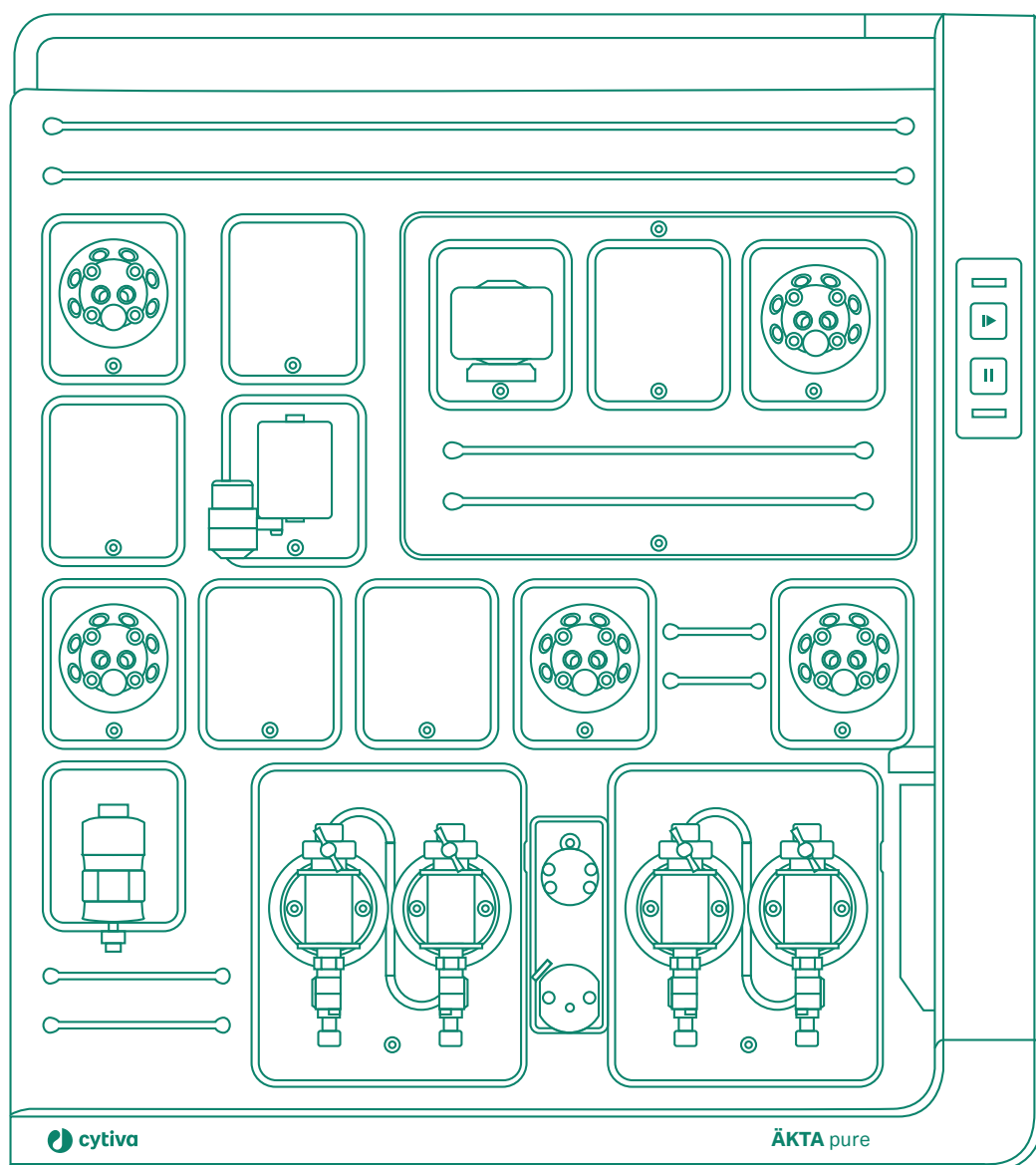


ÄKTA pure

간편 사용 설명서



소개

본 설명서에서는 ÄKTA™ pure 사용 절차에 대해 간략하게 설명합니다.

내용

절차는 다음 단계로 구성됩니다.

섹션	참고 페이지	
1	시스템 부팅	3
2	Buffer 준비	3
3	Pump Purging	4
4	Pump Washing	6
5	System Washing	7
6	Column 장비 연결	7
7	Column 내 20% 에탄올 제거	8
8	Column 내 Buffer 치환	8
9	샘플 준비	9
10	Superloop™	11
11	Tubing 연결	12
12	기타 : Sample pump를 통한 샘플준비	13

시스템 부팅

단계	조치
----	----

- | | |
|---|----------------------------|
| 1 | 장비 우측에 위치한 장비 전원 스위치를 켭니다. |
|---|----------------------------|



- | | |
|---|--|
| 2 | 컴퓨터에서 UNICORN™ Software 7.X 프로그램을 켭니다. 이때, 4개의 Software(Administration, System Control, Method Editor, Evaluation) 가 모두 활성화되었는지 확인합니다. |
|---|--|

Buffer 준비

단계	조치
----	----

- | | |
|---|--|
| 1 | Buffer 를 Pump로 전달하기 위해 Buffer Inlet Valve 를 준비합니다. |
|---|--|



- | | |
|---|---|
| 2 | 3차 증류수가 담겨 있는 Bottle에 Inlet Valve 의 A1 튜빙 , B1 튜빙 을 연결합니다.
샘플 Inlet Valve가 있을 경우, S1 과 Buffer Tubing 을 연결합니다. |
| 3 | Purging과 Pump Washing을 진행합니다. |

Pump Purging

정해진 유속으로 볼륨을 전달하기 위해 **Pump** 내에 공기를 제거해야 합니다.

Pump 내에 공기를 제거하는 과정을 Purging이라고 합니다.

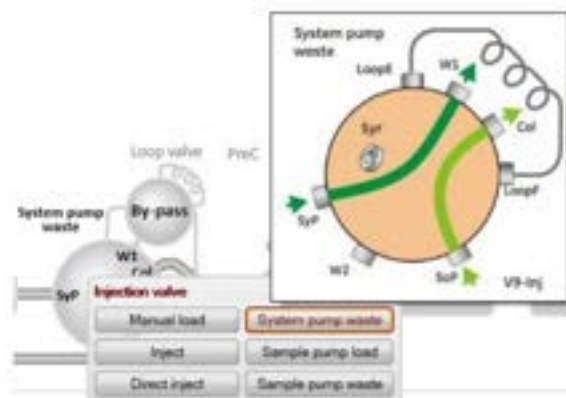
Pump는 일정한 유속을 펄스 없이 유지하기 위하여 두 개의 **Pump** 헤드로 구성되어 있습니다.



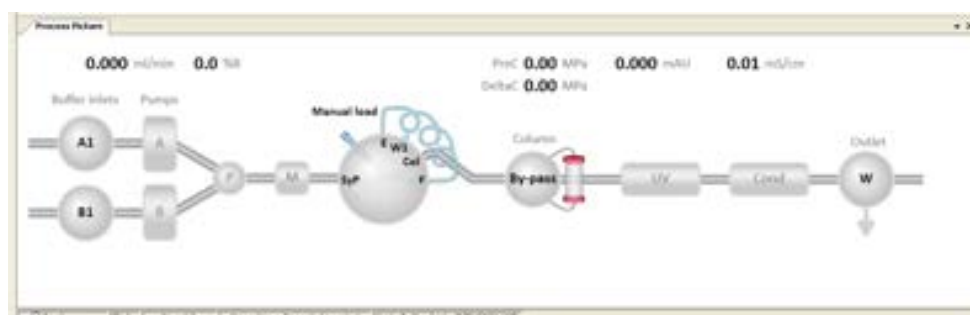
단계 조치

- 1 **Process Picture** 창에서 **Injection Valve**를 클릭하고 **Waste**를 선택합니다.

이는 Purging 되는 동안 low back pressure을 위해 필요합니다.



- 2 **Process Picture** 창에서 **Pumps**를 클릭합니다.



- 3 **Conc %B** 칸에 100(%B)을 입력한 후 **Set%B** 를 클릭합니다.

B Pump가 활성화되었습니다.



4 **System flow** 칸에 **ÄKTA™ pure 25**는 1.0(ml/min)을, **ÄKTA pure 150**는 10.0(ml/min)을 입력한 후 **Set flow rate**를 클릭합니다.

5 **Pump Head**에 달려 있는 **Purging Valve**에 **20ml Syringe**를 연결시킵니다.



6 **Purging Valve**를 시계의 반대 방향으로 열어준 뒤, **Syringe**를 10ml 흡인해서 공기를 제거합니다.

7 **Purging Valve**를 다시 시계 방향으로 닫아 **Syringe**를 **Pump**에서 분리합니다.

8 이 과정을 나머지 **Pump Head**에서 동일하게 진행합니다.

9 **Conc %B** 칸에 입력했던 100(%B)을 0(%B)로 변경합니다.

A Pump가 활성화되었습니다.

10 앞의 2~5번 과정을 다시 진행합니다.

11 두 개의 **Pump Head**에서 모두 완료되면 종료 버튼을 클릭하여 마무리합니다.

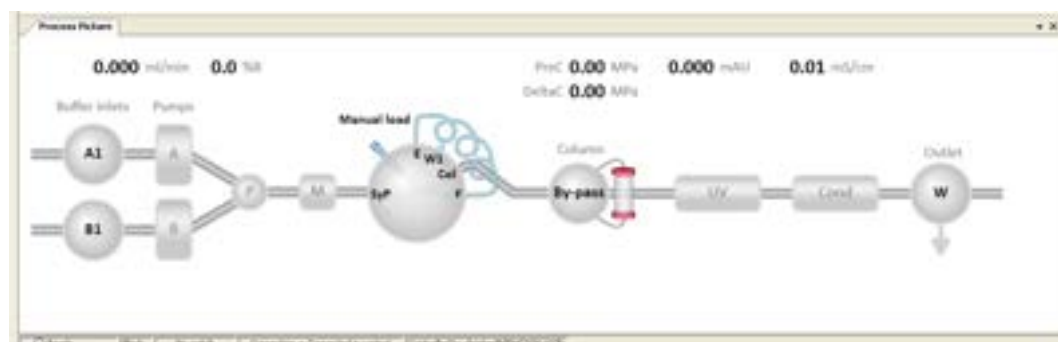
Pump Washing

Purging을 통해 공기가 **Pump Head**에서 완전히 제거된 후 Pump Washing을 진행합니다.

Pump Washing을 통해 **Pump** 내의 용액을 사용할 Buffer로 교환함과 동시에 **Inject Valve** 사이의 공간을 해당 Buffer로 채울 수 있습니다.

단계 조치

- 1 **Process Picture** 창의 **Pumps** 아이콘을 클릭합니다.



- 2 **Start pump wash**를 클릭한 후 선택된 **Inlet(이때, A1 or B1)**을 대상으로 Pump Washing이 시작되는지 확인합니다.
- 3 **ÄKTA™** 장비 내에는 20% 에탄올로 채워져 있습니다. 이에 따라 사용하고자 하는 A와 B의 **Inlet Tubing**을 3차 증류수에 위치시킨 후 Pump Washing을 진행합니다.
- 4 순차적으로 실험에 사용하고자 하는 A와 B의 **Inlet Tubing**을 **Buffer Bottle**에 위치시킨 후 Pump Washing을 진행합니다.
- 5 Protein Purification에 사용할 Buffer가 각각 **Pump** 내에 준비되었는지 확인합니다.



System Washing

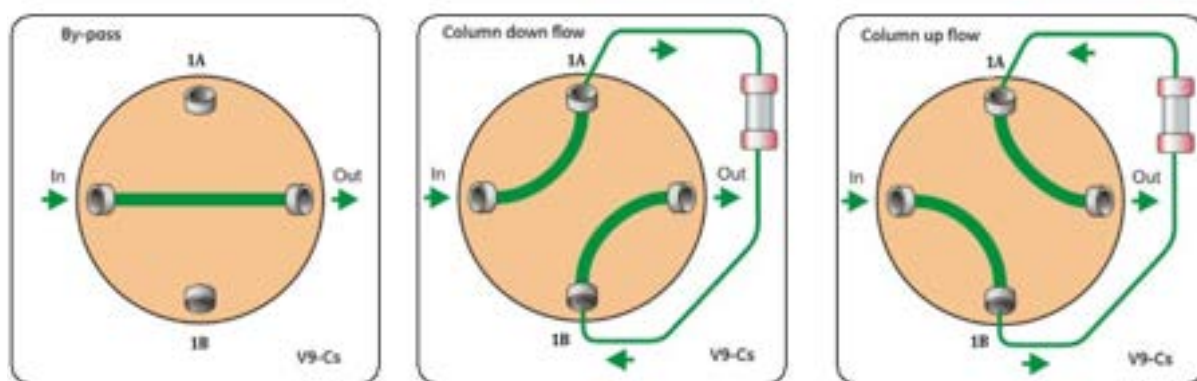
System 내에 존재하고 있는 Buffer 또는 에탄올을 사용하고자 하는 Buffer로 바꿔주기 위해 System Washing을 진행합니다.

단계	조치
----	----

- | | |
|---|--|
| 1 | Process Picture 창의 Pumps 아이콘을 클릭합니다. |
| 2 | 생성된 Box 아래에 위치한 System out (W) 를 클릭합니다. |

Column 장비 연결

Column Valve는 **By-pass**, **Column down flow**, 그리고 **Column up flow**로 구성됩니다. (V9-Cs 기준)



단계	조치
----	----

- | | |
|---|---|
| 1 | Column 에 연결하기 위해 System Flow 를 0.5(ml/min)로 입력합니다. |
| 2 | Process Picture 창의 Set Limits 를 클릭한 후 Alarm Pressure 에서 0.5(MPa)를 입력합니다. (ÄKTA™ 장비에는 FR-902 가 있으며, 그것은 평균 0.2MPa를 생성합니다.) |
| 3 | Process picture 창의 Column 이미지를 선택한 뒤 Down 을 선택한 후 Setting 버튼을 클릭합니다. |
| 4 | V9-C(5개의 Column을 연결할 수 있는 Valve) 를 가지고 있는 경우, 사용하고자 하는 Column number을 선택한 뒤 Setting 을 클릭합니다. |
| 5 | Column 에 공기가 들어가지 않게 Drop-To-Drop으로 연결합니다. |



6 **Column**과 장비가 연결되면 **End** 버튼을 눌러 종료합니다.

Column 내 20% 에탄올 제거

20% 에탄올로 충전되어 있는 **Column** 은 사용 전에 반드시 3차 증류수로 치환합니다.

단계	조치
1	3차 증류수로 치환하고자 하는 Column Valve 의 포지션을 선택합니다.
2	20% 에탄올이 Column 에 남아 있는 동안에는 Back Pressure가 높아지기 때문에 증류수로 바꿀 때 초기에 조금 낮은 Flow Rate으로 흘려줍니다.
3	Column 볼륨의 3 배 이상의 Flow Rate를 설정하여 UV, Cond, Pressure 커브가 안정되면 End 버튼을 클릭해 종료합니다.

Column 내 Buffer 치환

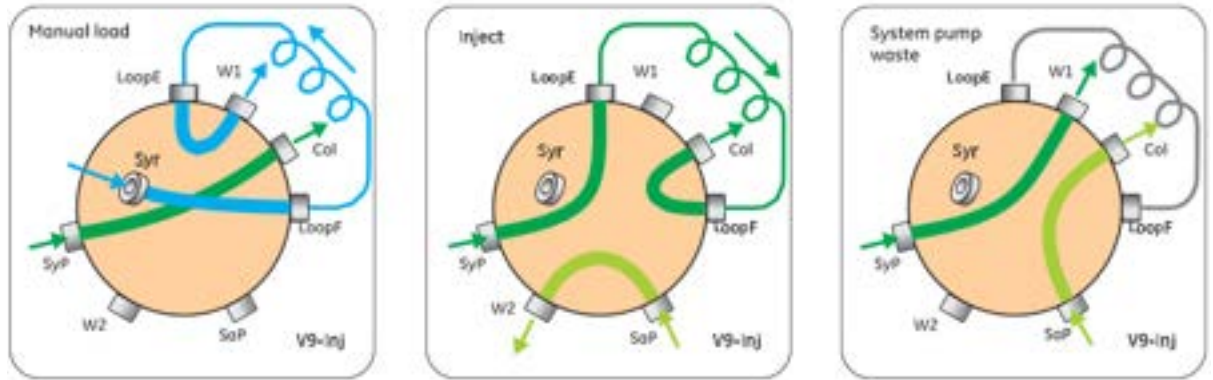
사용하고자 하는 **Column**내 **D.W**를 Binding Buffer로 채우는 단계입니다.

단계	조치
1	사용하고자 하는 Buffer에 각각 Inlet A Tubing 과 Inlet B Tubing 을 위치시킵니다.
2	각각 Pump Washing을 진행합니다.
3	사용하고자 하는 Column 을 4배의 Column Volume (C.V.)으로 Binding Buffer를 흘려줍니다.
	참고: 사용되는 유속은 사용하고자 하는 Column 과 함께 동봉된 Instruction 책자를 참조하세요.

샘플 준비

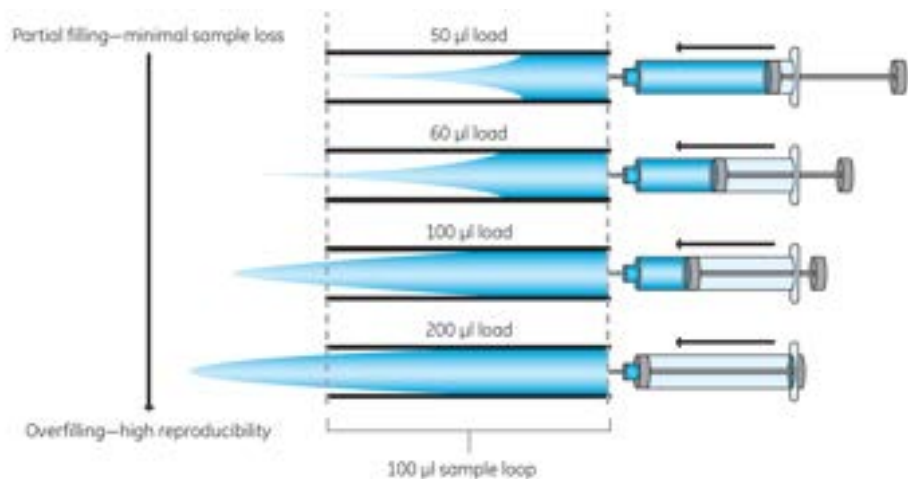
Injection Valve의 샘플 로딩 단계에서 샘플을 **Sample loop**에 준비합니다.

Injection Valve의 구성은 다음의 내용을 참고하세요.



구성	단계
Load	<ol style="list-style-type: none"> 1. 시스템 Pump에서 제공된 Buffer를 Column Valve 방향으로 보내는 단계 2. Injection Valve의 Syr port에 Syringe를 연결해서 샘플을 Sample Loop에 주입하는 단계
Inject	Sample Loop 에 준비된 샘플을 Column Valve 에 연결된 Column 으로 보내는 단계
System Pump Waste	Pump 에 있는 Solution을 새로운 Buffer로 완전히 바꾸는 단계

단계	조치
1-1	Syr Port 에 Syringe 를 연결한 후, 사용하고자 하는 Binding Buffer를 Sample Loop 의 4배 이상의 Volume으로 준비합니다. 그 후 준비된 Binding Buffer로 Sample Loop 내부를 Washing하면서 채워줍니다.
1-2	Size Exclusion Chromatography와 같이 소량의 Sample만 필요한 경우에는 Sample Loop Volume의 ½ Volume으로 채우는 것을 추천합니다.



- 2 **Syringe**를 통해서 **Syr port**에 Sample을 주입한 후에는 **Syringe**를 꽂혀져 있는 그대로 둡니다.
- 3 **Method Editor**를 켭니다.
- 4 **Sample Application phase**를 선택합니다.



- 5 **Inject sample from loop**을 선택합니다.
- 6 **Fill the loop using**에서 **Manual load**를 선택합니다.
- 7 **Loop type**은 **Capillary loop**를 선택합니다.

참고:

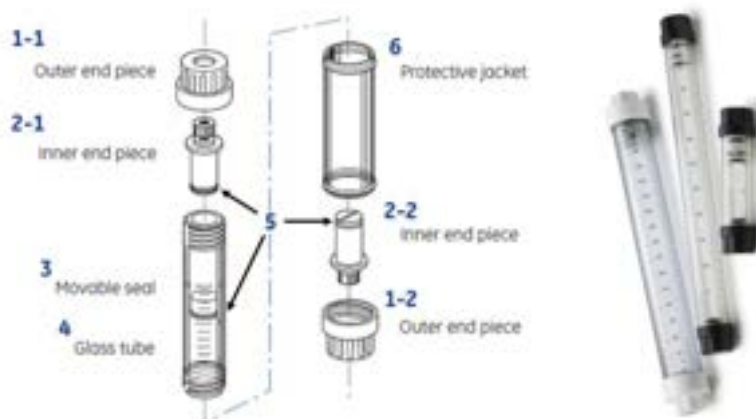
Superloop™ 사용 시, 사용하고자 하는 volume의 **Superloop**를 현재 창에서 선택합니다.

- 8 **Empty Loop With**의 항목에 **Injection Valve**에 장착한 **Sample Loop**의 2~4 배 정도 Volume을 입력합니다.
- 9 **Superloop**을 선택할 경우, Injection할 Volume을 그대로 입력합니다.

Superloop™

Injection Valve의 샘플 로딩 단계에서 150ml이하의 샘플 로딩을 위해 **Superloop**을 준비합니다.

Superloop 종류는 10ml, 50ml 그리고 150ml가 있어 Injection하고자 하는 샘플 양에 따라 선택할 수 있습니다.



단계	조치
1	위의 이미지를 참고하여 유리관(4: Glass Tube) 및 O-Ring(5) 이 달려있는 하얀 블록(2: Inner End Piece; 3: Movable Seal) 을 증류수에 약 30분 정도 담가 둡니다.
2	3 번 을 넣고 2-1번 을 정확히 붙여서 넣어줍니다. 이때 해당 두 개 블록은 숫자가 큰 방향에 끼워져야 하며 블록의 O-Ring 은 그 숫자가 작은 방향으로 향합니다. (위의 그림과 동일)
3	1-1번 을 사용하여 고정을 하고, 6 번 을 끼워줍니다.
4	유리관 에 증류수를 가득 넣어준 후 2-2 번 을 유리관 에 넣어줍니다.
5	마지막으로 1-2 번 을 끼워 정확히 고정합니다.
6	숫자가 큰 방향으로 연결된 Tube 는 Injection Valve 의 E 포트 에 연결하고, 작은 방향에 연결된 Tube 는 Inject Valve 의 F 포트 에 연결합니다.
7	연결이 완료되면, Inject Mode 에서 Flow 를 약 5ml/min으로 수행을 합니다. 조립 시 채워 놓았던 증류수가 2-2번 을 통과하여 빠져나가면서 Outlet Valve 의 Waste Line 을 통하여 2-1 번 과 3 번 사이에 Running Buffer가 채워집니다. 또한, 3 번 블록은 2-2 번 과 붙게 되며 해당 두 블록의 O-Ring 은 마주보는지 확인합니다.
8	Running Buffer로 가득 차게 되면 Pause 후, Load Mode 로 바꿔준 뒤 Continue 를 클릭하여 진행합니다.

- 9 Sample을 주사기를 이용하여 **Inject Valve**에 넣어주게 되면 **3 번, 2-2 번** 사이에 Load가 됩니다.
모두 Load가 된 후, **Inject Mode**로 변경하게 되면 **Column**으로 들어가게 됩니다.
-

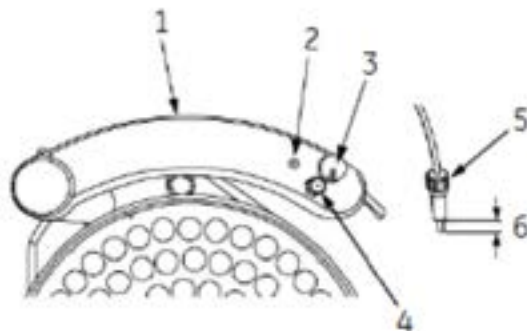
Tubing 연결

Tubing을 연결한 후 **Fraction Collector**을 연결해야 합니다. 대표적인 **Fraction Collector**로는 **F9-R**이 있으며, 그 외에도 **F9-C, F9-T**가 있습니다.



단계	조치
----	----

- | | |
|---|---|
| 1 | Tubing Holder의 너트(5) 를 잃어버리지 않도록 주의하여 풀어 놓습니다. |
|---|---|



- | | |
|---|---|
| 2 | Tubing Holder 에 Tubing 을 넣습니다. |
| 3 | Tubing 끝 부분이 Tubing holder 밖으로 5mm 이상 보이는 것을 추천합니다. |
| 4 | Delivery Arm 에 Tubing Holder 를 다시 장착합니다. |
| 5 | Fraction Collector F9-R: Outlet Valve 에 있는 Frac Port 와 Fraction Collector 를 연결합니다. |
-

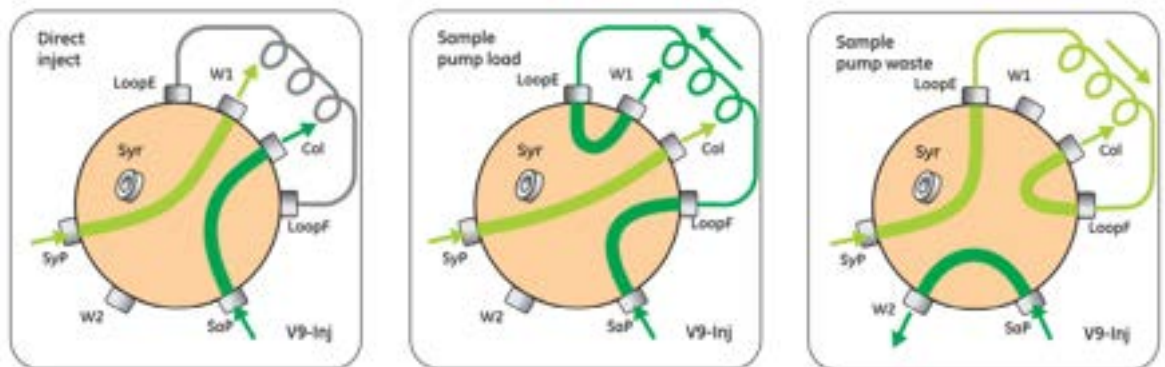
기타 : Sample pump를 통한 샘플 준비

Sample pump와 **Sample Inlet Valve**를 활용하여 샘플을 준비할 수 있습니다.

많은 샘플 로딩 양, System pump의 오염 방지, 샘플 clogging에 의해 발생하는 고압, Column 보호를 위해 세팅해 둔 Max pressure등에 의해 Pause가 걸리는 상황을 피하기 위해 도움이 되는 방법입니다.

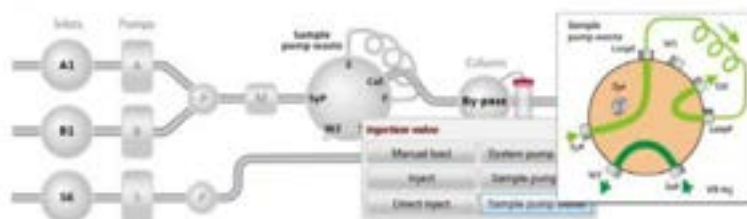


Sample pump와 함께 사용하는 **Sample Inlet Valve**의 구성은 다음과 같습니다.



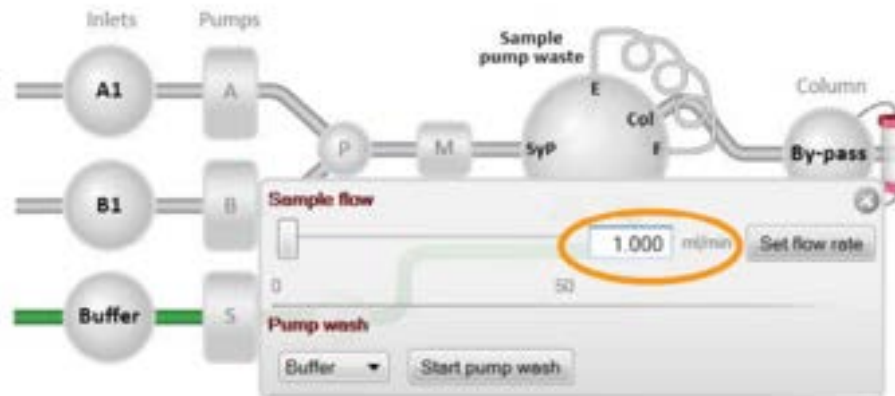
단계 조치

- 1 **Sample pump**와 **Sample Inlet Valve**를 사용하기 위해 Purging을 진행합니다.
Process picture 창에서 **Injection Valve**를 선택한 후, **Sample pump waste**를 클릭합니다.



- 2 **Sample Inlet Valve**를 선택한 후, **Buffer inlet**를 클릭합니다.
- 3 **Sample pump**를 클릭한 후, **Set flow**칸에 **ÄKTA pure™ 25**는 1.0(ml/min)을, **ÄKTA pure**

150는 10.0(ml/min)을 입력한 후 **Set flow rate**를 클릭합니다.



- 3 20ml **syringe**를 **Pump Head**에 연결한 후, 시계 반대 방향으로 **Valve**를 오픈한 후 5~10ml를 천천히 뽑아내 공기를 제거합니다.



- 4 **Sample Inlet Valve**를 클릭한 후 S1~S7 중 Purging하고자 하는 **Inlet**를 선택한 후, 앞의 설명서를 참고하여 반복 진행합니다.
- 5 완료되면 **System control**에서 **End** 버튼을 눌러 종료합니다.
- 6 **Method Editor software**에서 샘플 Injection 양을 설정하기 위해 **Sample Application phase**를 클릭합니다.



- 7 **Inject sample directly onto column**을 클릭합니다.
- 8 **Sample inlet**에 샘플을 전달하고자 하는 **Inlet Valve**를 선택합니다. (이때, S1)

- 9 정해진 Volume을 넣고자 하는 경우, ***Inject all sample volume***을 클릭한 후 Volume을 입력합니다.
- 10 **Sample Inlet Valve**의 air sense를 활용하고자 하는 경우, ***Inject all sample using air sensor***을 클릭합니다. 이 경우, 준비된 샘플이 **Inlet Valve**를 통해 공급될 때 공기를 감지하게 될 때까지 **Column**으로 전달됩니다.
- 11 **Inlet Valve**에서 공기를 감지하게 될 때 **Buffer Tubing**으로 자동 전환되면서 Binding Buffer가 공급되는지 확인합니다.
-



cytiva.com/aktapure

Cytiva and the Drop logo are trademarks of Global Life Sciences IP Holdco LLC or an affiliate.

ÄKTA and UNICORN are trademarks of Global Life Sciences Solutions USA LLC or an affiliate doing business as Cytiva.

Decon is a trademark of Decon Laboratories Ltd. Tween is a trademark of the Croda Group of Companies.

Microsoft and Windows are registered trademarks of Microsoft Corporation.

All other third-party trademarks are the property of their respective owners.

© 2023 Cytiva

UNICORN © 2023 Cytiva

Any use of UNICORN is subject to Cytiva Standard Software End-User License Agreement for Life Sciences Software Products. A copy of this Standard Software End-User License Agreement is available on request.

All goods and services are sold subject to the terms and conditions of sale of the supplying company operating within the Cytiva business. A copy of those terms and conditions is available on request. Contact your local Cytiva representative for the most current information.

For local office contact information, visit cytiva.com/contact