

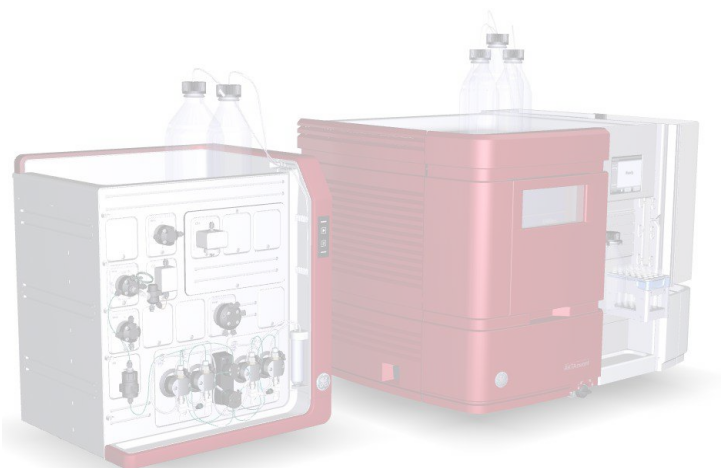
AKTA蛋白纯化仪使用小贴士



华生源
wosunbio

目录

1. 蛋白纯化仪使用好习惯	2
2. 操作要点	3
3. 收集器 F9 and F9-C 的操作	4
4. 全面的系统冲洗和清洁	5
5. 故障查修	6
5.1 电导率曲线——一个很有用的查修工具	6
5.2 压力报警	7
5.3 影响背景压力的因素	7
5.4 压力波动	8
5.5 UV和电导值波动的例子和解答	9
5.6 清洁PH电极和紫外流通池	10
5.7 流通池中有气泡	11
5.8 接头断在阀里	12
5.9 管路手册	12



华生源
wosunbio

1. 蛋白纯化仪使用好习惯

- 保持设备和收集器的清洁。
- 实验所用Buffer要过0.45的膜，并且记得脱气。
- 为了得到预期的实验效果，所有的buffer、柱子包括系统都应在一个相对稳定的温度环境中运行。
- 如果样品有不溶物，加载样品前要对样品进行过滤或者离心分离，以免损坏柱子。
- 实验之前要对整个系统做全面的冲洗, 包括收集器。见第5页。
- 为了防止交叉污染或者系统内长菌，每次实验以后都要对整个系统进行冲洗(System CIP)。见第5页。
- 使用像1M NaOH 这样的溶液冲洗系统时，最高不要超过两个小时
- 如果三天以上不使用设备，需要用20%乙醇充满整个系统以避免系统长菌。



For further details see ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).

2.操作要点

实验前

1. 检查泵后润洗液：如果泵后润洗液变浑浊或者泵后润洗液减少就需要更换新的润洗液。
2. 确认所有的管路都是完好的，没有损坏。
3. 确认所有的buffer温度都和系统所在的温度一样，避免实验过程中buffer温度变化产生气泡。
4. 入口管路要放入所需buffer中。
5. 通过泵头的4个purge valve去除泵头和入口管路中可能存在的气泡
6. 检查系统在运行过程中是否有漏液。
7. 如果实验需要用到pH，在实验前要校准pH计。
8. 运行 *System Preparation* 程序让所需buffer充满整个管路。
9. 给系统一个流速，检查UV、cond、pH、pressure值是否稳定并且数值没有偏差。如果有异常，查询7-12页
10. 擦干净收集器上面白色的sensor，并且插上相应的收集管，调整好收集盘和收集臂的位置。
11. 连接柱子，并且根据柱子说明书设置相应的报警压力

实验中

注意以下事项

- 超压, 查询p. 8
- 压力波动, 查询 p. 9
- UV吸收值波动, 查询p. 10
- 漏液 →
拧紧连接头
- 收集管不够用 →
更换收集管 查询 p. 4

设备运行中会发出声音的部件:

- 通风口
- 紫外检测器——当同时使用2-3种波长时
- 泵
- 混合池
- 各种阀——切换阀位时
- 收集器

实验后

短期不使用:

1. 清空收集器上的收集管
2. 冲洗整个管路
3. 清洗柱子以避免产生以下问题影响柱子使用寿命，和实验效果：
 - 样品污染
 - 交叉污染
 - 蛋白沉淀
 - 柱子堵塞

长期不使用:

两天以上不使用设备，除需要做以上清洗以外还需要用相应的储存buffer保存以下部件：

- 设备及其管路
- 柱子
- pH 计

For further details see ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).

3. F9和F9-C型收集器的操作

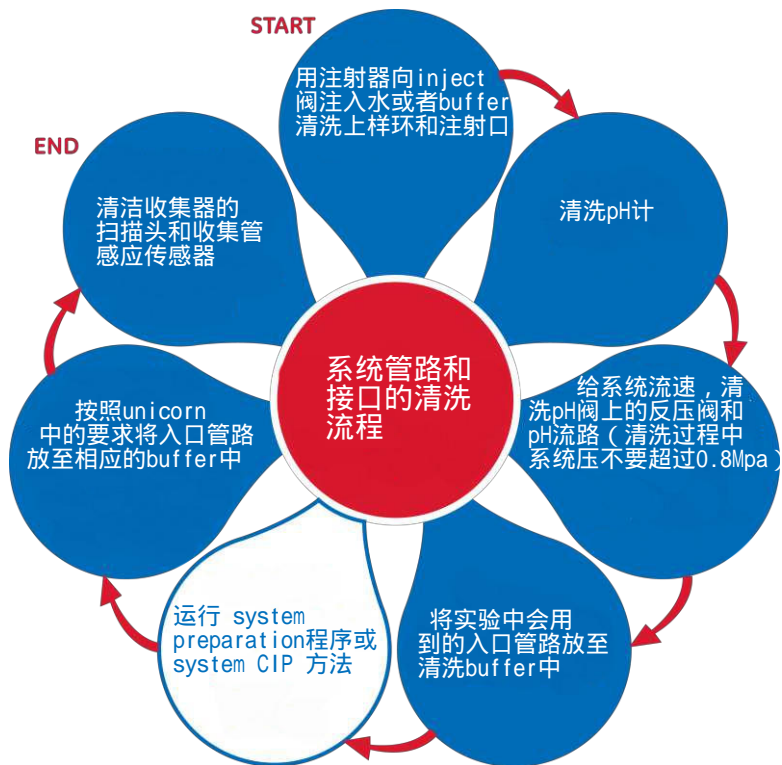
项目	步骤	结果
设置收集管型号	<ol style="list-style-type: none">1. 确认设备没有运行程序并且设备处于 ready 状态。2. 打开收集仓门再关门。3. 收集器会自动运行收集头识别。 <p>NOTE: 实验程序结束后收集器不会自动重置收集管型号，只有开启收集仓门并且关闭以后设备才会重新识别收集管型号。</p>	收集头扫描完以后就可以正常设置收集。如果想看收集器中的收集管型号也可以在 <i>System control module</i> 中选择 <i>View: Fraction Collector Content</i>
在手动运行中或者在预设方法运行中更换收集管	<ol style="list-style-type: none">1. 暂停程序2. 打开收集仓门3. 更换已使用收集管4. 关闭收集仓门5. 收集器会自动执行 <i>Quick scan</i> 程序6. 继续运行程序 <p>NOTE: 如果更换深孔板，一定要更换完全相同型号的深孔板。</p>	收集器会自动在下一管进行收集。
在手动运行中或者在预设方法运行中更换收集盒（收集管适配器）	<ol style="list-style-type: none">1. 暂停程序2. 打开收集仓门3. 更换已使用收集盒4. 更换的收集盒要和之前程序的型号和位置相同5. 关闭收集仓门6. 收集器会自动执行 <i>Quick scan</i> 程序7. 继续运行程序	收集器会自动在下一管进行收集。
当 <i>Last tube filled</i> 信息出现时，更换收集管或者多孔板	<ol style="list-style-type: none">1. 打开收集仓门2. 更换所有的收集盒3. 更换的收集盒要和之前程序的型号和位置相同关闭收集仓门4. 收集器会自动执行 <i>Quick scan</i> 程序5. 继续运行程序	F收集器将会从一号收集盒的位置重新开始收集

NOTE: 收集器为了可以实现自动收集做了特殊的设计，它不但可以自动识别放入其中的适配器型号，并且最大限度的适配了绝大多数收集管和多孔板。例如：所有收集管只要可以和适配器匹配就可以用于收集。在实验中，收集器会自动识别和记忆收集管和多孔板是否已经使用过，所以不能手动设置第一管收集在收集盒的某个特殊的位置

NOTE: 只要满足要求，你也可以用其他规格的深孔板在某些情况下，在某些情况下，需要在 *System Control/System Settings/Fraction collector/Cassette configuration* 将适配器自动扫描关闭才可以使之正常工作。当深孔板型号有更改后要在 *system settings* 中手动更改。更加详细的操作步骤请看说明书

4. 如何对系统进行全面的清洗

.....操作包括 **手动** (蓝色) 和 **自动** (白色) 程序，以下用来清洗设备流路系统（所有操作不要接柱子）



创建unicorn方法

在你设置的这些方法中要包含所有的流路例如:

- 所有的入口管路
- 所有样品入口管路
- 所有柱位都要做清洗
注意:保证柱位阀没有连接柱子
- 所有出口管路（包括收集器管路）
- 上样阀
- 收集器的收集头

系统冲洗方法概要

(使用预定义的方法进行系统准备)

方法设置

系统准备 - 水

系统准备 - Buffer

系统清洁方法概要

(使用预定义的方法进行系统 CIP)

方法设置

System CIP - 水

System CIP - 0.1-0.5 M NaOH

System CIP - Buffer**

System CIP - 20% 乙醇

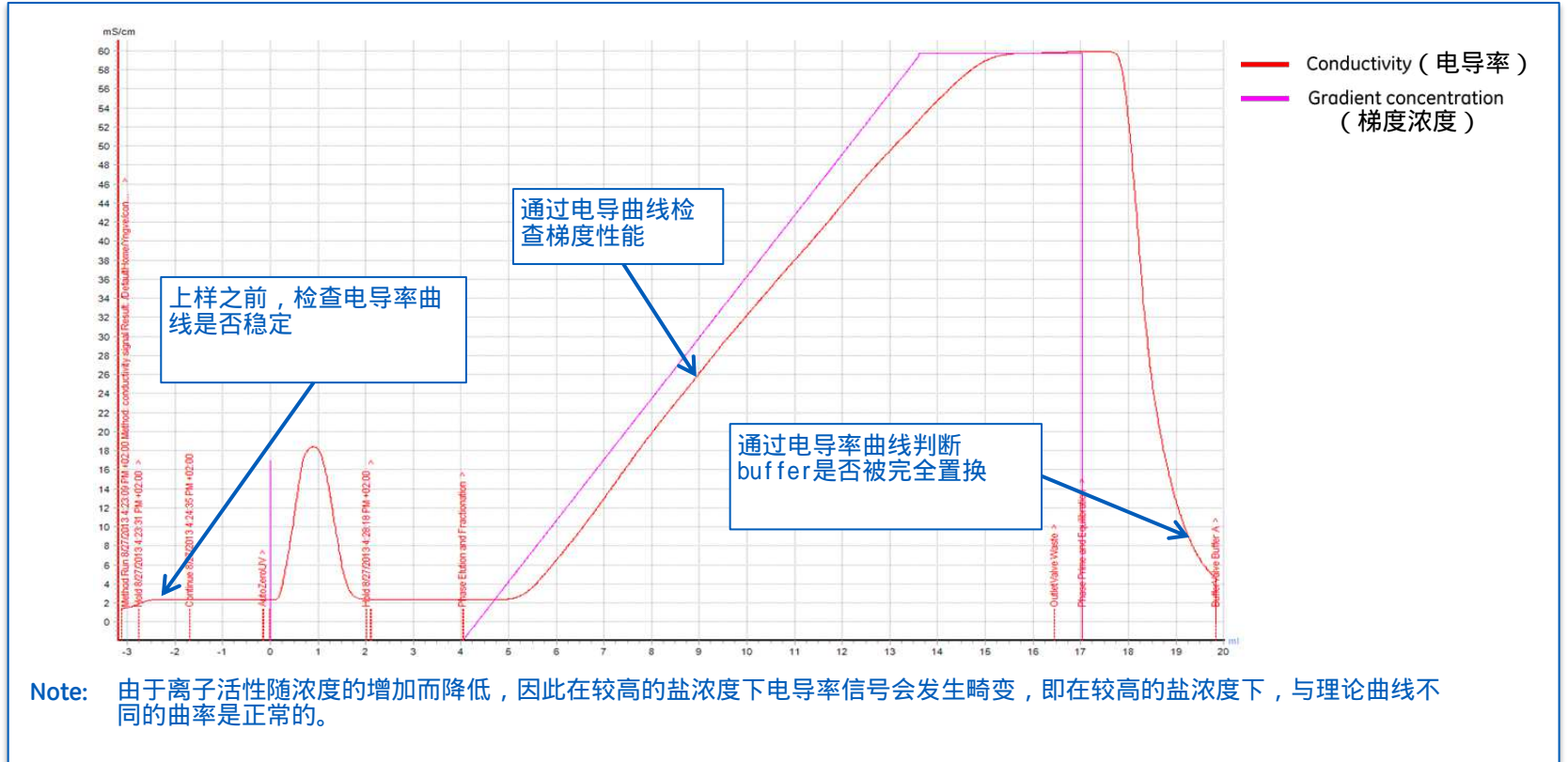
For further details see ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).

* Wash of Fraction collector accumulator is included.

** If water is used instead of buffer, this step will take longer time.

5. 故障查修

5.1 电导率曲线——一个很有用的查修工具



For further details see ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).

5.2 压力报警

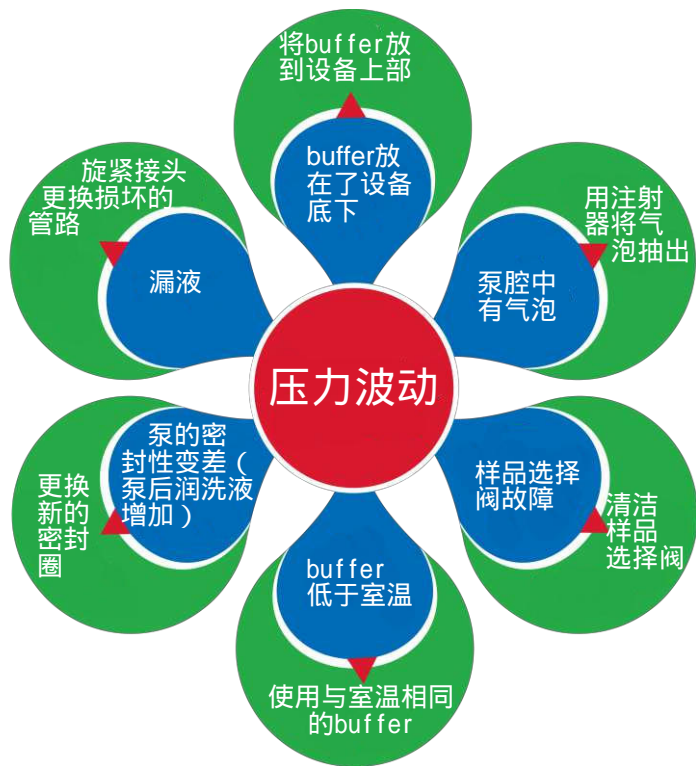
5.3 影响背景压的因素

原因	如何减少这些影响	原理
管路	维持设备正常工作的前提下管路越短越好，管路要选择合适的内径	更大的内径可以降低系统的反压，但是会对实验结果造成不好的影响 见 p. 13.
在线滤器	定期更换在线滤器.	在线滤器可以防止buffer中的颗粒物进入后续管路和柱子。但是随着使用时间的增加，在线滤器会堵塞导致压力变大
Buffer	为防止超压，当使用高粘度的buffer时，应当适当降低流速	在混合不同的buffer时，可能会导致buffer粘度增加，使得背景压增加
温度	在低温环境中运行设备时适当降低流速	当温度降低时，溶液粘度会增加
样品本身	对于粘度较大的样品应当稀释后使用或者用更低的流速上样。如果需要用系统泵进行大体积上样，需要卸掉入口滤器，如果仍然超压，将混合池移除流路系统。	为了避免超压AKTA pure和Avant都可以通过压力控制流速。当压力增加接近限压时，系统会自动降低流速并且报警。
柱子	清洗柱子 对于不同的实验要选择合适的填料和柱子直径	根据柱子说明书进行清洗 高分辨率的柱子往往会有更高的反压



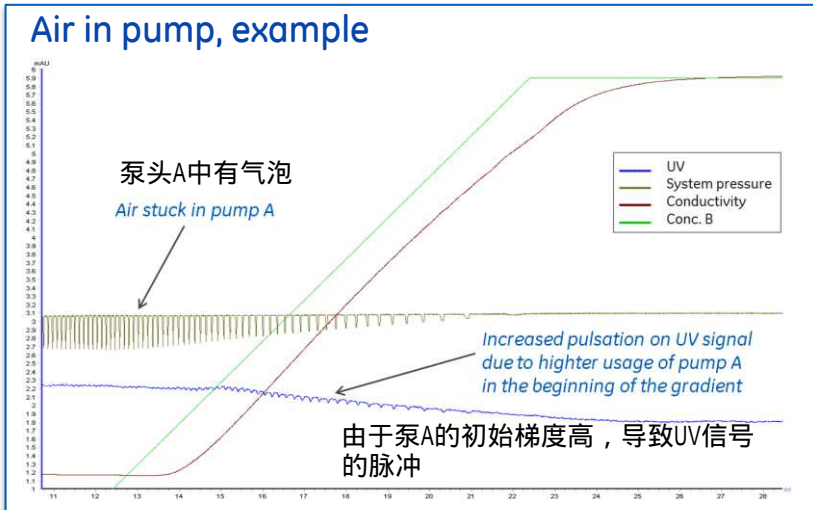
For further details see ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).

5.4 压力波动



* For 150 ml/min systems, buffers can also be placed next to the system if preferred.

For further details see chapter on Troubleshooting in ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).

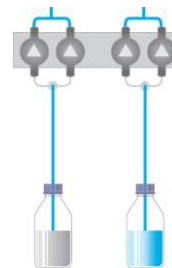


对于入口选择阀的故障判断方法

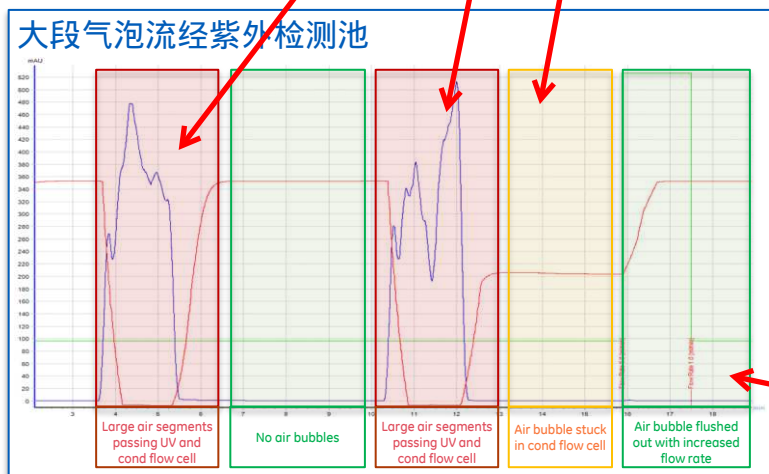
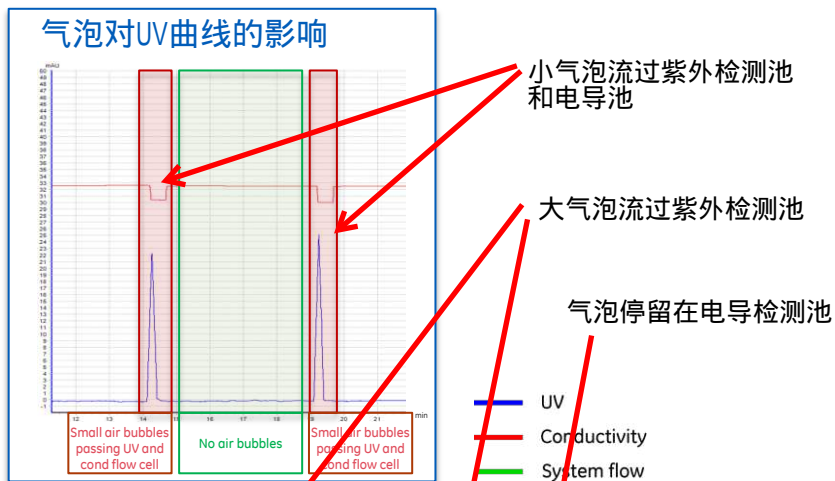
1入口选择阀诊断, "气泡测试法":

- 给泵一个0.5mL的流速
- 把入口管路置入空气中几秒, 让空气进入管路中。
- 如果选择阀正常: 气泡会跟随液体流动, 并且泵停止运行时气泡不会反向运动。
- 选择阀有故障: 在泵停止运行时, 气泡会向后移动。

测试过后: 排除管路中可能存在的气泡。



5.5 UV和电导值波动的例子和解答



随着流速增加气泡被冲出紫外流通池

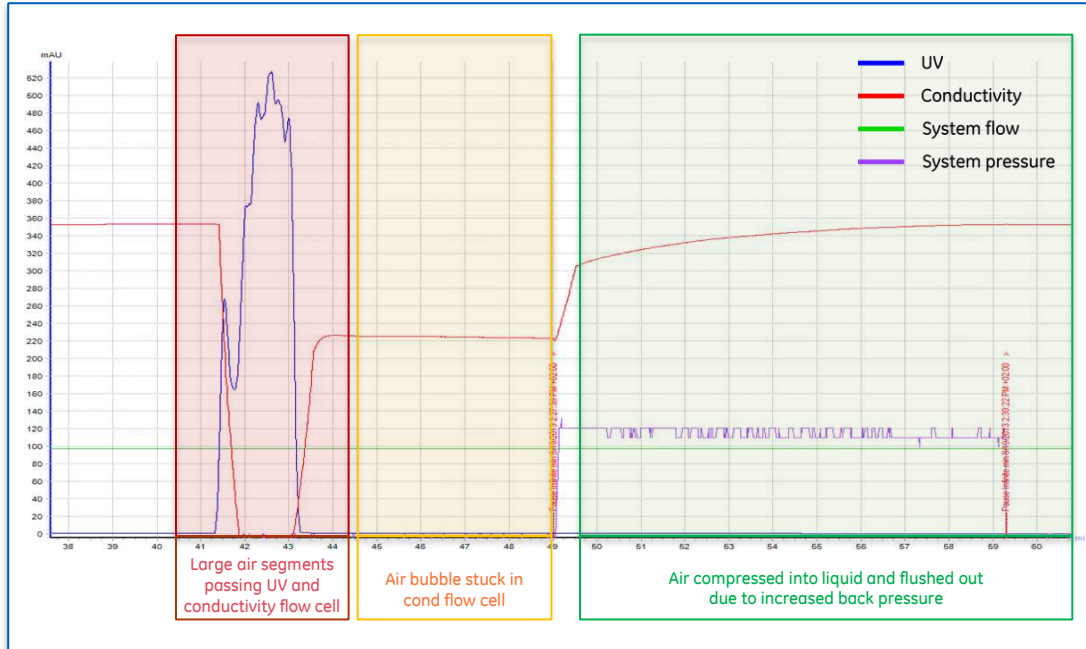
5.6 清洁pH计和紫外流通池

零件	污染物	清洁剂
pH 计	盐沉积	0.1 M NaOH 或 0.1 M HCl
	脂质沉积	洗涤剂或有机溶剂
	蛋白沉积	1%的胃蛋白酶，溶剂为 0.1 M HCl
UV 流通池	盐、脂质、蛋白沉积	洗涤剂

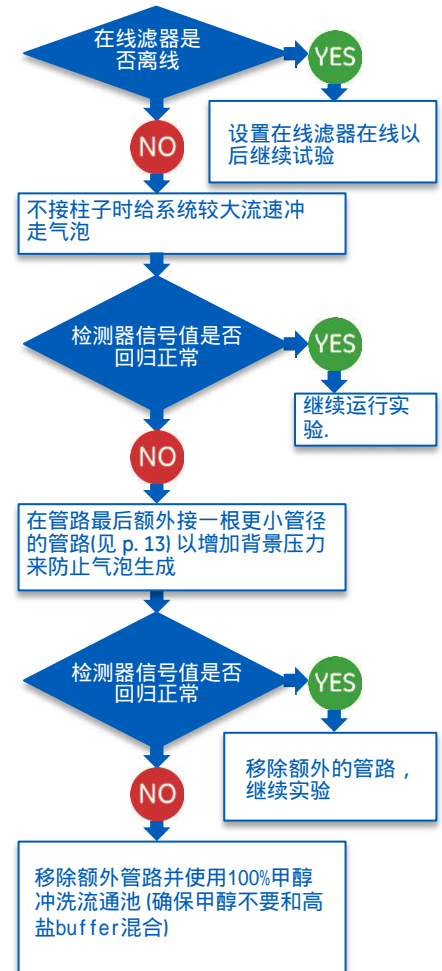


For further details see ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).

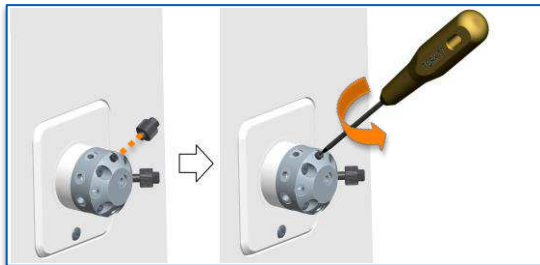
5.7 紫外流通池中有气泡



For further details see ÄKTA avant User Manual and ÄKTA pure User Manual (References on page 14).



5.8 连接器断在阀上怎么办



Step	Action
1	找一把T7的梅花扳手
2	用酒精灯把梅花扳手前段烧红后插到连接器断口中.
3	拧出连接器断头

5.9 管路手册

- 有多种不同规格和型号的管路可以被用在蛋白纯化仪中
- 管径小的管路会有更小的死体积，也会在纯化实验中提供更尖锐的峰。但同时更细的管路也会提供更加大的背景压力，使得系统流速必须降低。
- 管路和设备型号的选择必须和实验的要求相匹配

管径.	颜色	10 cm 管路的死体积	100 cm 提供的反压	一般用途
0.13 mm	红色	1.3 μ l	24 MPa	一般用于提供高的背景压力，工程师在做诊断时有可能会用到
0.25 mm	蓝色	4.9 μ l	1.7 MPa	
0.50 mm	橙色	20 μ l	0.11 MPa	用在需要低流速的实验中，ÄKTA avant 25 and ÄKTA pure 25常用
0.75 mm	绿色	44 μ l	0.02 MPa	ÄKTA avant 25, ÄKTA pure 25 和 ÄKTA pure 150
1.0 mm	米色	78 μ l	0.007 MPa	ÄKTA avant 150 和 ÄKTA pure 150
1.0 mm	透明	78 μ l	0.007 MPa	ÄKTA avant 和 ÄKTA pure的出口管路
1.6 mm	透明	200 μ l	- ²	ÄKTA avant 25 and ÄKTA pure 25的入口管路
2.9 mm	透明	660 μ l	- ²	ÄKTA avant 150 and ÄKTA pure 150的入口管路

¹ For water at 10 ml/min and room temperature

² Negligible pressure



华生源
wosunbio



**全方位的产品和服务
专业的整体解决方案**

关注我们以获取更多最新信息

© www.wosunbio.com

☎ 022-27316876 87891215

天津华生源科技有限公司