



**HiTrap Fibro Prisma、HiScreen Fibro Prisma
ご使用前にご覧ください**

Cytiva.com

本紙は HiTrap Fibro PrismA および HiScreen Fibro PrismA をより快適にお使いいただくためのポイントをお知らせするものです。実際の手順の詳細につきましては [HiTrap Fibro PrismA HiScreen Fibro PrismA instructions](#) を、ÄKTA™ での操作に関してはそれぞれのマニュアルをご参照ください。

基本仕様

	HiTrap Fibro PrismA	HiScreen Fibro PrismA
		
Technique	Affinity	
Matrix volume (MV)	0.4 mL	3.75 mL
Max pre-column pressure (Housing pressure limit)	1 MPa (10 bar)	
Max delta-column pressure (Max operating pressure)	1 MPa (10 bar)	
Default flow rate	≤ 16 mL/min	≤ 30 mL/min
レジデンスタイム (推奨流速時)	1.5 sec	7.5 sec
接続部	1/16" メス	5/16" メス
基材	セルロースファイバー	
保存液	20% Ethanol	

<保存条件>

本製品は使用后 20%エタノールに置換し、2-8 °Cの温度で保管してください。

<接続に必要なアクセサリ>

HiTrap Fibro

Fingertight connector, 1/16" male 10 個入り
製品コード：18111255



<p>PEEK Tubing, 2 m, i.d. 1.0 mm, o.d. 1/16" 製品コード : 18111583</p>	
---	---

HiScreen Fibro

<p>Connector 1/16" male 10 個入り 製品コード : 18112707</p>	
<p>Ferrules, 1/16" (青) 10 個入り 製品コード : 18112706</p>	
<p>PEEK Tubing, 2 m, i.d. 1.0 mm, o.d. 1/16" 製品コード : 18111583</p>	

<使用するシステム>

HiTrap Fibro

ÄKTA pure 25/ÄKTA avant 25 を推奨します。

ÄKTA pure 150/ÄKTA avant 150 は使用可能です。

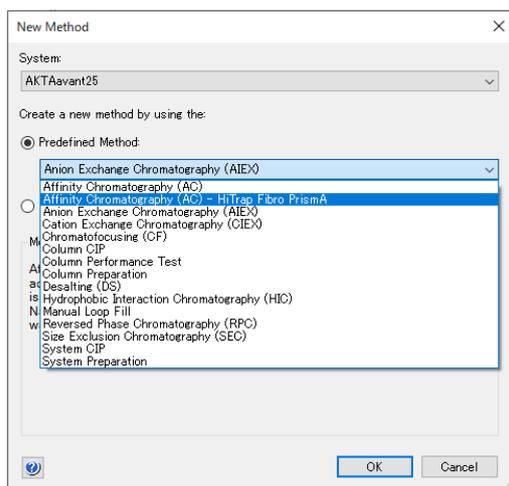
HiScreen Fibro

ÄKTA pure 150/ÄKTA avant 150 を推奨します。ÄKTA pilot 600 は使用可能です。

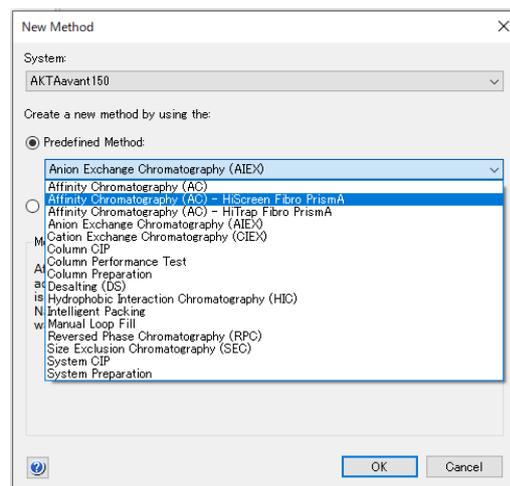
UNICORN のコンフィギュレーションファイルを最新版へアップデートすることにより、Fibro 用の Predefined method がプリセットされます。

コンフィギュレーションファイルのアップデートの仕方は各 ÄKTA シリーズの「はじめてお使いの方へ」マニュアルを参照ください。

Avant25 の場合



Avant150 の場合



<Fibro シリーズ特有の留意点>

- ◇ 超純水など低電気伝導度の溶液の送液により、ベースマトリックスであるファイバーが可逆的に膨潤し、圧力が上がりやすくなります。そのため超純水を送液する場合には、推奨流速の半分程度を目安に流速を下げて使ってください。溶出や Strip 用のバッファーには、 ≤ 5 mM NaCl を加えることでこの現象を回避することができます。
- ◇ 極めて高流速で運転できる特性を活かすために、ハードウェアもしくはメソッドの設定変更をお勧めする点は下記となります。
- ✓ pH バルブがあるシステムを使う場合には、メソッド上でフローリストリクターFR902 をバイパスの状態を設定します。pH バルブがない場合には、フローリストリクターを流路から取り外します。
- ✓ グラジエント溶出ししない場合には、システムのみキサーを一時的に取り外してください。
- ✓ System wash や pump wash, priming などの動作をメソッドから外します。そのために、ラインのプライミングやカラムの平衡化をメソッド開始前に手動で実施します。
- ✓ A 側に開始バッファーと CIP 溶液、B 側に溶出バッファーを置いてください。低 pH の溶出バッファーと CIP 用の NaOH 溶液が混合すると温度が上昇してしまいます。メソッド上では system wash が省かれているため、これにより高 pH の CIP 溶液は開始バッファーのあとに送液されることになり、カラムの中で低 pH と高 pH の溶液が混合することを避けることができます。
- ✓ Method settings フェーズにおいて、Noise reduction UV の averaging time を 0.2 sec に変更してください。
- ✓ 溶出時にピーク分取をする場合には、Minimum Peak width を 0.025 min のように小さい値に変更してください。
- ◇ システム接続時に drop to drop 接続する必要はありません。エアが混入しても品質に問題はなく、送液により簡単にエアは抜くことができます。
- ◇ HiTrap Fibro は他の Fibro 製品と比較して溶出ボリュームが大きくなる傾向があります。

Peak Fractionation Settings

Mode: Level

Start level: 20.000 mAu [-6000.000 - 6000.000]

End level: 100.000 mAu [-6000.000 - 6000.000]

Start slope: 100.000 mAu/min [0.010 - 10000.00]

End slope: 75.000 mAu/min [0.010 - 10000.00]

Minimum peak width:

Column default 0.150 min

User defined 0.025 min [0.025 - 1500.000]

OK Cancel

<CIP>

Fibro PrismA は高アルカリ耐性の改変型 rProtein A をリガンドとしているため、0.5~1.0 M の NaOH を CIP に使うことができ、必要な場合には 1.5~2 M NaOH も使用可能です。NaOH の濃度および接触時間は至適化が必要です。CIP は毎サイクル事に実施することを推奨します。

<HiTrap Fibro PrismA のメソッド例>

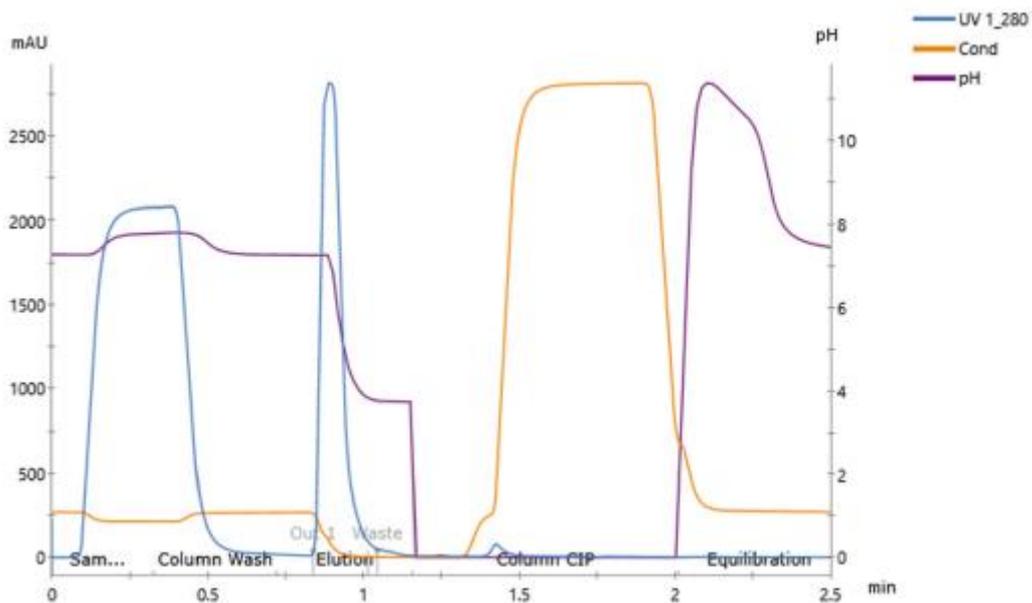
ここでは下記設定で HiTrap Fibro PrismA を使う前提でのメソッドを説明します。

使用システム：ÄKTA avant 25

インレット	バッファー	バッファーの組成の代表例
A1	開始バッファー	20 mM Sodium phosphate, 0.15 M NaCl, pH 7.4
A2	CIP 溶液	0.5~1.0 M NaOH
A3	サンプルロード後の洗浄 バッファー	中性のバッファーに 0.5~1M の NaCl が加わったもの 20 mM Sodium phosphate, 0.5~1.0 M NaCl, pH7.0 もしくは 溶出バッファーと組成は同じで pH が高いもの 50 mM sodium acetate pH5.5~6.0
B1	溶出バッファー	50~100 mM Sodium acetate, pH3.0~3.6

※コンフィギュレーションファイルを最新版に update し、HiTrap Fibro の predefined メソッドを選択した場合を中心に説明します。コンフィギュレーションファイルをアップデートしない場合には、アフィニティークロマトグラフィーの predefined メソッドを選択し、適宜編集してください。

このメソッドを実施した場合の典型的なクロマトグラムは下記ようになります。



Method Settings

Column selection

Show by technique **Affinity**

Column type **Any**

Show only suggested columns Column Properties...

Column volume **0.400** ml

Pressure limit pre-column **1.00** MPa [0.02 - 20.00]

Pressure limit delta-column **1.00** MPa [0.02 - 20.00]

Use flow restrictor

Column position **By-pass**

Flow rate **16.000** ml/min [0.000 - 25.000]

Control the flow to avoid overpressure

Use manually prepared buffers

Inlet A **A1** Inlet B **B1**

Use BufferPro (automatic buffer preparation)

Recipe **Acetate 0-1M NaCl - (pH 3.8-5.4, PD)**

BufferPro Properties...

pH **4.6** [3.8 - 5.4] (recommended)

Conc **0.050** M [0.050 - 0.100]

Unit selection

Method Base Unit **Volume**

Flow Rate Unit **ml/min**

Monitor settings

Wavelengths [190 - 700] nm

UV 1 **280** nm

UV 2 **254** nm

UV 3 **214** nm

Enable pH monitoring

Enable air sensor alarm

Inlet A

Inlet B

Sample inlet

Column Logbook

Enable logging of

Column Performance Test

CIP

- ✓ 本メソッドは volume ベースになっています。
- ✓ コンフィギュレーションファイルをアップデートしない場合には、アフィニティークロマトグラフィーの predefined メソッドを選択し、左のようにカラムボリューム、耐圧、流速、フローリストラクター（バイパス）を設定してください。
- ✓ text instructions タブより、UV averaging time(sec)を 0.2 に変更します。

0.00 Noise reduction UV: (0.2)#UV averaging time (sec)

Equilibration

Reset UV monitor (recommended if the equilibration occurs before the purification).

Use the same flow rate as in Method Settings Use the same inlets as in Method Settings

Flow rate **16.000** ml/min [0.000 - 25.000]

Inlet A **A1**

Inlet B **B1** **0.0** % B [0.0 - 100.0]

Fill the system with the selected buffer

Equilibrate until

the total volume is **6.00** ml

the following condition is met

Conductivity greater than

Conductivity greater than **0.00** mS/cm [0.00 - 1000.00]

Accepted pH fluctuation **0.10** [0.00 - 14.00]

Accepted UV fluctuation **0.10** mAU [0.00 - 6000.00]

Accepted conductivity fluctuation **0.10** mS/cm [0.00 - 300.00]

Signal stable for **1.00** min [0.02 - 1000.00]

Maximum equilibration volume **4.00** ml

- ✓ 平衡化は 6ml に設定します。
- ✓ Fill the system のチェックボックスは外します。

Sample Application

Use the same flow rate as in Method Settings
Flow rate ml/min [0.000 - 50.000]

Inject sample from loop
 Inject sample directly onto column

Sample inlet

Inject fixed sample volume ml
 Inject all sample using air sensor
 Set maximum volume to ml
 Finalize sample injection ml

Wash sample pump with buffer
 Prime sample inlet with ml
 Wash sample pump with buffer after sample application

Interrupt sample application at UV mAU [-6000.0 - 6000.0]

Fractionate

in waste (do not collect)
 using outlet valve
 using fraction collector
Fraction collector 1

Fractionation settings

Fractionation type
Fractionation destination
Peak fractionation destination
Fixed fractionation volume ml [0.01 - 20000.00]
Peak fractionation volume ml [0.01 - 20000.00]

- ✓ サンプル量に応じて、ループでの添加、ダイレクトロードを使い分けて下さい。
- ✓ フラクションコレクターの設定を適宜行います。

Fibro Unit Wash

Use the same flow rate as in Method Settings
Flow rate ml/min [0.000 - 25.000]

Use the same inlets as in Method Settings
Inlet A
Inlet B % B [0.0 - 100.0]
 Fill the system with the selected buffer

Wash until

the total volume is ml
 the following condition is met

Stable UV mAU [-6000.0 - 6000.0]
UV less than mAU [-6000.0 - 6000.0]
Stability time min [0.02 - 1000.00]
Accepted UV fluctuation mAU [0.00 - 6000.00]
Maximum wash volume ml

- ✓ 続いてロード後の洗浄バッファを 6 ml 送液します（ロード後の洗浄バッファが A3 にある設計ですが、開始バッファで洗浄する場合には A1 となります）。
- ✓ Fill the system のチェックボックスは外します。
- ✓ フラクションコレクターの設定を適宜行います。

Elution

Use the same flow rate as in Method Settings Use the same inlets as in Method Settings
 Flow rate: ml/min [0.000 - 25.000] Inlet A: Inlet B:

Up flow

Isocratic elution
 Volume: ml % B [0.0 - 100.0] Fill the system with the selected buffer

Gradient elution
 Start at: % B [0.0 - 100.0] Fill the system with the selected buffer

Type	Target %B (0-100)	Length (ml)
1 Step with fill	100.0	2.00

Note: A gradient delay is automatically added, provided that the last gradient segment is linear

Fractionate: in waste (do not collect) using outlet valve using fraction collector

Fractionation settings:
 Fractionation type:
 Fractionation destination:
 Peak fractionation destination:
 Fixed fractionation volume: ml [0.01 - 20000.00]
 Peak fractionation volume: ml [0.01 - 20000.00]

Start fractionation after ml (only for isocratic elution)

- ✓ Isocratic elution を選択し、溶出バッファーを 6 ml 送液します。
- ✓ Fill the system のチェックボックスは外します。
- ✓ 溶出時にピーク分取をする場合には、Peak Frac Settings ボタンより、Minimum Peak width を 0.025 min のように小さい値に変更してください。

Fibro Unit CIP

CIP solution note	Inlet A	Inlet B	%B (0-100)	Linear gradient	Fill System	Volume (ml)	Flow Rate (0-25) ml/min	Flow direction	Outlet	Incubation time (min)
1 0.5-1.0 M NaOH	A2	B1	0.0	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	8.00	8.000	Down flow	Out-Waste	0.00
2 Equilibration buffer	A1	B1	0.0	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	6.00	8.000	Down flow	Out-Waste	0.00

- ✓ NaOH 溶液を 8 ml、つづいて開始バッファーを 6 ml 送液します。

Re Equilibration	
<input type="checkbox"/> Reset UV monitor (recommended if the equilibration occurs before the purification).	
<input checked="" type="checkbox"/> Use the same flow rate as in Method Settings Flow rate <input type="text" value="16.000"/> ml/min [0.000 - 25.000]	<input checked="" type="checkbox"/> Use the same inlets as in Method Settings Inlet A <input type="text" value="A1"/> Inlet B <input type="text" value="B1"/> <input type="text" value="0.0"/> % B [0.0 - 100.0]
<input type="checkbox"/> <u>Fill the system with the selected buffer</u>	
Equilibrate until <input checked="" type="radio"/> the total volume is <input type="text" value="10.00"/> ml <input type="radio"/> the following condition is met	
Conductivity greater than <input type="text" value="0.00"/> mS/cm [0.00 - 1000.00]	
Accepted pH fluctuation <input type="text" value="0.10"/> [0.00 - 14.00]	
Accepted UV fluctuation <input type="text" value="0.10"/> mAU [0.00 - 6000.00]	
Accepted conductivity fluctuation <input type="text" value="0.10"/> mS/cm [0.00 - 300.00]	
Signal stable for <input type="text" value="1.00"/> min [0.02 - 1000.00]	
Maximum equilibration volume <input type="text" value="4.00"/> ml	

- ✓ 開始バッファを 10 ml 送液します。
- ✓ Fill the system のチェックボックスは外します。

ÄKTA avant/pure 150 および HiScreen Fibro Prisma を用いる場合には下記のように各フェーズの流速と体積を変更します。

Phase	HiTrap Fibro Prisma ÄKTA avant/pure 25		HiTrap Fibro Prisma ÄKTA avant/pure 150		HiScreen Fibro Prisma ÄKTA avant/pure 150	
	Volume (mL)	Flow rate (mL/min)	Volume (mL)	Flow rate (mL/min)	Volume (mV)	Flow rate (mL/min)
Equilibration	6	16	8	16	6	30
Wash	6	16	8	16	6	30
Elution	6	16	8	16	6	30
CIP	8	8 or 16 ¹	8	8 or 16 ¹	4	15 or 30 ¹
Wash	6	8 or 16 ¹	6	8 or 16 ¹	2	15 or 30 ¹
Re-equilibration	10	16	22	16	10	30

¹ Depending on 1 or 0.5 min CIP.

Cytiva (サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社
〒169-0073

東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL：03-5331-9336 FAX：03-5331-9370

e-mail：Tech-JP@cytiva.com



Intertek
ISO 9001:2015
認証取得