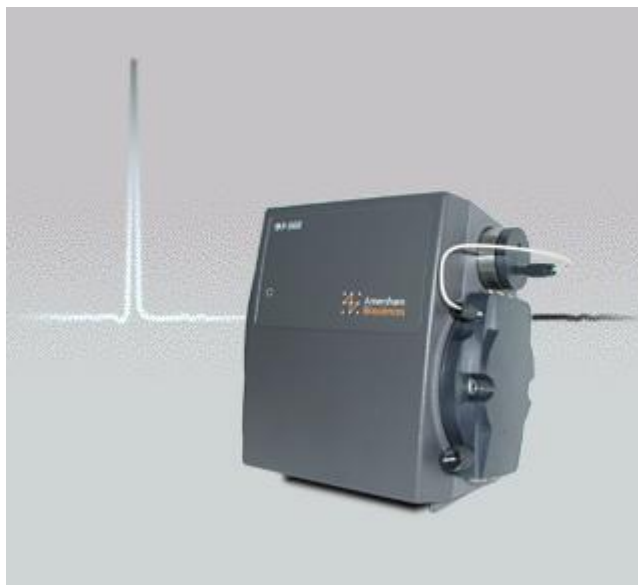


サンプルポンプ P-960、サンプルバルブ V5 付き

ÄKTAexplorer、ÄKTApurifier をお使いの方へ

(UNICORN Ver. 5.0 以降)



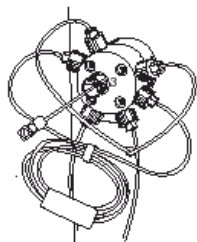
1. マニュアルサンプル充填の準備の場合	2
2. サンプルポンプ P-960 について	3
3. P-960 によるカラムへのサンプル直接添加配管（標準配管）	4
3.1 配管	4
3.2 パージ操作	5
3.3 カラムへのサンプル直接添加を行う場合のメソッド中の設定	6
重要<□S8- Rinse Sample FlowPath (40ml) を選んだ場合のメソッド編集手順>7	
4. 使用後の洗浄	8

GE ヘルスケア・ジャパン株式会社
ライフサイエンス統括本部
バイオダイレクトライン
TEL: 03-5331-9336、FAX: 03-5331-9370
e-mail: Tech-JP@ge.com



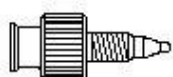
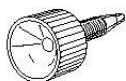
1. マニュアルサンプル充填の準備の場合

添加したい量のサンプルに合った容量のサンプルループ、スーパーループをインジェクションバルブ V1（ポート 2～6 間）に接続します。



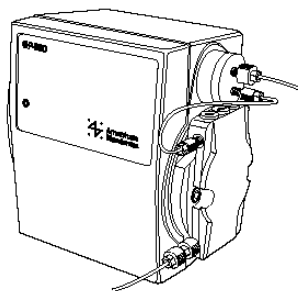
インジェクションバルブをダイレクトロードの接続から、サンプルループやスーパーループを使用してサンプル添加をする場合、次の手順で配管の変更をします。

- 1、インジェクションバルブのポート 3～ポート 6 に接続されている緑色の PEEK チュービングを取り外します（3.1 章の表中で③のチュービング）。
- 2、インジェクションバルブのポート 2 に接続されているコネクタ（P-960 出口側）を取り外します。
- 3、インジェクションバルブのポート 4 に接続されている 10 cm 長の ETFE チュービング（3.1 章の表中⑤のチュービング）と FR-902 を取り外し、FR-902 アウトレット側に接続されている 120 cm 長の ETFE 廃液チュービング（3.1 章の表中⑥のチュービング）をインジェクションバルブのポート 4 に接続します。
- 4、インジェクションフィルポート（18-1127-66）にインジェクションニードル（外径 0.7 mm、18-1801-42）を差し込みます。
- 5、インジェクションバルブのポート 3 に、インジェクションニードルを挿したまま、インジェクションフィルポートをねじ込みます。
- 6、インジェクションニードルを抜きます。
- 7、インジェクションフィルポートにシリンジホルダーを差込み、設置します。
- 8、開始バッファーで満たしたシリンジをポート 3 に接続して、サンプルループを洗浄します（サンプルループ体積の 3 倍体積以上）。



サンプル量が多いとき（サンプルループ 2 ml やスーパーループを使用する際は）、インジェクションフィルポートの代わりにルアーロックアダプター（18-1112-51）を使用します。

2. サンプルポンプ P-960 について



P-960 仕様

流速範囲 : 0.1~50 ml/min

圧力 : ~2 MPa (20 bar、290 psi)

サンプルループやスーパーループでは添加不可能な多量のサンプルを添加したい場合、サンプルポンプ P-960 でサンプルを吸い上げ、直接カラムへ添加することが可能です。

注意

P-960 の圧力範囲は 2 MPa までです。それ以上の圧力がかかるカラムではご利用いただけませんのでご注意ください。

注意

サンプルのダイレクトロードを行うためには、次の項 (3.1、配管準備) のように配管し、毎回サンプルインレットと P-960 内の気泡を除くためのパージ操作を必ず行ってください。

パージを行わなかった場合、サンプルを指定した分量吸い上げないことがあります。

注意

P-960 を操作する際は、空運転 (溶液が準備されていない、または吸い上げきっている状態での運転) をしないようご注意ください。溶液がないとポンプ内のシールを痛め、送液を行えなくなります。

注意 :

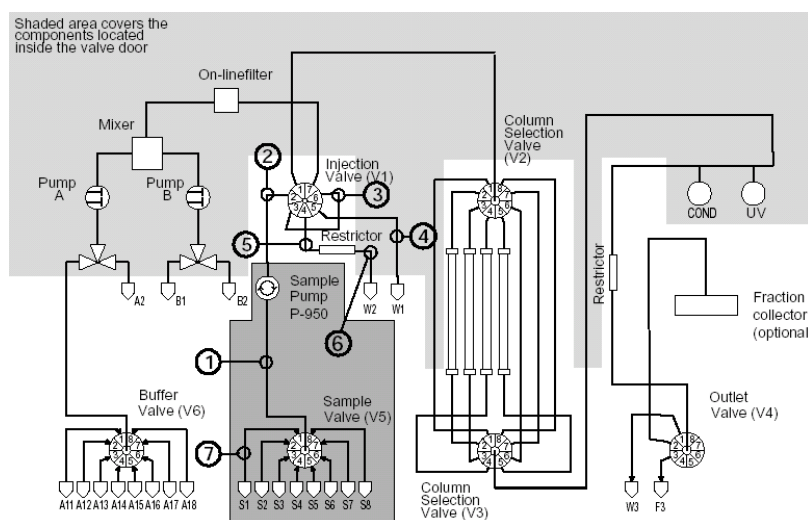
メソッド実行時でダイレクトロード中に Pause ボタンをクリックしたり、システムがポーズした後に Continue ボタンをクリックしたりすると、ダイレクトロードが中断し次のコマンドが実行されます。

3. P-960 によるカラムへのサンプル直接添加配管（標準配管）

バックプレッシャー2MPa 以下のカラムに、サンプルを直接添加することができます。

3.1 配管

下図のように配管します（下図は ÄKTAexplorer の例ですが、ÄKTApurifier でも同様の配管です）。



チュービング（最長）	コネクター	接続箇所
①ETFE i.d. 1.0 mm x 40 cm	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	サンプルバルブ センターポート
	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55 Union Fingertight female/ M6 male, 18-1112-57	サンプルポンプ インレット
②ETFE i.d. 1.0 mm x 50 cm	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	サンプルポンプ アウトレット
	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	インジェクションバルブ ポ ート 2
③PEEK i.d. 0.75 mm x 15 cm	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	インジェクションバルブ ポ ート 3
	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	インジェクションバルブ ポ ート 6
④ETFE i.d. 1.0 mm x 130 cm	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	インジェクションバルブ ポ ート 5
	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	インジェクションバルブ ポ ート 4
⑤★ETFE i.d. 1.0 mm x 10 cm	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	FR-902 インレット
	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	FR-902 アウトレット
⑥ETFE i.d. 1.0 mm x 120 cm	Fingertight connector 1/16", 18-1112-55	FR-902 アウトレット
⑦PTFE i.d. 1.6 mm x 130 cm	Union 5/16" female/ HPLC male, 18-1142-08, Tubing connector for 1/8" o.d.tubing, 18-1121-17 with ferrule for 1/8" o.d. tubing, 18-1121-18.	サンプルバルブ ポート 1-8*

注意 サンプルバルブの使用しないポートにはストッププラグを接続することをお勧めします。

※ 流速 10 ml/min 以下でサンプル添加をする場合、サンプルインレットチュービング S1~S7 には内径 1 mm

チュービングを使用できます。

サンプル添加時、次の順路でサンプルが添加されます（このときのインジェクションバルブポジションは Inject です）。

サンプル → サンプルインレットチュービング⑦ → サンプルバルブ（センターポート） → チュービング① → P-960 インレット → P-960 アウトレット → チュービング② → インジェクションバルブ（ポート 2） → インジェクションバルブ ポート 1 → カラムへ（G5 チュービング）

3.2 パージ操作

配管内および P-960 内の気泡を除きます。使用前に必ず毎回行ってください。

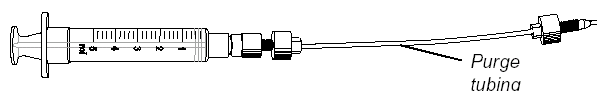
1、使用するサンプルインレット（S1～S7）を結合バッファーに接続します。

注意 使用しないサンプルポートにはストッププラグをつけることをお勧めします。

2、サンプルインレット S8 にサンプルラインのリンス液（結合バッファー）を接続します。

3、Manual ↓ Flowpath → Sample Valve → S1～S7（使用するサンプルインレット）を選択 → Execute

4、インジェクションバルブのポート 3 についているコネクタを取り外し、パージチュービングを接続します。



5、Manual ↓ Flowpath → Injection Valve → Load → Execute

（システムが End 状態の時はこの作業はスキップ可能です）

6、ゆっくりパージシリンジのピストンを引きます。この際、手順 3 で指定したサンプルインレットからサンプルが吸い上げられていることを目視確認します。

7、サンプル液面がサンプルバルブのセンターポートから出てきたら、次のサンプルインレットに切り替え、同様にサンプルをサンプルバルブまで吸い上げます。

Manual ↓ Flowpath → Sample Valve → （次のサンプルインレット） → Execute

8、接続したサンプルの数だけ、手順 6～7 を繰り返します。

注意

サンプルを引き上げるのは各サンプルインレットを満たす最小限で十分です。途中でパージシリンジが一杯になり中身を廃液する場合は、パージシリンジを抜く前に、サンプルバルブを次のポートへ変えることをお勧めします。重力落下により、パージシリンジで吸い上げた溶液がサンプル容器へ戻る可能性があります。

9、インレット S8 からバッファーを吸い上げます。

Manual ↓ Flowpath → Sample Valve → S8 → Execute

この際、5 ml 分いっぱいには吸い上げます。

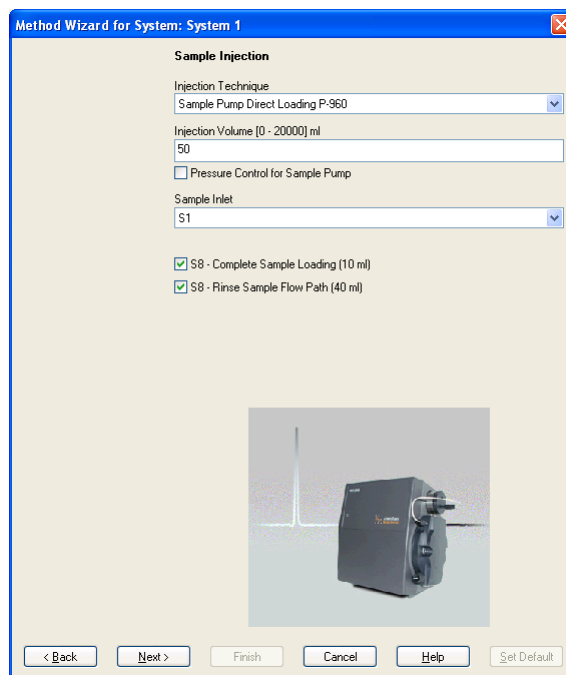
10、パージチュービングを取り外し、手順 4 で取り外したコネクタを元通りに接続します。

11、サンプルインレット（S1～S7）をサンプル容器に移します（容器の底までサンプルインレットチュービングが届いていることを確認します）。

12、End ボタンをクリックします。

3.3 カラムへのサンプル直接添加を行う場合のメソッド中の設定

ウィザードでのメソッド作成時、下図のようなサンプル添加に関する設定画面が現れます。P-960 を使用したサンプル直接添加を行う場合の条件設定は次のように行ってください。



Injection Technique

Sample Pump Direct Loading P-960 を選択します。

Injection Volume

添加したいサンプルボリュームを入力します。

Pressure Control for Sample Pump

チェックを入れると、サンプル添加中に圧力が上昇した場合に、メソッド中で指定したカラム耐圧を超えないよう流速が調整されます（最低流速 0.1 ml/min）。この場合、メソッドの所要時間が予測できなくなりますのでご注意ください。

Sample Inlet

セットしたサンプルのインレットを S1～S7 から選択します。

S8- Rinse Sample Flow Path (40ml)

チェックを入れると、サンプル添加行程の前に S8 液（開始バッファー）を 40 ml 用いてサンプル流路を洗浄します。

S8- Complete Sample Loading (10ml)

チェックを入れると、サンプルを吸い上げ終わった後に、S8 液（開始バッファー）を 10 ml 洗浄のため送液します。これによりサンプルバルブ センターポート～P-960 内部～インジクションバルブポート 2 までの間に残っているサンプル（約 5 ml）を無駄にすることなくカラムへ添加することができます。

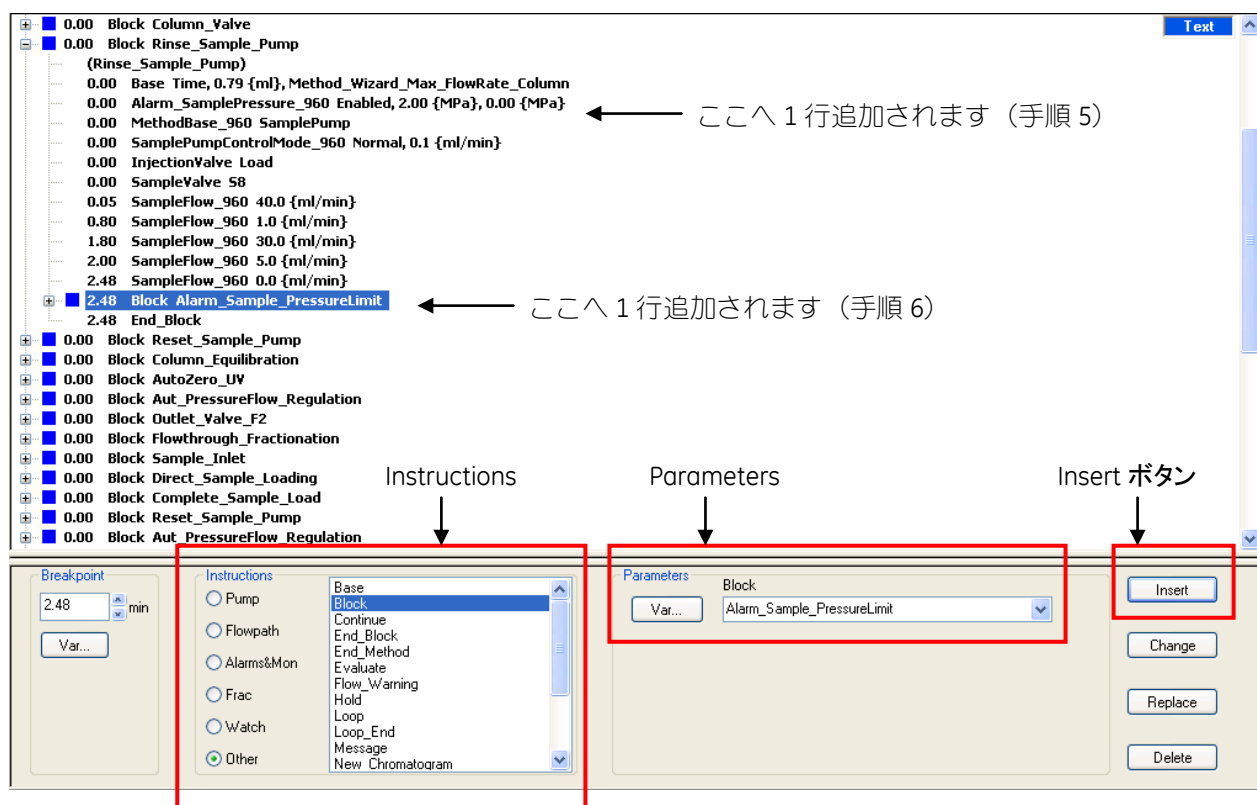
注意！

S8- Rinse Sample Flow Path (40ml)にチェックを入れた場合、次ページの設定を行います。設定が行われない場合、低圧系カラム使用時にオーバプレッシャーエラーでシステムがポーズする可能性があります。

重要<□S8- Rinse Sample FlowPath (40ml) を選んだ場合のメソッド編集手順>

Method Editor 画面より、

- 1、ウィザードによるメソッド作成を最終ページまで進め、File ↓ Save as でメソッドを保存します。
- 2、保存したメソッドを開いた状態で、View ↓ Text Instructions を選択します。
- 3、**Block Rinse Sample Pump** の行をダブルクリックします。
- 4、**0.00 Base Time,0.79{ml}, Method_Wizard_Max_FlowRate_Column** の行をクリックしてハイライトします。
- 5、画面下方にて、
Instructions : **Alarms & Monitor** ↓ **Alarm_SamplePressure_960**
Parameters ; **High_Alarm** ⇒ **2MPa** を選択・入力し、**Insert** ボタンをクリックします。
- 6、**2.48 SampleFlow_960 0.0{ml/min}** の行をクリックしてハイライトし、画面下方にて、
Instructions : **Other** ↓ **Block**
Parameters : (Block) **Alarm_Sample_PressureLimit** を選択し、**Insert** ボタンをクリックします。
- 7、File ↓ Save を選択します (終了)。



(上記画面のテキスト内容は、作成したメソッドにより変わりますが、変更するポイントは同一です)

注意：

メソッド実行時でダイレクトロード中に **Pause** ボタンをクリックしたり、システムがポーズした後に **Continue** ボタンをクリックしたりすると、ダイレクトロードが中断し次のコマンドが実行されます。

4、使用後の洗浄

実験終了後、出来るだけ早くポンプの洗浄を行います。行わない場合、ポンプ内で析出した成分によりポンプの摩耗、不具合が起こりやすくなります。

- 1、サンプルインレットおよびバッファーインレットを超純水（1 インレットにつき 50 ml 以上用意）に置き換えます。
- 2、配管中にエアが入っている場合はパージ操作（前述 3.2 参照）を行い、配管内に残っているエアを除去します。
- 3、送液洗浄を行います。

Manual ↓ Pump → SampleFlow_960 → 1 ml/min → Execute

- 4、1 インレットにつき少なくともインレットからサンプルバルブまでの容積の 2 倍の液量を送液し、次のインレットにサンプルバルブを切り替えます。

Manual ↓ Flowpath → SampleValve → （次のサンプル/バッファーインレット） → Execute

内径 1 mm チュービング：78.5 μ l/10 cm

内径 1.6 mm チュービング：201.1 μ l/10 cm

- 5、最後のインレットまでバルブが切り替わったら、その段階から 30 分程度送液して終了（End ボタンをクリック）します。

自動的に終了させる場合はエンドタイマー機能を使用します。

Manual ↓ Other → End_Timer → Acc. time、30 min → Execute

※必要に応じ、上記洗浄終了後 0.1M NaOH での洗浄や 20%エタノールでのライン置換を行います。