

ÄKTApure 層析儀簡明操作規程

1、 **開機** 打開儀器的主電源，打開電腦電源。待儀器自檢完畢（主機控制台白燈常亮）。雙擊桌面上 UNICORN 圖示，進入操作介面。

2、 準備工作溶液和樣品

所有的工作溶液和樣品必須經過 0.22 μ m 的濾膜過濾（樣品也可高速離心後取上清使用）。緩衝液需在使用前用低頻超聲脫氣 10min。

3、 清洗及管道準備

首先將 A1 管道入口放入平衡緩衝液（binding buffer）中，將 B1 管道入口放入洗脫緩衝液（elution buffer）中，在 system control 視窗點擊工具列內的 manual，選擇 execute manual instructions→pump→pump A wash 和 pump B wash，選中 A1 和 B1 入口，點擊 execute。幫浦洗完成後自動停止。

4、 安裝層析柱

在 manual instructions 裡選擇 pump→system flow，輸入流速 1 ml/ml，insert；選擇 Alarms→alarm pre column pressure，設置 high alarm（輸入膠體的耐受壓力，可在膠體說明書中查到），insert，execute。待 Injection Valve 的 1 號位管道流出溶液後，將管路接入柱子的上端，稍微擰緊後將柱下端的堵頭卸掉接入管道，連上紫外流動池。

5、 開始純化：

1) 選擇檢測波長，Monitors→Wavelength→UV1, UV2, UV3 (可以只打開一個波長) 等待柱子平衡好了（觀察 UV、COND、pH 的數值和變化趨勢）就可以準備上樣。此時將紫外調零，選擇 Monitors→auto zero UV，execute。

2) 用樣品環上樣：將樣品吸進注射器，推掉氣泡，從 injection Valve 的 3 號位推入，推好後不要取下注射器。在 manual instructions 裡選擇 flow path→injection Valve→inject，execute。

3) 用幫浦上樣：將 A2 入口放入樣品中，manual instructions 裡選擇 flow path→A inlet→A2, insert, flow path→inject mark, insert, execute 待樣品上完後，在 manual instructions 裡選擇 flow path→A inlet→A1, 使用平衡緩衝液繼續清洗柱子。

2),3)任選一種方式

4) 洗脫：上樣後用平衡緩衝液儘量將穿透峰洗回基線。在 manual instructions 裡選擇 pump→gradient，按照自己的實驗選擇 target B（100%）和 length（10CV）。

5) 設定收集：

固定體積收集：選擇 Fraction collection→Fractionation，選擇收集管 tube type，輸入每管收集體積，execute。結束固定體積收集選擇 Fraction collection→Stop fractionation，execute。

峰收集：選擇 Fraction collection→Peak fractionation Parameters→UV Level，設定峰收集的參數，選擇 Fraction collection→Peak fractionation 設定峰收集每管收集的體積，execute。結束峰收集選擇 Fraction collection→Stop peak fractionation，execute。

6、 清洗幫浦及卸下層析柱：

將 A1 和 B1 入口放入純水中，啟動 pump wash 功能沖洗 A 幫浦和 B 幫浦及整個管路。然後再將 A1 和 B1 入口放入 20%乙醇中，同樣操作讓乙醇充滿整個管路(清洗管柱時，水和乙醇各洗 5 個管柱體積)。給系統一個慢流速，設置系統保護壓力，然後先拆柱

子的下端接頭，在滴水的狀態下將堵頭擰上。再拆柱子上端接頭，擰上上端堵頭。整個過程防止氣泡進入層析柱。

7、 關閉電源：

從軟體任一視窗 File 命令列中點擊退出。關閉 ÄKTA 主機電源，關閉電腦電源。

(儀器的維護另見系統維護指南)

通用電氣醫療集團生命科學部

hotline : 8008109118

