

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



1、はじめに	4
2、起動	19
3、システムの準備	21
4、カラムの接続	26
5、インジェクションバルブの準備	28
6、フラクションコレクター	29
7、メソッドの作成	34
8、メソッドの実行	44
9、データ処理	52
10、システムの終了	59
11、メンテナンス	64
12、データ管理	65
13、付録	70

この資料は、本機のUser Manual およびOperating instructionsを補足する資料です。機器操作の詳細や最新情報は、弊社Global siteよりそれぞれのマニュアルを参照ください

(下記の資料番号にて検索いただけます)

- **AKTA pure User Manual : 29119969**
 - **AKTA pure Operating instructions: 29022997**
- Global site : <https://www.cytivalifesciences.com/ja/jp>

安全上のご注意

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。



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。



警告

電源プラグの抜き差しにより、運転を停止しない

禁止

火災・感電の原因になります。



電源コード・電源プラグを傷つけない

禁止

- 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。



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

根元まで
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。



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。



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。



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

禁止

故障・火災・感電の原因になります。

必ずお守りください

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

図記号の意味は次の通りです



してはいけない「禁止」を示します。



必ず実行していただく「強制」を示します。



電源コードを途中で接続しない、タコ足配線をしない

禁止

火災・感電・故障の原因になります。



修理・分解・改造はしない

火災・感電の原因になります。



取扱説明書に指定された規格のコンセントを使用する

指定の規格

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。



電源コードや電源プラグが傷んでいる、コンセントの差しこみがゆるいときは使わない

禁止

感電・ショート・発火の原因になります。



異常時は、運転を停止して電源プラグを抜く

プラグを抜く

異常のまま運転を続けると火災・感電の原因になります。



同梱の電源コード・電源プラグを他の電気機器に使用しない

禁止

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
なために引き抜いたり、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、本国（インターナショナル）サイトよりダウンロード可能です。

本国ウェブサイト（英文） www.cytiva.com

1、はじめに

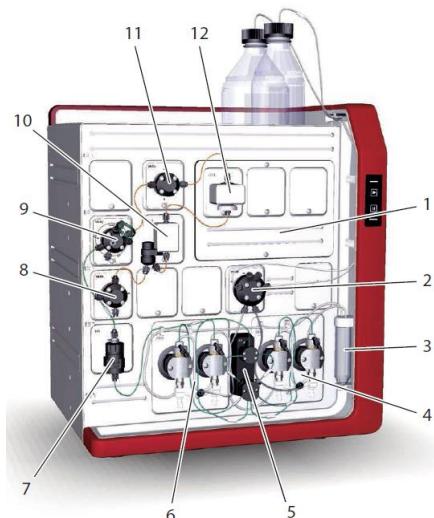
このマニュアルは、はじめて ÄKTA pure 25、ÄKTA pure 150 をお使いになる方への取り扱い説明のために書かれたものです。より詳しい使用方法は、機器付属の英文マニュアル、ヘルプメニュー、弊社ウェブ Q&A、ÄKTA ユーザークラブ限定サイトなどをご参照ください。なお、両機種に共通した説明は、ÄKTA pure と略して記載することがあります。

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）。

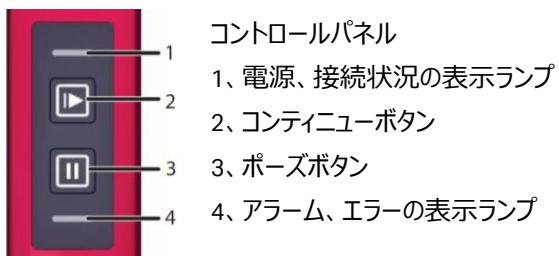
製品の仕様は予告なく変更される場合がありますので、あらかじめご了承ください。

1.1. ÄKTA pure 本体の構成

※ システム構成により、異なることがあります。



- 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、UV モニター（図は U9-L）

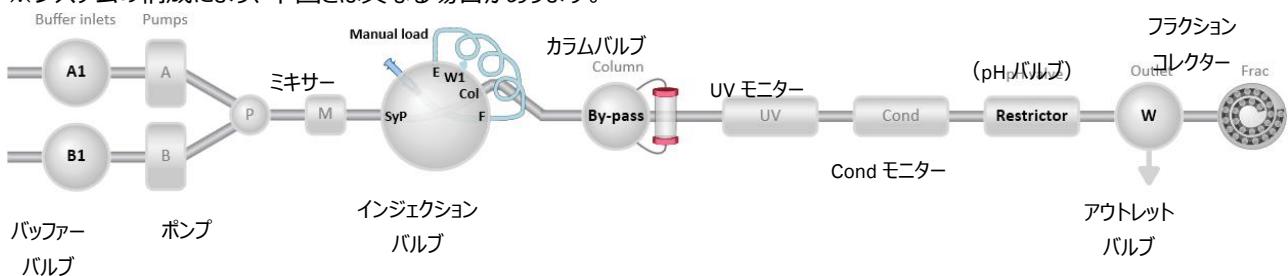


- 5、電源スイッチ
6、通気パネル



ÄKTA pure の流路図

※システムの構成により、下図とは異なる場合があります。



◆ ÄKTA pure の標準システム構成の違い

	ÄKTA pure 25 L1	ÄKTA pure 25 L2	ÄKTA pure 25 M1	ÄKTA pure 25 M2
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
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
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
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

	ÄKTA pure 150 L1	ÄKTA pure 150 L2	ÄKTA pure 150 M1	ÄKTA pure 150 M2
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
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
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
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

※ 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 : P9-S) : 流速 0.001~50 ml/min、耐圧 10 MPa。

ÄKTA pure 150 (S9H : P9H-S) : 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**）の準備が必要です。



◆ バッファーバルブ

- ÄKTA pure 25 : V9-IA、V9-IB (エアーセンサー内蔵)
 - ÄKTA pure 150 : V9H-IA、V9H-IB (エアーセンサー内蔵)
- システムポンプの上流に位置する 7 ポートバルブ。

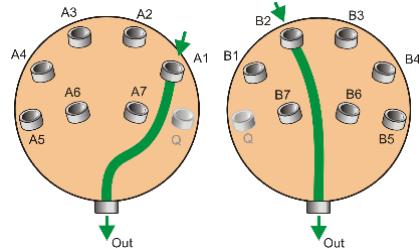
A インレット (V9-IA / V9H-IA) : A1～A7

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した場合、プロセスピクチャーのバルブ右肩
に○印が表示。



□ ÄKTA pure 25 : V9-IAB (A ポンプ、B ポンプ共通)

□ ÄKTA pure 150 : V9H-IAB (A ポンプ、B ポンプ共通)

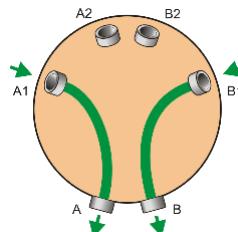
システムポンプの上流に位置する 2×2 ポートバルブ。

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 (オプション)

□ ÄKTA pure 25 : V9-IS (エアーセンサー内蔵 : オプション)

□ ÄKTA pure 150 : V9H-IS (エアーセンサー内蔵 : オプション)

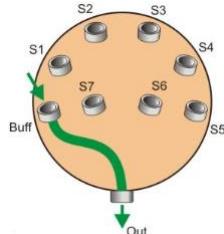
サンプルポンプの上流に位置する 8 ポートバルブ。

ポート名 : Buffer, S1～S7 (サンプル用)

(初期ポジションは Buffer)

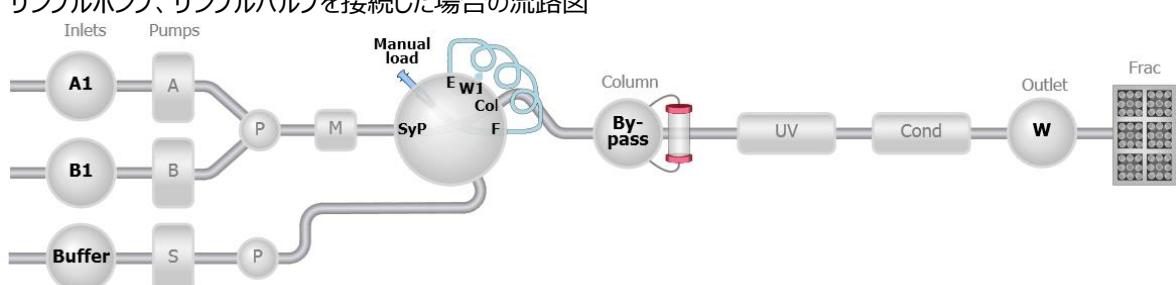
コネクター : 5/16" UNF

エアーセンサーが空気を検出した場合、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）

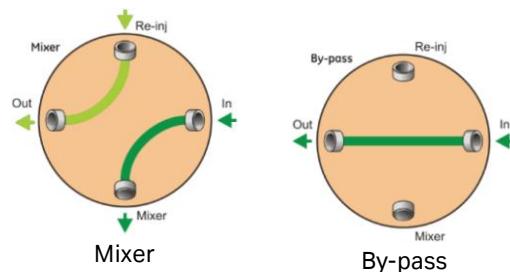
- ÄKTA pure 25 : V9-M
- ÄKTA pure 150 : V9H-M

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	0.5～5 ml/min
1.4 ml	0.5～15 ml/min（標準）	0.5～15 ml/min（標準）
5 ml	2～25 ml/min	2～50 ml/min
15 ml	-	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。また 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。

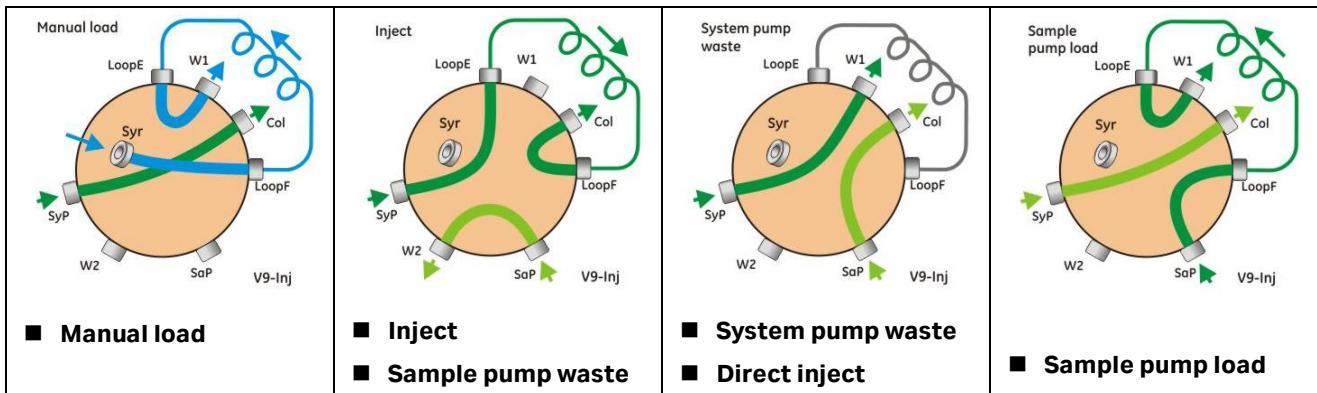


◆ インジェクションバルブ

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

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い場合でも、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。

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



Manual load

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ります。

Direct inject

サンプルポンプから直接サンプルをカラムに添加するポジションです。

Sample pump load

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

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

◆ サンプルループ、スーパーループ

インジェクションバルブに接続して使用します。10 µl (18112039)、100 µl (18111398)（以上 25 MPa まで）、500 µl (18111399)、1 ml (18111401)、2 ml (18111402)（以上 10 MPa まで）、5 ml (18114053)（1 MPa まで）のサンプルループがあります。

150 mlまでのサンプルを添加する場合は、スーパーループ

（オプション）を使用できます。スーパーループは、10 ml (18111381)、50 ml (18111382)（以上 4 MPa まで）、150 ml (18102385、別途コネクター及びチュービングが必要）（2 MPa まで）の3種類があります。



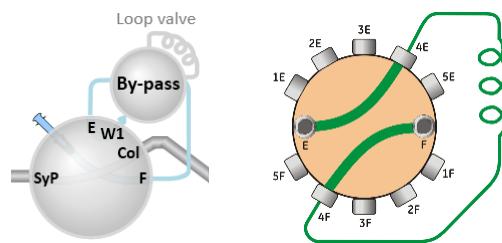
◆ ループバルブ（オプション）

- 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ピングキット (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

以下は、標準配管です。

	<input type="checkbox"/> ÄKTA pure 25	<input type="checkbox"/> ÄKTA pure 150
バッファーインレット～ポンプ入口	内径 1.6 mm (透明)	内径 2.9 mm (透明)
ポンプ出口～インジェクションバルブ	内径 0.75 mm (緑)	内径 1.0 mm (ベージュ)
インジェクションバルブ～アウトレットバルブ	内径 0.5 mm (オレンジ)	内径 0.75 mm (緑)
アウトレットバルブ～フラクションコレクター	内径 0.5 mm (オレンジ)	内径 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には、インジェクションバルブより下流の配管を太めの物へ変更します（ディレイボリュームの設定も変更します）。

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

逆相クロマトグラフィーの場合には、有機溶媒を送液するポンプ（通常は B ポンプ）のアウトレットから圧力センサーまでのチューピングを、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 または V9-Cs / V9H-Cs）

- ÄKTA pure 25 : V9-C
(L2、M2 : 標準搭載。L1、M1 : 29011367、オプション)
- ÄKTA pure 150 : V9H-C
(L2、M2 : 標準搭載。L1、M1 : 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）。

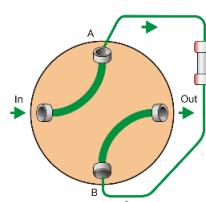
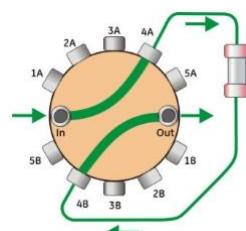
順方向（Down Flow、標準）と逆方向（Up Flow）の設定が可能。

カラム入口およびカラム出口に圧力センサーを搭載。

- ÄKTA pure 25 : V9-Cs (L1、M1 : 29011355、オプション)
- ÄKTA pure 150 : V9H-Cs (L1、M1 : 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。



◆ 圧力センサー

- ・システムポンプ：標準装備
- ・サンプルポンプ：サンプルポンプ設置時のみ装備
- ・カラム入口：V9-C / V9H-C (アドバンスカラムバルブ) のみ装備
- ・カラム出口：V9-C / V9H-C (アドバンスカラムバルブ) のみ装備

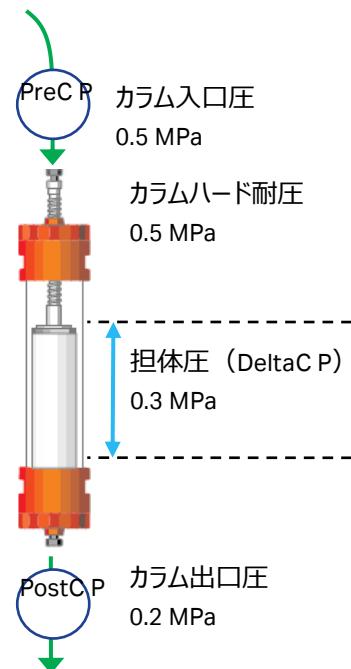
<圧力表示>

- ・System pressure : システムポンプ圧
0.6 MPa
- ・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)

- U9-M (M1, M2 : 標準搭載)

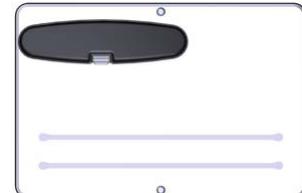
波長レンジ 190~700 nm の可変 UV-Vis モニター。

任意の 3 波長同時測定可能。

キセノンフラッシュランプ。

光路長 2 mm セル (セル内容積 2 μl) 標準装備。

オプションで 0.5 mm (28979386、セル内容積 1 μl)、10 mm セル (28956378、セル内容積 8 μl) に交換可能。



- U9-L (L1, L2 : 標準搭載)

280 nm の固定モニター。

LED ランプ。

光路長 2 mm セル標準装備。

オプションで 5 mm セル (18112824) に交換可能。



◆ 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。

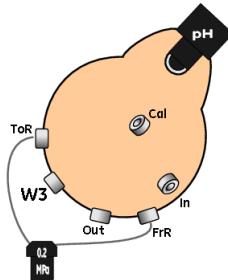
測定範囲 0.01~999.99 mS/cm。



◆ 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、背圧が上がるようなことが無いようにご注意ください（FR-902 は pH 電極よりも上流に位置します）。

◆ フローリストリクター FR-902 (18112135、標準搭載)

システムポンプやサンプルポンプの流量を恒常に安定化し、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ことで、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。システムを安定稼働させる上で重要なパートのため、システムから外すことなく、常時インラインでご使用ください。



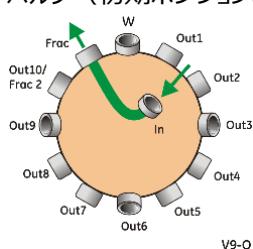
オプションの pH バルブが装着されている場合には、ハードウェア耐圧が 0.5 MPa 未満の空カラム（例：XK 50）を使用する時のみ、メソッド実行中は pH バルブのポジションを切換え、フローリストリクターはオフラインにします。マニュアルランでは、その都度 pH バルブの設定を変更（フローリストリクターをオフライン）します。

※ 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：1 ml/min で超純水を送液し、0.15~0.25 MPa（常温設置、標準配管の場合）。

※ 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 または V9-Os / V9H-Os）

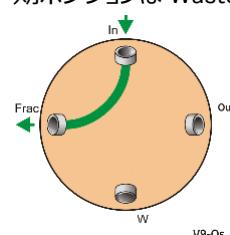
- ÄKTA pure 25 : V9-O (L2, M2 : 標準搭載)
 - ÄKTA pure 150 : V9H-O (L2, M2 : 標準搭載)
- Waste、Frac、Out1~Out10 の 12 ポートの出口を持つバルブ（初期ポジションは Waste）。



コネクター

- V9-O : 10-32 UNF
- V9H-O : 5/16" UNF

- ÄKTA pure 25 : V9-Os (L1, M1 : 標準搭載)
 - ÄKTA pure 150 : V9H-Os (L1, M1 : 標準搭載)
- Waste、Frac、Out1 の 3 ポートの出口を持つバルブ（初期ポジションは Waste）。



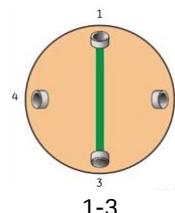
コネクター

- V9-Os : 10-32 UNF
- V9H-Os : 10-32 UNF

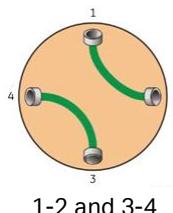
◆ 多用途バルブ（オプション）

4 個のバルブまで接続できます。

- ÄKTA pure 25 : V9-V
- ÄKTA pure 150 : V9H-V



1-3

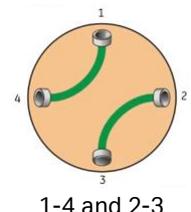
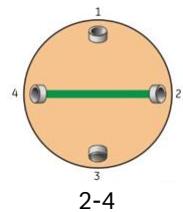


1-2 and 3-4

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）。

コネクター：10-32 UNF

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）。



◆ 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）

下記のラックの使用可能。

- ・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）
- ・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）。

- ・深底プレート用カセット^{*1}（角穴の 24、48 または 96 穴用）

- ・試験管用カセット^{*2}

 3 ml 用（40 本）

 5 ml 用（40 本）

 8 ml 用（24 本）

 15 ml 用（15 本）

 50 ml 用（6 本）

- ・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）

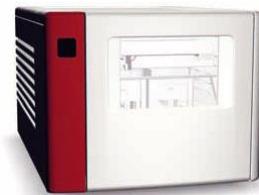
システムの配置の都合上、F9-C を ÄKTA pure の左横に設置できず、標準ケーブルで接続出来ない場合には、別途ケーブル（**29032425 : Cable 2.5m UniNet-9 D-type**）の準備が必要です。

*1 使用可能プレート

	最大流速	使用可プレート例
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）

いずれも角穴であること。丸穴や浅底プレートには対応していません。

プレートの詳細はメーカーへお問い合わせください。



*2 試験管サイズ

	最大流速	直径（最小/最大）	高さ（最小/最大）	使用可能試験管例
3 ml 試験管	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

試験管の詳細はメーカーへお問い合わせください

*3 ボトルサイズ

	最大流速	1 辺/直径（最小/最大）	高さ（最大）	口径（最小）
250 ml ボトル	150 ml/min	55 mm / 63.5 mm	121 mm	30 mm

*4 使用可能ボトル

250 ml ボトル Nalgene 2110-0008
Kautex 303-770531

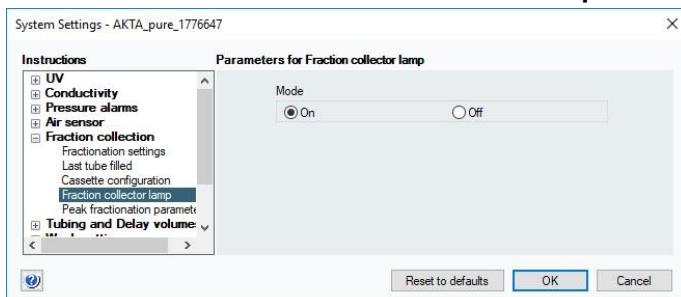
ボトルの詳細はメーカーへお問い合わせください。

※ F9-C の場合、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 をご使用ください。

F9-C 庫内のランプの点灯や消灯を設定することができます。

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。

◆ 外部エーサンサー

(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（±1V）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	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-IAB	<input type="checkbox"/> V9-IA	<input type="checkbox"/> V9-IB
カラムバルブ	オプション/標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-Cs	<input type="checkbox"/> V9-C	
UV モニター	標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> U9-L	<input type="checkbox"/> U9-M	
pH バルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-pH		
アウトレットバルブ	標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-Os	<input type="checkbox"/> V9-O	
フラクションコレクター	標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> F9-R	<input type="checkbox"/> F9-C	
サンプルポンプ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> P9-S		
サンプルバルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-IS		
ミキサーバルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-M		
ループバルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-L		
多用途バルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9-V		
外部エアーセンサー	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> L9-1.5		
	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> L9-1.2		
i/o ボックス	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> E9		

- ÄKTA pure 150

インレットバルブ	標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-IAB	<input type="checkbox"/> V9H-IA	<input type="checkbox"/> V9H-IB
カラムバルブ	オプション/標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-Cs	<input type="checkbox"/> V9H-C	
UV モニター	標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> U9-L	<input type="checkbox"/> U9-M	
pH バルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-pH		
アウトレットバルブ	標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-Os	<input type="checkbox"/> V9H-O	
フラクションコレクター	標準	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> F9-R	<input type="checkbox"/> F9-C	
サンプルポンプ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> P9H-S		
サンプルバルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-IS		
ミキサーバルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-M		
ループバルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-L		
多用途バルブ	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> V9H-V		
外部エアーセンサー	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> L9-1.5		
	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> L9-1.2		
i/o ボックス	オプション	<input type="checkbox"/> 無し	<input type="checkbox"/> E9		

◆ ソフトウェアライセンス

□ UNICORN 7

Workstation	<input checked="" type="checkbox"/> あり	
Remote ^{*1}	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> 無し
Dry ^{*1}	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> 無し
Evaluation Classic ^{*2, 3}	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> 無し
Column logbook ^{*3}	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> 無し
DoE ^{*3, 4}	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> 無し
Standalone Evaluation ^{*1}	<input type="checkbox"/> あり	<input type="checkbox"/> 無し

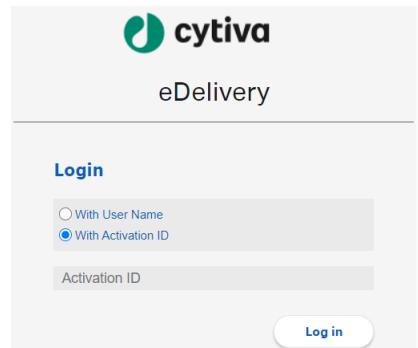
- 1) システム制御用コンピューターとは別のコンピューターへインストールします。インストール時に使用するDVDは、製品に同梱されるDVDを使用します。インストール手順は「Administration and Technical Manual」の2.1章「Installation overviews」をご参照下さい。英文マニュアルの入手方法は本書の付録に記載しています。
- 2) UNICORN 6 の Evaluation モジュールと同等の機能です。UNICORN 7 では Standalone Evaluation (UNICORN 7 標準の Evaluation モジュール) と同等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」をご参照下さい。

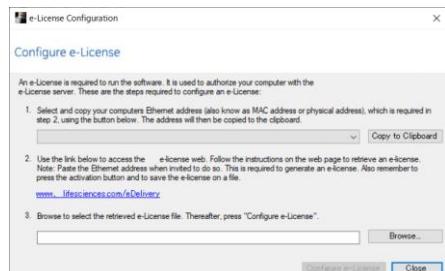
※ UNICORN 6 もしくは 7 では、ソフトウェアを使用するにあたり、ライセンスファイルが必要です。ライセンスを購入されると、アクセスコードが記載された書類もしくは電子メールが届きます。以下 URL ヘアクセスし、書類や電子メールに記載されるアクセスコードを入力してログイン、必要事項を入力の上、ライセンスファイルを取得します。

<http://www.cytivalifesciences.com/eDelivery>



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

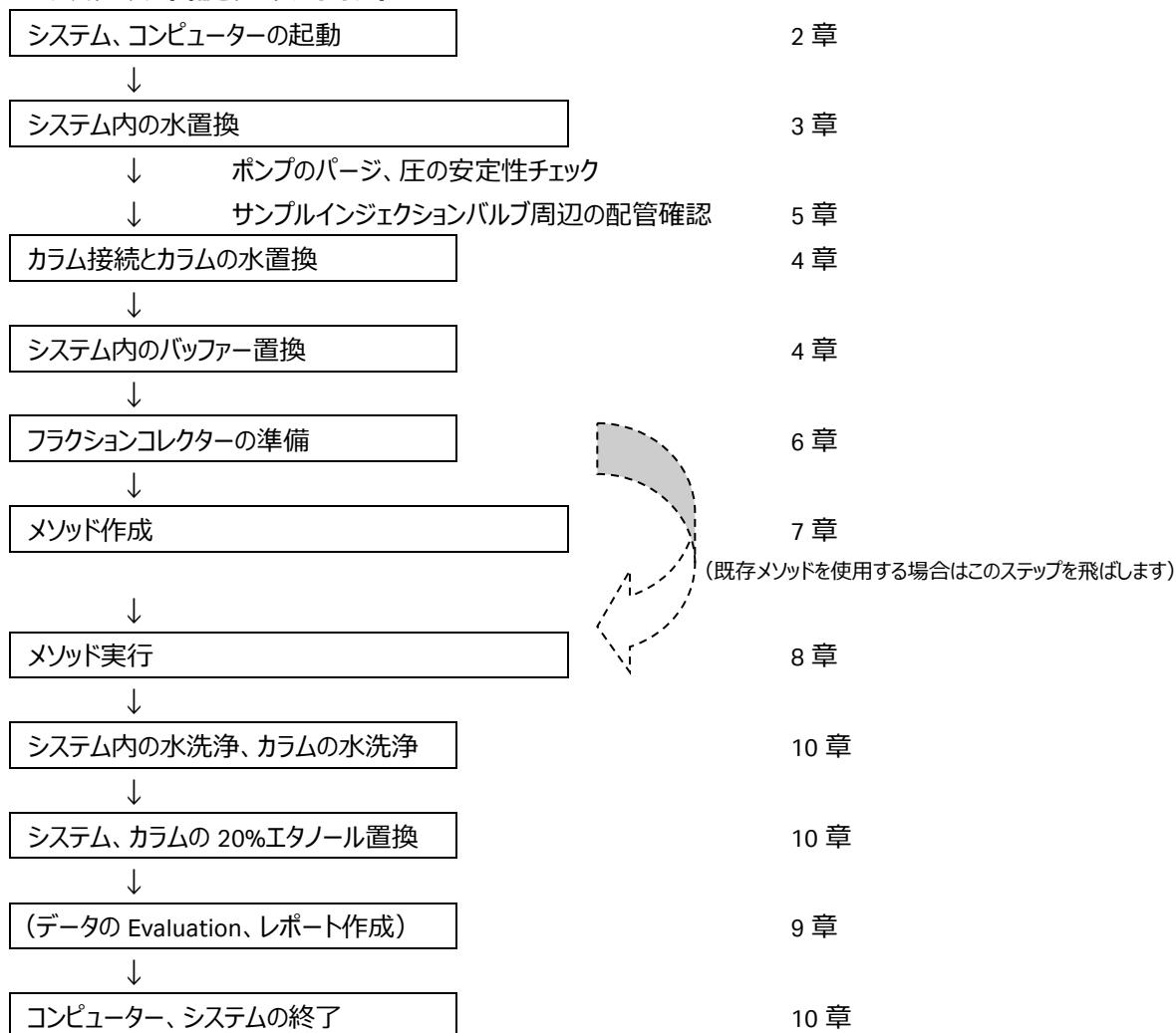
購入されたライセンスのコード番号	
購入されたライセンス（製品）名	
アクセスコード	
アクティベーション ID	
登録で使用した MAC アドレス	

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



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できます。

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。

注意

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



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

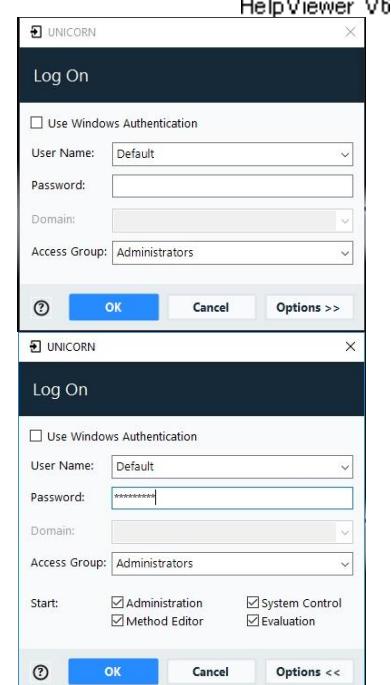


4、本体のデスクトップの UNICORN アイコンをダブルクリックして起動します。

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。

※ デスクトップにある MadCap HelpView アイコンは、UNICORN のヘルプを表示するためのソフトウェアです。

ヘルプ内容を表示させる場合は、UNICORN のヘルプメニューから実行します。



5、Log On ダイアログが表示されたら **User Name** より **Default** を選択し、**Password** に UNICORN 7.5 の場合は **uni55corn**（UNICORN 7.3 以下は **default**）と入力し、**OK** ボタンをクリックします。

Option ボタンをクリックすると、起動するモジュールを選択することができます。

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 On ダイアログで、**Option** ボタンをクリックし、起動したいモジュールにチェックを入れ、**OK** ボタンをクリックします。

※ 各モジュールの Tools メニューからでも呼出可能です。

※ パスワードの入力の有無は、UNICORN Configuration manager にて設定を変更することができます。

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

注意：UNICORN 7.4 以降のパスワードについて

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

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。

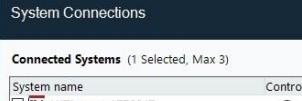
<UNICORN と ÄKTA pure が接続しなかった場合>
接続設定がされていない（解除されていた）場合は以下の手順で接続します。

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。



System name	Control	View
AKTA_pure_1776647	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>

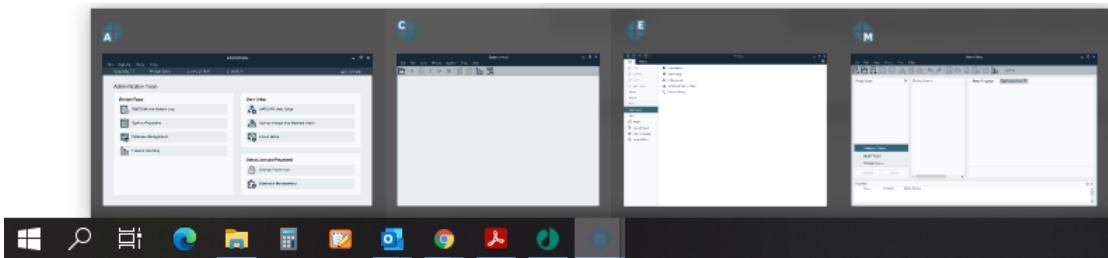
2.2、UNICORN の操作モジュール

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）。



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

- 1、デスクトップの **UNICORN** アイコンをダブルクリックします。
- 2、**Log On** ダイアログの **Option** ボタンをクリックして、これから起動したいモジュールにチェックを入れます。
- 3、**OK** ボタンをクリックします。

※ 各モジュールの **Tools** メニューからでも呼出可能です。

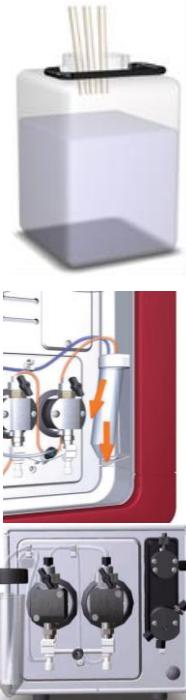
3、システムの準備

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、 rins 液のチェック

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

< rins 液を交換する場合の試験管の外し方 >

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。

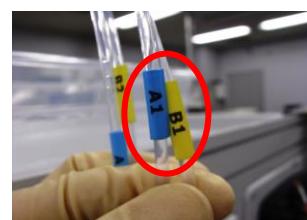
3.3、ポンプのページ（エア抜き）

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、ポンプのページ作業が必要です。

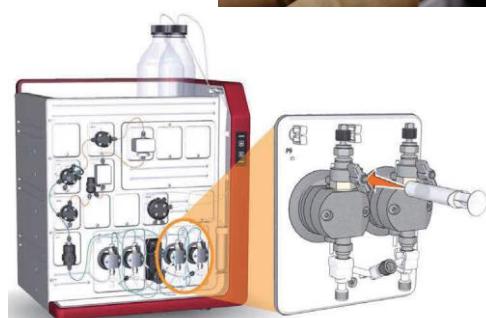
注意

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

ここでは A1、B1 の 2 本のインレットチュービングを使用する実験のためのペ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、ページバルブにページキットをしっかり差し込み、ページバルブを反時

計回りに約 3/4 回転して、シリンジのピストンをゆっくり引いて、エアが
無くなるまで概ね 10~20 ml 分の超純水を引き入れます。

3、ページバルブを時計回りに回転してしっかり閉じます。ページキットを
抜いて、溶液を捨てます。

4、A ポンプのもう一方のペ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 についてのページが終了します。

5、引き続き、B ポンプの 2 つのペ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ページを行う場合は、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 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 インレットをページします。

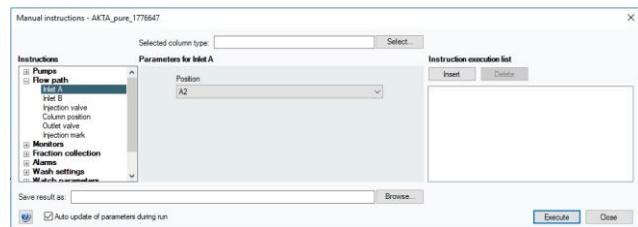
<サンプルポンプを使う場合>

サンプルインレットのペ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）。なお、サンプルバルブの初期ポジションは Buffer、インレット切り換えのコマンドは以下となります（バッファーアインレットをページする際は、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 の手順に準じてページします。

10、END ボタン () をクリックします。



3.4、ポンプ洗浄 (Pump wash)

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**

<サンプルポンプを使う場合>

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

3、Manual Instructions ダイアログより

Pumps → Sample pump wash → Buffer → **Execute**

Pumps → Sample pump wash → S1 → **Execute**

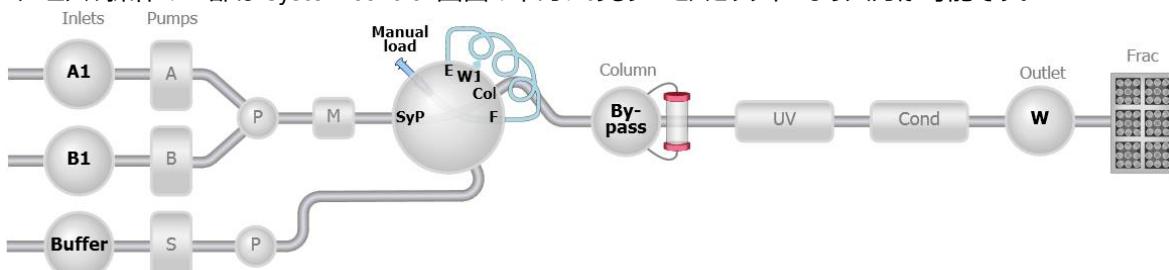
※ サンプルバルブが設置されていない場合は

Pumps → Sample pump wash → on → **Execute**

注意！

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

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。

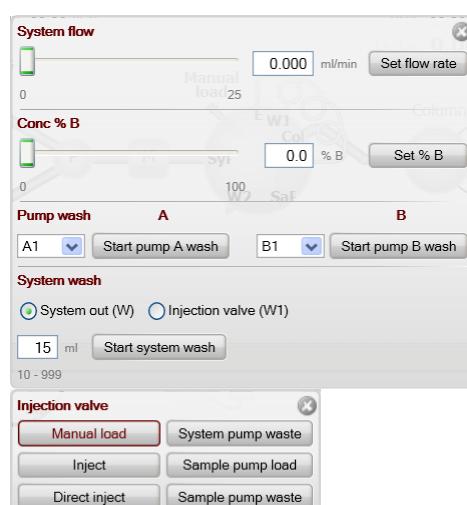


1、該当するコンポーネントの図をクリックします。

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

※ エーセンサー内蔵される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. 壓力安定性のチェック

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

なお、この操作を行うのは実験で使用するインレットのみ行います。

(System Control にて)

1、Run Data および Chromatogram を表示します。

2、Manual Instructions ダイアログより

A ポンプ (A1) : Pumps → System Flow → 5ml/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、B ポンプ (B2) : Flow path → Inlet B → B2 → **Execute**

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。

<サンプルポンプを使う場合>

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

7、Manual Instructions ダイアログより

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

Pumps → Sample Flow → 5 ml/min → **Execute**

PreC Pressure の値を確認します。

8、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。

※ サンプルバルブが設置されていない場合は、本作業は発生しません。

9、End ボタンをクリックします。

圧力の変動幅が 0.05 MPa 以内であることを確認します。変動が大きい場合はポンプヘッドのページをもう一度行います。

マニュアル操作時に線流速（cm/h）で送液する場合は、

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

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

3、注意メッセージが表示される場合は **OK** ボタンをクリックします。

4、**Pumps** → **System Flow** を選択し、**Linear Flow** にチェックを入れます。

5、**Flow rate** に線流速を入力し、**Execute** ボタンをクリックします。

※ **Sample flow** も同様に線流速で送液可能です。



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

カラム流速 = 60 ÷ 接触時間

例) 接触時間が 3 分の場合、 $60 \div 3 = 20$ 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 (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 チュービングなどを使用します。

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

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



4.1. 接続および超純水への置換

カラムバルブ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。

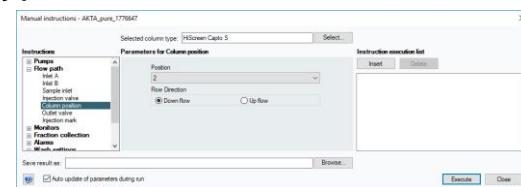
ここでは V9-C / V9H-C のポジション 1 にカラムを接続する例を示します。バルブが無いシステムの場合には、バルブ操作について記載される内容を飛ばして、操作します。

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、**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 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**

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 が設置されている場合、およびバルブ無しの場合>

Alarms → **Alarm pre-column pressure** → **High alarm** (Max delta column pressure の値) → **Execute**

このとき入力する耐圧値はカラムによって異なります。**Column handling***に記載されている **Max 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えない）を Alarm pre-column pressure の耐圧値として入力します。

<*Column handling の呼び出し方>

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

4-2、Column Handling ウィンドウの左側にて、Show by technique から使用するカラムの手法を選択します。

4-3、Column types より使用するカラムを選択し、Column Type Parameters タブに記載されている Max pre-column pressure および Max delta column pressure の値を確認します。

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。その際、カラムの至適流速の 1/2 に流速を上げ、徐々に至適流速まで流速を上げながらカラム体積の 3 倍量以上の超純水を送液し、UV、Cond、PreC Pressure カーブが安定することを確認します。

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

8、End ボタンをクリックし、送液を終了します。

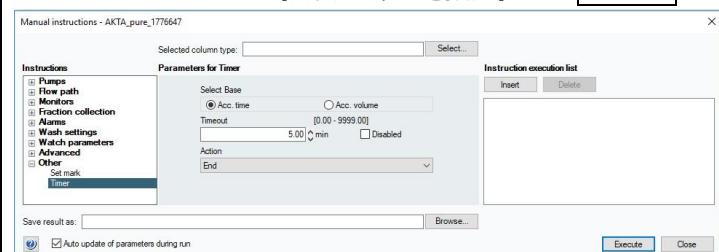
システム本体の Pause ボタン(3)を押すと、送液を中断することができます。

中断した送液は Continue ボタン(2)を押すと再開します。

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

Manual Instructions ダイアログより

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。

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

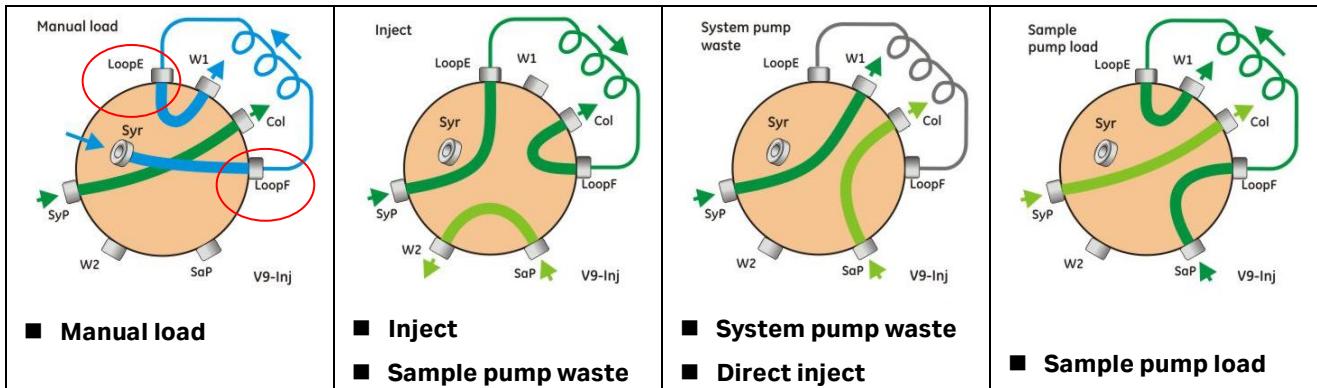
<サンプルポンプを用いる場合>

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。

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の準備



5.1、シリンジを用いたマニュアルサンプル充填

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

- 1、インジェクションバルブのポート **LoopE** と **LoopF** にサンプルループを接続します。
- 2、**Syr** ポートにルアーロックコネクターが接続されていることを確認します。
- 3、**W1**、**W2** の廃液チュービングが廃液ボトルに接続されていることを確認します。



5.2、マニュアル操作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。またスーパーループはカラムホルダーで固定します。

5.3、サンプルポンプによるサンプルの直接添加

配管変更の作業は不要です。

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。

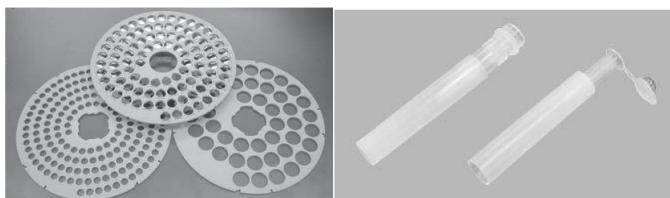
6. フラクションコレクター

6.1、<F9-R が設置されている場合>

6.1.1、ラックの準備

以下のラックを使用します。

- ・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)
- ・30 mm 試験管用ラック (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、スクリューキヤップ型の 1.5 ml マイクロチューブを使用できます。

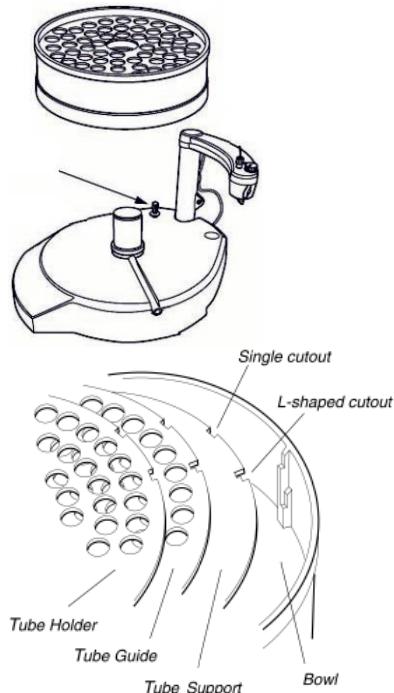
キャップ付きチューブを使用するときは一周分だけにするか、キャップを切断してからご使用ください。

6.1.2、ラックの取扱い

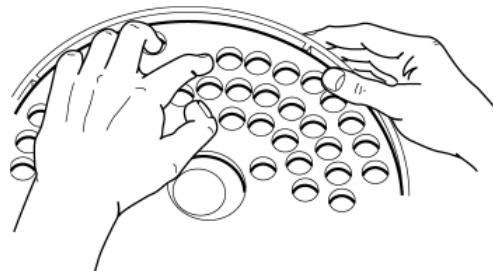
デリバリーアーム先端のチューブセンサーが試験管の位置を自動認識します。

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。



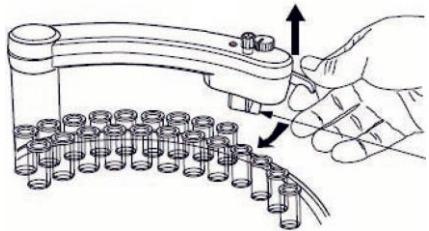
2、十分な数の同じ長さ、直径の試験管をチューブホルダーに挿入します。長い試験管の場合には、チューブサポート（中敷きの板）を外すと試験管が安定します。



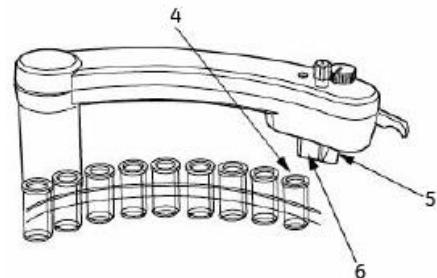
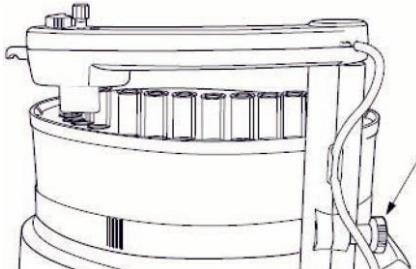
メソッドの途中で試験管が不足すると、自動的にポーズ状態になり、エラーが表示されます。必要な数の試験管を追加して、**Continue** ボタンをクリックします。

3、ボウルを、フラクションコレクターに設置します。

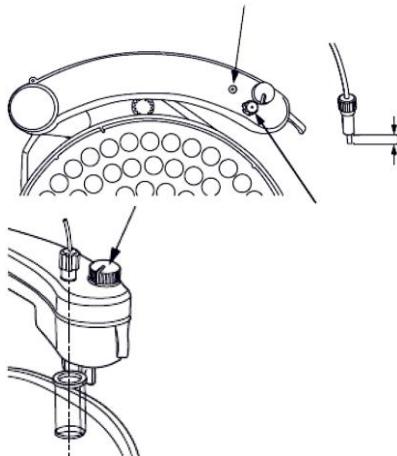
4、デリバリーアームを軽くにぎり、少し上にひき上げた状態で、チューブセンサーを試験管に接触させます。チューブセンサーが 1 番目の試験管の外側に触れるように、ドライブスリーブを後方に押しながらボウルを回転させます。



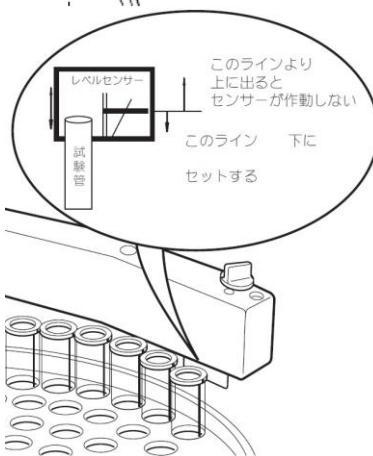
5、ロックノブを緩めて、試験管の上端がチューブセンサーの水平ライン(5)になるようにアームの高さを調節します。



6、チューピ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、チューピ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（つまり）で PEEK チューブの出口が試験管の中央になります（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 が設置されている場合>

6.2.1、カセットもしくはトレイの準備

以下のカセットもしくはトレイを使用します。

- ・3 ml 試験管用カセット (28956427) (8×5=40 本)
- ・5 ml 試験管用カセット (29133422) (8×5=40 本)
- ・8 ml 試験管用カセット (28956425) (6×4=24 本)
- ・15 ml 試験管用カセット (28956404) (5×3=15 本)
- ・50 ml 試験管用カセット (28956402) (3×2=6 本)
- ・深底プレート用カセット (28954212) (24 穴、48 穴、96 穴角穴プレートに対応)

丸穴や浅底プレートには対応していません。

- ・50 ml 試験管用トレイ (28980319) (11×5=55 本)
- ・250 ml ボトル用トレイ (28981873) (6×3=18 本)

(使用できる試験管、プレート、ボトルの詳細は本書 1.1 章「◆フラクションコレクター」を参照ください)

- 1、試験管用カセット (50 ml 試験管用を除く) を設置する場合には、図の囲み部分に指をかけ、ロックを引き出します。



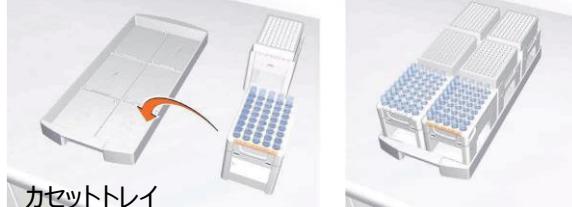
- 2、試験管またはプレートをカセットに設置します。試験管を設置する場合は、カセットもしくはトレイの設置本数分全てを設置することをお勧めします。



- 3、試験管用カセット (50 ml 試験管用を除く) の場合は、カセットをロックします。



- 4、フラクションコレクターを引き出し、(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。

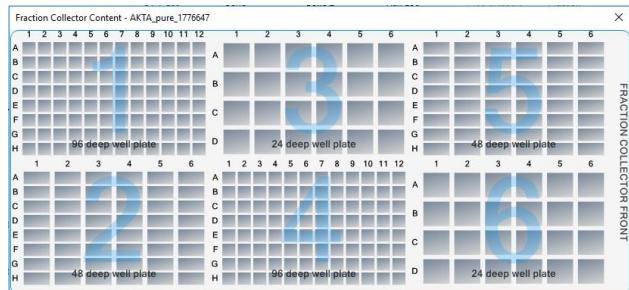


- 6、扉を閉じます。

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。ラン中に引き出しを開ける場合には、カセットの場所変更はできません。場所を変更した場合は、エラー表示されます。

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

6.3、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 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-M + V9-pH	U9-L + 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	461 µl	470 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-M + V9H-pH	U9-L + 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

* 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

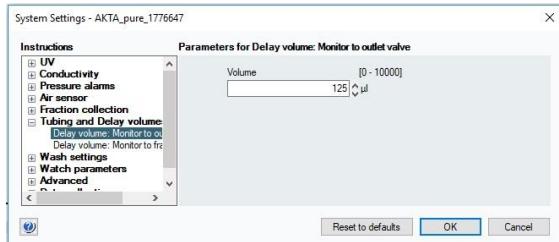
アウトレットバルブまでのディレイボリューム : 152 µl + 48 µl = 200 µl

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。

<設定の確認>

- 1、System Control より、System ↓ Settings をクリックし、System Settings ダイアログを表示します。
- 2、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

4、OKボタンをクリ

力します。

ックします。

チューピ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 チューピング	10 cmあたり	備考
内径 0.25 mm (青色)	4.91 μl	高分離カラム
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ピング（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
F9-C (in) ~ ディスペンサーへッド	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ピング

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ピ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ございませんので、ご注意下さい。

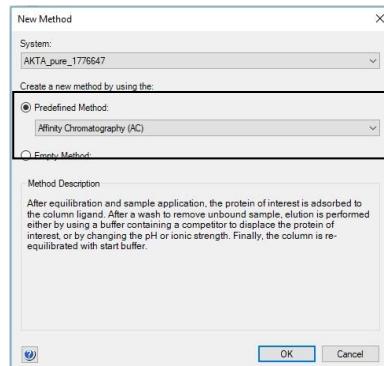
7.1、新規メソッドの作成

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

7.2、クロマトグラフィー手法の選択

Predefined Method を選択し、手法を選択します。

Affinity chromatography (AC)	アフィニティクロマトグラフィー
Affinity chromatography (AC)-HiTrap Fibro PrismA	アフィニティクロマトグラフィー HiTrap Fibro PrismA
Affinity chromatography (AC) with Tag removal*	アフィニティ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ができません。

OK ボタンをクリックします。

Method editor モジュールの概要は以下です。



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

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

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

(4) Gradient : メソッドのグラジエントを示します。

7.3. 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}の耐圧値を入力します)

・ 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、設定可能です)

・Column position

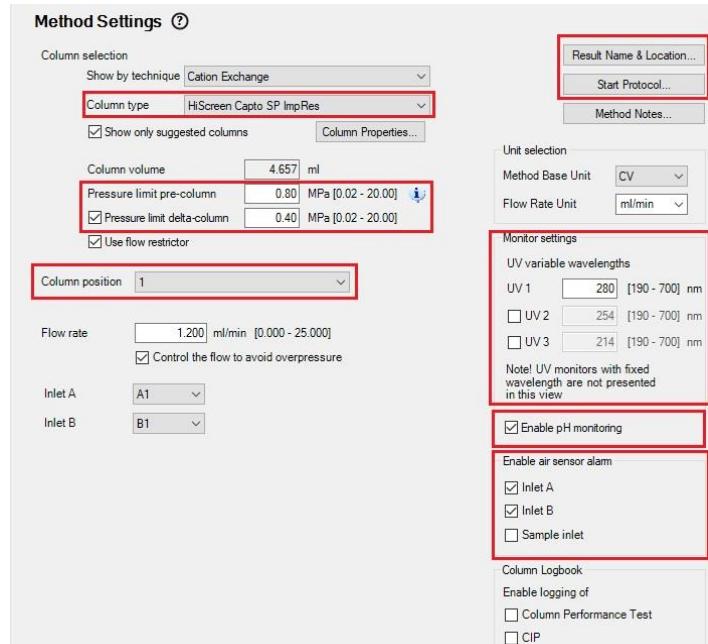
(バルブ付きの場合のみ)

を設定します。

必要に応じて

・Flow rate

・Monitor settings (波長は U9-M のみ) 、
等を設定します。



注意 1) 耐圧の設定について

※ 本項目は Pressure limit delta-column が設定できない場合の注意です。設定可能な場合は、Column properties に記載される（自動入力される）値を用います。

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です。

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) よりも特に低いカラムの場合、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。必ず圧力設定を確認し、担体耐圧が低い場合には、値を入れ直して下さい。

<注意が必要な主なカラム>

・HiPrep カラム、HiScreen カラム (注意 2 参照)

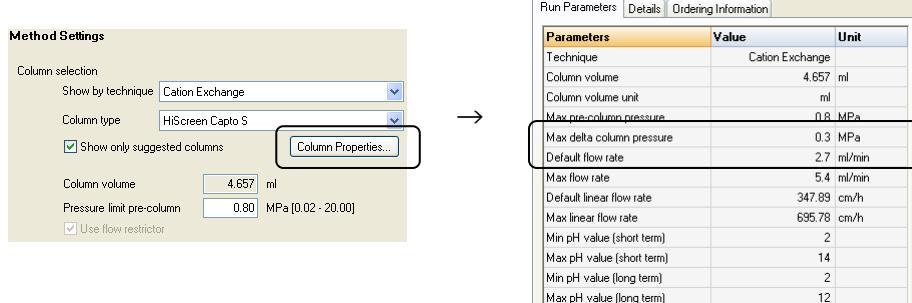
注意 2) HiTrap、HiLoad、HiPrep、HiScreen カラムは、以下の値を **Alarm pre-column pressure** の耐圧値として入力します。

「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）

<p><HiTrap カラム></p> <p>カラムハードウェア耐圧：0.5 MPa</p> 	<p><HiLoad カラム></p> <p>カラムハードウェア耐圧：0.5 MPa</p> 
<p><HiPrep カラム></p> <p>カラムハードウェア耐圧：0.5 MPa</p> 	<p><HiScreen カラム></p> <p>カラムハードウェア耐圧：0.8 MPa</p> 

※1 カラムハードウェア耐圧（**Max pre-column pressure**）と担体耐圧（**Max delta column pressure**）は以下の手順で確認できます。

- 1、**Column 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。

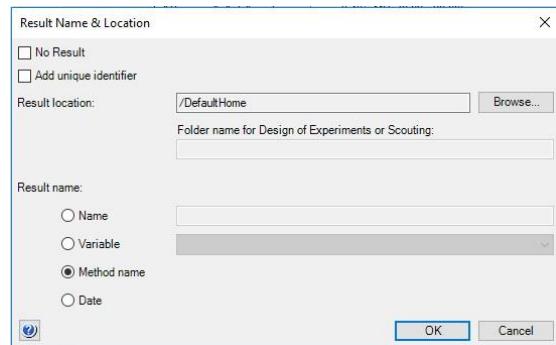


Run Parameters		
Parameters	Value	Unit
Technique	Cation Exchange	
Column volume	4.657	ml
Column volume unit		ml
Max pre-column pressure	0.8	MPa
Max delta column pressure	0.3	MPa
Default flow rate	2.7	ml/min
Max flow rate	5.4	ml/min
Default linear flow rate	347.89	cm/h
Max linear flow rate	695.78	cm/h
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」をご参照下さい。

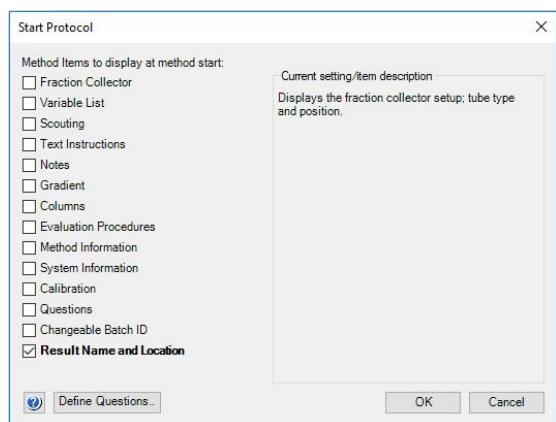
リザルトファイルの保存フォルダーを事前に指定する場合は、以下の手順で設定できます。

- 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、保存先のフォルダを指定します。
- 3、**OK** ボタンをクリックします。



メソッド実行時に表示される確認画面は、以下の手順で確認、選択できます。

- 1、画面右上の **Start protocol** ボタンをクリックします。
- 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。



7.4、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場合は、「**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場合には「**Fill the system with the selected buffer**」のチェックを外します。

Equilibration ②

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

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

Use the same inlets as in Method Settings
Inlet A Inlet B % B [0.0 - 100.0]

Fill the system with the selected buffer

Equilibrate until

the total volume is CV
 the following condition is met

Conductivity greater than
Conductivity greater than mS/cm [0.00 - 1000.00]
Accepted pH fluctuation [0.00 - 14.00]
Accepted UV fluctuation mAU [0.00 - 6000.00]
Accepted conductivity fluctuation mS/cm [0.00 - 300.00]
Stability time min [0.02 - 1000.00]
Maximum equilibration volume CV

7.5、サンプル添加

7.5.1、サンプル添加方法の選択



メソッド概要中の Sample Application フェーズをクリックします。
• **Inject sample from loop :**
サンプルループやスーパーループより添加する場合。
スーパーループを使用する場合で、スーパーループの方がカラム耐圧よりも低い場合は、**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）。

Sample Application ②

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

Inject sample from loop
 Inject sample directly onto column

Fill the loop using Loop type Loop position Sample inlet
Fill loop with ml Empty loop with ml
Sample volume ml

Wash sample flow path with buffer
 Prime sample inlet with ml
 Wash sample flow path with buffer after sample application.

Use the same inlets as in Method Settings
Inlet A Inlet B %
 Fill the system with the selected buffer

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

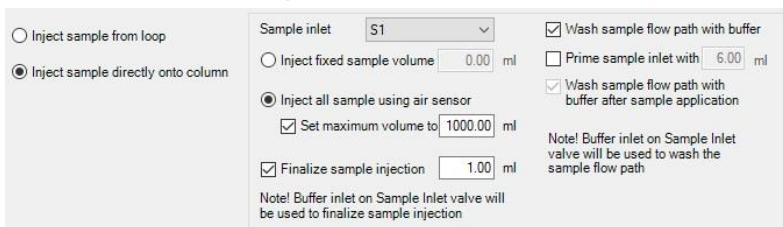
Fractionate Fractionation settings
 in waste (do not collect)
 using outlet valve
 using fraction collector
Fractionation type Advanced Settings...
Fractionation destination Peak fractionation destination
Fixed fractionation volume ml [0.00 - 2.20] Peak fractionation volume ml [0.00 - 2.20]

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

・**Inject sample directly onto column** : (オプション)

サンプルポンプまたはシステムポンプにより直接カラムに添加する場合

(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 (サンプルバルブ付属の場合のみ選択可能)。

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

・**Inject all sample using air sensor** :

エアーセンサーが空気を検出するまでサンプルを添加する場合に選択。

(サンプルバルブ付属の場合のみ選択可能)

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します。

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

エアーセンサーが空気を検出した場合は、エアーセンサーの制御が優先されます。

(サンプルバルブ付属の場合のみ選択可能)

・**Wash sample pump with buffer** :

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

(サンプルバルブ付属の場合のみ選択可能)

・**Prime sample inlet with** :

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

・**Wash sample pump with buffer after sample application** :

エアーセンサーが無効の場合のみ選択可能です。

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

(サンプルバルブ付属の場合のみ選択可能)

素通り画分の回収は 7.5.2 をご参照ください。

※ **Inject sample directly onto column** 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。サンプルポンプによるサンプルの直接添加を選択した場合は、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。

(サンプルポンプおよびサンプルバルブが付属している場合のみ)

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

7.5.2、分画方法の指定

素通り画分、溶出画分などの分画方法は、各フェーズ詳細中の Fractionate にて以下より選択、設定できます。

<using outlet valve> : アウトレットバルブにより回収する場合

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

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

Fractionation destination (分取開始位置) と、Fixed fractionation volume (1画分あたりの体積) を設定します。

- Peak fractionation ピーク分取をアウトレットバルブで行います。

Fractionation destination (分取開始位置) と、Peak fractionation volume (1画分あたりの体積) を設定します。

- Fixed outlet 全ての画分を Fractionation destination で指定したアウトレットバルブのポジションで回収します。
分取位置を設定します。

Advanced Settings 最大フラクション数 (バルブポート数) を入力します。

Peak Fraction Settings ピーク認識のためのモード (level / slope / level and slope / level or slope) および、それぞれの設定値を入力します

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

※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。

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

- Fixed volume fractionation 定量分取をフラクションコレクターで行います。

Fixed fractionation volume (1画分あたりの体積) を設定します。

<F9-Cのみ> Fractionation destination (使用するカセットまたはプレート) も設定します。

- Peak fractionation ピーク分取をフラクションコレクターで行います。

Peak fractionation volume (1画分あたりの体積) を設定します。

<F9-Cのみ> Fractionation destination (使用するカセットまたはプレート) も設定します。

- Fixed volume and peak fractionation 定量分取とピーク分取を併用します。

Fixed および Peak fractionation volume (1画分あたりの体積) を設定します。

<F9-Cのみ> Fractionation destination (使用するカセットまたはプレート) も設定します。

Advanced Settings <F9-Cのみ> Start Position (回収し始めの試験管位置 : next tube / next line / next cassette / skip two tubes) および、Last Tube Filled では最終試験管 (またはウェル) に達した際の送液方法 (Pause / Out-waste / Out 1～10 の各ポート) を選択します。

Peak Fraction Settings ピーク認識のためのモード (level / slope / level and slope / level or slope) および、それぞれの設定値を入力します。

※ 逆相クロマトグラフィーを行う場合や、有機溶媒を用いた精製を行う場合には、フラクションコレクターF9-Cでの回収は出来ません (F9-R やアウトレットバルブでの回収は可能です)。

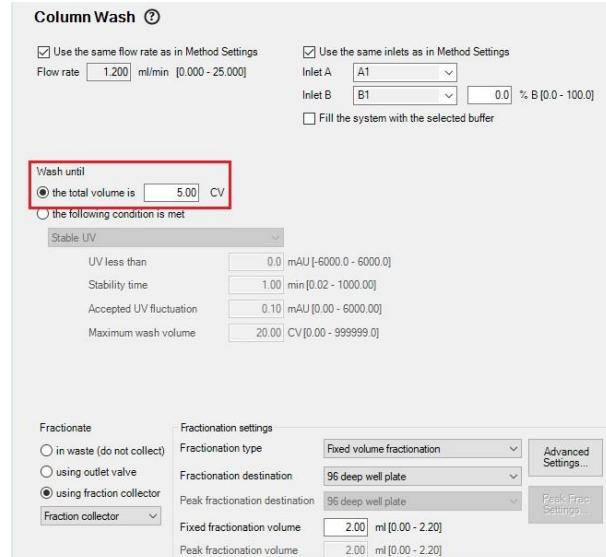
・<in waste (do not collect)> : 回収せずに全て廃棄する場合

7.6、非吸着画分の洗浄



メソッド概要中の **Column Wash** 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場合は、「**the total volume is**」の値を変更します。

非吸着画分の回収は 7.5.2 をご参照ください。



7.7、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。

・Isocratic elution

主にゲルろ過で使用します

・Gradient elution

イオン交換やアフィニティなど、吸着系クロマトグラフィーで使用します。

グラジエントは以下より選択、設定します。

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

- **Linear**：リニアグラジエント

- **Step**：ステップ

- **Step with fill**：ステップ（設定した%B でシステム洗浄した後に溶出）

・**Target %B**：目標とする%

・**Length**：セグメントの溶出体積

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

※ 最終セグメントが **Gradient** の場合、自動的に **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。

溶出画分の回収は 7.5.2 をご参照ください。

7.8、カラムの洗浄

メソッド概要中の Column Wash フェーズをクリックします。

溶出後の洗浄を行う場合には、**Wash until** の「the total volume is」で洗浄体積を入力します。また、必要に応じてフラクション回収に関する設定をします（フラクション回収に関しては 7.5.2 をご覧ください）。

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

7.9、再平衡化

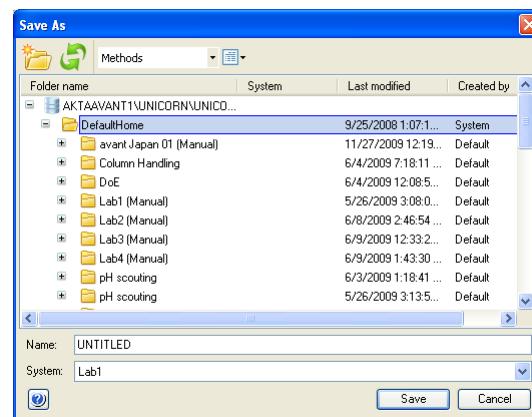
メソッド概要中の Equilibration フェーズをクリックします。

カラムの再平衡化を行う場合には、**Equilibrate until** の「the total volume is」で再平衡化体積を設定します。

再平衡化が不要の場合にはフェーズ概要下部の Delete ボタンをクリックし、本フェーズを削除します。

7.10、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。



8、メソッドの実行

8.1、サンプル準備

サンプルは、使用直前に $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 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釀や脱塩操作をします。

8.1.1、サンプルループへのマニュアルサンプル充填

- 1、インジェクションバルブのポジションが Manual load であることを確認し、バッファーを満たしたシリンジをポート Syr に接続して、サンプルループ内を洗浄します（サンプルループ体積の 3 倍量以上のバッファーで洗浄します）。この際、送液したバッファーは W1 より廃液されます。
- 2、サンプルループ容量より少し多めのサンプルをシリンジに満たしてポート Syr に挿し、ゆっくり充填します。
※ メソッド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、サンプルインレット（オプション）の準備

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

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

8.1.3、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場合※

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より多い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 に充填する場合、Manual Instructions ダイアログより

Flow path → Loop valve → Position 1 → Execute

- 4、サンプルループ体積の 3 倍以上のバッファーでサンプルループ内を洗浄します。
- 5、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。
- 6、**Flow path → Loop valve → By-pass → Execute**
- 7、手順 1 の作業を実行します。
- 8、ポジション 2～5 にも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**）、2～7 の作業を実行します。
- 9、End ボタンをクリックします（シリンジは挿したまで終了します）。

※ カラムバルブが設置されている場合 ※

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されることをお勧めします。

Method Settings Manual Loop Fill	<ul style="list-style-type: none"> • Number of loops に、充填するループの数を選択します。 <p>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。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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。 <ul style="list-style-type: none"> • 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。 	Manual Loop Fill ② Number of loops <input type="text" value="1"/> ▼ <input checked="" type="radio"/> Partial loop fill (to minimize sample loss) <input type="radio"/> Complete loop fill (to maximize reproducibility) Wash inlet <input type="text" value="A1"/> ▼ Loop wash volume <input type="text" value="5"/> ml [1 - 999]
---	---	---

- * 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。

注意：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

<F9-R を使用する場合>

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。

※ 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。なお、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）。

<F9-C を使用する場合>

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。なお、分取中にフラクションコレクターの引き出しを開くとシステムがポーズ状態になりますのでご注意ください。また、メソッド実行中に引き出しを開き、カセットの位置を変更するとエラーメッセージが表示されますので、カセットの種類、位置は途中で変更しないよう、ご注意ください。

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

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

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

<メソッド途中でフラクションコレクター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ので、必ず同じ種類のカセットを同じ場所に置いてください。

<F9-C の分取方向>

初期設定は Row-by-row（同一の横方向）です。変更する場合は以下の手順になります。

System control より

System Settings → Fractionation settings

Accumulator 使用時には4種類（Row-by-row、Serpentine-row、Column-by-column、Serpentine-column）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 試験管用力カセットや 24 穴プレートの場合、以下のような分取順序のイメージです。

Row-by-row: A1～A6、B1～B6、C1～C6、D1～D6

Serpentine-row: A1～A6、B6～B1、C1～C6、D6～D1

Column-by-column: A1～D1、A2～D2、A3～D3、A4～D4、A5～D5、A6～D6

Serpentine-column: A1～D1、D2～A2、A3～D3、D4～A4、A5～D5、D6～A6

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

<アウトレットバルブで回収する場合>

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

8.3. メソッド実行

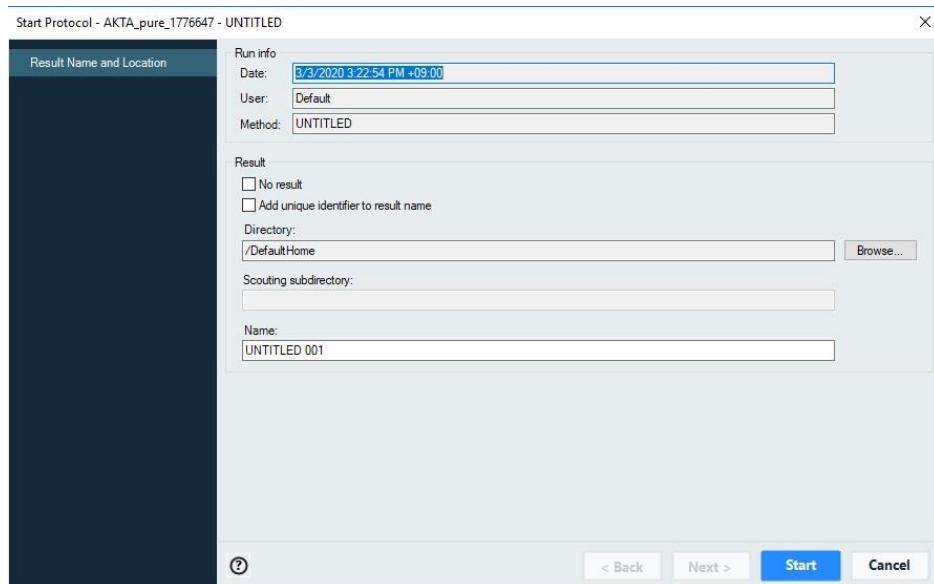
1、System Control より **File** ↓ **Open** を選択します（Method Navigator が開いている場合は不要です）。

2、実行するファイルを選択します。

3、**File** ↓ **Run** を選択します。

4、Start protocol 画面が表示されます。

保存フォルダー、ファイル名を確認し、Start 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 行の連番数字が付加されます。



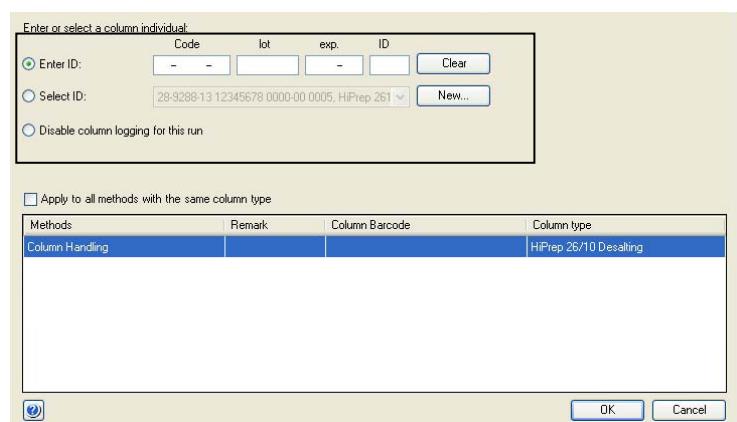
オプション：カラムログブックのライセンスがインストールされている場合は、以下の内容が表示されます。

5、Select column ダイアログが表示されます。

用いるカラム情報を記録しない場合は **Disable column logging for the run** を選択します。

既に用いるカラム情報が登録されている場合は手順 8 の作業を実施します。

これから用いるカラム情報を登録する場合は手順 6 以降の作業を実施します。



6、新規にカラム登録する場合は **New** ボタンをクリックします。

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

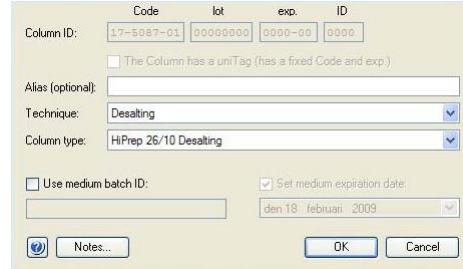
読み取ります。もしくはカラム情報を入力します。

Continue ボタンをクリックします。



7、カラム情報の詳細が表示されます。

OK ボタンをクリックして、ウィンドウを閉じます。



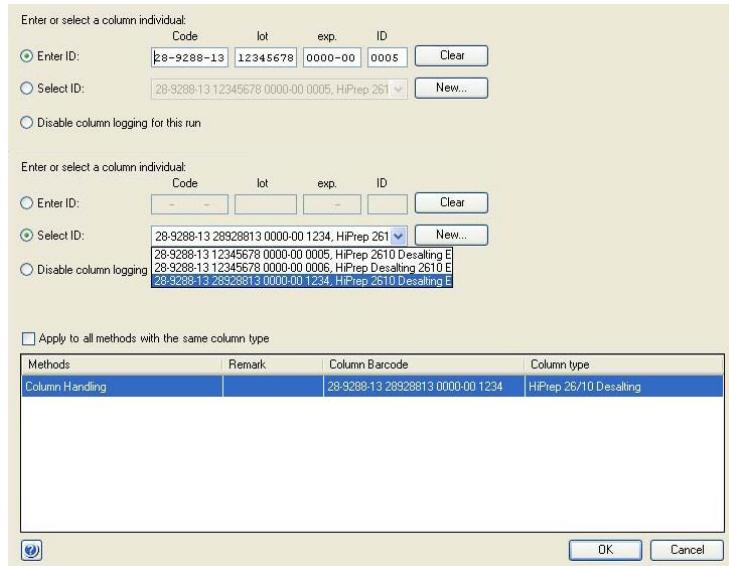
8、Enter ID にチェックを入れます。

カラムに添付された2次元バーコードをバーコードリーダー（オプション）で読み取ります。

もしくは Select ID にチェックを入れ、プルダウンメニューより使用するカラムを選択します。

OK ボタンをクリックします。

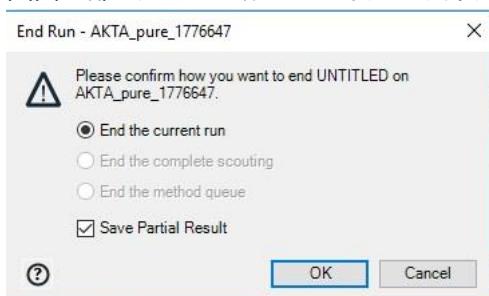
メソッドが実行されます。



8.4、強制終了

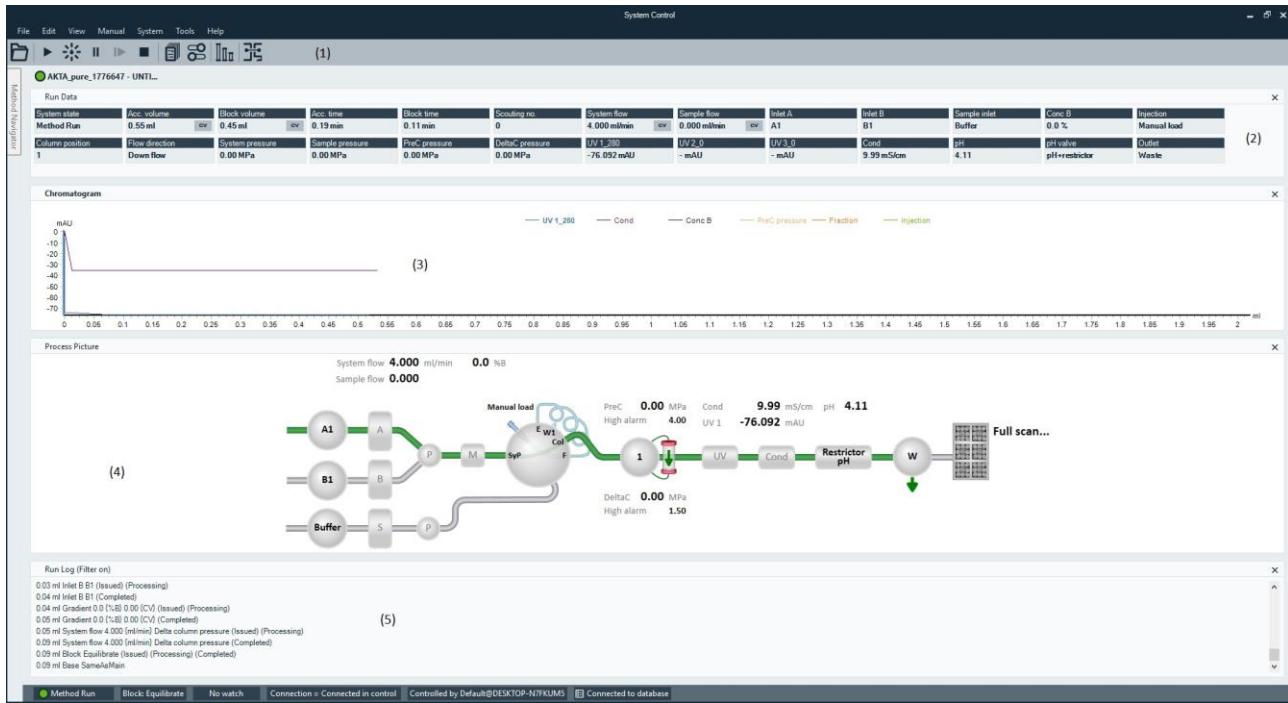
実行中のメソッドを強制終了させる場合は、次のように操作します。

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



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

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	メソッドを実行します（メソッドが実行されている時はグレー表示になります）。
	Hold	ポンプからの送液は止めずに、今の状況を維持したい場合にクリックします。 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したい場合にクリックします。 メソッドの内容は Continue ボタンがクリックされるまで一時停止します。 システムにエラーが起きた場合、自動的に Pause になります。
	Continue	Hold 、 Pause の解除をします。
	End	実行しているメソッドを中断し終了します。
	Documentation	システムと実行中の Run の情報が表示されます。
	Customize	Customize ダイアログが開き、表示 Curve 、 Run data グループと Run log 内容の設定ができます。

	Column Handling	Column Handling ツールが開き登録されたカラムのパラメータを表示。 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と接続でき、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。

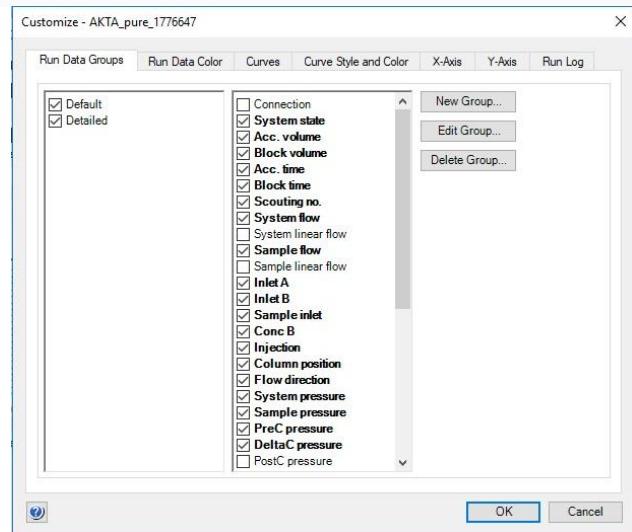
8.6.1、Run Data の選択

Run Data														
System state	Acc. volume	Block volume	Block time	Scouting no	System flow	Sample flow	Inlet A	Inlet B	Sample inlet	Conc B	Injection			
Ready	0.00 ml	0.00 ml	0.00 min	0.00 min	0.000 ml/min	0.006 ml/min	A1	B1	Buffer	0.1%	Manual load			
Column position	Flow direction	System pressure	Sample pressure	PreC pressure	DeltaC pressure	UV1 -280	UV2 -380	UV3 -3.8	Cond	pH	Conc value	Column	Waste	Restrictor
By-pass		0.00 MPa	0.00 MPa	0.00 MPa	0.00 MPa	-mAU	-mAU	-mAU	10.23 mAU	0.0	Restrictor	Waste		

1、**Run Data Groups** タブをクリックします。

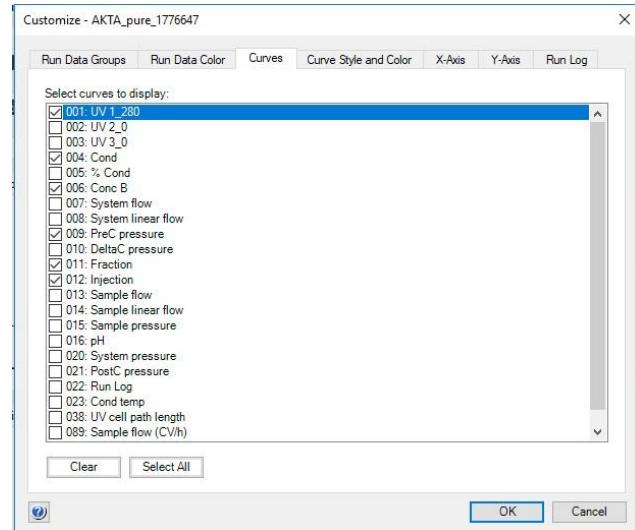
2、表示したい項目にチェックを入れます。表示を解除する場合は、チェックを外します。

3、**OK** ボタンをクリックすると変更が反映されます。



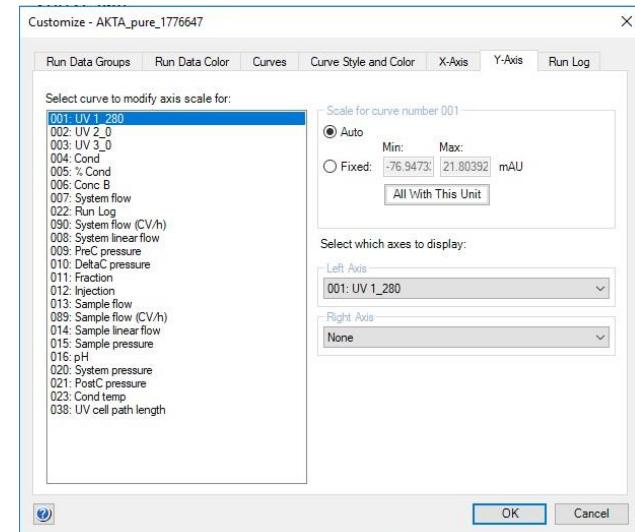
8.6.2、カーブの選択

- 1、**Curves** タブをクリックします。
- 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。



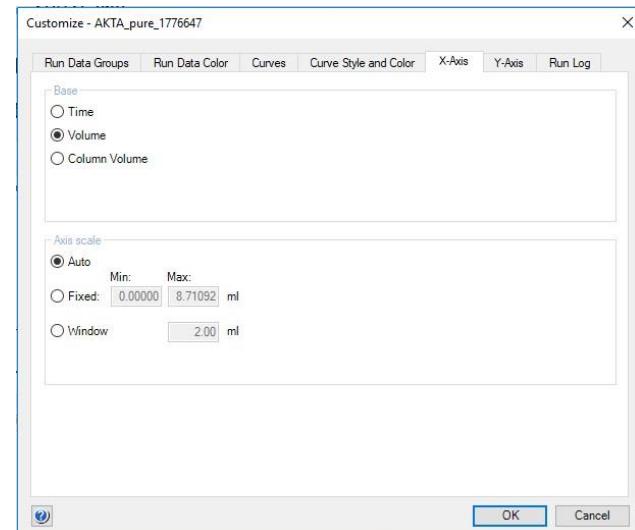
8.6.3、Y 軸の設定

- 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、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、**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、データ処理

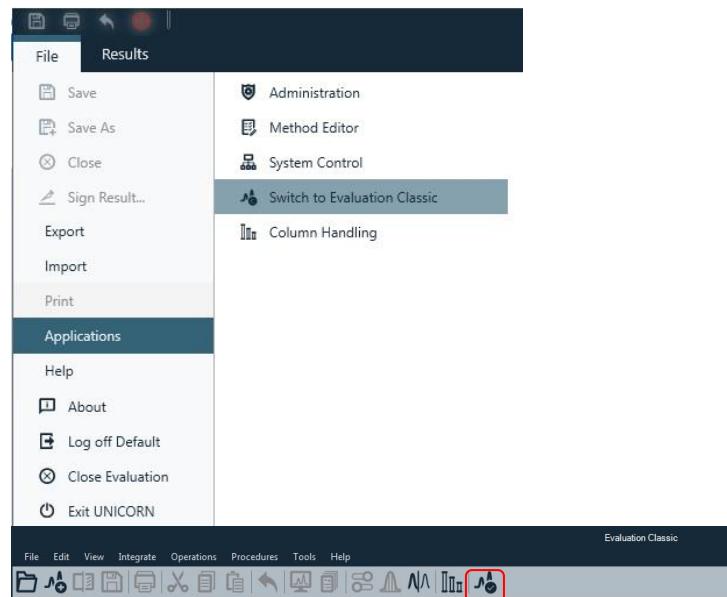
※ 本作業はスケジュールバックアップを含む、データベースのバックアップが行われていない時に実行してください。

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

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

<Evaluation から Evaluation Classic への切り換え
>

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



<Evaluation Classic から Evaluation への切り換え
>

- 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。

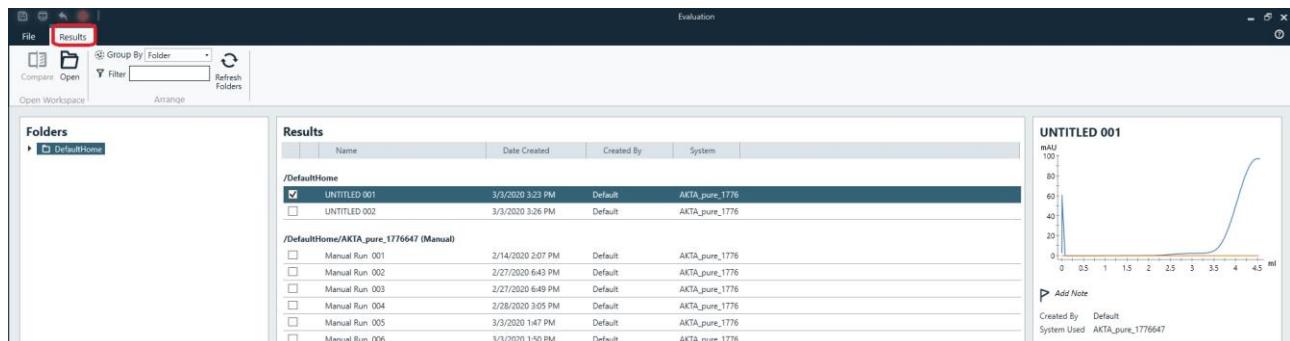
※ **Evaluation Classic** ライセンスの取得方法については、本書の 1 章をご参照下さい。

9.1. <UNICORN 7 の場合>

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

9.1.1、データの呼び出し

1、Evaluation の Results タブをクリックします。



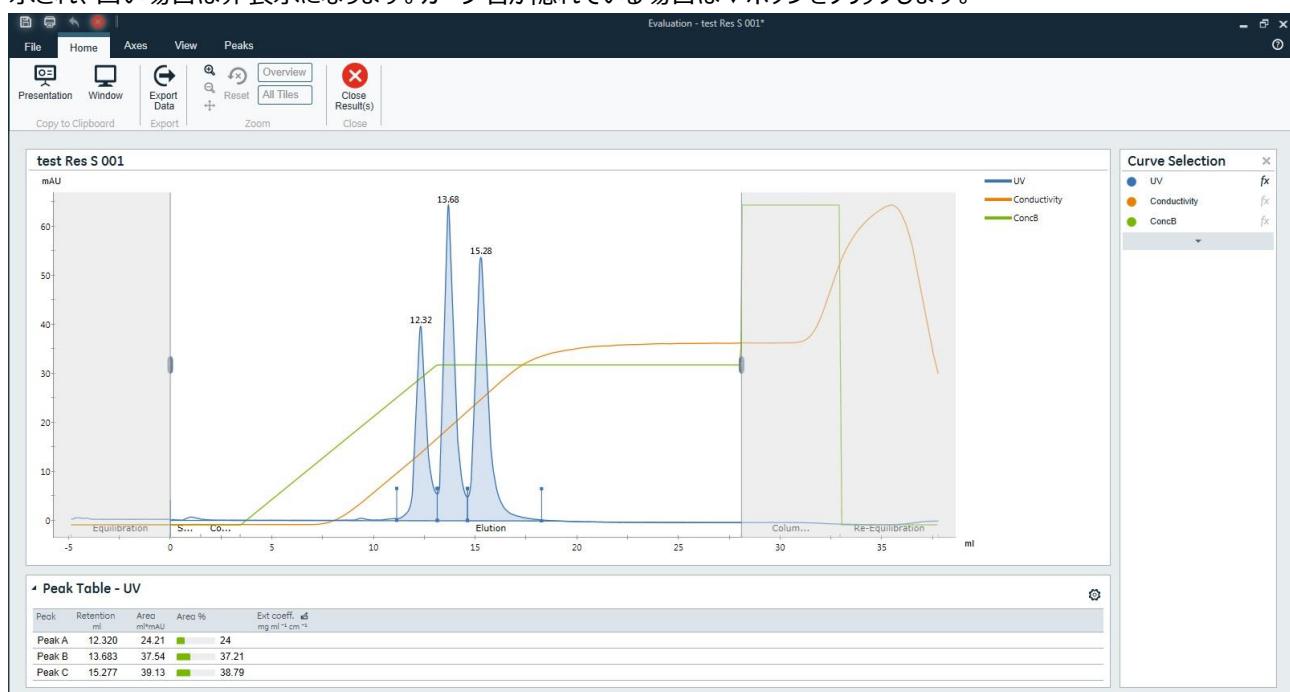
2、該当するファイルをダブルクリックします。

9.1.2、画面表示

9.1.2.1、カーブの選択

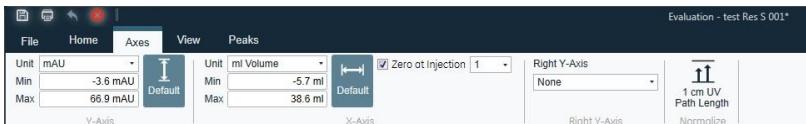
画面表示したいカーブを指定します。

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

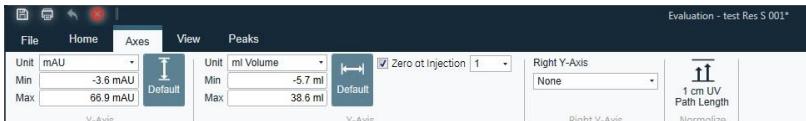
1、Axis タブをクリックします。



- 2、スケール表示を変更したいカーブの単位（Unit）をプルダウンメニューより選択します。
- 3、必要に応じて最小値（Min）および最大値（Max）を設定します。
- 4、クロマトグラム左側のY軸の目盛りとして表示させたい単位を Units から選びます。
- 5、クロマトグラムの右側にもY軸の目盛りを表示させたい場合は、Right Y-Axis から該当するカーブを選択します。

9.1.2.3、X 軸の設定

- 1、Axis タブをクリックします。

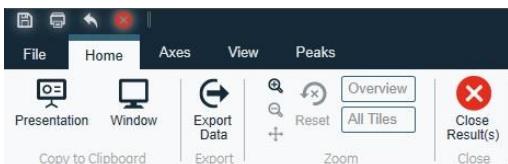


- 2、X 軸のベース（時間、容量、カラム体積）を単位（Unit）のプルダウンメニューより選択します。
- 3、必要に応じて最小値（Min）および最大値（Max）を設定します。
- 4、Zero at Injection にチェックを入れると、サンプル添加のリテンション時間（体積）を 0 min (ml) として表示します。

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。

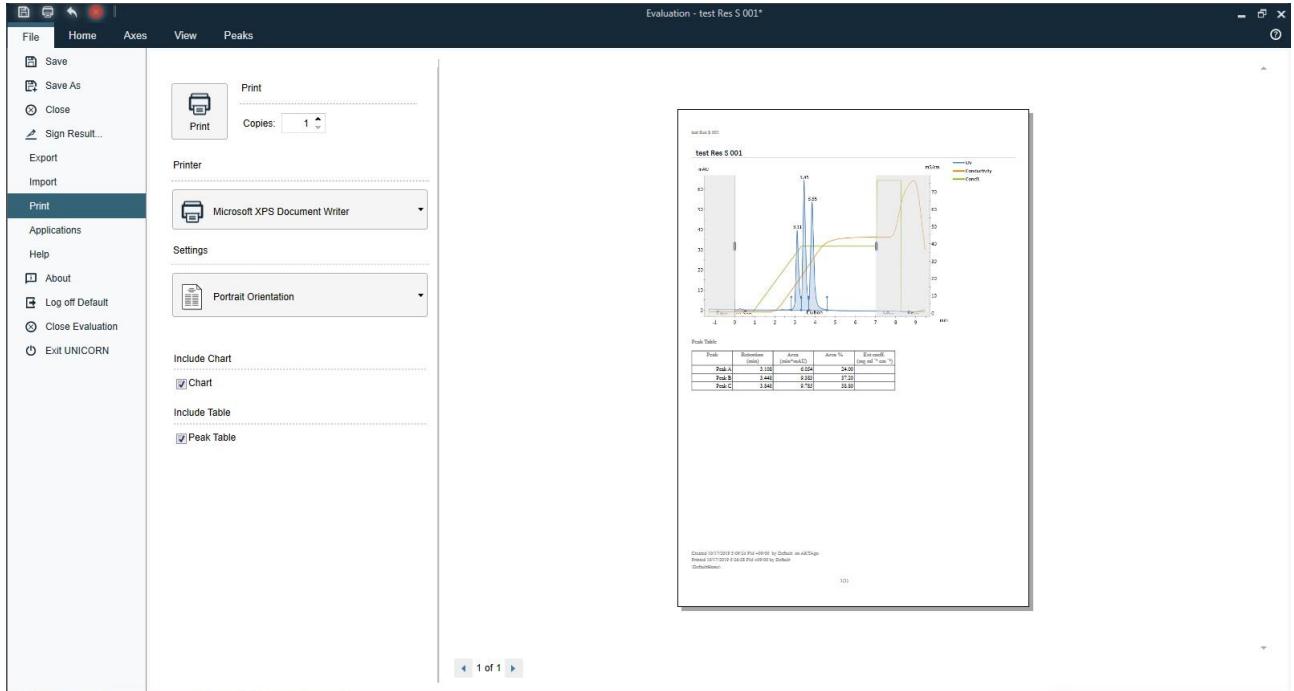


- 2、Zoom In ボタン（虫眼鏡の中が+）をクリックします。
- 3、ドラッグして、ズームアップしたい範囲を囲います。
- 4、1回前の表示に戻す場合は Zoom Out ボタン（虫眼鏡の中が-）をクリックします。ズームアップを解除するには Reset ボタンをクリックします。

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。

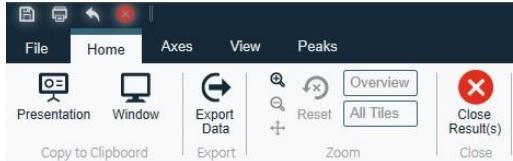


2、Settings から用紙の向きを設定します。

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

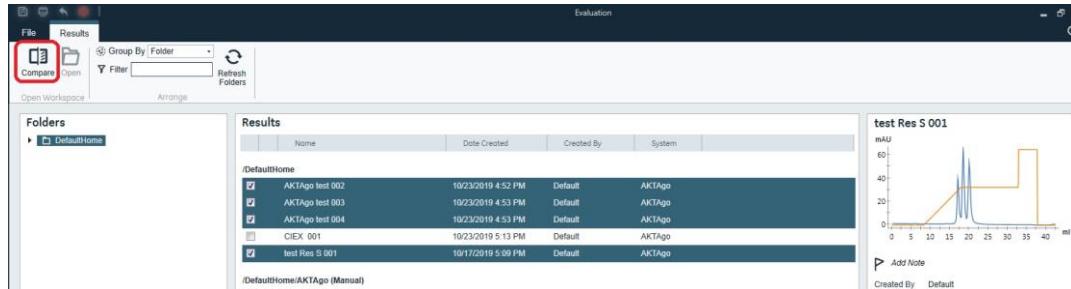
1、Home タブをクリックします。



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

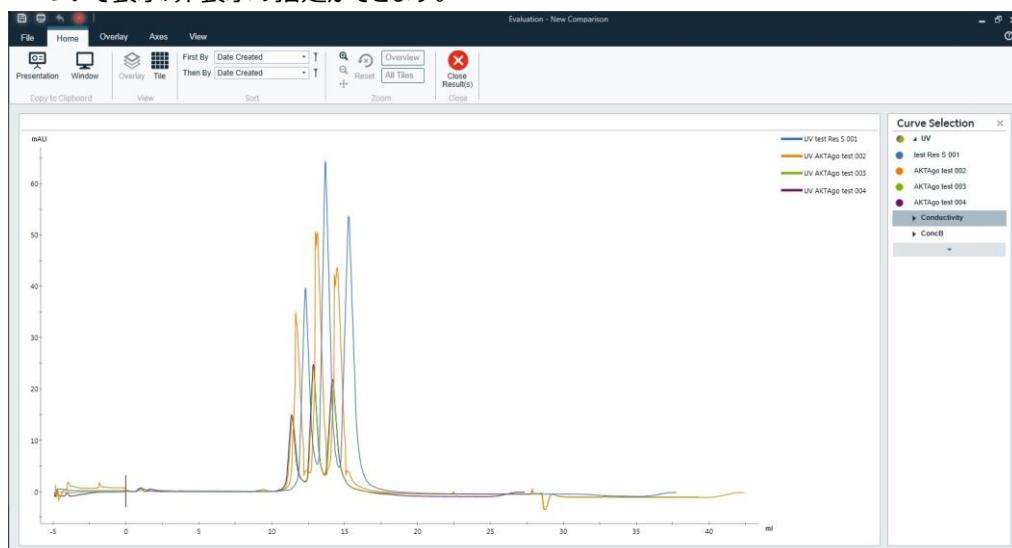
1、Evaluation の Results タブをクリックします。



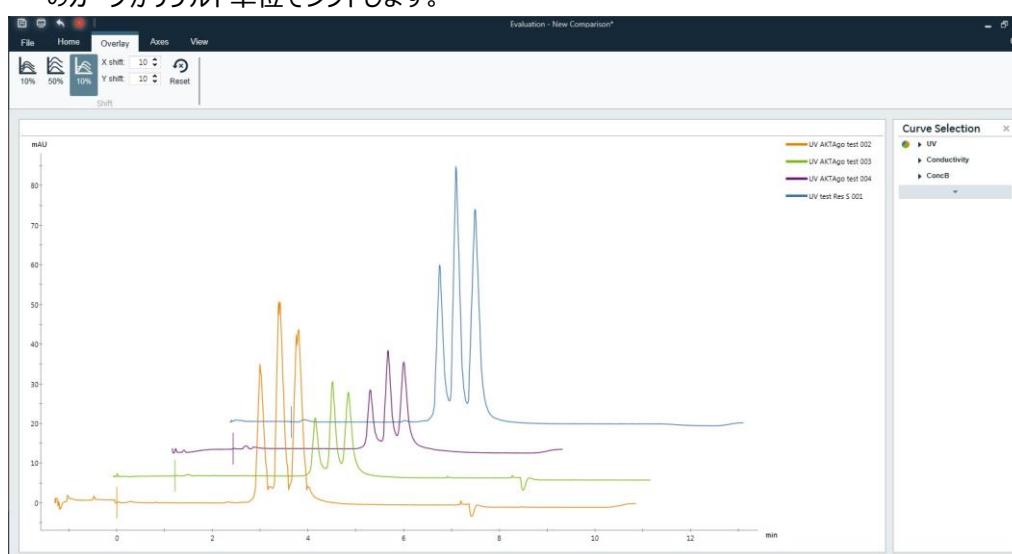
2、該当するファイルにチェックを入れます。

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. <UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic の場合>

9.2.1、データの呼び出し

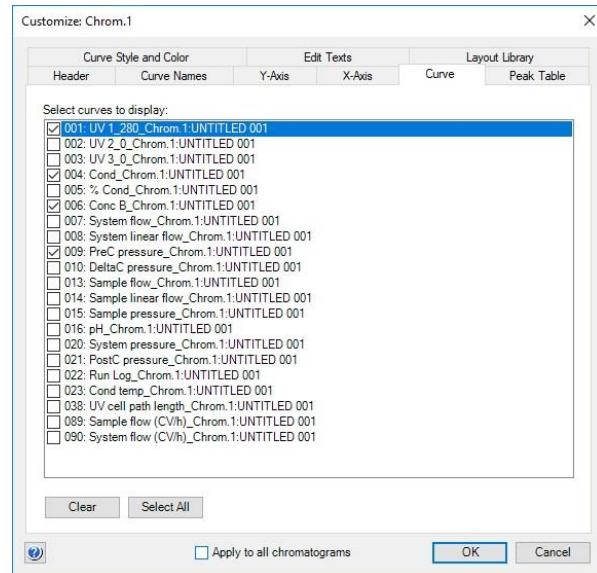
- 1、Evaluation より **File** ↓ **Open** → **Result Navigator** を選択します。
- 2、該当するファイルをダブルクリックします。

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。

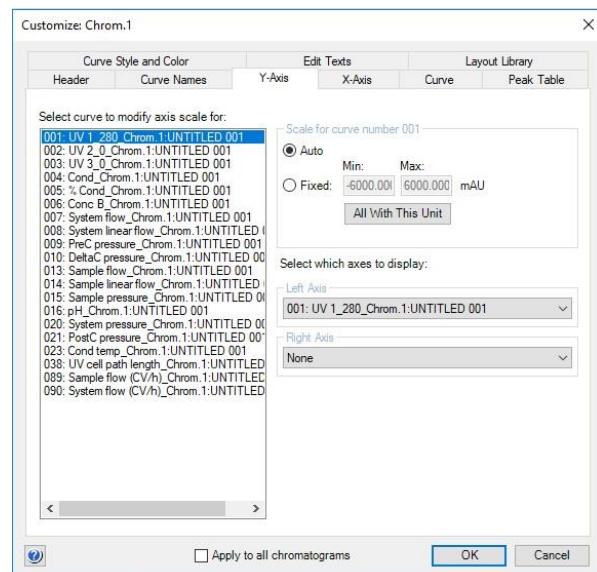
9.2.2.1、カーブの選択

- 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。



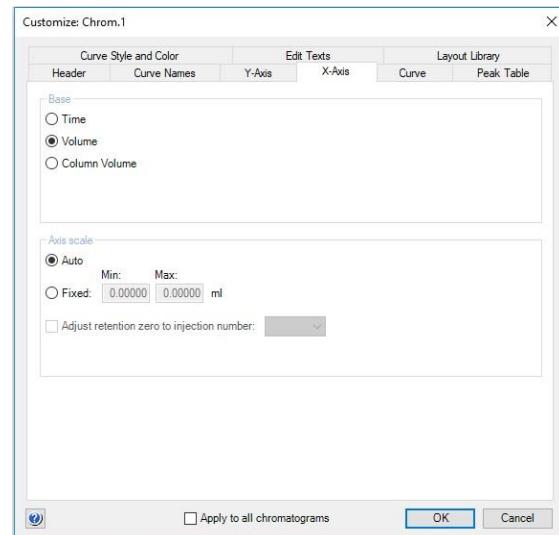
9.2.2.2、Y 軸の設定

- 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。
Adjust retention zero to injection number をチェックしていると、サンプル添加のリテンション時間（体積）を 0 min (ml) として表示します。
- 3、OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。



9.2.2.4、ズームアップ

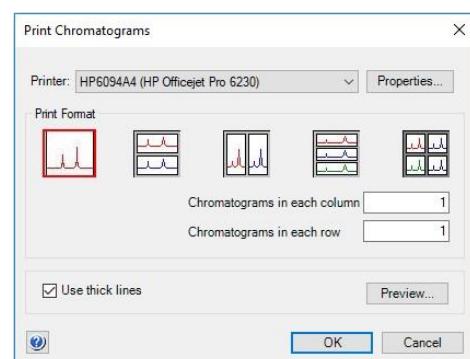
- クロマトグラムの任意の範囲をズームアップできます。
- 1、ズームアップしたい範囲にカーソルを移動します。
 - 2、ドラッグして、ズームアップしたい範囲を囲います。
 - 3、ズームアップを解除するには、右クリックし、メニューから **Reset zoom** を選択します。

9.2.2.5、クロマトグラムのテキスト入力

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

9.2.3、クロマトグラムの印刷

- 印刷する際は、プリンターに電源が入っていること、コンピューターとプリンターが USB ケーブルなどで接続されていることを確認します。また必要に応じ印刷終了後にプリンターの電源を切ることも可能です。
- 1、印刷したいクロマトグラムを表示します。
File ↓ Print を選択し、Print Chromatograms ダイアログを表示します。
 - 2、Print format（クロマトグラムの配置）を選択します。
 - 3、カーブを太線で印刷する場合は **Use thick lines** をチェックします。
 - 4、Preview をクリックすると Customize Report 画面が表示され、ここで印刷のプレビューが確認できます。
File ↓ Exit でプレビューを終了します（この画面からレイアウトの変更およびレポートフォーマットとしての保存も可能です）。
 - 5、印字の横置き、縦置きの設定を変更する場合は Printer の Properties ボタンをクリックし、設定を変更、確認します。OK ボタンなどをクリックします。なお設定方法はプリンターにより異なります。
 - 6、OK ボタンをクリックします。



10. システムの終了

10.1. システムおよびカラムの洗浄

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

カラムバルブが設置されていないシステムの場合、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。

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

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

Pumps → 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。ポンプ洗浄が終了したら Manual Instructions ダイアログより

<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

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 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

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 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えない）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。

(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。

Pumps → System Flow → (至適流速またはそれ以下) → Execute

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

6、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。

7、フラクションラインの洗浄を行います。

<F9-R を使用した場合>

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。

<F9-C を使用した場合>

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。

8、アウトレットバルブで分取した場合、使用したラインの洗浄も行います。

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

9、5 ml 以上送液したら **END** ボタンをクリックします。

10、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。

11、ループバルブ（オプション）に接続されるサンプルループを使用した場合は、手順 10 を参考にサンプルループの洗浄を行います。

11.1、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。

11.2、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

11.3、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。

11.4、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、手順 11.2 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**）、11.2~11.3 の作業を実行します。

11.5、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。

11.6、**End** ボタンをクリックします。

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

Other → Timer → (パラメーターを設定) → Execute

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、溶媒耐性を確認の上、送液を行います。

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の場合、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。

1、カラム洗浄用のメソッドを作成します。なお、メソッド作成の概要は7章をご参考ください。既にメソッドを作成済みの場合は項目12より実施します。

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

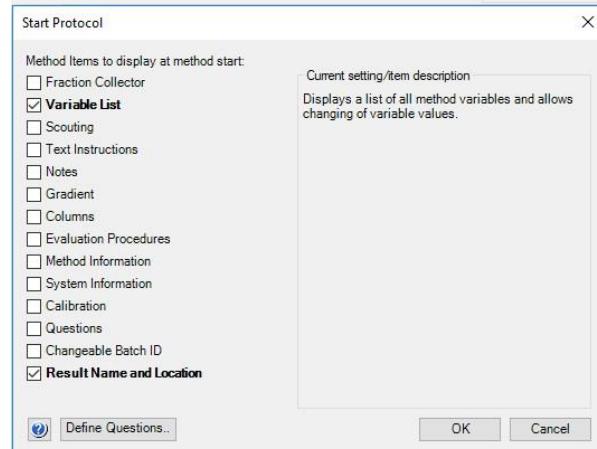
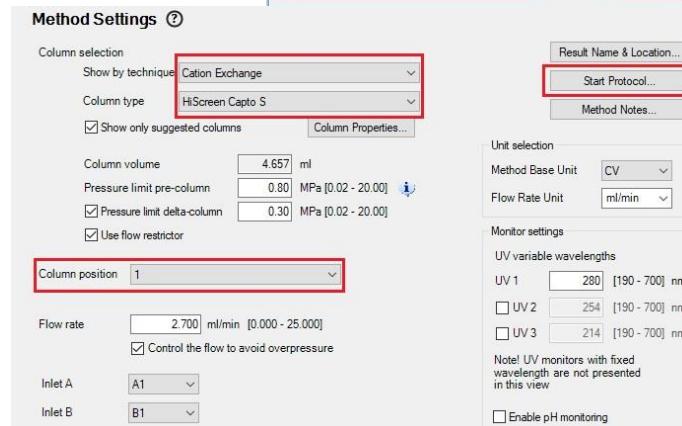
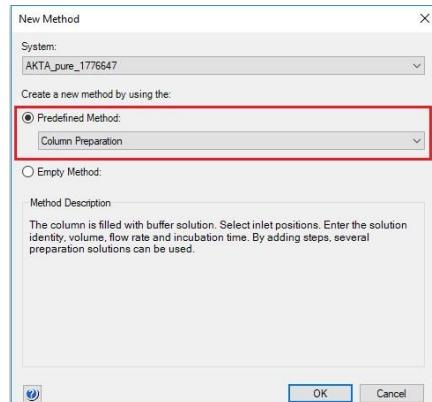
3、Predefined Methodにチェックを入れ、Column Preparationを選択し、OKボタンをクリックします。

4、メソッド概要中のMethod Settings フィールドをクリックします。Column selection、Column positionなどの項目を入力します。

なお、Pressure limit pre-columnの値は、Max delta column pressureの値を入力し直します。

5、画面右上のStart Protocolボタンをクリックします。

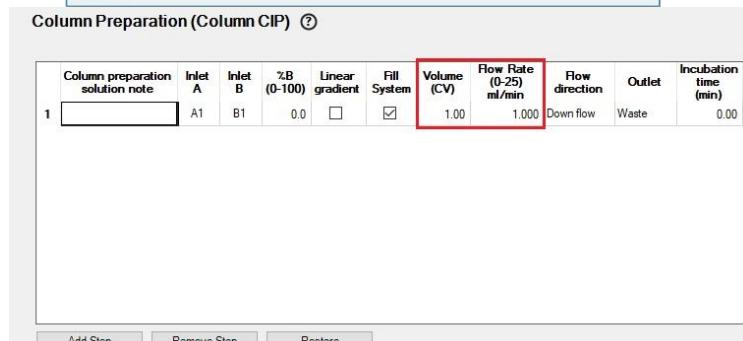
6、表示されたダイアログから、Variable Listにチェックを入れ、OKボタンをクリックします。



7、メソッド概要中のColumn Preparation フィールドをクリックします。

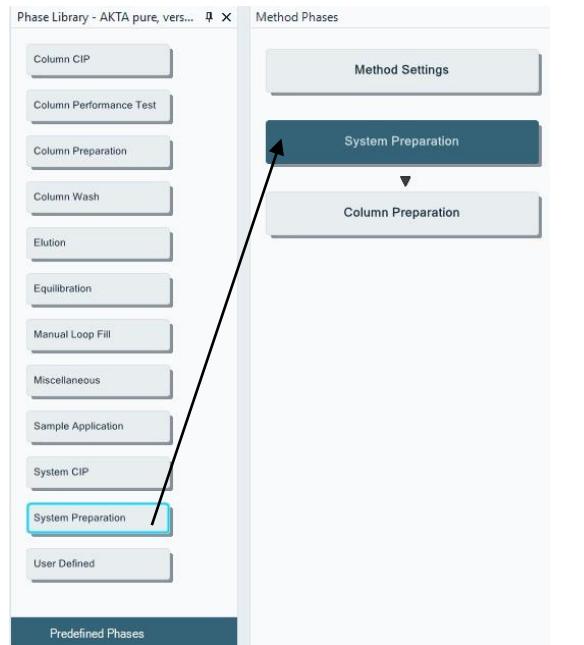
8、Volume (CV)に洗浄で使用するカラム体積(3~5)を入力します。必要に応じて流速を変更します。

初期値は1 ml/minのため、特に推奨流速が1 ml/min以下のカラムの場合には、必ず変更します。



9、Phase Library 中の System Preparation を、Method

Settings と Column Preparation の間にドラッグします。



10、カラム以外の洗浄するライン（使用した）を選択します。

（例：初期に選択されているインレットに加え、**B1**、**Fraction collector** 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。

本メソッドでサンプルループを洗浄する場合は、「**Injection valve with capillary loop**」にチェックを入れ、**Loop cleaning volume** にサンプルループの 3 倍以上の容量を入力します。
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 ②

This phase uses one solution

Solution note:

Pause to manually move all inlets to the selected solution

Flow rate: 10.000 ml/min [0.000 - 25.000]

Volume per position: 20.00 ml

Inlets	Binlets	Sample inlets	Column Position	Outlets
<input checked="" type="checkbox"/> A1	<input checked="" type="checkbox"/> B1	<input checked="" type="checkbox"/> Buffer	<input checked="" type="checkbox"/> By-pass	<input checked="" type="checkbox"/> Waste
<input type="checkbox"/> A2	<input type="checkbox"/> B2	<input checked="" type="checkbox"/> S1	<input type="checkbox"/> 1	<input checked="" type="checkbox"/> Outlet 1
<input type="checkbox"/> A3	<input type="checkbox"/> B3	<input type="checkbox"/> S2	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> Outlet 2
<input type="checkbox"/> A4	<input type="checkbox"/> B4	<input type="checkbox"/> S3	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> Outlet 3
<input type="checkbox"/> A5	<input type="checkbox"/> B5	<input type="checkbox"/> S4	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> Outlet 4
<input type="checkbox"/> A6	<input type="checkbox"/> B6	<input type="checkbox"/> S5	<input type="checkbox"/> 5	<input type="checkbox"/> Outlet 5
<input type="checkbox"/> A7	<input type="checkbox"/> B7	<input type="checkbox"/> S6	<input type="checkbox"/> 6	<input type="checkbox"/> Outlet 6
		<input type="checkbox"/> S7	<input type="checkbox"/> 7	<input type="checkbox"/> Outlet 7
			<input type="checkbox"/> 8	<input type="checkbox"/> Outlet 8
			<input type="checkbox"/> 9	<input type="checkbox"/> Outlet 9
			<input type="checkbox"/> 10	<input type="checkbox"/> Outlet 10 / Frac 2
<input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> All	<input type="checkbox"/> All

Others

System pump sample flow path:

Injection valve with capillary loop: Loop cleaning volume: 10.00 ml
Number of loops: 1

Fraction collector
 Second fraction collector

Estimated solution volume used in this phase: 166 ml

Incubation time: 0.00 min

※ カラムの保護の観点から、カラムポジションを選択しないで下さい。カラムポジションを選択した場合、カラムに対しても、本フェーズで設定した流速で送液されます。またこの間、耐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、バイパスチューピングを接続してから、洗浄します。

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

11、File ↓ Save（または Save As）を選択し、任意の名前をつけて保存します。

12、洗浄用メソッドで設定したインレットチューピングを超純水に接続します。

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

14、実行するファイルを選択します。

15、File ↓ Run を選択します。

16、Start protocol 画面が表示されます。

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

17、最後のウィンドウまで進めると Finish ボタンがアクティブになります。Finish ボタンをクリックします。

以降の手順は 8.4 メソッド実行をご参照ください。

10.2、システムの終了

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

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

2、Windows を終了します（コンピューターの電源が切れます）。

3、ディスプレイ、プリンターなどの主電源を切ります。

4、本体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。

注意、低温環境下で使用の場合は、本体の電源を入れたままにします。



11. メンテナンス

11.1. システムの保存

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

注意

システムは、バッファーが入ったままで放置しないでください。

11.2. リンス液の交換

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

注意

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

2、交換した時は、ポンプ稼働時に、リンス液が循環していることを確認します。

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

11.3. オンラインフィルター

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

11.4. インレットフィルター

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

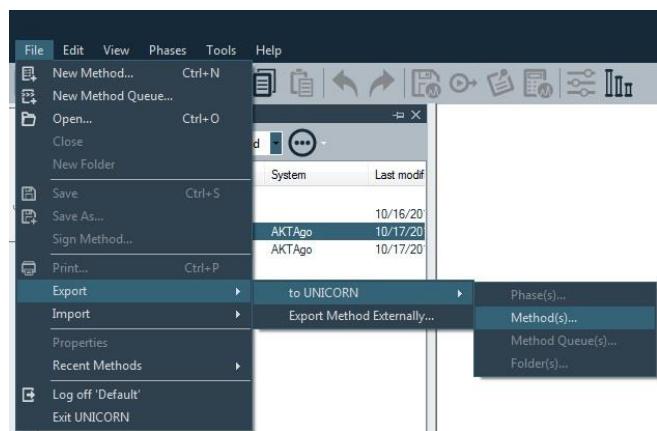
12、データ管理

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ご利用いただけます。

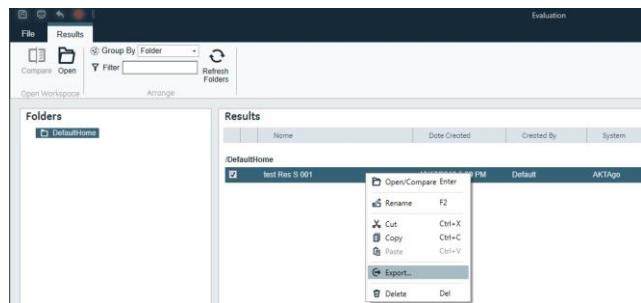
«メソッドファイル»

- 1、**Method editor** より **File** ↓ **Open** を選択し、**Method Navigator** を展開します。
- 2、該当するファイルを選択します。
- 3、**File** ↓ **Export** → **to UNICORN** → **Export Method to UNICORN** を選択します。
- 4、保存先を指定します。必要に応じてファイル名を変更し、**OK** ボタンをクリックします。



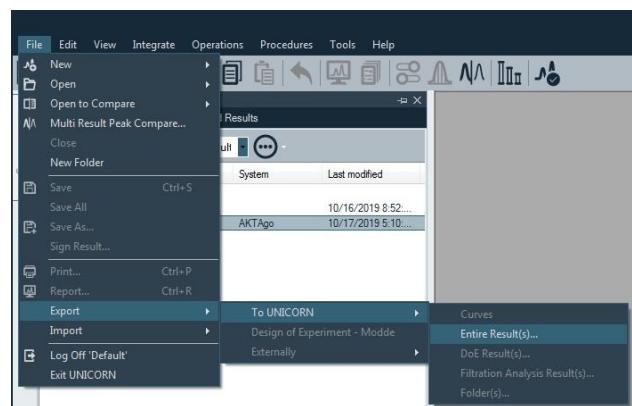
«リザルトファイル：UNICORN 7 Evaluation»

- 1、**Evaluation** より **Results** タブをクリックします。
- 2、該当するファイルを選択します。
- 3、右クリックします。
- 4、**Export** を選択します。
- 5、保存先を指定します。必要に応じてファイル名を変更します。
- 6、**Save** ボタンをクリックします。



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

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



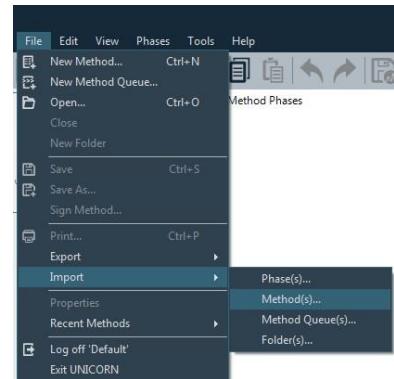
12.2、メソッド/リザルトファイルの復元

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

※ 本項目で UNICORN 5 形式について記載していますが、全てのファイルについて動作を保証するわけではありません。特にメソッドファイルは UNICORN 5 および UNICORN 6/7 の両方で動作する ÄKTA pilot、ÄKTA process、ÄKTA explorer、ÄKTA purifier、ÄKTA ready、ÄKTA crossflow、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。



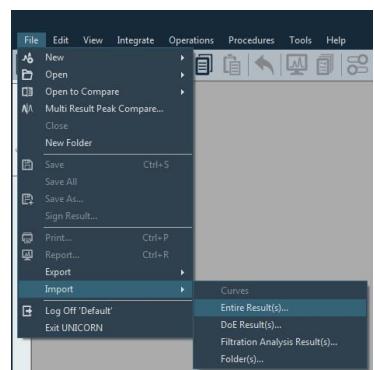
«リザルトファイル：UNICORN 7 Evaluation»

- 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。



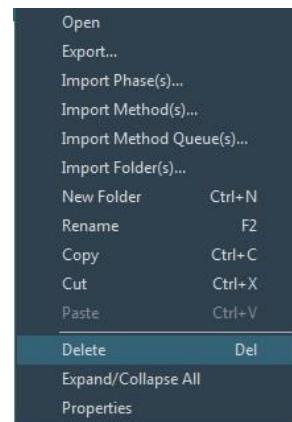
12.3 ファイルの削除

«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。

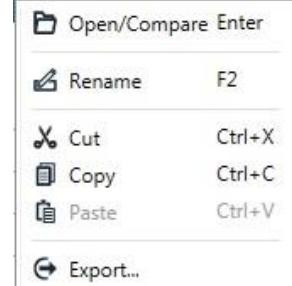


«リザルトファイル：UNICORN 7 Evaluation»

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。

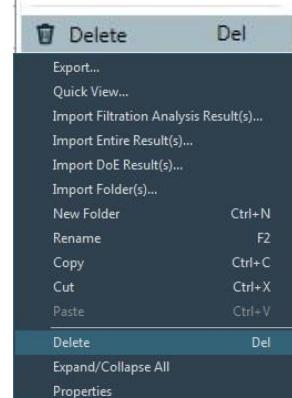


«リザルトファイル：UNICORN 6 および UNICORN 7 Evaluation Classic»

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。



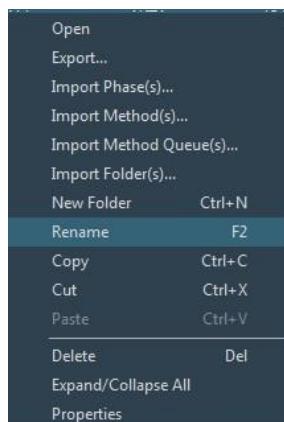
12.4、ファイル名の変更

«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。

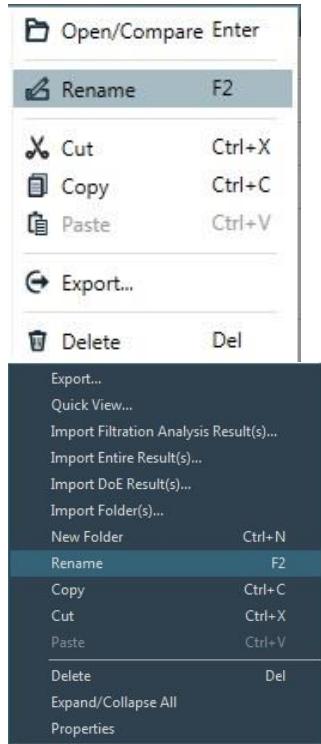
2、該当するファイルを選択し、**右クリック**します。メニューより **Rename** を選択します。

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»

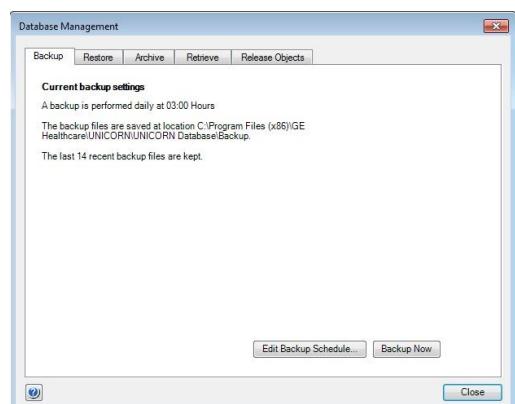
- 1、Evaluation (Classic) より File ↓ Open → Result Navigator を選択します。
- 2、該当するファイルを選択し、右クリックします。メニューより Rename を選択します。
- 3、ファイル名を入力後、Enter キーで確定します。

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。なお、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。

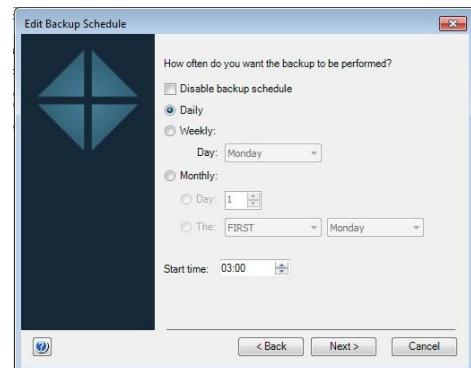
12.5.1、手動でバックアップを実施する場合

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



12.5.2、自動バックアップスケジュールを変更する場合

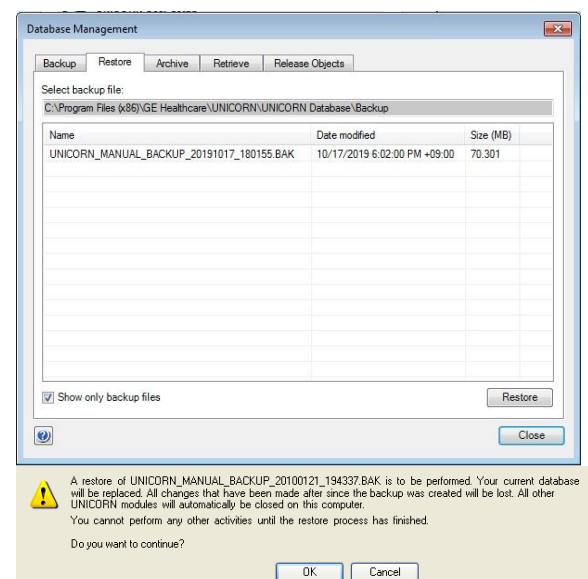
- 1、Administration より Database Management をクリックします。
- 2、Backup タブをクリックし、Edit Backup Schedule ボタンをクリックします。
- 3、Edit Backup Schedule のウィザード画面が表示されます。Next ボタンをクリックします。
- 4、バックアップファイル生成の頻度および開始時間設定し、Next ボタンをクリックします。
- 5、スケジュールバックアップファイルの最大保存数を確認します（初期設定では 14 ファイル）。
- 6、Next ボタンをクリックし、設定内容を確認します。Finish 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



12.6、データベースの復元

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

- 1、Administration より Database Management をクリックします。
- 2、Restore タブをクリックし、復元したいファイルを選択します。
- 3、右下の Restore ボタンをクリックします。
- 4、現在のデータベースをバックアップするかどうかの確認画面が表示されます。現在のデータベースをバックアップする場合は Yes ボタンをクリックします（手順は 12.5 をご参照ください）。既にバックアップが終了している場合は No ボタンをクリックします（以下は No を選択した時の手順です）。
- 5、選択したファイルを復元するかどうかの最終確認画面が表示されます。OK ボタンをクリックします。作業時間はデータベースの大きさや、コンピューターの稼働状況に依存します。



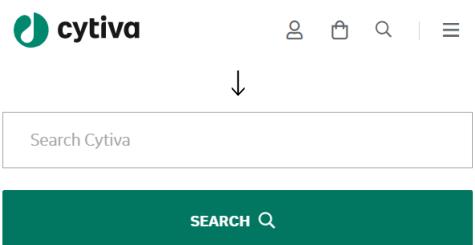
- 6、Restore successful 画面が表示されたら OK ボタンをクリックします。

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、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、試験管ポジションのリセット（メソッド）
- 13.10、ループバルブのポジション設定（メソッド）

13.1、英文マニュアルのダウンロード

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



アクセス先 www.cytiva.com

画面左上の検索バーに数字を入力します

	Administration and Technical Manual	Method Manual	System Control Manual	Evaluation Manual	OPC Manual
UNICORN 7.6	29503103	29503105	29503108	29503107	29503109
UNICORN 7.7	29659145		29659149	29659147	

System Handbook : 29-020655 (公開終了、User Manual に名称変更)

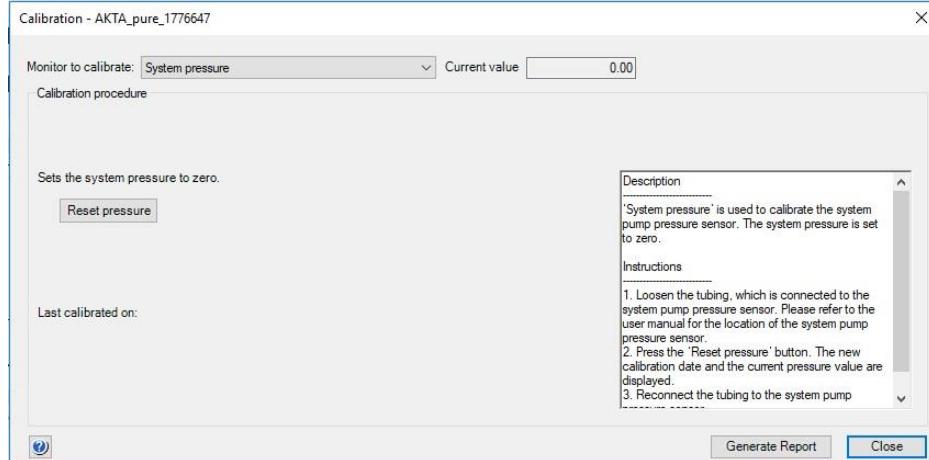
User Manual : 29119969

Operating Instructions : 29022997

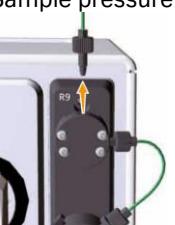
13.2. 圧力センサーのキャリブレーション

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

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



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

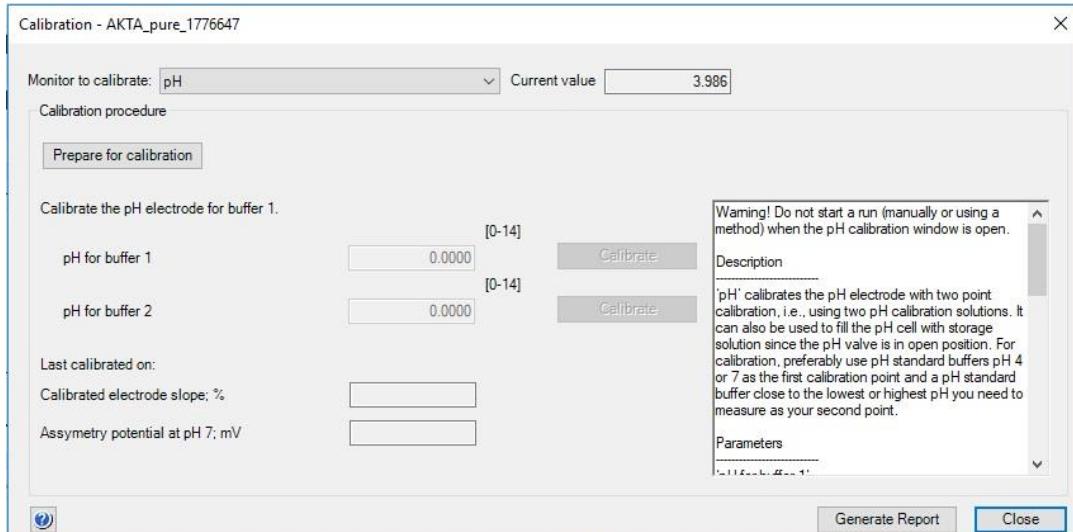
13.3. pH 電極のキャリブレーション

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

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

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



3、ダミー電極を取り外し、pH 電極を pH バルブのフローセルに接続します。

4、Monitor to calibrate から pH を選択し、Prepare for calibration ボタンをクリックします。

5、pH for buffer 1 に最初の校正液の pH を入力します。

6、10 ml シリンジに校正液を満たし、pH バルブの Cal ポートに接続されるルアーコネクターと接続し、ゆっくりと校正液を注入します。

7、Current value の値が安定したら、上段の Calibrate ボタンをクリックします。電極の状態や温度により、値が安定するまで時間がかかることがあります。

8、シリンジを取り外し、10 ml の超純水を満たしたシリンジを再度 pH バルブの Cal ポートに接続し、洗浄します。

9、pH for buffer 2 に 2 番目の校正液の pH を入力します。

10、10 ml シリンジに校正液を満たし、pH バルブの Cal ポートに接続し、ゆっくりと校正液を注入します。

11、Current value の値が安定したら、下段の Calibrate ボタンをクリックします。

12、Close ボタンをクリックします。

13、シリンジを取り外します。



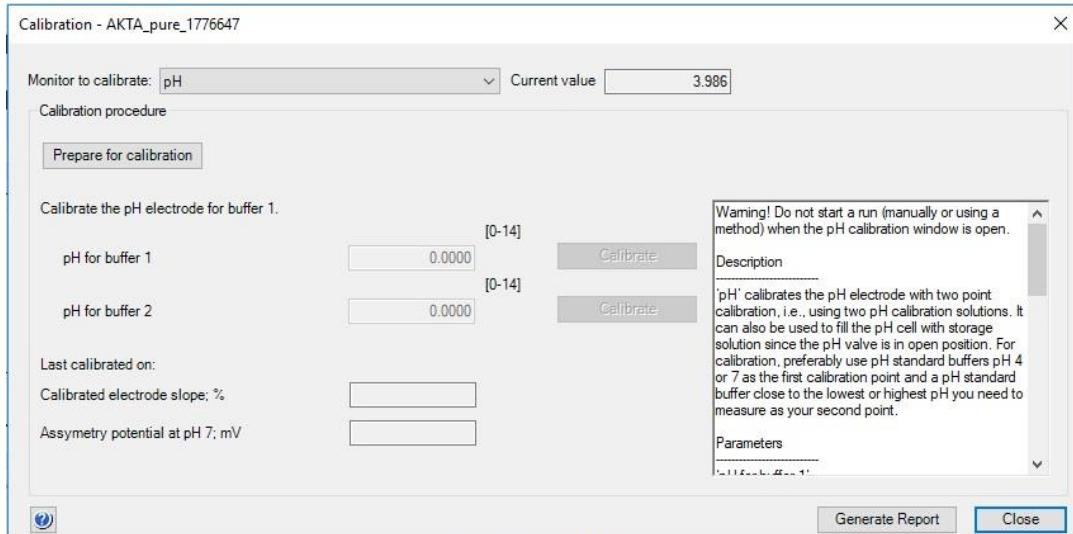
※ 推奨の pH 電極保護液（保存液）は、1 M 硝酸カリウムと pH 4 の溶液を等量混合した溶液です。

※ pH 電極の耐圧は 0.5 MPa です。カラムバルブ V9-C / V9H-C が設置されている場合、Post column pressure の値が 0.5 MPa を越すとシステムは自動的にポーズします。pH バルブインレットのコネクターを緩めるなどして、圧力を開放してから Continue ボタンをクリックします。

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。

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



2、Monitor to calibrate から pH を選択し、Prepare for calibration ボタンをクリックします。

3、10 ml シリンジに超純水を満たし、pH バルブの Cal ポートに接続されるルアーコネクターと接続し、ゆっくりと超純水を注入します。

4、シリンジを取り外し、保護液（保存液）を満たしたシリンジを再度 pH バルブの Cal ポートに接続し、ゆっくりと保存液を注入します。

5、Close ボタンをクリックします。

6、シリンジを取り外します。

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

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

13.5、フラクションコレクター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 の **Manual Instructions** ダイアログより

Fraction collection → Frac cleaning position → Execute

2、ディスペンサーへッドがクリーニングポジションへ移動し、システムはポーズ状態になります。

3、ディスペンサーへッドカバー（3）を取り外します。

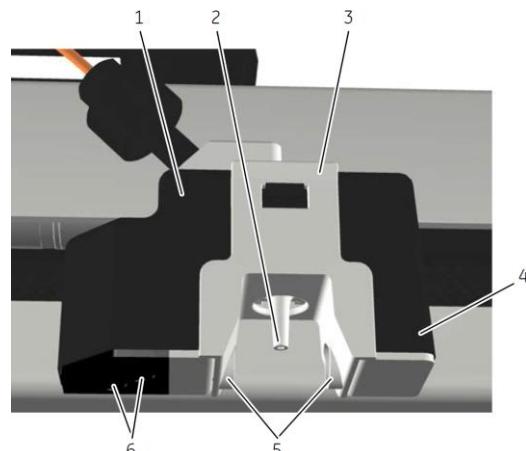
4、ディスペンサーへッドのセンサー部分（5 および 6）や、ノズル（2）の先端を、超純水もしくは 20%エタノールを含む不織布などで汚れを拭き取ります。

5、拭いた部分を乾燥させてから、ディスペンサーへ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。



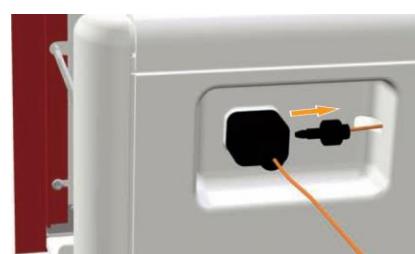
13.6、フラクションコレクターF9-C 配管の交換

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）。

F9-C 内部のチュービング交換は以下の手順で行います。

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、ディスペンサーへッドに接続されるチュービングコネクターを取りはずし、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。

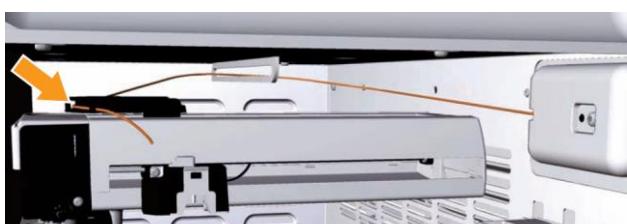
4、同じ長さのチュービングを用意します。Tubing kit for F9-C (29-0336-32 : 非売品) に予備のチュービングがある場合は、そちらを使用します。



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て、コネクターブロックおよびディスペンサーへッドに接続します。



13.7. コンフィグレーションファイルのアップデート

コンフィグレーションファイルには、コマンド、各種設定などのシステム情報が含まれ、不定期的に更新されます。ここではファイルのダウンロード方法および、インストール方法を記載します。なお、手順はご使用の環境（コンピューター、OS、ブラウザ、UNICORN などの種類、バージョン、設定）によって変わることがあります。なお、最新のコンフィグレーションファイル（ÄKTA pure 25 : 1.8 以降、ÄKTA pure 150 : 1.6 以降）は、UNICORN 7.2 以降で有効です（UNICORN 6.3.1 以前、または Windows XP には対応していません）。

OS	Windows XP	Windows 7	Windows 10
UNICORN	6.3.0 または 6.3.1	6.3.2	6.3.0 または 6.3.1
ÄKTA pure 25	1.3 まで対応	1.5 まで対応	1.3 まで対応
ÄKTA pure 150	UNICORN 非対応	1.3 まで対応	UNICORN 非対応

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、インターナショナルサイト（www.cytiva.com）へアクセスします。

www.cytiva.com/aktapure

www.cytilifesciences.com/ja/jp/shop/chromatography/chromatography-systems/akta-pure-p-05844

リンク切れでアクセスできない場合には、「ÄKTA pure」でサイト内検索をします。

2、Related Documents タブをクリックします。

3、カテゴリー「Software」内にある「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 ファイルをご覧下さい。

5、機種名が記載される zip ファイルを UNICORN がインストールされているコンピューター（デスクトップなど）へコピーします。

13.7.2. 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。

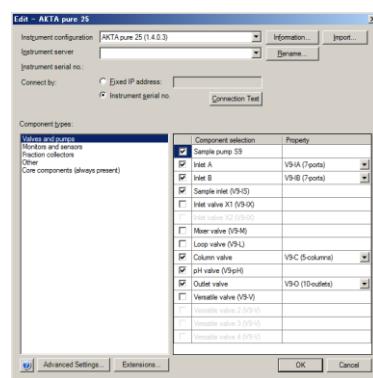
13.7.2.1、システム構成

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



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

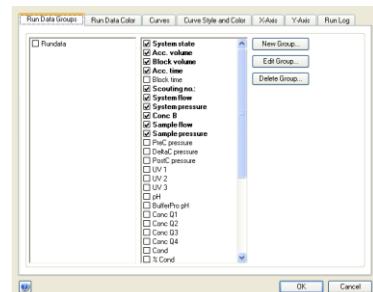
3、画面左の **Component types** を上から順にクリックし、それぞれ右側に表示されるコンポーネントのチェック有無および種類をメモします。



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 をご使用の場合、ランプ照射設定に関して、1 章をご覧ください。

2、ディレイボリューム設定に関して、6 章をご覧ください。

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

3、右上の **Import** ボタンをクリックします。

4、コピーした圧縮ファイルを選択し、**Open** ボタンをクリックします。

5、新しいコンフィグレーションのインストールが終了したら、プルダウンリストより最新のコンフィグレーションファイルを選択します。

6、「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。

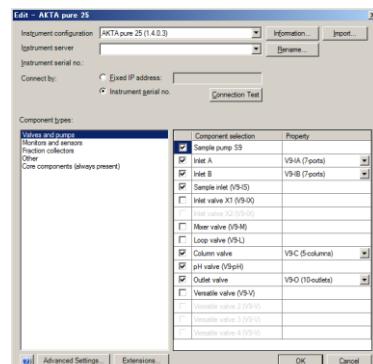
8、UNICORN を再起動します。

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。



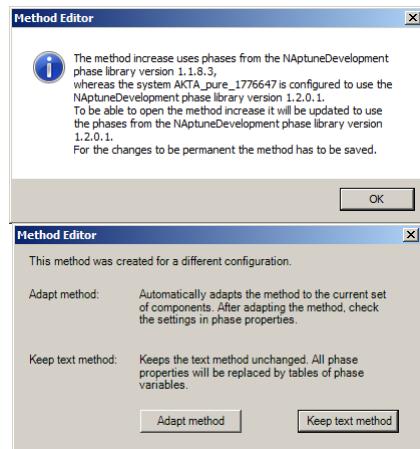
13.7.4、システムコントロールの設定

「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。この情報はお使いの UNICORN が作成された時点のものため、その後に提供開始した製品情報を含みません。新たな情報を追加するためには、操作者自身で情報を追加する以外に、弊社本国サイトにて提供される更新ファイルを使い、定義ファイルを更新することができます。ここでは、ファイルのダウンロード方法および、インストール方法を記載します。

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

新規にカラム情報を登録するなど、カラムハンドリングの詳細を確認されたい場合は、「Method Manual」の「Handling column types (8.2 章または 9.2 章)」をご参照ください。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。

1、下記 URL をブラウザで開きます。

<http://www.cytiva.com/aktapure>

リンク切れでアクセスできない場合には、AKTA pure でサイト内検索をします。

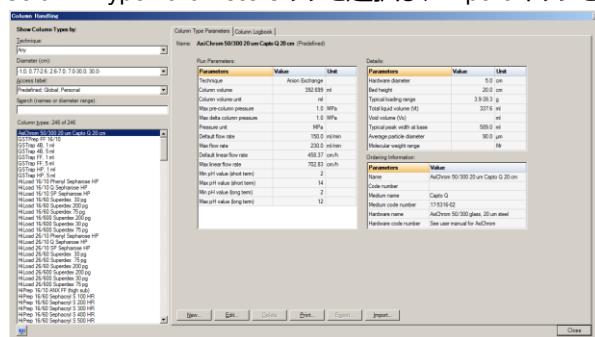
2、Related Documents タブをクリックします。

3、カテゴリー「Software」内にある「Column List for UNICORN 6.1 and later versions」をクリックし、zip ファイルをダウンロードします。

4、ダウンロードしたファイルを UNICORN 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、試験管ポジションのリセット（メソッド）

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

※ メソッド実行時に、F9-C が認識する試験管ポジションをリセットする方法です。エンド状態で F9-C の扉を開けた場合、カセ

ット情報読み込みおよび情報リセットのためのスキャンをしますが、直前に実行したラン中に試験管を取り出し、次のランで初期ポジション（該当するカセット、試験管の中で、番号が一番小さい場所）から分取を開始したい場合に効果的です。

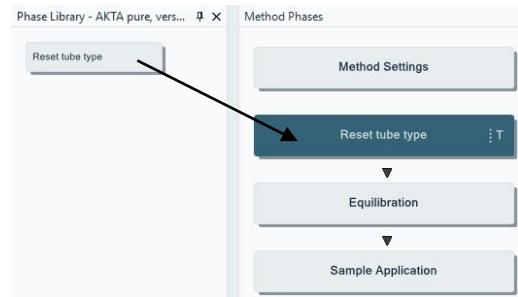
1、7章の手順に従い、メソッドを作成します。

2、画面左下の **Global Phase** をクリックします。

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 Phase** に該当するフェーズが登録されていない場合は、「新規フェーズの作成・保存」に記載される手順を参考にフェーズを作成します。

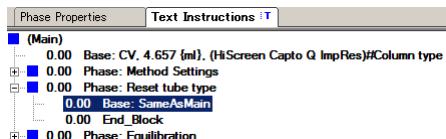
4、メソッドを保存します。



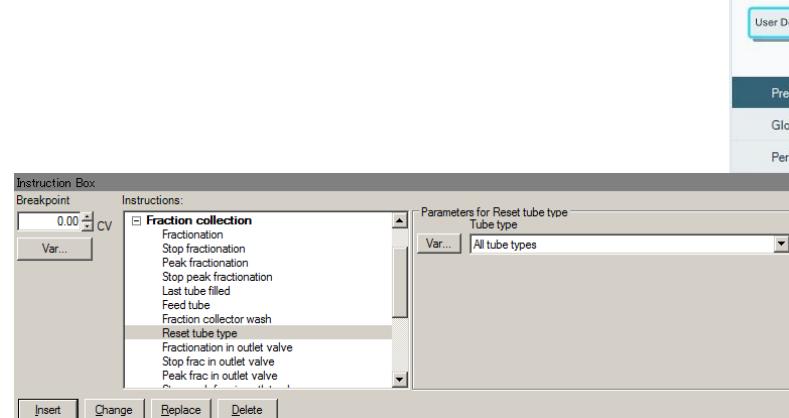
<新規フェーズの作成・保存>

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

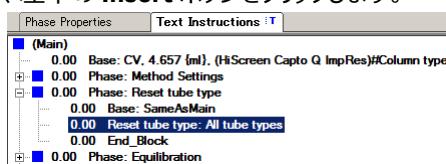
- 1、7章の手順に従い、メソッドを作成します。
- 2、フェーズライブラリー中の「User defined」を「Method settings」の下にドラッグします。
- 3、フェーズの名前を「Reset tube type」とします。
- 4、Reset tube type フェーズを選択し、Text instructions タブをクリックします。



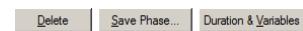
- 5、Base SameAsMain の行を選択し、画面下の Instruction box の Instructions より、Fraction collection → All tube types を選択します。



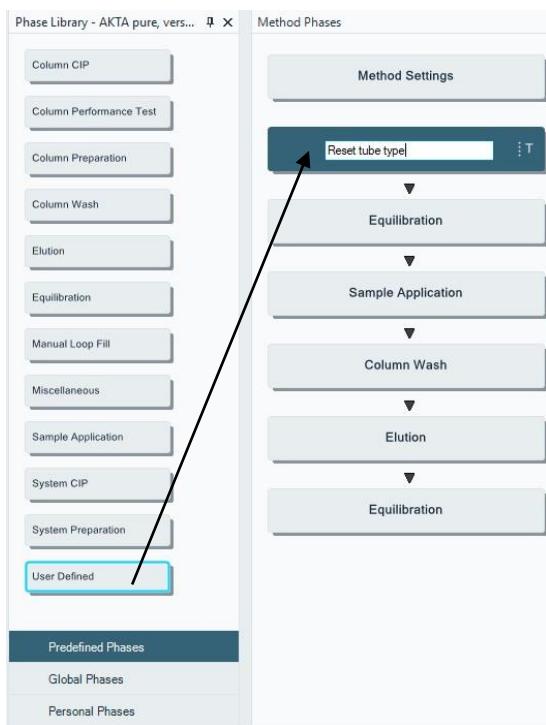
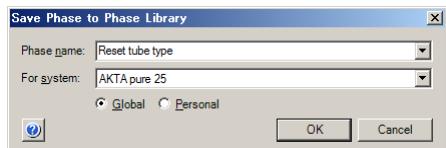
- 6、左下の Insert ボタンをクリックします。



- 7、画面下にある、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。

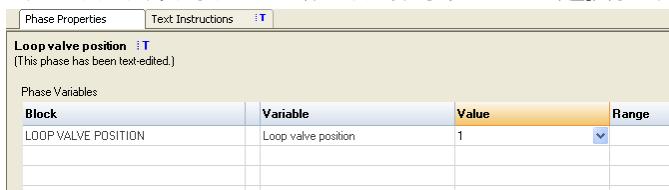


13.10、ループバルブのポジション設定（メソッド）

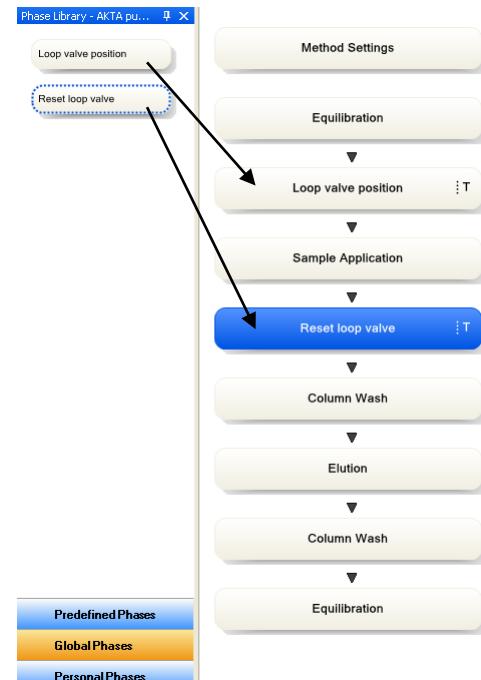
※ ループバルブはオプションです。また本手順はカラムバルブが接続されていない場合のみ適応します。

<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ロップで挿入します。
※ **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。



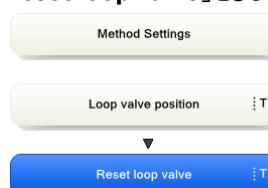
5、メソッドを保存します。



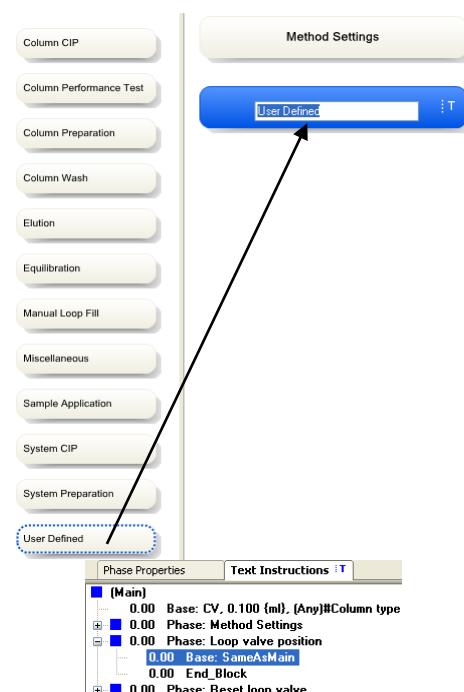
<新規フェーズの作成・保存>

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**」の下にドロップします。
- 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**」の下にドロップします。
- 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。

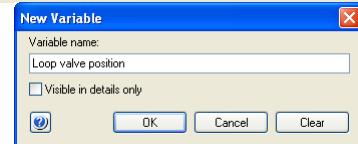


8、Base SameAsMain の行を選択し、画面下の Instruction box の Instructions より、Flow path → Loop valve を選択します。

9、Parameters より 1 を選択し、左下の Insert ボタンをクリックします。

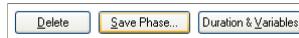


10、Parameter にある「Var」ボタンをクリックし、表示された画面で「Loop valve position」と入力し、OK ボタンをクリックします。



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。



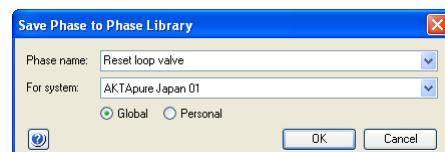
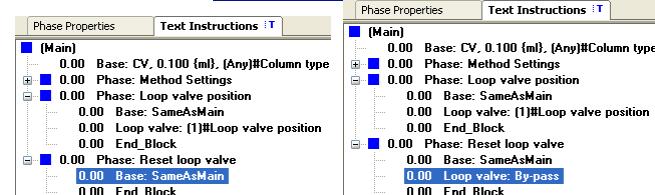
14、同様に、Reset loop valve フェーズを選択します。

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様よりいただいた情報は、お客様への回答、弊社サービスの向上、弊社からのご連絡のために利用させていただく場合があります。

www.cytivalifesciences.co.jp

論文に掲載いただく際の名称・所在地
Cytiva
Tokyo, Japan

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

Cytiva (サイティバ)

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

東京都新宿区百人町3-25-1 サンケンビルヂング

お問合せ:バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336

e-mail : Tech-JP@cytiva.com

www.cytivalifesciences.co.jp



ISO 9001:2015

認証取得