

适用于ÄKTA™ pure 25 M 的 微量纯化套件

层析系统

适用于 ÄKTA™ pure 25 M 的微量纯化套件 (图1) 专为微量体积生物分子样品的层析纯化而设计。能够从小微量体积, 如十几至几百微升样品中高分辨率、高回收率地纯化出目标分子, 如天然蛋白、蛋白复合物、膜蛋白、多肽、核酸和病毒颗粒。特别适合冷冻电镜结构生物学中微量体积样品的纯化制备。ÄKTA™ pure 25 M 层析系统还能够高效地对目标分子进行电荷、聚合状态、纯度等性质分析。ÄKTA™ pure 25 M 可通过微量纯化套件对标准的层析设备上的模块和管线进行优化配置, 并使用 UNICORN™ 软件进行控制。

配置后的 ÄKTA™ 微量纯化系统具有以下特点:

- 系统采用内部体积非常小的阀门和监测器模块, 模块之间采用直径非常细的管线连接, 因此系统总内部体积非常小, 减少微量样品的稀释, 提高层析分辨率和回收率。
- 使用微量进样接头, 可兼容微量进样针, 阀门转动波动小, 避免进样时的样品损失。
- 使用微量收集滴头, 配合滴同步功能, 可以实现每管非常小体积的分步自动收集, 同时避免样品滴溅至管外。
- 配合微量制备型层析预装柱, 特别适合冷冻电镜结构生物学中微量样品的纯化制备。
- 适合使用分析型凝胶过滤预装柱对生物制品微量取样进行快速、高重现性的聚集态及纯度分析。

系统套件总览

标准的 ÄKTA™ pure 25M 层析设备可通过微量纯化套件进行组件的配置, 从而升级成微量层析系统。微量纯化套件包含微量进样阀, 微量监测器流通池, 微量进样组件、微量出口阀, 微量收集滴头以及两组不同内径的细管线套件、相关接头等配件 (表1)。经套件配置后的微量纯化系统特别适合与小体积、小粒径、高分辨率层析柱及分析型层析柱搭配使用, 用于微量样品的纯化和性质鉴定。



图 1. 微量纯化套件及经微量纯化套件改装后的 ÄKTA™ pure 25 M。

组件名称

微量体积进样阀 V9M-J 和微量进样接头
微量体积出口阀 V9M-Os
微量体积电导监测器 C9M
微量体积多波长紫外流通池 U9-2M
0.6 ml 混合池
在线滤器
10 µL 和 50 µL 样品环
微量进样组件 Injection Kit
F9-R 圆形收集器微量收集滴头
适用于 Eppendorf™ 离心管的管支架
内径为 0.25mm 和 0.13mm 的细管路套件
适用于内径为 0.25mm 和 0.13mm 的细管路套件的 1/16" 双公头接头
多向柱夹

表 1. 微量纯化套件包含的组件。

微量进样阀

微量进样阀 V9M-J (图2), 内部体积仅为0.8 μL , 具有载样、进样和洗泵三个状态, 能够连接各种小体积样品环, 微量注射器通过推样或者反吸形式将微量样品载入样品环中, 阀门在载样和进样切换中无波动, 保证微量样品全部进入层析柱中。



图 2. 微量进样阀 V9M-J。

微量进样接头和组件

为了避免在样品载入小体积微量样品环的过程中造成损失, 套件包含了使用微量进样接头 (图3)。配合安装了微量进样针的小体积注射器, 或者直接使用微量进样器, 能够有效消除注射器、上样接头死体积中的样品残留。



图 3. 微量进样接头。

微量紫外监测器流通池

微量紫外流通池 U9-2M 内部体积为 0.8 μL , 安装后整个紫外监测器总体积缩减为 2.6 μL 。

微量电导率监测器

微量电导率监测器 C9M (图4) 能够提供可靠的实时在线电导率监测, 内部整合温度传感器, 可以校正由温度引起的电导率的变化, 因此在广泛的检测范围内具有非常好的精确度, 使其适合所有的层析技术, 即使是使用电导率极低的溶液作为流动相的反相技术也不例外。在离子交换层析和疏水相互作用层析实验中, 能够实现对微量样品电荷性和疏水性的精准鉴定。电导监测器内部体积仅为 2.2 μL 。



图 4. 微量电导率监测器 C9M。

微量出口阀

微量出口阀 V9M-Os (图5), 内部体积为 0.7 μL , 一个接入废液, 一个用于收集样品流穿, 另一个接入自动收集器。



图 5. 微量出口阀 V9M-Os。

两组微量连接细管路套件

微量纯化套件配有两组直径非常细的连接管路套件, 从进样阀开始连接层析柱、紫外监测器, 电导监测器, 限流器、出口阀, 直到收集器的微量收集滴头:

(1) 内径 0.25 mm 的蓝色管线, 用于直径为 10 mm 凝胶过滤分子筛层析柱 (如 Superdex™ 200 Increase 10/300 GL) 和直径为 5mm 的离子交换层析柱 (如 Capto™ HiRes Q 5/50), 安装蓝色管线的系统, 进样阀到收集器滴头延迟体积为 88 μL , 其中 UV 到收集器滴头延迟体积为 58 μL , 推荐流速为 0.25 - 2.00 mL/min;

(2) 内径 0.13 mm 的红色管线, 用于直径 3.2 或者 5 mm 凝胶过滤分子筛层析柱 (如 Superdex™ 200 Increase 3.2/300), 安装红色管线的系统, 进样阀到收集器滴头延迟体积为 28 μL , 其中 UV 到收集器滴头延迟体积为 18 μL , 推荐流速为 0.05 - 0.25 mL/min。

通过细管路套件的配置, ÄKTA™ 系统内部体积得到了进一步减

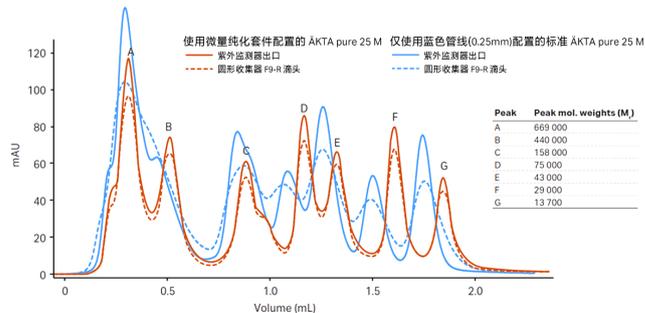


图 6. 使用微量纯化套件配置前和配置后的 ÄKTA™ pure 25 M 层析图谱对比。

微量混合器和在线滤器

离子交换和疏水相互作用层析实验中, 线性梯度洗脱精准实现, 要求 A 和 B 两个泵吸取的缓冲液混合均匀, 混合器的体积和流速必须协调。安装了蓝色管线的系统在 0.25 - 2 mL/min 的低流速范围下, 使用 0.6 mL 混合器确保 A 和 B 泵精准的线性梯度, 混合器内置滤膜, 将进入预装柱的缓冲液在线过滤。而安装了红色管线的系统在 0.05 - 0.25 mL/min 的流速范围下, 仅接入在线滤器, 即可得到精准的线性梯度。

微量收集滴头

微量收集滴头可安装在标准的圆形收集器 F-9R 上, 能够稳定的实现低至 8 μL 每管的自动收集 (图7)。收集器能够安插 175 孔 1.5 mL 管架, 可以即刻收集或者 UV 响应值自动收集, 不同的纯化阶段可设置不同的收集体积。



图 7. 微量收集滴头。

可外接其他监测器进行微量样品监测

ÄKTA™ 系统配备 I/O box E9 后可以连接其他监测器 (图8)。在结构生物学和生物制药行业中, 多角度激光散射监测器 (MALS) 能够精确测量溶液中蛋白质分子量, 并确定蛋白质的聚集状态; 荧光监测器 (FLD) 能够专一监测外源表达的 GFP 与目的蛋白融合体, 配合分析型凝胶过滤柱 Superose™ 6 Increase 5/150 GL, 非常适用于高通量快速筛选出高表达量和期望聚合态的克隆片段, 接着进一步高通量快速筛选层析缓冲液组份和添加剂。

安装了微量纯化套件的 ÄKTA™ 系统连接 MALS 和 FLD 监测器后, 仅通过 50 μL 以内微量样品, 就能够得到可靠的检测结果, 降低了对样品量的要求, 提高效率。



图 8. I/O box E9, 用于外接扩展设备。

UNICORN™ 软件平台

安装了微量纯化套件的 ÄKTA™ 系统依然由 UNICORN™ 控制软件来操作控制。UNICORN™ 软件内置了系统管理模块、方法编辑器模块、系统控制模块和结果分析模块。系统控制窗口具有交互式的过程图控制界面, 为手动控制设备提供直观的方法; 自动程序编辑窗口具有各种微量纯化层析实验模板, 便于用户直接编辑, 在进行微量纯化实验时, 使用自动程序运行有利于保证实验的重复性, 以降低系统误差。结果分析窗口具有峰积分, 蛋白含量浓度估计, 分辨率计算, 曲线对比等功能; 系统管理模块的数据备份窗口可定期对实验结果进行备份和存档, 保证实验结果完整、真实且不会丢失。

高分辨率微量纯化预装柱

为了能够高效纯化和鉴定分析微量样品, Cytiva 提供一系列适用于离子交换、疏水相互作用和反相层析的各种预装层析柱。其柱体积小、粒径小且分辨率高的特点特别适用于微量精细纯化。

对于凝胶过滤层析, Cytiva 可提供适用于不同分离范围的 Increase 系列凝胶过滤分子筛预装柱。除了使用率最高的柱体积为 24mL 的 10/300 GL 分子筛预装柱之外, 3.2/300 分子筛预装柱的柱体积仅 2.4 mL 但仍具有 300 mm 柱高, 非常适合 50 μL 以内微量样品的高效分离纯化; 而柱体积为 3 mL 的 5/150 GL 分子筛预装柱, 进行一次样品层析实验仅需 7 min, 非常适合快速鉴定蛋白聚合状态以及筛选蛋白表达片段或者层析缓冲液添加剂。

经微量纯化套件配置的 ÄKTA™ pure 25 M 层析系统规格

系统硬件

流速范围	0.001-25 mL/min
推荐流速	安装蓝色管线时: 0.25 - 2.00 mL/min 安装红色管线时: 0.01 - 0.25 mL/min
压力范围	0-20 MPa
混合器	混合池体积: 0.6 mL 5-90 %B (0.25-2 mL/min接入 0.6 mL 混合器)
梯度范围	10-90 %B (0.05-0.25 mL/min 接入在线滤器)
紫外监测器	波长: 190-700 nm 三波段同时监测 监测范围: -6 至 6AU 线性: $\pm 2\%$ (0-2 AU 内) 流通池光径: 2 mm 体积: 2.6 μL
电导率监测器	监测范围: 0.01 - 999.99 mS/cm 体积: 5.4 μL
温度监测器	监测范围: 0-99°C
进样阀	载样、进样、洗泵三种模式 体积: 0.8 μL
出口阀	废液出口: 1个; 收集器出口: 1个; 体积: 0.7 μL

系统内部体积

使用管路套件的管线颜色	蓝色	红色
管线内径	0.25 mm	0.13 mm
梯度混合到层析柱前	0.7 mL	0.1 mL
进样阀到收集器滴头	88 μL	28 μL
紫外到收集器滴头	58 μL	18 μL

F9-R 全自动收集器

每管最小收集体积	8 μL
收集管数目	95 个或 175 个
微量收集滴头体积	1.6 μL

订购信息

系统和软件

产品	产品代码
适用于 ÄKTA™ pure 25 M 的微量纯化套件	29302910
ÄKTA™ pure 25 M 主机	29018227
V9-IAB 入口自动阀套件AB	29011357
Fraction collector F9-R 圆形收集器	29011362
I/O-box E9	29011361
UNICORN™ 7 Workstation license 工作站许可证	29128116
UNICORN™ 7 remote 远程许可证	29115426
UNICORN™ 7 dry 独立许可证	29115427
UNICORN™ 7 Standalone Evaluation 独立分析许可证	29115454
UNICORN™ 7 Evaluation Classic 经典结果分析许可证	29115456

适用于微量纯化的预装层析柱

层析柱型号	产品代码
Superdex™ 30 Increase 10/300 GL	29219757
Superdex™ 30 Increase 3.2/300	29219758
Superdex™ 75 Increase 10/300 GL	29148721
Superdex™ 75 Increase 5/150 GL	29148722
Superdex™ 75 Increase 3.2/300	29148723
Superdex™ 200 Increase 10/300 GL	28990944
Superdex™ 200 Increase 5/150 GL	28990945
Superdex™ 200 Increase 3.2/300	28990946
Superose™ 6 increase 10/300 GL	29091596
Superose™ 6 increase 5/150 GL	29091597
Superose™ 6 increase 3.2/300	29091598
Capto™ HiRes Q 5/50	29275878
Capto™ HiRes S 5/50	29275877
RESOURCE™ Q 1 mL	17117701
RESOURCE™ S 1 mL	17117801
RESOURCE™ ETH 1 mL	17118401
RESOURCE™ ISO 1 mL	17118501
RESOURCE™ PHE 1 mL	17118601
RESOURCE™ RPC 1 mL	17118101

cytiva.com/aktapure

如需查看当地办公室的联系方式, 请访问 cytiva.com/contact

Cytiva 和 Drop 标识是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的注册商标。

ÄKTA、Capto、RESOURCE、Mono、Superdex 和 UNICORN 是 Global Life Sciences Solutions USA LLC 或作为 Cytiva 开展业务的附属公司的商标。

© 2020-2021 Cytiva

所有商品和服务的销售需遵守在 Cytiva 运营之供应商公司的销售条款和条件。可应要求提供这些条款与条件的副本。如需了解最新信息, 请联系您当地的 Cytiva 代表。

CY17511-30Nov21-DF

