

使用説明書

BioPro IEX カラム

タンパク質・核酸分離用

① はじめに

このたびは高速液体クロマトグラフィ用BioPro IEX カラムをご採用いただきありがとうございます。BioPro IEXカラムは、新開発の親水性ポリマーに強アニオン交換基(第4級アンモニウム基)／強カチオン交換基(スルフォプロピル基)を導入したタンパク質・核酸分離に最適なカラムです。高分離・高吸着量のポーラス(多孔性)ポリマータイプ BioPro IEX QA/SPと、超高速・高分離に最適なノンポーラス(非多孔性)ポリマータイプ BioPro IEX QF/SF から構成されています。

弊社は BioPro IEX カラムの製造にあたり厳格な品質管理を行い、安定した品質の製品をお客様にお届けしております(検査成績書『COLUMN INSPECTION REPORT』をご参照ください)。お届けしましたカラムの性能を十分に発揮させ、永らくご使用いただくために本使用説明書をご一読のうえ、正しくご使用いただきますようお願いいたします。

② 製品仕様一覧表

項目	BioPro IEX QA / BioPro IEX SP			BioPro IEX QF / BioPro IEX SF					
	多孔性親水性ポリマー			非多孔性親水性ポリマー					
イオン交換基	-CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃ / -CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻			-CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃ / -CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃ ⁻					
出荷時対イオン	Cl ⁻ / Na ⁺			Cl ⁻ / Na ⁺					
粒子径 (μm)	5			5			3		
カラムサイズ length X I.D. (mm)	30 X 4.6	50 X 4.6	100 X 4.6	30 X 4.6	50 X 4.6	100 X 4.6	30 X 4.6	50 X 4.6	100 X 4.6
推奨流速 (mL/min)	0.5~0.8	0.5~0.7	0.4~0.5	1.0~1.5	1.0~1.2	0.2~0.8	0.7~1.0	0.5~1.0	0.2~0.5
最大流速 (mL/min)	1.0	0.8	0.6	1.8	1.5	1.0	1.3	1.0	0.6
最大圧力 (MPa)	2.5	3.0	3.5	6.0	10.0	12.0	25.0	25.0	25.0
使用 pH 範囲	2.0 ~ 12.0			2.0 ~ 12.0			2.0 ~ 12.0		
使用温度範囲 (°C)	4 ~ 60			4 ~ 60			4 ~ 60		
カラム材質	PEEK			PEEK			PEEK		

③ カラム接続およびシステム設定上の注意点

- ・ カラム接続タイプはウォーターズ接続互換仕様です。配管接続部分に空隙があると液もれやカラム性能(理論段数、ピーク対称性)の低下の原因となります。空隙が生じないように、配管のフェラル先端長や切断面に注意してください。
- ・ システム流路における試料の拡散(カラム外拡散)を低減するために、インジェクタ~カラム間およびカラム~検出器間の配管はできるだけ短く、内径の小さい(≤0.15 mm 推奨)ものを用いるとともに、接続部分に空隙が生じないようにご注意ください。
- ・ 検出器のレスポンスやデータ処理装置のデータサンプリング速度をピーク幅に合わせて最適化してください。特に、BioPro IEX QF/SF による超高速分析では保持が短くシャープなピークに対応できるよう、レスポンスは 0.5 sec 以下、データサンプリング速度は 10 points/sec 以上を目安としてください。
- ・ カラム接続時にはカラム内に気泡が混入しないよう十分にご確認ください。

④ 溶離液および試料溶液

- カラムの出荷時封入溶媒は下に示すとおりです(『COLUMN INSPECTION REPORT』に記載された検査溶離液に同じ)。カラムを長期間保管する場合にもこの溶媒で置換してください。1週間以内であれば高濃度の塩を除去後、分析溶離液でそのまま保管できます。

出荷時封入溶媒

BioPro IEX QA/QF : 20 mM Tris-HCl buffer (pH 8.1)

BioPro IEX SP/SF : 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)

- 通液はカラムラベルに示された矢印の方向に行います。『②製品仕様一覧表』に示した最大流速、最大圧力以下で使用してください。急激な圧力や流速の変動はカラム性能を低下させる恐れがあるため避けてください。
- 一般的には20~50 mMの緩衝液を初期溶離液として目的試料を吸着させ、塩濃度グラジエント(NaCl濃度を0~0.5 M程度の範囲で上げるグラジエントが一般的です)、もしくはpHグラジエントにより溶出させて分離します。最終溶離液では溶出されずにカラムに残った夾雑物を除去するため、分析ごとに1 M程度のNaClを含む緩衝液を通液することをお勧めします。
- 水溶性有機溶媒は30%程度まで溶離液へ添加可能です。添加前に緩衝液中の塩が析出しないことを確認してください。この他、タンパク質の変性剤として使用される尿素(≤8 M)や塩酸グアニジン(≤6 M)、非イオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤(BioPro IEX QA/QFのみ)、アニオン性界面活性剤(BioPro IEX SP/SFのみ)などの添加が可能です。
- 酸化剤を含む溶媒を溶離液として使用することは避けてください。
- 試料は初期溶離液と同一組成の溶媒に溶解してください。試料溶液の塩濃度やpHが溶離液と異なる場合、ピークの広がりや吸着量の低下が生じることがあります。あらかじめ脱塩や希釈等によって初期溶離液の組成に合わせてください。
- 目詰まりによる圧力上昇やカラム劣化を防ぐために、溶離液および試料溶液はあらかじめ0.2~0.5 μmのメンブランフィルタでろ過してください。あわせて、プレカラムフィルタ(XRPRCP02)のご使用をお勧めします。

⑤ カラムの洗浄(カラム性能の変化が見られる場合)

試料中の脂溶性物質や溶解性の小さい物質等がカラムに吸着することにより、保持時間やピーク形状の変化、圧力上昇が生じることがあります。この場合、以下に示す手順でカラムの洗浄を行ってください。これらの洗浄を行ってもカラム性能が回復しない場合は、新しいカラムと交換してください。

まず、カラムを『COLUMN INSPECTION REPORT』に記載された検査溶離液(出荷時封入溶媒)に置換してください。次に、検査溶離液を通液しながら、インジェクターを用いて下記(1)~(4)の洗浄溶媒を順に各4~5 mLになるまで注入してください(サンプルループは≥2 mL等大きいものが便利です)。

洗浄溶媒

- (1) 0.2 N NaOH 水溶液/アセトニトリル(80/20)
- (2) 1 M 酢酸水溶液
- (3) 非イオン性界面活性剤を添加した(例えば0.02% Brij™ 35)溶離液
- (4) 6 M 塩酸グアニジンを添加した溶離液

各溶媒で洗浄ごとに、保持時間やピーク形状が回復しているか確認してください。

●製品に破損があった場合、ご注文の品と異なる製品が届いた場合には、製品到着後2週間以内にご連絡ください。速やかに交換いたします。2週間を過ぎた製品は良品受領させていただきます。