

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)用 コスモゲル® IEXパッキングカラム

1. はじめに

このたびはコスモゲルパッキングカラムをお買い上げ頂きましてありがとうございます。このカラムの優れた性能を十分発揮させ、長期間ご使用して頂くために、下記の注意事項を熟読の上ご使用ください。

2. コスモゲルパッキングカラムについて

本品は、親水性ポリマーにイオン交換基を導入した充填剤をカラムに充填した高速イオン交換クロマトグラフィー用カラムです。下記表に示した6種類の充填剤が揃っており試料に合わせて選択することができます。

表、コスモゲル IEX シリーズの種類と性質

| 充填剤 | Type Q | Type Q-N | Type S | Type S-N | Type M | Type M-N |
|--------------|---|-----------------------------------|---|-----------------------------------|---|---------------------------------|
| 担体 | 親水性ポリマー | | | | | |
| 平均粒子径 | 5 μm | | | | | |
| 平均細孔径 | 1000 Å | Non-porous | 1000 Å | Non-porous | 1000 Å | Non-porous |
| 官能基 | -CH ₃ N ⁺ (CH ₃) ₃ | | -(CH ₂) ₃ SO ₃ ⁻ | | -CH ₃ N ⁺ (CH ₃) ₃ + -(CH ₂) ₃ SO ₃ ⁻ | |
| タンパク質 結合量 | 110-150mg BSA/ml-resin | 12-20mg | 70-100mg human IgG/ml-resin | 10-18mg | 55-75mg(BSA)/ml 35-50mg(IgG)/ml | 6-10mg(BSA)/ml 5-9mg(IgG)/ml |
| カラムサイズ | 4.6mmI.D.×50mm | 4.6mmI.D.×30mm 4.6mmI.D.×100mm | 4.6mmI.D.×50mm | 4.6mmI.D.×30mm 4.6mmI.D.×100mm | 4.6mmI.D.×50mm | 4.6mmI.D.×100mm |
| カラム材質 | PEEK | | | | | |
| 接続 | Waters Type | | | | | |

3. ご使用前に

- 包装状態、カラムの外観に異常がないか確かめてください。
- 充填剤、カラムサイズ等に誤りはないか確かめてください。

4. 一般的な蛋白質の分離方法

Type Q, Type S, Type M

・ 溶出法

Type Q : 20 - 50 mmol/l 緩衝液 (pH 6 - 10) での塩濃度 (またはpH) グラジエント

例 1) 15-60 min linear gradient of NaCl from 0 to 0.5 mol/l in 20-50 mmol/l Tris buffer (pH 7.5-8.5)

例 2) 15-60 min linear gradient of NaCl from 0 to 0.5 mol/l in 20-50 mmol/l Diethanolamine buffer (pH 8.4-9.4)

Type S : 20 - 50 mmol/l 緩衝液 (pH 4 - 9) での塩濃度 (またはpH) グラジエント

例 1) 15-60 min linear gradient of NaCl from 0 to 0.5 mol/l in 20-50 mmol/l Phosphate buffer (pH 6.5-7.5)

例 2) 15-60 min linear gradient of NaCl or NaClO₄ from 0 to 0.5 mol/l in 20-50 mmol/l Acetate buffer (pH 4.5-5.5)

Type M : 20 - 50 mmol/l 緩衝液 (pH 4 - 10) での塩濃度 (またはpH) グラジエント

- ・ 流速 : 0.5 - 0.7 ml/min (max. 0.8 ml/min)
- ・ 試料注入量 : 各タンパク質の量 50 μg 以下 (好ましくは 25 μg 以下)
- ・ 検出 : UV 220 nm, 280 nm
- ・ 温度 : 25 °C
- ・ 洗浄、再生溶媒のpH : 2 - 12

Type Q-N, Type S-N, Type M-N

- ・ グラジエント : (4.6mmI.D.×30mm) 2-15 min linear gradient
(4.6mmI.D.×100mm) 30-480 min linear gradient
- ・ 流速 : (4.6mmI.D.×30mm) 1.0 - 1.5 ml/min (max. 1.8 ml/min)
(4.6mmI.D.×100mm) 0.2 - 0.8 ml/min (max. 1.0 ml/min)
- ・ 試料注入量 : 各タンパク質量 5 μg 以下 (好ましくは 2.5 μg 以下)
- ・ その他の条件 : Type Q, Type S, Type M と同じ

5. 使用上の注意事項

- (1) カラムに大きな衝撃を与えないでください。
- (2) カラムへの送液方向はカラムラベルの指示に従ってください。
- (3) カラムの出口を検出器に接続する前に、予め20～30mlの移動相を送液してください。
- (4) 水溶性有機溶媒の添加は20%まで可能ですが、塩が析出しないように注意してください。また、必ず高速液体クロマトグラフィー用をご使用ください。
- (5) 移動相は使用前に必ず 0.45 μm以下のフィルターでろ過してください。
- (6) 試料は必ずろ過してから注入してください。また、注入した時に結晶が析出しないようご注意ください。
- (7) 送液装置、移動相、あるいは試料からの不溶性物質の流入はカラムの圧力上昇を引き起こし、カラム劣化の大きな原因となりますのでご注意ください。
- (8) 大量の空気の注入、急激な流速の変化、高流速での移動相の交換等による急激な圧力変化は避けてください。また、移動相の交換は必ず流速 0.5ml/min以下で行ってください。
- (9) カラム性能を最大限に発揮させるために装置の流路体積は最小にしてください。例えば、接続チューブの長さを短くし、内径を細くしてください。
- (10) カラムの温度コントロールをする時は、カラムだけでなく接続チューブも同じ温度を保つようにしてください。不完全な温度コントロールはデータの再現性を悪くします。
- (11) 分析終了後はカラムを 20 - 50 mmol/l 緩衝液 (pH 4.5 - 9.5) で洗浄し、密栓をして保管してください。カラムを1ヶ月以上使用しないときには、0.05%アジ化ナトリウムを含む緩衝液で置換後、密栓をして保管してください。
- (12) 接続チューブ、密栓は必要以上に強く締めつけないでください。
- (13) 頻繁な移動相交換はカラム性能を早く低下させます。用途を限定してできるだけ同一移動相を使用して頂くとカラム寿命を延ばすことができます。

6. トラブル対策

| トラブル内容 | 原因 | 処置 |
|-----------|------------------|--------|
| 圧力上昇 | カラムエンドフィルターの目詰まり | (1) |
| | 充填剤の目詰まり | (1) |
| | カラム内での沈殿の発生 | (2) |
| 分離能の低下 | 充填剤の汚染 | (2)(3) |
| | 充填状態の乱れ | 再生不可 |
| ピークの分裂 | カラム内での隙間の発生 | 再生不可 |
| ベースラインの乱れ | 充填剤の汚染 | (2)(3) |
| | 移動相の汚染 | (4) |

(処置方法)

- (1) 移動相をカラムラベルの指示方向の逆から30分間、流速0.2ml/minで送液してください。この場合カラムは検出器に接続しないでください。
- (2) 移動相中の塩が析出したと考えられる場合、20 - 50 mmol/l 緩衝液 (pH 4.5 - 9.5) で洗浄してください。
- (3) 0.1～0.2 mol/l NaOH水溶液、10%酢酸水溶液、20%有機溶媒(メタノール、アセトニトリル、2-プロパノール等)、中性界面活性剤、尿素水溶液をインジェクターから計10ml程度注入して洗浄してください。
- (4) 新しい蒸留水をご使用ください。

7. 品質保証について

本品は、理論段数、ピーク非対称性など多くの項目について厳しく管理されています。カラム毎に規定に従った検査条件と検査結果を示した検査成績書が添付されています。

(クレームについて)

- (1) 現品到着時、輸送中の事故等でカラムに異常があった場合。
- (2) 現品到着時、規定の検査条件(検査成績書に記載)で測定したカラムの理論段数が、極端に低い場合(デッドボリュームの大きな装置を使用したとき、あるいは注入量が多い時は低い理論段数を示す場合があります)のでご注意ください。
- (3) 上記の場合、現品到着後、2週間以内にご連絡くだされば、新しいカラムと交換させていただきます。2週間を過ぎたものについては良品とみなさせていただきますので、ご了承願います。
- (4) カラムの寿命に関する問題はクレームの対象とは致しません。また、カラムエンドフィティングを取り外して修理、補修された後にカラム性能が大きく低下した場合もクレーム対象と致しません。
- (5) いかなる場合も、事前のご連絡なしにカラムを返品されることはお断り致します。