ÄKTA pure 25
ÄKTA pure 150
はじめてお使いの方へ
（UNICORN 7.11 以降向け）

1. はじめに 4
2. 起動 17
3. システムの準備 19
4. カラムの接続 23
5. インジェクションバルブ 25
6. フラクションコレクター 26
7. メソッドの作成 32
8. メソッドの実行 43
9. Evaluation データ処理 51
10. システムの終了 57
11. メンテナンス 62
12. データ管理 63
13. 付録 68

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）

・ÄKTA pure User Manual : 29119969

・ÄKTA pure Operating instructions: 29022997

Global site : www.cytiva.com

※ÄKTA pure機種名、機種構成については、下記製品サイトの仕様を参照ください

ÄKTA pure 25: https://www.cytivalifesciences.co.jp/catalog/1702.html

ÄKTA pure150: https://www.cytivalifesciences.co.jp/catalog/1788.html

Revised 2025/05/20

安全上のご注意

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。

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。

図記号の意味は次の通りです

警告	誤った取扱いをした場合に、死亡や重傷を負う可能性があるもの。	
注意	誤った取扱いをした場合に、傷害または物的損害が発生する可能性があるもの。	

禁止	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。

警告

禁止	**電源プラグの抜き差しにより、運転を停止しない** 火災・感電の原因になります。
禁止	**電源コード・電源プラグを傷つけない** ●加工しない ●束ねない ●ねじらない ●折らない ●物をのせない ●加熱しない ●無理に曲げない 破損して火災・感電の原因になります。
根元まで差込む	**電源プラグのほこりを取り除き、刃の根元まで確実に差込む** 接続が不十分だと、隙間にほこりが付着して火災・感電の原因になります。
禁止	**本体を水につけたり、水をかけたりしない** ショート・感電の原因になります。
禁止	**使用時や使用直後（運転停止後約 60 分間）は、操作に関係のない部位には触れない** 高温部に触れ、やけどの原因になります。
禁止	**同梱の電源コード・電源プラグ以外のコード・プラグを使用しない** 故障・火災・感電の原因になります。
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。
禁止	**修理・分解・改造はしない** 火災・感電の原因になります。
指定の規格	**取扱説明書に指定された規格のコンセントを使用する** 指定された規格以外で使用すると火災・感電の原因になります。
禁止	**電源コードや電源プラグが傷んでいる、コンセントの差し込みがゆるいときは使わない** 感電・ショート・発火の原因になります。
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。
禁止	**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** 故障・火災・感電の原因になります。

注意

禁止

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。

禁止

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。

水平

水平で丈夫な場所に設置する

プラグを持つ

電源プラグを持ってまっすぐ引き抜く

ななめに引き抜いたり、コードを持って抜くと、プラグの刃や芯線が破損してショート・感電・発火の原因になります。

低温室で使用する場合の注意

電源を入れる

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。

電源を入れない

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。
製品名に付記される番号の中には、製造上の管理でのみ適用される番号（単品で購入ができないものなど）や、製造終了品も含まれます。
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、グローバルサイトよりダウンロード可能です。
グローバルサイト（英文）　www.cytiva.com

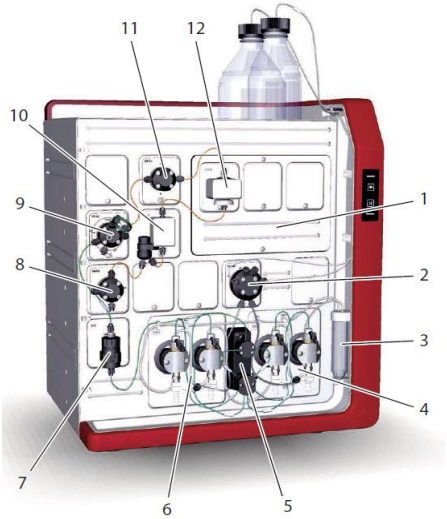
1. はじめに

このマニュアルは、はじめて ÄKTA pure 25、ÄKTA pure 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参照してください。なお、両機種に共通した説明は、ÄKTA pure と略して記載することがあります。

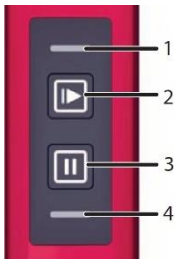
システムの設置状況、コンピューター、コンフィグレーションを含むソフトウェアの設定およびバージョンにより、表記と異なる場合があります（画像の一部は ÄKTA avant 用の説明書より転用しています）。
製品の仕様は予告なく変更される場合があります。あらかじめご了承ください。

1.1. ÄKTA pure 本体の構成

※ システム構成により異なります。



1. マルチモジュールパネル
2. バッファーバルブ（図は V9-IAB）
3. リンス液容器
4. システムポンプ B
5. 圧力センサー
6. システムポンプ A
7. ミキサー
8. アウトレットバルブ（図は V9-Os）
9. インジェクションバルブ
10. コンダクティビティーモニター
11. カラムバルブ（図は V9-Cs）
12. 12、UV モニター（図は U9-L）



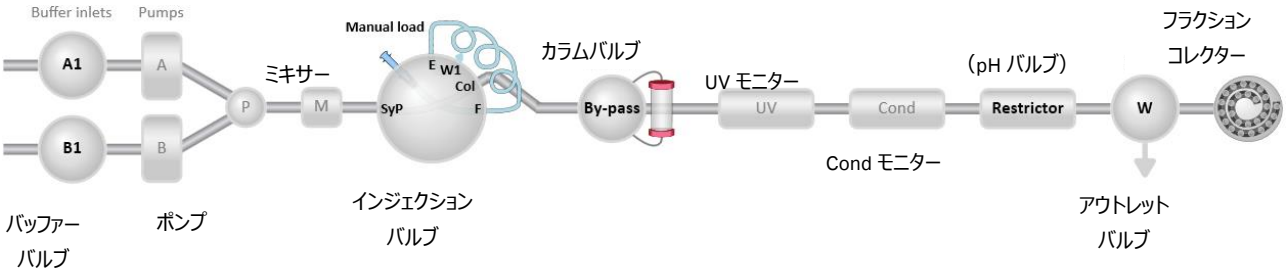
コントロールパネル

1. 電源、接続状況の表示ランプ
2. コンティニューボタン
3. ポーズボタン
4. アラーム、エラーの表示ランプ

5. 電源スイッチ
6. 通気パネル

ÄKTA pure の流路図

※システム構成により異なります。



◆ ÄKTA pure：標準システム構成

ÄKTA pure 25	L1	L2	M1	M2	T1	T2
インレットバルブ	V9-IAB 2 本＋2 本	V9-IA ＋ V9-IB 7 本＋7 本	V9-IAB 2 本＋2 本	V9-IA ＋ V9-IB 7 本＋7 本	V9-IAB 2 本＋2 本	V9-IA ＋ V9-IB 7 本＋7 本
カラムバルブ	なし （オプション）	V9-C 5 本	なし （オプション）	V9-C 5 本	なし （オプション）	V9-C 5 本
UV モニター	U9-L 1 波長	U9-L 1 波長	U9-M 3 波長	U9-M 3 波長	U9-T 2 波長	U9-T 2 波長
アウトレットバルブ	V9-Os 1 本	V9-O 10 本	V9-Os 1 本	V9-O 10 本	V9-Os 1 本	V9-O 10 本

ÄKTA pure 150	L1	L2	M1	M2	T1	T2
インレットバルブ	V9H-IAB 2 本＋2 本	V9H-IA ＋ V9H-IB 7 本＋7 本	V9H-IAB 2 本＋2 本	V9H-IA ＋ V9H-IB 7 本＋7 本	V9H-IAB 2 本＋2 本	V9H-IA ＋ V9H-IB 7 本＋7 本
カラムバルブ	なし （オプション）	V9H-C 5 本	なし （オプション）	V9H-C 5 本	なし （オプション）	V9H-C 5 本
UV モニター	U9-L 1 波長	U9-L 1 波長	U9-M 3 波長	U9-M 3 波長	U9-T 2 波長	U9-T 2 波長
アウトレットバルブ	V9H-Os 1 本	V9H-O 10 本	V9H-Os 1 本	V9H-O 10 本	V9H-Os 1 本	V9H-O 10 本

各モジュールの詳細は以下を参照下さい。

◆ システムポンプ（2 ポンプ、各 2 ヘッド）

ÄKTA pure 25（P9）：流速 0.001 ～ 25 ml/min、耐圧 20 MPa。

ÄKTA pure 150（P9H）：流速 0.01 ～ 150 ml/min、耐圧 5 MPa。

◆ サンプルポンプ S9（2 ヘッド、オプション）

ÄKTA pure 25（S9）：流速 0.001 ～ 50 ml/min、耐圧 10 MPa。

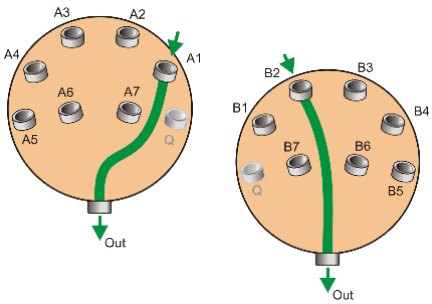
ÄKTA pure 150（S9H）：流速 0.01 ～ 150 ml/min、耐圧 5 MPa。

リンス液容器付き。

システムの配置の都合上、サンプルポンプを ÄKTA pure の左横に設置できず、標準ケーブルで接続出来ない場合には、別途ケーブル（29032425：Cable 2.5m UniNet-9 D-type）が必要です。

◆ バッファーバルブ

エアーセンサー内蔵バルブ



☐ ÄKTA pure 25：V9-IA、V9-IB　☐ ÄKTA pure 150：V9H-IA、V9H-IB

システムポンプの上流に位置する 7 ポートバルブ。

A インレット（V9-IA / V9H-IA）：A1 ～ A7

B インレット（V9-IB / V9H-IB）：B1 ～ B7

（初期ポジションはそれぞれ A1、B1）

コネクター：5/16″ UNF

エアーセンサーが空気を検出すると、プロセスピクチャーのバルブ右肩に○印が表示。

A ポンプ、B ポンプ共通バルブ

☐ ÄKTA pure 25：V9-IAB　☐ ÄKTA pure 150：V9H-IAB

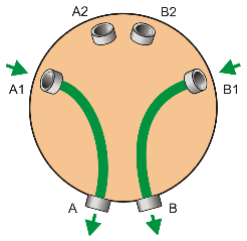
システムポンプの上流に位置する 2×2 ポートバルブ。

A インレット：A1、A2

B インレット：B1、B2

（初期ポジションはそれぞれ A1、B1）

コネクター：5/16″ UNF



◆ サンプルバルブ（エアーセンサー内蔵：オプション）

☐ ÄKTA pure 25：V9-IS　☐ ÄKTA pure 150：V9H-IS

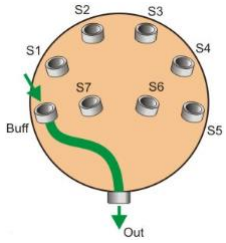
サンプルポンプの上流に位置する 8 ポートバルブ。

ポート名：Buffer、S1 ～ S7（サンプル用）

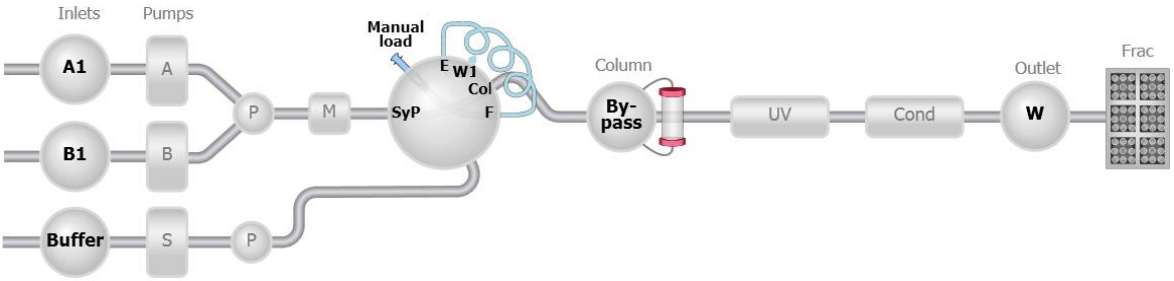
（初期ポジションは Buffer）

コネクター：5/16″ UNF

エアーセンサーが空気を検出すると、プロセスピクチャーのバルブ右肩に○印が表示。



サンプルポンプ、サンプルバルブを接続した場合の流路図



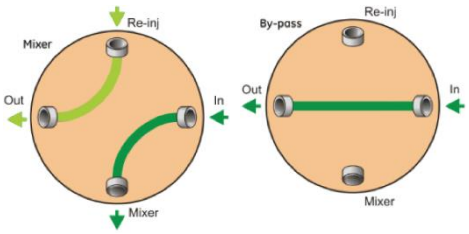
◆ ミキサーバルブ（オプション）

☐ ÄKTA pure 25：V9-M　☐ ÄKTA pure 150：V9H-M

システムポンプによる大量サンプルの直接添加時に使用。

Mixer：標準のバルブポジション。システムポンプから送液されるバッファーを、ミキサー経由でインジェクションバルブへ送液。

By-pass：システムポンプによるダイレクトロード時のポジション。システムポンプから送液されるサンプルを、ミキサーを通さず Out ポートから、直接インジェクションバルブの SaP ポートへ送液、カラムへ直接添加。



サンプルポンプとの併用は出来ません。

◆ 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。

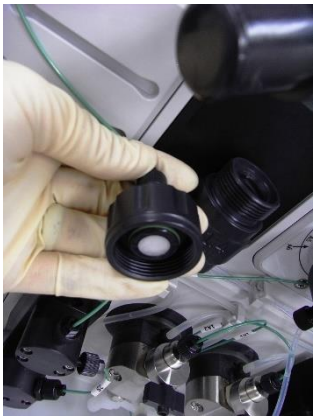
チャンバー	ÄKTA pure 25	ÄKTA pure 150
0.6 ml	0.1 ～ 5 ml/min	Not recommended
1.4 ml（標準）	0.5 ～ 15 ml/min	0.5 ～ 15 ml/min
5 ml	2 ～ 25 ml/min	2 ～ 50 ml/min
15 ml	Not recommended	15 ～ 150 ml/min

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。

ÄKTA pure 25 では 1 ml/min 以上、ÄKTA pure 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。



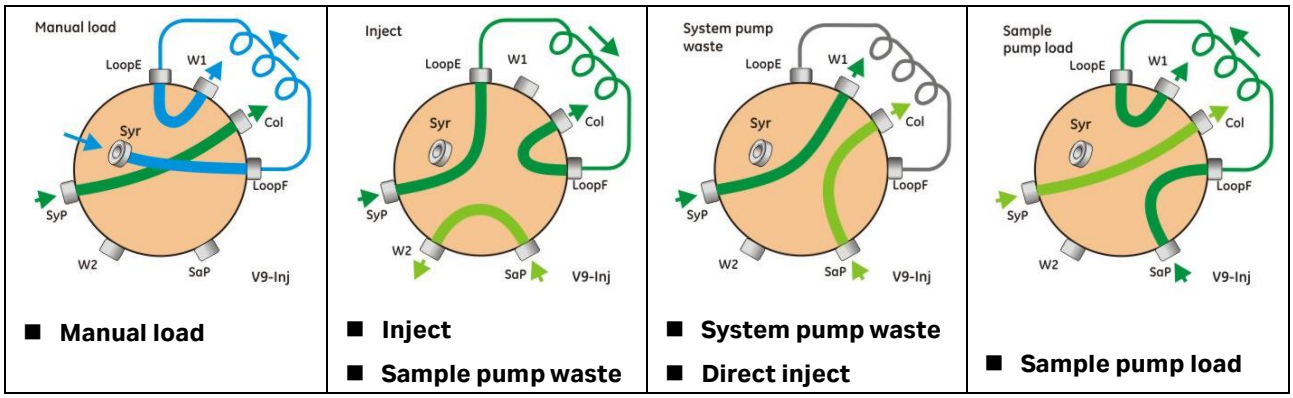
オンラインフィルター

◆ インジェクションバルブ

☐ ÄKTA pure 25：V9-Inj　☐ ÄKTA pure 150：V9H-Inj

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。

サンプルポンプはオプションです。サンプルポンプが接続されていなくてもコマンド上の切換えは可能ですが、サンプルポンプに関連する機能は使えません。



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 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。

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（オプション）

インジェクションバルブに接続して使用します。

□サンプルループ：10 µl（18112039）、100 µl（18111398）（以上耐圧 25 MPa まで）、500 µl（18111399）、1 ml（18111401）、2 ml（18111402）（同 10 MPa まで）、5 ml（18114053）（同 1 MPa まで）

□スーパーループ：150 ml までのサンプルを添加

10 ml（18111381）、50 ml（18111382）（同 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）（同 2 MPa まで）

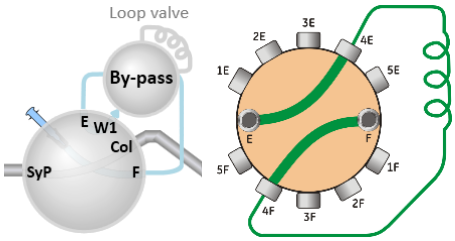
◆ ループバルブ（オプション）

□ ÄKTA pure 25：V9-L　□ ÄKTA pure 150：V9H-L

5 個までのサンプルループまたはスーパーループを並列に接続可能（初期ポジションはバイパス）。

インジェクションバルブのポート LoopE とポート LoopF の間に、ループバルブ付属のチュービングキット（16 cm×2 本）を使い、ポート E とポート F を接続。

カラムバルブと併用することで、メソッド中にループバルブの機能が標準で追加されます。



◆ システム配管

標準配管

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

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。そのとき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は、インジェクションバルブより下流の配管を細めの物へ変更します。そのとき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）もしくは内径 0.25 mm（青）に変更します。

◆ カラムバルブ（V9-C / V9H-C、V9-Cs / V9H-Cs、V9-Cm）

5 本タイプ　圧力センサー搭載（アドバンスカラムバルブ）

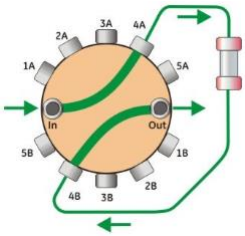
□ ÄKTA pure 25：V9-C　□ ÄKTA pure 150：V9H-C

（L2、M2、T2：標準搭載。L1、M1、T1：オプション）

5 本までのカラムを並列に接続可能（初期ポジションはバイパス）。

順方向（Down Flow、標準）と逆方向（Up Flow）の設定が可能。

カラム入口およびカラム出口に圧力センサーを搭載。



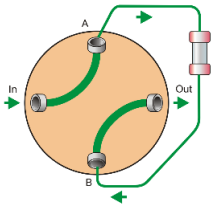
1 本タイプ

☐ ÄKTA pure 25：V9-Cs　☐ ÄKTA pure 150：V9H-Cs

（L1、M1、T1：オプション）

1 本のカラムを接続可能（初期ポジションはバイパス）。

順方向（Down Flow、標準）と逆方向（Up Flow）の設定が可能。

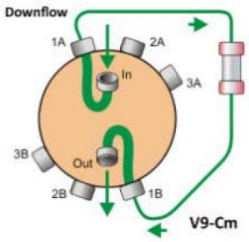


3 本タイプ

☐ ÄKTA pure 25：V9-Cm（L1、M1、T1：オプション）

3 本のカラムを接続可能（初期ポジションはバイパス）。

順方向（Down Flow、標準）と逆方向（Up Flow）の設定が可能。

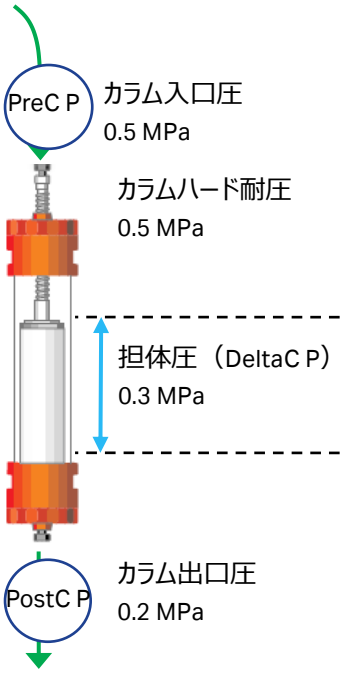


◆ 圧力センサー

- システムポンプ：標準装備
- サンプルポンプ（オプション）：標準装備
- カラム入口 / 出口：V9-C / V9H-C に装備

＜圧力表示＞

- System pressure：システムポンプ圧
- Sample pressure：サンプルポンプ圧
- Pre column （PreC） pressure：カラム入口圧
  （V9-C / V9H-C 以外の場合：実測値ではなく、システムポンプ圧もしくはサンプルポンプ圧と流速を基に算出した理論値）
- Post column （PostC） pressure：カラム出口圧（V9-C / V9H-C のみ）
- Delta column （DeltaC） pressure：カラム出入口差圧
  （V9-C / V9H-C のみ）



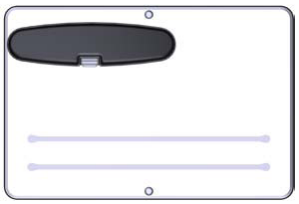
＜設定可能なアラーム＞

- System pressure
- Sample pressure（サンプルポンプ設置時のみ）
- Pre column pressure
- Delta column pressure（V9-C / V9H-C のみ）

◆UV モニター（U9-M または U9-L または U9-T）

3 波長　波長レンジ 190 ～ 700 nm

☐ U9-M（M1、M2：標準搭載）



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

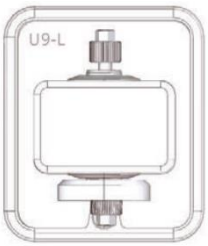
キセノンフラッシュランプ

標準セル：光路長 2 mm（セル内容積 2 μl）

オプションセル：光路長 0.5 mm（28979386、セル内容積1 μl）、10 mm（28956378、セル内容積8 μl）

1 波長　280 nm

☐ U9-L（L1、L2：標準搭載）



280 nm の固定モニター

LED ランプ

標準セル：光路長 2 mm（セル内容積 2 μl illuminated volume、Total volume 30 μl）

オプションセル：光路長 5 mm セル（18112824）（セル内容積 6 μl、Total volume 20 μl）、0.4mm セル（29364878）（セル内容積 1 μL / Total volume 17 μL）

2 波長　280 nm、260nm

□ U9-T（T1、T2：標準搭載）

280 nm, 260 nm の固定モニター。

LED ランプ。

標準セル：光路長 2 mm

オプションセル：光路長 0.4 mm（29364878）、5 mm（18112824）

◆ コンダクティビティーモニター（C9：標準搭載）

電気伝導度のオンラインモニタリング

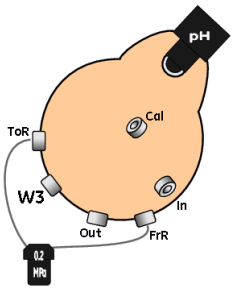
測定範囲 0.01 ～ 999.99 mS/cm。

◆ pH バルブ（オプション）

□ ÄKTA pure 25：V9-pH（29011359）　□ ÄKTA pure 150：V9H-pH

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

初期ポジションは pH フローセルがオフライン、FR-902 がインライン



◆ pH モニター（オプション）

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、背圧をあげないようにしてください。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（18112135、標準搭載）

システムを安定稼働させる上で重要なパーツのため、システムから外すことなく、常時インラインで使用します。

流速や配管により、発生する圧力が異なります。
目安のシステム圧（常温設置、標準配管）：1 ml/min で超純水を送液し、0.15 ～ 0.25 MPa。

システムポンプやサンプルポンプの流量を恒常的に安定化し、さらに 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。フローリストリクターによる背圧は、カラムに対してハードウェア（筒の部分）のみにかかり、カラムに充填された担体には負荷されません。

Tips! オプションの pH バルブが装着されている場合には、ハードウェア耐圧が 0.5 MPa 未満の空カラム（例：XK 50）を使用する時のみ、メソッド実行中は pH バルブのポジションを切換え、フローリストリクターはオフラインにします。マニュアルランでは、その都度 pH バルブの設定を変更（フローリストリクターをオフライン）します。

XK 50 カラムでベッド高 40 cm 以下の場合、耐圧の高い HiScale カラムの使用をお勧めします。

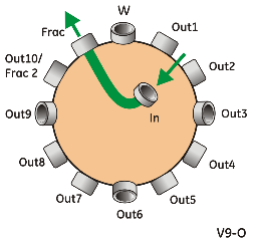
◆ アウトレットバルブ（V9-O / V9H-O、V9-Os / V9H-Os）

12 ポートバルブ　Waste、Frac、Out1　～　Out10

☐ ÄKTA pure 25：V9-O（L2、M2、T2：標準搭載）コネクター：10-32 UNF

☐ ÄKTA pure 150：V9H-O（L2、M2、T2：標準搭載）コネクター：5/16" UNF

初期ポジションは Waste

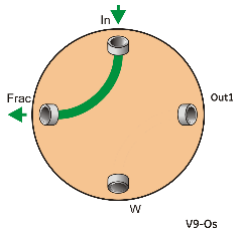


3 ポートバルブ　Waste、Frac、Out1

☐ ÄKTA pure 25：V9-Os（L1、M1、T1：標準搭載）コネクター：10-32 UNF

☐ ÄKTA pure 150：V9H-Os（L1、M1、T1：標準搭載）コネクター：10-32 UNF

初期ポジションは Waste



◆ 多用途バルブ（オプション）

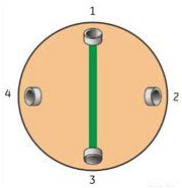
4 個のバルブまで接続できます。

☐ ÄKTA pure 25：V9-V　コネクター：10-32 UNF

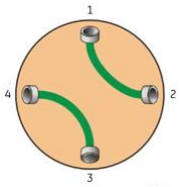
☐ ÄKTA pure 150：V9H-V　コネクター：10-32 UNF

1、2、3、4 の 4 ポートが存在し、「1-3」「1-2 and 3-4」「2-4」「1-4 and 2-3」の 4 個のポジションを持つバルブ（初期ポジションは 1-3）。

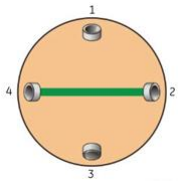
流路中の任意の場所に、任意の用途で使用可能なため、本バルブは Predefined method では反映されません。Text instructions で追加します。



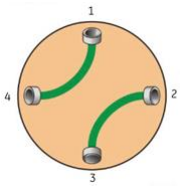
1-3



1-2 and 3-4



2-4



1-4 and 2-3

◆ フラクションコレクター

2 個まで接続できます（2 個目は F9-R のみ対応）。

☐ F9-R（ラウンド型）

- 標準ラック：12 mm 試験管用ラック（19868403 または 19724202）（175 本）
  18 mm 試験管用ラック（18305003 または 19868902）（95 本）
- オプションラック：30 mm 試験管用カセット（18112467 または 18112468）（40 本）

いずれも試験管の高さは 5 ～ 18 cm の間で対応。

必要に応じてチューブサポートを装着して、高さを調整します。

☐ F9-C（カセット型）

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）。

- 標準カセット：
  深型マイクロプレート用カセット*[1]（角穴の 24、48 または 96 穴用）4 個
  試験管用カセット*[2]50 ml 用　（6 本）2 個
- オプションカセット：試験管用カセット*[2]
  3 ml 用　（40 本）、5 ml 用　（40 本）、8 ml 用　（24 本）、15 ml 用（15 本）
- オプショントレイ*[2]：試験管 50 ml 用トレイ*[2]（55 本）、250 ml ボトル用トレイ*[3, *4]（18 ボトル）

Tips! システムの配置の都合上、F9-C を ÄKTA pure の左横に設置できず、標準ケーブルで接続出来ない場合には、別途ケーブル（29032425：Cable 2.5m UniNet-9 D-type）が必要です。

*1 使用可能な深型プレート

いずれも角穴であること。丸穴や浅型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。

	最大流速	プレート 例
96 穴	10 ml/min	【Whatman】7701-5200、 【Eppendorf】951033405/ 0030 501.306 【BD Biosciences】（Falcon） 353966 【Greiner】Bio-One 780270 【Porvair Sciences】219009 【Seahorse】201240-100（旧：S30009）
48 穴	15 ml/min	【Whatman】7701-5500 【Seahorse Bioscience】201238-100（旧：S30004）
24 穴	25 ml/min	【Whatman】7701-5102 【Seahorse Bioscience】201272-100（旧：S30024）

*2 試験管サイズ

試験管の詳細はメーカーへお問い合わせください。

	最大流速	直径（最小/最大）	高さ（最小/最大）	試験管 例
3 ml 試験管	15 ml/min	10.5 mm / 11.5 mm	50 mm / 56 mm	Nunc
5 ml 試験管	15 ml/min	10.5 mm / 12 mm	70 mm / 76 mm	VWR
8 ml 試験管	25 ml/min	12 mm / 13.3 mm	96 mm / 102 mm	VWR BD Biosciences
15 ml 試験管	50 ml/min	16 mm / 17 mm	114 mm / 120 mm	BD Biosciences
50 ml 試験管	150 ml/min	28 mm / 30 mm	110 mm / 116 mm	BD Biosciences

*3 ボトルサイズ

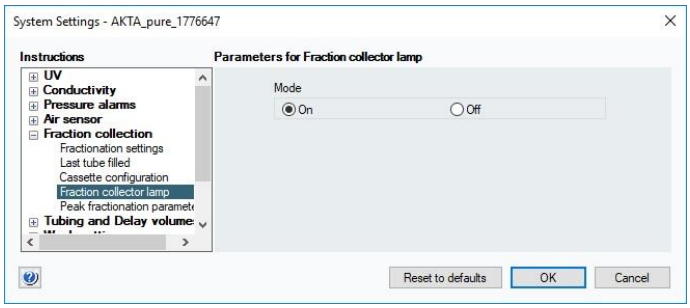
ボトルの詳細はメーカーへお問い合わせください。

	最大流速	一辺/直径 （最小/最大）	高さ（最大）	口径 （最小）	*4 使用可能ボトル
250 ml ボトル	150 ml/min	55 mm / 63.5 mm	121 mm	30 mm	【Nalgene】2110-0008 【Kautex】303-770531

F9-C は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、有機溶媒を用いた分取精製は出来ません。
有機溶媒を用いた分取精製を行う場合は、アウトレットバルブで回収するか、F9-R を使用します。

Tips! F9-C 庫内のランプの点灯や消灯を設定することが可能です。

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** → **Fraction collector lamp** を選択します。
3. **Mode** から **On**、**Off** のいずれかを選択します。
4. **OK** ボタンをクリックします。



□ F9-T（プレート型）

下記のプレートまたはマイクロチューブ、試験管が使用可能

使用可能なプレート

寸法が同じであれば、他のメーカーのプレートも使用できます。

プレート	最大容量	デフォルト容量	推奨メーカー
96 well microplate*[1]	0.3 mL	0.1 mL	Whatman™
96 deep well plate*[2]	2 mL	2 mL	Corning™
48 deep well plate*[3]	4.5 mL	4 mL	Greiner™
24 deep well plate*[2]	9 mL	8 mL	Nunc™

*[1] 使用にはマイクロプレートホルダーF9-T とマイクロノズル F9-T が必要です。

*[2] 標準的な高さ 44mm の角型ウェルのみ使用可能

*[3] 角型ウェル A1 ～ H6 は、高さ 44mm の標準タイプのみ使用可能

マイクロチューブ、試験管とそれに適したホルダー

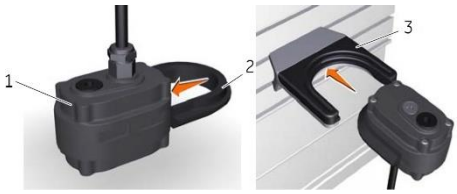
マイクロチューブのサイズが 0.5 mL、1.5 mL、2 mL の場合は、Eppendorf™を推奨します。15 mL および 50 mL の試験管は Falcon™を推奨します。同等の品質と寸法であれば、他のメーカーのチューブを使用できます。

チューブのサイズ	適したホルダーのタイプ
1.5 mL マイクロチューブ	24 deep well plate*[1]
2 mL マイクロチューブ	24 deep well plate*[1]
15 mL 試験管 [2]	Tube rack for 50 mL tubes
50 mL 試験管	Tube rack for 50 mL tubes

[1] 蓋が付いているマイクロチューブの場合のみ可能。

[2] ホームポジション用のみで、分画用ではありません。

◆ 外部エアーセンサー （L9-1.5 （28956500） または L9-1.2 （28956502） ：オプション）



最大 4 個まで接続可能。

フローセル（1）をアダプター（2）（28956342）およびボトルホルダー（3）（28956327）を用いて固定。

L9-1.5：内径 1.5 mm、低圧用。主にポンプインレットチュービング中に接続して使用。コネクター：5/16″ UNF。

L9-1.2：内径 1.2 mm、高圧用。主にインジェクションバルブとカラムの間に接続して使用。コネクター：10-32 UNF。

※ フェーズによる標準のメソッドは、本機能をサポートしていません。

システム設定により、検出機能の on/off を設定します。

◆ 外部 I/O ボックス（E9：オプション）

外部装置への信号（波形など）の入出力を行うユニット。

アナログ信号：出力（±1 V）2 種まで、および入力（±2V）：2 種まで

デジタル信号：出力：4 種まで、および入力：4 種まで

◆ ご使用のシステム構成

□ コンフィグレーション

バージョン	

☐ ÄKTA pure 25

インレットバルブ	標準		☐ V9-IAB	☐ V9-IA	☐ V9-IB
カラムバルブ	オプション/標準	☐ 無し	☐ V9-Cs	☐ V9-C	☐ V9-Cm
UV モニター	標準	☐	☐ U9-L	☐ U9-M	☐ U9-T
pH バルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9-pH		
アウトレットバルブ	標準		☐ V9-Os	☐ V9-O	
フラクションコレクター	標準	☐ 無し	☐ F9-R	☐ F9-C	☐ F9-T
サンプルポンプ	オプション	☐ 無し	☐ S9		
サンプルバルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9-IS		
ミキサーバルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9-M		
ループバルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9-L		
多用途バルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9-V		
外部エアーセンサー	オプション	☐ 無し	☐ L9-1.5		
	オプション	☐ 無し	☐ L9-1.2		
i/o ボックス	オプション	☐ 無し	☐ E9		

☐ ÄKTA pure 150

インレットバルブ	標準		☐ V9H-IAB	☐ V9H-IA	☐ V9H-IB
カラムバルブ	オプション/標準	☐ 無し	☐ V9H-Cs	☐ V9H-C	
UV モニター	標準		☐ U9-L	☐ U9-M	☐ U9-T
pH バルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9H-pH		
アウトレットバルブ	標準		☐ V9H-Os	☐ V9H-O	
フラクションコレクター	標準	☐ 無し	☐ F9-R	☐ F9-C	
サンプルポンプ	オプション	☐ 無し	☐ S9H		
サンプルバルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9H-IS		
ミキサーバルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9H-M		
ループバルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9H-L		
多用途バルブ	オプション	☐ 無し	☐ V9H-V		
外部エアーセンサー	オプション	☐ 無し	☐ L9-1.5		
	オプション	☐ 無し	☐ L9-1.2		
i/o ボックス	オプション	☐ 無し	☐ E9		

◆ ソフトウェアライセンス

☐ UNICORN 7

Workstation	■ あり	
Remote [*1]	☐ あり	☐ 無し
Dry [*1]	☐ あり	☐ 無し
Evaluation Classic [*2、3]	☐ あり	☐ 無し
Column logbook [*3]	☐ あり	☐ 無し
DoE [*3、4]	☐ あり	☐ 無し
Standalone Evaluation [*1]	☐ あり	☐ 無し

*1. 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へ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」を参照してください。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。

*2. 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。

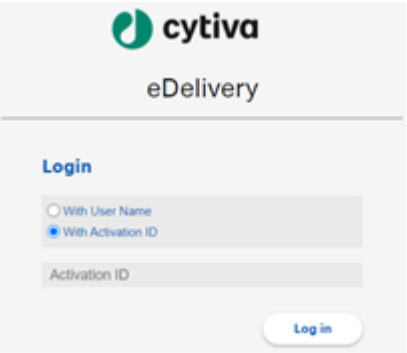
*3. アドオン機能のため、単独ライセンスでは使用できません。

*4. 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」を参照してください。

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 へアクセスし、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。
Windows の Start ボタンより、「Configure e-License」で検索

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	
アクセスコード	
アクティベーション ID	
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	
アクセスコード	
アクティベーション ID	
登録で使用した MAC アドレス	

1.2. ÄKTA pure での実験準備から後片付けまでの流れ

◆ 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

◆ システムの準備とチェックポイント

システム、コンピューターの起動	2 章
↓	
システム内の水置換	3 章
↓ ポンプのパージ、圧の安定性チェック	
↓ サンプルインジェクションバルブ周辺の配管確認	5 章
カラム接続とカラムの水置換	4 章
↓	
システム内のバッファー置換	4 章
↓	
フラクションコレクターの準備	6 章
↓	
メソッド作成	7 章
（既存メソッドを使用する場合はこのステップを飛ばします）	
↓	
メソッド実行	8 章
↓	
システム内の水洗浄、カラムの水洗浄	10 章
↓	
システム、カラムの 20%エタノール置換	10 章
↓	
（データの Evaluation、レポート作成）	9 章
↓	
コンピューター、システムの終了	10 章

2. 起動

2.1. システム本体と UNICORN の起動

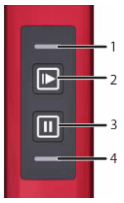
ÄKTA pure では、少なくとも 3 口（ラップトップの場合は 2 口）のコンセントが必要です。システム本体、コンピューター、ディスプレイのソケットをコンセントに接続します。必要に応じ、プリンターや外付けハードディスクドライブ（オプション）のソケットをコンセントに接続します。なお、これらコンセントの一部を OA タップで管理することがあります。

1. ÄKTA pure 本体の右側面奥にある主電源を入れます。ÄKTA pure 本体前面のコントロールパネルの Power/Communication インジケータ（1）が白くゆっくり点滅します。

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。

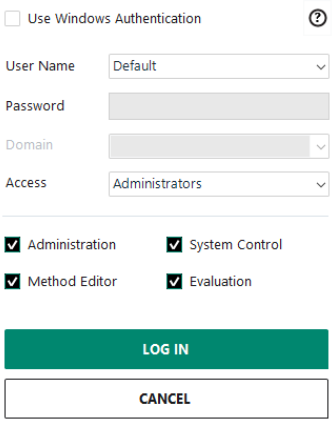
2. コンピューター、ディスプレイ、必要に応じプリンターの主電源を入れます。OS が起動し、Windows が立ち上がります。

3. ÄKTA pure 本体前面のコントロールパネルの Power/Communication インジケータ（1）が白く点灯するまで待ちます。ポンプなどの各モジュールの初期動作など、必要な起動に 1 ～ 2 分かかります。



4. PC のデスクトップの UNICORN アイコンをダブルクリックして起動します。
UNICORN の起動が速すぎると、データベースへアクセスできないことがあります。

5. Log In ダイアログが表示されたら **User Name** より **Default** を選択し、**Password** に UNICORN 7.11 の場合は「**Uni@55corn**」と入力し、**LOGIN** ボタンをクリックします。
起動するモジュールはチェックボックスで選択することができます。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 In ダイアログで、起動したいモジュールにチェックを入れ、**LOGIN** 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。



Tips! 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」で検索します。

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、便宜上ログインパスワード、Signature パスワードを下記に設定しています。
UNICORN 7.3 以前：default
UNICORN 7.4 - 7.10：uni55corn、uni66corn
UNICORN 7.11 以降：Uni@55corn、Uni@66corn

6. コンピューターと ÄKTA pure 本体のコミュニケーションが取れると、UNICORN の System Control 画面には「**Ready**」と表

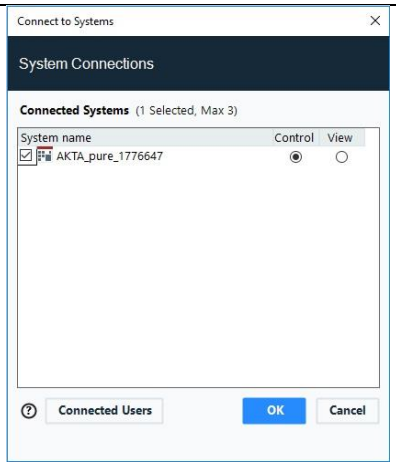
示されます。

Tips! UNICORN と ÄKTA pure が接続しなかったら

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。

1. **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 pure 本体の電源を落とし、再起動します。



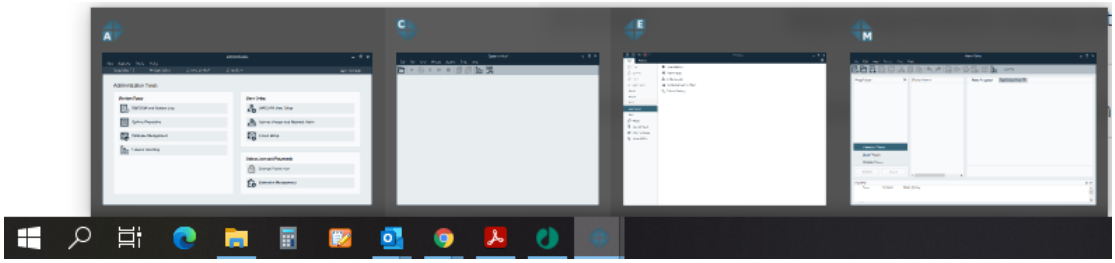
2.2. UNICORN の操作モジュール

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ボタ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、クロマトグラムの印刷を行います

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ボタンを、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）。



Tips! 開いていないモジュールを起動させるには

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。

3. システムの準備

3.1. 廃液チュービングの確認

廃液ボトルの中が空になっていることを確認します。
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（オプション）、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（バッファートレイ）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。

フラクションコレクターF9-C を使用する場合、シリコーン製の廃液ホースを廃液ボトルに接続します。廃液ホースおよび廃液ボトルの位置が高いと廃液が F9-C 内部に逆流するため、ホースの途中及び出口は机（F9-C の接地面）の高さよりも低い位置になるように調整します。

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。

1 週間に 1 回以上使用の場合には、週 1 回定期的に 20%エタノールを交換します。

＜リンス液の試験管の外し方＞

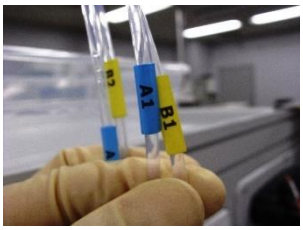
システムポンプ：50 ml 試験管の下側の板を下に押し、試験管を左側へ倒して取り外します。
サンプルポンプ：50 ml 試験管を回転し、取り外します。

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。

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。

＜システムポンプ＞



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。

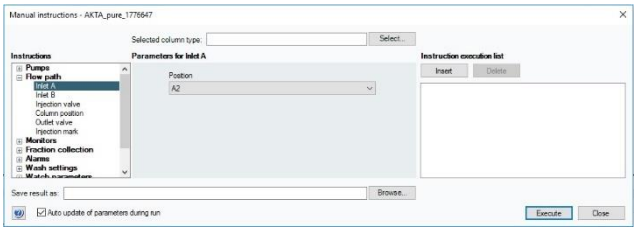
1. A1、B1 のインレットチュービングを十分に脱気した超純水入りボトルに接続します。
2. パージバルブにパージキットをしっかり差し込み、パージバルブを反時計回りに約 3/4 回転して、シリンジのピストンをゆっくり引いて、エアが無くなるまで 10 ～ 20 ml 分の超純水を引き入れます。
3. パージバルブを時計回りに回転してしっかり閉じます。パージキットを抜いて、溶液を捨てます。
4. A ポンプのもう一方のパージバルブについても 2 ～ 3 の手順を繰り返します。これでインレットチュービング A1 についてのパージが終了します。

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。インレットバルブが V9-IA または V9-IB が設置され、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 モジュールにて

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** → **Inlet A** → **A2** → **Execute**
8. **Flow path** → **Inlet B** → **B2** → **Execute**
9. 2 ～ 5 の手順で A2、B2 インレットをパージします。



＜サンプルポンプ＞

サンプルバルブを設置していない場合には、バルブを切り換える作業は発生しません。

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（S1 などのサンプル添加で使用するインレットと、サンプルバルブのバッファー（ポート名 Buffer）インレットのいずれも）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。
サンプルバルブの初期ポジションは Buffer です。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。

3.4. ポンプ洗浄（Pump wash）

＜システムポンプ＞
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 → **Pump A wash** → **A1** → **Execute**
   Pumps → **Pump B wash** → **B1** → **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 → **Pump A wash** → **A2** → **Execute**
   Pumps → **Pump B wash** → **B2** → **Execute**

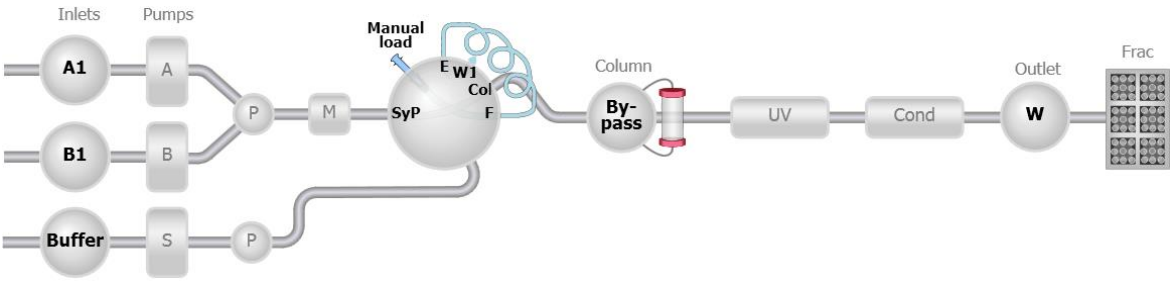
＜サンプルポンプ＞
サンプルインレットのポンプ洗浄を行う場合にも、ポンプ名、インレット名を読み替えて、同様の手順で行います。以下は Buffer および S1 のポンプ洗浄を行う場合です。

1、 **Manual Instructions** ダイアログより
   Pumps → **Sample pump wash** → **Buffer** → **Execute**
   Pumps → **Sample pump wash** → **S1** → **Execute**

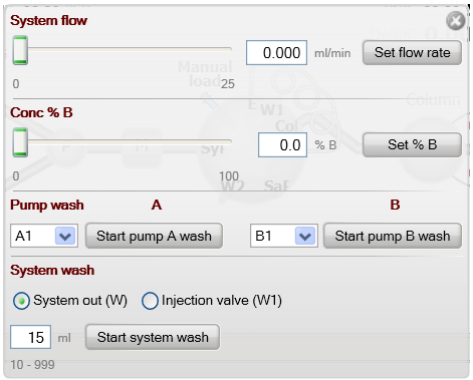
Pump wash は、ポーズ状態にて高流速で決まった容量を自動送液するコマンドです。流速などのパラメーター変更は受け入れられません。Pump wash 中に入力したマニュアルコマンドは、Pump wash が終了したあと実行されます。

Process Picture：プロセスピクチャー

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ピクチャーより入力が可能です。



1. 該当するコンポーネントの図をクリックします。
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タンをクリックします。



＜プロセスピクチャーよりコマンド入力が可能なコンポーネント＞

- バッファーバルブ、サンプルバルブ（オプション）
- システムポンプ、サンプルポンプ（オプション）
- ミキサーバルブ（オプション）
- インジェクションバルブ
- ループバルブ（オプション）
- カラムバルブ（機種によりオプション）
- UV フローセル（オートゼロ）
- pH バルブ（オプション）
- アウトレットバルブ

エアーセンサー内蔵バルブを使用の場合、センサーが空気を検出すると、プロセスピクチャーのバルブ右肩に○印が表示されます。

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。

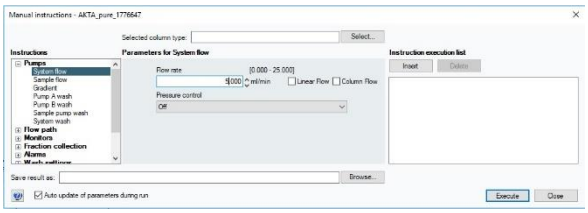
この操作を行うのは実験で使用するインレットのみ行います。

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ポンプヘッドのパージをもう一度行います。

＜システムポンプ＞

System Control モジュールにて

1. **Run Data** および **Chromatogram** を表示します。
2. **Manual Instructions** ダイアログより
   A ポンプ（A1）：**Pumps** → **System Flow** → **5** ml/min **Execute**
   PreC Pressure の値を確認します。
3. B ポンプ（B1）：**Pumps** → **Gradient** → **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。

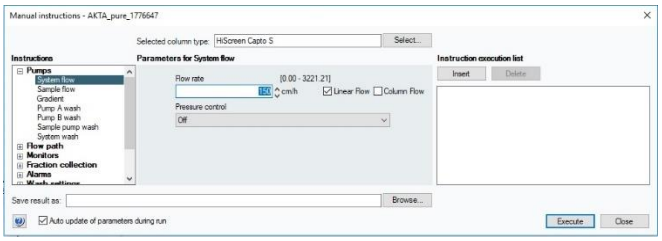
4. 4、B ポンプ（B2）：**Flow path** → **Inlet B** → **B2** → **Execute**
5. 5、A ポンプ（A2）：**Pumps** → **Gradient** → **0** %B → **Execute**
   Flow path → **Inlet A** → **A2** → **Execute**
6. **End** ボタンをクリックします。

＜サンプルポンプ＞

サンプルポンプのインレットを使用する場合は、以下の手順で同様の操作を行います。
以下は Buffer および S1 の確認を行う例です。

1. **System Control** モジュールにて **Manual Instructions** ダイアログより
   サンプルポンプ（Buffer）：**Flow path** → **Injection valve** → **Direct inject** → **Execute**
   Pumps → **Sample Flow** → **5** ml/min → **Execute**
   PreC Pressure の値を確認します。
2. サンプルポンプ（S1）：**Flow path** → **Sample inlet** → **S1** → **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。
3. **End** ボタンをクリックします。

Tips! マニュアル操作時に線流速（cm/h）で送液するには、



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** → **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。

Tips! 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。

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

インジェクションバルブ、カラムバルブ、UV フローセルの接続形式のネジ規格は **10-32 UNF（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（新型）
　　1/16” male / 5/16” female（18114208）、5/16" female / 5/16" female（18117351）など

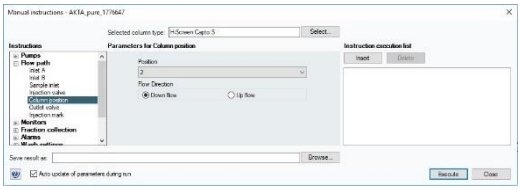
HiTrap、HiPrep、HiScreen との接続には赤色の Fingertight connector（28401081）を使用します。

ÄKTA pure 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 pure 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. カラムの接続および超純水への置換

カラムバルブの有無およびバルブの種類により、接続方法が異なります。
ここでは V9-C / V9H-C のポジション 1 にカラムを接続する例を示します。バルブが無いシステムの場合には、バルブ操作について記載される内容を飛ばして、操作します。

1. 適切な長さのチュービングを、バルブのポート **1A** および **1B** 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、1B のチュービングと接続します。
3. **System Control** モジュールにて **Manual Instructions** ダイアログより
   Flow path → **Column Position** → **Position 1** → **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
   ＜V9-C / V9H-C＞
   Alarms → **Alarm <u>pre-column</u> pressure** → **High alarm**（Max <u>pre-column</u> pressure の値） → **Execute**
   Alarms → **Alarm <u>delta column</u> pressure** → **High alarm**（Max <u>delta column</u> 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。

   ＜V9-Cs / V9H-Cs / V9-Cm、およびバルブ無し＞
   Alarms → **Alarm <u>pre-column</u> pressure** → **High alarm**（Max <u>delta column</u> 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 <u>delta column</u> pressure** の値を入力します。

HiTrap、HiLoad、HiPrep、HiScreen カラムについては、Max <u>delta column</u> pressure に FR-902 で発生する 0.2 MPa を加算した値（ただし、カラムハードウェアの耐圧値を超さない）を Alarm <u>pre-column</u> pressure の耐圧値として入力します。

Tips! ***Column handling** の呼び出し方

1. System control にて **Tools** ↓ **Column handling** を選択します。
2. **Column Handling** ウィンドウの左側で、**Show by technique** から使用するカラムの手法を選択します。
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。

Parameters	Value	Unit
Technique	Cation Exchange	
Column volume	4.657	ml
Column volume unit	ml	
Max pre-column pressure	0.8	MPa
Max delta column pressure	0.3	MPa
Default flow rate	2.7	ml/min
Max flow rate	5.4	ml/min
Default linear flow rate	347.89	cm/h
Max linear flow rate	695.78	cm/h
Min pH value (short term)	2	
Max pH value (short term)	14	
Min pH value (long term)	2	
Max pH value (long term)	12	

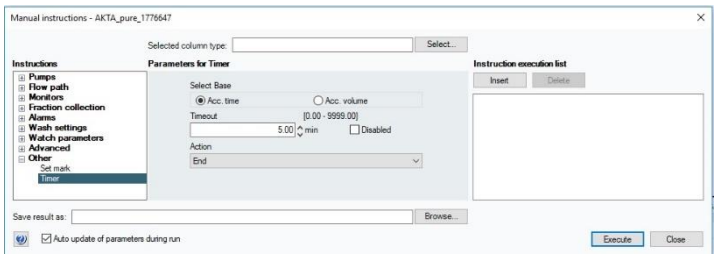
5. 流速を入力します。
   Pumps → **System Flow** → 0.2 ～ 0.5 ml /min → **Execute**
6. インレット側（1A）に接続したチュービングの先端から超純水が出てきたら、カラム上部に超純水を滴下しながら接続します。
7. カラムを完全に超純水に置換します。カラムの至適流速の 1/2 に流速を上げ、徐々に至適流速まで流速を上げながらカラム体積の 3 倍量以上の超純水を送液し、**UV**、**Cond**、**PreC Pressure** カーブが安定することを確認します。

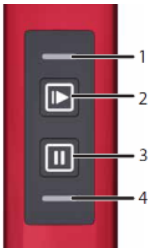
低温環境で使用する場合は液の粘性が上昇するので、最初は至適流速の 1/4 で送液します。

8. **End** ボタンをクリックし、送液を終了します。

Tips! システム本体の **Pause**（3）/ **Continue** ボタン（2）を押すと、送液を中断/再開することができます。

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。
System Control モジュールにて **Manual Instructions** ダイアログより
Other → **Timer** → **（パラメーターを設定）** → **Execute**





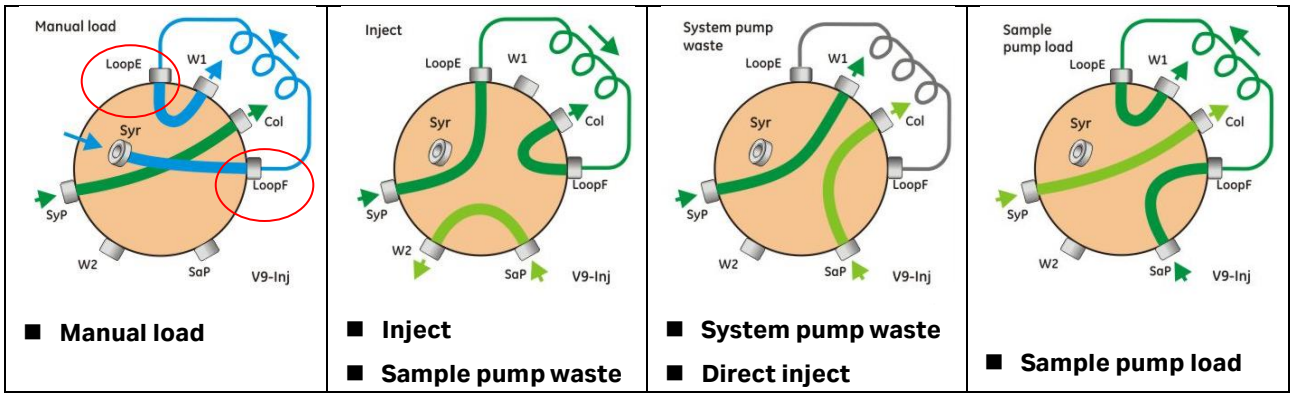
4.2. バッファーへの溶液置換

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。
System Control モジュールにて **Manual Instructions** ダイアログより
Pumps → **Pump B wash** → （使用するインレットを選択） → **Execute**
Pumps → **Pump A wash** → （使用するインレットを選択） → **Execute**

＜サンプルポンプ＞
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。**Manual Instructions** ダイアログより
Pumps → **Sample pump wash** → （使用するインレットを選択） → **Execute**

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



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. マニュアル操作による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。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。

5.4. マニュアル操作によるループバルブへのサンプル充填

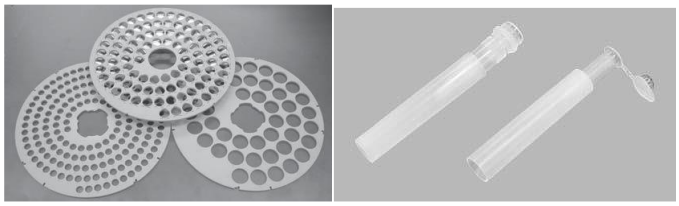
ループバルブの使用するポジションに、サンプルループもしくはスーパーループを接続します（E と F の番号を一緒にします）。スーパーループを使用する場合は、サンプル側（0 ml 側）を **F**（**1F** ～ **5F**）に、バッファー側を **E**（**1E** ～ **5E**）に接続します。

6. フラクションコレクター

6.1. F9-R（ラウンド型）

6.1.1. ラックの準備

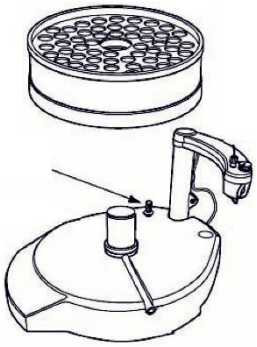
- 標準ラック：12 mm 試験管用ラック（19868403 または 19724202）（175 本）
  18 mm 試験管用ラック（18305003 または 19868902）（95 本）
- オプションラック：30 mm 試験管用カセット（18112467 または 18112468）（40 本）



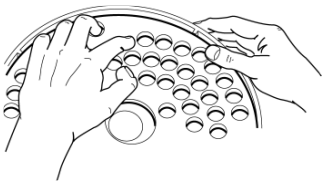
12 mm 試験管用ラックと Eppendorf tube holder for Tube Rack 175×12 mm（18852201）を使用すると、スクリューキャップ型の 1.5 ml マイクロチューブを使用できます。
キャップ付きチューブを使用するときは一周分だけにするか、キャップを切断します。

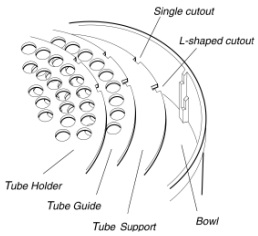
6.1.2. ラックの取扱い

デリバリーアーム先端のチューブセンサーが試験管の位置を自動認識します。

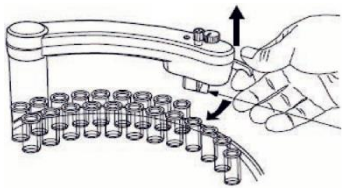


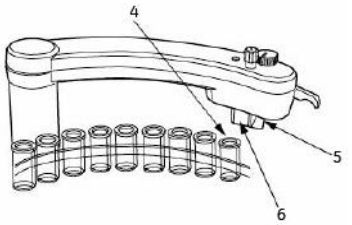
1. ドライブスリーブを後方に引きながら、ボウルを取り外します。
   ボウルを回す際も、ドライブスリーブを後方に引きます。ドライブスリーブが磨耗するとボウルの回転が不正確になります。
2. 十分な数の同じ長さ、直径の試験管をチューブホルダーに挿入します。長い試験管の場合には、チューブサポート（中敷きの板）を外すと試験管が安定します。
   メソッドの途中で試験管が不足すると、自動的にポーズ状態になり、エラーが表示されます。必要な数の試験管を追加して、**Continue** ボタンをクリックします。
3. ボウルを、フラクションコレクターに設置します。
4. デリバリーアームを軽くにぎり、少し上にひき上げた状態で、チューブセンサーを試験管に接触させます。チューブセンサーが 1 番目の試験管の外側に触れるように、ドライブスリーブを後方に押しながらボウルを回転させます。



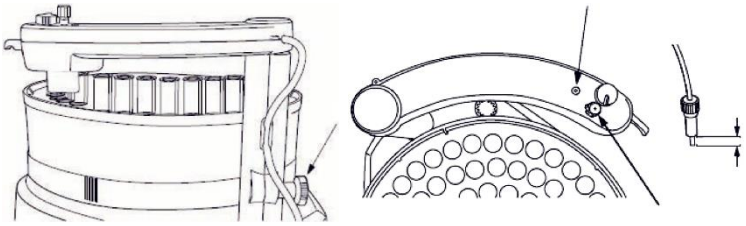


5. ロックノブを緩めて、試験管の上端がチューブセンサーの水平ライン（5）になるようにアームの高さを調節します。

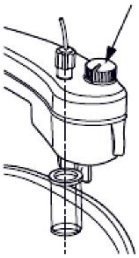




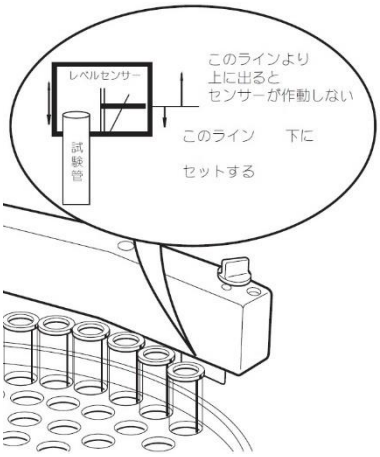
6. チュービングホルダーから突出する PEEK チューブの長さを 5 mm に調節します。デリバリーアームの小さなガイド孔を利用すると簡単に調節できます。



7. チュービングホルダーをデリバリーアームに差し込み、センサーコントロール（つまみ）で PEEK チューブの出口が試験管の中央になるようにします（30 mm 試験管用ラックが大きい○を、それ以外は小さい○にします）。



8. 1 本目の試験管にチューブセンサーを調節します。試験管がチューブセンサーの中央の縦線よりも後方に接するようにします。



6.2. F9-C（カセット型）

6.2.1. カセットもしくはトレイの準備

Tips! 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」に記載しています。

以下のカセットもしくはトレイを使用します。

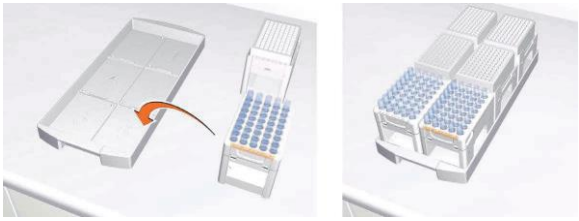
- 標準カセット：　深底プレート用カセット（28954212）（24 穴、48 穴、96 穴角穴プレートに対応）丸穴や浅底プレートには対応していません。
  50 ml 試験管用カセット（28956402）（3×2＝6 本）
- オプションカセット：3 ml 試験管用カセット（28956427）（8×5＝40 本）
  5 ml 試験管用カセット（29133422）（8×5＝40 本）
  8 ml 試験管用カセット（28956425）（6×4＝24 本）
  15 ml 試験管用カセット（28956404）（5×3＝15 本）
- オプショントレイ：50 ml 試験管用トレイ（28980319）（11×5＝55 本）
  250 ml ボトル用トレイ（28981873）（6×3＝18 本）

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、（ロゴマークが手前になるように）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）。

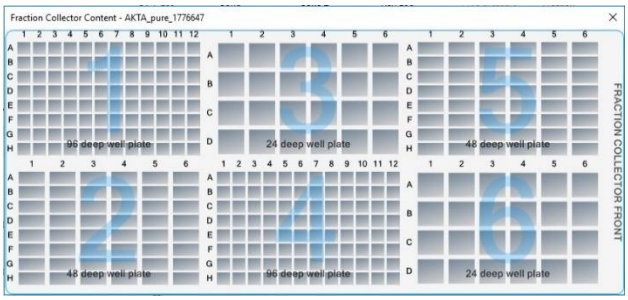


5. トレイを奥まで挿入します。トレイが右手前でロックされたことを確認します。
6. 扉を閉じます。

7、 扉を閉めると、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 より

View ↓ **Fraction Collector Content** を選択します。



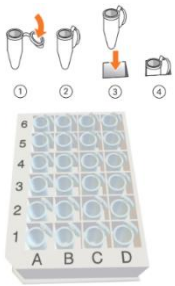
カセットの場所認識は、システムがエンド状態で行われます。ラン中に扉を開けてカセットの場所を変更しても、システムでのカセット認識は変わりません。場所を変更すると、エラーが表示されます。

深底プレート用カセットにプレートが設置されていないと、エラーが表示されます。使用時は必ずプレートを設置して下さい。

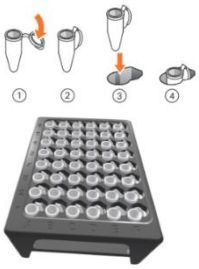
6.3. F9-T（プレート型）

6.3.1. マイクロチューブのセット方法

1. 24 deep well plate にマイクロチューブを入れるときは、右の図のように、蓋を後ろに曲げて、右上の角に挿入します。



2. ラック内にマイクロチューブを入れるときは、蓋を後方に曲げてラックに入れます。マイクロチューブは、穴の丸い部分に入れ、蓋は蓋の形をした穴に配置します。



6.3.2. 分注位置と調整

デフォルトの設定ではノズルの分注位置はウェル／マイクロチューブの中心ではありません。標準外のプレートを使用している場合は、分注デフォルトの位置を調整する必要がある場合があります。System Control の Setting からノズル分注位置が変更可能です。

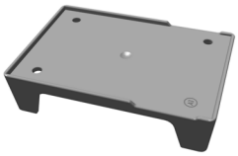
6.3.3. アクセサリー

- F9-T 標準ノズル 29477967 （フラクションコレクターに付属）
  ほとんどの用途に使用できます。

- F9-T チュービングノズル 29510082 （フラクションコレクターに付属）
  高流量の場合など、標準のノズルでは最適でない場合にお勧めします。

- F9-T マイクロノズル 29501534 （オプション AKTA pure micro 用）
  ドロップサイズを小さくして、低流量での少量分取の精度を高めるために設計されています。
  滴下量を減らし、低流量での小分量測定の精度を高めるために設計されています。

- マイクロプレートホルダー F9-T 29476921 （オプション）
  96 well microplate を置く底上げ土台です。プレートを丁度良い高さにします。
  「A1」のマークを目印に、フラクションコレクター、ホルダー、96 well microplate を合わせて設置します。



- 0.5 mL チューブ用チューブラック 29491085 チューブは蓋を折り曲げてラックに入れます。

Drop sync（ドロップ同期）機能

分取時のサンプルのこぼれを軽減する機能です。
フラクションコレクターには、ドロップが落ちた後の動きを同期させる機能があります。
低流量の場合は、Drop sync 機能を使用することをお勧めします。推奨される流量の上限は、液体の性質（粘度など）、使用するプレートの種類（ウェル間の距離）、使用するノズルの種類（液滴の大きさによるノズルの種類（液滴の大きさ）によって異なります。

設定可能な項目は、**On**、**Off**、**Auto** です。

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** → **Drop Sync** を選択します。

Auto の設定は、96 ディープウェルプレートでは 5mL/min（それ以外は 3 mL/min）未満の流量で Drop sync の機能がオンになり、5 mL/min（それ以外は 3 mL/min）以上の流量ではオフになります。Auto 設定は、標準ノズルを用いた水性バッファーでの分画に最適化されています。また、内径 0.5mm のチュービングが 4mm 突出しているチュービングノズルにも適しています。

マイクロノズルと Drop sync 機能を併用する場合、Auto 設定は併用しないでください。標準ノズルよりも流量制限が低くなるためです。マイクロノズルからの液滴サイズは水性バッファーを室温で使用した場合約 8 µL です。0.25 mL/min までの流速で「赤」のチュービングキットを使用する場合は、Drop sync 機能を On にします。

6.4. ディレイボリューム

初期状態（アウトレットバルブから F9-R、F9-T までが 40 cm チュービング、F9-C までが 35 cm チュービング）では以下の値が設定されています。オプションの pH バルブが設置されている場合、そ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）。

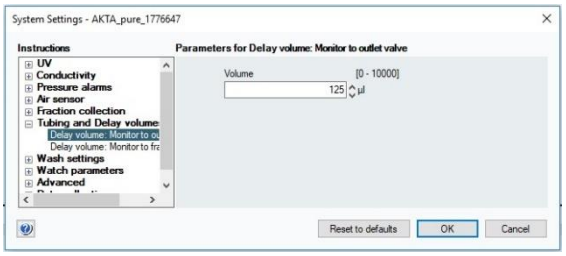
ÄKTA pure 25 （UV フローセル以降 0.5 mm チュービング）	U9-M	U9-L, U9-T	U9-M + V9-pH	U9-L+ V9-pH U9-T+ V9-pH
UV フローセル　～　フラクションコレクターF9-R*	205 µl	214 µl	231 µl	240 µl
UV フローセル ～ フラクションコレクターF9-C*	435 µl	444 µl	462µl	471 µl
UV フローセル ～ フラクションコレクターF9-T*（標準ノズル）	215 µl	224µl	241µl	250 µl
UV フローセル ～ アウトレットバルブ*	125 µl	134 µl	152 µl	161 µl
フローリストリクター（pH バルブ設置時）	-	-	48 µl	48 µl
pH フローセル	-	-	76 µl	76 µl

ÄKTA pure 150 （UV フローセル以降 0.75 mm チュービング）	U9-M	U9-L, U9-T	U9-M + V9H-pH	U9-L+ V9H-pH U9-T + V9H-pH
UV フローセル ～ フラクションコレクターF9-R*	473 µl	482 µl	547 µl	556 µl
UV フローセル ～ フラクションコレクターF9-C*	876 µl	885 µl	950 µl	959 µl
UV フローセル ～ アウトレットバルブ*	296 µl	305 µl	370 µl	379 µl
フローリストリクター（pH バルブ設置時）	-	-	100 µl	100 µl
pH フローセル	-	-	129 µl	129 µl

*　（自動計算）pH バルブが設置されている場合は、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 pure 25 M で pH バルブが設置されていて、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F9-R までのディレイボリューム：231 µl＋48 µl＝279 µl
アウトレットバルブまでのディレイボリューム：152 µl＋48 µl＝200 µl

オプションのチュービングキット（ÄKTA pure 25 で内径 0.25 mm もしくは内径 0.75 mm、ÄKTA pure 150 で内径 0.5 mm もしくは内径 1 mm）を使用する場合は、User Manual（29-1199-69）の「Reference information - Delay volumes」に記載される「Standard delay volumes」の表を参考に値を変更します。

6.4.1. ディレイボリュームの設定



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. **Tubing and Delay volumes** → **Delay volume: Monitor to outlet valve**（または **Monitor to frac**）を選択します。
3. 任意の値を入力します。
4. **OK** ボタンをクリックします。

チュービング内容積

チュービングの長さや内径を変更した場合は、以下の値を参考に、設定値を変更します。

PEEK チュービング	10 cm あたり	備考
内径 0.25 mm（青色）	4.91 µl	高分離能カラム
内径 0.5 mm（オレンジ色）	19.6 µl	標準
内径 0.75 mm（緑色）	44.2 µl	高流速カラム、低圧カラム
内径 1 mm（ベージュ色）	78.5 µl	高流速カラム、低圧カラム

UV フローセルより下流のチュービング（標準設定）

ポジション	長さ	内径（ÄKTA pure 25）	内径（ÄKTA pure 150）
UV フローセル（out） ～ Cond フローセル（in）	17 cm	0.5 mm	0.75 mm
Cond フローセル（out） ～ FR-902（in）	9.5 cm	0.5 mm	0.75 mm
FR-902（out） ～ アウトレットバルブ（in）	13.5 cm	0.5 mm	0.75 mm
アウトレットバルブ（Frac） ～ F9-R	40 cm	0.5 mm	0.75 mm
アウトレットバルブ（Frac） ～ F9-C（in）	35 cm	0.5 mm	0.75 mm
アウトレットバルブ（Frac） ～ F9-T	40 cm	0.5 mm	—
F9-C（in） ～ ディスペンサーヘッド	75 cm	0.5 mm	0.75 mm

pH バルブ増設した際の、pH バルブ周辺のチュービング

ポジション	長さ	内径（ÄKTA pure 25）	内径（ÄKTA pure 150）
Cond フローセル（out） ～ pH バルブ（in）	18 cm	0.5 mm	0.75 mm
pH バルブ（ToR） ～ FR-902（in）	8 cm	0.5 mm	0.75 mm
FR-902（out） ～ pH バルブ（FrR）	8 cm	0.5 mm	0.75 mm
pH バルブ（out） ～ アウトレットバルブ（in）	16 cm	0.5 mm	0.75 mm

（pH バルブ付属のチュービングキット使用時の設定）

7. メソッドの作成

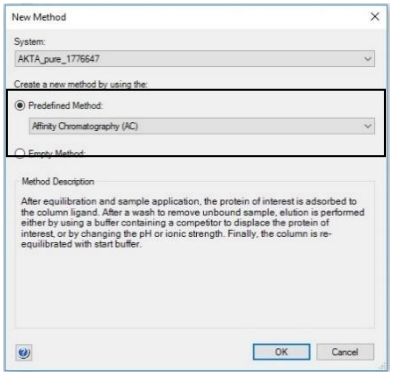
システムの構成や Instrument Configuration のバージョンにより、本書に記載される内容と、UNICORN で表示される項目や選択可能な項目が異なります。UNICORN で表示されない、選択出来ないという点は、ソフトウェアの不具合ではありません。

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

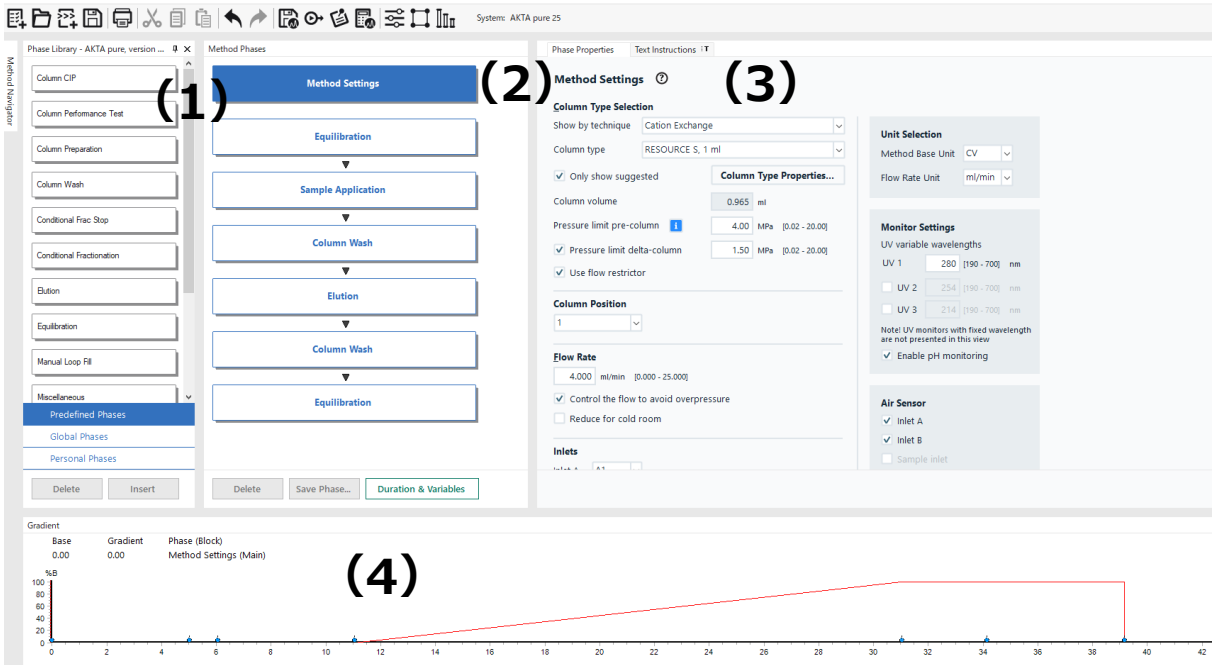
Predefined Method から手法を選択し、**OK** ボタンをクリックします。



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
Affinity chromatography （AC） with Tag removal*	アフィニティークロマトグラフィー （オンカラムでのタグ切断） *
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
Manual loop fill*	ループバルブへのサンプル充填*
NHS-coupling*	HiTrap NHS カラムへのリガンドカップリング*
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

* メソッドの作成、ランの実行にはオプションのコンポーネントが必要です。選択できてもランの実行はできません。

7.3. Method editor モジュールの概要



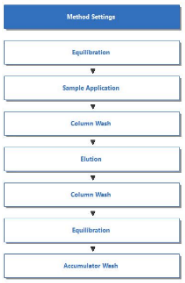
（1） Phase library：利用できるフェーズの一覧を示します。マウスドラッグでメソッド概要へフェーズを追加することができます。

（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。

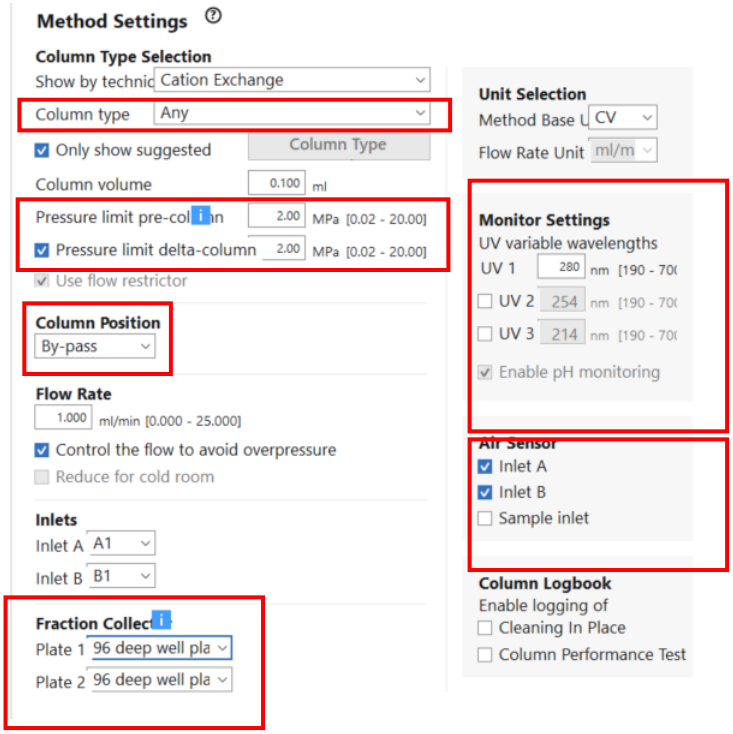
（3） Phase properties：各フェーズの詳細設定を示します。選択した項目によっては薄く表示され、選択できない項目があります。

（4） Gradient：メソッドのグラジエントを示します。

7.4. Method Settings カラム等の設定



メソッド概要中の Method Settings フェーズをクリックします。



- **Column type**
  カラム名
- **Pressure limit pre-column**
  プレカラムもしくはデルタカラム圧※1の耐圧値
  - ☐ **Pressure limit delta-column**
    チェックを入れた場合に、デルタカラム圧※1の耐圧値を入力することができます。
    V9-C、V9H-C が設置されている場合のみ、設定可能。
- **Column position**
  カラムバルブ付きの場合のみ、設定可能。
- **Fraction Collector ＜F9-T のみ＞**
  設置するプレートのタイプを選択します。

必要に応じて下記を設定します。

- **Flow Rate**
  - ☐ **Control To Avoid Overpressure**
    圧力をモニターし耐圧を超えそうになったら、流速を下げる制御を行います。
  - ☐ **Reduce For Cold Room**
    低温で使用する場合チェックを入れると 50%流速を下げた設定になります。
- **Monitor settings**（波長は U9-M のみ）

カラムバルブ V9-C を搭載していず、Pressure limit delta-column が設定できない場合
カラムを選択した際に自動入力される耐圧値は、カラムハードウェアの耐圧（**Pressure limit pre-column pressure**）です。**HiPrep カラム**、**HiScreen カラム**など担体耐圧（**Max delta column pressure**※1）がカラムハードウェア耐圧（**Max pre-column pressure**）よりも低いカラムの場合には、**pre-column pressure** 値に次の注意を基にした**値**を入れ直して下さい。設定を変更せず使用すると、送液圧が担体耐圧を超えて、担体にダメージ（ベッド面が下がり、カラム内部に隙間）が生じる可能性があります。

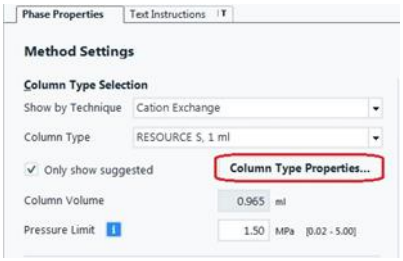
HiTrap、HiLoad、HiPrep、HiScreen カラムは、以下の値を **Alarm pre-column pressure** の耐圧値として入力します。
「**入力値**（以下表の太字）」=「**Max delta column pressure**」（担体耐圧）
+「**0.2 MPa**」（フローリストリクターFR-902 発生圧）

耐圧設定の注意が必要なカラム

<HiTrap カラム>	**<HiLoad カラム>**
<HiPrep カラム>	**<HiScreen カラム>**

Tips! カラムハードウェア耐圧（**Max pre-column pressure**）と担体耐圧（**Max delta column pressure**）の確認の仕方

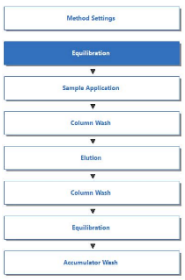
1. **Column Type Properties** ボタンをクリックします。
2. **Run Properties** タブに表示される **Max pre-column pressure**（カラムハードウェア）および **Max delta column pressure**（担体）を確認します。



Parameters	Value	Unit
Technique	Cation Exchange	
Column volume	4.657	ml
Column volume unit	ml	
Max pre-column pressure	0.8	MPa
Max delta column pressure	0.3	MPa
Default flow rate	2.7	ml/min
Max flow rate	5.4	ml/min
Default linear flow rate	347.89	cm/h
Max linear flow rate	695.78	cm/h
Min pH value (short term)	2	
Max pH value (short term)	14	
Min pH value (long term)	2	
Max pH value (long term)	12	

オプションの pH バルブがあり、□**enable pH monitoring** にチェックを入れた場合、pH 電極をフローセルに接続しないと、pH のオンライン測定はできません。校正方法は付録「13.2 pH 電極のキャリブレーション」を参照してください。

7.5. Equilibration カラムの平衡化



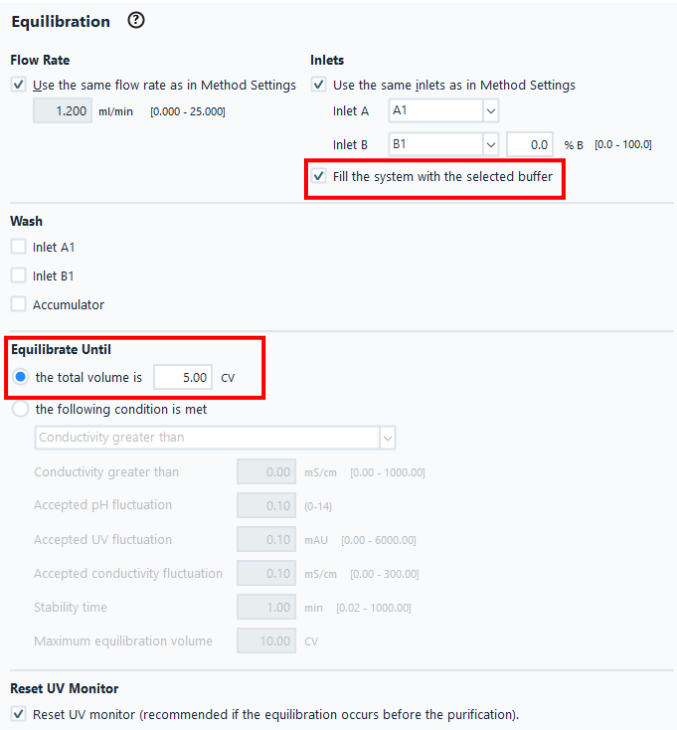
メソッド概要中の Equilibration フェーズをクリックします。

平衡化に使用するバッファー量を変更するには、

・**Equilibrate Until**
● **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ァーに置換されているなら

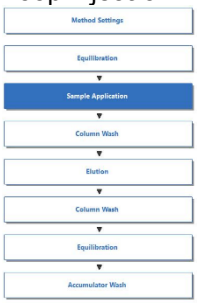
・**Inlets**
□ **Fill the system with the selected buffer**
のチェックを外します。



7.6. Sample Application サンプル添加

7.6.1. Injection サンプル添加方法の選択

<Loop injection>

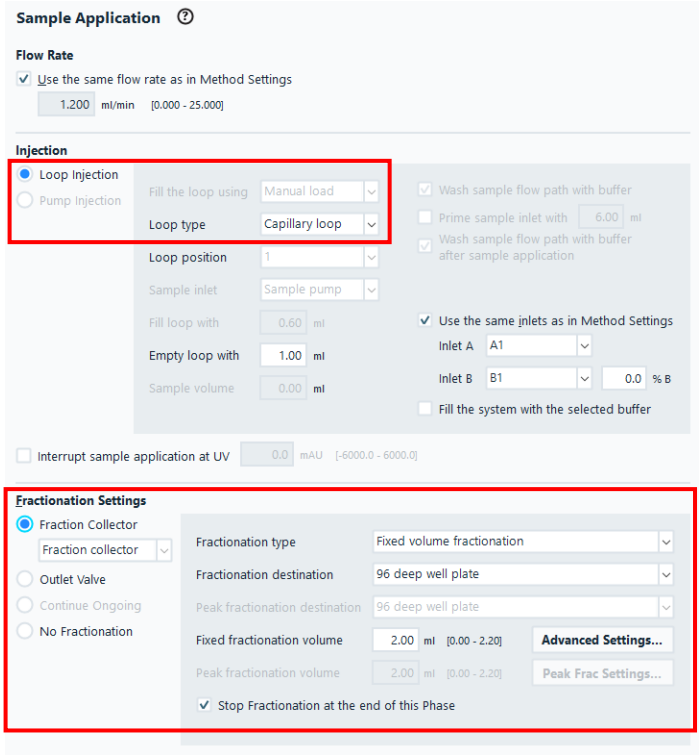


メソッド概要中の **Sample Application** フェーズをクリックします。

・**Injection**

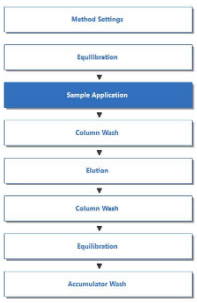
● **Loop injection**：
サンプルループやスーパーループより添加する場合。
スーパーループを使用する場合は、**Loop type** から使用するスーパーループのサイズを選択します（サンプル添加時のみ、システムポンプ圧がスーパーループ耐圧を越した場合に送液停止します）。

・**Empty Loop With**：
任意の値（サンプルループ、Super loop などに送液するバッファー量）を入力します。

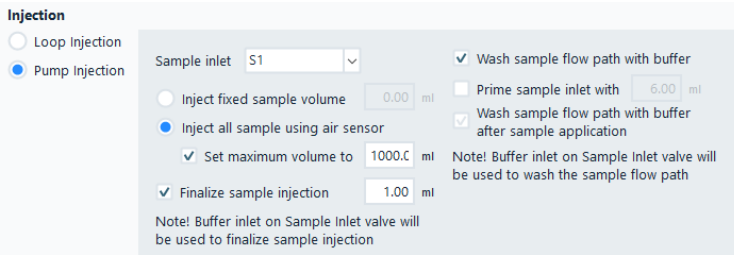


ループバルブ（オプション）が接続される場合、使用する **Loop position** も設定します。カラムバルブが接続されていない場合は、付録に記載される手順でポジションを設定します。

<Pump Injection> オプション



● **Pump Injection**：
サンプルをポンプより添加する場合。
システム構成により、入力可能な項目が変わります。



・**Sample inlet**：インレットを指定。

○ **Inject fixed sample volume**：添加量を指定。

○ **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。

□ **Set maximum volume to**：最大添加量。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。

□ **Finalize sample injection**※ **：**インレットバルブからインジェクションバルブまでのラインのサンプルをカラムへ流す液量。エアーセンサーにて空気を検出後、サンプルバルブを Buffer インレットに切り換え、サンプルポンプ内に残っているサンプルの一部をカラム内に添加。

※ **Pump injection** によりサンプルをカラムへ直接添加した後に、サンプルバルブのポートを Buffer に切り換え、Buffer インレットからのサンプルポンプ内に残ったサンプルをカラムへ添加します。よってサンプルバルブの Buffer インレットに平衡化で使用

するバッファーを接続してください。使用するバッファー量は、システムおよびメソッドの内容により異なります。

☐ **Wash sample pump with buffer**：（推奨）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。

☐ **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。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る。

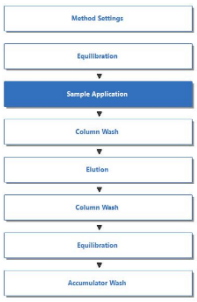
☐ **Wash sample pump with buffer after sample application**：エアーセンサーが無効の場合のみ選択可能。サンプル添加後に Buffer インレットよりポンプ洗浄を行う。ラインに残っているサンプルはインジェクションバルブの廃液ポートに流れる。

> ***Tips!***
> **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（**using outlet valve** と **using fraction collector**）を揃えます。Sample application のフェーズを連続して行い、いずれのフェーズも **Pump injection** 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。

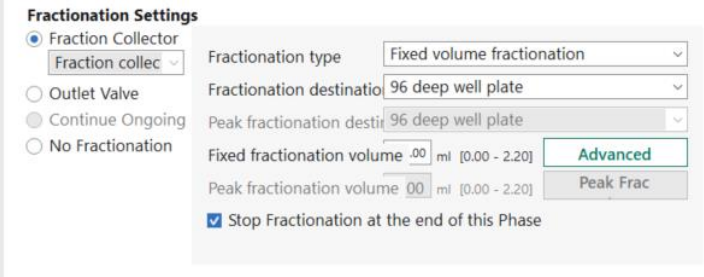
7.6.2. Fraction Settings 分画方法の指定

素通り画分、溶出画分での分画方法は、各フェーズ詳細中の **Fraction Settings** にて選択、設定ができます。

＜Fraction collector＞：フラクションコレクターで回収



- **Fraction Collector**：



> ***Tips!*** 第 2 フラクションコレクターを使用する場合は、「**Fraction collector 2**」を選択します。

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F9-C での回収は出来ません。F9-R、F9-T やアウトレットバルブでの回収は可能です。

＜F9-R＞

3 つの **Fractionation Type** から分取方法を選択します。

- **Fixed volume fractionation**：定量分取。Fixed fractionation volume（1 画分あたりの体積）を設定。
- **Peak fractionation**：ピーク分取。Peak fractionation volume（1 画分あたりの体積）を設定。
  - ➢ **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
- **Fixed volume and peak fractionation**：定量分取とピーク分取を併用。Fixed および Peak fractionation volume で 1 画分あたりの体積を設定。

☐ **Stop Fractionation at the end of this phase**：このフェーズでフラクション回収を終了する場合にはチェックを入れる。

＜F9-C＞

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F9-C での回収は出来ません。F9-R、F9-T やアウトレットバルブでの回収は可能です。

Fractionation destination で使用するプレートまたは試験管を設定。

3 つの **Fractionation Type** から分取方法を選択します。

- **Fixed volume fractionation**：定量分取。Fraction size（1 画分あたりの体積）を設定。
  - ➢ **Advanced Settings**：Start Position（next tube / next line / next cassette / skip two tubes）および、Last Tube Filled では最終試験管（ウェル）に達した際の送液方法（Pause / Waste / Out 1 ～ 10 の各ポート）を選択。
- **Peak fractionation**：ピーク分取。Peak Fraction size（1 画分あたりの体積）を設定。
  - ➢ **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
- **Fixed volume and peak fractionation**：定量分取とピーク分取を併用。Fraction および Peak fractionation size で 1 画分あたりの体積を設定。

☐ **Stop Fractionation at the end of this phase**：このフェーズでフラクション回収を終了する場合にはチェックを入れる。

＜F9-T＞

Tips! Plate Type は Method Settings フェーズで設定します。

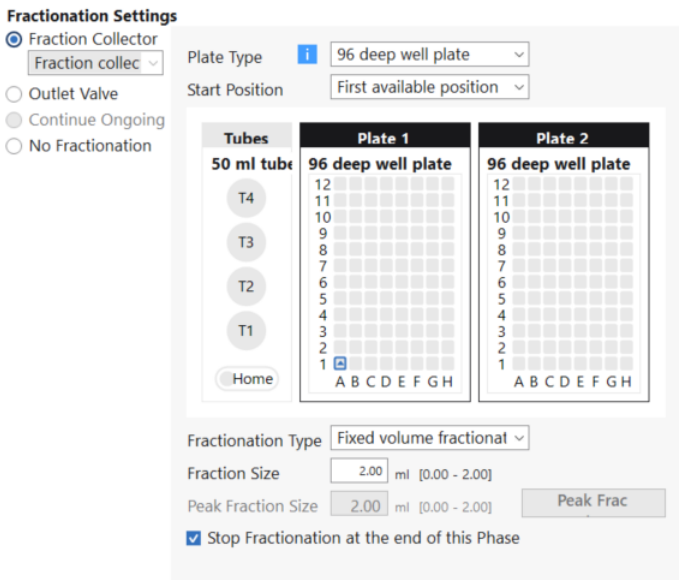


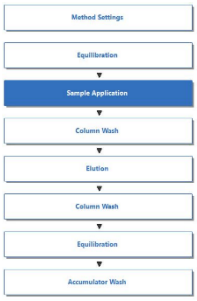
Plate Type（使用するプレートまたは試験管）、**Start Position**（**Set A1 / First available position / First available row / First available plate / Skip two positions / Set position**）を設定。

3 つの **Fractionation Type** から分取方法を選択します。

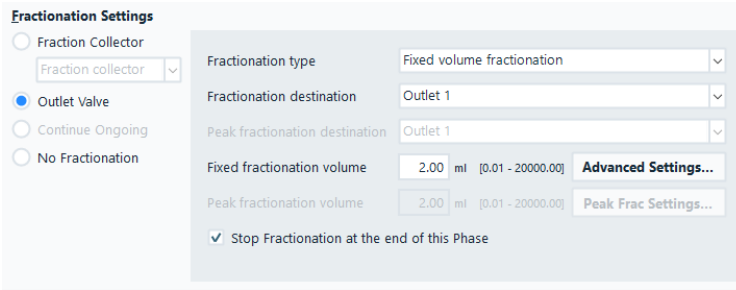
- **Fixed volume fractionation**：定量分取。Fraction size（1 画分あたりの体積）を設定。
- **Peak fractionation**：ピーク分取。Peak Fraction size（1 画分あたりの体積）を設定。
  - ➢ **Peak Fraction Settings**：ピーク認識のためのモード（**level / slope / level and slope / level or slope**）および、それぞれの設定値を入力
- **Combined fractionation**：定量分取とピーク分取を併用。Fraction および Peak fractionation size で 1 画分あたりの体積を設定。

□ **Stop Fractionation at the end of this phase**：このフェーズでフラクション回収を終了する場合にはチェックを入れる。

＜Outlet valve＞：アウトレットバルブで回収



- **Outlet valve**：
  Pump Injection で大量サンプルの添加をする場合。
  素通り画分の液量が多くなるため、Outlet バルブで回収できます。



3 つの **Fractionation Type** から分取方法を選択します。なお、V9-Os の場合、一部の機能が制限されます。

- **Fixed volume fractionation**：定量分取。Fractionation destination（分取開始バルブポジション）と、Fixed fractionation volume（1 画分あたりの体積）を設定。
  - ➢ **Advanced Settings**：最大フラクション数（バルブポート数）を入力
- **Peak fractionation**：ピーク分取。Peak Fractionation destination（分取開始バルブポジション）と、Peak fractionation volume（1 画分あたりの体積）を設定。
  - ➢ **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
- **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。Fractionation destination で分取バルブポジションを設定する。

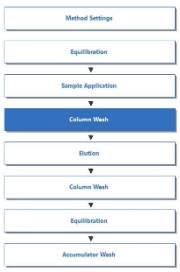
□ **Stop Fractionation at the end of this phase**：このフェーズでフラクション回収を終了する場合にはチェックを入れる。

＜No Fraction＞：回収せず廃棄

＜Continue Ongoing＞：前フェーズの回収方法を継続

前フェーズで **Stop Fractionation at the end of this phase** のチェックを外す。

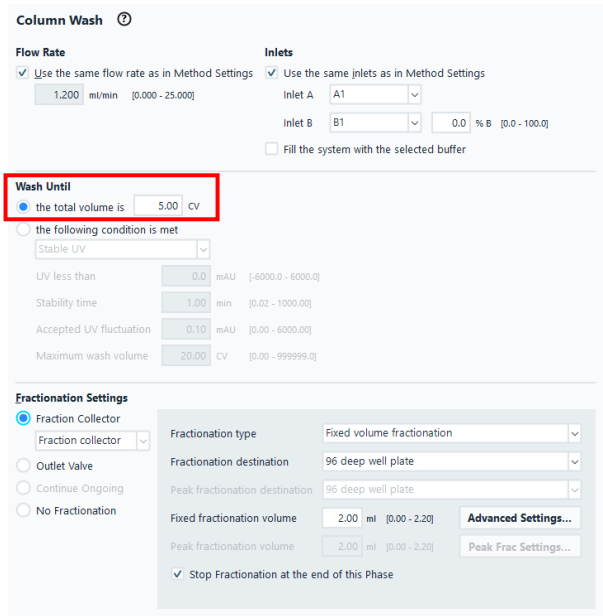
7.7. Column Wash 非吸着画分の洗浄



メソッド概要中の **Column Wash** フェーズをクリックします。
非吸着画分の洗浄に使用するバッファー量を変更するには、**Wash Unit** の「**the total volume is**」の値を変更します。

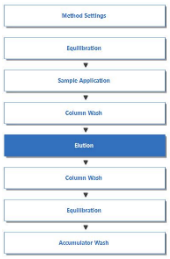
・Fractionation Settings

- **Continue Ongoing**
  前フェーズの回収方法を継続。前フェーズで **Stop Fractionation at the end of this phase** のチェックを外します。



Fractionation Settings は 7.6.2 を参照してください。

7.8. Elution 溶出方法



メソッド概要中の **Elution** フェーズをクリックします。

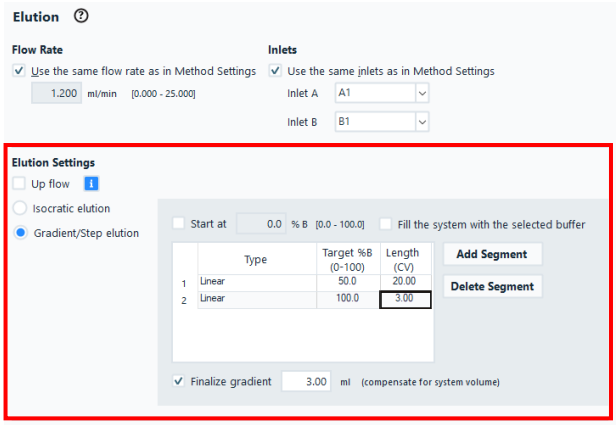
Elution Settings

☐ **Up flow** カラム下方より送液。

カラムバルブ付属時のみ。

● **Isocratic elution**

主にゲルろ過で使用。



● **Gradient/Step 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。

☐ **Start at**：開始%B 濃度

☐ **Fill the system with the selected buffer**：設定した%B でシステム洗浄した後にグラジエント/ステップを開始

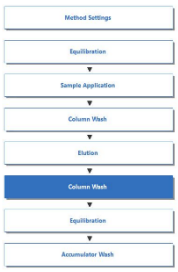
グラジエントは以下より選択、設定します。

- **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**：設定した%B でシステム洗浄した後にステップ
- **Target %B**：目標とする%B
- **Length**：セグメントの溶出体積
- **Add /Delete Segment**：セグメントの追加/削除

Tips! 最終セグメントが Gradient の場合、自動的に Finalize gradient （Gradient delay） （Properties 画面では非表示）が挿入されます。1.4 ml ミキサーチャンバーの場合、3 ml 送液されます。

Fractionation Settings は 7.6.2 を参照してください。

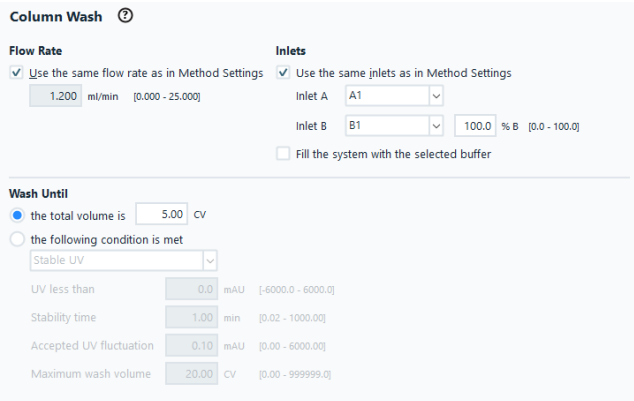
7.9. Column Wash カラムの洗浄



メソッド概要中の **Column Wash** フェーズをクリックします。

溶出後の洗浄に使用するバッファー量を変更するには、**Wash until** の「**the total volume is**」の値を変更します。

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。



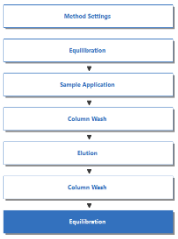
Fractionation Settings は 7.6.2 を参照してください。

7.10. Equilibration 再平衡化

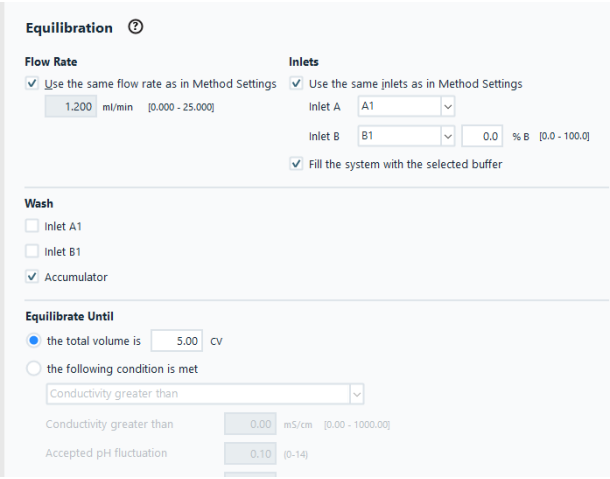
Tips! 不要なフェーズはフェーズ概要下部の **Delete** ボタンをクリックして削除します。

F9-C のみ

メソッド最後の Equilibration を実施する場合は、**Wash** の **Accumulator** のチェックを外します。チェックを入れると高流速での F9-C の Accumulator wash が実行されるため、カラムの耐圧設定オーバーのエラーで一時停止します。



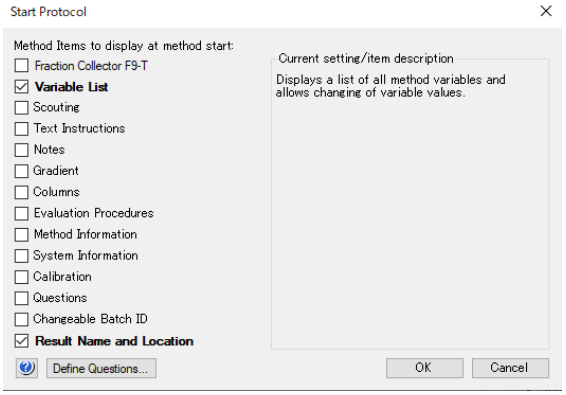
メソッド概要中の Equilibration フェーズをクリックします。
カラムの再平衡化に使用するバッファー量を変更するには、**Equilibrate until** の「**the total volume is**」の値を変更します。



7.11. メソッドの保存

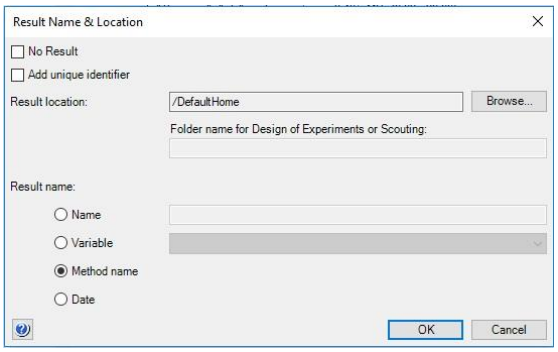
メソッド実行時に表示される確認画面の設定

1. 画面上方のメニュー **Tools** より **Start protocol** をクリックします。
2. ダイアログにて、表示したい項目にチェックを入れます。
3. **OK** ボタンをクリックします。



リザルトファイルの保存フォルダーの指定

1. 画面右上の **Result name & Location** ボタンをクリックします。
2. ダイアログにて、**Browse** ボタンをクリックし、保存先のフォルダーを指定します。
3. **OK** ボタンをクリックします。



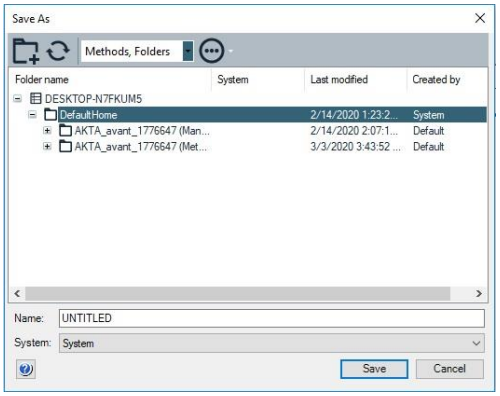
メソッドの保存

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。

必要に応じ下記の設定を実施します。設定後は、**File** ↓**Save** にて保存します。



8. メソッドの実行

8.1. サンプル準備

サンプルは、使用直前に孔径 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 increase 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、サンプルループ体積の 3 倍量以上のバッファーでサンプルループ内を洗浄します。この際、送液したバッファーはポート 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。

> メソッドを開始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. サンプルポンプ（オプション）、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ます。チュービングホルダーを使用するときはインレットフィルター無しで運用します。

8.1.3. ループバルブ（オプション）へのマニュアルサンプル充填

＜カラムバルブが設置されていない＞

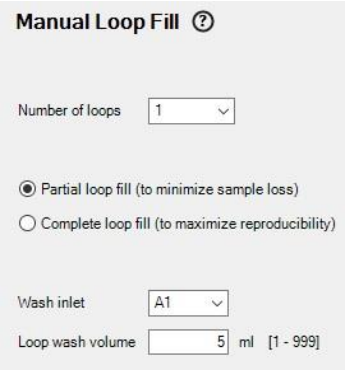
Manual loop fill のフェーズが表示されても、設定出来ません。マニュアル操作にて、ループバルブのバッファー洗浄、サンプル充填を行います。

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（2 ml 以上）をポート Syr に接続して、ループバルブのバイパスラインを洗浄します。
2. サンプルループ体積の 3 倍以上のバッファーを満たしたシリンジをポート Syr に接続します。
3. ポジション 1 を洗浄します。Manual Instructions ダイアログにて以下を設定します。
   Flow path → **Loop valve** → **Position 1** → **Execute**
4. サンプルループ体積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。以下 6 の作業を完了するまでシリンジは挿したままにします。
5. ループバルブのバイパスラインを洗浄します。手順 1 の作業を実行します。
   Flow path → **Loop valve** → **By-pass** → **Execute**
6. ポジション 2 ～ 5 にサンプルを充填する場合は、手順 3 で記載するポジションを使用するポジションに読み替え（**Flow path** → **Loop valve** → **Position 2** ～ **5** → **Execute**）、手順 2 ～ 5 の作業を実行します。
7. シリンジは挿したままで End ボタンをクリックし終了します。

＜カラムバルブが設置されている＞

Tips! Method Editor の Predefined Method にある「**Manual loop fill**」よりサンプル充填用のメソッド作成および実行することをお勧めします。

・**Number of loops** に、充填するループの数を選択します。
例）3 を選択した場合は、ループ 3、ループ 2、ループ 1 の順に充填します。
・部分充填*の場合は **Partial loop fill** を、完全充填の場合は **Complete loop fill** を選択します。
・**Loop wash volume** に、バッファーによるループ洗浄液量（サンプルループの場合、接続される最大のループ体積の 3 倍程度）を入力します。



* ループ体積 1 ml 以上のサンプルループ、スーパーループを使用する場合。ループ体積 500 µl のサンプルループを使用する場合、サンプル液量は 250 µl 以下にします。ループ体積 100 µl 以下のサンプルループを使用する場合は、完全充填を選択します。

本メソッド実行中に、バッファーおよびサンプル充填に関するメッセージが表示されます。メッセージに従い、シリンジの接続、溶液の充填を行い、それぞれの作業が完了したら Continue ボタンをクリックします。

＜バイパスライン洗浄＞

Connect buffer syringe to injection valve to prepare loop valve by-pass wash, then press continue	バッファーを含むシリンジをインジェクションバルブへ接続したら、continue ボタンをクリックします。
Manually inject 5 ml buffer using the syringe, then press continue	シリンジにて 5 ml のバッファーを充填したら、continue ボタンをクリックします。

＜ループへのサンプル充填。例：ループポジション 1 の場合＞

Connect sample syringe to injection valve to prepare loop 1 fill, then press continue	ループ 1 へ充填するサンプルを含むシリンジをインジェクションバルブへ接続したら、continue ボタンをクリックします。
Manually inject the sample in loop 1 using the syringe, then press continue	シリンジにてサンプルをループ 1 へ充填したら、continue ボタンをクリックします。

＜部分充填のみ、ループへのバッファー充填。例：ループポジション 1 の場合＞

Connect buffer syringe to prepare finalize sample injection in loop 1, then press continue	バッファーを含むシリンジをインジェクションバルブへ接続したら、continue ボタンをクリックします。
Inject 250 µl buffer in loop 1, to minimize sample loss, using the syringe, then press continue	シリンジにて 250 µl のバッファーを充填したら、continue ボタンをクリックします。

ループサイズおよび充填したサンプル量によっては、指定された液量を充填した場合、サンプルがループから廃液されることがあります。

8.2. フラクションコレクターの確認

8.2.1.　F9-R

ラックに十分な本数の試験管が挿入されているかを確認します。

> ***Tips!*** 素通り画分、溶出画分の 1 本目の試験管にはディレイボリューム分の液が回収され、2 本目以降にクロマトグラムに対応した溶液が回収されます。
> ディレイボリューム分の液が回収された画分は、クロマトグラム上には試験管番号が表示されません。クロマトグラムには分画番号 1 は表示されず、分画番号 2 以降が表示されます。

8.2.2.　F9-C

メソッドで指定したカセットやプレート、試験管が設置されていることを確認します。

分取中にフラクションコレクターの扉を開くと、システムがポーズ状態になります。

メソッド実行中に扉を開き、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。
カセットの種類、ポジションは途中で変更できません。

> ***Tips!*** Ready 状態で扉を開閉すると、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。

> ***Tips!*** メソッド実行中に扉を開いても、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。

> ***Tips!*** F9-C 試験管ポジションのリセットをメソッドへ追加する。13.9 章を参照。

> ***Tips!*** 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F9-C 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。必ず同じ種類のカセットを同じ場所に置いてください。

＜F9-C の分取方向＞

初期設定は Row-by-row（同一の横方向）です。
System control より変更します。
System Settings → Fractionation settings

Accumulator 使用時には 4 種類（Row-by-row、Serpentine-row、Column-by-column、Serpentine-column）から、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

8.2.3.　F9-T

ラックに十分な数の試験管、プレートが挿入されているかを確認します。

Tips!　ディレイボリュームのみの液が回収された画分は、クロマトグラム上には試験管番号が表示されません。クロマトグラムには分画番号 1 は表示されず、分画番号 2 以降が表示されます。

F9-T のディレイボリュームは 3 つの回収方法 **Auto**、**Combined with first**、**Separate position** を選択できます。

設定方法

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 F9-T** → **Collection of pre-fractionation volume** を選択します。

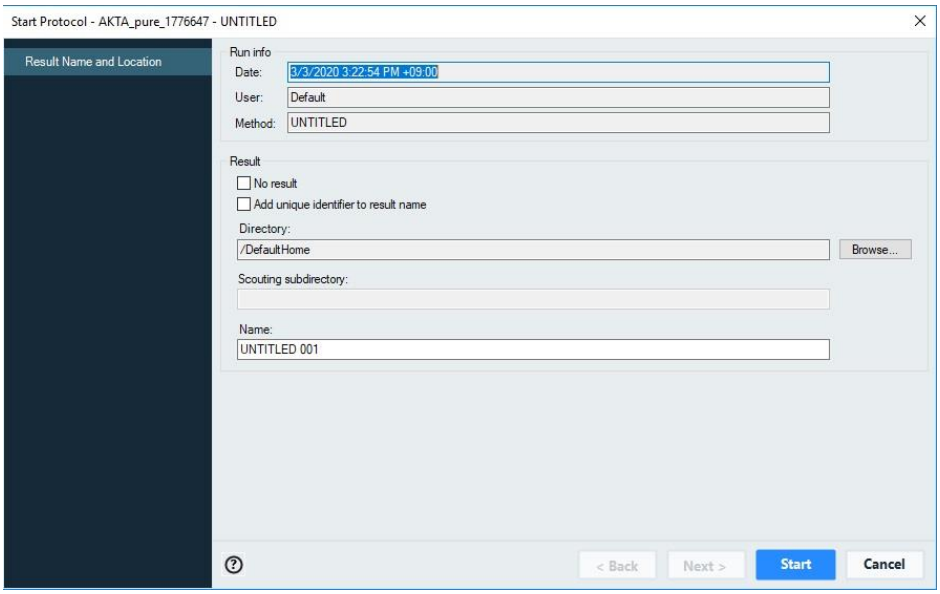
- Auto：分画量によって変わります。
  5 ml 以下：別のウェルに回収。
  5 ml 以上：最初の溶出画分と同じポジションにディレイボリュームを回収。
- Combined with first：最初の溶出画分と同じポジションにディレイボリュームを回収します。
  分画量とディレイボリュームがウェルの最大許容量を超える場合は別のポジションに回収。
- Separate position：最初の分画とは異なるポジションでディレイボリュームを収集します。

8.2.4.　アウトレットバルブ

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確認します。

8.3. メソッド実行

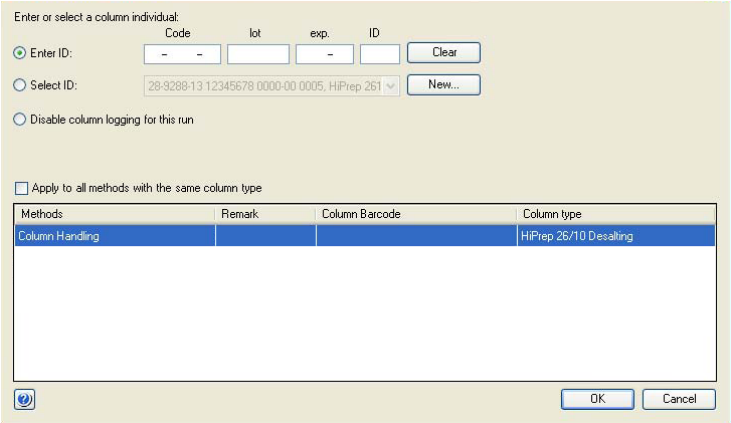
1. System Control より **File** ↓ **Open** を選択します（Method Navigator が開いている場合は不要です）。
2. 実行するファイルを選択します。
3. **File** ↓ **Run** を選択します。
4. Start protocol 画面が表示されます。
   保存フォルダー、ファイル名を確認し、Start ボタンをクリックします。設定により Next ボタンがアクティブな場合は、Start ボタンがアクティブになるまで Next ボタンをクリックします。初期のファイル名はメソッド名の後に 3 桁の連番数字が付加されます。

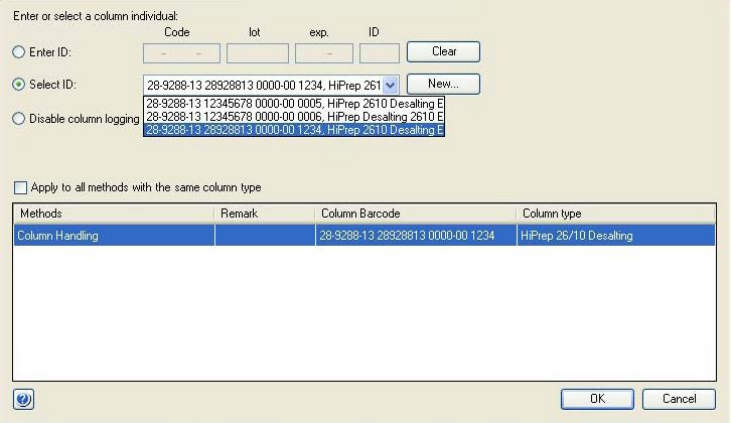


8.3.1. オプション：カラムログブックの入力

カラムログブックライセンスが必要です。

1. 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。
   新規にカラム情報を登録する場合は手順 8 の作業を実施します。
2. **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。
3. 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、メソッドを実行します。
4. 新規にカラム登録する場合は New ボタンをクリックします。
   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。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。
5. 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。

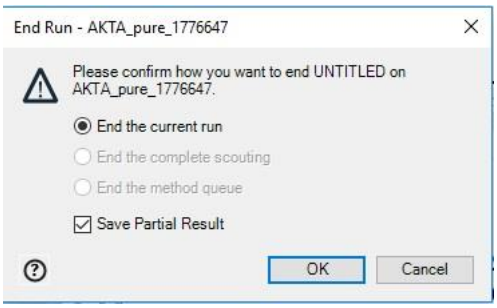




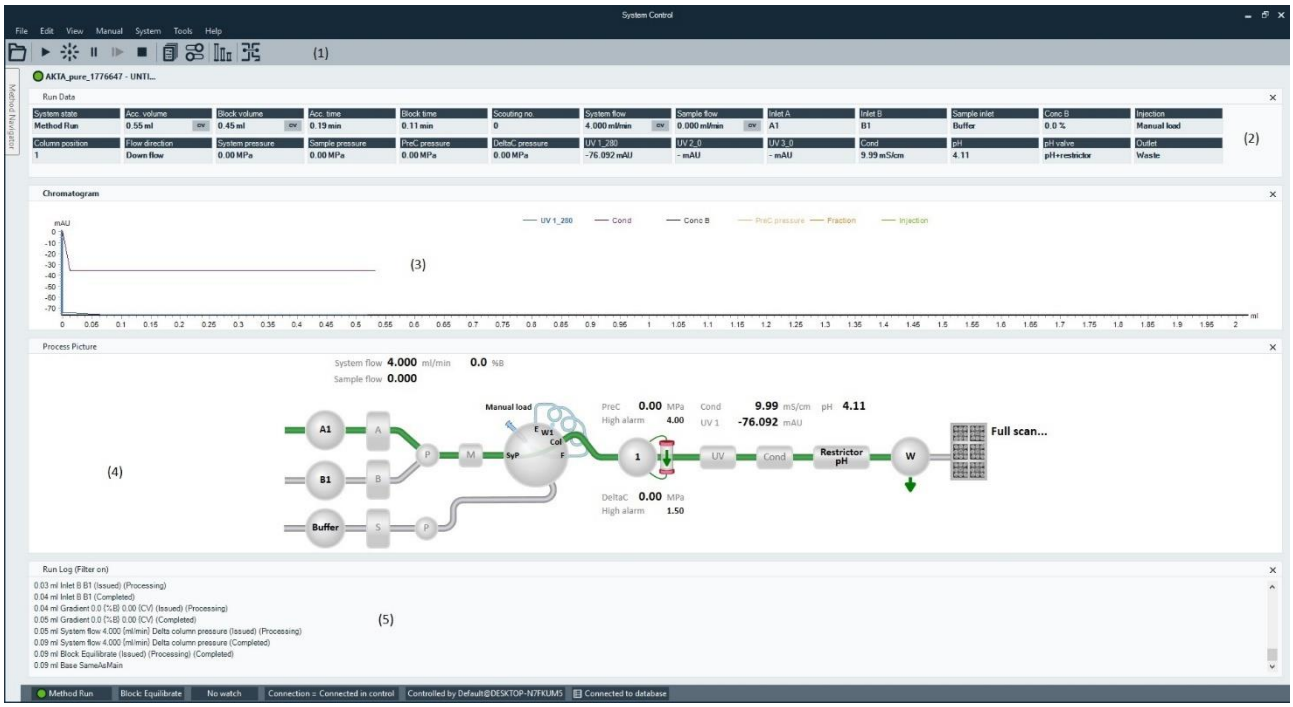
8.4. 強制終了

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



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

8.5.1. アイコン

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	メソッドの実行（メソッドが実行されている時はグレー表示になります）
	Hold	ポンプからの送液は止めずに、今の状況を維持 **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。
	Pause	ポンプからの送液を止め、今の状況を一時停止 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
	End	実行しているメソッドを中断し終了
	Documentation	システムと実行中の Run の情報が表示
	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
	Column Handling	**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。 オプションで **Column Logbook** にカラムの使用履歴を保存できます。
	Connect to System	**Connect to System** ダイアログが開きシステムを接続 現在接続している User が表示されます。

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。

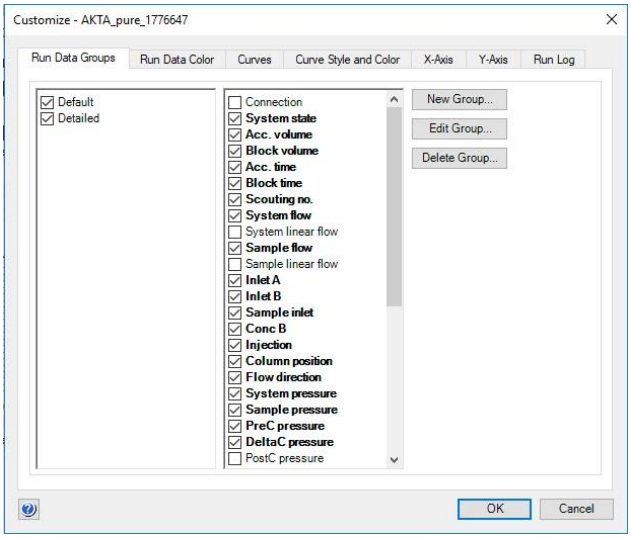
Process Picture から命令することもできます。

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。

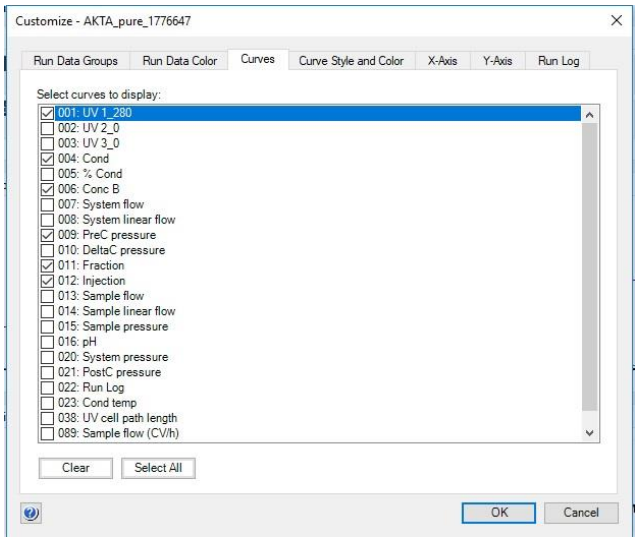
8.6.1. Run Data の選択

1. **Run Data Groups** タブをクリックします。
2. 表示したい項目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。



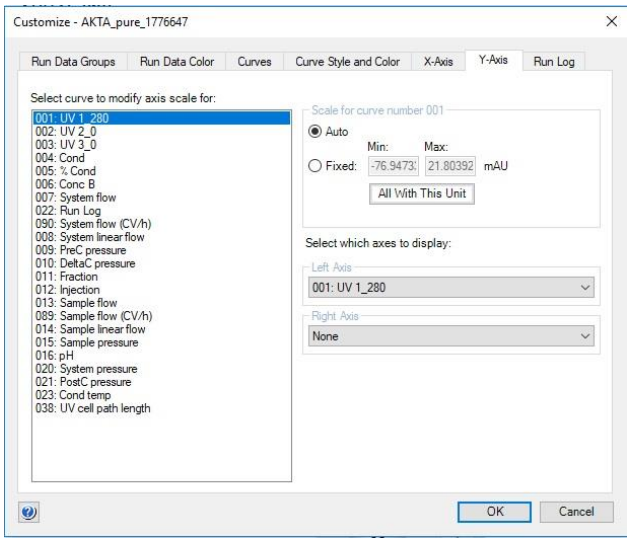
8.6.2. カーブの選択

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。



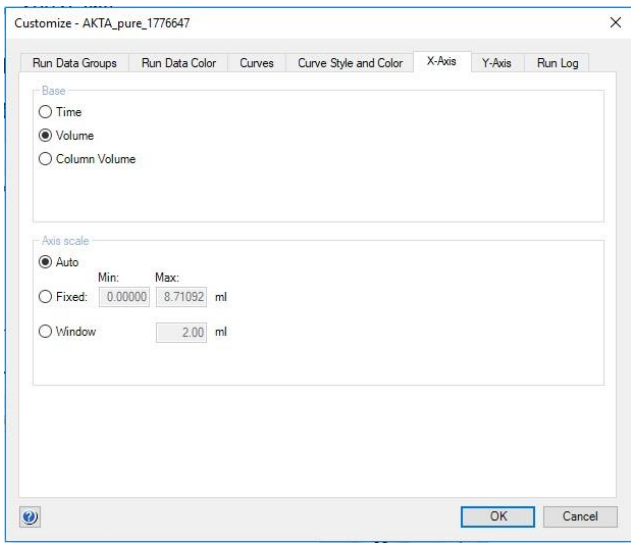
8.6.3. Y 軸の設定

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. 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。



8.6.4. X 軸の設定

1. 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。



9. Evaluation データ処理

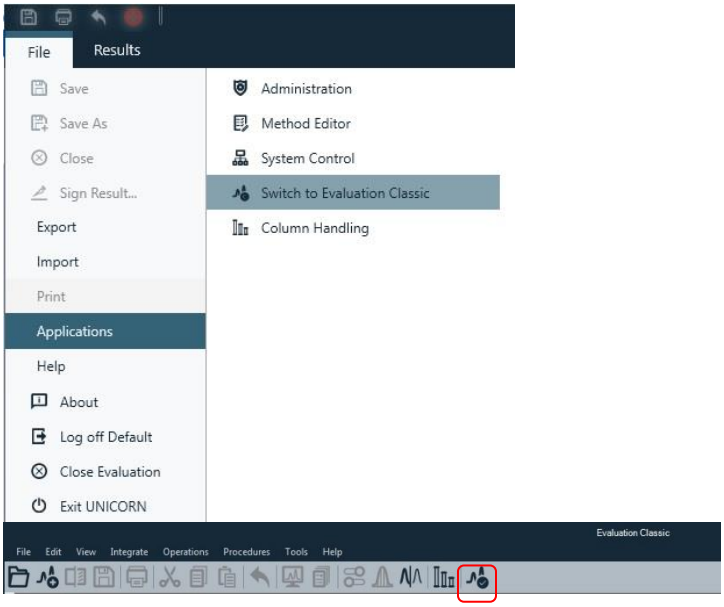
本作業はスケジュールバックアップを含む、データベースのバックアップが行われていない時に実行してください。

Evaluation Classic を使用する場合は、「9.2 Evaluation Classic」へ進みます。

Tips! **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できます。**Evaluation Classic** ライセンスの取得方法は、本書の 1 章を参照してください。

＜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＞

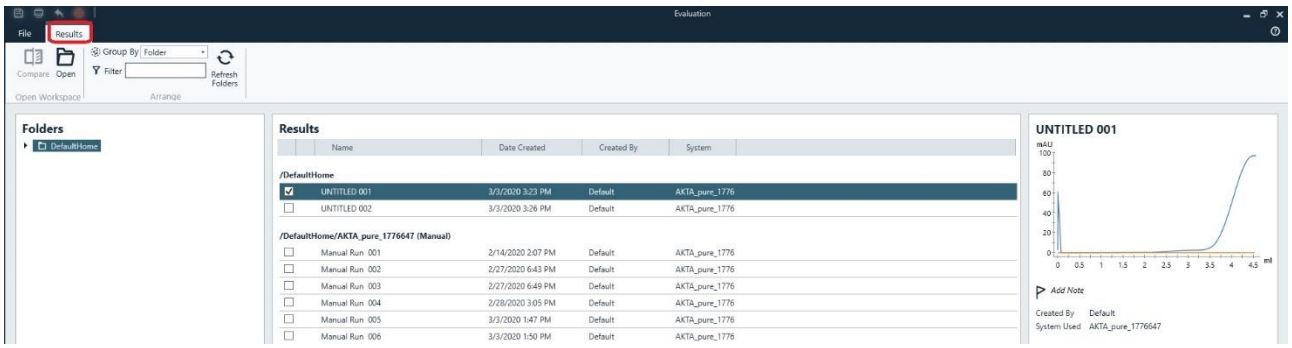
1. **Evaluation Classic** の **Switch to Evaluation** ボタン（右図では一番右側のボタン）をクリックします。
2. **Evaluation Classic** モジュールが閉じ、**Evaluation** モジュールが起動します。

9.1. Evaluation ＜UNICORN 7＞

Tips! 手順の詳細は Help 中に記載される **Getting started** 動画を参照してください。

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。
2. 該当するファイルをダブルクリックします。

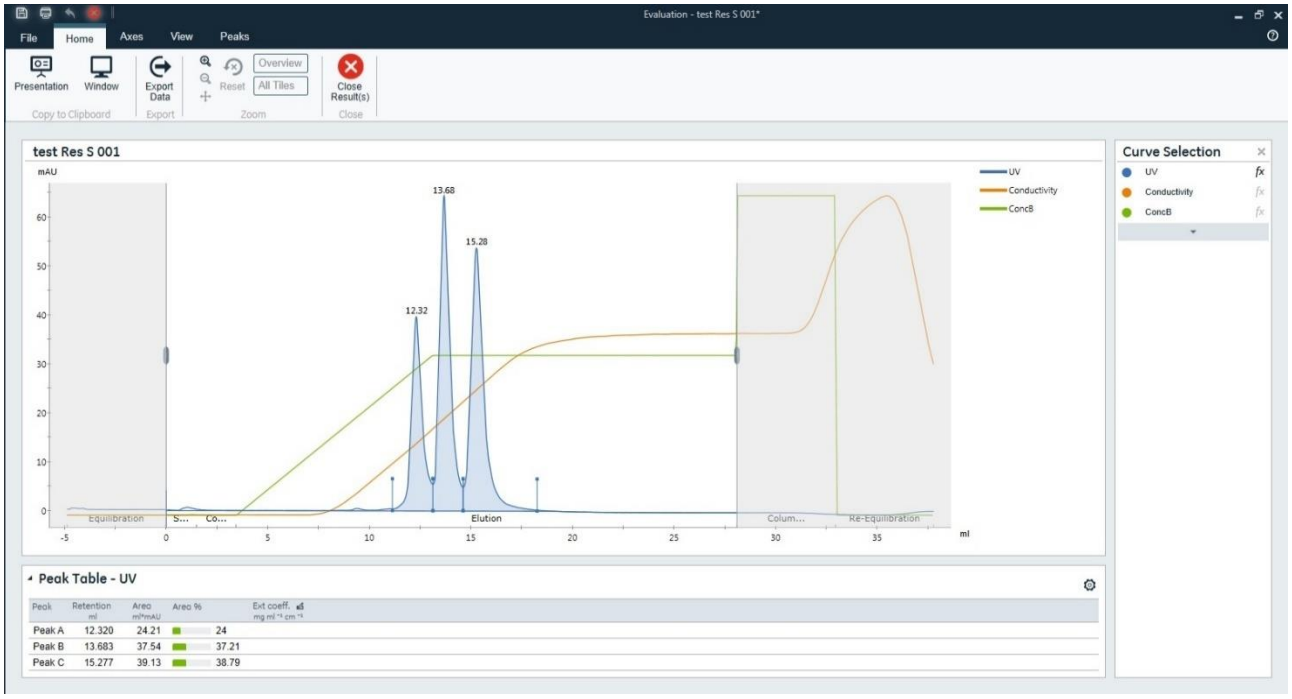


9.1.2. 画面表示

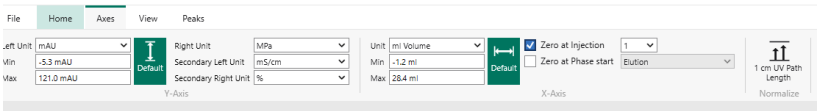
9.1.2.1. カーブの選択

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。

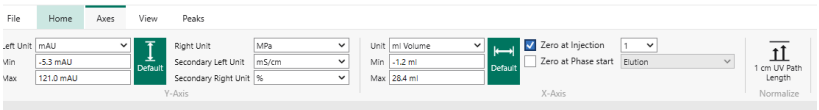


9.1.2.2. Y 軸の設定



1. **Axis** タブをクリックします。
2. 左側の軸に表示させたいカーブ（**Left 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. クロマトグラムの右側にも Y 軸の目盛りを表示する場合は、**Right Unit** より該当するカーブを選択します。
   左右の Y 軸にそれぞれ **Secondary unit** を設定することもできます。

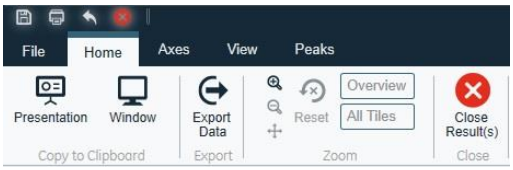
9.1.2.3. X 軸の設定



1. **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）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。
   Zero at Phase start にチェックを入れると、任意の Phase の開始ポイントを 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。



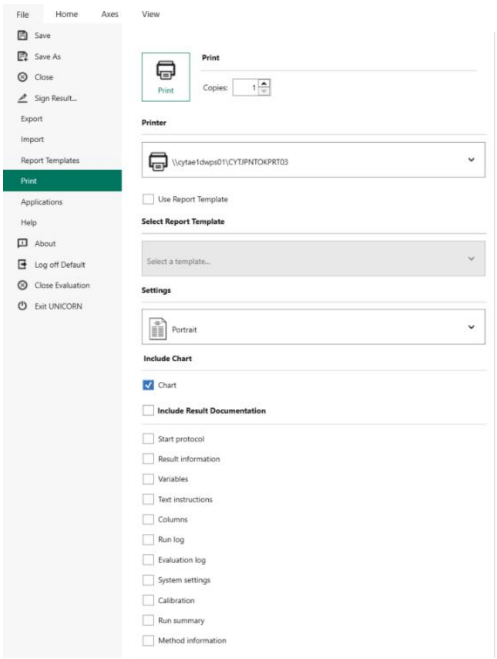
1. **Home** タブをクリックします。
2. **Zoom In** ボタン（虫眼鏡の中が＋）をクリックします。
3. ドラッグして、ズームアップしたい範囲を囲います。

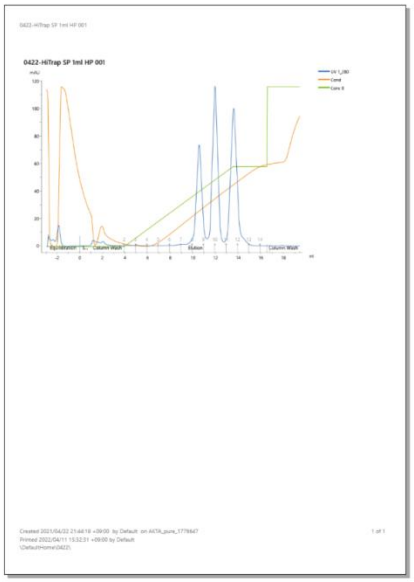
4. 1 回前の表示に戻す場合は **Zoom Out** ボタン（虫眼鏡の中が **－**）をクリックします。ズームアップを解除するには **Reset** ボタンをクリックします。

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。

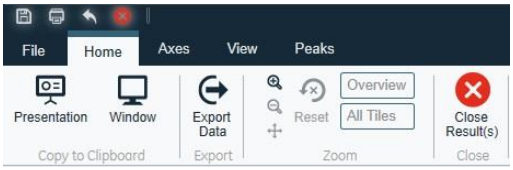
1. **File** タブの **Print** をクリックします。
2. Settings から用紙の向きを設定します。
3. 必要に応じて印字項目を **Include Content** から選択します。





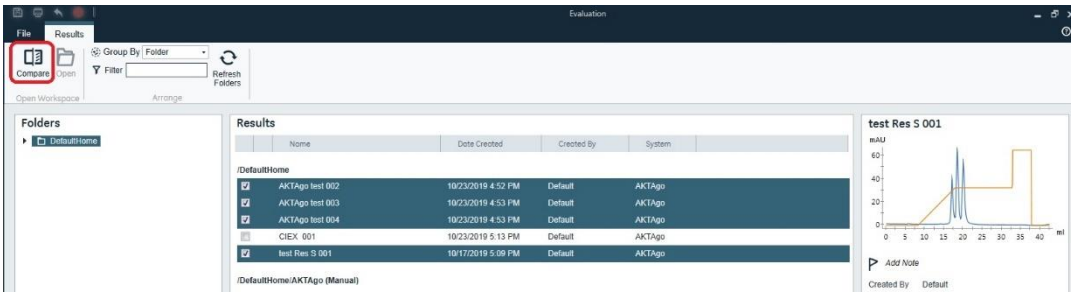
9.1.4. ファイルのクローズ

1. **Home** タブをクリックします。
2. **Close Result（s）** ボタンをクリックします。



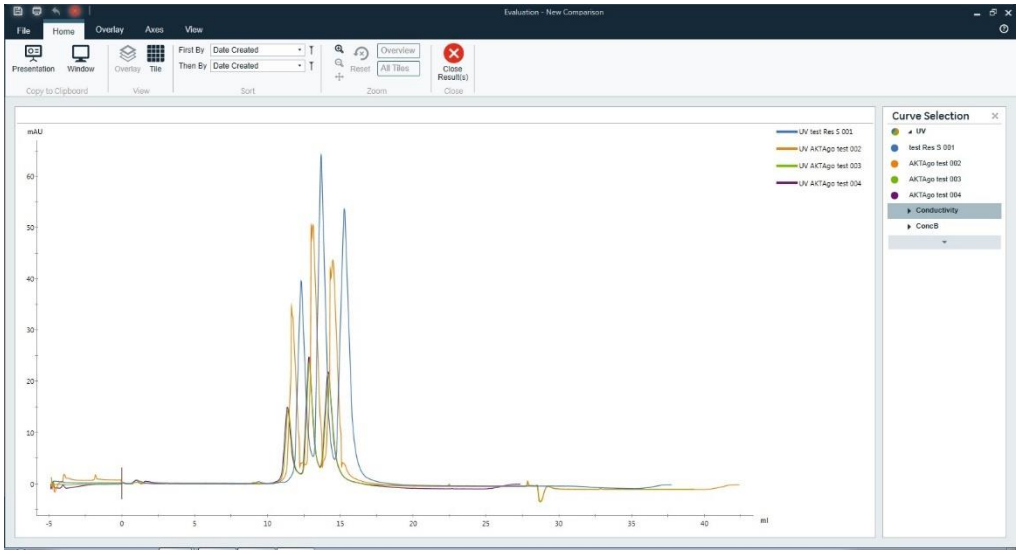
9.1.5. 複数のクロマトグラムの表示

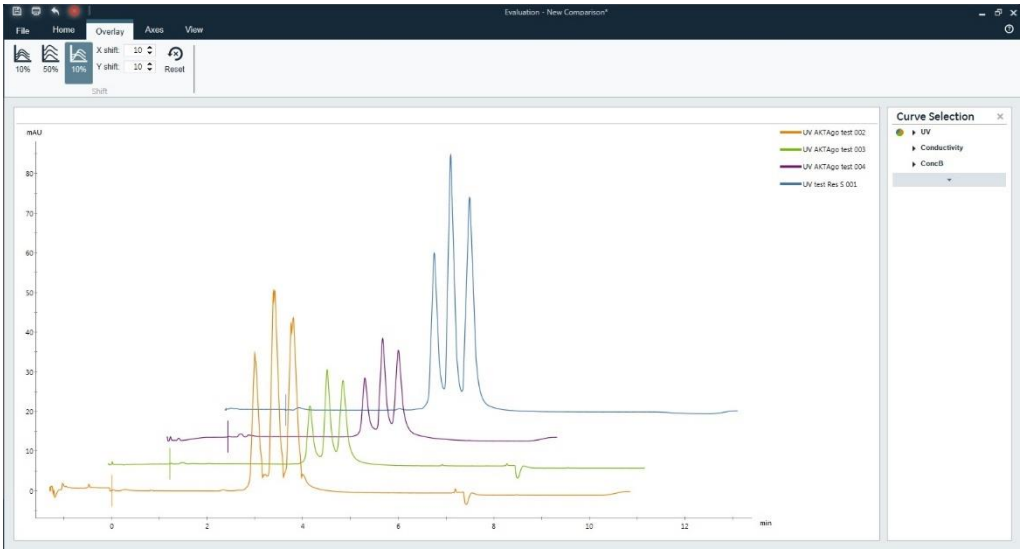
1. Evaluation の **Results** タブをクリックします。
2. 該当するファイルにチェックを入れます。



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。





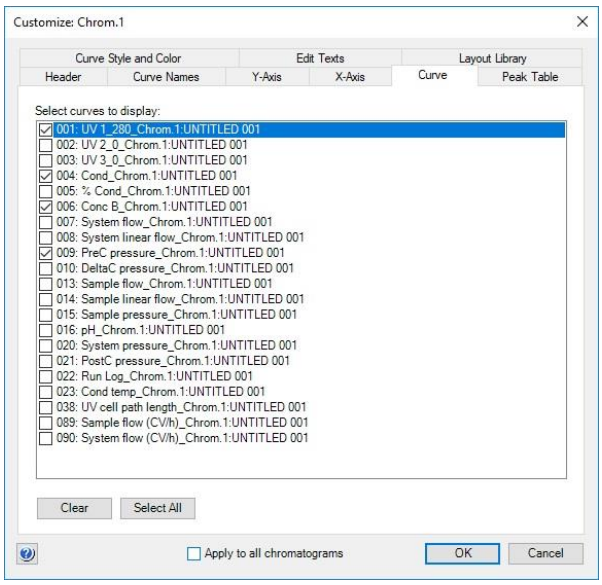
9.2. Evaluation Classic

9.2.1. データの呼び出し

1. Evaluation より **File** ↓ **Open** → **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。

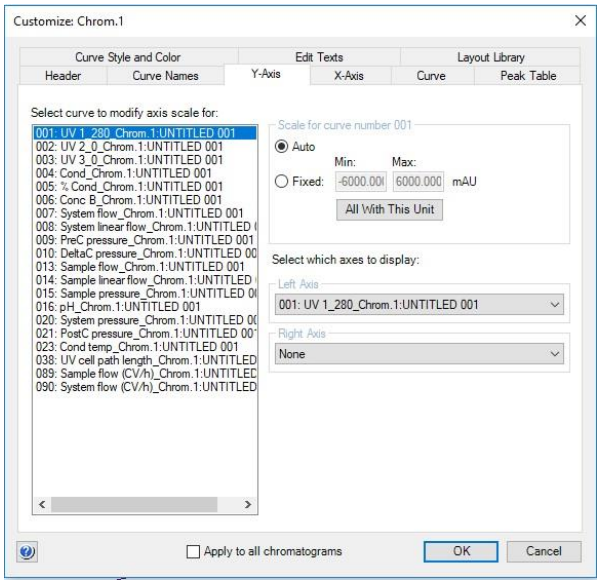


9.2.2.1. カーブの選択

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。

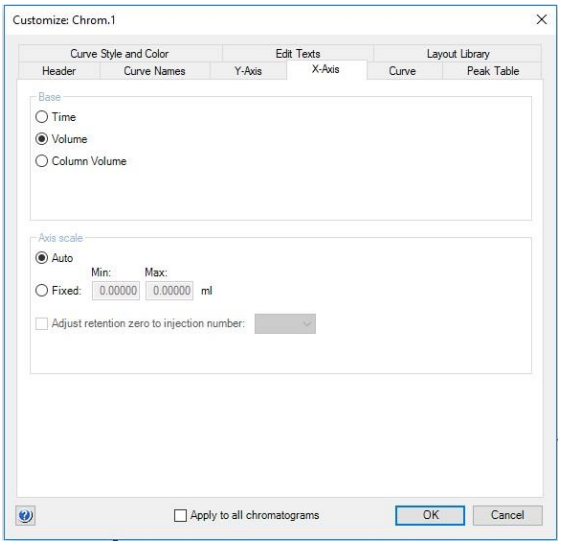
9.2.2.2. Y 軸の設定

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。



9.2.2.3. X 軸の設定

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。
3. **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。
4. **OK** ボタンをクリックすると変更が反映されます。



9.2.2.4. 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。

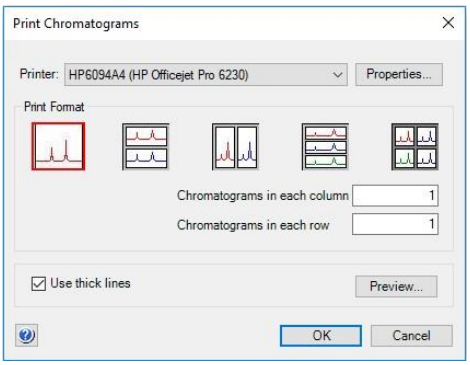
1. ズームアップしたい範囲にカーソルを移動します。
2. ドラッグして、ズームアップしたい範囲を囲います。
3. ズームアップを解除するには、右クリックし、メニューから **Reset zoom** を選択します。

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。
2. **File** ↓ **Print** を選択し、**Print Chromatograms** ダイアログを表示します。
   Print format（クロマトグラムの配置）を選択します。
   カーブを太線で印刷する場合は **Use thick lines** にチェックを入れます。
3. **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）。
4. 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。
5. **OK** ボタンをクリックしプリントします。

10. システムの終了

10.1. システムおよびカラムの洗浄

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。

> カラムバルブが設置されていないシステムでメソッドを作成して洗浄する方法を選択すると、カラムを破損する恐れがあります。マニュアル操作での洗浄を強くお勧めします。

> システムを 2 日以上使用しない場合は 20%エタノールで置換します。

> 超純水でシステム、カラムを洗浄してから 20%エタノールで同じ作業を行います。
> カラムの保存液はカラムによって異なります。取扱説明書を確認してください。

> Superloop は装置洗浄前にとり外し、分解洗浄します。
> Superloop の取り付けに使用したチュービングは Union 1/16 Female/ 1/16 Female で接続しループにします。

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。**System Control** モジュールにて **Manual Instructions** ダイアログより
   Pumps → **Pump A wash** → （使用したインレット） → **Execute**
   Pumps → **Pump B wash** → （使用したインレット） → **Execute**
   Pumps → **Sample pump wash** → （使用したインレット） → **Execute**
3. カラムの洗浄のため、耐圧値入力します。**Manual Instructions** ダイアログより
   ＜カラムバルブ V9-C / V9H-C が設置されている場合＞
   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**
   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。

   ＜カラムバルブ V9-Cs / V9H-Cs / V9-Cm が設置されている場合、およびカラムバルブ無しの場合＞
   Alarms → **Alarm pre-column pressure** → **High alarm**（Max delta column pressure の値） → **Execute**
   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 delta column pressure** の値を入力します。

   > HiTrap、HiLoad、HiPrep、HiScreen カラムについては、Max delta column pressure に FR-902 で発生する 0.2 MPa を加算した値（ただし、カラムハードウェアの耐圧値を超さない）を Alarm pre-column pressure の耐圧値として入力します。

4. カラムバルブが設置されている場合は、流路を切り換えます。**Manual Instructions** ダイアログより
   Flow path → **Column Position** → Position 1（使用したポジション） → **Execute**
5. 送液を開始します。**Manual Instructions** ダイアログより
   Pumps → **System Flow** → （至適流速またはそれ以下） → **Execute**
6. 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カラム流路をバイパスにします。
   Manual Instructions ダイアログより

Flow path → **Column Position** → **Bypass** → **Execute**

7. **END** ボタンをクリックします。
8. カラムバルブが設置されていない場合は、カラムを取り外します。

カラムを外さずにこの後のステップを実施しないでください。高流速のためカラムを破損する恐れがあります。

9. フラクションラインの洗浄を行います。
   ＜F9-R を使用＞
   5 ml 容量以上の試験管を設置します。**Manual Instructions** ダイアログより
   Pumps → **System Flow** → **2** ～ **5** ml/min → **Execute**
   Flow path → **Outlet Valve** → **Frac** → **Execute**
   2 ml 送液したら、次の項目を実行します。
10. ＜F9-C を使用＞
   Manual Instructions ダイアログより
   Pumps → **System Flow** → **2** ～ **5** ml/min → **Execute**
   Fraction collection → **Fraction collector wash** → **Execute**
   このコマンドが実行される間のみ、フラクションコレクターへ高流速で送液されます。そのためカラムバルブを設置していない装置の場合には、必ずカラムを取り外した場合のみ操作します。
   フラクションコレクターへの送液が終了したら、次の項目を実行します。
11. ＜F9-T を使用＞
   Manual Instructions ダイアログより
   Pumps → **System Flow** → **1** ml/min → **Execute**
   Fraction collection F9-T→ **Go home** → **Execute**
   Flow path → **Outlet valve** → **position Frac**
   1 分間のフラクションコレクターへの送液が終了したら、次の項目を実行します。
12. 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。**Manual Instructions** ダイアログより
   Flow path → **Outlet Valve** → （任意のポート） → **Execute**
13. 5 ml 以上送液したら **END** ボタンをクリックします。
14. 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。
15. （オプション）ループバルブに接続されるサンプルループの洗浄は、手順 14 を参考に行います。
   1 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 ポートに接続します。
   2 ポジション 1 に接続したサンプルループを洗浄する場合、**Manual Instructions** ダイアログより
   Flow path → **Loop valve** → **Position 1** → **Execute**
   3 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。
   4 ポジション 2 ～ 5 に接続したサンプルループを洗浄する場合は、手順 2 に記載するポジションを洗浄するポジションに読み替え（**Flow path** → **Loop valve** → **Position 2** ～ **5** → **Execute**）、2 ～ 3 の作業を実行します。
   5 バイパスライン（**Flow path** → **Loop valve** → **By-pass** → **Execute**）を 2 ml 以上の超純水で洗浄します。
   6 **End** ボタンをクリックします。

Tips! 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。
Other → Timer → （パラメーターを設定） → Execute

Tips! 上記は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。
カラムの洗浄は、溶媒耐性を確認し送液を行います。

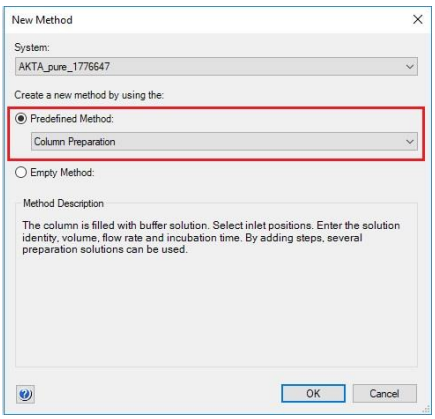
Tips! 20%エタノールは溶液粘性が高いため、至適流速よりも低い流速で送液します（例：室温では 1/2 程度、低温では 1/4 程度）。

10.1.2. メソッド作成による洗浄

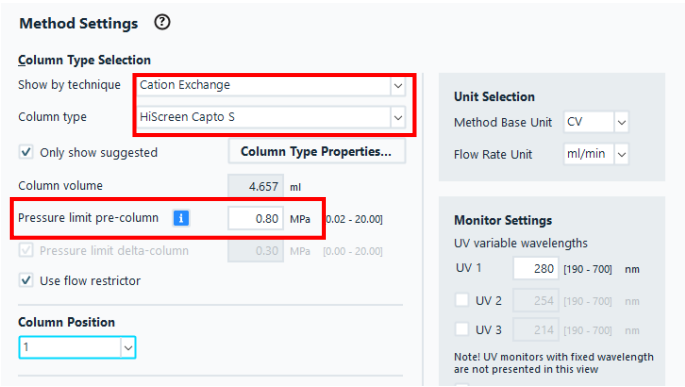
カラムバルブが設置されていないシステムでメソッドを作成して洗浄する方法を選択すると、カラムを破損する恐れがあります。マニュアル操作での洗浄を強くお勧めします。

このメソッドはカラム保護の観点からカラムごとに作成することをお勧めします。

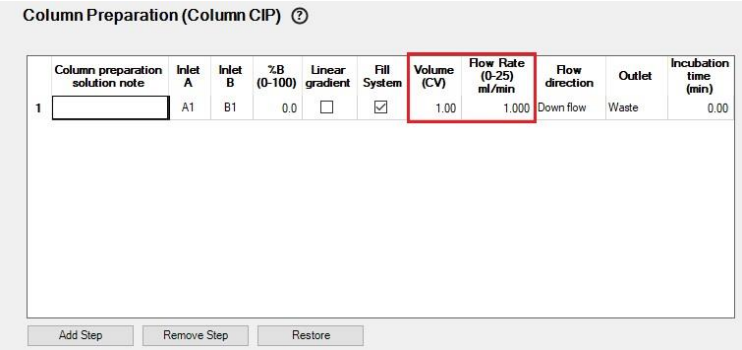
1. 洗浄用のメソッドを作成します。メソッド作成の概要は 7 章を参照してください。
   既にメソッドを作成済みの場合は手順 14 より実施します。
2. **Method editor** より **File** ↓ **New Method** を選択します。
3. **Predefined Method** にチェックを入れ、**Column Preparation** を選択し、**OK** ボタンをクリックします。



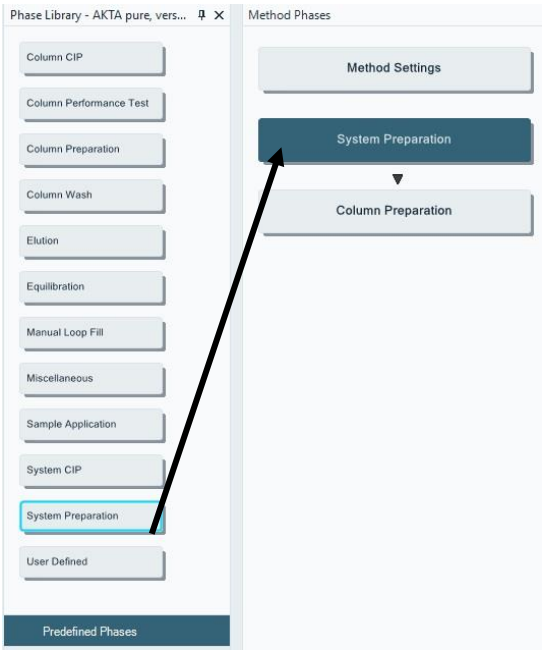
4. メソッド概要中の **Method Settings** フェーズをクリックします。**Column Type Selection**、**Column position** などの項目を入力します。
   Pressure limit pre-column の値は、**Max delta column pressure** の値を入力し直します。
   カラム耐圧の設定は、10.1.1、マニュアル操作での洗浄の手順 3 を参照してください。



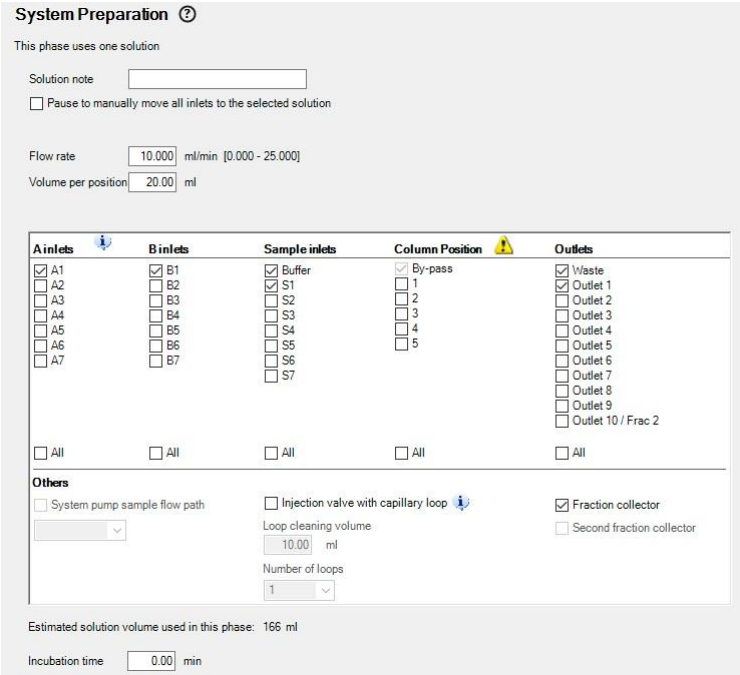
5. メソッド概要中の **Column Preparation** フェーズをクリックします。
6. **Volume （CV）** に洗浄で使用するカラム体積（3 ～ 5）を入力します。
7. 必要に応じて流速を変更します。
   初期値は 1 ml/min のため、
   推奨流速が 1 ml/min 以下のカラムの場合には、必ず変更します。



8. **Phase Library** 中の **System Preparation** を、**Method Settings** と **Column Preparation** の間にドラッグします。



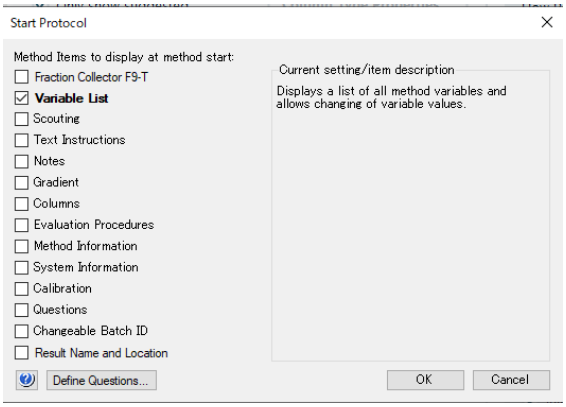
9. カラム以外の洗浄する（使用した）ラインを選択します。
   例：初期に選択されているインレットに加え、**B1**、**Fraction collector** を選択。**F9-C** を使用した場合には、**Fraction collector** も選択。
   Volume per position：上記で選択した各ラインの洗浄で使用する液量（20 ～ 30 ml）を入力。
   サンプルループを洗浄する場合は、「**Injection valve with capillary loop**」にチェックを入れ、**Loop cleaning volume** にサンプルループの 3 倍以上の容量を入力します。
10. ループバルブ（オプション）を使用した場合は、**Number of loops** より使用したループの数を選択します。



System Preparation フェーズではカラムの保護の観点から、Column Position（カラムポジション）を選択しないで下さい。選択するとカラムに対しても本フェーズで設定した流速で送液、最大圧はシステム圧上限に設定されるため、カラムは保護されません。
選択する場合は、カラムを取り外し、バイパスチューブを接続してから、洗浄します。

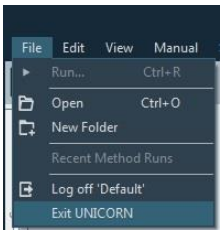
Tips! サンプルループの洗浄をマニュアルで行う場合は、超純水を満たしたシリンジをインジェクションバルブの Syr ポートに接続し、サンプルループ体積の 3 倍量以上の超純水で洗浄します。この際、空気の混入は問題ありません。

11. 画面上方のメニュー **Tools** より **Start protocol** をクリックします。
12. 表示されたダイアログから、**Variable List** にチェックを入れ、**OK** ボタンをクリックします。
13. **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。
14. 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。
15. 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）。
16. 実行するファイルを選択します。
17. **File** ↓ **Run** を選択します。
18. **Start protocol** 画面が表示されます。
19. **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（流速、耐圧、カラムポジションなど）を確認し、**Next** ボタンをクリックします。
20. 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。
21. 以降の手順は 8.4 メソッド実行を参照してください。



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できます）。
   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. 本体右側面奥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。



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。

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. 週 1 回以上使用の場合には、ポンプピストンの裏側を洗浄するリンス液は定期的に週 1 回 20%エタノールを交換します（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）。
2. リンス液が減っていたり、濁っていたりする場合も交換します。

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。

3. 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。
4. 循環していない場合は、シリンジを短いほうの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.　バッファーインレットフィルター

バッファ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。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、取り付けません。

11.5.　圧力センサーキャリブレーション

13.2を参照

週一回キャリブレーションをします。

12.　データ管理

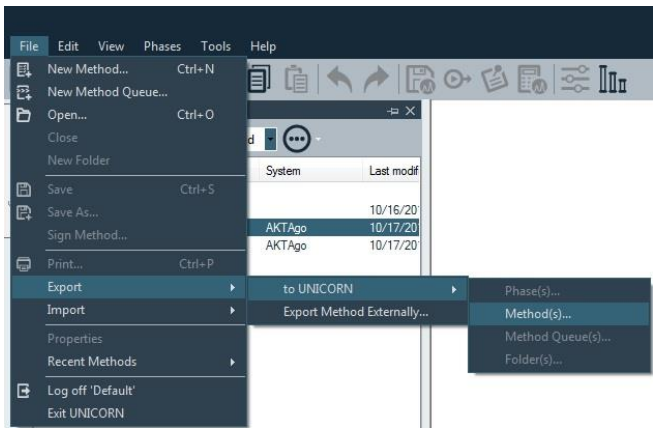
12.1.　メソッド / リザルトファイルのバックアップ

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利用します。

Tips! お問い合わせいただいたときに送付を依頼する ZIP 圧縮ファイルです。

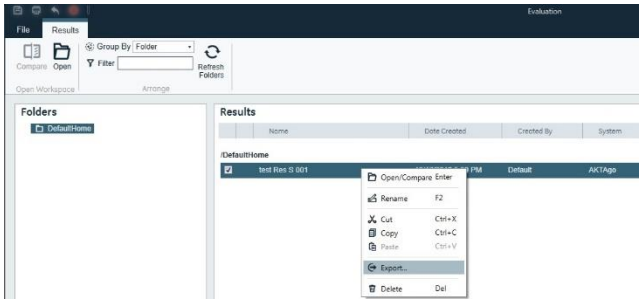
«メソッドファイル»

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。



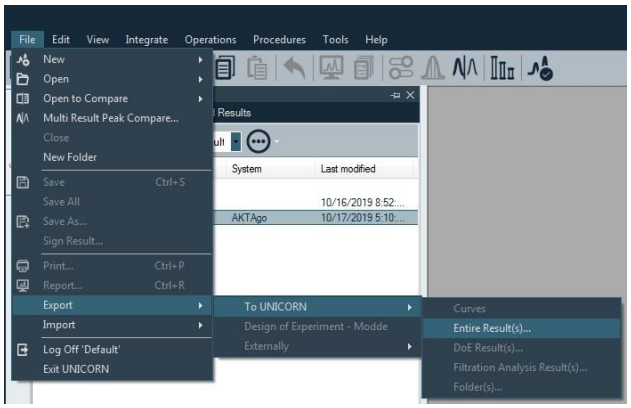
«リザルトファイル：UNICORN 7 Evaluation»

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。

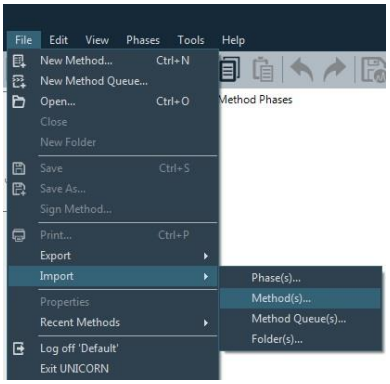


12.2. メソッド / リザルトファイルの復元

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。

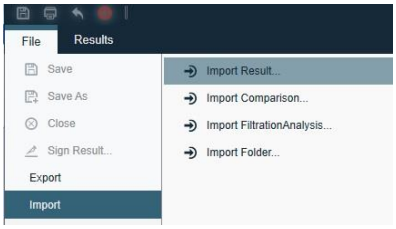
本項目で UNICORN 5 形式について記載していますが、全てのファイルについて動作を保証するわけではありません。
メソッドファイルは UNICORN 5 および UNICORN 6 / 7 の両方で動作する ÄKTApilot、ÄKTAprocess、ÄKTAexplorer、ÄKTApurifier、ÄKTA ready、ÄKTAcrossflow、UniFlux のみが対象です（ÄKTA pure は対象外です）。

«メソッドファイル»



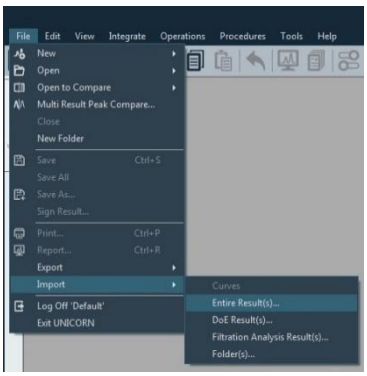
1. **Method editor** より **File** ↓ **Import** → **Import Method** を選択します。
2. 表示された画面右下のプルダウンメニューよりファイル形式を選択します。UNICORN 6/7 形式の zip ファイルの場合は「**Zip files （*.zip）**」を、UNICORN 5 形式の m01 ファイルの場合には「**UNICORN 5 Method Files （*.m??）**」を選択します。
3. 該当するファイルを選択し、OK ボタンをクリックします。
4. **Import Method** 画面で保存するフォルダーを選択し、**Name** に任意のファイル名を入力します。
5. **Import** 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 **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»

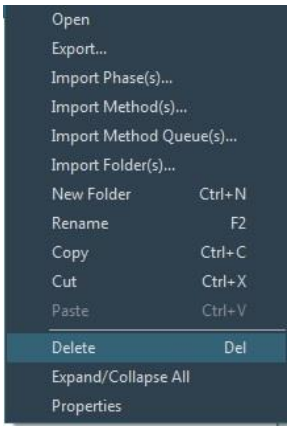


1. **Evaluation（Classic）**より **File** ↓ **Import** → **Entire Result** を選択します。
2. 表示された画面右下のプルダウンメニューよりファイル形式を選択します。UNICORN 6/7 形式の zip ファイルの場合は「**Zip files （*.zip）**」を、UNICORN 5 形式の res ファイルの場合には「**UNICORN 5.* Result Files （*.res）**」を選択します。
3. 該当するファイルを選択し、**OK** ボタンをクリックします。
4. **Import Result** 画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。

12.3. ファイルの削除

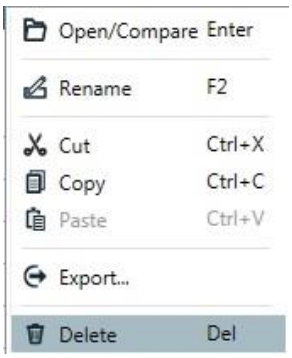
«メソッドファイル»

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。



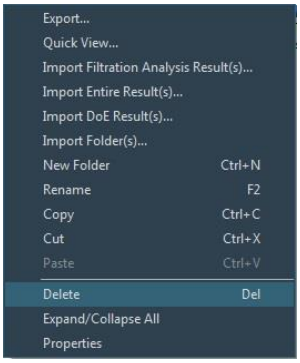
«リザルトファイル：UNICORN 7 Evaluation»

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»

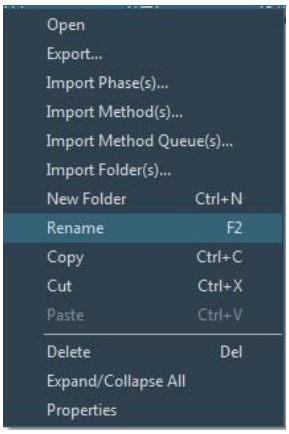
1. **Evaluation（Classic）** より **File** ↓ **Open** → **Result Navigator** を選択します。
2. 該当するファイルを選択し、**右クリック**します。メニューより **Delete** を選択します。
3. 確認画面が表示されます。**Yes** ボタンをクリックします。



12.4. ファイル名の変更

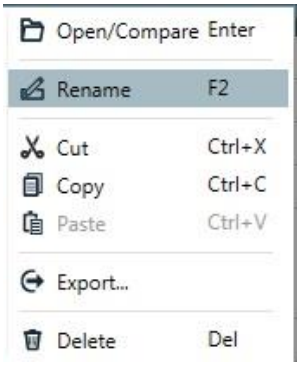
«メソッドファイル»

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。



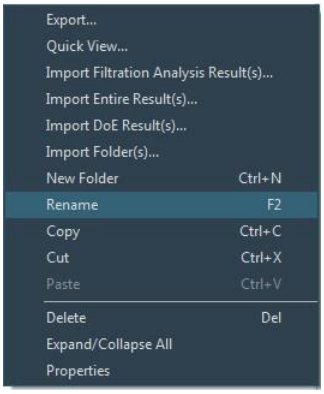
«リザルトファイル：UNICORN 7 Evaluation»

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。



«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 **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。

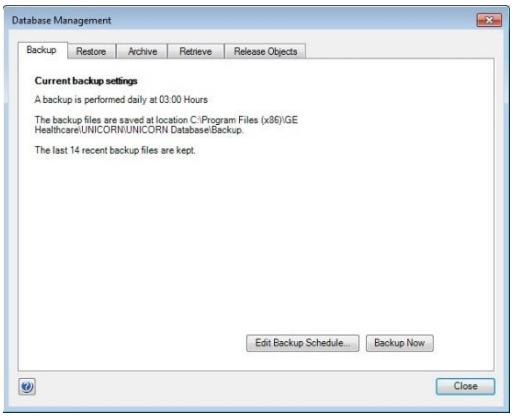


12.5. データベースのバックアップ

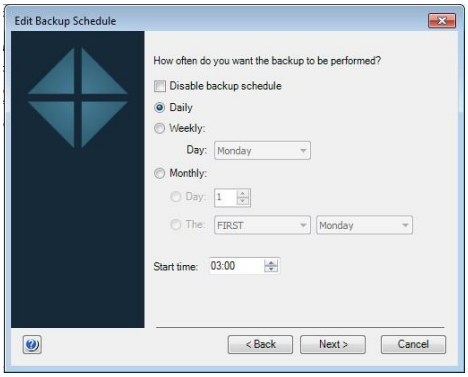
UNICORN 6 および UNICORN 7 ではシステム構成、メソッド、リザルト、カラムリストなどの情報をデータベースとして管理しています。定期的なバックアップにより、コンピューターの不測事態によるデータ損失を最小限にとどめることができます。
初期設定では、午前 3:00 にコンピューターの電源が入っている場合のみ、自動的にバックアップされるよう設定されています。

12.5.1. 手動バックアップ

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。
5. 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。



12.5.2. 自動バックアップのスケジュールを変更

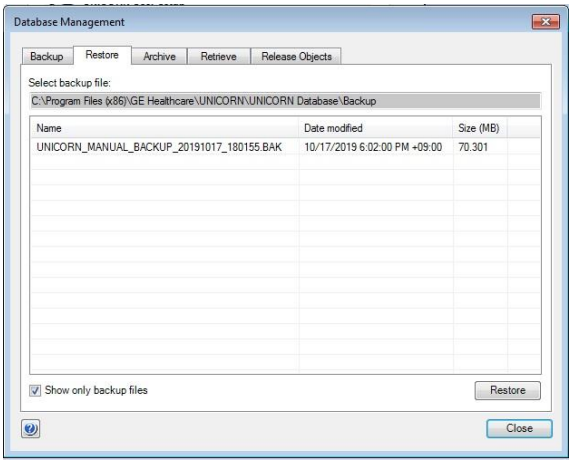


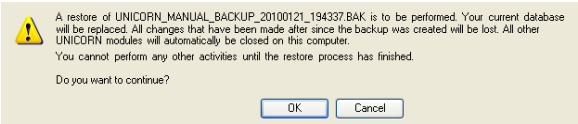
1. **Administration** より **Database Management** をクリックします。
2. **Backup** タブをクリックし、**Edit Backup Schedule** ボタンをクリックします。
3. **Edit Backup Schedule** のウィザード画面が表示されます。**Next** ボタンをクリックします。
4. バックアップファイル生成の頻度および開始時間を設定し、**Next** ボタンをクリックします。
5. スケジュールバックアップファイルの最大保存数を確認します（初期設定では 14 ファイル）。
6. **Next** ボ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

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にします。





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 12.5 を参照してください。）。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。

13. 付録

13.1. 英文マニュアルのダウンロード
13.2. 圧力センサーのキャリブレーション
13.3. pH 電極のキャリブレーション
13.4. pH フローセルの洗浄および pH 電極の保存
13.5. フラクションコレクター F9-C センサーの洗浄
13.6. フラクションコレクター F9-C 配管の交換
13.7. Instrument configurations コンフィグレーションファイルのアップデート
13.8. カラム事前定義ファイルアップデート
13.9. F9-C 試験管ポジションのリセット：メソッドへの追加
13.10. ループバルブのポジション設定：メソッドへの追加

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、弊社グローバル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。

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。

	System Handbook	User Manual	Operating Instructions
ÄKTA pure	29-020655 （公開終了、User Manual に名称変更）	29119969	29022997

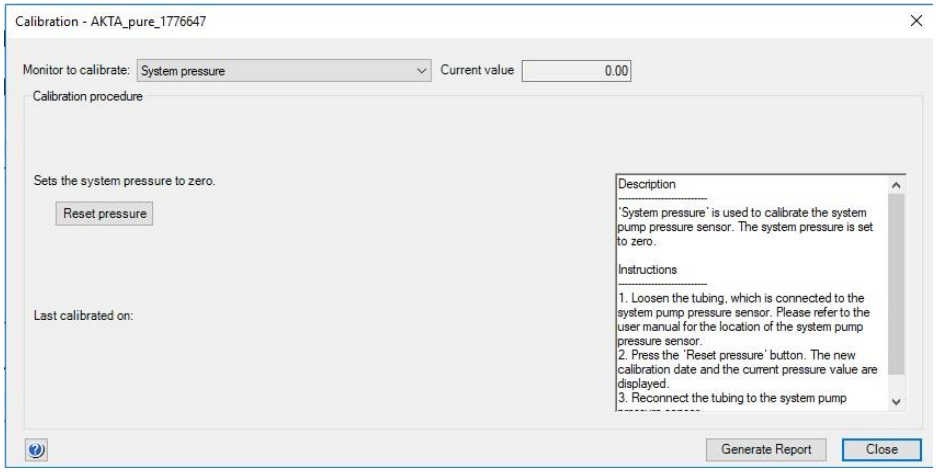
	Administration and Technical Manual	Method Manual	System Control Manual	Evaluation Manual	OPC Manual UNICORN OPC server
UNICORN 7.6	29503103	29503105	29503108	29503107	29503109
UNICORN 7.7	29659145		29659149	29659147	
UNICORN 7.8	29714173	29714174	29714180	29714177	
UNICORN 7.9	29722729	29722730	29722732	29722731	
UNICORN 7.11	29742193	29742196	29742198	29742197	

13.2. 圧力センサーのキャリブレーション

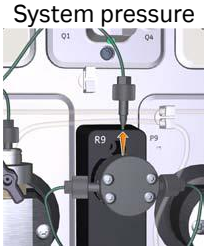
送液停止（End）時に圧力値が±0.02 MPa を超える場合に、以下の手順でキャリブレーションを行います。

週一回キャリブレーションをします。

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



2. 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。

«システムポンプ»	«サンプルポンプ»	«プレカラム»	«ポストカラム»
System pressure	Sample pressure	PreC pressure	PostC pressure
			
圧力センサー出口	圧力センサー出口 S9 のみ可能	カラムバルブポート In V9-C のみ可能	カラムバルブポート Out V9-C のみ可能

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。

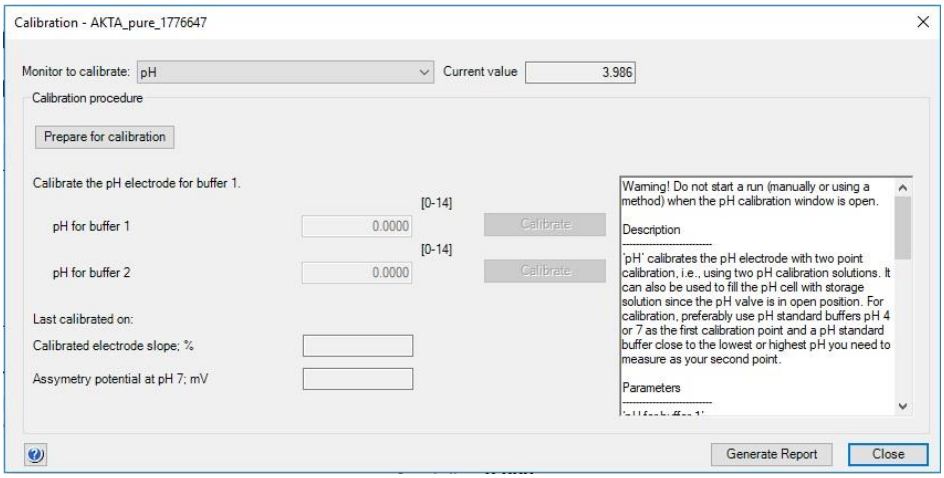
13.3. pH 電極のキャリブレーション

pH バルブおよび pH 電極はオプションです。

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

推奨 pH 電極保護液（保存液）：1 M 硝酸カリウム（KNO_3）と pH 4 の溶液を等量混合した溶液

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。



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。

13.4. pH フローセルの洗浄および pH 電極の保存

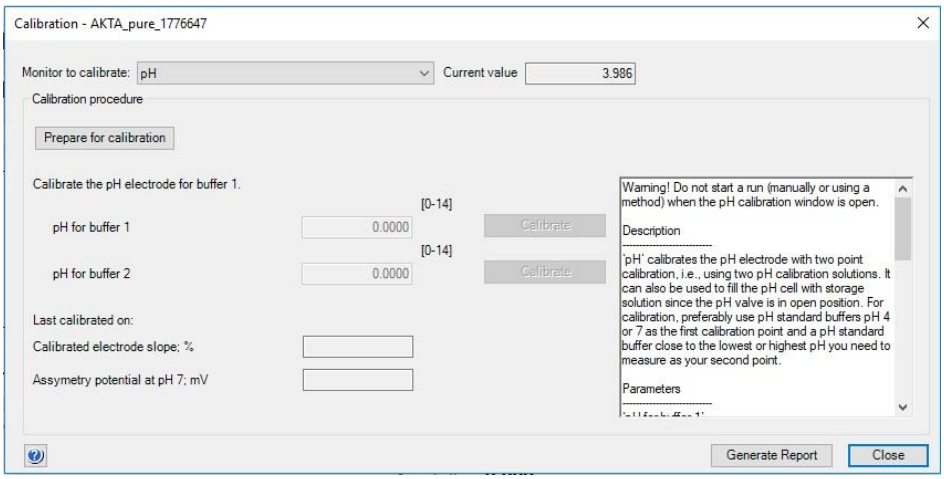
pH バルブおよび pH 電極はオプションです。

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。

2 日以上 pH 電極を使用しない場合は、超純水での洗浄後に 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。
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。

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

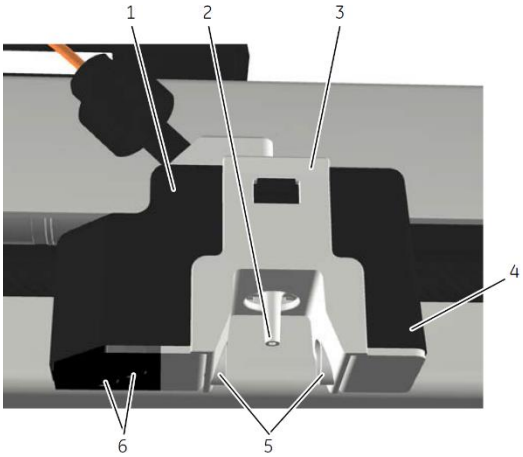


2. **Monitor to calibrate** から **pH** を選択し、**Prepare for calibration** ボタンをクリックします。
3. 10 ml シリンジに超純水を満たし、pH バルブの **Cal** ポートに接続されるルアーコネクターと接続し、ゆっくりと超純水を注入します。
4. シリンジを取り外し、保護液（保存液）を満たしたシリンジを再度 pH バルブの **Cal** ポートに接続し、ゆっくりと保存液を注入します。
5. **Close** ボタンをクリックします。
6. シリンジを取り外します。

13.5. フラクションコレクター F9-C 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 F9-C センサーを洗浄します。

1. **System Control** モジュールにて **Manual Instructions** ダイアログより **Fraction collection** → **Frac cleaning position** → **Execute**
2. ディスペンサーヘッドがクリーニングポジションに移動し、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カバー（3）を取り外します。
4. ディスペンサーヘッドのセンサー部分（5 および 6）や、ノズル（2）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。
5. 拭いた部分を乾燥させてから、ディスペンサーヘッドカバーを取り付けます。
6. フラクションコレクターの扉を閉じます。
7. カセットのスキャンを開始します。
8. **End** ボタンをクリックします。

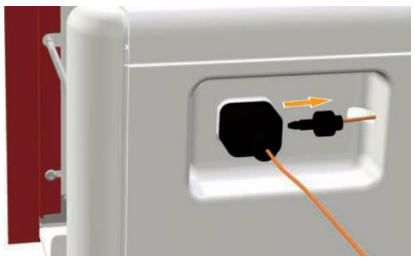


13.6. フラクションコレクター F9-C 配管の交換

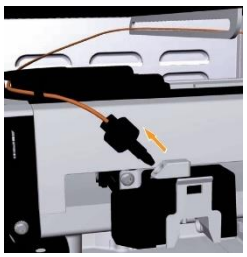
使用するカラムや流速に合わせて、UV フローセル以降のシステム配管の内径や長さを変更します。
F9-C 内部のチュービング交換は以下の手順で行います。

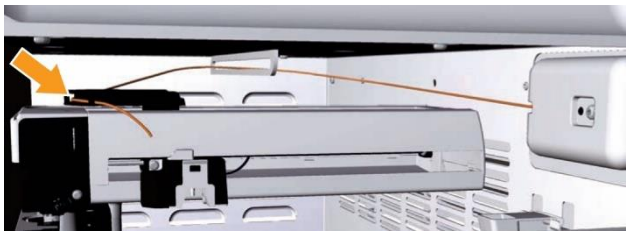
変更した場合にはディレイボリュームの設定も変更します（「6.3、ディレイボリューム」を参照）。

1. 本体右にあるコネクターブロックから、庫内へ繋がるチュービングコネクターを取り外し、コネクターからチュービングを抜き取ります。
2. ディスペンサーヘッドに接続されるチュービングコネクターを取りはすし、コネクターからチュービングを抜き取ります。



3. 庫内にあるチュービングを抜き取ります。
4. 同じ長さのチュービングを用意します。Tubing kit for F9-C（29033632：非売品）に予備のチュービングがある場合は、そちらを使用します。
5. 本体右のコネクターブロック後方にある穴にチュービングを挿入します。
6. フラクションコレクター天井にあるガイド、およびフラクションアームにあるガイドにチュービングを通します。
7. コネクターにチュービングを通し、コネクターブロックおよびディスペンサーヘッドに接続します。





13.7. Instrument configurations コンフィグレーションファイルのアップデート

Instrument configurations（IC）コンフィグレーションファイルは、コマンド、各種設定などのシステム情報を含み、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。
手順は使用環境（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。

OS	Windows XP		Windows 7		Windows 10	Windows 11
UNICORN	6.3.0 または 6.3.1	6.3.2	6.3.0 または 6.3.1	6.3.2 以降	7.0.2 以降	7.9 以降
ÄKTA pure 25 IC	1.3 まで対応	1.5 まで対応	1.3 まで対応	1.6 以降も対応	1.6 以降対応	2.4 以降対応
ÄKTA pure 150 IC	UNICORN 非対応	1.3 まで対応	UNICORN 非対応	1.4 以降も対応	1.4 以降対応	2.3 以降対応

13.7.1. コンフィグレーションファイルのダウンロード

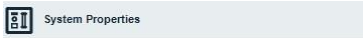
1. グローバルサイト（www.cytiva.com）へアクセスします。
2. 「ÄKTA pure」でサイト内検索をします。
3. 製品ページで Documents カテゴリー「Software」内にある「ÄKTA （機種名） Instrument Configuration」をクリックし、zip ファイルをダウンロードします。ファイルは 20 MB 程度あるため、快適なネットワーク環境で作業されることをお勧めします。

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 ファイルを参照します。
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。

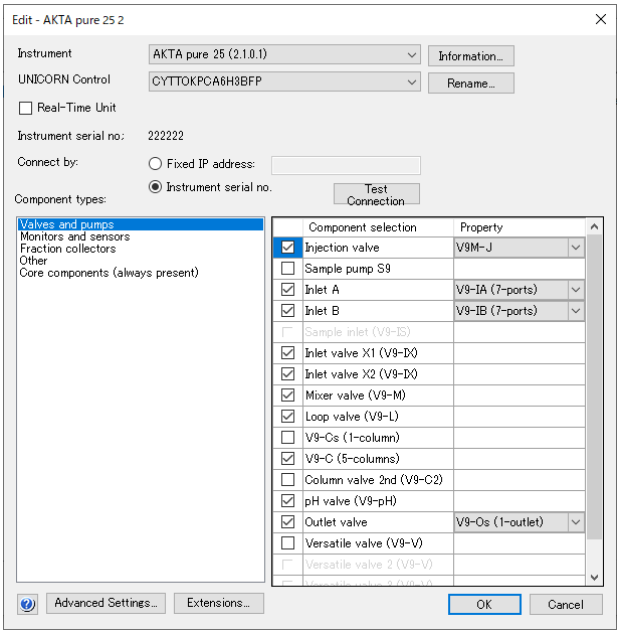
13.7.2. システムコントロールの記録

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。

13.7.2.1. システム構成

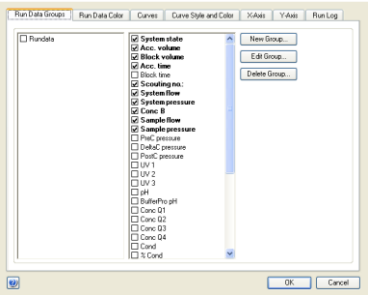
1. Administration モジュール内の System properties をクリックします。
2. 

3. 画面左の Systems を選択し、Edit ボタンをクリックします。
4. 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。



13.7.2.2. System control 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。



13.7.2.3. フラクションコレクターの設定

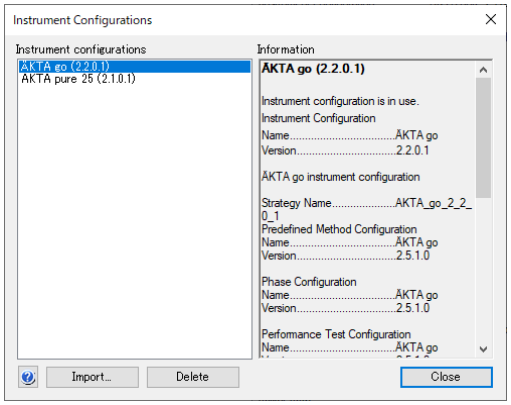
1. F9-C はランプ照射設定に関して、1 章を参照します。
2. ディレイボリューム設定に関して、6 章を参照します。

13.7.3. 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 pure 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。

2. Instrument Configuration ボタンをクリックします。
3. 画面左の Systems を選択し、Import をクリックし、インストールする Configuration ファイル（.zip）を選択します。
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. 6、「13.7.2.1 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。
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。



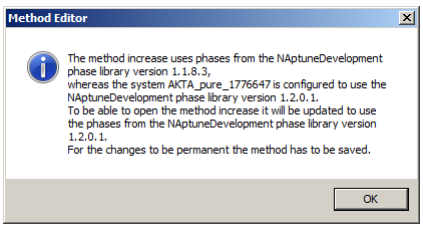
11. **System name** にチェックを入れます。また **Control** ラジオボタンが選択されていることを確認します。
12. **OK** ボタンをクリックします。

13.7.4. システムコントロールの設定

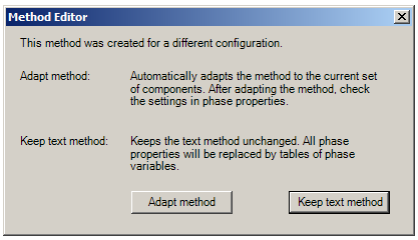
「13.7.2.2 System control 画面表示」「13.7.2.3 フラクションコレクターの設定」で記録した内容と照らし合わせ、設定します。

13.7.5. 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、**Adapt method** ボタンをクリックします。



13.8. カラム事前定義ファイルアップデート

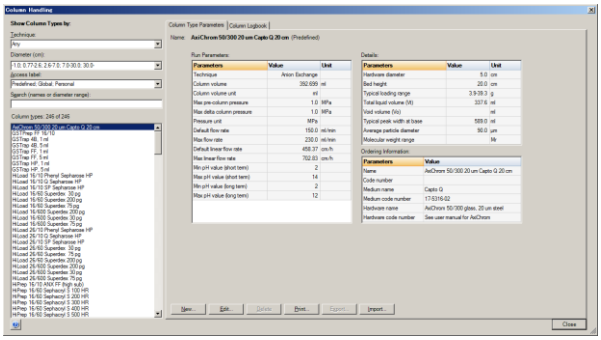
カラムハンドリング（Column handling）には Cytiva が提供する充填済みのカラム、空カラム、担体の情報があらかじめ定義された状態で管理されています。この情報は使用している UNICORN が作成された時点のものであるため、その後に提供開始した製品情報を含みません。

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する場合は、「Method Manual」の「Handling column types（8.2 章または 9.2 章）」を参照してください。

1. グローバルサイト（www.cytiva.com）へアクセスします。
2. 「UNICORN 7 control software」でサイト内検索をします。
3. 製品ページで Documents 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 がインストールされている PC にコピーします。
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。
7. 手順 3 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。

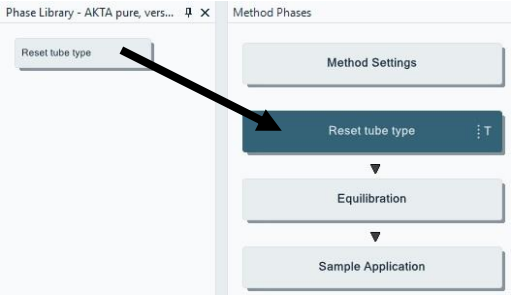


13.9. F9-C 試験管ポジションのリセット：メソッドへの追加

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。

> ***Tips!*** 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。
> Ready 状態で F9-C の扉を開閉すると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。
> このメソッドは、Ready 状態以外でポジションをリセットする方法です。
> 連続したランごとにフラクションを初期ポジション（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。

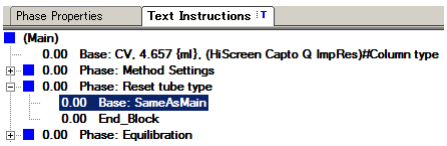
1. 7 章の手順に従い、メソッドを作成します。
2. 画面左下の **Global Phases** をクリックします。
3. **Reset tube type** を **Method settings** フェーズの直後にドラッグで挿入します。
   Global Phases に該当するフェーズが登録されていない場合は、「新規フェーズの作成・保存」に記載される手順を参考にフェーズを作成します。
4. メソッドを保存します。

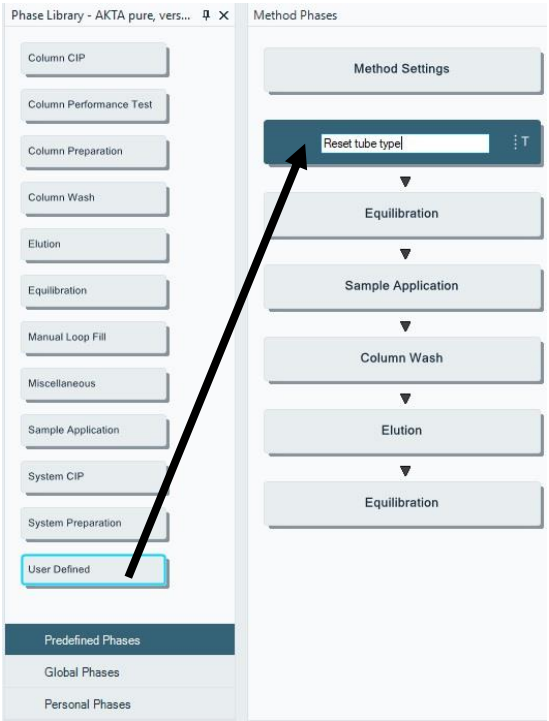


＜Global phase への新規フェーズの作成・保存＞

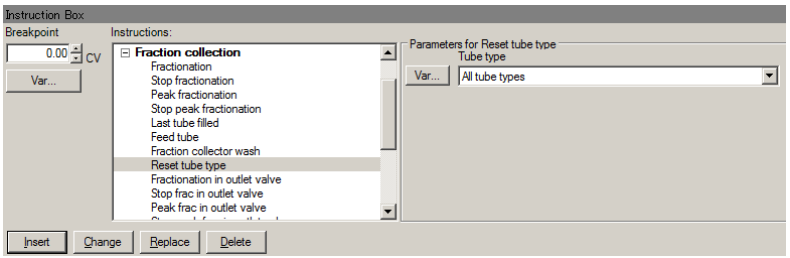
以下のフェーズを作成、Global phase として保存します。既に **Global phase** として登録されている場合は新規に作成する必要はありません。

1. 7 章の手順に従い、メソッドを作成します。
2. **Predefined Phases** 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**」にします。
4. **Reset tube type** フェーズを選択し、**Text instructions** タブをクリックします。



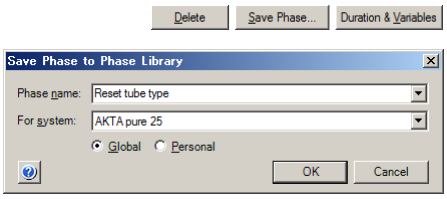


5. **Base SameAsMain** の行を選択し、画面下の Instruction box の Instructions より、**Fraction collector F9-C** → **Reset tube type** → **All tube types** を選択します。



6. 左下の **Insert** ボタンをクリックします。

7. フェーズ概要下にある、**Save Phase** ボタンをクリックします。
8. ● **Global** を選択し、**OK** ボタンをクリックします。



13.10. ループバルブのポジション設定：メソッドへの追加

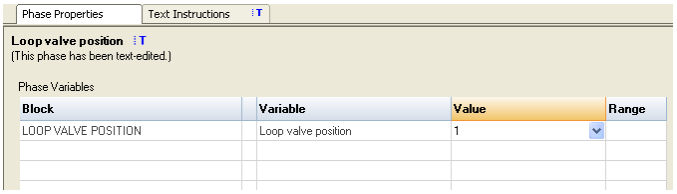
ループバルブはオプションです。

本手順はカラムバルブが接続されていない場合に適応します。

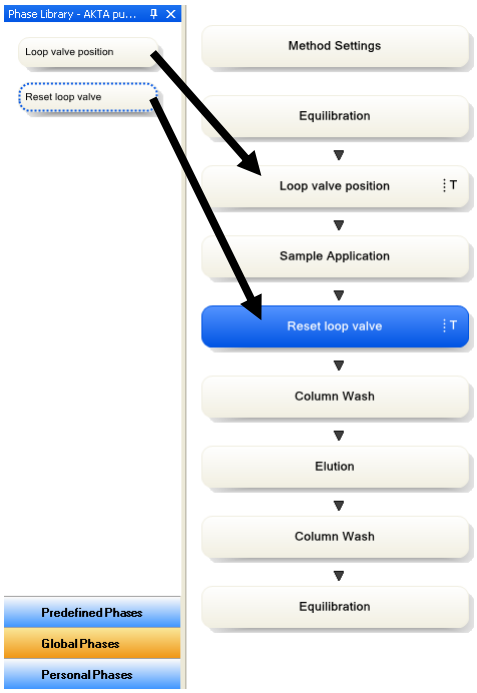
＜精製メソッドへのループポジションの設定＞

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。
3. **Loop valve position** を **Sample application** フェーズの直前に、**Reset loop valve** を **Sample application** 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. ループバルブのポジションを変更する場合は、**Loop valve position** フェーズをクリックし、**Value** から該当するポジションを選択します。



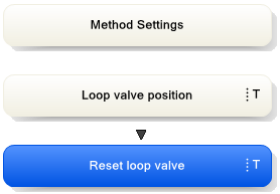
5. メソッドを保存します。

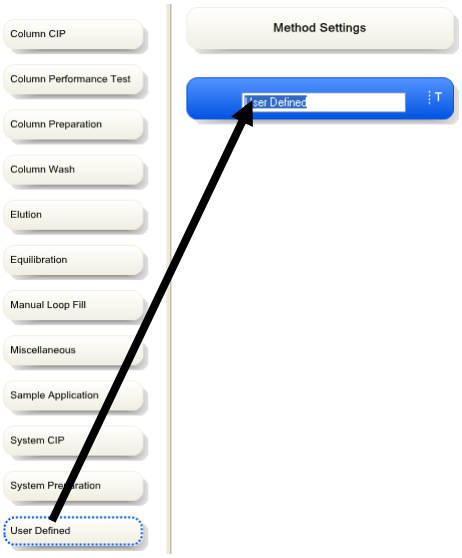


＜Global phase への新規フェーズの作成・保存＞

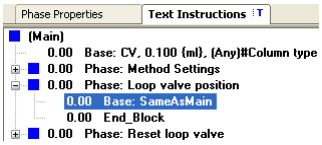
以下 2 個のフェーズを作成、**Global phase** として保存します。本手順はフェーズの作成および保存が目的のため、メソッドの保存は不要です。なお既に **Global phase** として登録されている場合は新規に作成する必要はありません。

1. Method editor より **File** ↓ **New method** を選択します。
2. **Empty Method** を選択し、**OK** ボタンを選択します。
3. 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。
4. フェーズの名前を「**Loop valve position**」とします。
5. フェーズライブラリー中の「**User defined**」を「**Loop valve position**」の下にドラッグします。
6. フェーズの名前を「**Reset loop valve**」とします。

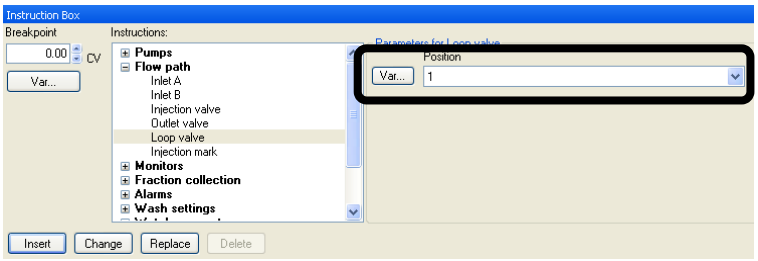




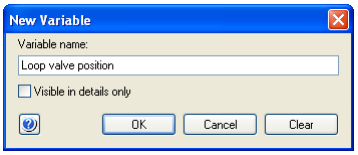
7. **Loop valve position** フェーズを選択し、**Text instructions** タブをクリックします。



8. **Base SameAsMain** の行を選択し、画面下の Instruction box の Instructions より、**Flow path** → **Loop valve** を選択します。
9. Parameters より 1 を選択し、左下の Insert ボタンをクリックします。

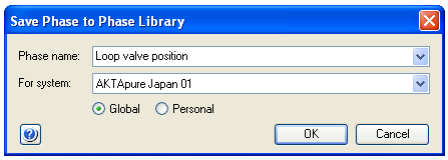


10. Parameter にある「**Var**」ボタンをクリックし、表示された画面で「**Loop valve position**」と入力し、**OK** ボタンをクリックします。
11. 左下の **Change** ボタンをクリックします。

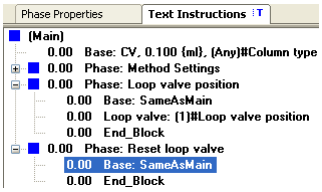


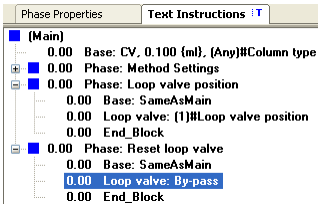
12. 画面下にある、**Save Phase** ボタンをクリックします。

13. **Global** を選択し、**OK** ボタンをクリックします。

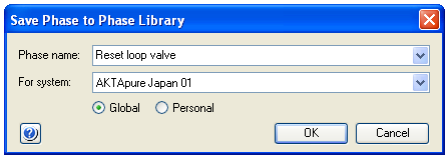


14. 同様に、**Reset loop valve** フェーズを選択します。
15. **Base SameAsMain** の行を選択し、画面下の Instruction box の Instructions より、**Flow path** → **Loop valve** を選択します。
16. Parameters より **By-pass** を選択し、左下の **Insert** ボタンをクリックします。





17. 画面下にある、**Save Phase** ボタンをクリックします。
18. **Global** を選択し、**OK** ボタンをクリックします。



総合お問合せ窓口

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

Intertek
ISO 9001:2015
認証取得

www.cytivalifesciences.co.jp