensing SolB chip on surface

● 파이펫을 이용한 SolB 칩 분주

1. 96-well plate 는 먼지 제거제나 에어건을 이용하여 먼지를 제거하고, 슬라이드의 경우 70% 에탄올을 묻힌 KimWipes 를 이용하여 닦아 준다.
2. 칩을 분주하는 동안 70% 이상의 습도를 유지하기 위해 클린벤치나 work station 등의 닫힌 공간 안에 가습기를 틀어 둔다.
3. 2 μ l 용량의 파이펫을 이용하여 용액을 1~2 μ l 빨아올린 후 표면에 팁을 직각으로 대어 분주한다. 이때 파이펫의 머리부분을 세게 누르면 안 되고 엄지손가락으로 고정하는 듯이 대고 있다.
(2 μ l 용량의 끝이 평평한 화이트 팁을 사용하는 것이 좋음. 1 μ l 의 용액을 빨아올렸을 때 20~30 spot 을 찍는 것이 가장 좋음)
4. SolB 칩을 3시간 이상 건조시킨다. 이 때 습도는 60%, 온도는 20°C 를 유지하여야 한다.
5. 보관 방법 : SolB 칩을 안전하게 보관하기 위해 적절한 용기에 담아 뚜껑을 닫은 후 알루미늄 호일로 싸서 습도가 50~60% 정도 되는 곳에 보관한다.
(SolB 칩을 1주일 이상 오래 보관할 경우, 알루미늄 호일에 싸서 상온의 건조 챔버에서 보관하거나 제습제를 넣어 밀폐한 후 상온의 어두운 장소에 보관함)

● 어레이어 (Non-contact type arrayer (sciFLEXARRAYER, Scienion AG)) 를 이용한 SolB 칩 분주

1. 96-well plate 는 먼지제거제나 에어건을 이용하여 먼지를 제거하고, 슬라이드의 경우 70% 에탄올을 묻힌 KimWipes 를 이용하여 닦아 준다.
2. 어레이어를 작동시키는 동안 70% 이상의 습도를 유지해야 한다.
3. 어레이어 제조사의 프로토콜에 따라 충분한 양의 용액을 타겟 튜브 혹은 Probe plate 에 넣은 후 노즐을 이용해서 빨아올린 후 원하는 표면 (96-well plate, 슬라이드) 위에 분주한다.
(SolB 용액이 노즐에 남아 있을 경우, 노즐 내부에서 굳을 수 있으니 분주 직후 세척해야 함)
4. SolB 칩을 3시간 이상 건조시킨다. 이 때 습도는 60%, 온도는 20°C 를 유지하여야 한다.
5. 보관 방법 : SolB 칩을 안전하게 보관하기 위해 적절한 용기에 담아 뚜껑을 닫은 후 알루미늄 호일로 싸서 습도가 50~60% 정도 되는 곳에 보관한다.
(SolB 칩을 1주일 이상 오래 보관할 경우, 알루미늄 호일에 싸서 상온의 건조 챔버에서 보관하거나 제습제를 넣어 밀폐한 후 상온의 어두운 장소에 보관함)

■ Scienion AG 사의 Arrayer 사용 시 주의사항

- ① PDC (Piezo dispensing capillary) 는 PDC70, coating type4 를 사용해야 한다.
- ② sciFLEXARRAYER series 을 사용할 경우, probe plate 는 SolB 용액의 겔화를 늦추기 위해 냉동실 (-20°C) 에 얼려두는 것이 좋음. SolB 용액을 넣은 probe plate 를 장비의 source holder 에 넣은 후 5분 이상 지난 용액은 사용하지 않는 것이 좋음.
- ③ sciFLEXARRAYER series 을 사용할 경우, PDC 로 SolB 용액을 빨아들인 후 10초 이상 “continuous dispensing” 혹은 “SpotProbe Run” 을 하지 않으면 SolB 용액이 PDC 내부에서 굳을 수 있으니 바로 “Wash Flush 500ul” 를 실시함. 특히 voltage 및 pulse 조건을 잡을 때 10초 이상 경과하지 않도록 주의함.
- ④ sciFLEXARRAYER series 을 사용할 경우, PDC 로 SolB 용액을 빨아들인 후 “continuous dispensing” 혹은 “SpotProbe Run” 을 진행할 때 10분 이상 걸리지 않도록 주의함. 만약 target 의 갯수가 많아 10분 이상 걸릴 경우에는 나누어서 진행하고, 중간에 반드시 “Wash Flush 500ul” 를 실시함.
- ⑤ SolB 용액을 분주 시 총 분주 시간이 20분 이상일 경우 sciClean6 로 세척함. 총 분주 시간이 20분이 되지 않았다 하더라도 평소와 달리 spot 형성이 잘 되지 않거나 고정 샘플을 바꿨을 경우 세척함.
sciClean6 를 50 μ l 빨아올린 후 표면을 물에 담갔다 빼면서 (“Dip into wash station”) 3~6회 세척하고 5~10분 정도 방치한 후 “Wash flush 500ul” 로 세척함. 혹은 표면 세척 후 “continuous dispensing” 5초 후 멈췄다 다시 5초 진행하는 것을 반복한 후 “Wash flush 500ul” 로 세척함.
노즐 의 tip 부분에 이물질이 남아 있을 경우, 3M glass paper 혹은 sciTip cleaner 를 노즐 끝부분에 갖다 대어 살살 문질러 줌.
- ⑥ sciFLEXARRAYER series 을 사용할 경우, 노즐이 막혔을 때는 (Syringe pump 나 노즐의 튜브가 연결된 manifold 에서 물이 쉰 경우) 즉시 Scienion AG 사의 “sciDECLOGGING” 매뉴얼을 따라 de-clogging 을 진행함.