

ÄKTApure 层析仪简明操作规程

1、 开机

打开仪器的电源，打开电脑电源。待仪器自检完毕（主机控制面板白灯常亮）。双击桌面上 UNICORN 图标，进入操作界面。

2、 准备工作溶液和样品

所有的工作溶液和样品必须经过 0.45 μ m 的滤膜过滤（样品也可高速离心后取上清使用）。缓冲液需在使用前用低频超声脱气 10min。

3、 清洗及管道准备

首先将 A1 管道入口放入平衡缓冲液（binding buffer）中，将 B1 管道入口放入洗脱缓冲液（elution buffer）中，在 system control 窗口点击工具栏内的 manual，选择 execute manual instructions→pump→pump A wash 和 pump B wash，选中 A1 和 B1 入口，点击 execute。泵洗完成后自动停止。

4、 安装层析柱

在 manual instructions 里选择 pump→system flow，输入流速 1 ml/ml，insert；选择 Alarms→alarm pre column pressure，设置 high alarm（输入填料的耐受压力，可在填料说明书中查到），insert，execute。待 Injection Valve 的 1 号位管道流出溶液后，将管路接入柱子的上端，稍微拧紧后将柱下端的堵头卸掉接入管道，连上紫外流动池。

5、 开始纯化：

1) 选择检测波长，Monitors→Wavelength→UV1, UV2, UV3 (可以只打开一个波长) 等待柱子平衡好了（观察 UV、COND、pH 的数值和变化趋势）就可以准备上样。此时将紫外调零，选择 Monitors→auto zero UV，execute。

2) 用样品环上样：将样品吸进注射器，推掉气泡，从 injectionValve 的 3 号位推入，推好后不要取下注射器。在 manual instructions 里选择 flowpath→injection Valve→inject，execute。

3) 用泵上样：将 A2 入口放入样品中，manual instructions 里选择 flowpath→A inlet→A2, insert, flowpath→injectmark, insert, execute 待样品上完后，在 manual instructions 里选择 flowpath→A inlet→A1, 使用平衡缓冲液继续清洗柱子。

2),3)任选一种方式

4) 洗脱：上样后用平衡缓冲液尽量将穿透峰洗回基线。在 manual instructions 里选择 pump→gradient，按照自己的工艺选择 target B (100%) 和 length (10CV)。

5) 设定收集：

固定体积收集：选择 Fraction collection→Fractionation, 选择收集管 tube type，输入每管收集体积，execute。结束固定体积收集选择 Fraction collection→Stop fractionation，execute。

峰收集：选择 Fraction collection→Peak fractionation Parameters→UV Level, 设定峰收集的参数，选择 Fraction collection→Peak fractionation 设定峰收集每管收集的体积，execute。结束峰收集选择 Fraction collection→Stop peak fractionation，execute。

6、 清洗泵及卸下层析柱：

将 A1 和 B1 入口放入纯水中，启动 pump wash 功能冲洗 A 泵和 B 泵及整个管路。然后再将 A1 和 B1 入口放入 20% 乙醇中，同样操作让乙醇充满整个管路。给系统一个慢流速，设置系统保护压力，然后先拆柱

子的下端接头，在滴水的状态下将堵头拧上。再拆柱子上端接头，拧上上端堵头。整个过程防止气泡进入层析柱。

7、 关闭电源：

从软件任一窗口 File 命令栏中点击退出。关闭 ÄKTA 主机电源，关闭电脑电源。

(仪器的维护另见系统维护指南)

通用电气医疗集团生命科学部

hotline : 8008109118

