

ÄKTA pure 25 ÄKTA pure 150 はじめてお使いの方へ (UNICORN 6.3~6.4、 UNICORN 7.0~7.3 向け)



1、ほしめに	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	
10、システムの終了	
11、メンテナンス	
12、データ管理	64
13、付録	69

Cytiva (サイティバ) グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社 バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336

e-mail: Tech-JP@cytiva.com

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。



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。

図記号の意味は次の通りです



い。

してはいけない「禁止」を示します。

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





必ず実行していただく「強制」を示します。



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。



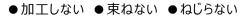
電源コードを途中で接続しない、タコ足配 線をしない

禁止

火災・感電・故障の原因になります。



電源コード・電源プラグを傷つけない





禁止 ●無理に曲げない

破損して火災・感電の原因になります。



修理・分解・改造はしない

火災・感電の原因になります。



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。



禁止

本体を水につけたり、水をかけたりしない

ショート・感電の原因になります。



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 セントの差し込みがゆるいときは使わない

禁止

感電・ショート・発火の原因になります。



異常時は、運転を停止して電源プラグを抜

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。



禁止

間)は、操作に関係のない部位には触れ ない

使用時や使用直後(運転停止後約60分

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。



注意

設置時は、次のような場所には置かない

●不安定な場所 ●湿気やほごりの多い場所 ●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



え口をかさくような場所 このような場所に置くと、ショートや発熱、電源コードの被膜が溶けるなどして、火災や感電、故障、変形の原因になることがあります。



ぬれた手で電源プラグを抜き差ししない

感電の原因になります。



水平で丈夫な場所に設置する



プラグを

持つ

電源プラグを持ってまっすぐ引き抜く

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



低温室で使用する場合の注意



電源を入れる

装置を低温環境下でご使用になる場合、 システム電源は常時入れておく

低温環境下で長時間システムの電源を落とした状態で放置すると、結露などにより故障の原因になります。ランプなどの消耗品はOFFにしておくと、劣化を防ぐことができます。



電源を 入れない

装置を低温室から常温の場所に移動させる場合、常温に設置後、装置内の結露が無くなるまでシステム電源を入れない(状況により異なるが、通常半日から一昼夜)

感電・漏電火災の原因になります。

掲載されている製品は、試験研究用以外には使用しないでください。

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

製品名に付記される番号の中には、製造上の管理でのみ適用される番号(単品で購入ができないものなど)や、製造終了品も含まれます。

掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

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

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

マニュアル類は、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

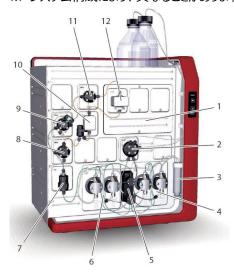
このマニュアルは、はじめて ÄKTA pure 25、ÄKTA pure 150 をお使いになる方への取り扱い説明のために書かれたものです。より詳しい使用方法は、機器付属の英文マニュアル、ヘルプメニュー、弊社ウェブ Q&A などをご参照ください。このマニュアルは補助用ツールで、英文マニュアルが正式版になります。なお、両機種に共通した説明は、ÄKTA pure と略して記載することがあります。

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。



- コントロールパネル
 - 1、電源、接続状況の表示ランプ
 - 2、コンティニューボタン
 - 3、ポーズボタン
 - 4、アラーム、エラーの表示ランプ

- 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)

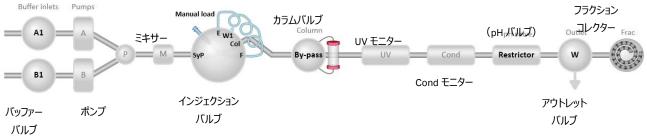


- 5、電源スイッチ
- 6、通気パネル

ÄKTA pure の流路図

П

※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	V9-IA + V9-IB	V9-IAB	V9-IA + V9-IB
	2本+2本	7本+7本	2本+2本	7本+7本
カラムバルブ	なし	V9-C	なし	V9-C
	(オプション)	5本	(オプション)	5本
UV モニター	U9-L	U9-L	U9-M	U9-M
	1 波長	1 波長	3 波長	3 波長
アウトレットバルブ	V9-Os	V9-O	V9-Os	V9-O
	1本	10本	1本	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	V9H-IA + V9H-IB	V9H-IAB	V9H-IA + V9H-IB
	2本+2本	7本+7本	2本+2本	7本+7本
カラムバルブ	なし	V9H-C	なし	V9H-C
	(オプション)	5本	(オプション)	5本
UV モニター	U9-L	U9-L	U9-M	U9-M
	1 波長	1 波長	3 波長	3 波長
アウトレットバルブ	V9H-Os	V9H-O	V9H-Os	V9H-O
	1本	10本	1本	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、プロセス図のバルブ右肩に○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)

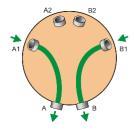
システムポンプの上流に位置する 2×2 ポートバルブ。

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。

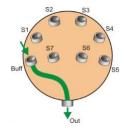
ポート名: Buffer、S1~S7 (サンプル用)

(初期ポジションは Buffer)

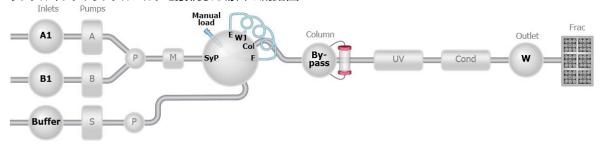
コネクター: 5/16" UNF

エアーセンサーが空気を検出した場合、プロセス図のバルブ右肩に○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

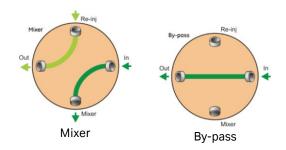
システムポンプによる大量サンプルの直接添加時に使用。

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
12 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。





オンラインフィルター

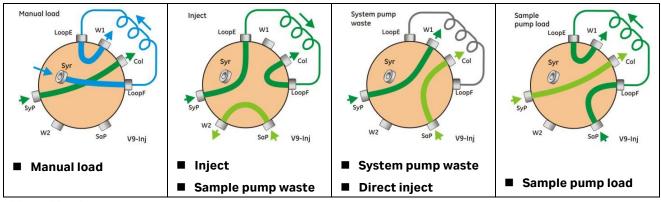
◆ インジェクションバルブ

☐ ÄKTA pure 25: V9-Inj

☐ ÄKTA pure 150 : V9H-Inj

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わります。

Direct inject

サンプルポンプから直接サンプルをカラムに添加するポジションです。

Sample pump load

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

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

◆ サンプルループ、スーパーループ

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

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



◆ ループバルブ (オプション)

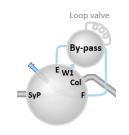
☐ ÄKTA pure 25: V9-L

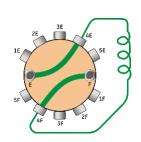
☐ ÄKTA pure 150: V9H-L

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ビングキット(16 cm×2 本)を使い、ポート E とポート F を接続。

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





◆ システム配管

以下は、標準配管です。

	☐ ÄKTA pure 25	☐ 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ビングを、内径 0.5 mm(オレンジ)もしくは内径 0.25 mm(青)に変更します。

◆ カラムバルブ (V9-C / V9H-C 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。

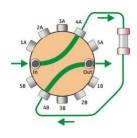
カラム入口およびカラム出口に圧力センサーを搭載。

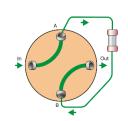
□ ÄKTA pure 25: V9-Cs(L1、M1: 29011355、オプション)

□ 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

・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。

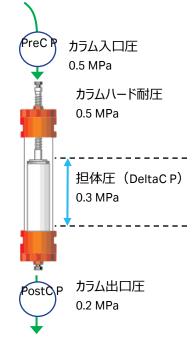
オプションで 5 mm セル (18112824) に交換可能。

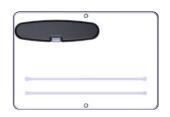
◆ コンダクティビティーモニター (C9:標準搭載)

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。

システムポンプ圧 0.6 MPa







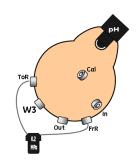


◆ pH バルブ (オプション)

☐ 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的に安定化し、さらに UV フローセルでの気泡発生によるノイズを防止するためにバックプレッシャーをかけるパーツで、平均 0.2 MPa (**) の圧を発生します。フローリストリクターによる背圧は、カラムに対してハードウェア(筒の部分)のみにかかり、カラムに充填された担体には負荷されません。システムを安定稼働させる上で重要なパーツのため、システムから外すことなく、常時インラインでご使用ください。



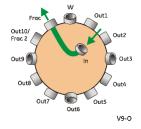
オプションの pH バルブが装着されている場合には、ハードウェア耐圧が 0.5 MPa 未満の空カラム (例: XK 50) を使用する時のみ、メソッド実行中はpHバルブのポジションを切換え、フローリストリクターはオフラインになります。マニュアルランでは、その都度 pH バルブの設定を変更(フローリストリクターをオフライン)します。

- ※ 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)。



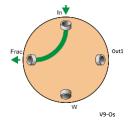
コネクター

•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

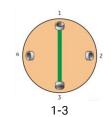
·V9H-Os: 10-32 UNF

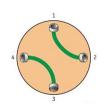
◆ 多用途バルブ(オプション)

4個のバルブまで接続できます。

☐ ÄKTA pure 25: V9-V

☐ ÄKTA pure 150: V9H-V



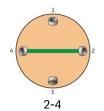


1-2 and 3-4

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)。





1-4 and 2-3

◆ フラクションコレクター

2 個まで接続できます(2 個目は F9-R のみ対応)。

□ F9-R (ラウンド型)

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)
- ・10~18 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)。

- ・深底プレート用力セット*1 (角穴の 24、48 または 96 穴用)
- ・試験管用カセット*2 (3 ml 用、5 ml 用、8 ml 用、15 ml 用、50 ml 用の 5 種類)
- ・試験管用トレイ*2 (50 ml 用)
- ・ボトル用トレイ*3、4 (250 ml 用)

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。



	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	
		Falcon 353966	
		Greiner 780270	
		Porvair 219009	
		Seahorse 201240-100(旧:S30009)	
48 穴	15 ml/min	Whatman 7701-5500	
		Seahorse 201238-100(旧:S30004)	
24 穴	25 ml/min	Whatman 7701-5102	
		Seahorse 201272-100(旧:S30024)	

いずれも角穴であること。丸穴や浅底プレートには対応していません。 プレートの詳細はメーカーへお問い合わせください。





*2 試験管サイズ

	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
 15 ml 試験管	50 ml/min	16 mm / 17 mm	114 mm / 120 mm	BD
50 ml 試験管	150 ml/min	28 mm / 30 mm	110 mm / 116 mm	BD

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

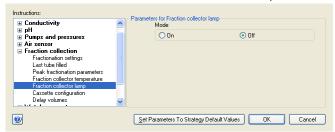
250 ml ボトル Nalgene Kautex

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可能です。

- 1、System Control より、System ↓ Settings をクリックし、System Settings ダイアログを表示します。
- 2、Fraction collection → Fraction collector lamp を選択します。



- 3、Mode から On、Off のいずれかを選択します。
- 4、OK ボタンをクリックします。

◆ 外部エアーセンサー

(L9-1.5 (28956500) または L9-1.2 (28956502): オプション) 最大 4 個まで接続可能。

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

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

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

※ フェーズによる標準のメソッドは、本機能をサポートしていません。システム 設定により、検出機能の on/off を設定します。



◆ 外部 I/O ボックス (E9:オプション)

多用途バルブ

i/o ボックス

外部エアーセンサー

外部装置への信号(波形など)の入出力を行うユニット。

アナログ信号:出力(±1 V)2種まで、および入力(±2V):2種まで

オプション

オプション

オプション

オプション

デジタル信号:出力:4種まで、および入力:4種まで



<u>.</u>				
標準	□ 無し	☐ V9-IAB	□ V9-IA	□ V9-IB
オプション/標準	□ 無し	☐ V9-Cs	□ V9-C	
標準	□ 無し	□ U9-L	□ U9-M	
オプション	□ 無し	□ V9-pH		
標準	□ 無し	☐ V9-Os	□ V9-O	
標準	□ 無し	☐ F9-R	☐ F9-C	
オプション	□ 無し	☐ P9-S		
オプション	□ 無し	□ V9-IS		
オプション	□ 無し	□ V9-M		
オプション	□ 無し	□ V9-L		
オプション	□ 無し	□ V9-V		
オプション	□ 無し	☐ L9-1.5		
オプション	□ 無し	☐ L9-1.2		
オプション	□ 無し	□ E9		
	□ 無l,	□ V9H-IAB	□ V9H-IA	□ V9H-IB
			□ V9H-O	
	標準 オプション 標準 標準 オプション オプション オプション オプション オプション オプション オプション	オプション/標準	オプション/標準	オプション/標準

□ 無し

□ 無し

□ 無し

□ 無し

□ V9H-V

☐ L9-1.5

☐ L9-1.2

□ E9

◆ ソフトウェアライセンス

□ UNICORN 6 (6.3 \sim 6.4.1)

Workstation	■ あり	
Remote *1	□ あり	□ 無し
Dry *1	□ あり	□ 無し
Column logbook *2	□ あり	□ 無し
DoE *2	□ あり	□ 無し

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

\square UNICORN 7 (7.0 \sim)

Workstation	■ あり	
Remote *1	□ あり	□ 無し
Dry *1	□ あり	□ 無し
Evaluation Classic *2, 3	□ あり	□ 無し
Column logbook *3	□ あり	□無し
DoE *3、4	□ あり	□ 無し
Standalone Evaluation *1	□ あり	□ 無し

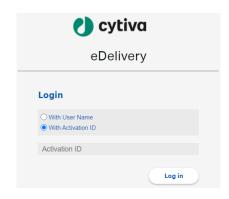
- 1) システム制御用コンピューターとは別のコンピューターヘインストールします。インストール時に使用する DVD は、製品に同梱される DVD を使用します。インストール手順は「Administration and Technical Manual」の 2.1 章「Installation overviews」をご参照下さい。英文マニュアルの入手方法は本書の付録に記載しています。
- 2) UNICORN 6の Evaluation モジュールと同等の機能です。UNICORN 7では Standalone Evaluation (UNICORN 7標準の Evaluation モジュール) 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

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

2、起動

2.1、システム本体と UNICORN の起動

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

1、ÄKTA pure 本体の右側面奥にある主電源を入れます。

注意

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



2、コンピューター、ディスプレイ、必要に応じプリンターの主電源を入れます。OS が起動後、デスクトップの UNICORN アイコンをダブルクリックして起動します。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。



3、Log On ダイアログが表示されたら User Name より Default を選択し、Password に default と入力し、OK ボタンをクリックします。Option ボタンをクリックすると、起動するモジュールを選択することが出来ます。

起動しなかったモジュールや閉じてしまったモジュールを追加で起動する場合は、 UNICORN アイコンをダブルクリックします。Log On ダイアログで、Option ボタンをク リックし、起動したいモジュールにチェックを入れ、OK ボタンをクリックします。

- ※ UNICORN 7.4 以降、パスワードセキュリティの向上により、Default ユーザーも 初回ログイン時にパスワード変更が要求され、変更後ログインします。
- ※ 各モジュールの Tools メニューからでも呼出可能です。
- ※ パスワードの入力の有無は、UNICORN Configuration manager にて設定を変更することが可能です。

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



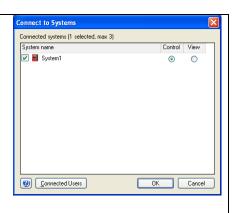
4、ポンプなどの各モジュールの初期動作など、必要な起動に 1 \sim 2 分かかります。これらが終了すると、UNICORN の System Control 画面には「Ready」と表示されます。

<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。



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)。

<ボタンが結合された画面: Windows 7 以降>



<ボタンが結合されていない画面:Windows XP 以降>



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。

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

3.2、リンス液のチェック

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



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

サンプルポンプ:50 ml 試験管を回転し、取り外します。



3.3、ポンプのパージ(エア抜き)

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

注意

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

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

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



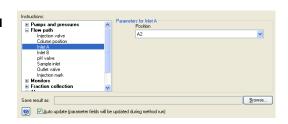


5、引き続き、B ポンプの 2 つのパージバルブについても 2~4 と同様の 操作を行います。

A2 および B2 のインレットについてパージを行う場合は、以下 6~9 の手順で行います。インレットバルブが V9-IA または V9-IB が設置され、A3~A7、B3~B7 にインレットを増設して使用する場合にも、インレットチュービングを超純水入りのボトルに接続し、インレット名を読み替えて、同様の手順で行います。

(System Control にて)

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



<サンプルポンプを使う場合>

サンプルインレットのパージを行う場合にも、インレットチュービング(S1 などのサンプル添加で使用するインレットと、サンプルバルブのバッファー(ポート名 Buffer)インレットのいずれも)を超純水入りのボトルに接続し、ポンプ名、インレット名を読み替えて、2~7 の手順に準じて行います(サンプルバルブ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(バッファーインレットをパージする際は、インレットの切り換え作業は不要です)。

Flow path → Sample inlet → (インレット名: S1~S7) → Execute インレットを切り換えてから 2~5 の手順に準じてパージします。

10、**End** ボタン (**!**) をクリックします。

3,4、ポンプ洗浄(Pump wash)

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 \rightarrow Pump A wash \rightarrow A1 \rightarrow Execute

Pumps \rightarrow Pump B wash \rightarrow B1 \rightarrow Execute

 $A2\sim A7$ および $B2\sim B7$ 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
$$\rightarrow$$
 Pump A wash \rightarrow A2 \rightarrow Execute

Pumps \rightarrow Pump B wash \rightarrow B2 \rightarrow Execute

く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
$$\rightarrow$$
 Sample pump wash \rightarrow Buffer \rightarrow Execute

Pumps \rightarrow Sample pump wash \rightarrow S1 \rightarrow Execute

※ サンプルバルブが設置されていない場合は

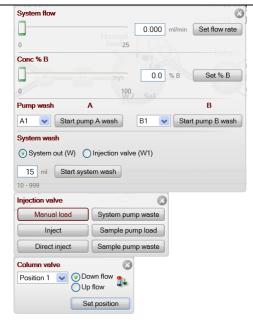
Pumps \rightarrow Sample pump wash \rightarrow on \rightarrow Execute

注意!

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

マニュアル操作の一部は System control 画面の下方にあるプロセス図より入力が可能です。

- 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。
- ※ プロセス図よりコマンド入力が可能なコンポーネント
- ・バッファーバルブ、サンプルバルブ(オプション)
- ・システムポンプ、サンプルポンプ(オプション)
- ・ミキサーバルブ(オプション)
- ・インジェクションバルブ
- ・ループバルブ(オプション)
- ・カラムバルブ (機種によりオプション)
- ・UV フローセル (オートゼロ)
- ・pH バルブ(オプション)
- ・アウトレットバルブ
- ※ エアーセンサー内蔵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、プロセス図のバルブ右肩に○印が表示されます。



3.5、圧力安定性のチェック

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

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
$$\rightarrow$$
 System Flow \rightarrow 5 ml/min \rightarrow Execute

PreC Pressure の値を確認します。



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 ightarrow Inlet B ightarrow B2 ightarrow Execute
- 5、A ポンプ(A2) : Pumps ightarrow Gradient ightarrow 0%B ightarrow 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
$$ightarrow$$
 Injection valve $ightarrow$ Direct inject $ightarrow$ Execute Pumps $ightarrow$ Sample Flow $ightarrow$ 5 ml/min $ightarrow$ Execute

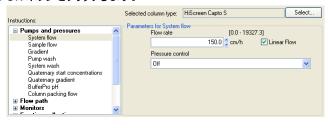
PreC Pressure の値を確認します。

- 8、サンプルポンプ(S1):Flow path o Sample inlet o S1 o 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パージをもう一度行います。

マニュアル操作時に線流速(cm/h)で送液する場合は、

- 1、Manual instructions ダイアログ上部にある Select column type の Select ボタンをクリックします。
- 2、Select column type ダイアログより使用するカラムを選択し、OK ボタンをクリックします。
- 3、注意メッセージが表示される場合は OK ボタンをクリックします。
- 4、Pumps → 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÷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 (18385801)、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

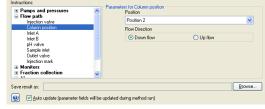
カラムバルブの有無およびバルブの種類により、接続方法が異なります。

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 ightarrow Column Position ightarrow Position 1 ightarrow Execute



4、カラムの破損を防ぐために、システムの耐圧設定をします。Manual Instructions ダイアログより

< 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さない)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 \rightarrow System Flow \rightarrow 0.2 \sim 0.5 ml /min \rightarrow 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 ボタンを押すと、送液を中断することが出来ます。中断した送液は Continue ボタンを押すと再開します。

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

Manual Instructions ダイアログより



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

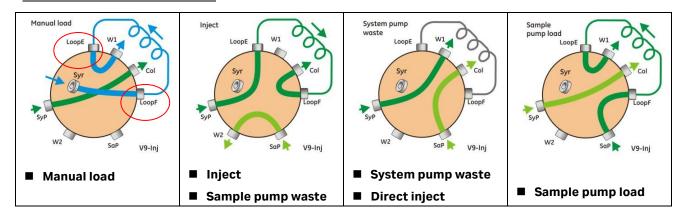
くサンプルポンプを用いる場合>

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。

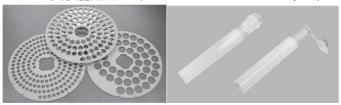
6、フラクションコレクター

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)
- ・10~18 mm 試験管用ラック(183050-03 または 19868902) (95 本)
- ・30 mm 試験管用ラック(18112467 または 18112468) (40 本)



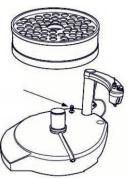
12 mm 試験管用ラックと Eppendorf tube holder for Tube Rack 175×12 mm(18852201)を使用すると、スクリューキャップ型の 1.5 ml マイクロチューブを使用できます。

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

6.1.2、ラックの取扱い

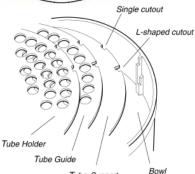
デリバリーアーム先端のチューブセンサーが試験管の位置を自動認識します。

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。



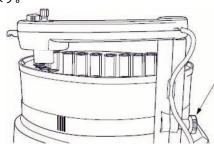


メソッドの途中で試験管が不足すると、自動的にポーズ状態になり、エラーが表示されます。必要な数の試験管を追加して、Continue ボタンをクリックします。

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。

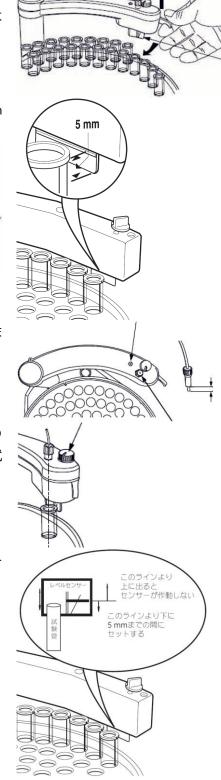
5、ロックノブを緩めて、試験管の上端がチューブセンサーの水平ラインより 5 mm 下になるようにアームの高さを調節します。



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

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

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



6.2、<F9-C 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、(GE ロゴ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 カセットトレイ出しに乗せます)。





- 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。

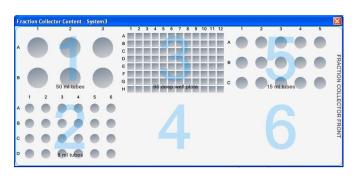




7、扉を閉めると、自動的にカセット場所の認識が開始します。図のように異なる種類のカセットを一度にセットすることも可能です。正しく認識されたかどうかは、以下の手順で確認します。

System control より

View \downarrow 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 μΙ	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 μΙ	100 μΙ
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 μ I + 48 μ I = 279 μ I アウトレットバルブまでのディレイボリューム:152 μ I + 48 μ I = 200 μ I

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 \to Delay volume: Monitor to outlet valve(または Monitor to frac)を選択します。



- 3、任意の値を入力します。
- 4、OK ボタンをクリックします。

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

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

UV フローセルより下流のチュービング(標準設定)

ポジション	長さ	内径(ÄKTA pure	内径(ÄKTA pure
		25)	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) ~ ディスペンサーヘッド	75 cm	0.5 mm	0.75 mm

pH バルブ増設した際の、pH バルブ周辺のチュービング

ポジション	長さ	内径(ÄKTA pure	内径(ÄKTA pure
		25)	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) \sim pH バルブ(FrR)	8 cm	0.5 mm	0.75 mm
pH バルブ(out) ~ アウトレットバルブ(in)	16 cm	0.5 mm	0.75 mm

(pH バルブ付属のチュービングキット使用時の設定)

7、メソッドの作成

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

7.1、新規メソッドの作成

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

7.2、クロマトグラフィー手法の選択

Predefined Method を選択し、手法を選択します。

Affinity chromatography (AC) アフィニティークロマトグラフィー Affinity chromatography (AC) アフィニティークロマトグラフィー with tag removal* (オンカラムでのタグ切断) * 陰イオン交換クロマトグラフィー

Anion exchange

chromatography (AIEX)

Cation exchange

chromatography (CIEX)

Chromatofocusing (CF)

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

Gel filtration (GF) ゲルろ過クロマトグラフィー

Hydrophobic interaction

chromatography (HIC)

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)

System CIP システム洗浄用

System Preparation システム準備用

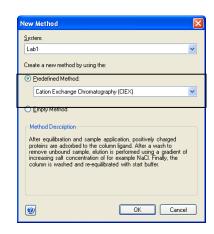
* メソッドの作成、ランの実行にはオプションのコンポーネントが必要です。選択できてもランの実行ができません。 OK ボタンをクリックします。

逆相クロマトグラフィー

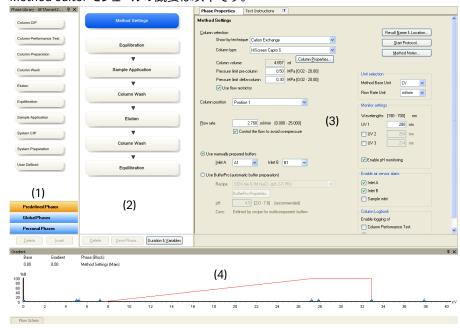
疎水性相互作用クロマトグラフィー

陽イオン交換クロマトグラフィー

クロマトフォーカシング



Method editor モジュールの概要は以下です。



(4) Gradient:メソッドのグラジエントを示します。

(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。

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

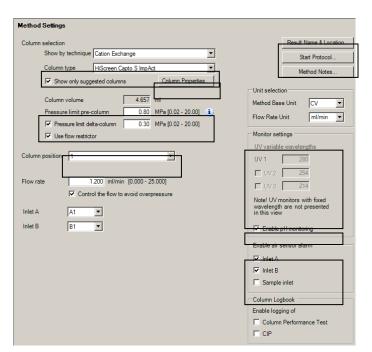
※ 本項目は Pressure limit delta-column が設定できない場合の注意です。設定可能な場合は、Column properties に記載される(自動入力される)値を用います。

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。

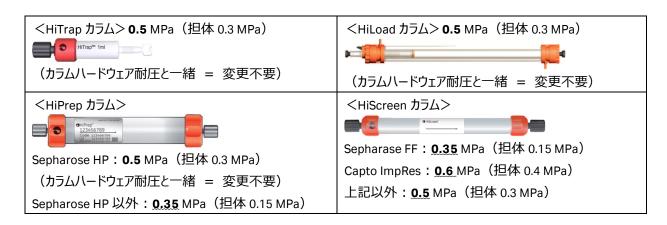
<注意が必要な主なカラム>

- ・**Tricorn カラム**(Superdex GL カラムや Superose GL カラム、Mono カラムなど)
- ・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。

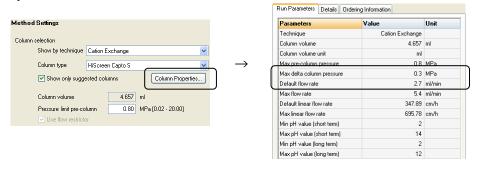
「**入力値**(以下表の太字)」=「Max delta column pressure」(担体耐圧) +「0.2 MPa」(フローリストリクターFR-902 発生圧)



※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。



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、保存先のフォルダーを指定します。
- 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。





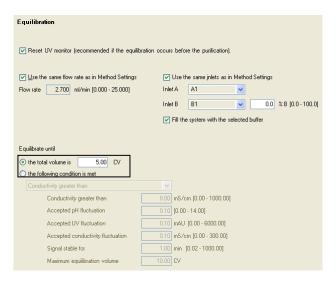
7.4、カラムの平衡化



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。



7.5、サンプル添加

7.5.1、サンプル添加方法の選択

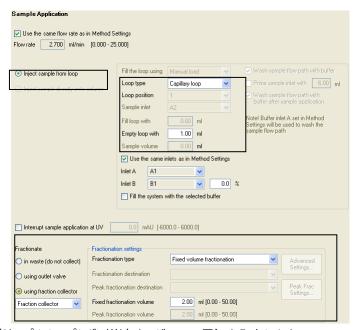


メソッド概要中の Sample Application フェーズをクリックしま す。

·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、Looptypeから使用するスーパーループのサイズを選択します(サンプル添加時のみ、システムポンプ圧がスーパーループ耐圧を越した場合に送液停止します)。



Empty loop with 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。

 $\cdot \textbf{Wash sample pump with buffer after sample application} : \\$

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

-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

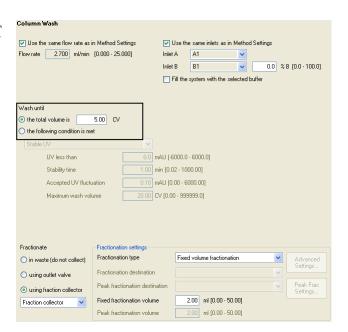


メソッド概要中の Column Wash フェーズ をクリックします。

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ーなど、吸着 系クロマトグラフィーで使用します。

グラジエントは以下より選択、設定します。

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

- Linear: リニアグラジエント

- Step:ステップ



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

Elution

·Target %B:目標とする%B

·Length:セグメントの溶出体積

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

※ 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。

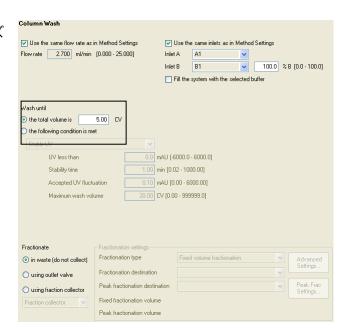
7.8、カラムの洗浄



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

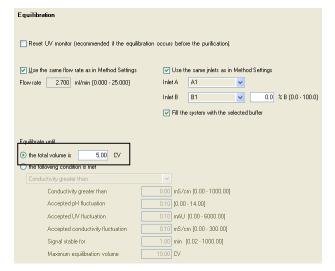


メソッド概要中の Equilibration フェーズをク リックします。

カラムの再平衡化を行う場合には、

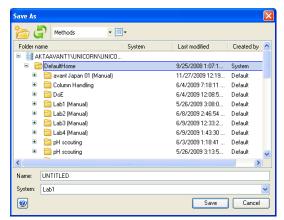
ズを削除します。

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



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 μm のフィルターでろ過します。イオン交換の場合には、サンプルの塩濃度、バッファーpH にも注意が必要です。必要に応じ、結合バッファーによる希釈や脱塩操作をします。

8.1.1、サンプルループへのマニュアルサンプル充填

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

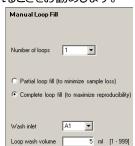
- 4、サンプルループ体積の3倍以上のバッファーでサンプルループ内を洗浄します。
- 5、サンプルループ体積より少し多めのサンプルをシリンジに満たしてポート Syr に挿し、ゆっくり充填します。以下 6 の作業を完了するまでシリンジは挿したままにします。
- 6. Flow path \rightarrow Loop valve \rightarrow By-pass \rightarrow Execute
- 7、手順1の作業を実行します。
- 8、ポジション 2~5 にもサンプルを充填する場合は、手順 3 で記載するポジションを、使用するポジションに読み替え(Flow path \rightarrow Loop valve \rightarrow Position 2~5 \rightarrow 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

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



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

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

<バイパスライン洗浄>

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

<ループへのサンプル充填。例:ループポジション1の場合>

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

<部分充填のみ、ループへのバッファー充填。例:ループポジション1の場合>

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

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、カセットのポジションを変更するとエラーメッセージが表示されますので、カセットの種類、ポジションは途中で変更しないよう、ご注意ください。

- ※ メソッドを実行する前のエンド状態で引き出しを開くことで、カセットの配置や分取位置に関する情報がリセットされます。
- ※ メソッド実行中で引き出しを開いても、カセットの配置や分取位置に関する情報は維持されたままです。
- ※ 深底プレート用カセットを設置する場合は、必ずプレートも設置します。プレートを設置しない場合、エラーが表示されます。

<メソッド途中でフラクションコレクター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: $A1\sim A6$, $B1\sim B6$, $C1\sim C6$, $D1\sim D6$

Serpentine-row: $A1\sim A6$, $B6\sim B1$, $C1\sim C6$, $D6\sim D1$

Column-by-column: $A1\sim D1$, $A2\sim D2$, $A3\sim D3$, $A4\sim D4$, $A5\sim D5$, $A6\sim D6$

Serpentine-column: $A1\sim D1$, $D2\sim A2$, $A3\sim D3$, $D4\sim A4$, $A5\sim D5$, $D6\sim A6$

A1	A2	А3	A4	A5	A6
B1	B2	В3	B4	B5	В6
C1	C2	C3	C4	C5	C6
D1	D2	D3	D4	D5	D6

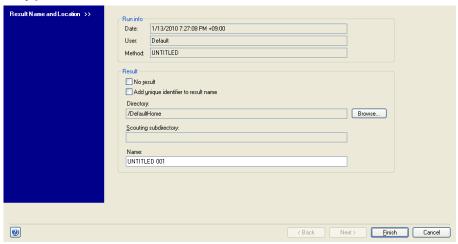
<アウトレットバルブで回収する場合>

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

8.3、メソッド実行

- 1、System Control より File ↓ Open を選択します (Method Navigator が開いている場合は不要です)。
- 2、実行するファイルを選択します。
- 3、File ↓ Run を選択します。
- 4、Start protocol 画面が表示されます。

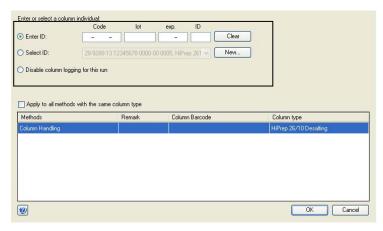
保存フォルダー、ファイル名を確認し、Start ボタンをクリックします。設定により Next ボタンがアクティブな場合は、Start ボタンがアクティブになるまで Next ボタンをクリックします。初期のファイル名はメソッド名の後に 3 桁の連番数字が付加されます。



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。

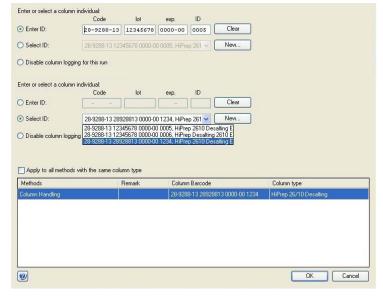




8、Enter ID にチェックを入れます。

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

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。

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。

メソッドの内容は Continue ボタンがクリックされるまで送液を維持したまま一時停止します。

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。

8.5.2、マニュアル命令

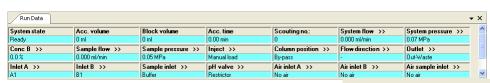
メソッド実行中にマニュアル操作で命令を追加したり、変更したりすることができます。

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。

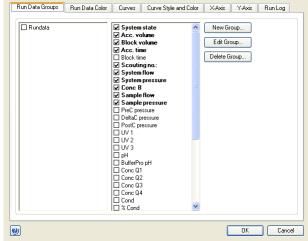
8.6、ウィンドウ表示

- 1、表示されたウィンドウで右クリックします。
- 2、メニューから Customize を選択し、Customize ウィンドウを表示します。

8.6.1、Run Data の選択

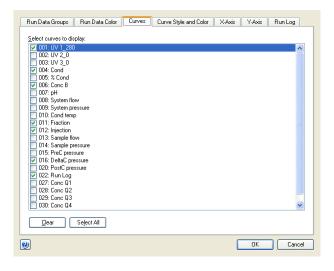


- 1、Run Data Groups タブをクリックします。
- 2、表示したい項目にチェックを入れます。表示を解除する場合は、チェックを外します。
- 3、OK ボタンをクリックすると変更が反映されます。



8.6.2、カーブの選択

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

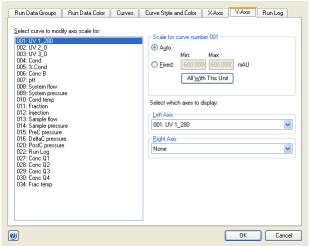


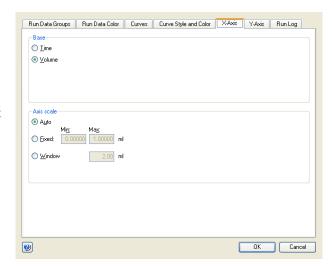
8.6.3、Y 軸の設定

- 1、Y-axis タブをクリックします。
- 2、軸の設定をしたいカーブをクリックし選択します。
- 3、選択したカーブのスケール表示を、Auto(オートフルスケール)または Fixed(固定軸表示)で表示できます。
- 4、3 つの UV カーブを同じスケールで表示したい場合は、AII 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。

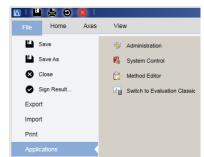
UNICORN 7 で Evaluation Classic ライセンスが導入されている場合、以下の手順で両者の表示モジュールを切り換えることが 出来ます。

<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。





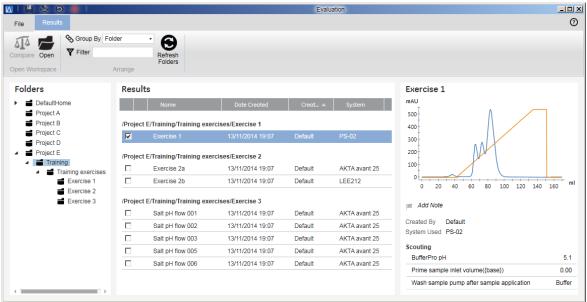
※ Evaluation Classic ライセンスの取得方法については、本書の1章をご参照下さい。

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。



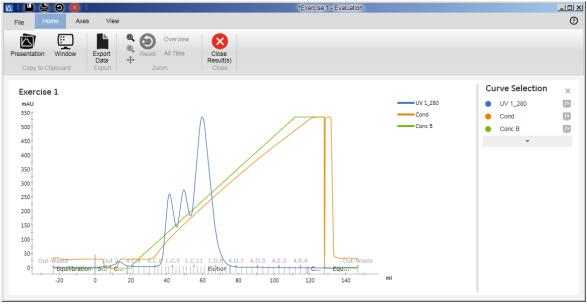
2、該当するファイルをダブルクリックします。

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。

<u>9.1.2.4、ズームアップ</u>

クロマトグラムの任意の範囲をズームアップできます。

1、Home タブをクリックします。

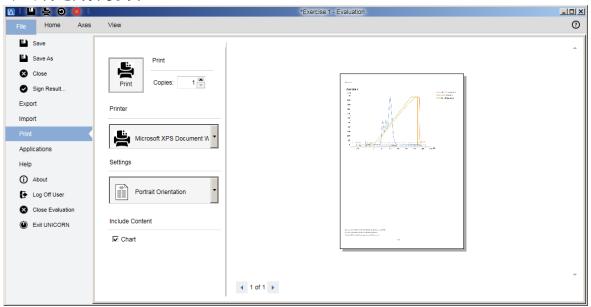


- 2、Zoom In ボタン(虫眼鏡の中が+)をクリックします。
- 3、ドラッグして、ズームアップしたい範囲を囲います。
- 4、1 回前の表示に戻す場合は Zoom Out ボタン(虫眼鏡の中が)をクリックします。 ズームアップを解除するには Reset ボタンをクリックします。

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

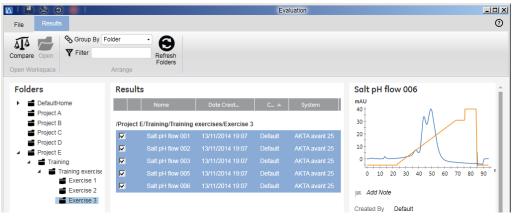
1、Home タブをクリックします。



2、Close Result(s)ボタンをクリックします。

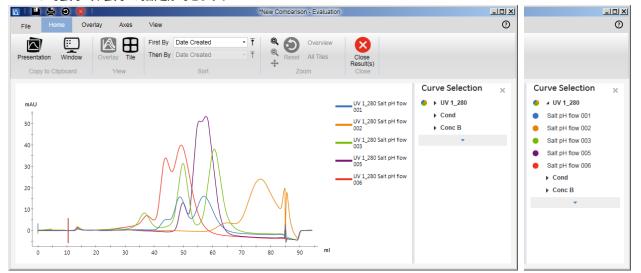
9.1.5、複数のクロマトグラムの表示

1、Evaluation の Results タブをクリックします。

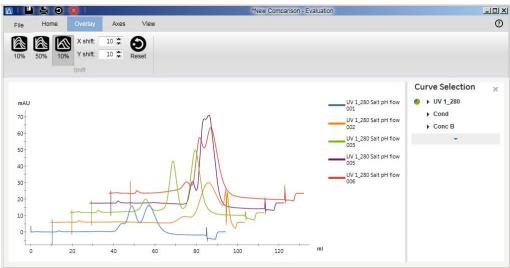


- 2、該当するファイルにチェックを入れます。
- 3、Compare ボタンをクリックします。

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

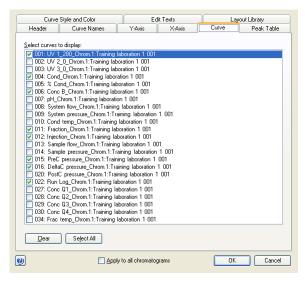
- 1、Evaluation より File ↓ Open → Result Navigator を選択します。
- 2、該当するファイルをダブルクリックします。

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。

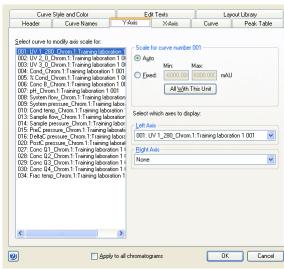
9.2.2.1、カーブの選択

- 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、AII 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。

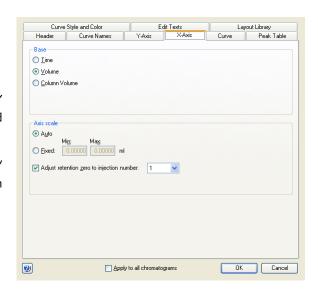


9.2.2.3、X 軸の設定

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

9.2.3、クロマトグラムの印刷

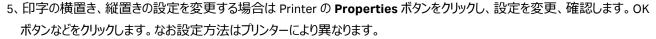
印刷する際は、プリンターに電源が入っていること、コンピューターとプリンターが USB ケーブルなどで接続されていることを確認します。また必要に応じ印刷終了後にプリンターの電源を切ることも可能です。

1、印刷したいクロマトグラムを表示します。

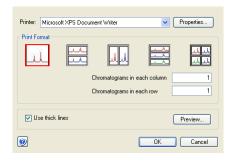
File ↓ Print を選択し、Print Chromatograms ダイアログを表示します。

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

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



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ビング(サンプルポンプを使用した場合は、サンプルインレットも含む)を超純水に接続します。
- 2、ポンプ内の溶液置換をします。Manual Instructions ダイアログより

Pumps o Pump A wash o (使用したインレット) o 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さない)を Alarm pre-column pressure の耐圧値として入力します。

4、カラムバルブが設置されている場合は、流路を切り換えます。

(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 ightarrow System Flow ightarrow 2 \sim 5 ml/min ightarrow Execute

Flow path \rightarrow Outlet Valve \rightarrow Frac \rightarrow 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 \rightarrow System Flow \rightarrow 2 \sim 5 ml/min \rightarrow Execute

Fraction collection \rightarrow Fraction collector wash \rightarrow 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 \rightarrow Outlet Valve \rightarrow (任意のポート) \rightarrow 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 $\, o$ Loop valve $\, o$ Position 1 $\, o$ 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 \rightarrow Loop valve \rightarrow Position 2~5 \rightarrow 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 \rightarrow Timer \rightarrow (パラメーターを設定) \rightarrow 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)。

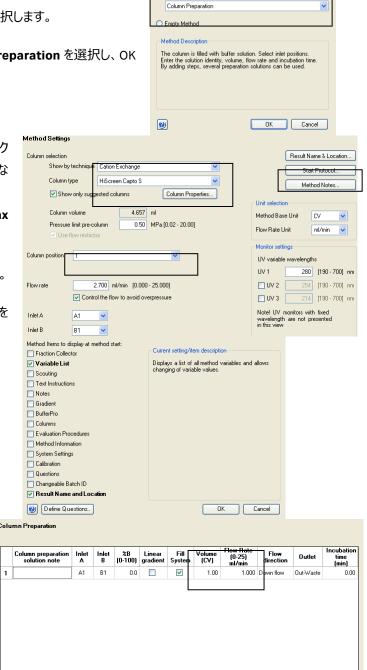
10.1.2、メソッド作成による洗浄

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 章をご参照ください。既にメソッドを作成済みの場合は項目 12 より実施します。
- 2、Method editor より File ↓ New Method を選択します。
- 3、Predefined Method にチェックを入れ、**Column Preparation** を選択し、OK ボタンをクリックします。
- 4、メソッド概要中の Method Settings フェーズをクリック 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 フェーズ 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。



System:

Lab1

Create a new method by using the

Predefined Method:

Add Step

Remove Step

Restore

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



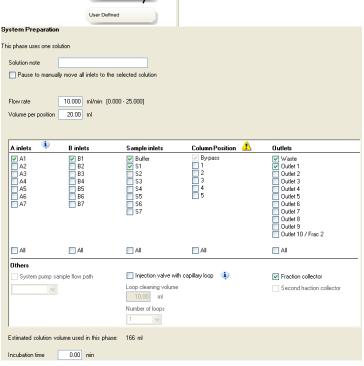
10、カラム以外の洗浄するライン(使用した)を選択します。

(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。



- ※ 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、バイパスチュービ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ビングを超純水に接続します。
- 13、System Control より File ↓ Open を選択します (Method Navigator が開いている場合は不要です)。
- 14、実行するファイルを選択します。
- 15、File ↓ Run を選択します。
- 16、Start protocol 画面が表示されます。

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

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

注意

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

- 2、交換した時は、ポンプ稼働時に、リンス液が循環していることを確認します。
- 3、循環していない場合は、シリンジを長さの短いリンス液チュービングに接続し、リンス液を吸引します。

11.3、オンラインフィルター

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

11.4、インレットフィルター

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

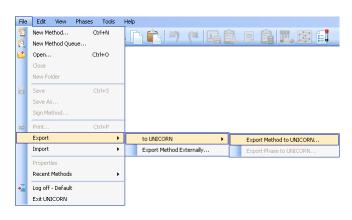
12、データ管理

12.1、メソッド/リザルトファイルのバックアップ

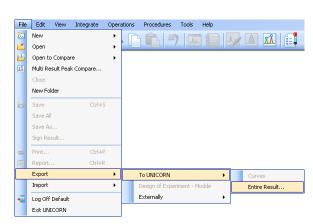
個別にファイルを保存してメールなどでやり取りをする場合に ご利用いただきます。

«メソッドファイル»

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







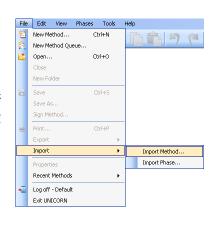
12.2、メソッド/リザルトファイルの復元

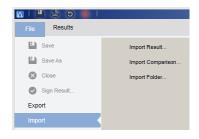
バックアップしたファイルを再度 UNICORN へ読み込む場合に使用します。

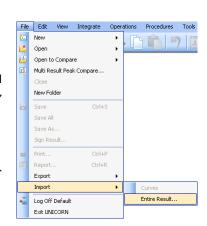
※ 本項目でUNICORN 5 形式について記載していますが、全てのファイルについて動作を保証するわけではありません。特にメソッドファイルは UNICORN 5 および UNICORN 6/7 の両方で動作する ÄKTApilot、ÄKTAprocess、ÄKTAexplorer、ÄKTApurifier、ÄKTA ready のみが対象です(ÄKTA pure は対象外です)。

«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

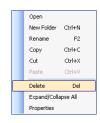
«メソッドファイル»

- 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。



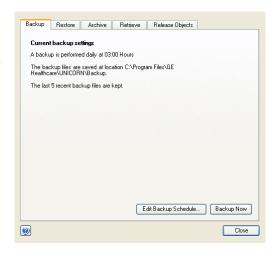


12.5、データベースのバックアップ

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出来ます。 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。

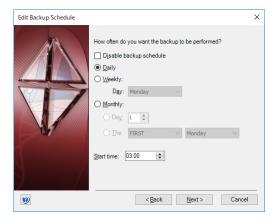
12.5.1、手動でバックアップを実施する場合

- 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を設定し、Next ボタンをクリックします。
- 5、スケジュールバックアップファイルの最大保存数を確認します(初期設定では 14 ファイル)。
- 6、Next ボタンをクリックし、設定内容を確認します。Finish ボタンをクリックします。

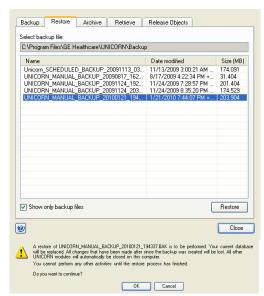


12.6、データベースの復元

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

- 1、Administration より Database Management をクリックします。
- 2、Restore タブをクリックし、復元したいファイルを選択します。
- 3、右下の Restore ボタンをクリックします。
- 4、現在のデータベースをバックアップするかどうかの確認画面が表示されます。現在のデータベースをバックアップする場合は Yes ボタンをクリックします(手順は 12.5 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。





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 6.3	29021815	29021812	29021813	29021814	
UNICORN 6.4	29065977	29065978	29065981	29065982	29065985
UNICORN 7.0	29110882	29110885	29110886	29110888	29110887
UNICORN 7.0.2	29191899	29191900	29191901	29191898	29191897
UNICORN 7.1	29209687				
UNICORN 7.2	29258291				
UNICORN 7.3	29301066	29263510		29263859	29300181
UNICORN 7.4	29369271	29375042	29380109	29379754	29380556
UNICORN 7.5	29448356	29452484	29459128	29459127	29449118
UNICORN 7.6	29503103	29503105	29503108	29503107	29503109
UNICORN 7.7	29659145	29659146	29659149	29659147	29659148

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

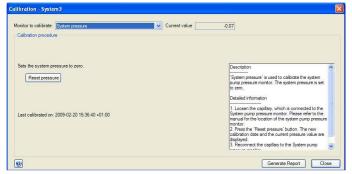
User Manual: 29119969

Operating Instructions: 29022997

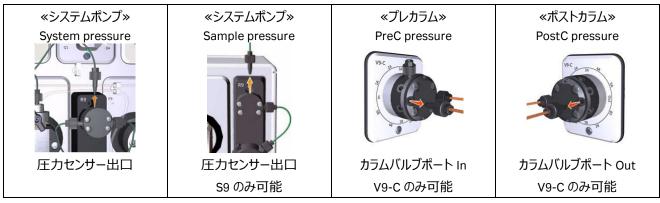
13.2、圧力センサーのキャリブレーション

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。



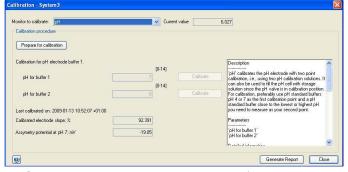
2、キャリブレーションが必要な圧力センサー部分のコネクターを外して開放します。



- 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、ゆつ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。

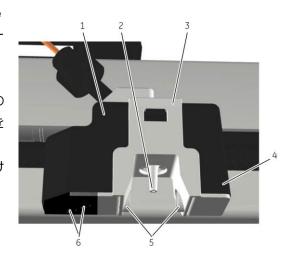
- 1、System Control より、System ↓ Calibrate を選択し、Calibration ダイアログを表示します。
- 2、Monitor to calibrate から pH を選択し、Prepare for calibration ボタンをクリックします。
- 3、10 ml シリンジに超純水を満たし、pH バルブの Cal ポートに接続されるルアーコネクターと接続し、ゆっくりと超純水を注入します。
- 4、シリンジを取り外し、保護液(保存液)を満たしたシリンジを再度 pH バルブの Cal ポートに接続し、ゆっくりと保存液を注入します。
- 5、Close ボタ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 ightarrow Frac cleaning position ightarrow Execute
- 2、ディスペンサーヘッドがクリーニングポジションへ移動し、システムはポー ズ状態になります。
- 3、ディスペンサーヘッドカバー (3) を取り外します。
- 4、ディスペンサーヘッドのセンサー部分(5 および 6)や、ノズル(2)の 先端を、超純水もしくは 20%エタノールを含む不織布などで汚れを 拭き取ります。
- 5、拭いた部分を乾燥させてから、ディスペンサーヘッドカバーを取り付けます。
- 6、フラクションコレクターの扉を閉じます。
- 7、カセットのスキャンを開始します。
- 8、End ボタンをクリックします。



13.6、フラクションコレクターF9-C 配管の交換

使用するカラムや流速に合わせて、UV フローセル以降のシステム配管の内径や長さを変更し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、ディスペンサーヘッドに接続されるチュービングコネクターを 取りはすし、コネクターからチュービングを抜き取ります。
- 3、庫内にあるチュービングを抜き取ります。
- 4、同じ長さのチュービングを用意します。Tubing kit for F9-C (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ア ームにあるガイドにチュービングを通します。
- 7、コネクターにチュービングを通し、コネクターブロックおよびディスペンサーヘッドに接続します。





13.7、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 25:1.6以降、ÄKTA pure 150:1.4以降)は、UNICORN 6.3.2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	6.3.2 以降	7.0.2 以降
ÄKTA pure 25	1.3 まで対応	1.5 まで対応	1.3 まで対応	1.6 以降も対応	1.6 以降対応
ÄKTA pure 150	UNICORN 非対応	1.3 まで対応	UNICORN 非対応	1.4 以降も対応	1.4 以降対応

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) ヘアクセスします。

www.cytiva.com/aktapure

www.cytivalifesciences.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) ヘコピーします。

13.7.2、システムコントロールの記録

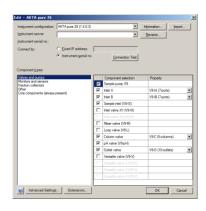
コンフィグレーションファイルを更新すると、システム構成、システムコントロール画面の表示設定およびフラクションコレクターの設定 (ディレイボリューム、ランプ照射設定、温度設定)がリセットされることがあります。 画面キャプチャーするなどして、変更前の設定を記録します。

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。

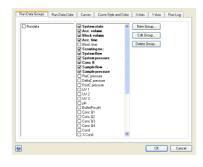
System Properties

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



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。



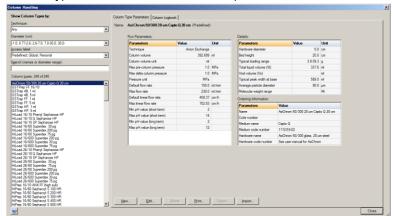
13.8、カラム事前定義ファイルアップデート

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

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

新規にカラム情報を登録するなど、カラムハンドリングの詳細を確認されたい場合は、「Method Manual」の「Handling column types (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。

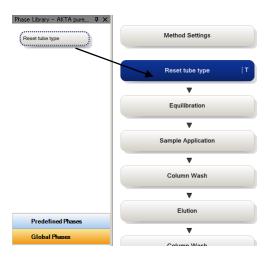
- 1、下記 URL をブラウザで開き ZIP ファイルをダウンロードします。
 http://www.cytiva.com/aktapure
 リンク切れでアクセスできない場合には、AKTA pure でサイト内検索をします。
- 2、Related Documents タブをクリックします。
- 3、カテゴリー「Software」内にある「Column List for UNICORN 6.1 and later versions」をクリックし、zip ファイルをダウンロードします。
- 4、ダウンロードしたファイルを UNICORN がインストールされている PC にコピーします。
- 5、Tools ↓ Column Handling を選択します(UNICORN 7 の Evaluation 以外であれば、ども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。



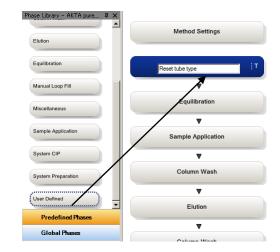
<新規フェーズの作成・保存>

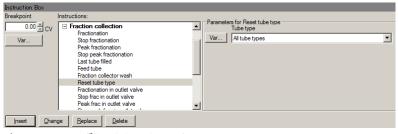
以下のフェーズを作成、Global phase として保存します。既に Global phase として登録されている場合は新規に作成する必 要はありません。

- 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



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





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。
- <u>D</u>elete <u>Save Phase...</u> Duration & <u>V</u>ariables
- 8、Global を選択し、OK ボタンをクリックします。

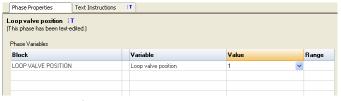


13.10、ループバルブのポジション設定 (メソッド)

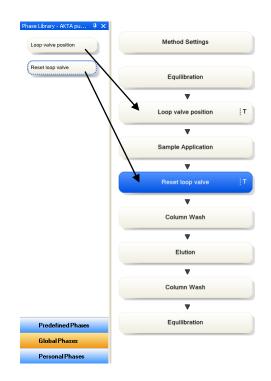
※ ループバルブはオプションです。また本手順はカラムバルブが接続されていない場合のみ適応します。

<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ラッグ
 で挿入します。
- ※ Global Phase に該当するフェーズが登録されていない場合は、「新規フェーズの作成・保存」に記載される手順を参考にフェーズを作成します。
- 4、ループバルブのポジションを変更する場合は、Loop valve position フェーズをクリックし、Value から該当するポジションを選択します。



5、メソッドを保存します。



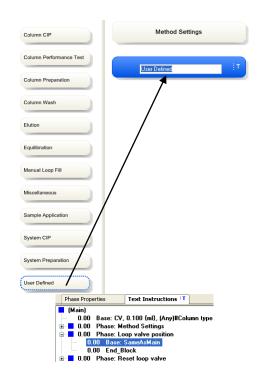
<新規フェーズの作成・保存>

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

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



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



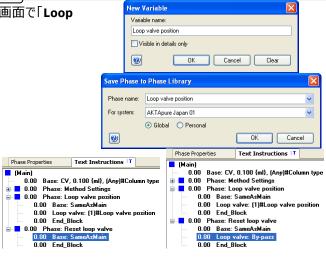
- 8、Base SameAsMain の行を選択し、画面下の Instruction box の Instructions より、Flow path → Loop valve を選択します。
- 9、Parameters より 1 を選択し、左下の Insert ボタンをクリックします。



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

<u>D</u>elete <u>Save Phase...</u> Duration & <u>V</u>ariables

- 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

● 機器アフターサービス

(営業日の9:00~17:30、音声案内に従い①を選択)

● 製品技術情報に関して

(バイオダイレクトライン、営業日の9:00~12:00、13:00~17:30) 音声案内に従い②を選択後、対象の製品別の番号を押してください。

①:ÄKTA、クロマトグラフィー関連製品

2: ビアコア関連製品

3:電気泳動関連製品、画像解析装置

4: ワットマン製品、その他製品

e-mail: Tech-JP@cytiva.com(常時受付)

● 納期/在庫お問合せ

(営業日の9:00~12:00、13:00~17:30、音声案内に従い③を選択)

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

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

www.cytivalifesciences.co.jp

論文に掲載いただく際の名称・所在地 Cytiva Tokyo, Japan

Cytiva (サイティバ)

グローバルライフサイエンステクノロジーズジャパン株式会社

お問合せ:バイオダイレクトライン

TEL: 03-5331-9336

e-mail: Tech-JP@cytiva.com

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルヂング

本資料の使用については、お客様施設内での使用に限ります。他社への転送、譲渡等は禁じます。本資料の著作権その他の知的財産権は、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に帰属します。無断転載、無断コピー、改ざん、二次利用を禁じます。掲載されている内容は2020年4月現在のもので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。弊社は、資料の掲載内容の正確性を記すべく、情報を随時更新しておりますが全ての情報が最新であることを保証するものではありません。したがいまして、当資料上の掲載内容に誤りがあった場合でも弊社は責任を負いかねます。