

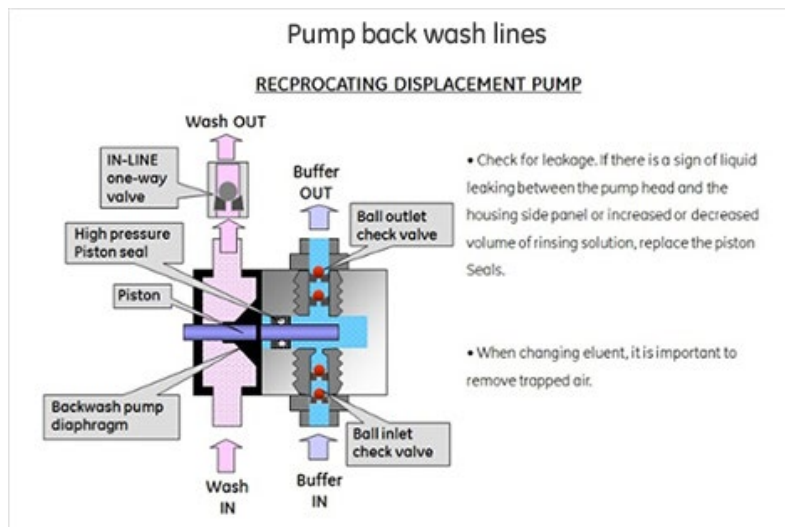
ÄKTA Basic Operation & Maintenance

한글 설명서

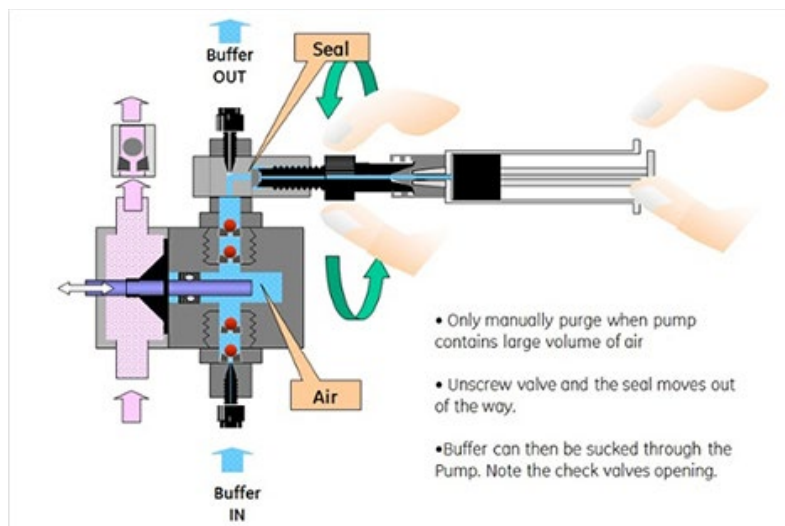
Basic operation

ÄKTA system 중에서도 ÄKTA Core Family 라 불리는 실험실 장비는 ÄKTA prime 에서부터 ÄKTAexplore 가 있으며 새로이 Unicorn 7 이 적용된 ÄKTA avant 와 ÄKTA pure 가 있습니다. 이 중에서도 대부분의 장비에서 공통적으로 적용되는 작동에 대한 부분을 살펴보도록 하겠습니다.

1. PUMP PURGE

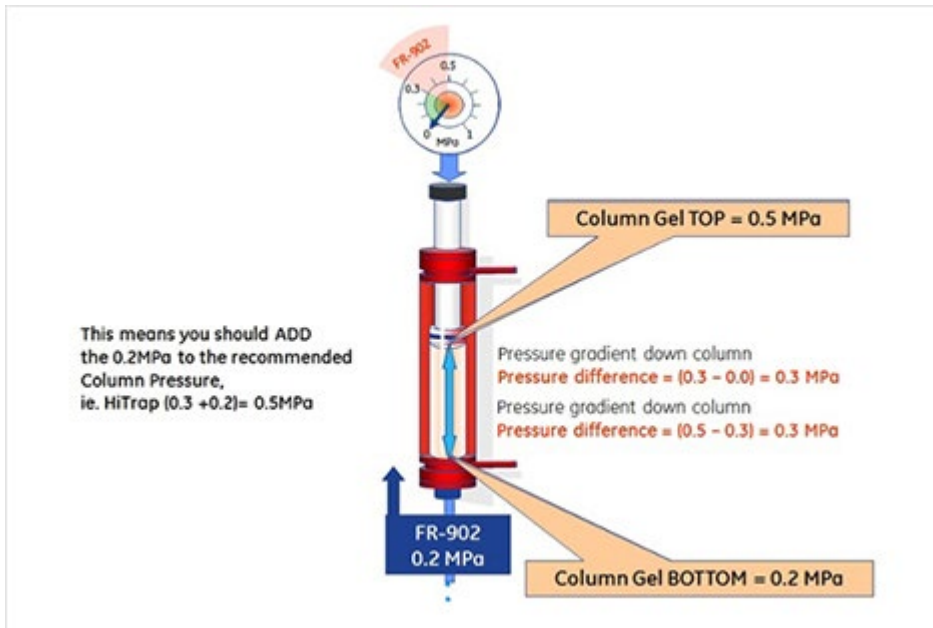


ÄKTA prime 과 ÄKTA FPLC 를 제외한 대부분의 ÄKTA 는 2-헤드 피스톤 펌프로 구성이 되어있습니다. 이는 아래의 그림과 같이 하나의 헤드에는 Diaphragm 과 piston seal 로 구분되어진 2 개의 공간이 있으며 이는 피스톤을 움직임을 통해 각각의 공간이 확장되거나 수축이 되면서 체크밸브를 통해 버퍼가 유입되거나 유출이 되도록 디자인되어 있습니다.



푸른색의 공간은 시스템으로 보내지는 실제 버퍼가 유동되는 곳이며, 분홍색의 공간은 Backwash 용액이 유동되는 공간입니다 (Backwash 에 대해서는 Maintenance 부분에서 다루도록 하겠습니다). 그 중에서도 시스템이 장기간 사용되지 않거나 버퍼를 전환하는 경우 해당 헤드 부분에 공기가 머물러 있는 경우가 있습니다. 이런 경우, 컬럼으로 공기가 유입되거나 유속이 일정하게 유지되지 않을 가능성이 있기 때문에 사용 전 purge 를 통해 이런 부분을 방지해주어야 합니다. 이를 pump purge 라고 하며, 아래 그림과 같이 펌프헤드 앞쪽 부분의 나사를 반시계방향으로 돌려 풀어준 뒤 주사기를 사용하여 내부에 있는 공기를 제거하게 됩니다. 다만 주의할 사항은, 2-헤드 펌프에 있어서 양쪽 헤드에 있는 공기를 동일하게 제거해주어야 한다는 점과 pump purge 후 버퍼가 새지 않도록 나사를 원 상태로 잘 조여주어야 한다는 점입니다.

2. COLUMN PRESSURE

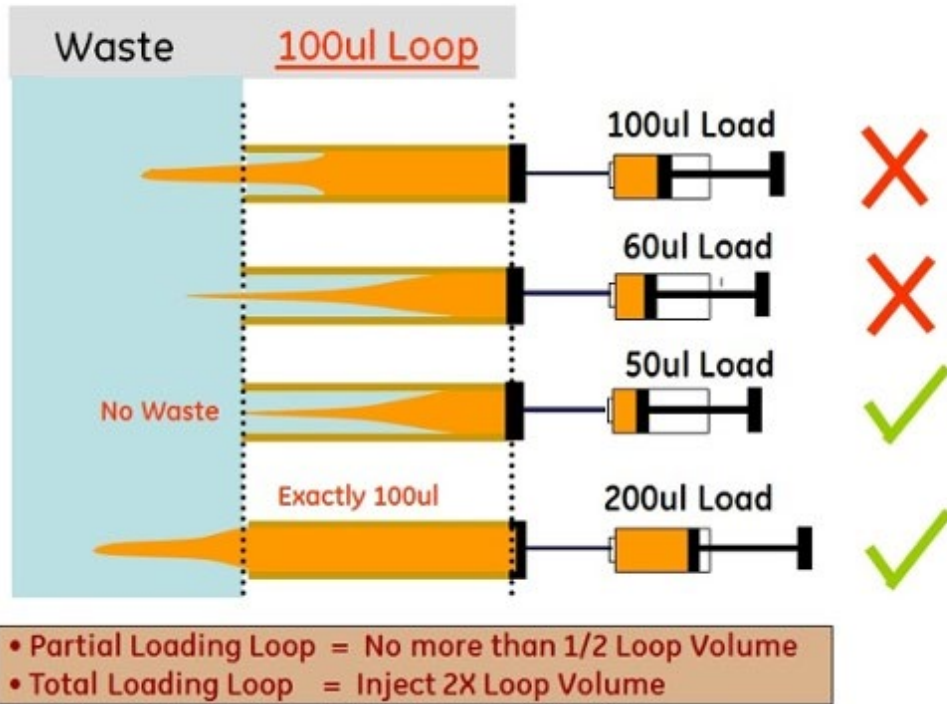


ÄKTA avant 와 ÄKTA pure 의 일부 모델을 제외하고 대부분의 시스템은 하나의 압력센서를 가지고 있습니다. 하지만 시스템을 운용하는 데 있어서 중요한 사항은 시스템 자체뿐 아니라 컬럼과 컬럼 내의 충전된 레진의 압력 범위를 모두 고려해야 합니다. 시스템은 시스템 자체의 압력범위를 넘어서면 자동적으로 멈추게 되지만 컬럼(그리고 컬럼 안의 레진)의 경우는 경우에 따라 다르기 때문에 해당 압력 범위에 대한 알람을 따로 걸어주어야 합니다. 하지만 컬럼하단부에서 압력이 갑자기 해제가 될 경우 용액 중 녹아 있던 기체가 기포를 형성하여 흡광도를 나타낼 수 있기 때문에 대부분의 시스템에서는 이를 방지하기 위한 Flow restrictor 라는 것을 흡광 모니터 후단부에 달아 두기도 합니다.

예를 들어 3bar 까지 사용이 가능한 컬럼이 있는 경우 일반적으로는 알람을 3bar 에 걸어 놓게 되지만 후단부에 FR-902 (2bar 를 인위적으로 걸어주는 flow restrictor)가 장착되어 있는 경우 압력센서는 하나만 존재하기 때문에 컬럼이 견딜 수 있는 압력에 더불어 flow restrictor 에서 잡아주는 압력을 더하여 5bar 의 알람을 걸어주게 됩니다. 다만 주의해 주셔야 하는 점은, 이는 낮은 flow 에서 시스템을 연결하는 tube 에서 걸리는 압력을 제외한 것으로 더욱 정확히 알람을 설정하고 싶을 경우에는 컬럼을 제외하고 사용하고자 하는 유속을 시스템에 흘려보았을 때의 압력을 측정 한 뒤 이를 컬럼의 사용압력에 더해 주어 알람을 설정해주시면 좋습니다.

3. SAMPLE LOADING

Loop Loading rules



Sample 을 컬럼에 주입하기 위한 방법은 크게 3 가지가 있습니다.

- Loop (Sample loop 또는 Superloop)를 이용하는 방법
- Sample pump 로 직접 주입하는 방법
- System pump 로 직접 주입하는 방법

Pump 를 사용해서 하는 방법은 많은 양을 주입하고자 할 때 선호되는 방법이며, Sample pump 가 따로 없을 경우에는 System pump 를 사용하기도 하지만 이는 오염의 위험도가 높아지기 때문에 선호되지는 않습니다. Loop 를 사용하는 경우에는 1 회성 실험을 하기위한 Sample loop 가 있고, Sample loop 를 사용하기에는 많은 양 또는 여러 번의 실험을 하고자 할 경우 사용되는 실린더 형태의 Superloop (10ml, 50ml, 150ml) 가 존재합니다. 이 중에서도 Sample loop 는 정해진 양의 tube 형태의 loop 만 연결하면 되는 간편성 때문에 가장 많이 사용되고 있습니다.

이 경우, 정량의 Sample 을 주입하고자 할 경우에는 왼쪽 그림에서와 같이 Loop 내부에서의 유체의 흐름에 따른 패턴 때문에 사용하고자 하는 Loop 의 부피를 다 쓰고 싶다면 Loop 부피의 2 배 이상을 넣어 주시거나 아니면 아래 그림의 세번째 경우와 같이 절반 이하의 부피를 사용해 Loop 부피보다 적은 양의 Sample 만을 걸어 놓을 수도 있습니다. 다만 소량의 Sample 을 사용하고자 하는 경우에는 미리 Loading buffer 로 Loop 내부를 채워주셔야 공기가 유입되는 것을 방지할 수 있습니다. 또한 실제 주입시에도 Loop 부피의 2 배 이상을 "Empty Loop"에 지정을 해주셔야만 Loop 내부의 모든 Sample 이 컬럼으로 주입될 수 있습니다.

4. ÄKTA ACCESSORIES

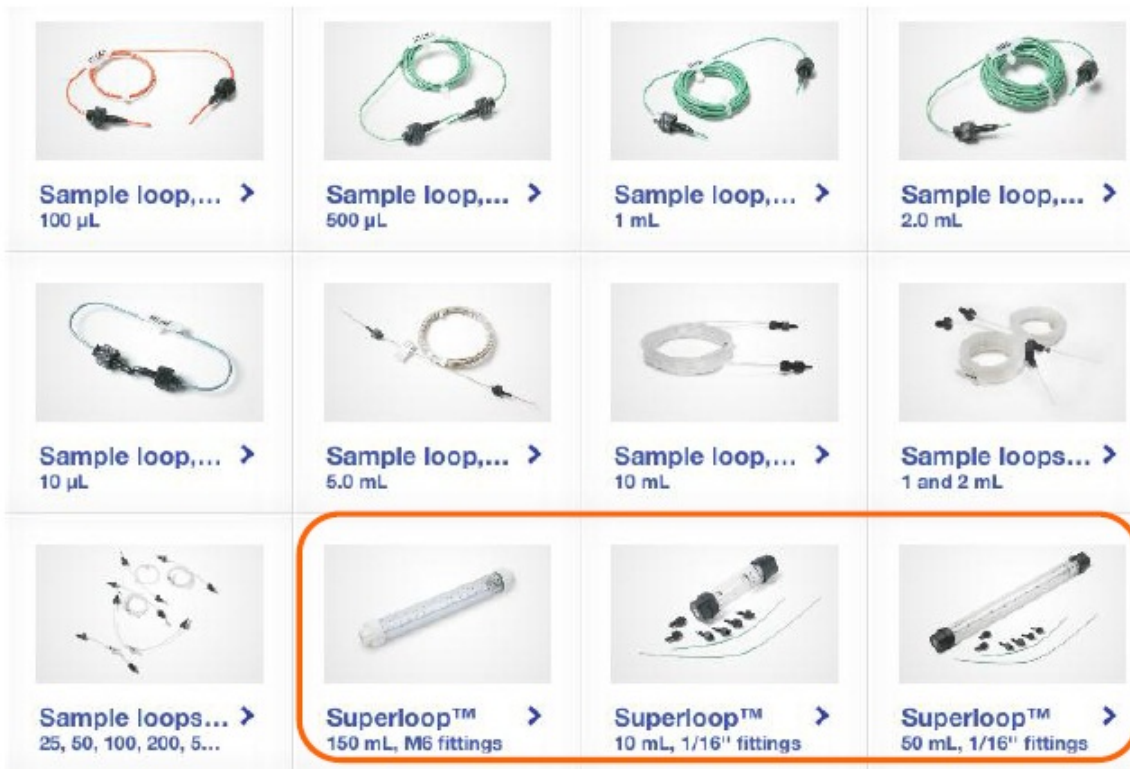
ÄKTA 를 사용하면서 사용되는 Tube 및 Connector 에 대한 기본 제품 정보는 아래와 같습니다.

Tubing



해당 튜브들은 시스템의 밸브 사이 또는 시스템과 컬럼을 연결하기 위해 사용되는 것으로 flow rate 와 back pressure 여부에 따라 선택하여 사용하게 됩니다.

Sample loops



샘플루프는 컬럼에 샘플을 주입하기 위해서 담아 놓는 장치로서 작은 사이즈를 위해서는 튜브를 사용하게 되며, 같은 검체로 여러 번 의 실험을 할 경우나 다량의 샘플을 주입하기 위해서는

수퍼루프를 이용하기도 합니다. 작은 사이즈의 샘플루프를 사용하실 경우에는 3. Sample loop loading 을 참조하여 주십시오.

Fittings



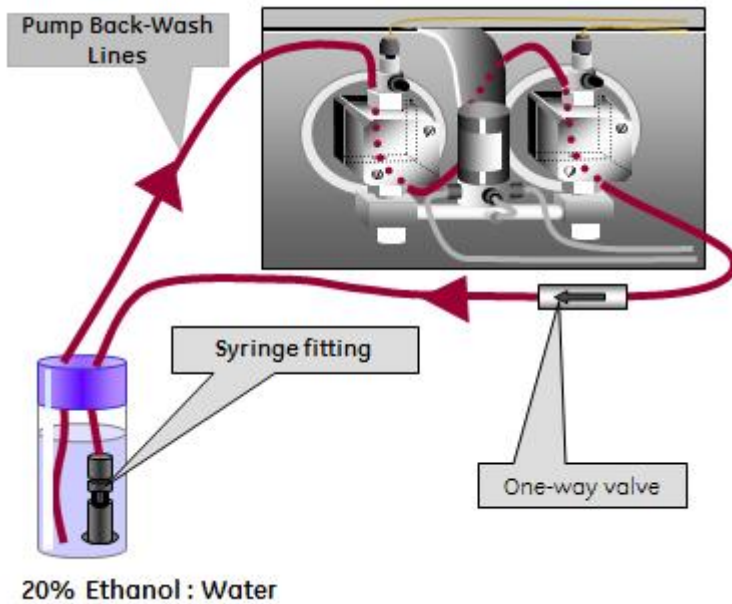
ÄKTA 에 사용되는 Connector 로서 주황색으로 highlight 된 것은 컬럼을 연결하기 위해서 사용되는 connector 입니다.

Maintenance

| System Check Point for AKTA Core System | | | |
|--|--|---|--|
| AKTA Prime | AKTA FPLC | AKTA Purifier & AKTA Explorer | AKTA Pure & AKTA Avant |
| <ul style="list-style-type: none"> - Pump purging - System washing - Pump operation check | <ul style="list-style-type: none"> - Linse line check - Pump washing - Pressure check - On-line filter check - Delay volume check | <ul style="list-style-type: none"> - Linse line check - Pump purging - Pressure check - On-line filter check - Delay volume check - Sample pump purging | <ul style="list-style-type: none"> - Linse line check - Pump purging - Pressure check - On-line filter check in Mixer - Q valve line prime (Avant) - Loop line wash (Pure) |

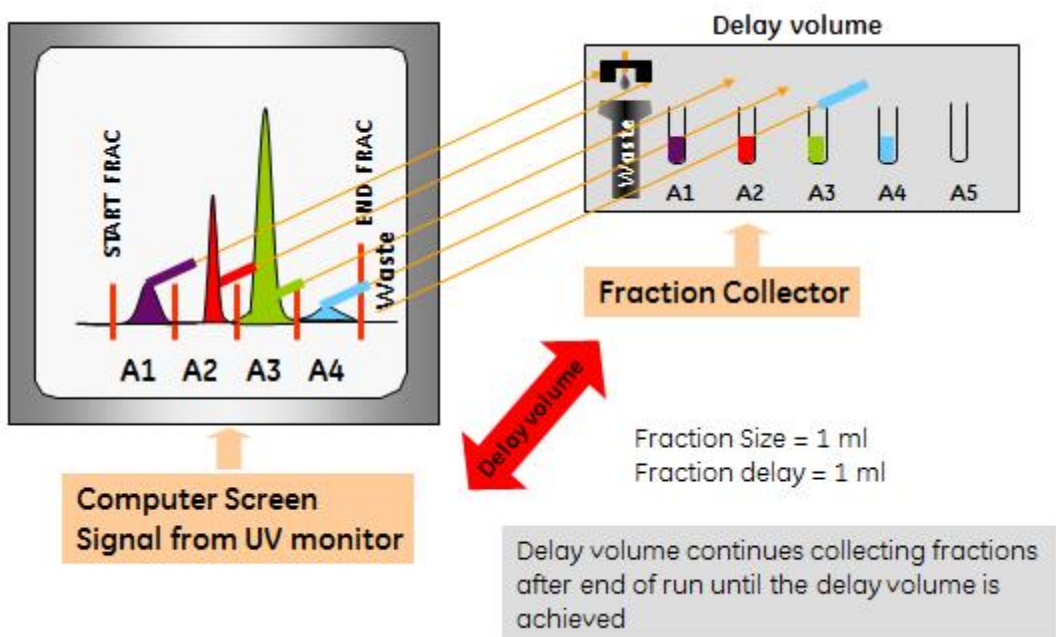
장비를 잘 사용하기 위해서는 적절한 유지관리 보수가 필요합니다. 이에 대해서 놓치기 쉬운 기본적인 유지보수에 대한 부분을 다루어 보도록 하겠습니다.

1. BACKWASH



Basic operation 에서 Pump wash 에 대한 부분을 설명을 드렸던 것과 같이 Piston pump 의 헤드는 Diaphragm 과 Piston seal 로 나누어진 두 개의 공간으로 구분되어 있습니다. 이 중에서 Backwash line 은 Piston 이 움직일 때의 마찰을 줄여주고 발생하는 열을 식혀주는 역할을 하는 Backwash 로 일반적으로는 20% 에탄올을 사용을 하고 있습니다. 이 부분은 계속적으로 소모되는 버퍼와는 달리 recirculation 을 시키기 때문에 주의를 놓치기 쉽지만 에탄올은 휘발성이 있어 날라가기 때문에 일정 주기마다 갈아주는 것을 추천합니다. 메뉴얼 상으로는 일주일에 한 번 정도씩 갈아주는 것을 추천하고 있으며 적어도 2 주에 한번은 갈아주시는 것이 좋고 곁들여서 일정 수위가 변동이 있다면 펌프 내의 seal 이 손상되어 버퍼와 backwash 간의 혼입이 되는 경우를 간단하게 체크해 볼 수도 있습니다.

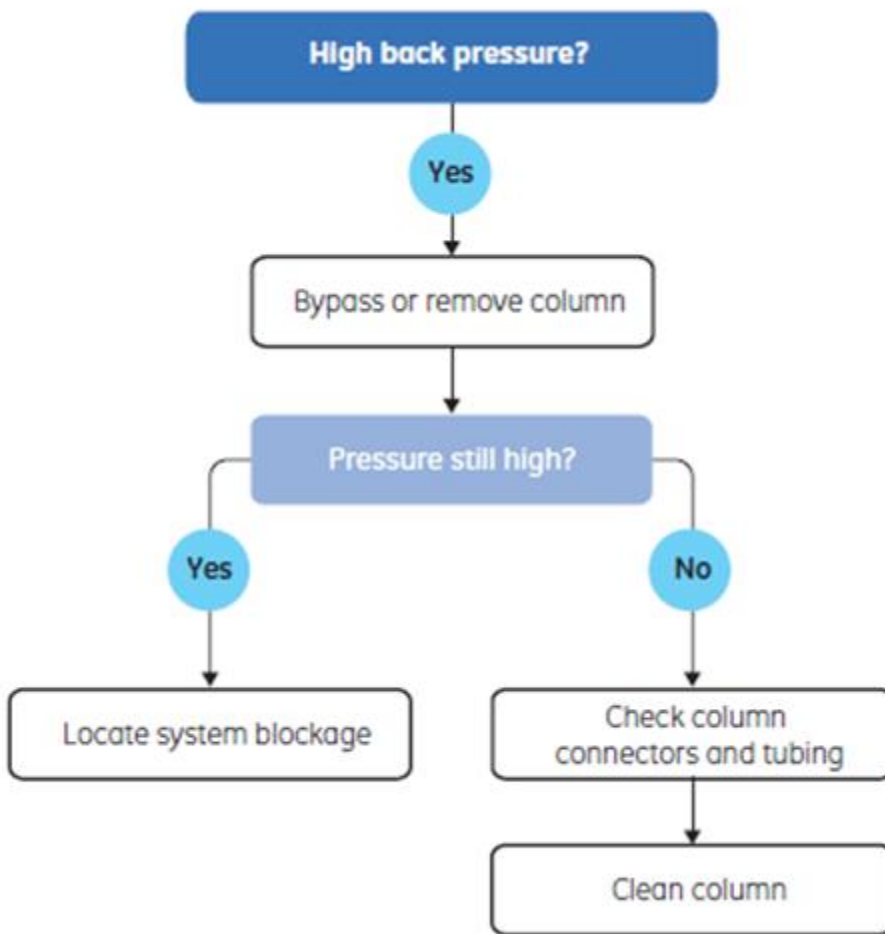
2. DELAY VOLUME



Delay volume 이란 Sample 이 모니터링 되는 순간과 실제 수집되는 사이에서의 간극을 의미하며 만일 모니터에서 검출되는 시점부터 즉시 Sample 을 수집하기 시작한다면 왼쪽 그림에서와 같이

검출되기 이전의 것을 수집하게 되어 실제 Sample 을 잃어버리거나 묶어지는 수가 생기게 됩니다. 보통 초반에 엔지니어에 의해 설치가 되었을 경우에는 엔지니어가 입력을 하지만 혹시나 사용되는 tube 가 변동이 된다던가 하는 경우에는 사용자가 직접 측정을 해주어야 하며 이를 측정하는 방법은 2 가지가 있습니다. 첫번째는 이론적으로 사용되는 tube 의 내경과 길이, 그리고 valve 등에서의 hold volume 등을 더하여 이론적으로 구하는 방법이며, 두번째는 모니터에서부터 수집되는 부분까지 미리 물을 채워 넣고 루어를 사용하여 모니터에서부터 주사기를 통해 공기를 주입하여 수집된 물의 무게 또는 부피를 실질적으로 측정하는 방법이 있습니다. 이렇게 측정된 Delay Volume 은 System control>Options>Special 부분에 입력을 해주시면 됩니다.

3. PRESSURE CHECK



시스템에서 갑자기 기존보다 높은 압력이 걸리게 되면 일단 컬럼을 제거해 봅니다. 컬럼을 제거해서 원상태로 돌아온다면 컬럼 내부에서 문제가 있는 것이므로 컬럼을 청소하거나 교체를 해주어야 합니다. 하지만 컬럼을 제거하였는데도 불구하고 압력이 높게 걸리는 경우에는 유속을 주지 않은 채, 영점을 맞추기 위해 압력센서에 연결된 튜브를 풀어놓은 뒤 Calibration 에서 Pressure Sensor 의 Zero offset 을 해본 뒤 다시 점검을 진행합니다. 유속을 준 상태에서 압력이 높아진다면 1> Online filter 의 오염여부, 2> loop 나 tube 중간이 막힌 곳이 있는 지 (연결부위를 하나하나 풀러 보면서 점검), 3> Flow restrictor 가 막혔는 지 (Flow restrictor 제거 전후 비교)를 점검해볼 수 있습니다.

4. OTHERS

1. pH meter: 상당히 많이 놓치는 부분은 pH meter 를 사용 후 시스템에 그대로 놓아두시는 경우입니다. 시스템에서 사용되는 pH meter 는 일반적으로 버퍼를 만들 때 사용되는 pH meter 와 유사한 것으로 물, 20% 에탄올, 또는 버퍼 등에 장시간 노출이 되면 수명이 줄어드므로 사용하지 않을 경우에는 pH meter 를 시스템에서 분리 후, dummy 를 끼워 놓고 따로 전극보관용액에 보관하는 것이 좋으며, 정확한 측정을 위해서는 매일 사용 전 Calibration 을 수행해야 합니다.
2. Storage: 사용 후에는 CIP 용액이나 물로 세척 후, 하루 이상 사용하지 않을 경우, 20% 에탄올로 채워 두시거나 장기보관시에는 버퍼를 비워 시스템을 건조시켜 보관하시는 것이 좋습니다.