

 <b>LYCEE SAINT-PAUL IV</b>	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 012
	<b>AKTA PRIME PLUS</b>	Version : 1
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 29/10/2013
		Mise à jour AQ : 02/09/2014
		Page : 1/4

**L'annexe I** présente les différentes parties de l'AKTA Prime Plus.

### 1. **Mise en route de l'AKTA Prime plus :**

1.1. Brancher l'alimentation de l'AKTA PRIME PLUS.

1.2. Appuyer sur le bouton ON/OFF à l'arrière de l'appareil et à l'écran défilent les informations suivantes :

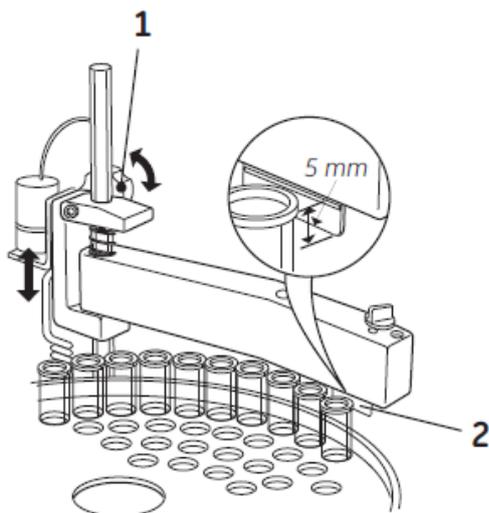
« **Self Test** », « **AKTA prime V3.02** », « **adjusting** », « **calibration** », « **templates** ».

1.3. Vérifier que la lampe du détecteur UV est allumée. Pour cela aller, avec les flèches du haut et du bas, dans le menu « **Set Parameters** » puis « **Lamp on** ».

1.4. Régler la longueur d'onde désirée (280 nm ou 254 nm) avec le bouton situé vers la chambre de mesure UV.

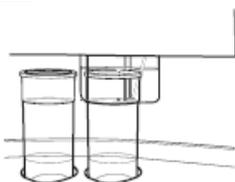
1.5. Mettre les tubes dans le collecteur de fractions en suivant la spirale de l'extérieur vers l'intérieur (au moins 40 tubes)

1.6. Positionner le bras du collecteur contre les premiers tubes. Régler la hauteur du bras du collecteur en utilisant le verrou (1, **figure 1**) de sorte que le bas du capteur de tube (2, **figure 1**) se trouve à environ 5 mm du haut des tubes. Les tubes doivent toujours être placés sous la marque horizontale située sur le capteur de tube.



**Figure 1** : Réglage du bras du collecteur de fraction

1.6. Faire tourner le support à la main jusqu'à ce que la moitié arrière du capteur de tube repose sur le premier tube (**figure 2**).



**Figure 2** : Positionnement initial du capteur de tube

1.7. Appuyer sur **feed tube**. La cuve se déplace dans la position correcte pour récupérer la première fraction.

1.8. Vérifier la synchronisation des gouttes : « **Set Parameters** » : « **Set Drop sync Active (yes)** » ;

1.9. Vérifier que le volume délivré par le bras collecteur dans les tubes est correct (par défaut il est égal à 650 µL). Pour cela aller dans « **Sets Parameters** » puis dans « **Setup and calibration** » et enfin dans « **Set Delay UV to Frac** » et choisir le volume désiré avec les flèches haut et bas.

1.10. Orienter le bouton au dessus du bras du collecteur vers la taille des tubes désirée.

Attendre au moins 15 minutes pour que la lampe se préchauffe avant de lancer une analyse.

Rédigé par : Mme. GERBELOT Date : 29/07/2013	Vérifié par : M.GENSSE Date : 28/10/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
---	---	---

 <b>LYCEE SAINT-PAUL IV</b>	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 012
	<b>AKTA PRIME PLUS</b>	Version : 1
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 29/10/2013
		Mise à jour AQ : 02/09/2014
		Page : 2/4

## **2. Lavage de l'éthanol présent dans le circuit chromatographique:**

- 2.1. Immerger les deux tubes permettant le pompage de tampon dans de l'eau distillée filtrée.
- 2.2. Relier les trois sorties de chromatographie à un récipient de récupération de déchet (et non au collecteur de fractions).
- 2.3. A partir du menu « Templates » appuyer sur « OK ».  
L'indication « Application Template » s'affiche ; appuyer sur « OK ». Appuyer une fois sur la flèche du haut pour faire apparaître « System watch method ». Appuyer alors sur « OK ».  
Appuyer sur la flèche du bas jusqu'à placer le curseur sous « OK » à l'écran. Puis appuyer sur le bouton « OK ».  
L'indication « Press ok to start run » s'affiche. Appuyer sur le bouton «OK».

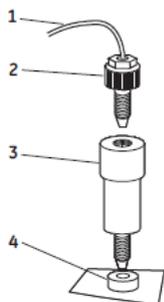
*Remarque* : Pour le lavage l'ordinateur n'a pas besoin d'être connecté au système chromatographique.

## **3. Connexion au logiciel PrimeView :**

- 3.1. Connecter l'ordinateur à l'AKTA.
- 3.2. Ouvrir le logiciel PrimeView.
- 3.3. Vérifier que la mention « Controlled by : prime » apparaisse dans le coin au bas à droite de l'écran. Cette mention atteste de la connexion entre l'ordinateur et l'AKTA.
- 3.3. Augmenter la largeur de la fenêtre d'acquisition en tirant avec le curseur sur son extrémité basse.
- 3.4. Cliquer sur le paramètre désiré en couleur en haut de la fenêtre d'acquisition pour le suivre.

## **4. Réalisation de la chromatographie depuis une méthode déjà enregistrée**

- 4.1. Insérer les tubes de pompes dans les tampons adéquats. La tubulure A1 doit plonger dans le tampon de fixation et la tubulure B dans le tampon d'élution.
- 4.2. Fixer la colonne en la vissant d'abord sur son support puis en insérant le tube vert 1 de la vanne d'injection dans l'adaptateur noir. Visser l'adaptateur noir à la colonne à son extrémité rouge (**figure 3**).



**Figure 3** : Connexion de la colonne au système AKTA

N°	Description	N°	Description
1	Depuis la vanne d'injection	3	Colonne HisTrap
2	Connecteur mâle 1/16"	4	Chambre de mesure UV

- 4.3. Placer dans le conteneur de déchets les trois capillaires de déchets marrons en provenance des ports 4 et 5 sur la vanne et le port d'injection NO dans la vanne du collecteur de fractions.
- 4.4. Remplir la seringue avec 2,5 ml d'eau déminéralisée ou de tampon de fixation (5 fois le volume de la boucle d'injection). Injecter avec précaution. Cette étape sert à nettoyer la boucle d'injection.
- 4.5. Remplir la seringue avec 1 mL de l'échantillon. Injecter dans la boucle d'injection. Ne pas retirer la seringue pour éviter l'infiltration d'air dans le circuit.
- 4.6. Sélectionner une méthode déjà existante (pour cela, à partir du menu « Templates » appuyer sur le bouton OK. La mention « Application Template » apparaît à l'écran. Appuyer sur « OK » et utiliser les flèches « haut » et « bas » pour

Rédigé par : Mme. GERBELOT Date : 29/07/2013	Vérifié par : M.GENSSE Date : 28/10/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
---	---	---

 <b>LYCEE SAINT-PAUL IV</b>	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 012
	<b>AKTA PRIME PLUS</b>	Version : 1
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 29/10/2013
		Mise à jour AQ : 02/09/2014
		Page : 3/4

se positionner sur la méthode désirée) ou créer une méthode (à partir du menu « Templates » aller dans « Methode Template »).

4.7. Appuyer sur le bouton « OK » pour lancer la chromatographie (la mention « Press OK to start run » devait être à l'écran).

4.8. Lorsque l'analyse est finie, la mention « **Method complete** » apparait à l'écran. Appuyer sur « **OK** ».

4.9. Retirer la seringue contenant l'échantillon ainsi que la colonne.

4.10 . Enregistrer le fichier informatique.

Remarque 1 : Pour suspendre temporairement la chromatographie (en cas de problèmes) appuyer sur le bouton « Pause » puis sur ce même bouton pour la relancer.

Pour arrêter définitivement la chromatographie, appuyer sur le bouton « End ».

## **5. Traitement des résultats :**

5.1. Ouvrir le logiciel « prime view evaluation » puis ouvrir votre fichier.

5.2. Faire un clic droit sur votre fichier. Aller dans « poprieties » et choisir les paramètres que vous voulez suivre.

5.3. Une intégration de la surface des pics peut être faite. Pour cela se référer au manuel d'utilisation.

## **6. Cycle de lavage à faire OBLIGATOIREMENT après le passage du dernier échantillon (maintenance).**

6.1. Injecter à la seringue cinq fois le volume de la boucle (500 µL \* 5) en eau distillée.

6.1. Faire un cycle de lavage avec de l'eau à la place des tampons à partir du menu « **Templates** » : « **Application Template** » : « **system watch method** ».

6.2. Faire un cycle de lavage avec de l'éthanol à 20% à la place des tampons à partir du même menu « **system watch method** ».

6.3. Eteindre l'appareil au dos et débrancher le système d'alimentation.

Rédigé par : Mme. GERBELOT Date : 29/07/2013	Vérifié par : M.GENSSE Date : 28/10/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
---	---	---

 <b>LYCEE SAINT-PAUL IV</b>	<b>PROCEDURE</b>	Pr Bioch Ma 012
	<b>AKTA PRIME PLUS</b>	Version : 1
		Date de 1 <sup>ère</sup> mise en circulation : Version de travail 29/10/2013
		Mise à jour AQ : 02/09/2014
		Page : 4/4

**Annexe I :** Positionnement des différentes parties de l'AKTA Prime Plus

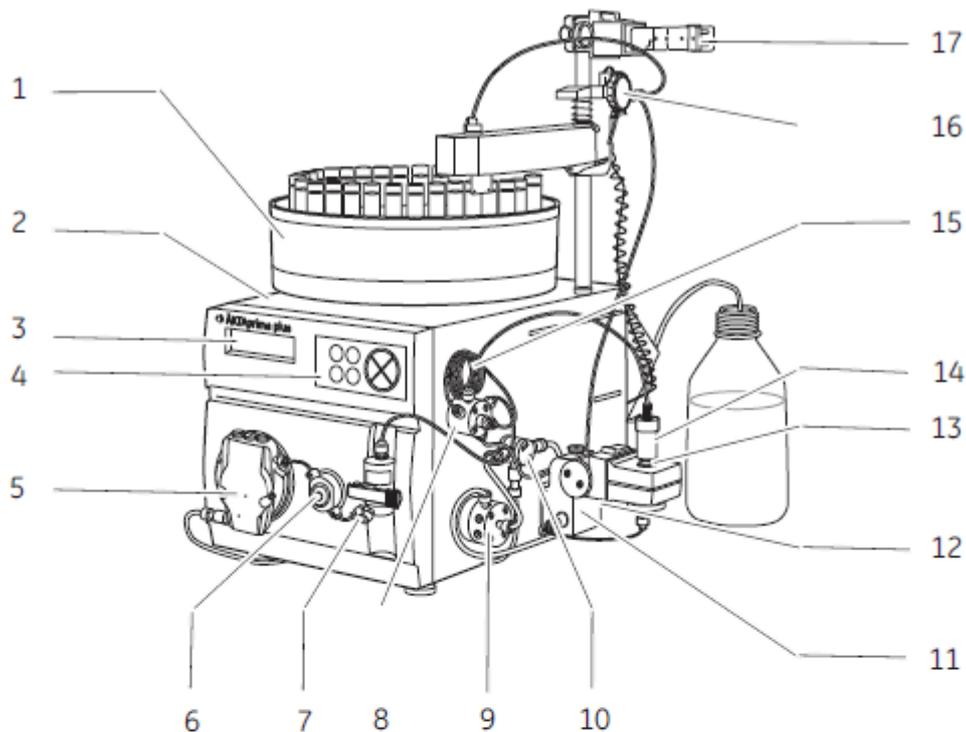


Figure 1.1: Pièces principales de l'instrument.

Pièce	Fonction	Pièce	Fonction
1	Collecteur de fractions	10	Vanne de commutation
2	Moniteur et contrôleur	11	Cellule de conductivité
3	Ecran ACL	12	Limiteur de débit
4	Boutons-poussoirs	13	Chambre de mesure UV
5	Pompe	14	Colonne
6	Capteur de pression	15	Boucle d'échantillonnage
7	Mélangeur	16	Vanne de retour
8	Vanne d'injection	17	Support de colonne
9	Vanne de tampon		

Rédigé par : Mme. GERBELOT Date : 29/07/2013	Vérifié par : M.GENSSE Date : 28/10/2013	Approuvé par : P.LAMAUVE Date : 01/09/2014
---	---	---