

ÄKTA avant 25 ÄKTA avant 150 はじめてお使いの方へ (UNICORN 7.5 以降向け)



1、はじめに	4
2、起動	14
3、システムの準備	
4、カラムの接続	19
5、インジェクションバルブの準備	
6、フラクションコレクター	
7、メソッドの作成	25
8、メソッドの実行	
9、データ処理	40
10、システムの終了	
11、メンテナンス	50
12、データ管理	51
13、付録	

この資料は、本機のUser Manual およびOperating instructionsを補足する資料です

機器操作の詳細や最新情報は、弊社Global siteよりそれぞれのマニュアルを参照く ださい

(下記の資料番号にて検索いただけます)

•AKTA avant User Manual : 29035184

AKTA avant Operating instructions: 29101556

Global site : https://www.cytivalifesciences.com/ja/jp

誤った取扱いをした場合に生じる危険や損害の程度を、 次の区分で説明しています。

Δ		誤った取扱いをした場合に、死
	螫牛	亡や重傷を負う可能性がある
\frown		もの。
Δ		誤った取扱いをした場合に、傷
	注意	害または物的損害が発生する
\frown		可能性があるもの。
^		
	堃生	
\bigcirc	電源プラグ	の抜き差しにより、運転を停止
\bigcirc	しない	
禁止	火災·感電	の原因になります。
	電源コード	・電源プラグを傷つけない
\wedge	●加工しな	ない ●束ねない ●ねじらない
\bigcirc	●折らない	●物をのせない ●加熱しない
禁止	●無理に曲	ョげない
	破損して火	災・感電の原因になります。
	電源プラグ	のほこりを取り除き、刃の根元
U	まで確実に	差込む
根元まで	接続が不十	-分だと、隙間にほこりが付着して
差込む	火災·感電	の原因になります。
\langle	★ /+をずに	つけたり せたかけたりしたい
\bigcirc		シのたり、小をかりたりしない
禁止	ショート・感	电の原因になります。
\frown	使用時や使	使用直後(運転停止後約 60 分
\sim	間)は、操	作に関係のない部位には触れ
本止	ない	
赤ഥ	高温部に触	れ、やけどの原因になります。
$\overline{\bigcirc}$	同梱の電源	原コード・電源プラグ以外のコー
$\mathbf{\nabla}$	ド・プラグを	使用しない
禁止	故障・火災	・感電の原因になります。

必ずお守りください

弊社機器に関する一般的な注意事項を記載しています。 取扱いの詳細は必ず製品添付の使用説明書をご覧ください。

図記号の意味は次の通りです



してはいけない「禁止」を示します。

必ず実行していただく「強制」を示します。

\bigcirc	
禁止	

電源コードを途中で接続しない、タコ足配 線をしない 火災・感電・故障の原因になります。



修理・分解・改造はしない 火災・感電の原因になります。

	取扱説明書に指定された規格のコンセント
U	を使用する
指定の	指定された規格以外で使用すると火災・感
規格	電の原因になります。
\bigcirc	電源コードや電源プラグが傷んでいる、コン
\heartsuit	セントの差し込みがゆるいときは使わない
禁止	感電・ショート・発火の原因になります。
-	
	異常時は、運転を停止して電源プラグを抜
0	異常時は、運転を停止して電源プラグを抜 く
り プラグを	異常時は、運転を停止して電源プラグを抜 く 異常のまま運転を続けると火災・感電の原因
り プラグを 抜く	異常時は、運転を停止して電源プラグを抜く く 異常のまま運転を続けると火災・感電の原因 になります。
り プラグを 抜く	異常時は、運転を停止して電源プラグを抜 く 異常のまま運転を続けると火災・感電の原因 になります。 同梱の電源コード・電源プラグを他の電気
リ プラグを 抜く	 異常時は、運転を停止して電源プラグを抜く 異常のまま運転を続けると火災・感電の原因になります。 同梱の電源コード・電源プラグを他の電気 機器に使用しない



設置時は、次のような場所には置かない

●不安定な場所
 ●湿気やほこりの多い場
 所
 ●油煙や湯気が当たる場所
 ●直射日
 光の当たる場所
 ●風雨のあたる場所
 ●
 熱器具の近く
 ●高温になる場所
 ●吸・排
 気口をふさぐような場所
 このような場所に置くと、ショートや発熱、電

源コードの被膜が溶けるなどして、火災や感 電、故障、変形の原因になることがありま す。



ぬれた手で電源プラグを抜き差ししない 感電の原因になります。

日 水平	水平で丈夫な場所に設置する
	電源プラグを持ってまっすぐ引き抜く
U	ななめに引き抜いたり、コードを持って抜くと、
プラグを	プラグの刃や芯線が破損してショート・感電・
持つ	発火の原因になります。



電源を

入れる

低温室で使用する場合の注意

装置を低温環境下でご使用になる場合、 システム電源は常時入れておく 低温環境下で長時間システムの電源を落と した状態で放置すると、結露などにより故障 の原因になります。ランプなどの消耗品は

OFF にしておくと、劣化を防ぐことができます。



装置を低温室から常温の場所に移動させる 場合、常温に設置後、装置内の結露が無く なるまでシステム電源を入れない(状況に より異なるが、通常半日から一昼夜) 感電・漏電火災の原因になります。

掲載されている製品は、試験研究用以外には使用しないでください。

記載されている内容は予告なく変更、修正される場合がありますので、あらかじめご了承ください。

掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

ソフトウェア UNICORN の動作保証は、弊社が納品しインストールしたコンピューターに限ります。他のコンピューターに追加イン ストールする場合にはライセンス契約(有料)が必要となります。

コンピューターに指定以外の外部装置やソフトウェアなどを接続、インストールした場合、動作の保証はいたしかねます。

マニュアル類は、本国(インターナショナル)サイトよりダウンロード可能です。 本国ウェブサイト(英文) www.cytiva.com

<u>1、はじめに</u>

このマニュアルは、はじめて ÄKTA avant 25、ÄKTA avant 150 をお使いになる方への取り扱い説明のために書かれたものです。 より詳しい使用方法は、機器付属の英文マニュアル、ヘルプメニュー、弊社ウェブ Q&A、ÄKTA ユーザークラブ限定サイトなどを ご参照ください。なお、両機種に共通した説明は、ÄKTA avant と略して記載することがあります。

システムの設置状況、コンピューター、コンフィグレーションを含むソフトウェアの設定およびバージョンにより、表記と異なる場合 があります。

製品の仕様は予告なく変更される場合がありますので、あらかじめご了承ください。

<u>1.1、ÄKTA avant 本体の構成</u>







◆ システムポンプ(2 ポンプ、各 2 ヘッド)

ÄKTA avant 25:流速 0.001~25 ml/min、耐圧 20 MPa。 ÄKTA avant 150:流速 0.01~150 ml/min、耐圧 5 MPa。

◆ サンプルポンプ(1 ポンプ、2 ヘッド)

ÄKTA avant 25:流速 0.01~25 ml/min、耐圧 10 MPa。 (コンフィグレーションが 3.0 以降の場合、最大流速は 50 ml/min) ÄKTA avant 150:流速 0.01~150 ml/min、耐圧 5 MPa。

◆ バッファーバルブ (エアーセンサー内蔵)

各ポンプの上流に位置する 8 ポートバルブ。 A インレット: A1~A7、Q バルブ用インレット B インレット: B1~B7、Q バルブ用インレット サンプルインレット: Buffer、S1~S7 (初期ポジションはそれぞれ A1、B1、Buffer) コネクター: 5/16" UNF

◆ Q バルブ

BufferPro 用のインレットバルブ。4 液を混合して、バッファーを自動調製しイオン交換などの pH 条件検討する際に使用します (水系バッファーのみ使用可能)。詳細は英文の Method Manual を参照。

◆ ミキサー

グラジエントの再現性を得るために、ライン中で溶液を混合します。以下は使用流速範囲(目安)です。

ミキサー	ÄKTA avant 25	(1.4 ml 標準)	ÄKTA avant 150	(5 ml 標準)
チャンバー	2 液混合	4 液混合*	2 液混合	4 液混合*
0.6 ml	$0.25{\sim}6{ m ml/min}$	\sim 1 ml/min	-	-
1.4 ml	$1.4\sim$ 14 ml/min	1∼6 ml/min	$1\sim$ 14 ml/min	N/A
5 ml	$5\sim$ 25 ml/min	$6\sim$ 25 ml/min	$5{\sim}50$ ml/min	$2\sim$ 10 ml/min
15 ml	_	_	$15\sim$ 150 ml/min	$10\sim40$ ml/min

* 均一なグラジエントを形成させるために、グラジエントの長さは 10 分以上になるようにします。また ÄKTA avant 25 では 1 ml/min 以上、ÄKTA avant 150 では 2 ml/min 以上の流速で使用します。

◆ オンラインフィルター

バッファー中の不溶物を除去するためのフィルターです。フィルターハウジングは、ミキサーチャン バー出口部分に一体化した構造をしており、フィルターはポリプロペン(ポリプロピレン)製で す。システムポンプのバックプレッシャーが高くなった場合は、新品のフィルター(18102711、 10 枚入り)に交換します。



オンラインフィルター

◆ インジェクションバルブ

4 つのポジションがあるサンプル添加専用バルブです。ポジションを切り換えることにより、チュービングの繋ぎ換えをすることなく、 サンプルループやサンプルポンプからサンプルを添加することができます。

Manual load LoopE Syr Col LoopF W2 SaP V9-Inj	Inject Syr Syr V Col LoopF V9-Inj	System pump Variable Col Syr Col Col LoopF V9-Inj	Sample pump load Syr Syr Col CopF U U CO U U U U U U U U U U U U U U U U
Manual load	■ Inject	System pump waste	
	Sample pump waste	Direct inject	Sample pump load

Manual load

初期ポジション。システムポンプから送液されたバッファーは、直接カラムに流れます。また、シリンジを使用してサンプルをサ ンプルループに充填する際も、このポジションを使用します。

Inject

サンプルループに充填されたサンプルをカラムへ送液するポジション。システムポンプから送液されたバッファーは、サンプルル ープを通ってカラムに流れます。

Sample pump waste

サンプルポンプから送液したバッファーは、廃液ポートに流れます。Pump Wash で Sample inlet を選択した時には、自動的にこのポジションに切り替わります。

System pump waste

システムポンプから送液されたバッファーは、廃液ポートに流れます。Pump Wash で Inlet A、Inlet B、Q Inlet を選択した時には自動的にこのポジションに切り替わりわります。

Direct inject

サンプルポンプから直接サンプルをカラムに添加するポジションです。

Sample pump load

サンプルポンプを使用して、サンプルループ内にサンプルを充填するためのポジションです。

コマンドには固有の役割を持たせているため、物理的ポジションが一緒でも、クロマトグラムの表示が異なることがあります。使 用目的にあわせてコマンドを選択します。

◆ サンプルループ、スーパーループ

インジェクションバルブに接続して使用します。10 µl(18112039)、100 µl(18111398)(以上 25 MPa まで)、500 µl (18111399)、1 ml(18111401)、2 ml(18111402)(以上 10 MPa まで)、5 ml(18114053)(1 MPa まで)の サンプルループがあります。 150 ml までのサンプルを添加する場合は、スーパーループ(オプション)を使用できます。スーパーループは、10 ml (18111381)、50 ml (18111382) (以上 4 MPa まで)、150 ml (18102385、別途コネクター及びチュービングが必要)の3種類があります。



◆ システム配管

以下は、標準配管です。

	ÄKTA avant 25	ÄKTA avant 150
バッファーインレット~ポンプ入口 *1	内径 1.6 mm(透明)	内径 2.9 mm(透明)
ポンプ出口~インジェクションバルブ	内径 0.75 mm(緑)	内径 1.0 mm(ベージュ)
インジェクションバルブ~アウトレットバルブ	内径 0.5 mm(オレンジ)	内径 1.0 mm(ベージュ)
アウトレットバルブ〜フラクションコレクター	内径 0.5 mm(オレンジ)	内径 1.0 mm(ベージュ)

*1) Q バルブインレットについては、システムに関係なく、内径 1.6 mm チュービングを使用します。

低圧カラムを使用する場合や、高流速送液をして、カラム耐圧を越すような場合には、インジェクションバルブより下流の配管 を太めの物へ変更します(ディレイボリュームの設定も変更します)。

内径が細く、低流速で送液し、分離を重視するカラムを使用する場合には、インジェクションバルブよりも下流の配管を細めの 物へ変更します(ディレイボリュームの設定も変更します)。

逆相クロマトグラフィーの場合には、有機溶媒を送液するポンプ(通常は B ポンプ)のアウトレットから圧力センサーまでのチュ ービングを、内径 0.5 mm(オレンジ)に変更します。

◆ 圧力センサー



◆ カラムバルブ

5本までのカラムを並列に接続可能(標準はバイパス)。 順方向(Down Flow、標準)と逆方向(Up Flow)の設定が可能。

◆ UV モニター

波長レンジ 190~700 nm の可変 UV-Vis モニター。 任意の 3 波長同時測定可能。 キセノンフラッシュランプ。 光路長 2 mm セル(2 μl)標準装備。 オプションで0.5 mm(1 μl)、10 mmセル(8 μl)に交換可能。

◆ コンダクティビティーモニター

電気伝導度のオンラインモニタリング。 測定範囲 0.01~999.99 mS/cm。

◆ pH バルブ

実験内容や使用するカラムにより pH フローセルおよび FR-902 の流路切り換えが可能なバルブ。

◆ pH モニター

測定範囲 pH 0~14(直線性は pH 2~12)、0.1 pH 単位で測定可能。 使用時は pH 電極(28954215)を pH バルブのフローセルへ装着。 ※ 電極の最大耐圧は 0.5 MPa です。システム下流に流路を閉塞するなど、背圧が上がるようなことが無いようにご注意ください(FR-902 は pH 電極よりも上流に位置します)。

◆ フローリストリクター FR-902

UV フローセルでの気泡発生によるノイズを防止するためにバックプレッシャーをかけるパーツで、平均
0.2 MPa の圧を発生します。pH バルブの設定により、使用の有無が選択できます。
※ 流速により、別途配管圧が発生します。
※ 目安のシステム圧:1 ml/min で超純水を送液し、0.15~0.25 MPa(常温設置、標準配管の



◆ アウトレットバルブ

場合)

Waste、Frac、Out1~Out10 の 12 ポートを持つバルブ。コネクターは以下の通りです。 ・ÄKTA avant 25(V9-O) :10-32 UNF ・ÄKTA avant 150(V9H-O) :5/16" UNF

◆ フラクションコレクター

本体一体型。分画範囲は ÄKTA avant 25 が 0.1~250 ml、ÄKTA avant 150 が 1~250 ml (使用する試験管やプレートの 種類により、最大分画量が異なります)。

下記のカセットまたはトレイを使用可能(カセットの場合は、6個まで組合せ自由で専用トレイに設置可能)。

·深底プレート用カセット*1(角穴の 24、48 または 96 穴用)

・試験管用カセット*2 (3 ml 用、5 ml 用、8 ml 用、15 ml 用、50 ml 用の5 種類)

・試験管用トレイ*2 (50 ml 用)

・ボトル用トレイ*^{3、4}(250 ml 用)

- *1 使用可能プレート 96 穴 Whatman 7701-5200、
 - Eppendorf 951033405/ 0030 501.306 Falcon 353966 Greiner 780270 Porvair 219009 Seahorse 201240-100(旧:S30009) 48 穴 Whatman 7701-5500 Seahorse 201238-100(旧:S30004)
 - 24 穴 Whatman 7701-5102 Seahorse 201272-100(旧:S30024)

いずれも角穴であること。丸穴や浅底プレートには対応していません。

プレートの詳細はメーカーへお問い合わせください。

*2 試験管サイズ

	直径(最小/最大)	高さ(最小/最大)	使用可能試験管例
3 ml 試験管	10.5 mm / 11.5 mm	50 mm / 56 mm	Nunc
5 ml 試験管	10.5 mm / 12 mm	70 mm / 76 mm	VWR
8 ml 試験管	12 mm / 13.3 mm	96 mm / 102 mm	VWR
15 ml 試験管	16 mm / 17 mm	114 mm / 120 mm	BD
50 ml 試験管	28 mm / 30 mm	110 mm / 116 mm	BD
50 ml 試験官	20111117 3011111		90

試験管の詳細はメーカーへお問い合わせください。

*3 ボトルサイズ

	1 辺/直径(最小/最	高さ(最大)	口径(最小)
	大)		
250 ml ボトル	55 mm / 63.5 mm	121 mm	30 mm

*4 使用可能ボトル

Nalgene 2110-0008

Kautex 303-770531

ボトルの詳細はメーカーへお問い合わせください。

	96 穴	48 穴	24 穴	3 ml	5 ml	8 ml	15 ml	50 ml	250 ml
	プレート	プレート	プレート	試験管	試験管	試験管	試験管	試験管	ボトル
最大流速	10	15	25	15	15	25	40	150	150
(ml/min)									

※ 揮発した有機溶媒がフラクションコレクター庫内へ影響を及ぼすため、内蔵フラクションコレクターでの有機溶媒を用いた分 取精製は出来ません。アウトレットバルブでの回収のみになります。

フラクションコレクター庫内のランプの点灯や消灯を設定することが可能です。

250 ml ボトル

1、 System Control より、 System ↓ Settings をクリックし、 System Settings ダイアログを表示します。

2、Fraction collection \rightarrow Fraction collector lamp を選択します。

······································				
nstructions	Parameters for Fraction	collector lamp		
 Air sensor Fraction collection 	Mode			
Fractionation settings	() On	Ooff		
Cassette configuration Fraction collector lamp Peak frac parameters with	15			
Delay volumes • Watch parameters				
 Advanced Data collection 	~			
<	<mark>> </mark>			
0		Reset to defaults OK	Cancel	
Mode から On、Off	のいずれかを選択し	ます。		
ок ボタンをクリックし	ます。			

フラクションコレクター庫内温度制御設定 フラクションコレクター庫内温度制御設定は System Control より Manual Intruruction で設定します。 **1、Manual** ↓ Execute Manual Instructions をクリックし、Manual Instructions ダイアログを表示します。 2 , Fraction Collection \rightarrow Fraction collector temperature \rightarrow On \rightarrow Target temperature xx°C Execute Manual instructions - System × Selected column type: Select... Parameters for Eraction collector temperature Instructions Instruction execution list Instructions Fraction collection Fractionation Peak fractionation Stop peak fractionation Stop peak fractionation Last tube filled Feed tube Accumulator wash Reset tube type Frac cleaning positi Insert Delete Mode • On OOff [6 - 20] 6 ≎ °C Target temperature cleaning p > Browse... Save result as: Auto update of parameters during run Execute Close 3、一度設定すると変更するまで設定は変わりません。 4、RunDataの Frac temp target で設定温度が確認できます。 Frac temp target 6.0 °C

□ コンフィグレーション

バージョン

◆ ソフトウェアライセンス

UNICORN 7

Workstation	■ あり	
Remote *2	🗆 あり	□ 無し
Dry ^{*2}	🗆 あり	□ 無し
Evaluation Classic ^{*3, 4}	□ あり	□ 無し
Column logbook *4	□ あり	□ 無し
DoE ^{*4、5}	□ あり	□無し
Standalone Evaluation *2	□ あり	□無し

1) Evaluation Classic、Column logbook、DoE ライセンスを含みます。

2) システム制御用コンピューターとは別のコンピューターヘインストールします。インストール時に使用する DVD は、製品に同梱 される DVD を使用します。インストール手順は「Administration and Technical Manual」の 2.1 章「Installation overviews」を ご参照下さい。英文マニュアルの入手方法は本書の付録に記載しています。

3) UNICORN 6の Evaluation モジュールと同等の機能です。UNICORN 7では Standalone Evaluation (UNICORN 7標準の Evaluation モジュール)と同等の機能が標準搭載されています。

4) アドオン機能のため、単独ライセンスでは使用できません。

5) DoE ライセンスには、Evaluation classic ライセンスも含まれます。

◆ ライセンスファイルの取得

ライセンスファイルの取得手順は「Administration and Technical Manual」の 2.3.2 章「Configure an e-license」をご参照下さい。

※ UNICORN 6 もしくは 7 では、ソフトウェアを使用するにあたり、ライセンスファイ ルが必要です。ライセンスを購入されると、アクセスコードが記載された書類もしく は電子メールが届きます。以下 URL ヘアクセスし、書類や電子メールに記載さ れるアクセスコードを入力してログイン、必要事項を入力の上、ライセンスファイル を取得します。

http://www.cytivalifesciences.com/eDelivery

※ ライセンスファイルは、インストールするコンピューターのイーサーネットアドレス (MAC アドレス)と紐付きます。コンピューターのイーサーネットアドレスは、右図 の項目 1 のプルダウンメニューより確認できます。画面は以下手順で表示できま す。

Window の Start ボタンより、「Configure e-License」で検索

	🜔 су	tiva	
	eDe	livery	
	Login		
	With User Name With Activation ID		
	Activation ID		
		Log in	
e-Licens	e Configuration		×
in e-License	e is required to run the software. It is used to authy	ofize your computer with the n e-License:	
1. Select step 2.	and copy your computers Bhernet address (also using the button below. The address will then be	know as MAC address or physical address copied to the clipboard.), which is required in
2. Use th Note: I press t	e link below to access the e-license web. Foll Paste the Ethernet address when invited to do so he activation button and to save the e-license on	ow the instructions on the web page to retr This is required to generate an elicense. a file.	Copy to Clipboard teve an e-license. Also remember to
3. Browse	<u>lifesciences.com/eDelivery</u> e to select the retrieved e-License file. Thereafter,	press "Configure e-License".	
		Conference and a	Browse.

制御用コンピューターの場合、増設デバイス(増設ボードもしくは USB-LAN 変換アダプター)の MAC アドレスを選択します。 ライセンスファイル取得後、同図の右下にある Browse ボタンより取得したファイルを選択し、Configure e-License ボタンをクリッ クします。

購入されたライセンスのコード番号	
購入されたライセンス(製品)名	
登録で使用した MAC アドレス	

購入されたライセンスのコード番号	
購入されたライセンス(製品)名	
登録で使用した MAC アドレス	

◆ 準備するもの

- 🗆 カラム、コネクター類
- □ サンプル
- □ 脱気した超純水(用時調製します)
- □ 精製で使用するバッファー(用時調製します)
- □ 20%エタノール
- □ ディスポーザブルシリンジ(サンプルの液量に合わせた容量)
- □ フラクションコレクター用の試験管・プレート等



2、起動

2.1、システム本体と UNICORN の起動

ÄKTA avant では、少なくとも3口(ラップトップの場合は2口)のコンセントが必要です。システム本体、コンピューター、ディス プレイのソケットをコンセントに接続します。必要に応じ、プリンターや外付けハードディスクドライブ(オプション)のソケットをコン セントに接続します。なお、これらコンセントの一部を OA タップで管理することがあります。

1、ÄKTA avant 本体の左側面にある主電源を入れます。

注意

低温室内で使用する場合、結露防止のため本体の電源は常時通電状態にしますが、コンピューター起動の前に一度主電源を切り、再度電源を入れます。

- 2、コンピューター、ディスプレイ、必要に応じプリンターの主電源を入れます。OS が起動後、デスクトップの UNICORN アイコンをダブルクリックして起動します。
- ※ デスクトップにある MadCap HelpView アイコンは、UNICORN のヘルプを表示するためのソフトウェアです。 ヘルプ内容を表示させる場合は、UNICORN のヘルプメニューから実行します。
 - Log On Use Windows Authentication User Name: Default Password: Access Group: Administrators ? Cancel Options >> UNICORN Log On Use Windows Authentication User Name: Default Password: Access Group: Administrators Administration System Control (?) Cancel Options <<

ÄKTAavan State Details	t	Read	ly
Settings	_	II Pause	♪ I> Continue

3、Log On ダイアログが表示されたら User Name より Default を選択し、
Password に UNICORN 7.5 の場合は uni55corn(UNICORN 7.3 以下は
default)と入力し、OKボタンをクリックします。 Option ボタンをクリックすると、起
動するモジュールを選択することが出来ます。
起動しなかったモジュールや閉じてしまったモジュールを追加で起動する場合は、

UNICORN アイコンをダブルクリックします。Log On ダイアログで、Option ボタンを クリックし、起動したいモジュールにチェックを入れ、OK ボタンをクリックします。 ※ 各モジュールの Tools メニューからでも呼出可能です。

※ パスワードの入力の有無は、UNICORN Configuration manager にて設定を 変更することが可能です。

Windows の Start ボタンより「UNICORN Configuration manager」で検索

注意:UNICORN 7.4 以降のパスワードについて

UNICORN をインストールし、Default ユーザーが初回ログインする際のパスワード は「default」です。ただし、ログイン直後にパスワードの変更が要求されます。弊 社日本法人では、便宜上、Log on パスワードを「uni55corn」、Signature パスワ ードを「uni66corn」と設定しています。

4、ポンプやフラクションコレクターの初期動作など、必要な起動に 2~3 分かかりま す。これらが終了すると、システムの液晶ディスプレイには「Ready」と表示されま す。





<UNICORN と ÄKTA avant が接続しなかった場合>

接続設定がされていない(解除されていた)場合は以下の手順で接続します。

System Control 画面より、System ↓ Connect to Systems を選択し、
 Connect to systems ダイアログを表示します。

- 2、System name にチェックを入れます。また Control ラジオボタンが選択されて いることを確認します。
- 3、**OK** ボタンをクリックします。

上記方法で接続できなかった場合は、コンピューター、ÄKTA avant 本体の電源を 落とし、再起動します。

<u>2.2、UNICORN の操作モジュール</u>

UNICORN には4つの操作モジュール(Administration、Method Editor、System Control、Evaluation)があり、画面 最下段のタスクバーにアイコンが表示されています。表示は順不同です。以下の表に各モジュールの主な機能を示します。

モジュール	主な機能
Administration	ユーザーおよびシステムの設定、システムログおよびデータベース管理を行います
Method Editor	メソッドを作成・編集します
System Control	メソッドの開始、表示、およびマニュアル制御を行います
Evaluation	結果を表示し、レポートを作成します

2.3、操作画面

モジュールの切り替え:操作したいモジュールのアイコンを、タスクバーから選んでクリックします(表示は Windows の設定により、 異なります)。



UNICORN 起動時に選択しなかったモジュールを UNICORN 起動後に起動したい場合や、誤って任意のモジュールを閉じ、再 度起動したい場合は、以下の手順になります。

1、デスクトップの UNICORN アイコンをダブルクリックします。

2、Log On ダイアログの Option ボタンをクリックして、これから起動したいモジュールにチェックを入れます。

3、 OK ボタンをクリックします。

※ 各モジュールの Tools メニューからでも呼出可能です。

Custom name	Control	Mou
System name	Control	V 16VV
Systemi	۲	0
Connected Users	OK	Cancel

3.1、廃液チュービングの確認

PTFE または ETFE 製の廃液チュービング(インジェクションバルブ W1 および W2、pH バルブ W3、アウトレットバルブ W)および シリコーン製の廃液ホース(フラクションコレクター、バッファートレイ、ペルティエ素子冷却)を廃液ボトルに接続します。廃液ボ トルは実験台もしくはそれよりも低い位置に置きます。

廃液チュービングの先端は廃液に浸からないようにしてください。

3.2、リンス液のチェック

ポンプピストン内の、バッファーが満たされない部分の洗浄のためのリンス液として 20%エタノールを使 用します。使用前にリンス液が減っていないか、濁っていないかを確認します。減っていたり、濁ってい たりする場合は交換します。また1週間に1回以上ご使用の場合には、週1回定期的に20%エタ ノールを交換します。

(左;システムポンプA、B用リンス液、右;サンプルポンプ用リンス液) →

3.3、ポンプのパージ(エア抜き)

ポンプ内にエアが残っていると、実際の送液量が設定よりも少なくなる現象が起きます。実験結果への影響として、溶出時間 が遅れたり、再現性が得られなくなったりします。再現性の良い実験を行うためには、ポンプのパージ作業が必要です。

注意

インレットチュービングから吸い込まれた溶液は、左右2個のポンプヘッドへ入り、ミキサーに向かって押し出されます。1種類の 溶液に対して、左右2個のポンプヘッドのパージ作業が必要です。

ここでは A1、B1 の 2 本のインレットチュービングを使用する実験のためのパージ操作例を示し ます。

1、A1、B1のインレットチュービングを十分に脱気した超純水入りボトルに接続します。

- 2、パージバルブにパージキットをしっかり差し込み、パージバルブを 反時計回りに約 3/4 回転して、シリンジのピストンをゆっくり引 いて、エアが無くなるまで概ね10~20ml分の超純水を引き入 れます。
- 3、パージバルブを時計回りに回転してしっかり閉じます。パージキ ットを抜いて、溶液を捨てます。
- 4、A ポンプのもう一方のパージバルブについても 2~3の手順を繰 り返します。これでインレットチュービング A1 についてのパージが 終了します。
- 5、引き続き、B ポンプの 2 つのパージバルブについても 2~4 と同 様の操作を行います。







A2 および B2 のインレットについてパージを行う場合は、以下 6~9 の手順で行います。A3~A7、B3~B7 にインレットを増設し て使用する場合にも、インレットチュービングを超純水入りのボトルに接続し、インレット名を読み替えて、同様の手順で行いま す。

(System Control にて)

- 6、Manual ↓ Execute Manual Instructions をクリックし、 Manual Instructions ダイアログを表示します。
- 7. Flow path \rightarrow Inlet A \rightarrow A2 \rightarrow Execute
- 8. Flow path \rightarrow Inlet B \rightarrow B2 \rightarrow Execute
- 9、2~5の手順でA2、B2 インレットをパージします。

Fraction collection	^	Mode		
Fractionation settings Last tube filled Cassette configuration Fraction collector lamp Peak frac parameters wit Delay volumes Watch parameters Advanced Data collection	h S	On	○ 0 //	
<	>			

サンプルインレットのパージを行う場合にも、インレットチュービング(Buffer、および S1 などのサンプル添加で使用するインレット)を超純水入りのボトルに接続し、ポンプ名、インレット名を読み替えて、2~7 の手順に準じて行います。なお、サンプルバルブの初期ポジションは Buffer、インレット切り換えのコマンドは以下となります(バッファーインレットをパージする際は、インレットの切り換え作業は不要です)。

Flow path → Sample inlet → (インレット名: S1~S7) → Execute インレットを切り換えてから 2~5 の手順に準じてパージします。 10、End ボタン(■)をクリックします。

BufferPro で実験を行う場合は、Q バルブおよびインレットチュービングのパージを行います。他のパージと異なり、ポンプ洗浄を 行いながらパージします。以下の手順でポンプ洗浄を実行します。

Pumps and pressures $\,
ightarrow \,$ Pump Wash $\,
ightarrow \,$ BufferPro / Q inlets - All $\,
ightarrow \,$ Execute

<u>3,4、ポンプ洗浄(Pump Wash)</u>

インレットチュービングからインジェクションバルブまでの間の溶液を新しい溶液に交換します。

1、Manual Instructions ダイアログより

Pumps and pressures \rightarrow Pump Wash \rightarrow A1, B1 \rightarrow Execute

A2~A7 および B2~B7 のインレットについて、ポンプ洗浄を行う場合は、インレット名を読み替えて、同様の手順で行います。 以下は A2、B2 のポンプ洗浄を行う場合です。

2、Manual Instructions ダイアログより

Pumps and pressures ightarrow Pump Wash ightarrow A2, B2 ightarrow Execute

サンプルインレットのポンプ洗浄を行う場合にも、ポンプ名、インレット名を読み替えて、同様の手順で行います。以下は Buffer および S1 のポンプ洗浄を行う場合です。

3、Manual Instructions ダイアログより

Pumps and pressures \rightarrow Pump Wash \rightarrow Buffer \rightarrow Execute Pumps and pressures \rightarrow Pump Wash \rightarrow S1 \rightarrow Execute

注意!

Pump Wash は、ポーズ状態にて高流速で決まった容量を自動送液するコマンドです。流速などのパラメーター変更は受け入れられません。Pump Wash 中に入力したマニュアルコマンドは、Pump Wash が終了したあと実行されますのでご注意ください。

<最新のコンフィグレーションバージョンをお使いの方>

ÄKTA avant 25:3.0 以降

ÄKTA avant 150:2.0 以降



マニュアル操作の一部は System control 画面の下方にあるプロセス図より	System flow
入力が可能です。	0 0.000 ml/min Set flow rate
1、該当するコンポーネントの図をクリックします。	Conc % B
2、表示されたパネルから、コマンドの値を入力し、そのコマンドに対応するボ	0 100 % B Set % B
タンをクリックします。	Pump wash A B
	A1 👽 Start pump A wash B1 👽 Start pump B wash
※ プロセス図よりコマンド入力が可能なコンポーネント	System wash
・バッファーバルブ、サンプルバルブ	15 ml Start system wash
・システムポンプ、サンプルポンプ	10 - 999
・インジェクションバルブ	Injection valve Manual load System pump waste
・ループバルブ(オプション)	Inject Sample pump load
・カラムバルブ	Direct inject Sample pump waste
・UV フローセル(オートゼロ)	Column valve
・pH バルブ	Up flaw
・アウトレットバルブ	

3.5、圧力安定性のチェック

パージ操作が完全に行われたかどうかを、送液時の圧力変動や廃液速度が一定であることで確認します。

なお、この操作を行うのは実験で使用するインレットのみ行います。

(System Control にて)

- 1、 Run Data および Chromatogram を表示します。また、システムの液晶ディスプレイの Details をタッチし、 PreC Pressure が表示されるよう準備します。
- 2、Manual Instructions ダイアログより

```
A ポンプ(A1) :
```

```
Pumps and Pressures \rightarrow System Flow \rightarrow 5 ml/min Execute
```

```
PreC Pressure の値を確認します。
```

3、B ポンプ (B1) :

```
Pumps and Pressures \rightarrow Gradient \rightarrow 100%B Execute
```

PreC Pressure の値を確認します。

A2~A7 および B2~B7 のインレットを実験に使用する場合は、上記作業に引き続き、以下の手順でインレットを切り替え、同様の操作を行います。以下は B2 と A2 の確認を行う場合の例です。

4、B ポンプ (B2) : Flow path \rightarrow Inlet B \rightarrow B2 \rightarrow Execute

5、A ポンプ(A2) : Pumps and Pressures \rightarrow Gradient \rightarrow 0%B \rightarrow Execute

nstructions	Parameters for System flow	Instruction execution list
Pumps and pressures Sintem West Sintem West Sintem West Sintem West Sintem wash System wash System wash System wash System wash Sintem wash Sintem pressure Sintem Sintem Sintem Sintem Sintem Sintem S	Rev rate (0.00 - 25.000) (0.00 - 25.000) resource control Off v	Preed Database
ave result as:	Browse_	Fain Ar

Flow path \rightarrow Inlet A \rightarrow A2 \rightarrow Execute

6、End ボタンをクリックします。

サンプルポンプのインレットを実験に使用する場合には、以下の手順で、同様の操作を行います。以下は Buffer および S1 の確認を行う場合の例です。

7、Manual Instructions ダイアログより

サンプルポンプ (Buffer) : Flow path \rightarrow Injection valve \rightarrow Direct inject \rightarrow Execute

Pumps and Pressures ightarrow Sample Flow ightarrow 5 ml/min ightarrow Execute

PreC Pressure の値を確認します。

8、サンプルポンプ (S1) : Flow path \rightarrow Sample inlet \rightarrow S1 \rightarrow Execute

S2~S7のインレットを実験で使用する場合には、上記のインレット名を読み替えて、同様の作業を行います。

9、 End ボタンをクリックします。

圧力の変動幅が 0.05 MPa 以内であることを確認します。変動が大きい場合はパージをもう一度行います。

マニュアル操作時に線流速(cm/h)で送液する場合は、

1、Manual instructions ダイアログ上部にある Select column type の Select ボタンをクリックします。

2、Select column type ダイアログより使用するカラムを選択し、OK ボタンをクリックします。

3、注意メッセージが表示される場合は OK ボタンをクリック します。

4、 Pumps and Pressures → System Flow を選択 し、 Linear Flow にチェックを入れます。

- 5、Flow rate に線流速を入力し、Execute ボタンをクリッ クします。
- ※ Sample flow も同様に線流速で送液可能です。

※ UNICORN 7.1より線流速(cm/h)に加え、カラム流速(CV/h:1時間あたりに何カラム体積、送液するかの単位)を 選択することが可能です。スケールアップ/スケールダウン時にベッド高が異なり、接触時間(レジデンスタイム)を揃える場合 などで効果的に用いることができます。カラム流速は以下の式で算出します。

Auto update of para

Browse

Execute Close

カラム流速=60÷接触時間

例) 接触時間が3分の場合、60÷3=20 CV/h

設定は、上記線流速の操作手順で「Linear Flow」を選択する代わりに、「Column Flow」を選択します。

4、カラムの接続

カラムバルブの接続形式のネジ規格は 10-32 UNF (通称 1/16") です。ネジ規格の異なる製品を接続する場合には変換 ユニオンが必要です。

・M6 規格のカラム例:XK(HiLoad)カラム(旧型)、HR カラム

1/16" male / M6 female(18111258)、1/16" female / M6 female(18112394)など ・5/16"規格のカラム例:HiScale 50 カラム、XK 50 カラム

1/16" male / 5/16" female(18114208)、5/16" female / 5/16" female(18117351)など ・HiTrap、HiPrep、HiScreen との接続には赤色の Fingertight(28401081)を使用します。

ÄKTA avant 25 のカラム接続には内径 0.5 mm(オレンジ色)または内径 0.75 mm(緑色)の PEEK チュービングなどを使用します。 ÄKTA avant 150 のカラム接続には内径 0.75 mm(緑色)または 1 mm(ベージュ色)の PEEK チュービングや内径 1.6 mm(透明色)の PTFE チュービングなど使用します。

チュービングは専用のチュービングカッター (18111246) で切断します。

必要に応じ、1/16" female / 1/16" female (11000339) を用いて配管を延長します。

4.1、接続および超純水への置換

カラムバルブには、5本までのカラムを並列に接続することが可能です。ここではポジション2にカラム を接続する例を示します。

1、適切な長さのチュービングを、バルブのポート 2A および 2B に接続します。

- 2、カラム出口側のみストッププラグを外し、2B のチュービングと接続します。
- 3、Manual Instructions ダイアログより

Flow path ightarrow Column Position ightarrow Position 2 ightarrow Execute

4、カラムの破損を防ぐために、システムの耐圧設定をします。

Manual Instructions ダイアログより

Alarms → Alarm pre-column pressure → High alarm (Max pre-column pressure の値) → Execute Alarms → Alarm delta column pressure → High alarm (Max delta column pressure の値) → Execute このとき入力する耐圧値はカラムによって異なります。Column handling*に記載されている Max pre-column pressure および Max delta column pressure の値を入力します。



Instructions	Parameters for Column position		Instruction execution list
Pumps and personnes Pump and Pu	Paston Peaton 2 Rev Devalor @ Down flow O Util flow	v	Peed Dans
Seve result as:		Browse	1

<*Column handling の呼び出し方>

4-1、System control にて Tools ↓ Column handling を選択します。

- 4-2、Column Handling ウィンドウの左側にて、Show by technique から使用するカラムの手法を選択します。
- 4-3、Column types より使用するカラムを選択し、Column Type Parameters タブに記載されている Max pre-column pressure および Max delta column pressure の値を確認します。

5、流速を入力します。

Pumps and Pressures \rightarrow **System Flow** \rightarrow 0.2 \sim 0.5 ml /min \rightarrow **Execute**

- 6、インレット側(2A)に接続したチュービングの先端から超純水が出てきたら、カラム上部に超純水を滴下しながら接続しま す。
- 7、カラムを完全に超純水に置換します。その際、カラムの至適流速の 1/2 に流速を上げ、徐々に至適流速まで流速を上げ ながらカラム体積の3倍量以上の超純水を送液し、UV、Cond、PreC Pressure カーブが安定することを確認します。

低温環境でご使用になる場合は液の粘性が上昇するので、最初は至適流速の 1/4 で送液します。

8、End ボタンをクリックし、送液を終了します。

液晶ディスプレイ下部に表示される Pause ボタンを押すと、送液を中断することが出来ます。中断した送液は Continue ボタンを押すと再開します。

エンドタイマー機能を使うと、設定時間もしくは設定液量送液後に自動終了することができます。

Manual Instructions ダイアログより

	Selected column type:		Select			
nstructions	Parameters for Timer			Instruction ex	ecution list	
 Pumps and pressures How path 	Select Base			Insert	Delete	
Monitors Fination collection	Acc. time	O Acc. volume				
Advanced Watch parameters	Timeout	[0.00 - 9999.00] 5.00 🗘 min 📄 Disabled				
Other	Action					
Set mark Timer	End		~			
			Browse	1		

4.2 バッファーへの溶液置換

使用するインレットチュービングを、準備したバッファーボトルに接続します。

Manual Instructions ダイアログより

Pumps and pressures \rightarrow Pump wash \rightarrow (使用するインレットを選択) \rightarrow Execute

サンプルポンプを用いる場合には、サンプル用インレット(S1 など)およびバッファーインレット(Buffer)も忘れず、上記操作 を行います。

ポンプ洗浄が終了したら End ボタンをクリックします。

5、インジェクションバルブの準備



5.1、シリンジを用いたマニュアルサンプル充填

シリンジに吸い上げたサンプルを、サンプルループに充填する方法を記載します。最初に正しく配管されていることを確認します。

1、インジェクションバルブのポート LoopE と LoopF にサンプルループを接続します。

2、**Syr** ポートにルアーロックコネクターが接続されていることを確認します。

3、W1、W2の廃液チュービングが廃液ボトルに接続されていることを確認します。

5.2、マニュアル操作でのスーパーループへのサンプル充填

サンプル液量が多い場合、スーパーループを使用します。その場合は、スーパーループのサンプル側(0 ml 側)を LoopF に、 バッファー側を LoopE に接続します。またスーパーループはカラムホルダーで固定します。

5.3、サンプルポンプによるサンプルの直接添加

配管変更の作業は不要です。



6、フラクションコレクター

6.1、カセットもしくはトレイの準備

- 以下のカセットもしくはトレイを使用します。 ・3 ml 試験管用カセット(28956427)(8×5=40本) ・5 ml 試験管用カセット(29133422)(8×5=40本) ・8 ml 試験管用カセット(28956425)(6×4=24本) ・15 ml 試験管用カセット(28956404)(5×3=15本) ・50 ml 試験管用カセット(28956402)(3×2=6本) ・深底プレート用カセット(28954212)(24 穴、48 穴、96 穴角穴プレートに対応) 丸穴や浅底プレートには対応していません。 ・50 ml 試験管用トレイ(28980319)(11×5=55本) ・250 ml ボトル用トレイ(28981873)(6×3=18本) (使用できる試験管、プレート、ボトルの詳細は本書 1.1 章「◆フラクションコレクター」を参照ください)
- 1、試験管用カセット(50 ml 試験管用を除く)を設置する場合には、図の囲み部分に指をかけ、ロックを引き出します。
- 2、試験管またはプレートをカセットに設置します。試験管を設 置する場合は、カセットもしくはトレイの設置本数分全てを 設置することをお勧めします。
- 3、試験管用カセット(50 ml 試験管用を除く)の場合は、カ セットをロックします。
- 4、フラクションコレクターを引き出し、カセットトレイにカセットを 最大 6 個まで乗せます。50 ml 試験管用トレイや 250 ml ボトル用トレイを使用する場合は、カセットトレイは使用しま せん(直接 50 ml 試験管用トレイや 250 ml ボトル用トレイ をフラクションコレクターの引き出しに乗せます)。
- 5、引き出しを閉めます。



6、引き出しを閉めると、自動的にカセット場所の認識が開始し ます。図のように異なる種類のカセットを一度にセットすること も可能です。正しく認識されたかどうかは、以下の手順で確 認します。

System control 🖓

View ↓ Fraction Collector Content を選択します。



※ カセットの場所認識は、システムがエンド状態で行われます。ラン中に引き出しを開ける場合には、カセットの場所変更は

できません。場所を変更した場合は、エラー表示されます。

※ 深底プレート用カセット使用時は、必ずプレートを設置して下さい。設置しない場合、エラーが表示されます。

6.2、ディレイボリューム

初期状態では以下の値が設定されています。pH バルブのポジションにより、自動的に変更されます(オンラインになっているポ ジション分が自動的に加算されます)。

	ÄKTA avant 25	ÄKTA avant 150
UV フローセル~フラクションコレクター*	518 µl	1,807 µl
UV フローセル~アウトレットバルブ*	142 µl	535 µl
フローリストリクター	48 µl	94 µl
pH フローセル	76 µl	129 µl

* フローリストリクターおよび pH フローセルがオフラインの時の値

例) ÄKTA avant 25 でフローリストリクターがオンライン、pH フローセルがオフラインの場合

フラクションコレクターまでのディレイボリューム: 518 μl + 48 μl = 566 μl

アウトレットバルブまでのディレイボリューム: 142 µl + 48 µl = 190 µl

<設定の確認>

1、 System Control より、 System ↓ Settings をクリックし、 System Settings ダイアログを表示します。

2、Fraction collection
$$\rightarrow$$
 Delay volumes を選択します。



7、メソッドの作成

※ システムの構成やInstrument Configurationのバージョンにより、本書に記載される内容と、UNICORNで表示される項目 や選択可能な項目が異なります。UNICORNで表示されない、選択出来ないという点は、ソフトウェアの不具合ではございませんので、ご注意下さい。

7.1、新規メソッドの作成

Method editor より File ↓ New Method を選択します。

7.2、クロマトグラフィー手法の選択

Predefined Method を選択し、手法を選択します。

Affinity chromatography (AC)	アフィニティークロマトグラフィー
Affinity chromatography (AC)-HiTrap Fibro PrismA	アフィニティークロマトグラフィー HiTrap Fibro PrismA
Anion Exchange Chromatography (AIEX)	陰イオン交換クロマトグラフィー
Cation Exchange Chromatography (CIEX)	陽イオン交換クロマトグラフィー
Chromatofocusing (CF)	クロマトフォーカシング
Column CIP	カラム洗浄用
Column Performance Test	カラム評価用
Column Preparation	カラム準備用
Desalting (DS)	脱塩/バッファー交換
Hydrophobic Interaction Chromatography (HIC)	疎水性相互作用クロマトグラフィー
Reversed Phase Chromatography (RPC)	逆相クロマトグラフィー
Size Exclusion Chromatography (SEC)	ゲルろ過クロマトグラフィー
System CIP	システム洗浄用
System Preparation	システム準備用

ОК ボタンをクリックします。

System:	
System	
Create a new method by using t	the:
Predefined Method:	
Cation Exchange Chromatog	graphy (CIEX)
After equilibration and sam adsorbed to the column lig is performed using a gradir NaCI. After column wash a wash is done to minimize th	ple application, positively charged proteins are and .After a wash to remove unbound sample, elution and increasing sait concentration of for example nd re-equilibration, a fraction collector accumulator te risk for sait precipitation.

Method editor モジュールの概要は以下です。

Phase Library - AKTA pure, vers \$ X Method Phases	Phase Properties Text Instructions 1		
Cauna Ar Manda Sastaga Cadama Prevention Cadama Prevention Cadama Prevention Cadama Prevention Cadama Prevention Equilatoristic Equilatoristic Equilatoristic Sastage Prevention Cadama Preventio	Method States () (3) Clare viewing () (3) Starts the following () (3) Starts the following () (3) Starts ()	Peak Name & Locator Safe Pedacol Webs discut Use and take Prove Take Unit: IV Image of take Notes and safe of take Prove Take Unit: IV Image of take Vorsities reserverging: IV Image of take V/1 Image of take V/2 IM (190-700) mm Image of take Image of take Vorsities reserverging: Image of take Image of take and take Image of take Image of take<	
Costent Bree Condect Place (Book) 0.00 0.00 Method Settings (Man) 100 100 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0			4 x
0 10 20 30 40 60 60 70	80 90 100 110 120	130 140 150 160 170	180 190 200

(1) Phase library:利用できるフェーズの一覧を示します。必要に応じて、ドラッグで、メソッド概要へフェーズを追加することが 出来ます。

(2) メソッド概要:メソッド中で実行されるフェーズの概要を示します。フェーズの削除、追加、順番の変更が可能です。

(3) Phase properties: 各フェーズの詳細設定を示します。選択した項目によっては薄く表示され、選択できない項目があります。

(4) Gradient:メソッドのグラジエントを示します。

<u>7.3、カラム等の設定</u>



メソッド概要中の Method Settings ボ		
タンをクリックします。	Method Settings (2) Column selection	Result Name & Location
・Column type(カラム名)	Show by technique Cation Exchange Column type HIScreen Capto S	Start Protocol
·Column position	Show only suggested columns Column Properties	Method Notes
を設定します。必要に応じて	Column volume 4.657 ml Pressure limit pre-column 0.80 MPa [0.02 - 20.00]	Unit selection Method Base Unit
• Flow rate	Use flow restrictor	Flow Rate Unit ml/min ~
•Monitor settings	Column position Position 1	Monitor settings Wavelengths [190 - 700] nm
等を設定します。	Flow rate 2.700 ml/min [0.000 - 25.000]	UV 1 280 nm UV 2 254 nm UV 3 214 nm
※enable pH monitoring にチェックを	Use manually prepared buffers Inlet A A1 Inlet B B1	Enable pH monitoring
入れた場合、pH 電極のケーブルを pH	O Use BufferPro (automatic buffer preparation)	Enable air sensor alarm
バルブに、pH 電極をフローセルに接続	Recipe (CIEX-mx (0-1M NaCl - (pH 2-7, PD))	iniet A ☑ Inlet B □ Sample inlet
しないと、pH のオンライン測定は出来ま	Conc Defined by recipe for multicomponent buffers	Column Logbook
せん。		Enable logging of Column Performance Test

BufferPro を使って精製する場合は、「Use BufferPro」にチェックを入れ、Recipe を選択後、pH、Conc (バッファー濃度)を設定します。なお複数のバッファーが混合されている、AIEX-mix、CIEX-mix について は濃度指定できません。

7.4、カラムの平衡化

Method Settings
Equilibration
٧
Sample Application
•
Column Wash
Elution
Column Wash
•
Equilibration
Accumulator Wash

メソッド概要中の Equilibration ボタンをクリック します。 平衡化に使用するバッファー量を変更する場合

「the total volume is」の値を変更します。 既にシステム流路内部が実験で使用するバッフ アーに置換されている場合には「Fill the system with the selected buffer」のチェック を外します。

Equinoration 💮					
Reset UV monitor (recommended if the equilibre	ation occurs	before the purification	on).		
✓ Use the same flow rate as in Method Settings	V	se the same inlets a	s in Method	Settings	1
Flow rate 2.700 ml/min [0.000 - 25.000]	Inlet /	A A1	~		
	Inlet 8	B1	~	0.0	% B [0.0 - 100.0
		in the system with th	ie selected	Currer	
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met			ie selecteu	Durier	
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met Conductive greater than			e selected	Durier	
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met Conductivity greater than Conductivity greater than	0.00 m	15/cm (0.00 - 1000.0	10]	Currer	
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met Conductivity greater than Conductivity greater than Accepted pH fluctuation	0.00 m 0.10 [0	15/cm [0.00 - 1000.0).00 - 14.00]	10]		
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met Conductivity greater than Conductivity greater than Accepted pH fluctuation Accepted UV fluctuation	0.00 m 0.10 [0 0.10 m	sS/cm [0.00 - 1000.0] 0.00 - 14.00] AU [0.00 - 6600.00])0]		
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met Conductivity greater than Conductivity greater than Accepted pH fluctuation Accepted Conductivity fluctuation	0.00 m 0.10 [(0.10 m 0.10 m	NS(cm (0.00 - 1000.0 1.00 - 14.00) NAU (0.00 - 6000.00)	10]]		
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met Conductivity greater than Conductivity greater than Accepted pH fluctuation Accepted UV fluctuation Accepted conductivity fluctuation Signal stable for	0.00 m 0.10 [0 0.10 m 0.10 m 1.00 m	sSicm (0.00 - 1000.0 .00 - 14.00) AU (0.00 - 6000.00) sSicm (0.00 - 300.00 ini (0.02 - 1000.00)	10] 1]		

7.5、サンプル添加

7.5.1、サンプル添加方法の選択



メソッド概要中の Sample Application ボ タンをクリックします。
・Inject sample from loop : サンプルループやスーパーループより添加 する場合

Empty loop with に任意の値(サンプ ルループなどに送液するバッファー量)を 入力します。

Inject sample from loop Inject sample directly onto c	olumn Fill the loop using Loop type Loop position Sample inlet Fill loop with	Manual load Capillary loop By-pass	~	Wash samp	le pump with bu	uffer
O Inject sample directly onto c	blumn Loop type Loop position Sample inlet Fill loop with	Capillary loop By-pass	~	Prime samp		
	Sample inlet Fill loop with	By-pass		The Arden Areas and	le inlet with	5.00 m
	Fill loop with		×	after sample	application	liter
	Fill loop with	0.00				
	Front dama with	0.60 ml				
	Empty loop with	1.00 ml				
	Sample Volume	U.UU mi	California			
	Indet A	Iniets as in Metrico	Setungs			
	Inlet P P1		0.0 %			
			0.0	i.		
	The second	200.0 - 6000.01				
Fractionate	ractionation settings	000.0 - 6000.0]]
Fractionate F O in waste (do not collect)	ractionation settings	Fixed volume frac	ctionation	~	Advanced Settings	
Fractionate F O in waste (do not collect) O using outlet valve	ractionation settings ractionation type ractionation destination	Fixed volume frac 96 deep well plat	ctionation	~ ~	Advanced Settings	
Fractionate F O in waste (do not collect) O using outlet valve using fraction collector	ractionation settings ractionation type ractionation destination Peak fractionation destination	000.0 - 6000.0] Fixed volume frac 96 deep well plat 96 deep well plat	ctionation te	v	Advanced Settings Peak Frac Settings	

サンプルポンプにより直接カラムに添加する 場合

Inject sample directly onto

column :

```
    Inject all sample using air sensor
    Set maximum volume to 1000.00 ml
    Ver Finalize sample injection
    Sample injection and to remove air from the sample pump
```

Note! Buffer inlet wi sample injection an sample pump

・Sample inlet: インレットを指定。

・Inject fixed sample volume:添加量を指定する場合に選択。

Inject all sample using air sensor :

エアーセンサーが空気を検出するまでサンプルを添加する場合に選択。

・Set maximum volume to:最大添加量(エアセンサーが有効の場合のみ選択可能)

エアーセンサーが空気を検出した場合は、エアーセンサーの制御が優先されます。

•Wash sample pump with buffer:

サンプル添加前に、Buffer インレットよりサンプルポンプ内の溶液をバッファーに置き換える場合に指定(推奨)。

• Prime sample inlet with :

サンプル添加前に、インジェクションバルブまでの流路内の溶液を、指定したインレットの溶液 に置き換える場合に使用します。送液された溶液はインジェクションバルブの廃液ポートに流 れ出ます。

•Wash sample pump with buffer after sample application:

エアーセンサーが無効の場合のみ選択可能です。

サンプル添加後に Buffer インレットよりポンプ洗浄を行う場合に選択。ラインに残っているサン プルはインジェクションバルブの廃液ポートに流れ出ます。

· Finalize sample injection

ポンプに残ったサンプルを Buffer ラインでカラムまで押し流します。

素通り画分の回収は 7.5.2 をご参照ください。

※ Sample application のフェーズを連続して行い、いずれのフェーズも Inject sample directly

onto column を選択し、かつ素通り画分の回収で using outlet valve と using fraction collector を組み合わせるとディレイボリュームなど各種設定の関係上、メソッドの進行が止まります。 やむを得ず Sample application のフェーズを連続させる場合には、素通り画分の回収設定を揃えるように してください。

7.5.2、分画方法の指定

素通り画分、溶出画分などの分画方法は、各フェーズ詳細中の Fractionate にて以下より選択、設定できます。 ・using outlet valve:アウトレットバルブにより回収する場合

3 つの Fractionation Type から分取方法を選択します。

- Fixed volume fractionation 定量分取をアウトレットバルブで行います。

	Fractionation destination (分取開始位置)と、Fixed fractionation
	volume(1 画分あたりの体積)を設定します。
- Peak fractionation	ピーク分取をアウトレットバルブで行います。
	Fractionation destination(分取開始位置)と、Peak fractionation
	volume(1 画分あたりの体積)を設定します。
- Fixed outlet	全ての画分を Fractionation destination で指定したアウトレットバルブのポジション
	で回収します。
	分取位置を設定します。
Advanced Settings	最大フラクション数(バルブポート数)を入力します。
Peak Fraction Settings	ピーク認識のためのモード(Ievel / slope / Ievel and slope / Ievel or slope)お
	よび、それぞれの設定値を入力します

・using fraction collector: フラクションコレクターにより回収する場合

3 つの Fractionation Type からフラクション方法を選択します。

- Fixed volume fractionation	定量分取をフラクションコレクターで行います。
	Fractionation destination (使用するカセットまたはプレート)
	と、Fixed fractionation volume(1 画分あたりの体積)を設定します。
- Peak fractionation	ピーク分取をフラクションコレクターで行います。
	Fractionation destination (使用するカセットまたはプレート)と、
	Peak fractionation volume(1 画分あたりの体積)を設定します。
- Fixed volume	定量分取とピーク分取を併用します。
and peak fractionation	Fractionation destination (使用するカセットまたはプレート) と、Fixed および
	Peak fractionation volume(1 画分あたりの体積)を設定します。
Advanced Settings	Start Position (回収し始めの試験管位置: next tube / next line / next
	cassette / skip two tubes)および、Last Tube Filled では最終試験管(また
	はウェル)に達した際の送液方法(Pause / Out-waste / Out 1~10の各ポー
	ト)を選択します。
Peak Fraction Settings	ピーク認識のためのモード(level / slope / level and slope / level or slope)お
	よび、それぞれの設定値を入力します。
逆相クロマトグラフィーを行う場合や、	有機溶媒を用いた精製を行う場合には、フラクションコレクターでの回収は出来ませ

※ ん。

・in waste (do not collect):回収せずに全て廃棄する場合

7.6、非吸着画分の洗浄



メソッド概要中の Column Wash ボタン

をクリックします。

非吸着画分の洗浄に使用するバッファ

ー量を変更する場合は、 Wash until

の「**the total volume is**」の値を変更 します。

非吸着画分の回収は 7.5.2 をご参照く ださい。

Column Wash ③

Fraction collector 1

Use the same flow rate as Flow rate 2.700 ml/min	in Method Settings [0.000 - 25.000]	⊡ U Inlet Inlet	A A1 B B1 ill the system with	a as in Method :	Settings 0.0 uffer	% B [0.0 - 100.0	
Wash until the total volume is the following condition is r	2.00 CV						
Stable UV		1					
UV less than	UV less than 0.0		000.0 - 6000.0]				
Stability time	Stability time 1.00		2 - 1000.00]				
Accepted UV fluct	uation 0.1	0 mAU [0.0	mAU [0.00 - 6000.00] CV				
Maximum wash vo	lume 20.0	0 CV					
Fractionate	Fractionation settings						
O in waste (do not collect)	Fractionation type		Fixed outlet			 Advanced Settings 	
 using outlet valve 	Fractionation destination	ation	Out 1		`	Paak Eran	
	Peak fractionation de	estination	Out 1			Settings	
O using fraction collector Fixed fractionation volume		olume	2.00 ml [0.0	1 - 20000.00]			

2.00 ml [0.01 - 20000.00]

Peak fractionation volume

<u>7.7、 溶出方法</u>

Method Settings	
Equilibration	
	_
Sample Application	
٣	_
Column Wash	
	_
•	
Column Wash	
•	_
Equilibration	
•	-
Accumulator Wash	

メソッド概要中の Elution ボタンをクリック します。

Isocratic elution
 主にゲルろ過で使用します

•Gradient elution

イオン交換やアフィニティーなど、吸着 系クロマトグラフィーで使用します。

グラジエントは以下より選択、設定しま す。

・Type:「Linear」「Step」「Step with fill」より選択

- Linear: リニアグラジエント
- **Step**: ステップ
- **Step with fill**: ステップ(設定した%Bでシステム洗浄した後に溶出)

・Target %B:目標とする%B

・Length: セグメントの溶出体積

セグメントを追加する場合は Add Segment ボタンをクリックします。セグメントを削除する場合は Delete Segment ボタンをクリックします。

溶出画分の回収は 7.5.2 をご参照ください。



7.8、カラムの洗浄



メソッド概要中の Column Wash ボタン をクリックします。 溶出後の洗浄を行う場合には、Wash until の the total volume is で洗浄

体積を入力します。また、必要に応じて フラクション回収に関する設定をします (フラクション回収に関しては 7.5.2 をご 覧ください)。

溶出後の洗浄が不要の場合にはフェー ズ概要下部の Delete ボタンをクリック し、本フェーズを削除します。

Use the same flow rate as	in Method Settings	🔽 Use t	he same inlets as	in Method	Settings	
Flow rate 2.700 ml/min	[0.000 - 25.000]	Inlet A	A1	~		
		Inlet B	B1	~	100.0	% B [0.0 - 100.0
		🗌 Fill t	ne system with the	selected	ouffer	
∕/ash until						
the total volume is	5.00 CV					
) the following condition is n	net					
Stable UV						
UV less than	0.0	mAU [-6000.	0 - 6000.0]			
Stability time	1.00	min (0.02 - 1	000.00]			
Accepted UV fluct	uation 0.10	mAU [0.00 -	6000.00]			
Maximum wash vo	lume 20.00	CV				
Fractionate	Fractionation settings					
O in waste (do not collect)	Fractionation type	Fixe	ed volume fraction	ation	~	Advanced
using outlet valve	Fractionation destination	on Ou	t 1		8	Settings
	Peak fractionation dest	ination Ou	t1			Settings
Using traction collector	Fixed fractionation volu	ume	2.00 ml [0.01 -	20000.00]		
A 1777 ATT A 177 A						

Equilibration (?)

Equ

۲

7.9、再平衡化



リックします。 カラムの再平衡化を行う場合には、 Equilibrate until \mathcal{O} the total volume is」で再平衡化体積を設定します。 再平衡化が不要の場合にはフェーズ概要

下部の Delete ボタンをクリックし、本フェー

Reset UV monitor (recommended if the equilibr	tion occurs before the purification).	
Use the same flow rate as in Method Settings Flow rate 2700 ml/min [0.000 - 25.000]	Use the same inlets as in Method Settings Inlet A A1 Inlet B B1 Fill the system with the selected buffer)
Equilibrate until the total volume is 5.00 CV the following condition is met		
Conductivity greater than	100 M	
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	10.00 CV	

7.10、Accumulator Wash



高塩濃度のバッファーを使用した場合、 Accumulator をバッファーのまま放置するので なく、精製水で自動洗浄することをメソッドに 組み込むことができます。

例えばA2に精製水を接続し、A inlet でA2 を選択します。

自動で Accumulator Wash が実行されま す。

連続精製で不要の場合にはフェーズ概要下 部の Delete ボタンをクリックし、本フェーズを 削除します。

Solution not	e Water (manually move	Select inlet below) all inlets to the sele	ected solution		
Flow rate /olume per	10.00 position 20.0	10 ml/min (0.000 - 10 ml	25.000]		
Ainlets	B inlets	Sample inlets	Column Positio.	Outlets	Others
A1	B1	Buffer S1	By-pass Position 1	Out-Waste	Q inlets (1-4), 80 ml
A3	B3	S2	Position 1 Position 2	sition 2 Out 1 sition 3 Out 2 sition 4 Out 3	Injection valve with capillary loop
A5	B5	S4	Position 4		Loop cleaning volume 10.00 r
□ A6 □ A7	B6	☐ S6	Position 5	Out 4	Number of loops 1 v
		□ \$7		Out 6 Out 7 Out 8 Out 9 Out 9 Out 10	For complete cleaning: - select a sample inlet - clean the manual injection port using a syringe
					Fraction collector accumulator
IIA 🗌		All	🗆 All	□ All	Fraction collector 2

メソッド概要中の Equilibration ボタンをク

ズを削除します。

<u>7.10、保存</u>

File ↓ Save(または Save As)を選択します。 保存するフォルダーを選択し、Name に任意のファイル名を入力 します(フォルダーを選択しないと Save ボタンがアクティブになりま せん)。

Save ボタンをクリックします。

roidernar	ne	System	Last modified	Created by
	SKTOP-N7FKUM5		0.44,0000,400,0	
	Default Home		2/14/2020 1:23:2	System
	AKTA_avant_1776647 (M	df1	2/14/2020 2:07:1	Default

8、メソッドの実行

8.1、サンプル準備

サンプルは、使用直前に 0.45 µm のフィルターでろ過します。担体の粒子径が 15um 以下(例:Superdex 200 increse な ど)は、使用直前に 0.22 µm のフィルターでろ過します。イオン交換の場合には、サンプルの塩濃度、バッファーpH にも注意が 必要です。必要に応じ、結合バッファーによる希釈や脱塩操作をします。

8.1.1、サンプルループへのマニュアルサンプル充填

- 1、インジェクションバルブのポジションが Manual load であることを確認し、バッファーを満たしたシリンジをポート Syr に接続して、 サンプルループ内を洗浄します(サンプルループ体積の3倍量以上のバッファーで洗浄します)。この際、送液したバッファー は W1 より廃液されます。
- 2、サンプルループ容量より少し多めのサンプルをシリンジに満たしてポート Syr に挿し、ゆっくり充填します。
- ※ メソッドがスタートしてサンプルがカラムに添加されるまでは、シリンジは絶対に抜かないでください。サンプルループと廃液ボト ルの高低差により、シリンジを抜くと、サンプル溶液がサンプルループから廃液ボトルへ流れます。

8.1.2、サンプルインレットの準備

サンプルポンプによるカラムへの直接添加を行う場合には、使用するインレットの先端をサンプルが含まれる容器の底に届くよう に配置し、チュービングが浮かないように固定します。

※ サンプルインレットに、フィルター付きインレットチュービングホルダーを使用すると、フィルターが目詰まりし、陰圧によるエア発 生の原因となり得ます。インレットフィルター無しで運用します。

8.2、フラクションコレクターの確認

メソッドで指定したカセットやプレートが設置されていることを確認します。なお、分取中に フラクションコレクターの引き出しを開くとシステムがポーズ状態になりますのでご注意くださ い。また、メソッド実行中に引き出しを開き、カセットのポジションを変更するとエラーメッセ ージが表示されますので、カセットの種類、ポジションは途中で変更しないよう、ご注意くだ さい。



※ メソッドを実行する前のエンド状態で引き出しを開くことで、カセットの配置や分取位置に関する情報がリセットされます。

※ メソッド実行中で引き出しを開いても、カセットの配置や分取位置に関する情報は維持されたままです。

※ 深底プレート用カセットを設置する場合は、必ずプレートも設置します。プレートを設置しない場合、エラーが表示されます。

<メソッド途中でフラクションコレクターに設置したカセットを使い切った場合> メソッドで指定したカセットを使い切ったタイミングで、システムはポーズ状態になります。最初に設置し た(同じ種類の)カセットを、同じ位置に設置して、メソッドを再開します。 このときカセットの種類や位置を変えてしまうと、メソッドは再びポーズ状態になりますので、必ず同じ種 類のカセットを同じ場所に置いてください。

<分取方向> 初期設定は Row-by-row(同一の横方向)です。変更する場合は以下の手順になります。 System control より System Settings → Fractionation settings

Accumulator 使用時には 4 種類 (Row-by-row、Serpentine-row、Column-by-column、Serpentine-column) Drop Sync 使用時には 2 種類 (Serpentine-row、Serpentine-column) から選択できます。

8 ml 試験管用カセットや 24 穴プレートの場合、以下のような分取順序のイメージです。

Row-by-row:	A1~A6、B1~B6、C1~C6、D1~D6
Serpentine-row:	A1~A6、B6~B1、C1~C6、D6~D1
Column-by-column:	A1~D1, A2~D2, A3~D3, A4~D4, A5~D5, A6~D6
Serpentine-column:	A1~D1、D2~A2、A3~D3、D4~A4、A5~D5、D6~A6

A1	A2	A3	A4	A5	A6
B1	B2	B3	B4	B5	B6
C1	C2	C3	C4	C5	C6
D1	D2	D3	D4	D5	D6

<アウトレットバルブで回収する場合>

回収先でアウトレットバルブを選択している場合、アウトレットバルブの指定したポートにチュービングや フラスコなどの回収容器が接続されていることをご確認ください。

8.3、メソッド実行

1、 System Control より File ↓ Open を選択します (Method Navigator が開いている場合は不要です)。

- 2、実行するファイルを選択します。
- 3、File ↓ Run を選択します。
- 4、Start protocol 画面が表示されます。保存フォルダー、ファイル名を確認し、Start(または Finish)ボタンをクリックします。 設定により Next ボタンがアクティブな場合は、Start(または Finish)ボタンがアクティブになるまで Next ボタンをクリックし ます。初期のファイル名はメソッド名の後に3桁の連番数字が付加されます。

Start Protocol - System - UNTITLED				×
Result Name and Location Ru U U	n Info ate: 3/5/2020 2:42:45 PM +09:00 Ser: Default lethod: UNTITLED			
- Re C C	sult] No result] Add unique identifier to result name Directory:			
	DefaultHome icouting subdirectory: lame: JNTITLED 003			Browse
0		< Back	Next > Start	Cancel

5、Select column ダイアログが表示されます。 用いるカラム情報を記録しない場合は Disable column logging for the run を選択します。 既に用いるカラム情報が登録されている場合は手 順8の作業を実施します。 これから用いるカラム情報を登録する場合は手順 6以降の作業を実施します。

Tabul Di	Code lot	exp. ID	
Enter ID:			
Select ID:	28-9288-13 12345678 0000-0	0 0005, HiPrep 261 🗸 🚺 New	
Disable column logging fo	r this run		
Applu to all methods with	the same column tune		
Methods	Remark	Column Barcode	Column tune
Column Handling	Theman	Column Barcoac	HiPren 26/10 Desalting
, 			
0)			OK Cance

- 6、新規にカラム登録する場合は New ボタンをクリックしま カラムに添付された 2 次元バーコードをバーコードリータ 読み取ります。もしくはカラム情報を入力します。 Continue ボタンをクリックします。 7、カラム情報の詳細が表示されます。
- **OK** ボタンをクリックして、ウィンドウを閉じます。
- 8、Enter ID にチェックを入れます。 カラムに添付された2次元バーコードをバーコード リーダー(オプション)で読み取ります。

,ます。 ダ (オプミュ`ヽ) で	Column ID:	lot exp. ID Clear has a uniTag (has a fixed Code and exp.)
-y- (/////// (Continue Cancel
	Code Column ID: 17-5987-01	lot exp. ID
	Alias (optional):	n has a uniTag (has a fixed Code and exp.)
	Column type: HiPrep 26/10 D	Desalting
	Use medium batch ID:	Set medium expiration date
		den 18. februari 2009 💙
	Notes	OK Cancel
Enter or select a column individual:		
	2345678 0000-00 0005 C	lear
Enter ID: 28-9288-13 12		
Enter ID: [28-9288-13] 1; Select ID: 28-9288-13123456	178 0000-00 0005, HiPrep 261 🐱 📃 💦	BW

もしくは Select ID にチェックを入れ、プルダウンメ ニューより使用するカラムを選択します。 OK ボタンをクリックします。 メソッドが実行されます。

Code lot exp. ID Enter ID: Clear 9 Select ID: 28-9288-13 22952813 0000-00 224. HPrep 261 V New 28-9288-13 12245578 0000-00 0005. HPrep 2610 Desalting E 28-9288-13 1224578 0000-00 0005. HPrep 2610 Desalting E Disable column logging 28-9288-13 1224578 0000-00 0005. HPrep 2610 Desalting E 28-9288-13 1224578 0000-00 0005. HPrep 2610 Desalting E Apply to all methods with the same column type Methods Remark Column Barcode Column type Column Handling 28-9288-13 29952813 0000-00 1234 HPrep 26/10 Desalting 28-9288-13 29952813 0000-00 1234 HPrep 26/10 Desalting	Error of colocit a column and	viduai.			
Opener ID:		Code la	t exp.	ID	
Select ID: 28-3288-13 28928813 0000-00 1234, HiPrep 261 v New 28-3288-13 12345578 0000-00 0005, HiPrep 261 D Desalting E 28-3288-13 12345578 0000-0005, HiPrep Desalting 26-3281 12345578 0000-00000, HiPrep Desalting 26-3281 12345578 0000-0000, HiPrep Desalting 26-3281 12345578 0000-0000, HiPrep Desalting 26-3281 1234578 0000-000, HiPrep Desalting 26-3281 1234578 0000-000, HiPrep Desalting 26-3281 1234578 0000-000, HiPrep 26-10 Desalting E Apply to all methods with the same column type Methods Remark Column Barcode Column type Column Handing 28-9288-13 28928813 0000-001 1234 HiPrep 26/10 Desalting	Enter ID:		-	Clear	
Disable column logging 28-3281-13 12345678 0000-00 0005, HPrep 2610 Desalting E 28-3281-13 12345678 0000-00000, HPrep Desalting 26-0000 28-9281-13 12345678 0000-0000, HPrep Desalting 26-0000 28-3281-13 12345678 0000-00000, HPrep Desalting 26-0000 28-9281-13 1234578 0000-0000, HPrep Desalting 26-0000 Apply to all methods with the same column type Methods Remark Column Barcode Column type Column Handling 28-9288-13 28928813 0000-001 1234 HPrep 26/10 Desalting HPrep 26/10 Desalting	Select ID:	28-9288-13 28928813	0000-00 1234, HiF	Prep 261 🗸 New	
Apply to all methods with the same column type Methods Remark Column Barcode Column type Column Handling 28-9288-13 29928813 0000-00 1234 HiPrep 26/10 Desalting) Disable column logging	28-9288-13 12345678 28-9288-13 12345678 28-9288-13 28928813	0000-00 0005, Hif 0000-00 0006, Hif 0000-00 1234, Hif	Prep 2610 Desalting E Prep Desalting 2610 E Prep 2610 Desalting E	
Column Handling 28-9288-13 28928813 0000-00 1234 HiPrep 26/10 Desalting	Apply to all methods with	n the same column typ	e	m Bacada	Column turns
commit transming	Methods	nemark	LUIU	IIIII Dalcoue	COUNTIENDO
	Methods Column Handling	Heman	20.0	200.12.20020012.0000.00.1224	HiProp 26/10 Decelling
	Methods Column Handling	Heman	28-9	288-13 28928813 0000-00 1234	HiPrep 26/10 Desalting
	Methods Column Handling		28-9	288-13 28926813 0000-00 1234	HiPrep 26/10 Desalting
	Methods Column Handling	nemaix	28-9	288-13 28928813 0000-00 1234	HiPrep 26/10 Desalting
	Methods Columin Handling	remark	28-9	11104000 288-13 28928813 0000-00 1234	HiPrep 26/10 Desalting

8.4、強制終了

実行中のメソッドを強制終了させる場合は、次のように操作します。

- 1、画面上部のツールバーから End ボタンをクリックすると、End Run ダイアログが表示されます。
- 2、強制終了までのデータを保存する場合は、Save Partial Result にチェックを入れ OK ボタンをクリックします。

8.5、メソッド実行中のマニュアル操作

	▶ ■ 🗐 🞖	10 35	(1)										
ystem - UNTITL	LED		(1)										
un Data em siste hod Run	Acc. volume 1.56 ml ov	Scouting no.	System flow 2.700 ml/min	ev 0.0 %	Sample flow 0.000 mVmin ev	PreC pressure 0.00 MPa	DeltaC pressure 0.00 MPa	-0.752 mAU	UV 210 - mAU	UV3_0 pH - mAU 4.0	4 1.07	Cond 15.90 mS/cm	
al load	Column position 1	Outlet Out-Waste	Inlet A A1	Inlet B B1	Sample inlet Buffer	pH-valve pH+restrictor	Air inlet A No air	Air inlet B No air	Air sample inlet No air	Frac position Fra 0.0	rac temp I.0 °C	Frac temp target 10.0 °C	(2
10 30 50 50 50 50 50 50 50 50 50 5	Λ											(3)	
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	(4)	2 0.26 0.3	038 04 04 5y 5a 0 - A1 0 - B1 - Buffer	stem flow 2.700 ml	0.6 0.85 0.7 /min 0.0 %8 Manual load	0.75 0.8 0.8 Prec High alas Dettac High alas	5 0.9 0.95 0.00 MPa Cond m 0.80 UV1 UV 0.00 MPa 0.30	1 1.06 1. 15.90 m5/cm -0.752 mAU Cond	1 115 12 pH 4.07 Restrictor	Temp 0.0 °C	1.45 1.5	156 16 16	5

No.	説明
1	ツールバーボタン
2	Run Data 表示されていない場合は View↓run data
3	クロマトグラム
4	Process Picture マニュアルの命令入力可能。流路表示、コンポーネントの状態、パラメーターの表示
5	Run log Run 中のイベントが記録される

<u>8.5.1、アイコン</u>

System Control の画面上部にあるツールバー中のアイコンで、以下の操作が可能です。

	Open Method Navigator	Method Navigator を開き保存されたメソッドのリストを表示
	Run	メソッドを実行します(メソッドが実行されている時はグレー表示になります)。
244	Hold	ポンプからの送液は止めずに、今の状況を維持したい場合にクリックします。
11		Continue ボタンがクリックされるまで送液を維持したままメソッドの進行は一時停止します。
Ш	Pause	ポンプからの送液を止め、今の状況を一時停止したい場合にクリックします。
		メソッドの内容は Continue ボタンがクリックされるまで一時停止します。
		システムにエラーが起きた場合、自動的に Pause になります。
	Continue	Hold、Pause の解除をします。
	End	実行しているメソッドを中断し終了します。
	Documentation	システムと実行中の Run の情報が表示されます。
8	Customize	Customize ダイアログが開き、表示 Curve、Run data グループと Run log 内容の設定がで
0		きます。
$\Pi_{\Pi_{-}}$	Column	Column Handling ツールが開き登録されたカラムのパラメーターを表示。
ШШШ	Handling	│ │ オプションで Column Logbook にカラムの使用履歴を保存できます。



8.5.2、マニュアル命令

メソッド実行中にマニュアル操作で命令を追加したり、変更したりすることができます。 Manual Instruction ダイアログを表示させ、任意のコマンドを選択、実行します。

Process Picture から命令することもできます。



8.6、ウィンドウ表示

1、表示されたウィンドウで**右クリック**します。

2、メニューから Customize を選択し、Customize ウィンドウを表示します。

<u>8.6.1、Run Data の選択</u>



8.6.2、カーブの選択

- 1、Curves タグをクリックします。
- 2、表示したいカーブ名にチェックを入れます。表示を解除する 場合は、チェックを外します。
- 3、 OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。



<u>8.6.3、Y 軸の設定</u>

- 1、Y-axis タブをクリックします。
- 2、軸の設定をしたいカーブをクリックし選択します。
- 3、選択したカーブのスケール表示を、Auto(オートフルスケー ル)または Fixed(固定軸表示)で表示できます。
- 4、3 つの UV カーブを同じスケールで表示したい場合は、All with this unit をクリックします。
- 5、クロマトグラムの右側にも Y 軸の目盛りを表示させたい場合 は、Right Axis から任意のカーブ名を選択します。
- 6、 OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。

<u>8.6.4、X 軸の設定</u>

- 1、**X-Axis** タブをクリックします。
- 2、X 軸のベース(時間、容量)の指定とスケール表示を、
 Auto(オートフルスケール)または Fixed(固定軸表示)、Window(指定範囲)で表示できます。
- 3、 OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。



Run Data Groups	Run Data Color	Curves	Curve Style and Color	X-Axis	Y-Axis	Run Log	
Base							
() Time							
Volume							
O Column Volum	ne						
Axis scale							
Auto Min:	Max:						
O Fixed: 0.00	1.0000 ml						
-							
() Window	2.00 ml						

9、データ処理

※ 本作業はスケジュールバックアップを含む、データベースのバックアップが行われていない時に実行してください。

※ UNICORN 6 をお使いの方、および UNICORN 7 で Evaluation Classic をお使いの方は、「9.2、 <UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic の場合> 」へお進みください。

UNICORN 7 で Evaluation Classic ライセンスが導入されている場合、以下の手順で両者の表示モジュールを切り換えることが 出来ます。

<Evaluation から Evaluation Classic への切り換 え>

- 1、Evaluation の File タブをクリックします。
- 2、 Applications を選択します。
- 3、 Switch to Evaluation Classic を選択します。
- 4、Evaluation モジュールが閉じ、Evaluation Classic モジュールが起動します。

<Evaluation Classic から Evaluation への切り換 え>

- Evaluation Classic の Switch to Evaluation
 ボタン(右図では一番右側のボタン)をクリック
 します。
- Evaluation Classic モジュールが閉じ、
 Evaluation モジュールが起動します。

9.1、<UNICORN 7 の場合>

※ 手順の詳細は Help 中に記載される「Getting started (動画)」「Peak area calculations」「Compare results」などをご 参照ください。

9.1.1、データの呼び出し

1、Evaluation の Results タブをクリックします。

Results		Evaluation	
Copen Workspace Workspace Stroup By Folder Filter Arrange	l A		
Iders	Results		UNTITLED 001
DefaultHome	Name	Date Created By System	mAU 100-
	/DefaultHome		80-
	UNTITLED 001 3/3	/2020 3:23 PM Default AKTA_pure_1776	60
	UNTITLED 002 3/3	/2020 3:26 PM Default AKTA_pure_1776	40-
	/DefaultHome/AKTA_pure_1776647 (Manual)		20
	Manual Run 001 2/1	4/2020 2:07 PM Default AKTA_pure_1776	ot
	Manual Run 002 2/2	7/2020 6:43 PM Default AKTA_pure_1776	0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4
	Manual Run 003 2/2	7/2020 6:49 PM Default AKTA_pure_1776	> Add Note
	Manual Run 004 2/2	B/2020 3:05 PM Default AKTA_pure_1776	Courte Data
	Manual Run 005 3/3	/2020 1:47 PM Default AKTA_pure_1776	Created By Default System Used AKTA pure 1776647
	Manual Run 006 3/3	/2020 1:50 PM Default AKTA_pure_1776	Steen and here here here here

2、該当するファイルをダブルクリックします。

9.1.2、画面表示



9.1.2.1、カーブの選択

画面表示したいカーブを指定します。

1、画面右側の Curve Selection から、表示したいカーブ名をクリックします。カーブ名の左にある●が色付きの場合にカーブ 表示され、白い場合は非表示になります。カーブ名が隠れている場合は▼ボタンをクリックします。



<u>9.1.2.2、Y 軸の設定</u>

1、Axis タブをクリックします。

B	🖨 🔦 🚳								Evaluation - test Res S 0	01*
File	Home	Axes V	/iew Peaks							
Unit	mAU	Ť	Unit ml Vol	ume • k	Zero at Injection	1 •	Right Y-Axis		AT.	
Min	-3.6	mAU ±	Min	-5.7 ml			None	•	ш	
Max	66.9	mAU	Max	38.6 ml	luit				1 cm UV Path Length	
	Y-Axis			X-	Avis		Right Y-Axis		Normalize	

2、スケール表示を変更したいカーブの単位(Unit)をプルダウンメニューより選択します。

3、必要に応じて最小値(Min)および最大値(Max)を設定します。

4、クロマトグラム左側のY軸の目盛りとして表示する単位をUnitsから選びます。

5、クロマトグラムの右側にも Y 軸の目盛りを表示する場合は、Right Y-Axis で該当するカーブを選択します。

<u>9.1.2.3、X 軸の設定</u>

1、Axis タブをクリックします。

-												Evaluation - test kes 5 0	DT
File	Home	Axes	Vie	w	Peaks								
Unit	mAU		Ŧ	Unit	ml Volume	•	l ← l	Zero at Injecti	on 1	 Right Y-Axis		at .	
Min	-3.6	mAU	±	Min		-5.7 ml	Default			None	•	ш	
Max	66.9	mAU	elault	Max		38.6 ml	Delault					1 cm UV Path Length	
	Y-Axis						X-Axis			Right Y-Axis		Normalize	

2、X軸のベース(時間、容量、カラム体積)を単位(Unit)のプルダウンメニューより選択します。

3、必要に応じて最小値(Min)および最大値(Max)を設定します。

4、Zero at Injection にチェックを入れると、サンプル添加のリテンション時間(体積)を 0 min (ml)として表示します。 9.1.2.4、ズームアップ

クロマトグラムの任意の範囲をズームアップできます。 1、Home タブをクリックします。

8 9	* 8	l				
File	Home	Axes	View	Peaks		
텻	Ģ] (•	3	Overview	×
Presentat	ion Wind	low Exp	oort data	Reset	All Tiles	Close Result(s)
Сору	to Clipboar	d Exp	oort	Zo	om	Close

- 2、Zoom In ボタン(虫眼鏡の中が+)をクリックします。
- 3、ドラッグして、ズームアップしたい範囲を囲います。
- 4、1回前の表示に戻す場合は Zoom Out ボタン(虫眼鏡の中がー)をクリックします。ズームアップを解除するには Reset ボタンをクリックします。

9.1.3、クロマトグラムの印刷

印刷する際は、プリンターに電源が入っていること、コンピューターとプリンターが USB ケーブルなどで接続されていることを確認します。また必要に応じ印刷終了後にプリンターの電源を切ることも可能です。



		Evaluation - test Res S 001*	- ā ×
File Home Axes	View Peaks		0
 Asave Save As Close Sign Result Export Import Print Applications Help About Close Evaluation Close Evaluation Exit UNICORN 	Print Copies: 1 Printer Image: Copies: Settings Settings Image: Copies: Portrait Orientation Include Chart Image: Chart Include Table Image: Chart Image: Chart <th>restant Ter fres 501</th> <th></th>	restant Ter fres 501	
		I of 1 j b	×

2、Settings から用紙の向きを設定します。

3、必要に応じて印字項目を Include Content から選択します。

<u>9.1.4、ファイルのクローズ</u>

1、Home タブをクリックします。

6 6	N	I				
File	Home	Axes	View	Peaks		
0=			÷ '		Overview	
Presental	tion Wind	ow Ex	port	Q Reset	All Tiles	Close Result(s)
Сору	to Clipboard	d Ex	port	Zo	om	Close

2、Close Result(s)ボタンをクリックします。

9.1.5、複数のクロマトグラムの表示

1、Evaluation の Results タブをクリックします。



- 2、該当するファイルにチェックを入れます。
- 3、 Compare ボタンをクリックします。
- 4、Home タブで表示させるカーブを指定します。カーブ名の左にある●の部分(または相当する部分)をクリックすると、全てのリザルトの同一名称のカーブが表示されます。カーブ名の左にある▲の部分を展開すると、それぞれのリザルトのカーブについて表示/非表示の指定ができます。



5、カーブをシフトさせる場合は、Overlay タブをクリックします。%が記載されるボタンをクリック、もしくは数字を入力すると、全てのカーブがリザルト単位でシフトします。



<u>9.2、<UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic の場合></u>

9.2.1、データの呼び出し

1、Evaluation より File \downarrow Open \rightarrow Result Navigator を選択します。

2、該当するファイルをダブルクリックします。

9.2.2、画面表示

1、表示されたウィンドウで、右クリックします。

2、メニューから Customize を選択し、Customize ウィンドウを表示します。

9.2.2.1、カーブの選択

- 1、Curves タブをクリックします。
- 2、画面表示したいカーブを指定します。表示したいカーブ名に チェックを入れます。表示を解除する場合は、チェックを外しま す。
- 3、 OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。

Curve	Style and Color	EC	iit Texts	Lay	out ubrary
Header	Curve Names	Y-Axis	X-Axis	Curve	Peak Table
Celect currier	to display:				
ZI 001 · LIV 1	280 Chrom 1-UNTITL	ED 003			
002: UV 2	0 Chrom.1:UNTITLED	003			
003: UV 3	0 Chrom.1:UNTITLEE	003			_
7 004: Cond	Chrom.1:UNTITLED 0	03			
005: % Co	ond_Chrom.1:UNTITLE	003			
2 006: Conc	B_Chrom.1:UNTITLEE	003			
007: pH_C	Chrom.1:UNTITLED 003				
008: Syste	em flow_Chrom.1:UNTI	TLED 003			
009: Syste	em linear flow_Chrom.1	UNTITLED 003			
010: Syste	em pressure_Chrom.1:l	JNTITLED 003			
013: Cond	temp_Chrom.1:UNTIT	LED 003			
014: Samp	ple flow_Chrom.1:UNTI	TLED 003			
015: Samp	ple linear flow_Chrom.1	UNTITLED 003			
🗸 022: Run I	Log_Chrom.1:UNTITLE	D 003			
025: Samp	ple pressure_Chrom.1:0	JNTITLED 003			
026: PreC	pressure_Chrom.1:UN	TITLED 003			
2 027: Delta	C pressure_Chrom.1:U	INTITLED 003			
028: Post	C pressure_Chrom.1:UI	NTITLED 003			
029: Cond	Q1_Chrom.1:UNTITLE	ED 003			
030: Cond	Q2_Chrom.1:UNTITLE	D 003			
U31: Cond	Q3_Chrom. I:UNTITLE	D 003			
032. Cond	tome Chron 1/UNTITL	ED 003			
V 055. Flac	temp_cnroin. r.oktrite	ED 003			
Clear	Select All				
				OK	
		ly to all chromate	ograms	OK	Cance

×

<u>9.2.2.2、Y 軸の設定</u>

- 1、Y-Axis タブをクリックします。
- 2、軸の設定をしたいカーブをクリックし選択します。
- 3、選択したカーブのスケール表示を、Auto(オートフルスケール)または Fixed(固定軸表示)で表示できます。
- 4、3 つの UV カーブを同じスケールで表示したい場合は、All with this unit をクリックします。
- 5、クロマトグラムの右側にも Y 軸の目盛りを表示させたい場合 は、Right Axis から任意のカーブ名を選択します。
- 6、 OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。

Curve	Style and Color	Ed	lit Texts	Lay	out Library
Header	Curve Names	Y-Axis	X-Axis	Curve	Peak Table
elect curve to 001: UV 1_28 002: UV 2_0_ 003: UV 3_0_ 004: Cond_Ch 005: % Cond_ 006: Conc B_ 006: Conc B_ 007: pH_Chroo 008: System fil	o modify axis scale for: 0. Chrom. 1:UNTITLED 00 Chrom. 1:UNTITLED 003 Chrom. 1:UNTITLED 003 irom. 1:UNTITLED 003 Chrom. 1:UNTITLED 003 Chrom. 1:UNTITLED 003 wChrom. 1:UNTITLED 003	03 Scale Aut Fix 003	for curve number to Min: ced: -6000.001 All With 1	001 Max: 6000.000 mAU Fhis Unit	J
009: System lir 010: System p 013: Cond terr 014: Sample fil 015: Sample p 025: Sample p 026: PreC pret 027: DettaC pr 028: PostC pre 028: PostC pre 029: Conc Q1	nearflow_Chrom.1:UNTI ressure_Chrom.1:UNTITLED op_Chrom.1:UNTITLED ow_Chrom.1:UNTITLED nearflow_Chrom.1:UNTIT ressure_Chrom.1:UNTITLE sesure_Chrom.1:UNTITL essure_Chrom.1:UNTITL essure_Chrom.1:UNTITLE Ochrom.1:UNTITLED 00	TLED (LED 0(003 003 TLED 0(LED 0(D 003 LED 0(001: L 001: L None	which axes to die xis JV 1_280_Chrom. Axis	splay: .1:UNTITLED 00	3 ~
030: Conc Q2 031: Conc Q3 032: Conc Q4 033: Frac temp 039: UV cell p 089: Sample fl 090: System fl	Chrom.1:UNTITLED 00 Chrom.1:UNTITLED 00 Chrom.1:UNTITLED 00 Chrom.1:UNTITLED 00 Chrom.1:UNTITLED 01 ath length. Chrom.1:UNT low (CV/h)_Chrom.1:UNT ow (CV/h)_Chrom.1:UNT	3 3 3 03 1TLED 1TLED 1TLED			
٢		>			
		ly to all chromate	ograme	OK	Cance

Customize: Chrom.1

<u>9.2.2.3、X 軸の設定</u>

1、**X-Axis** タブをクリックします。

2、X 軸のベース(時間、容量、カラム体積)の指定とスケール 表示を、Auto(オートフルスケール)または Fixed(固定軸 表示)で表示できます。

Adjust retention zero to injection number をチェックしていると、サンプル添加のリテンション時間(体積)を 0 min (ml) として表示します。

3、 OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。

	Style and Color		Edit Texts	Lav	out Library
Header	Curve Nam	ies Y-Axis	Y-Axis X-Axis		Peak Table
Base					
) Time					
Volume					
	/olume				
Axis scale -					
Auto					
	fin: Max:	000			
O Fixed.	0.00000 0.00	uuu mi			
Adjust re	ention zero to inj	jection number:	~		

<u>9.2.2.4、ズームアップ</u>

クロマトグラムの任意の範囲をズームアップできます。

- 1、ズームアップしたい範囲にカーソルを移動します。
- 2、ドラッグして、ズームアップしたい範囲を囲います。

3、ズームアップを解除するには、右クリックし、メニューから Reset zoom を選択します。

9.2.2.5、クロマトグラムのテキスト入力

- 1、クロマトグラムウィンドウで右クリックしてメニューより Add text を選択します。
- 2、カーソルをテキスト入力したい場所に移動し、クリックします。
- 3、<text>という字が表示されたら、<text>の位置に入力したい文字を入力します。

9.2.3、クロマトグラムの印刷

印刷する際は、プリンターに電源が入っていること、コンピューターとプリンターが USB ケーブルなどで接続されていることを確認します。また必要に応じ印刷終了後にプリンターの電源を切ることも可能です。

- 1、印刷したいクロマトグラムを表示します。
 - **File** ↓ **Print** を選択し、**Print Chromatograms** ダイアログを表示します。
- 2、Print format(クロマトグラムの配置)を選択します。
- 3、カーブを太線で印刷する場合は Use thick lines をチェックします。
- 4、 Preview をクリックすると Customize Report 画面が表示され、ここで印 刷のプレビューが確認できます。

File ↓ Exit でプレビューを終了します(この画面からレイアウトの変更お よびレポートフォーマットとしての保存も可能です)。

- 5、印字の横置き、縦置きの設定を変更する場合は Printer の Properties ボタンをクリックし、設定を変更、確認します。OK ボタンなどをクリックします。なお設定方法はプリンターにより異なります。
- 6、**OK** ボタンをクリックします。



10、システムの終了

10.1、システムおよびカラムの洗浄

システムおよびカラムを洗浄する方法として、マニュアル操作で使用したラインを洗浄する方法(10.1.1)と、メソッドを作成して洗浄する方法(10.1.2)があります。

10.1.1、マニュアル操作での洗浄

マニュアル操作でカラムを洗浄する場合は、必ず耐圧設定を入力してからカラムへ送液します(4.1章を参照)。

1、使用したインレットチュービング(サンプルポンプを使用した場合は、サンプルインレットも含む)を超純水に接続します。

2、ポンプ内の溶液置換をします。Manual Instructions ダイアログより

- Pumps and pressures ightarrow Pump Wash ightarrow (使用したインレット) ightarrow Execute
- 3、カラムの洗浄を行います。ポンプ洗浄が終了したら Manual Instructions ダイアログより
 - Alarms → Alarm pre-column pressure → High alarm (Max pre-column pressure の値) → Execute

Alarms \rightarrow Alarm delta column pressure \rightarrow High alarm (Max delta column pressure の値) \rightarrow Execute

Flow path \rightarrow Column Position \rightarrow Position 2 (使用したポジション) \rightarrow Execute

Pumps and Pressures \rightarrow System Flow \rightarrow (至適流速またはそれ以下) \rightarrow Execute

カラム体積の3倍以上の超純水を流し、UV、Cond、Pressureカーブが安定したらENDボタンをクリックします。

4、フラクションラインの洗浄を行います。 Manual Instructions ダイアログより

Pumps and Pressures \rightarrow System Flow \rightarrow 5 ml/min \rightarrow Execute

Flow path $\rightarrow\,$ Outlet Valve $\,\rightarrow\,$ Fraction collector $\,\rightarrow\,$ Execute

Fraction collection ightarrow Accumulator wash ightarrow Execute

アウトレットバルブで分取した場合、使用したラインの洗浄も行います。

Flow path \rightarrow Outlet Valve \rightarrow (任意のポート) \rightarrow Execute

1 分以上送液したら END ボタンをクリックします。

5.1、サンプルループを使用した場合は、サンプルループの洗浄を行います。

超純水を満たしたシリンジをインジェクションバルブの Syr ポートに接続し、サンプルループ体積の3倍量以上の超純水で洗浄します。この際、空気の混入は問題ありません。

5.2、サンプルポンプを使用した場合は、0.5~1M 水酸化ナトリウムのような洗浄溶液での送液洗浄を行います。サンプルイン レットを洗浄溶液のボトルに接続します。

Flow path $\,\rightarrow\,$ Injection value $\,\rightarrow\,$ Direct inject $\,\rightarrow\,$ Execute

Pumps and Pressures \rightarrow Sample Flow \rightarrow 1 ml/min \rightarrow Execute

20~30 分以上送液したら END ボタンをクリックします。

洗浄後、サンプルインレットを超純水のボトルに接続し、ポンプ洗浄を行います。

```
Pumps and pressures \rightarrow Pump Wash \rightarrow (使用したサンプルインレット) \rightarrow Execute 6、終了したら END ボタンをクリックします。
```

-46-

エンドタイマ- Other \rightarrow ・	-機能を使うと、設定時間 Timer → (パラメータ-	もしくは設定液量送液後に自動 -を設定) → Execute	動終了することができます。
Instructions	Selected column type: Parameters for Timer	Select	
Plumps and pressures Plow path Monitors Plow path Monitors Fraction collection Advanced Watch parameters Other Set mark Timer	Select Base ○ Acc. tme ○ Acc. volume Tmecot [00 - 5999 00]	v	
Save result as:		Browse	
Auto update of paramet	ters during run	Execute Close	

上記はサンプルポンプを除き、超純水のみの洗浄ですが、必要に応じて超純水での洗浄に引き続き水酸化ナトリウムのような 洗浄溶液での洗浄や、保存用の 20%エタノールの置換作業を同様の手順で行います。

Mathad Cattings

10.1.2、メソッド作成による洗浄

- 1、カラム洗浄用のメソッドを作成します。なお、メソッド作成の概要は 7 章をご参照 ください。既にメソッドを作成済みの場合は項目 12 より実施します。
- 2、Method editor より File ↓ New Method を選択します。
- 3、 **Predefined Method** にチェックを入れ、 **Column Preparation** を選択し、 **OK** ボタンをクリックします。

lew Method	>
System:	
System	~
Create a new method by using the:	
Predefined Method:	
Column Preparation	×
Method Description The column is filled with buffer i identity, volume, flow rate and in preparation solutions can be us	solution. Select inlet positions. Enter the solution cubation time. By adding steps, several ed.

- 4、メソッド概要中の Method Settings ボタンをク リックします。Column selection、Column position などの項目を入力します。
- 5、画面右上の Start Protocol ボタンをクリックし ます。
- 6、表示されたダイアログから、Variable List にチ エックを入れ、OK ボタンをクリックします。

	Show by technique	Cation Evaluate					Hesur	Name	a Localio
	Show by technique	Calion Exchan	ge				1	Start Pr	otocol
	Column type	HiScreen Capt	οS		~		Ν	lethod	Notes
Colum Flow r	Show only sugge Column volume Pressure limit pre- Pressure limit del Use flow restricto n position Position 2 rate 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	sted column	4.657 0.80 0.30	ml MPa (0.02 - 20.00 MPa (0.02 - 20.00	D] 1	Unit sele Method f Flow Ra Monitor s Waveler UV 1	ction Base Unit te Unit ettings Igths [190	CV ml. - 700] 280 254	/min × nm nm nm
	E Contre		old overpi	cashic		🗌 UV 3		214	nm
Fractic Varial Scoutin Text In	ems to display at method on Collector ble List ng Istructions	start	Current se Displays t	tting/item descripti he text instruction	on s of the meth	od.			
Notes Gradie Bufferf Colum Evalua Method Systen Calibra Questi Chano	Pro Ins ation Procedures d Information n Information ation ions eable Batch ID								
Notes Gradie Bufferf Colum Evalua Methoo Systen Calibra Questi Chang Resul	Pro Ins ation Procedures d Information n Information ation dion leable Batch ID It Name and Location								

- メソッド概要中の Column Preparation ボタ ンをクリックします。
- 8、Volume (CV)に洗浄で使用するカラム体積 (3~5)を入力します。また必要に応じて流 速を変更します。
- 9、Phase Library 中の System Preparation を、Method Settings と Column Preparation の間にドラッグします。



10、カラム以外の洗浄するライン(使用した)を 選択します。

(例:初期に選択されているインレットに加

え、B1、Fraction collector、Fraction collector accumulator を選択)

上記で選択した各ラインの洗浄で使用する液 量(20~30 ml)を Volume per position に入力します。

本メソッドでサンプルループを洗浄する場合は、 「Injection valve with capillary loop」にチ ェックを入れ、Loop cleaning volume にサン プルループの 3 倍以上の容量を入力します。



Manual Loop Fill Miscellaneous Sample Application System CIP User Defined

※ サンプルループの洗浄をマニュアルで行う場合は、超純水を満たしたシリンジをインジェクションバルブのSyrポートに接続し、 サンプルループ体積の3倍量以上の超純水で洗浄します。この際、空気の混入は問題ありません。

- 11、File ↓ Save (または Save As) を選択し、任意の名前をつけて保存します。
- 12、洗浄用メソッドで設定したインレットチュービングを超純水に接続します。
- 13、 System Control より File ↓ Open を選択します (Method Navigator が開いている場合は不要です)。
- 14、実行するファイルを選択します。
- 15、**File** ↓ **Run**を選択します。
- 16、 Start protocol 画面が表示されます。

Variable List ウィンドウでカラムの種類を確認します。異なるカラムが設定されている場合は、使用するカラムを選択します。

パラメーターを確認し、Next ボタンをクリックします。 最後のウィンドウまで進めると Finish ボタンがアクティブになります。 Finish ボタンをクリックします。 以降の手順は 8.4 メソッド実行をご参照ください。

10.2、システムの終了

1、File ↓ Exit UNICORN を選択します(どのモジュールからでも選択出来ます)。

もし編集中のメソッドもしくはリザルトがある場合には確認画面が表示されます。編 集を保存する場合は Yes を、保存せず終了する場合は No を、終了しない場合 は Cancel を選択します。

- 2、Windowsを終了します(コンピューターの電源が切れます)。
- 3、ディスプレイ、プリンターなどの主電源を切ります。
- 4、本体左側面の主電源を切ります。
- 5、廃液ボトルの中身は施設の廃液処理基準に従い処理し、空にします。

注意、低温環境下で使用の場合は、本体の電源を入れたままにします。



11、メンテナンス

11.1、システムの保存

システムを 2 日以上使用しない場合、システム全体を 20%エタノールで置換します。20%エタノールに置換する場合は、必ず 超純水でシステムを洗浄してから置換を行います。塩が残った状態で 20%エタノールを流すと塩が析出する恐れがあります。

注意

システムは、バッファーが入ったままで放置しないでください。

11.2、リンス液の交換

1、ポンプピストンの裏側を洗浄するリンス液は、週1回以上ご使用の場合には、週1回定期的に20%エタノールを交換します す(ご使用の頻度がこれよりも少ない場合には、その都度交換します)。またリンス液が減っていたり、濁っていたりする場合 にも交換します。

注意

リンス液が増えている場合は、ポンプシールからの液漏れの可能性があります。弊社技術サービスまでご連絡ください。

2、交換した時は、ポンプ稼働時に、リンス液が循環していることを確認します。

3、循環していない場合は、シリンジを長さの短いリンス液チュービングに接続し、リンス液を吸引します。

11.3、オンラインフィルター

バッファー中の不溶物を除去するために、ミキサー出口側に内蔵されています。フィルターはポリプロピレン製です。システムポンプのバックプレッシャーが高くなった場合は、新品のフィルター(18102711、10枚入り)に交換します。

11.4、インレットフィルター

インレットフィルターが詰まると陰圧になり、エアが発生しやすくなります。新品のフィルター(11000414)に交換します。なお、 サンプルインレット(S1~S7)にインレットフィルターを取り付けると、目詰まりしやすくなるため、取り付けないで下さい。

<u>12、データ管理</u>

12.1、メソッド/リザルトファイルのバックアップ

個別にファイルを保存してメールなどでやり取りをする場合に ご利用いただきます。

«メソッドファイル»

- 1、Method editor より File ↓ Open を選択し、 Method Navigator を展開します。
- 2、該当するファイルを選択します。
- 3、File ↓ Export → to UNICORN → Export Method to UNICORN を選択します。
- 4、保存先を指定します。必要に応じてファイル名を変更 し、**OK**ボタンをクリックします。
- «リザルトファイル: UNICORN 7 Evaluation»
- 1、Evaluation より Results タブをクリックします。
- 2、該当するファイルを選択します。
- 3、右クリックします。
- 4、Export を選択します。
- 5、保存先を指定します。必要に応じてファイル名を変更しま す。
- 6、 Save ボタンをクリックします。

«リザルトファイル: UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic»

- 1、Evaluation (Classic) より File ↓ Open → Result Navigator を選択します。
- 2、該当するファイルを選択します。
- 3、File ↓ Export → To UNICORN → Entire Result を選択します。
- 4、保存先を指定します。必要に応じてファイル名を変更し、 OK ボタンをクリックします。







12.2、メソッド/リザルトファイルの復元

バックアップしたファイルを再度 UNICORN へ読み込む場合に使用します。

※ 本項目でUNICORN 5形式について記載していますが、全てのファイルについて動作を保証するわけではありません。特にメ ソッドファイルは UNICORN 5 および UNICORN 6/7 の両方で動作する ÄKTApilot、ÄKTAprocess、ÄKTAexplorer、 ÄKTApurifier、ÄKTA ready、ÄKTAcrossflow、UniFlux のみが対象です(ÄKTA avant は対象外です)。

«メソッドファイル»

- 1、Method editor より File \downarrow Import \rightarrow Import Method を選択します。
- 2、該当するファイルを選択し、OK ボタンをクリックします。
- Import Method 画面で保存するフォルダーを選択し、Name に任意のファイル名 を入力します。
- 4、Import ボタンをクリックします。

O pen Tose Jew Folder	Ctrl+O		Method Phases
'rint xport	Ctrl+P		
mport			Phase(s)
roperties lecent Methods			Method(s) Method Queue(s)
	ave As ign Method rint xport mport coperties ecent Methods og off 'Default'	ave As ign Method rint Ctrl=P xport mport roperties ecent Methods og off 'Default'	ave As ign Method nint Ctrl=P sport

Import Comparison

Import Folder.

Import FiltrationAnalysis

File	Results	
🖹 S	ave	
E, s	ave As	
. ⊗ c	ose	

A Sign Result...

Export

- «リザルトファイル: UNICORN 7 Evaluation»
- 1、Evaluation より File タブをクリックします。
- 2、Import を選択します。
- 3、Import Result を選択します。
- 4、表示された画面右下のプルダウンメニューよりファイル形式を選択します。 UNICORN 6/7 形式の zip ファイルの場合は「Zip files (*.zip)」を、UNICORN 5 形 式の res ファイルの場合には「UNICORN 5.* Result Files (*.res)」を選択します。
- 5、該当するファイルを選択し、Open ボタンをクリックします。
- 6、Import Result(s)画面で保存するフォルダーを選択し、Name に任意のファイル 名を入力します。
- 7、Import ボタンをクリックします。

«リザルトファイル:UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic»

1、Evaluation (Classic) より File ↓ Import → Entire Result を選択します。

- 2、表示された画面右下のプルダウンメニューよりファイル形式を選択します。UNICORN
 6/7 形式の zip ファイルの場合は「Zip files (*.zip)」を、UNICORN 5 形式の res ファ イルの場合には「UNICORN 5.* Result Files (*.res)」を選択します。
- 3、該当するファイルを選択し、OK ボタンをクリックします。
- 4、Import Result 画面で保存するフォルダーを選択し、Name に任意のファイル名を 入力します。
- 5、Import ボタンをクリックします。

File A D C B A A	Edit View New Open Open to Compan Multi Result Peak Close	Integrate e Compare	Operat + +	tions	Procedures	Tools	
	New Folder Save						
Ø	Print	Ctrl+F	1				
Ŵ	Report Export						
					Curves		
G	Log Off 'Default' Exit UNICORN				Entire Result(s) DoE Result(s) Filtration Analy	 , /sis Resu	

-53-

12.3 ファイルの削除

«メソッドファイル»

- 1、Method editor より File ↓ Open を選択し、Method Navigator を展開します。
- 2、該当するファイルを選択し、右クリックします。メニューより Delete を選択します。
- 3、確認画面が表示されます。Yes ボタンをクリックします。

«リザルトファイル: UNICORN 7 Evaluation»

- 1、Evaluation より Results タブをクリックします。
- 2、該当するファイルを選択し、右クリックします。メニューより Delete を選択します。
- 3、確認画面が表示されます。Yes ボタンをクリックします。

«リザルトファイル: UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic»

- 1、Evaluation (Classic) より File ↓ Open → Result Navigator を選択します。
- 2、該当するファイルを選択し、右クリックします。メニューより Delete を選択します。
- 3、確認画面が表示されます。Yes ボタンをクリックします。

12.4、ファイル名の変更

«メソッドファイル»

- 1、Method editor より File ↓ Open を選択し、Method Navigator を展開します。
- 2、該当するファイルを選択し、右クリックします。メニューより Rename を選択します。
- 3、ファイル名を入力後、Enterキーで確定します。

Open									
Export									
Import Phase(s)									
Import Method(s)									
Import Method Queue(s)									
Import Folder(s).									
New Folder	Ctrl+N								
Rename	F2								
Copy	Ctrl+C								
Cut	Ctrl+X								
Darta	Ctrl+V								
Delete	Del								
Expand/Collapse	All								
Properties									
Den/Comp	are Enter								
🖉 Rename	F2								
🔏 Cut	Ctrl+X								
🗊 Сору	Ctrl+C								
Deste Paste	Ctrl+V								
🕒 Export									
🗊 Delete	Del								
Export									
Quick View									
Import Filtration Anal	ysis Result(s)								
Import Entire Result(s)								
Import DoE Result(s).									
New Folder	Ctrl+N								
Rename	Etiterit								
Сору	Ctrl+C								
Cut	Ctrl+X								

Open	
Export	
Import Phase(s).	
Import Method(s)
Import Method	Queue(s)
Import Folder(s)	
New Folder	Ctrl+N
Rename	F2
Сору	Ctrl+C
Cut	Ctrl+X
Delete	Del
Expand/Collapse	≘ All
Properties	

Expand/Collapse All Properties

«リザルトファイル: UNICORN 7 Evaluation»

1、Evaluation より Results タブをクリックします。

2、該当するファイルを選択し、右クリックします。メニューより Rename を選択します。

3、ファイル名を入力後、Enterキーで確定します。

Den/Compare Enter 🔏 Rename F2 X Cut Ctrl+X Сору Ctrl+C Ca Paste Ctrl+V G Export... Delete Del Export.. Import Filtration Analysis Result(s)... Import Entire Result(s)... Import DoE Result(s)... Import Folder(s)... New Folder Delete Expand/Collapse All

«リザルトファイル: UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic»

1、Evaluation (Classic) より File \downarrow Open \rightarrow Result Navigator を選択します。

- 2、該当するファイルを選択し、右クリックします。メニューより Rename を選択します。
- 3、ファイル名を入力後、Enterキーで確定します。

12.5、データベースのバックアップ

UNICORN 6 および UNICORN 7 ではシステム構成、メソッド、リザルト、カラムリストなどの情報をデータベースとして管理しています。 定期的なバックアップにより、コンピューターの不測事態によるデータ損失を最小限にとどめることが出来ます。

12.5.1、手動でバックアップを実施する場合

- 1、Administration より Database Management をクリックします。
- 2、Backup タブをクリックし、右下の Backup Now ボタンをクリックしま す。
- 3、確認画面が表示されます。**OK**ボタンをクリックします。作業時間はデ ータベースの大きさや、コンピューターの稼働状況に依存します。なお バックアップ中は、メソッドファイルまたはリザルトファイルの編集を行わな いよう、ご注意ください。
- 4、バックアップ終了後、表示された画面で、Go To Backup File ボタン をクリックします。保存先フォルダーを開き、データベースがバックアップさ れていることを確認します。ファイル名は、以下となります。 UNICORN_MANUAL_BACKUP_yyyymmdd_hhmmss.BAK yyyymmdd_hhmmss はバックアップ時の日時です。 必要に応じて、バックアップファイルを外部記憶装置にコピーします。

васкир	Restore	Archive	Retrieve	Release Objects			
Currer	it backup se	ttings					
A backu	up is perform	ed daily at 0	3:00 Hours				
The bac Healthc	kup files are are\UNICOR	saved at loc N/UNICORM	ation C:\Prog	ram Files (x86)\GE ickup.			
The las	t 14 recent bi	ackup files a	re kept.				
							_
				Edit Backup	Schedule	Backup Nov	6.00

12.5.2、自動バックアップスケジュールを変更する場合

- 1、Administration より Database Management をクリックします。
- 2、Backup タブをクリックし、Edit Backup Schedule ボタンをクリックしま す。
- 3、Edit Backup Schedule のウィザード画面が表示されます。Next ボ タンをクリックします。
- 4、バックアップファイル生成の頻度および開始時間を設定し、Next ボタ ンをクリックします。
- 5、スケジュールバックアップファイルの最大保存数を確認します(初期設 定では 14 ファイル)。
- 6、Nextボタンをクリックし、設定内容を確認します。Finishボタンをクリックします。



12.6、データベースの復元

バックアップしたデータベースを再度 UNICORN に読む込む際に使用します。本作業によりデータベースは復元したものに置き換わります。なお、本作業中に UNICORN は自動的に終了します。必ず他の作業は行わないよう、ご注意ください。

- 1、Administration より Database Management をクリックしま す。
- 2、Restore タブをクリックし、復元したいファイルを選択します。
- 3、右下の Restore ボタンをクリックします。
- 4、現在のデータベースをバックアップするかどうかの確認画面が表示 されます。現在のデータベースをバックアップする場合は Yes ボタ ンをクリックします(手順は 12.1 をご参照ください)。既にバック アップが終了している場合は No ボタンをクリックします(以下は No を選択した時の手順です)。
- 5、選択したファイルを復元するかどうかの最終確認画面が表示されます。OK ボタンをクリックします。作業時間はデータベースの大きさや、コンピューターの稼働状況に依存します。
- 6、Restore successful 画面が表示されたら OK ボタンをクリックします。

Backup	Restore	Archive	Retrieve	Release C	bjects			
Select bac	kup file:							
C:\Progra	m Files (x86)	GE Healthcar	e\UNICORN\	UNICORN D	atabase\Backup	p		
Name					Date modified		Size (MB)	
UNICOR	N_MANUAL	BACKUP_20	191017_1801	55.BAK	10/17/2019 6:0	2:00 PM +09:00	70.301	
Show	only backup	files					Restore	
	,,							_
							Clos	se
5								
Are	estore of UN	ICORN MAN	UAL BACKU	P 20100121	194337.BAK is	to be performed	. Your current d	atal
	be replaced. CORN modu	All changes les will autom	that have bee satically be clo	en made after osed on this	since the back	up was created v	vill be lost. All oth	er
You	cannot per	form any othe	er activities u	ntil the restor	e process has	finished.		
Do	you want to c	ontinue?						

13、付録

13.1、英文マニュアルのダウンロード

英文マニュアルの PDF は、弊社本国ウェブサイトよりダウンロード可能です。 お手元に説明書がない場合には、マニュアル名や UNICORN などのキーワー ドでサイト内検索すると、ダウンロードできます。なお、予告なしに公開を終 了する場合があります。

🕐 cytiva		8	Ô	Q		=			
	\downarrow								
Search Cytiva									
SEARCH Q									

アクセス先 www.cytiva.com

画面左上の検索バーに数字を入力します

	Administration	Method Manual	System Control	Evaluation Manual	OPC Manual
	Manual	Wandar	Manual	Wallaa	
UNICORN 7.6	29503103	29503105	29503108	29503107	29503109

User Manual: 29035184

Operating Instructions: 29101556

13.2、圧力センサーのキャリブレーション

送液停止(End)時に圧力値が±0.02 MPaを超える場合に、以下の手順でキャリブレーションを行います。

1、 System Control より、 System ↓ Calibrate を選択し、 Calibration ダイアログを表示します。

alibration - System						×
Monitor to calibrate:	System pressure	~	Current value	0.00		
Calibration procedu	re					
Sets the system pr	ressure to zero.			Description		^
Reset pressu	Ire			'System pressure' is pump pressure mon to zero. Detailed information	used to calibrate the sy itor. The system pressure	stem e is set
Last calibrated on:				Loosen the capill System pump press user manual for the pressure monitor. 2. Press the 'Reset calibration date and displayed. 3. Reconnect the c	ary, which is connected ure monitor. Please refer location of the system p pressure' button. The n the current pressure va apillary to the System pu	to the to the ump ew lue are
0					Generate Report	Close

2、キャリブレーションが必要な圧力センサー部分のコネクターを外して開放します。



3、Monitor to calibrate から該当するコマンドを選択し、Reset pressure ボタンをクリックします。

4、キャリブレーションが終了したら Close ボタンをクリックしてダイアログを閉じます。

5、開放したコネクターおよびチュービングを再接続します。

13.3、pH 電極のキャリブレーション

pH 電極を使用する時に実施します(2点校正)。未使用時には pH 電極を保護液(保存液)に浸漬させます。

1、pH 電極のケーブルが pH バルブのユニット(左上)に挿入されていることを確認します。

2、 System Control より、 System ↓ Calibrate を選択し、 Calibration ダイアログを表示します。

nitor to calibrate: pH		 Current val 	ue	3.986	
Calibration procedure Prepare for calibration					
Calibration for pH electrode buffer 1.		[0-14]		Waming! Do not start a run (manually or using a method) when the pH calibration window is open.	^
pH for buffer 1	0.0000			Description	
		[0-14]		pH' calibrates the pH electrode with two point	
pH for buffer 2	0.0000			calibration, i.e., using two pH calibration solutions. It can also be used to fill the pH cell with storage solution since the pH valve is in calibration position.	
ast calibrated on:				For calibration, preferably use pH standard buffers	
alibrated electrode slope; %				standard buffer close to the lowest or highest pH	
ssymetry potential at pH 7; mV				Benericken	
					~

- 3、ダミー電極を取り外し、pH 電極を pH バルブのフローセルに接続します。
- 4、Monitor to calibrate から pH を選択し、Prepare for calibration ボタンをクリックします。
- 5、pH for buffer 1 に最初の校正液の pH を入力します。
- 6、10 ml シリンジに校正液を満たし、pH バルブの **Cal** ポートに接続されるルアーコネクターと 接続し、ゆっくりと校正液を注入します。
- 7、Current value の値が安定したら、上段の Calibrate ボタンをクリックします。電極の状態や温度により、値が安定するまで時間がかかることがあります。
- 8、シリンジを取り外し、10 ml の超純水を満たしたシリンジを再度 pH バルブの Cal ポートに 接続し、洗浄します。
- 9、**pH for buffer 2** に 2 番目の校正液の pH を入力します。
- 10、10 ml シリンジに校正液を満たし、pH バルブの Cal ポートに接続し、ゆっくりと校正液を 注入します。
- 11、Current value の値が安定したら、下段の Calibrate ボタンをクリックします。
- 12、Close ボタンをクリックします。
- 13、シリンジを取り外します。
- ※ 推奨の pH 電極保護液(保存液)は、1 M 硝酸カリウムと pH 4 の溶液を等量混合した溶液です。



※ pH 電極の耐圧は 0.5 MPa です。 Post column pressure の値が 0.5 MPa を越すとシステムは自動的にポーズします。 pH バルブインレットのコネクターを緩めるなどして、 圧力を開放してから Continue ボタンをクリックします。

<u>13.4、pH フローセルの洗浄および pH 電極の保存</u>

使用後に以下の手順で pH フローセル内の洗浄を行います。

- 1、 System Control より、 System ↓ Calibrate を選択し、 Calibration ダイアログを表示します。
- 2、Monitor to calibrate から pH を選択し、Prepare for calibration ボタンをクリックします。
- 3、10 ml シリンジに超純水を満たし、pH バルブの Cal ポートに接続されるルアーコネクターと接続し、ゆっくりと超純水を注入します。
- 4、シリンジを取り外し、保護液(保存液)を満たしたシリンジを再度 pH バルブの Cal ポートに接続し、ゆっくりと保存液を注入します。
- 5、 Close ボタンをクリックします。
- 6、シリンジを取り外します。

※ 2 日以上 pH 電極を使用しない場合は、上記 3 の作業が終了したら pH 電極をフローセルから取り外し、保護液(保存 液)に浸漬します。代わりにダミー電極を pH バルブのフローセルに接続します。

※ pH 電極に対して、強酸、強アルカリ、有機溶媒を送液すると pH 電極の劣化が加速しますので、システム洗浄の際には、 pH 電極を外すか、pH バルブをオフラインにして、pH 電極に溶液を流さないようにします。

13.5、フラクションコレクターアームセンサーの洗浄

フラクションコレクターに設置したカセットの認識が出来なくなったり、溶液が正しく回収できなくなったりした場合にアームセンサー を洗浄します。

1、System Control の Manual Instructions ダイアログより

Fraction collection ightarrow Frac cleaning position ightarrow Execute

- 2、ディスペンサーヘッドがクリーニングポジションへ移動し、システムはポーズ状態になりま す。
- 3、ディスペンサーヘッドのセンサー部分や、ノズルの先端を、超純水もしくは 20%エタノー ルを含む不織布などで汚れを拭き取ります。
- 4、拭いた部分を乾燥させてから、フラクションコレクターの扉を閉じます。
- 5、カセットのスキャンを開始します。
- 6、**End** ボタンをクリックします。

13.6、コンフィグレーションファイルのアップデート



コンフィグレーションファイルには、コマンド、各種設定などのシステム情報が含まれ、不定期的に更新されます。ここではファイル のダウンロード方法および、インストール方法を記載します。なお、手順はご使用の環境(コンピューター、OS、ブラウザ、 UNICORN などの種類、バージョン、設定)によって変わることがあります。なお、最新のコンフィグレーションファイルは、 UNICORN 6.3.2 以降で有効です(UNICORN 6.2 以前、および Windows XP には対応していません)。

13.6.1、コンフィグレーションファイルのダウンロード

- インターナショナルサイト(www.cytiva.com)へアクセスします。
 www.cytiva.com/aktaavant
 www.cytivalifesciences.com/ja/jp/shop/chromatography/chromatography-systems/akta-avant-p-06264
 リンク切れでアクセスできない場合には、「ÄKTA avant」でサイト内検索をします。
- 2、Related Documents タブをクリックします。 Overview Product Data Related Documents Related Products Product Support
- 3、カテゴリー「Software」内にある「ÄKTA (機種名) Instrument Configuration」をクリックし、zip ファイルをダウンロードしま す。ファイルは 20 MB 程度あるため、快適なネットワーク環境で作業されることをお勧めします。

SOFTWARE	ÄKTA avant 150 Instrument Configuration software, release notes, and installation instructions Download
	ÄKTA avant 25 Instrument Configuration software, release notes, and installation instructions Download

- 4、zip ファイルを 1 回解凍します。通常はファイル名に機種名が含まれる zip ファイルと PDF ファイルが格納されています。この zip ファイルは解凍しません。詳細な手順は同梱される PDF ファイルをご覧下さい。
- 5、機種名が記載される zip ファイルを UNICORN がインストールされているコンピューター(デスクトップなど)へコピーします。

13.6.2、システムコントロールの記録

コンフィグレーションファイルを更新すると、システム構成、システムコントロール画面の表示設定およびフラクションコレクターの設定(ディレイボリューム、ランプ照射設定、温度設定)がリセットされることがあります。画面キャプチャーするなどして、変更前の設定を記録します。

13.6.2.1、システム構成

- 1、Administration モジュール内の System properties をクリックします。 III System Properties
- 2、画面左の Systems を選択し、Edit ボタンをクリックします。
- 3、画面左の Component types を上から順にクリックし、それぞれ右側に表示されるコンポーネントのチェック有無および種類をメモします。

	property in the second second second				
Instrument configuration AKTA avant 25 (3.7.0.4)			~	Information	
UNICORN Control PC DESKTOP-N7FKUM5			Ŷ	Rename	
Real-Time Unit					
Instrument serial no:	00000000				
Connect by:	O Fixed IP address				
Component types:	Instrument serial no.		Test Connection		
Valves and pumps			Component selection	Property	
Fraction collectors			Inlet valve A 2nd (V9-A2)		
Other			Inlet valve B 2nd (V9-B2)		
			Sample inlet valve 2nd (V9		
			Inlet valve X1 (V9-IX)		
			Inlet valve X2 (V9HX)		
			Loop valve (V9-L)		
			Column valve 2nd (V9-C2)	3.0	
			Outlet valve 2nd (V9-O2)		
			Versatile valve (V9-V)		
			Vienatile valvo 4 (VS/V)		
			Always present		
			System pump A (P9-A)		
		R	System pump 8 (P9-8)		12

<u>13.6.2.2、System control</u> 画面表示

1、 System control モジュール内で、 Tool → Customize を選択します。

2、それぞれのタブに記載される設定をメモします。



13.6.2.3、フラクションコレクターの設定

- 1、ランプ照射設定、温度設定に関して、1章をご覧ください。
- 2、ディレイボリューム設定に関して、6章をご覧ください。

13.6.3、コンフィグレーションファイルのインストール

ファイルのインストールは、必ず ÄKTA とのコミュニケーションが取れている、エンド状態で行います。

1、Administration を開き、System properties をクリックします。

- System Properties
 2、画面左の Systems を選択し、Edit ボタンをクリックします。
- 3、右上の Import ボタンをクリックします。
- 4、コピーした圧縮ファイルを選択し、Openボタンをクリックします。
- 5、新しいコンフィグレーションのインストールが終了したら、プルダウンリストより最新の コンフィグレーションファイルを選択します。
- 6、「2.1 システム構成」で記録した内容と照らし合わせ、コンポーネントを選択します。
- 7、**OK** ボタンをクリックします。
- 8、UNICORN を再起動します。
- 9、システムコントロール画面を開きます。

Edit - System				
Instrument configuration	AKTA avant 25 (3.7.0.4)	~	Information	
UNICORN Control PC DESKTOP-N7FKUMS Real-Time Unit Instrument serial no: 00000000		Ŷ	Rename .	
Connect by:	O Fixed IP address			
Component types:	Instrument senal no. Test Connection			
Valves and pumps		Component selection	Property	-
Monitore and sensors Fraction collectors		Inlet valve A 2nd (V9-A2)		
Other		Inlet valve B 2nd (V9-B2)		
	1	Sample inlet valve 2nd (V	9-	
	1	Inlet valve X1 (V9-IX)		
	T	Inlet valve X2 (V9-IX)		
	1	Loop valve (V9-L)		
	[Column valve 2nd (V9-C2	0	
	[Outlet valve 2nd (V9-02)		
	1			
	[Versatile valve (V9-V)		
	1			
	1			
	[Always present	•	
	E	System pump A (P9-A)		
	5	System pump B (P9-B)		

10、UNICORN と ÄKTA 本体との接続がされない場合は、System ↓ Connect to Systems を選択し、Connect to systems ダイアログを表示します。

11、System name にチェックを入れます。また Control ラジオボタンが選択されていることを確認します。

12、 **OK** ボタンをクリックします。

13.6.4、システムコントロールの設定

「2.2 System control 画面表示」「2.3 フラクションコレクターの設定」で記録した内容と照らし合わせ、設定します。

13.6.5、既存メソッド

作成済みのメソッドを開くと確認画面が表示されることがあります。**OK** ボタン をクリックしてその画面を閉じます。

もし、システム構成が異なったメソッドを開く場合には、サポートしていないコマンドが赤く表示されます。Text Instructions で編集する必要があります。



13.7、カラム事前定義ファイルアップデート

カラムハンドリング(Column handling)には Cytiva が提供する充填済みのカラム、空カラム、担体の情報があらかじめ定義さ れた状態で管理されています。この情報はお使いの UNICORN が作成された時点のもののため、その後に提供開始した製品 情報を含みません。新たな情報を追加するためには、操作者自身で情報を追加する以外に、弊社本国サイトにて提供され る更新ファイルを使い、定義ファイルを更新することできます。ここでは、ファイルのダウンロード方法および、インストール方法を 記載します。

表示される画面や手順は、使用するコンピューターの OS、ブラウザの種類やバージョンにより異なります。

新規にカラム情報を登録するなど、カラムハンドリングの詳細を確認されたい場合は、「Method Manual」の「Handling column types」をご参照ください。本説明書は弊社本国ウェブにて PDF ファイルで公開しています。

- 下記 URL をブラウザで開きます。
 www.cytiva.com/aktaavant
 リンク切れでアクセスできない場合には、AKTA avant で検索をします。
- 2、Related Documents タブをクリックします。
- 3、カテゴリー「Software」内にある「Column List for UNICORN 6.1 and later versions」をクリックし、zip ファイルをダウンロ ードします。
- 4、ダウンロードしたファイルを UNICORN の PC 上にて解凍します。
- 5、**Tools** ↓ **Column Handling** を選択します(UNICORN 7 の Evaluation 以外であれば、どのモジュールからでも選択できます)。
- 6、Column Type Parameters タグを選択し、Import ボタンをクリックします。

how Column Types by:	Column Type Parameters					
schrigue:						
v ~	Name. Porcerom burged zo a	in Colum (2 50 Cm (Presentes)				
ameter (cm)	Run Parametera:		De	eteile:		
0: 0.77-26; 2.6-7.0; 7.0-30.0; 30.0	Parameters	Value	Unit	arameters	Value	Unit
cess label:	Technique	Anion Exchange	н	Fardware d'arreter	5.0	cm
edefined: Global: Personal 🗸 🗸 🗸	Column volume	392.699	mi 8	led height	20.0	on
arch (names or diameter range)	Column volume unit		T	ypical loading range	3.9-39.3	
	Max pre-column pressure	1.0	MPa T	otal liquid volume (Vt)	337.6	mi
	Max delta column pressu	* 1.0	MPa V	loid volume (Vo)		-
dumn types: 319 of 319	Pressure unit	MPa	1	ypical peak width at bas	e 589.0	el .
eChron 50/300 20 um Capto Q 20 um	Default flow rate	150.0	mi/min A	verage particle diameter	90.0	um .
apto HiRes Q 5/50	Max flow rate	230.0	mi/min N	folecular weight range		Mr.
apto Hilles S 10/100 anto Hilles S 5/50	Default linear flow rate	458.37	om/h Or	rdening Information:		
STPrep FF 16/10	Max linear flow rate	702.83	cm/h	arameters	Value	
STrap 48, T m STrap 48, 5 m	Min pH value (short term)	2	N	ione	Aut Dunes 50/300 20 um Canto Q 20 m	
STrap FF. 1ml	Max pH value (short term	14	0	ode number		
STrap HP, 1 mi	Min pH value (long term)	2	R	lesin name	Capito Q	
STrap HP, 5 ml II and 15/10 Phenol Serbarras HP	Max pH value (long term)	12	R	lesin code number	17-5316-02	
Load 15/10 Q Sepharose HP			H	ardware name	AutOrom 50/300 glass, 20 um steel	
Load 16/10 SP Sepharose HP Load 16/60 Superfex 30 on			н	fardware code number	28901831	
Lucal 14-09 Specifier 75 pg Lucal 14-00 Specifier 20 pg Lucal 14-00 Specifier 20 pg Lucal 14-00 Specifier 75 pg Lucal 14-00 Specifier 75 pg Lucal 24-00 Specifier 79 pg Lucal 24-00 Spec						

7、手順4で解凍して得られた Zip ファイルを選択し、Open ボタンをクリックします。

8、確認画面が表示されたら、Yes ボタンをクリックします。

13.8、試験管ポジションのリセット(メソッド)

※ フラクションコレクターが F9-C の場合のみ、メソッドへの追加が可能です。

※ メソッド実行時に、F9-C が認識する試験管ポジションをリセットする方法です。エンド状態で F9-C の扉を開けた場合、カセット情報読み込みおよび情報リセットのためのスキャンをしますが、直前に実行したラン中に試験管を取り出し、次のランで初期ポジション(該当するカセット、試験管の中で、番号が一番小さい場所)から分取を開始したい場合に効果的です。

- 1、7章の手順に従い、メソッドを作成します。
- 2、画面左下の Global Phase をクリックします。
- Reset tube type を Method settings フェーズの直後にドラッグで 挿入します。
- ※ Global Phase に該当するフェーズが登録されていない場合は、「新 規フェーズの作成・保存」に記載される手順を参考にフェーズを作成し ます。
- 4、メソッドを保存します。

Reset tube type	Method Settings
	Reset tube type ‡T
	•
	Equilibration
	Sample Application

<新規フェーズの作成・保存>

以下のフェーズを作成、Global phase として保存します。既に Global phase として登録されている場合は新規に作成する 必要はありません。

- 1、7章の手順に従い、メソッドを作成します。
- 2、フェーズライブラリー中の「User defined」を「Method settings」の 下にドラッグします。
- 3、フェーズの名前を「Reset tube type」とします。
- 4、Reset tube type フェーズを選択し、Text instructions タブをクリ

	ックします。					
	Phase Properties Text Instructions IT					
	(Main) 0.00 Base: CV, 4.657 (ml), (HiScreen Capto Q ImpRes)#Column type 0.00 Phase: Method Settings 0.00 Phase: SameAstKain 0.00 Ense: SameAstKain 0.00 End 0.00 Fock 0.00 Phase: SameAstKain 0.00 Fock 0.00 Phase: Equilibration					
5	5、 Base SameAsMain の行を選択し、画面下の Instruction box の					

Instructions より、 **Fraction collection** \rightarrow **All tube types** を選択します。



Instruction box			
Breakpoint	Instructions:		
0.00 ± CV	Fraction collection Fractionation Stop fractionation Peak fractionation Last tube filed Fraction collector wash Reset tube type Fraction collector wash Reset tube type Fraction in outlet valve Stop fract in outlet valve Peak fract in outlet valve	Parameters for reset tube type Tube type Var All tube types	<u> </u>
Insert Char Phase Properties	Ige Replace Delete Text Instructions IT		
(Main) 0.00 Base 0.00 Pha 0.00 Pha 0.00 Pha 0.00 Pha 0.00 Pha 0.00 Pha 0.00 Pha 0.00 Pha 0.00 Pha	e: CV, 4.657 (ml), (HiScreen Capto Q. ImpR se: Method Settings se: Reset tube type Sase: SameAsMain Reset (tube type: All tube types Fod, Block se: Equilibration	Nes)#Column type	
6、 左下の Ir	nsert ボタンをクリックしま	ます。	
7、画面下に	ある、 Save Phase ボタ	シをクリックします。	
<u>D</u> elete <u>S</u>	ave Phase Duration & Variables		

8、Global を選択し、OK ボタンをクリックします。

Gave Phase (ave Phase to Phase Library				
Phase <u>n</u> ame:	Reset tube type				
For <u>s</u> ystem:	AKTA avant 25	•			
	Global C Personal				
0		OK Cancel			



TEL:03-5331-9336

(営業日の 9:00 ~ 12:00、13:00 ~ 17:30)

機器アフターサービス(音声案内にしたがい①を選択) FAX:03-5331-9349(常時受付)

製品技術情報に関して(音声案内にしたがい②を選択) e-mail: Tech-JP@cytiva.com(常時受付)

納期/在庫に関して (音声案内にしたがい③を選択)

注)お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

www.cytivalifesciences.co.jp

論文に掲載いただく際の名称・所在地 Cytiva Tokyo, Japan

掲載されている内容および価格は2022年4月現在のものです。価格は希望小売価格(消費税は含まれておりま せん)であり、単なる参考価格のため、弊社販売代理店が自主的に設定する販売価格を何ら拘束するものではあ りません。掲載されている製品は試験研究用以外には使用しないでください。掲載されている内容は予告な く変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標また は登録商標です。お問合せに際してお客さまよりいただいた情報は、お客さまへの回答、弊社サービスの向 上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

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 サンケンビルヂング お問合せ:バイオダイレクトライン TEL:03-5331-9336 e-mail:Tech-JP@cytiva.com



www.cytivalifesciences.co.jp