

ÄKTA start 简易指南（脱盐）

1. 实验材料：

- 层析柱：HiTrap Desalting 5 mL；
- 脱盐缓冲液：Tris-HCl 50 mmol/L，pH 7.9，5%甘油；
- 其余溶液：超纯水；20%乙醇。

2. 开机并保存好实验文件。

实验文件命名规则：实验名-小组组号（2 个小组）-AKTA 仪器编号-日期，如 Desalting-Group1+4-AKTA01-20201106。

3. 用超纯水清洗各流路。

本次实验只使用 A 泵，用超纯水清洗 A 管道及其余流路，**B 泵留在 20%乙醇中**。

4. 安装层析柱。

检查流路，**确认经过接柱位并保持流速为 1 mL/min**，在运行流速的状态下安装层析柱。

HiTrap Desalting 层析柱可承受的最大流速为 5 mL/min，本次实验允许将流速设为 5 mL/min。但安装层析柱时使用 1 mL/min 流速，以免滴漏过多液体。**高流速**下的错误操作可能引入大量气泡，**请谨慎操作**。

该层析柱体积大，要求用溶液清洗 2-3 CV（柱体积），即若用 1 mL/min 流速，需清洗 10-15 min。

5. 清洗样品环。



图 1 进样阀

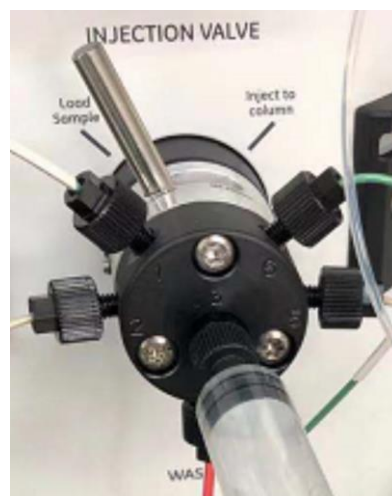


图 2 注射器插位（去掉针头）

让进样阀“Injection Valve”处于 Load 状态，用 5 mL 注射器吸取超纯水，注意排除注射器内的气泡，去掉针头，将超纯水注入样品环（Loop 环）进行清洗。**注射器内的溶液不要全部打完**，留一点在注射器中，防止气泡进入。

用脱盐缓冲液清洗样品环，操作同上。**清洗结束后不要拔出注射器**，防止气泡进入。

6. 准备样品。

超滤后的样品不再用滤器过滤，但在上样前必须经过高速离心。 $20\,000 \times g$ ， 4°C 离心 10 min，吸取样品时严格避开沉淀，将上清转移至新的离心管中待上样。

7. 用脱盐缓冲液清洗 A 管道及其余流路。此时样品环也应通过注射器润洗完毕。

8. 将样品注入样品环。

用 2 mL 注射器吸取离心后的样品上清，**排除注射器内的气泡**。从“Injection Valve”处注入略超过 1 mL 体积的样品（若样品体积大于样品环，可在相应废液导管中看到带有颜色的样品，此时停止注入）。注意**注射器内需留有少量样品**，不能完全打空。上样后**切勿拔出注射器**，需留在仪器上防止排入气泡。（图 3 左）

9. 设置收集器。

在收集器的内圈从 1 号位置开始摆放 1.5 mL 离心管 15 支，在电脑操作界面设置每管的收集体积为 1 mL。**建议在上样前提前开始收集**。

10. UV 基线稳定并调零后从样品环上样。

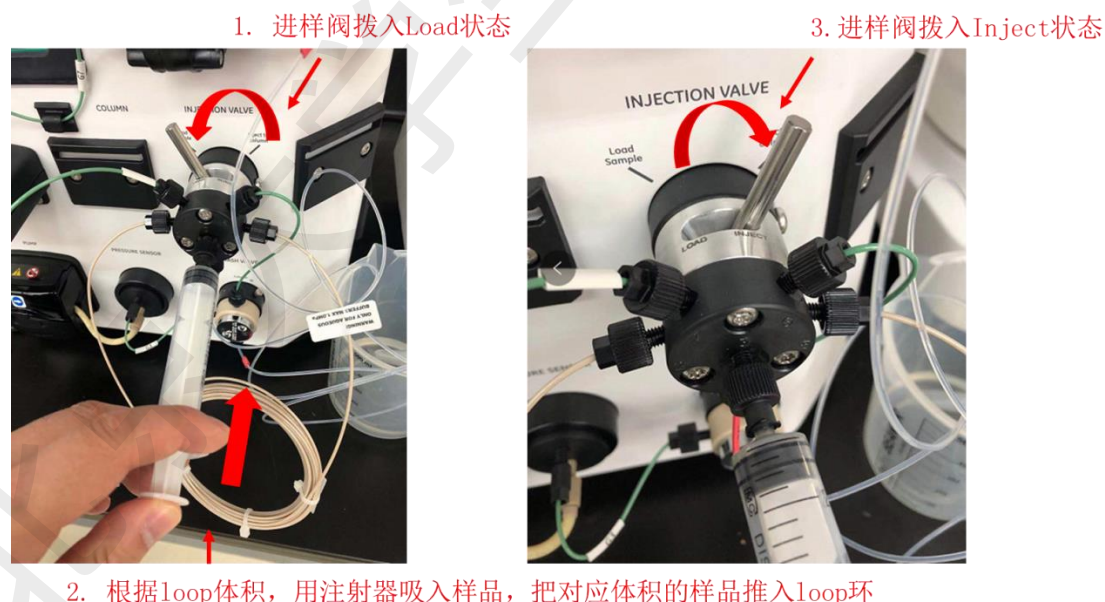


图 3 样品环上样

确认流路及收集器运行正常，**建议流速使用 1 mL/min** ，将“Injection Valve”处的阀门拨至右侧 Inject 状态（图 3 右），此时开始进样。监测 UV 和电导的曲线，待出峰结束后停止

收集。

11. 用超纯水清洗各流路（进样阀拨至 Load 状态，样品环用注射器清洗）。
12. 用 20%乙醇清洗各流路（样品环用注射器清洗）。
13. 拆卸层析柱。
14. 停止程序并导出层析图谱。

注意事项

1. 合理安排操作顺序，例如使用注射器清洗样品环可与其他流路的清洗同时进行。
2. 因样品流穿层析柱的过程较快，本次实验建议在上样前开始收集。
3. 注射器取样时用针头，注入样品环时需拔掉针头。注射器及针头重复使用，使用后清洗干净，不能有绿色残留。针头在不用时需盖好盖子，**切勿随意丢弃**！实验过程中，**样品环在使用后需留有注射器**，且注射器内留有溶液，防止气泡进入。