

使用説明書

イオン交換担体

BioPro IEX SmartSep Q / BioPro IEX SmartSep S

このたびは BioPro IEX SmartSep Q/Sをお買い上げいただきありがとうございます。お届けしました製品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。

① 製品仕様一覧表

項目	強アニオン交換体 BioPro IEX SmartSep Q			強カチオン交換体 BioPro IEX SmartSep S		
	粒子径 (μm)	10	20	30	10	20
基材	親水性ポラスポリマー					
イオン交換基	-R-N ⁺ (CH ₃) ₃			-R-SO ₃ ⁻		
使用pH 範囲	2-12			2-12		
使用温度範囲 (°C)	4-60			4-60		
使用圧力範囲	常用(推奨):3 MPa以下 上限:4 MPa	常用(推奨):2 MPa以下 上限:3 MPa		常用(推奨):3 MPa以下 上限:4 MPa	常用(推奨):2 MPa以下 上限:3 MPa	
出荷溶媒	20%エタノール水溶液					
用途	中間精製から最終精製に有用					

② 充填方法

注) 充填するカラムの使用説明書も合わせてご参照ください。カラムによって充填方法の変更が可能です。
注) 詳細な充填方法については、ラボ用カラム充填手順書 大型カラム充填手順書も合わせてご参照ください。

2-1 担体の前処理

推奨する前処理溶媒：蒸留水、緩衝液、20%エタノール溶液

1. 充填するカラム容積に対し、沈降している担体量として1.05~1.10倍量(目安)です。懸濁させた担体を必要なスラリー溶液の5倍以上の容器に移し、静置後に担体量を確認してください。
2. 担体の4倍量の前処理溶媒を加えてください。
3. 攪拌棒を使用して静かに攪拌し、懸濁させます。担体の破損を防ぐために鋭利なものや攪拌子は使用しないでください。
4. 担体が沈降するまで静置させます。30 μmでの静置時間の目安は約120分です。粒子径が小さいほど、沈降までに時間を要します。
5. デカンテーションにより上澄み液を流し出してください。
6. 上澄み液の濁りがなくなるまで2~5の手順を繰り返してください。

2-2 スラリーの調製とカラムへの充填

推奨する充填用溶媒：高イオン強度溶媒（使用する溶離液のうち最もイオン強度が高い溶媒、1 M NaCl, 0.5 M Na₂SO₄など）

1. 3-1 担体の前処理にて20%エタノールを使用した場合は、蒸留水でろ過洗浄します。蒸留水もしくは緩衝液を使用した際はこの手順を省きます。
2. 担体の約3倍量の充填用溶媒でろ過洗浄します。
3. スラリー濃度が30~50% (体積比)になるように充填用溶媒を加えてスラリー化し、カラムにゆっくりとスラリーを流し込みます。このとき気泡が入らないようご注意ください。
4. 充填用溶媒を使用流速の約2倍を目安として充填層が安定するまで通液してください。
5. 通液により、目的とするカラム容積が得られます。押し込み型のカラム使用時は、押し込みを実施することでカラム性能が良好になる場合があります。

2-3 カラム性能の確認(充填状態の評価)

充填後、カラム性能評価を実施し理論段数(N)、ピーク形状を確認してください。目標とする理論段数(N)、非対称係数(As)が得られない場合は、充填条件(スラリー濃度や充填用溶媒を通液する際の流速など)を再検討してください。

充填状態評価の検査条件例

条件例1		条件例2		カラム性能			
溶離液	0.5 M NaCl	低イオン強度緩衝液 強アニオン交換体 (Q) : 20 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 8) 強カチオン交換体 (S) : 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7)		粒子径	10 μm	20 μm	30 μm
サンプル	1 M NaCl	ホルムアミド (2 μL/mL)		理論段数 (N/m)	≥ 14,000	≥ 6,500	≥ 5,000
検出	導電率	UV at 220 nm		非対称係数 (As)	0.7~1.8		
線流速	70~90 cm/h 程度						
温度	室温 (25 °C)						
注入量	ベッド体積の1%						

*あくまでも目安であり、この範囲外であってもご使用の条件によっては十分な性能が得られる場合があります。

*システム流路における試料の拡散(カラム外拡散)はカラム性能に大きく影響します。充填条件を変えてもカラム性能が変化しない場合、配管径や装置性能が評価カラムに適しているかご確認ください。

③ 平衡化および溶出

- ・ 分離前のカラムの平衡化は、カラム容積の 5~10倍量を目安に初期溶離液を通液してください。
- ・ 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(塩化ナトリウム濃度を 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。最終溶離液で溶出されずに残った夾雑物を除去するため、1回の分離ごとに 1 M 程度の塩化ナトリウムを含む緩衝液の通液をお勧めします。
- ・ 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。

④ 洗浄

試料中の脂溶性物質や溶解性の小さい物質等のカラムへの吸着により、保持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、以下に示す手順で洗浄・再生を行ってください。

4-1 一般的な洗浄方法

- ・ 定置洗浄 (Cleaning in place, CIP)

カラム性能に変化が生じた場合や、長期保存前には、以下のようなCIPが効果的です(カラムを検出器に接続せずに洗浄することをお勧めします)。

まず、1~2 M NaCl をカラム容積の 3~5 倍量通液します。続いて、0.1~0.5 M NaOH をカラム容積の 3~5 倍量通液します。NaOH 通液は、濃度を上げる (~1 M)、流速を遅くして接触時間を長くすることで、洗浄効果を上げることができます。中和のため、1~2 M NaCl をカラム容積の 3~5 倍量通液します。中和後、使用する溶離液で十分に平衡化してください。長期保存時は、中和後に蒸留水で洗浄した後に 20%エタノールに置換して保存してください(「⑥保存」の項に従う)。

カラムの汚染状態によってはカラム圧力が高くなる場合があります。そのような場合は流速を下げ通液してください。

- ・ バッチ洗浄

担体量に対し3~5倍の洗浄液に浸漬し、攪拌してください。静置後、デカンテーションにより上澄み液を流し出します。この操作を2、3回繰り返します。洗浄液として、CIPと同じ溶媒が使用可能です。

4-2 界面活性剤、その他の添加剤による洗浄

- ・ 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、アニオン性界面活性剤などの添加が可能です。酸化剤は使用しないでください。
- ・ BioPro IEX SmartSep Q にアニオン性界面活性剤を添加することは避けてください。また、BioPro IEX SmartSep S にカチオン性界面活性剤を添加することは避けてください。
- ・ カラムの汚染状態や、洗浄溶媒の種類(高粘度溶媒等)によってはカラム圧力が高くなる場合があります。そのような場合は流速を下げ通液してください。

⑤ 保存

製品は 20%エタノール水溶液中で、出荷時の容器に密封して 4~35 °C で保存してください。

●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。

●製品容器の上部が上向き状態で輸送や保管がされていない場合や、担体が容器壁面や上部に付着していても製品の品質に影響はありません。

ただし担体の乾燥防止のために製品容器は上向き状態で立てて保管し、担体全体を 20%エタノール水溶液(製品容器内の保管溶媒)に浸漬させることを推奨します。