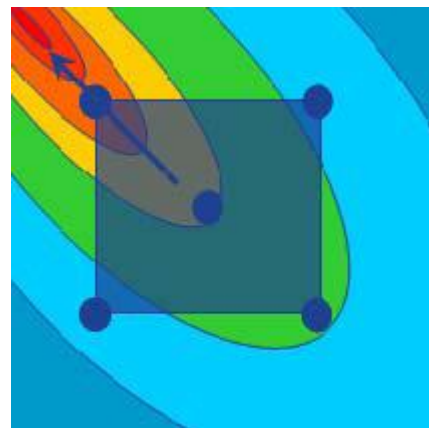


ÄKTA avant 25、ÄKTA avant 150  
 ÄKTA pure 25、ÄKTA pure 150  
 はじめて DoE 機能をお使いの方へ  
 (UNICORN 6.0～6.4  
 UNICORN 7.0～版)



1、はじめに.....	2	7、生データの確認.....	10
2、メソッドの作成.....	3	8、モデルの確認.....	11
3、デザインの設定.....	4	9、モデルの編集.....	12
4、メソッドの実行.....	8	10、モデルの利用法.....	13
5、評価項目の数値化.....	8	11、モデルの印刷.....	15
6、モデルの作成.....	9		

- ・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、設定を変更した場合、動作の保証はいたしかねます。

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  
 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

## 1、はじめに

本マニュアルは ÄKTA avant 25、ÄKTA avant 150、ÄKTA pure 25、ÄKTA pure 150 と UNCORN 6 または UNICORN 7 によって実験計画法（Design of Experiment : DoE）を行う場合の簡易手順を記載しています。詳細な内容は英文マニュアル「UNICORN Method Manual」の「Design of Experiments」の項目をご参照ください。また、関連する「Scouting」の項目もご参照ください。

本機能を使用する場合、DoE ライセンスが必須です。ライセンスの追加方法は「UNICORN Administration and Technical Manual」をご参照下さい。

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。お手元に説明書がない場合には、本国（インターナショナル）サイトでサイト内検索するとダウンロードできます。

アクセス先 [www.cytiva.com](http://www.cytiva.com)

	Method Manual (DoE, Scouting)	Administration and Technical Manual	製品番号
UNICORN 6.0	28-9440-76 (4 章、5 章)	28-9440-78 (2.3.2 章)	-
UNICORN 6.1	28-9817-65 (4 章、5 章)	28-9817-68 (2.3.2 章)	-
UNICORN 6.2	29-0095-88 (4 章、5 章)	29-0095-91 (2.3.2 章)	-
UNICORN 6.3	29-0218-12 (4 章、5 章)	29-0218-15 (2.3.2 章)	29020366
UNICORN 6.4	29-0659-78 (4 章、5 章)	29-0659-77 (2.3.2 章)	29067046
UNICORN 7.0	29-1108-85 (4 章、5 章)	29-1108-82 (2.3.2 章)	29115440
UNICORN 7.0.2	29-1919-00 (4 章、5 章)	29-1918-99 (2.3.2 章)	29115440
UNICORN 7.1	UNICORN 7.0.2 版を参照	29-2096-87 (2.3.2 章)	29115440
UNICORN 7.2	UNICORN 7.0.2 版を参照	29-2582-91 (2.3.2 章)	29115440
UNICORN 7.3	29-2635-10 (4 章、5 章)	29-3010-66 (2.3.2 章)	29115440
UNICORN 7.4	29-3750-42 (4 章、5 章)	29-3692-71 (2.3.2 章)	29115440
UNICORN 7.5	29-4524-85 (4 章、5 章)	29-4483-56 (2.3.2 章)	29115440

システムの設定状況、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。

### 1.1、作業の流れ

- モデルの作成（2～6 章）
- モデルの確認（7～9 章）
- モデルの利用（10～11 章）

## 2、メソッドの作成

Method Editor にて基本となるメソッドを作成します。この際、至適化したい項目（ファクター）が選択出来るようなメソッドを作成します。以下は一例です。

検討項目	フェーズ	該当バリエーション	コメント
添加するサンプル量	Sample application	Sample volume	Sample injection directly onto column を選択
添加するサンプルの組成 (濃度、pH など)	Sample application	Sample inlet	Sample injection directly onto column を選択
溶出で用いる塩の種類	Method settings	Inlet B	Use manually prepared buffers を選択

※ システム構成により、至適化可能な項目（ファクター）に制限されることがあります。

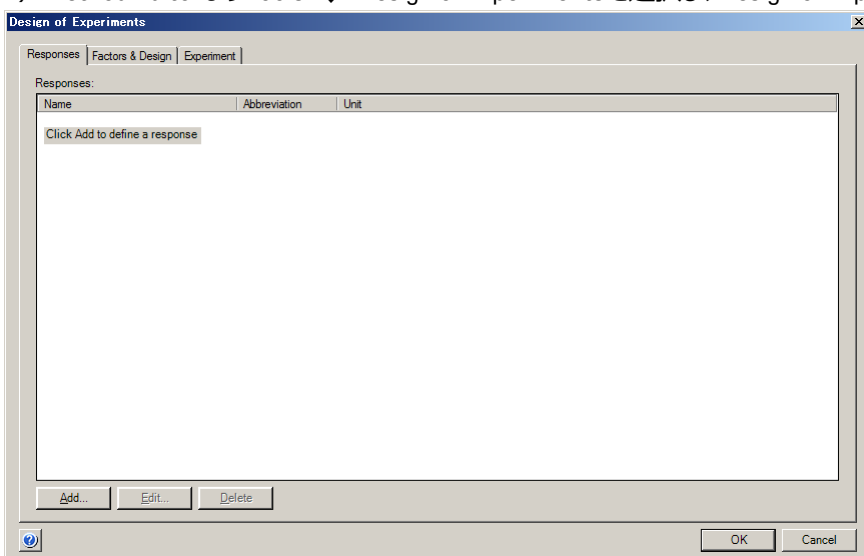
推奨するシステム構成例

- ÄKTA avant 25
- ÄKTA pure 25 M2、F9-C、サンプルポンプ、サンプルバルブ
- ÄKTA pure 25 L2、F9-C、サンプルポンプ、サンプルバルブ
- ÄKTA avant 150
- ÄKTA pure 150 M2、F9-C、サンプルポンプ、サンプルバルブ
- ÄKTA pure 150 L2、F9-C、サンプルポンプ、サンプルバルブ

### 3、デザインの設定

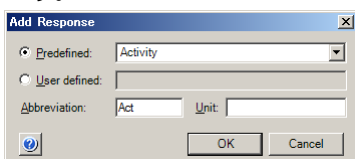
#### 3.1、評価項目の入力

1) Method Editor よりTools ↓ Design of Experiments を選択し、Design of Experiments (DoE) ダイアログを開きます。



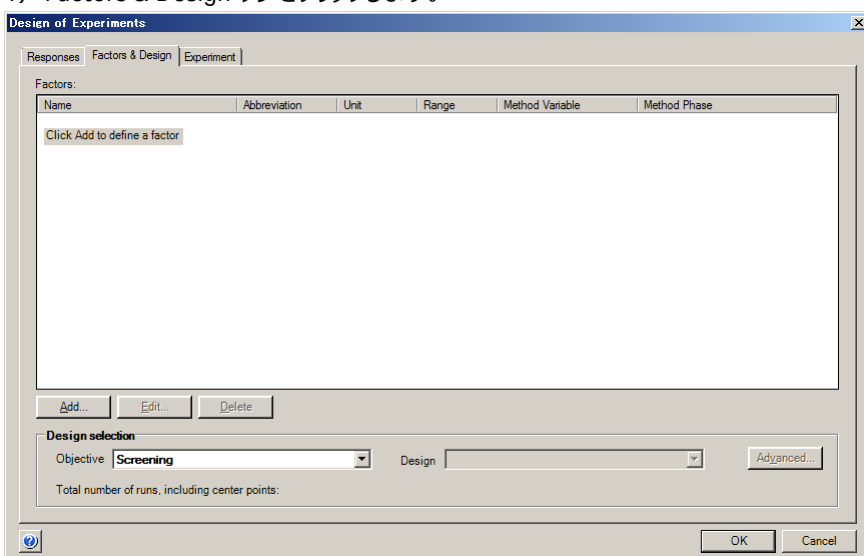
ダイアログが開かず、警告メッセージが表示された場合は、Evaluation で DoE ダイアログが開かれています。同時に起動することは出来ませんので、Evaluation の DoE ダイアログを閉じてから再度 Method editor の DoE ダイアログを開きます。

2) Responses タブの Add ボタンをクリックします。評価したい項目（レスポンス）を選択または入力し、OK ボタンをクリックします。



#### 3.2、至適化項目の入力

1) Factors & Design タブをクリックします。



2) Add ボタンをクリックします。

3) Predefined より至適化したい項目（ファクター）を選択します。項目が無い場合は User defined にチェックを入れ、任意

の項目を入力します。

4) Type よりファクターの形式を選択します。

- Quantitative : 連続した値で数値化できる場合 (流速、pH など)
- Quantitative multilevel : 多段階で数値を設定する場合 (温度 (4℃、10℃、25℃) など)
- Qualitative : 数値ではなく非連続的に変化するような設定をする場合 (カラムの種類、塩の種類など)

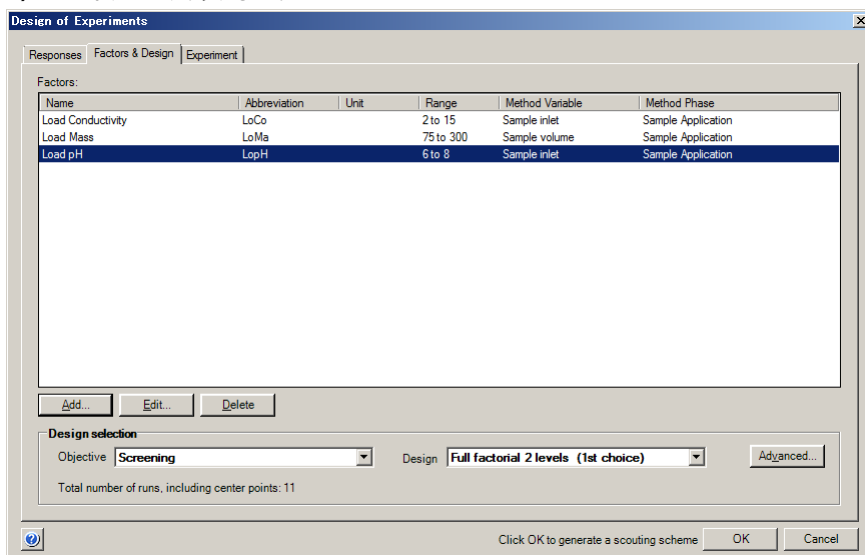
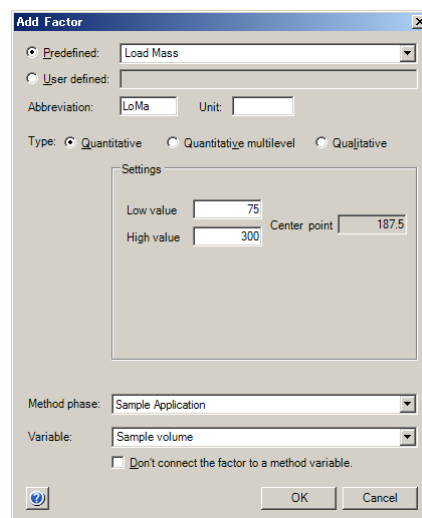
5) Settings にそれぞれの値を入力します。

- Quantitative : 下限値 (Low value) 、上限値 (High value) を入力します。自動的に Center point が入力されます。
- Quantitative multilevel : 各行に値を入力します。行を増やす場合には Add ボタンをクリックします。Center の値を選択します。
- Qualitative : 各行に値を選択もしくは入力します。行を増やす場合には Add ボタンをクリックします。Center の値を選択します。

6) Method phase よりファクターに関連するフェーズを選択します。

7) Variable よりファクターに関連するバリアブル項目を選択します。

8) OK ボタンをクリックします。



9) ファクターを追加する場合は、再度 Add ボタンをクリックします (DoE を行う場合は 2 項目以上のファクターが必要です。通常は 2~3 項目のファクターを設定します)。

### 3.3、デザインの選択

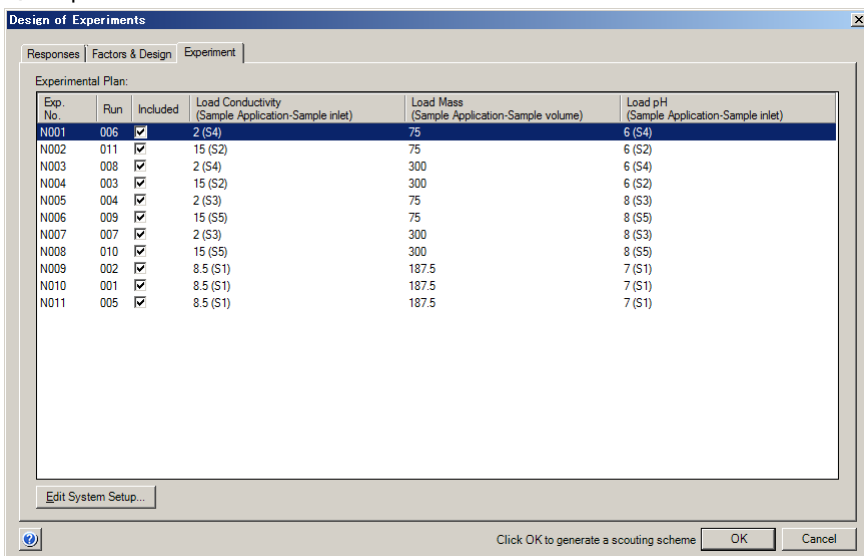
1) 目的により Design selection を変更します。

- Screening : デザインのスクリーニングをする場合に選択します。
- Optimization : デザインの至適化する場合に選択します。
- Robustness Testing : デザインの堅牢性を評価する場合に選択します。

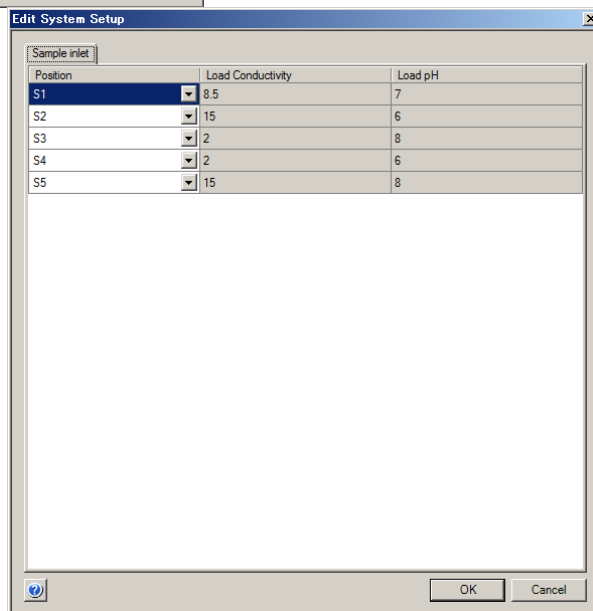
Objective を変更すると Design も連動して変化します。原則として第一選択肢 (1st choice) を選択します。

### 3.4、実験内容の確認

1) Experiment タブをクリックすると実験の順序およびファクターの組み合わせが確認できます。



2) Edit System Setup ボタンをクリックし、システムの設定を確認します。ファクターの設定により複数のタブが表示されることがあります。



3) OK ボタンをクリックします。

4) DoE ダイアログ右下の OK ボタンをクリックします。確認画面が表示されますので、OK ボタンをクリックします。

5) File ↓ Save で上書き保存します。

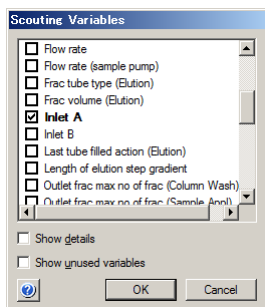


DoE のパラメータに連動する部分は、スカウティングの項目にて追加します。

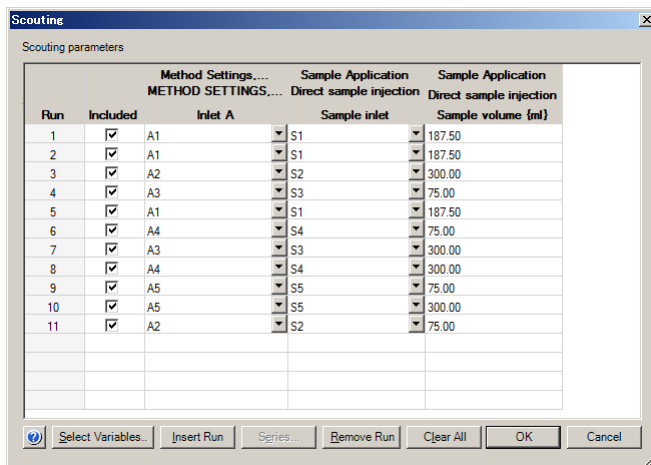
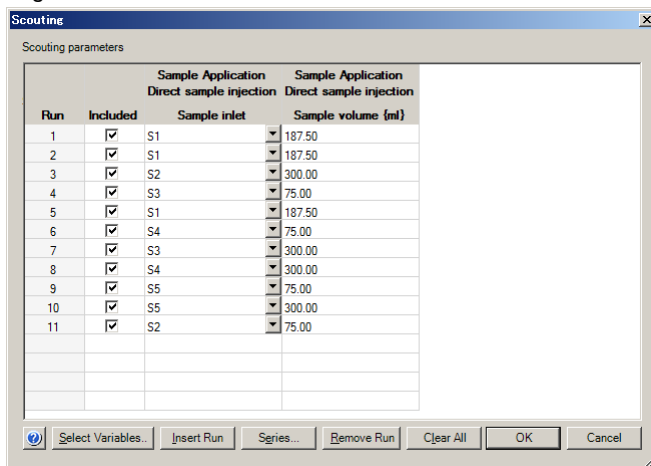
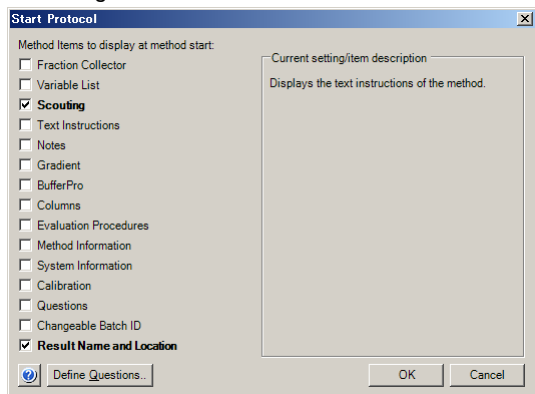
### 3.5、スカウティングの設定

スカウティングの設定をした後に DoE の設定を変更すると、設定したスカウティングの内容が消去されます。必ず DoE の設定を確定させた後にスカウティングの設定を行います。

- 1) Method Editor より Tools ↓ Scouting を選択し、Scouting ダイアログを開きます。
- 2) Select variables ボタンをクリックします。
- 3) Scouting Variables 画面より、追加する項目を選択し、OK ボタンをクリックします。
- 4) 追加した項目について、パラメータを変更し、OK ボタンをクリックします。



- 5) Method settings フェーズの Phase properties タブにある Start Protocol ボタンをクリックします。
- 6) Scouting にチェックを入れ、OK ボタンをクリックします。



#### 4、メソッドの実行

- 1) 実験で用いるバッファー、サンプル、カラムなどが用意され、適切なポジションに接続されていること、バッファー量、サンプル量が十分にあることなどを確認します。
- 2) System control より、作成したメソッドを実行します。Scouting のページが表示された時、そのタイミングで実行しない順番のランは、Included のチェックを外します。例えば合計 11 回からなるスカウティングで、3 回に分けて実施する場合、それぞれの実施時にセンターポイントとなる実験は含めるようにします。

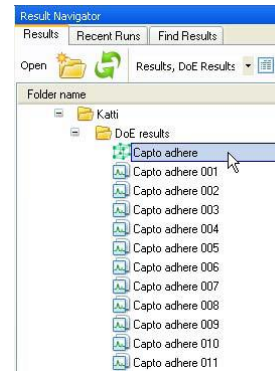
#### 5、評価項目の数値化

UNICORN のリザルトファイル（ピーク面積や HETP など）もしくは外部の解析方法（活性測定、電気泳動など）を用いて評価したい項目（レスポンス）を数値化します。



## 6、モデルの作成

1) Evaluation より File ↓ Open → Result Navigator を選択します



2) DoE リザルトファイル (📁アイコンのファイル) をダブルクリックして、Design of Experiments ダイアログを開きます。

Exp. No.	Run	Result	Date created	Included	Load Mass	Load Conductivity	Load pH	Yield
N001	007	Capto adhere 007	5/12/2009 7:44:50 PM	<input type="checkbox"/>	75	2	6	
N002	005	Capto adhere 005	5/12/2009 7:40:55 PM	<input type="checkbox"/>	300	2	6	
N003	000	Capto adhere 000	5/12/2009 7:46:39 PM	<input type="checkbox"/>	75	15	6	
N004	011	Capto adhere 011	5/12/2009 7:53:24 PM	<input type="checkbox"/>	300	15	6	
N005	009	Capto adhere 009	5/12/2009 7:48:39 PM	<input type="checkbox"/>	75	2	8	
N006	006	Capto adhere 006	5/12/2009 7:43:02 PM	<input type="checkbox"/>	300	2	8	
N007	002	Capto adhere 002	5/12/2009 7:34:48 PM	<input type="checkbox"/>	75	15	8	
N008	010	Capto adhere 010	5/12/2009 7:51:19 PM	<input type="checkbox"/>	300	15	8	
N009	001	Capto adhere 001	5/12/2009 7:32:08 PM	<input type="checkbox"/>	187.5	8.5	7	
N010	004	Capto adhere 004	5/12/2009 7:30:34 PM	<input type="checkbox"/>	187.5	8.5	7	
N011	003	Capto adhere 003	5/12/2009 7:36:34 PM	<input type="checkbox"/>	187.5	8.5	7	

3) 各ランに対するレスポンス (セルが緑の列) を入力します。

4) レスポンスの項目を追加する場合はダイアログ右下の Add Response ボタンをクリックし、各ランに対するレスポンスの値を入力します。

5) Included の列にチェックを入れ、解析に用いるランを選択します。

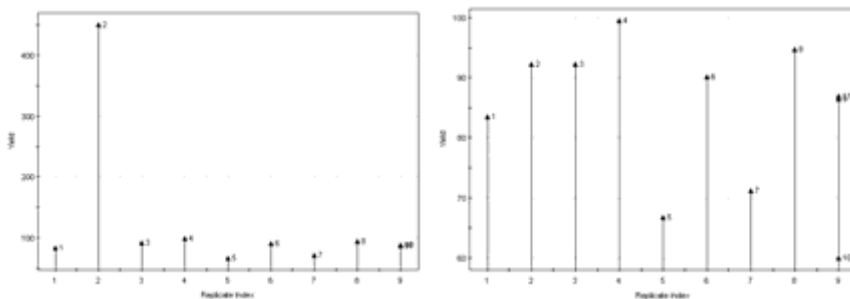
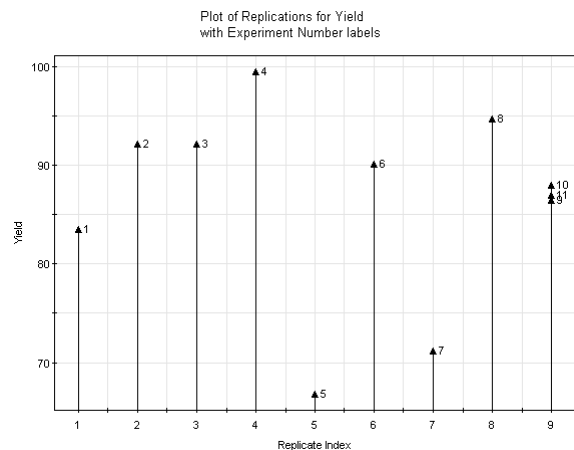
Exp. No.	Run	Result	Date created	Included	Load Mass	Load pH	Load Conductivity	Yield
N001	009	Capto adhere 009	2009-06-04 12:52:44	<input checked="" type="checkbox"/>	75	6	2	83.5
N002	001	Capto adhere 001	2009-06-04 12:37:27	<input checked="" type="checkbox"/>	300	6	2	92.2
N003	008	Capto adhere 008	2009-06-04 12:51:02	<input checked="" type="checkbox"/>	75	8	2	92.2
N004	006	Capto adhere 006	2009-06-04 12:47:48	<input checked="" type="checkbox"/>	300	8	2	99.5
N005	007	Capto adhere 007	2009-06-04 12:49:30	<input checked="" type="checkbox"/>	75	6	15	68.8
N006	010	Capto adhere 010	2009-06-04 12:54:16	<input checked="" type="checkbox"/>	300	6	15	90.1
N007	011	Capto adhere 011	2009-06-04 12:56:23	<input checked="" type="checkbox"/>	75	8	15	71.2
N008	003	Capto adhere 003	2009-06-04 12:42:31	<input checked="" type="checkbox"/>	300	8	15	94.7
N009	005	Capto adhere 005	2009-06-04 12:46:07	<input checked="" type="checkbox"/>	187.5	7	8.5	86.5
N010	002	Capto adhere 002	2009-06-04 12:40:41	<input checked="" type="checkbox"/>	187.5	7	8.5	60
N011	004	Capto adhere 004	2009-06-04 12:44:12	<input checked="" type="checkbox"/>	187.5	7	8.5	87

## 7、生データの確認

- 1) Analysis タブをクリックします。
- 2) Replicate plot (Plot of Replications) を表示します。

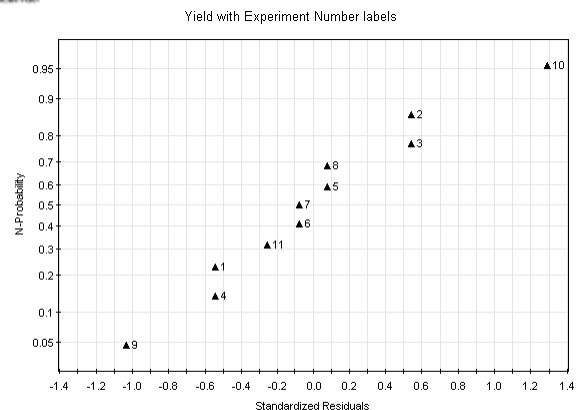
それぞれのレスポンスにばらつきがあるか、中心点 (Center point) のレスポンスに再現性があるかを確認します。堅牢性評価の場合は、全てのレスポンスが類似した値であることが重要です。

コーナーポイントのような異なる条件の内、一つの実験の結果のみ突出して値が異なる場合 (左下のプロットの 2) や、中心点のような同一条件で複数の実験を行い、一つの実験の結果のみ突出して値が異なる場合 (右下のプロットの 10) は、異常値である可能性が高いため、解析から外します (Experiment のタブにて Included のチェックを外します)。



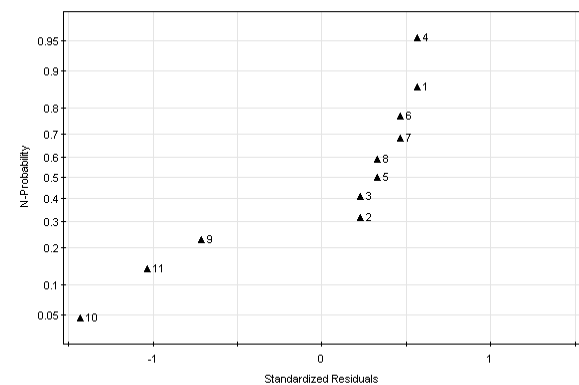
- 3) スクロールして Normal probability plot of residuals を表示します。

実測値とモデルによって計算された理論値の間のずれの分布を示しています。有効なばらつきが見られる場合、直線的な分布を示します。また Standardized Residuals は標準偏差-4~+4 の範囲に入ります。



N=11 R2=0.998 R2 Adj.=0.996  
DF=4 Q2=0.989 RSD=0.6455

Aggregate Content with Experiment Number labels

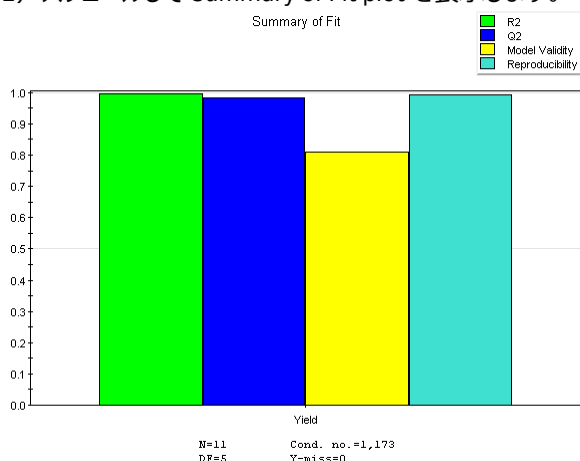


N=11 R2=0.768 R2 Adj.=0.536  
DF=5 Q2=-0.003 RSD=0.9788

中央点 (Center point : 右のプロットの 9、10、11) が直線的に分布していない場合、右のプロットのような湾曲を描きます。後述「モデルの確認」の Q2 や Model validity の値が低いと湾曲することがあります。このような場合は Model を編集することで直線的な分布を示すことがあります。

## 8、モデルの確認

- 1) Analysis タブをクリックします。
- 2) スクロールして Summary of Fit plot を表示します。



R<sup>2</sup> : モデルが現在のデータに対してどの程度適合しているかを示しています。

0~1 の間で変化します (1 に近いほどモデルの完成度が高く、0 に近いほどモデルの完成度が低いです)。

0.75 以上であれば、有意義なモデルと考えられます。

Q<sup>2</sup> : モデルが新規データに対してどの程度予測されるかを示しています。

-∞~1 の間で変化します (値が高いほど、モデルの予測度が高くなります)。

0.5 以上であれば良いモデル、0.9 以上であれば優れたモデルであると考えられます。

Model Validity : モデルの正当性を示しています (反復実験が行われたときのみ有効です)。

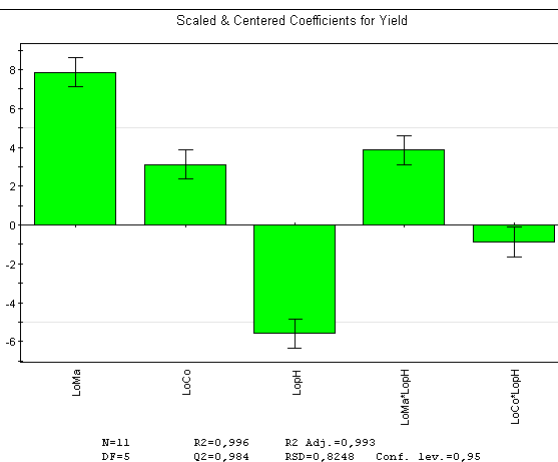
0.25 以上であれば良いモデルであると考えられます。

Reproducibility : 再現性を示しています。

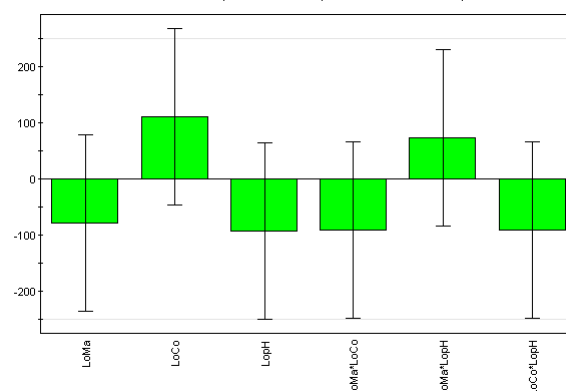
0.5 以下であればノイズレベルが高く、実験条件の設定では制御し難い要因が大きく影響していると考えられます。

- 3) スクロールして Coefficient plot (係数分布) を表示します。

どの条件 (ファクター) がどのように各レスポンスに対して影響を及ぼしているかを確認します。上向きの棒グラフはレスポンスに対して増加方向の影響を与える条件、下向きの棒グラフはレスポンスに対して減少方向の影響を与える条件であることを示しています。誤差範囲を示す縦線が 0 の値を交差していないことを確認します。

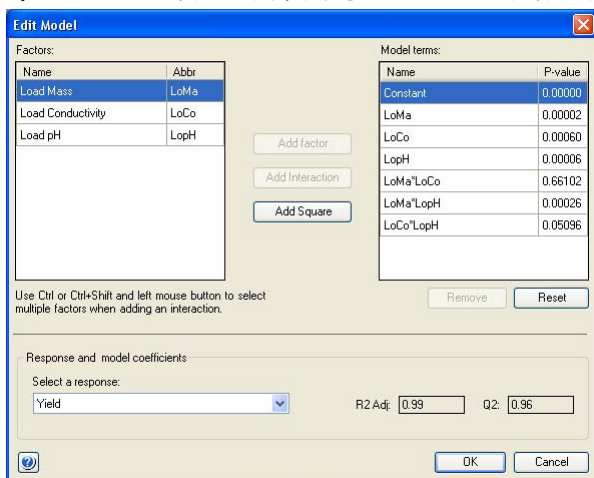


右のプロットのように誤差範囲を示す縦線が 0 の値を交差するような場合、その条件は有意性が無いことを示しています。モデルを編集する際に、該当する項目を削除します。



## 9、モデルの編集

- 1) Analysis タブをクリックします。
- 2) Edit Model ボタンをクリックすると Edit Model ダイアログが表示されます。



- 3) Coefficient plot で有意差の無い条件を削除します。画面右側の Model terms から該当する条件を選択し、Remove ボタンをクリックします。1 条件を削除すると、他の条件の P-value も変化します。P-value が 0.05 以上の場合、その条件には有意差が無いと考えられます。

1 ファクターのみの条件を削除すると、そのファクターと関連する条件（2 ファクターでの相互作用など）も削除されます。相互作用の条件が重要な場合は、相互作用を構成する単一の条件は残したままにします。

- 4) 新たに条件を追加する場合は、以下の手順で条件を追加します。
  - 1 つのファクターのみを追加する場合は、該当するファクターを選択して、Add factor ボタンをクリックします。
  - 2 つのファクターを相互作用として追加する場合は、Contl キーを押しながら該当するファクターを選択して、Add interaction ボタンをクリックします。
  - 1 つのファクターを 2 乗したデータを追加する場合は、該当するファクターを選択して、Add Square ボタンをクリックします。
- 5) OK ボタンをクリックします。

## 10、モデルの利用法

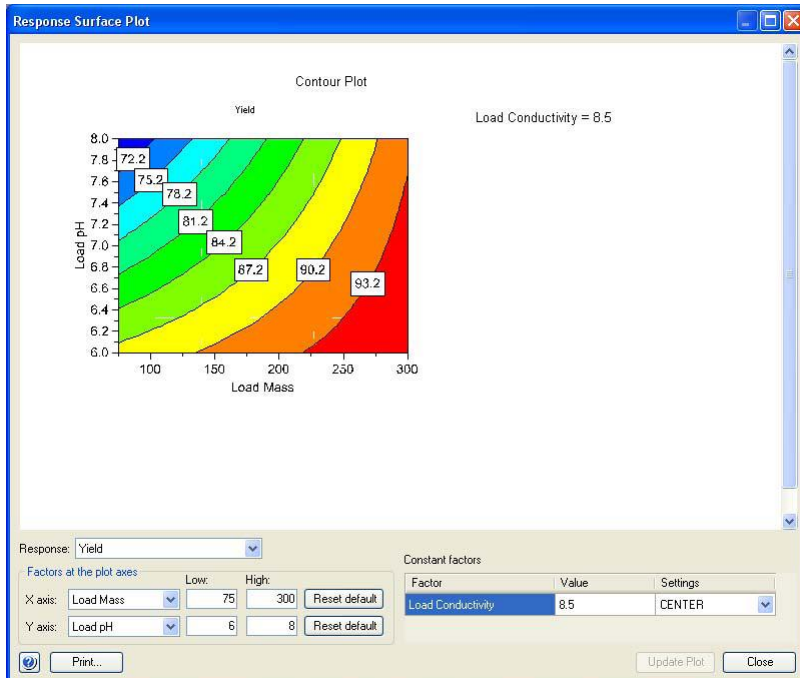
作成、編集したモデルを用いると、以下のことが出来ます。

- ・等高図の表示 (Response surface plot)
- ・予測 (Prediction)
- ・至適化 (Optimization)

### 10.1、等高図の表示

1) Analysis タブをクリックします。

2) Response Surface Plot ボタンをクリックすると Response Surface Plot ダイアログが表示されます。

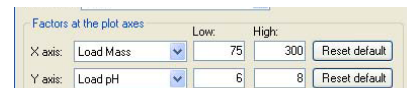


青色の方が低い値を、赤色の方が高い値を示しています。

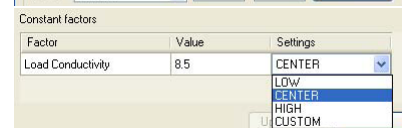
3) Response を切り換える場合は、左下側にある Response のプルダウンリストから選択します。



4) X軸、Y軸のファクターを切り換える場合は、左下側にあるX axis、Y axisのプルダウンリストから選択します。

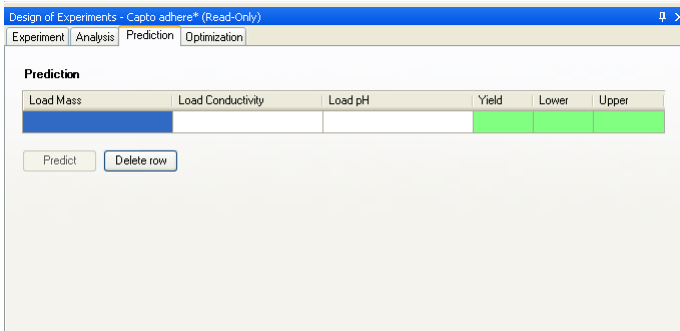


5) 定数 (Z 軸に相当) のファクターの値を切り換える場合は、右下側にある Settings のプルダウンリストから選択します。任意の値を入力する場合は Custom を選択し、Value にその値を入力します。



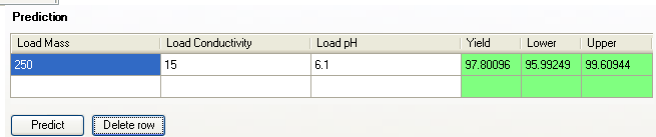
## 10.2、予測

1) Prediction タブをクリックします。



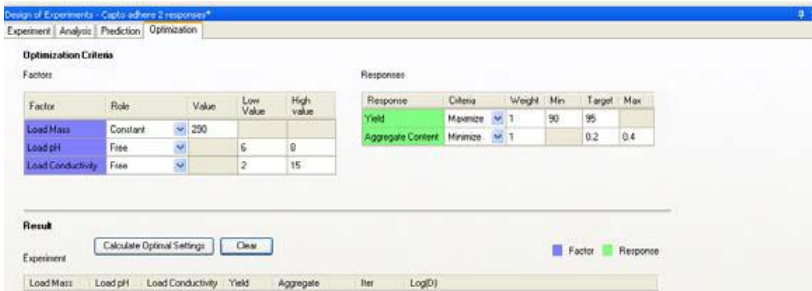
2) 各ファクターの値を入力します。Predict ボタンをクリックするとモデルから予測される値が表示されます。

3) 他のファクターの値で予測したい場合には、空白の行に任意の値を入力し、上記 2 の作業を行います。

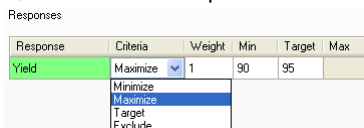


## 10.3、至適化

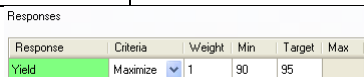
1) Optimization タブをクリックします。



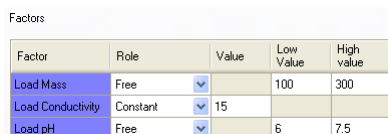
2) 右上にある Responses にて、レスポンスの値について、Criteria のプルダウンリストから選択します。



Minimize	レスポンスの値を最小にする場合に選択します。レスポンスに対する目標値と最大値を入力します。
Maximize	レスポンスの値を最大にする場合に選択します。レスポンスに対する目標値と最小値を入力します。
Target	レスポンスの値を目標値へと至適化する場合に選択します。レスポンスに対する目標値、最小値、最大値を入力します。
Exclude	至適化する際にレスポンスを含まないようにします（レスポンスの項目が複数ある場合）。



3) 左上にある Factor にて、Role のプルダウンリストから各ファクターに対する設定を選択します。



- Free を選択した場合、ファクターの設定はレスポンスに対して上限値、下限値の間で計算されます。適切な上限値（High Value）、下限値（Low Value）をそれぞれのセルに入力します。
- Constant を選択した場合、ファクターの設定は一定の値（固定値）になります。固定値を Value のセルに入力します。

4) 下側にある Result にて、Calculate Optimal Settings ボタンをクリックします。

Experiment の表にそれぞれの値が表示されます。

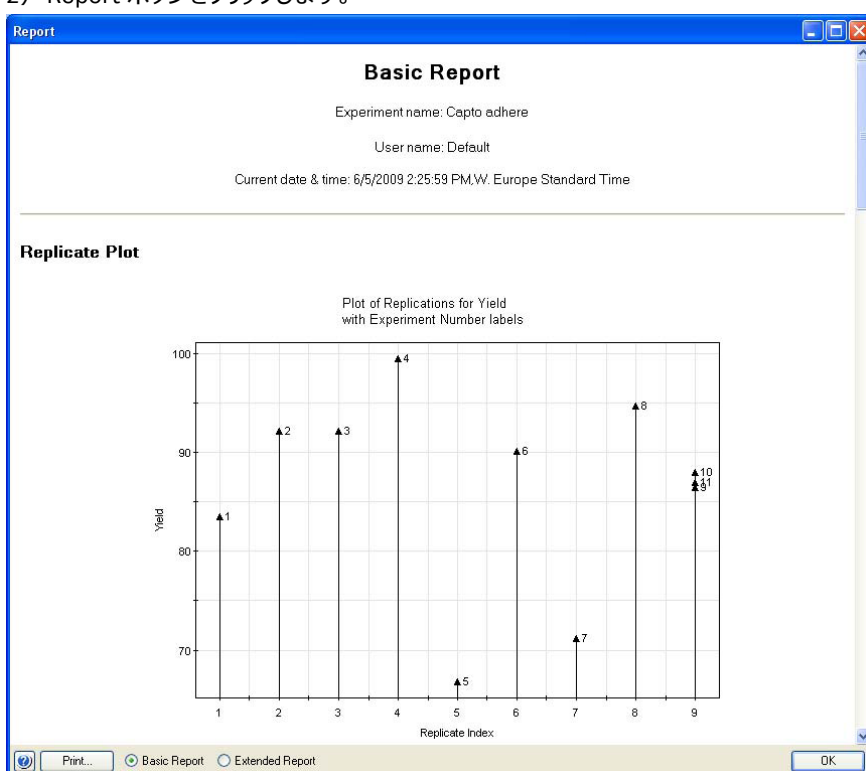
Load Mass	Load Conductivity	Load pH	Yield	Iter	Log(D)
140	15	6	94.4676	0	-1.9455
300	15	6	99.9432	0	-10
299.975	15	6.0004	99.9412	80	-10
300	15	7.5	96.0432	0	-10
240	15	6.75	94.3998	0	-1.8414
200	15	6	96.521	0	-10
300	15	6	99.9432	0	-10
300	15	6	99.9432	0	-10

ファクターの組合せに対するレスポンスの値が表示されます。Iter には至適化のための反復回数を示しています。Log(D)の値が低いほど、よりよい結果であると考えられます。

## 11、モデルの印刷

1) Analysis タブをクリックします。

2) Report ボタンをクリックします。



詳細な内容を閲覧、印刷したい場合は画面左下の Extended Report を選択します。

3) 左下にある Print ボタンをクリックします。

4) Preview ダイアログが表示されるので、Print ボタンをクリックします。

## ■ 総合お問合せ窓口

TEL : 03-5331-9336

### ● 機器アフターサービス

(営業日の 9:00～17:30、音声案内に従い①を選択)

FAX : 03-5331-9324 (常時受付)

### ● 製品技術情報に関して

(バイオダイレクトライン、営業日の 9:00～12:00、13:00～17:30)

音声案内に従い②を選択後、対象の製品別の番号を押してください。

① : ÄKTA、クロマトグラフィー関連製品

② : ビアコア関連製品

③ : 電気泳動関連製品、画像解析装置

④ : IN Cell Analyzer、ワットマン製品、その他製品

FAX : 03-5331-9370 (常時受付)

e-mail : Tech-JP@cytiva.com (常時受付)

### ● 納期／在庫お問合せ

(営業日の 9:00～12:00、13:00～17:30、音声案内に従い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。

注) アナログ回線等で番号選択ができない場合はそのままお待ちください。オペレーターにつながります。

[www.cytivalifesciences.co.jp](http://www.cytivalifesciences.co.jp)

論文に掲載いただく際の名称・所在地

Cytiva  
Tokyo, Japan

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

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

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

掲載されている内容は 2020 年 4 月現在のものです。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。お問い合わ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。