

HiLoad カラム取扱い説明書 (M6 接続用)

取扱いの注意点

カラムの特性を引き出し、寿命を延ばすために以下の事項を必ず守ってください。

- 1、0°C以下での保存、凍結は避けてください。
- 2、限界圧、最大流速を超えての操作は避けます。低温環境下でご使用の場合は、記載の流速で送液すると限界圧を超えることがあります。必要に応じて、流速を下げます。
- 3、カラム内に空気を混入させたり、乾燥させたりしないでください。
- 4、試料溶液はカラムに添加する前に、0.45 µm フィルターによるろ過、あるいは 10,000×g で 10 分間の遠心分離により、あらかじめ微粒子、凝集物を除去します。
- 5、カラムは使用後に定期的に洗浄します。
- 6、アダプターのネットリングは、10~20 回のクロマトグラフィーを目安として交換します。

その他、操作上の疑問点については添付のマニュアル（英文）をご参照いただくか、バイオダイレクトラインまでお問合せください。

ペリスタルティックポンプ使用時

ポンプ性能により異なりますが、正確な送液は 1 ml/min までが目安となります。1 ml/min 以上の場合には、ポンプ設定流速と実際の流速を確認します。

1 ml/min 以上の流速での実験には、ÄKTA システムでの使用をおすすめします。

HPLC 使用時

HPLC で使用する場合は、背圧が上がりやすいため、特にご注意ください。限界圧を超えて使用すると担体が圧縮されアダプターとの間に隙間が生じたり、カラムが破損したりすることがあります。HPLC との接続には別売の接続コネクター (1/16" male / M6 female や 1/16" female / M6 female など) が便利です。

保存

超純水にて洗浄後、保存液に置換します。付属のポートシリンジをアウトレットチュービングに接続し、送液してシリンジ内を保存液で満たした状態で保存します。

平衡化

HiLoad カラムは保存液として 20%エタノール (SP Sepharose HP は 20%エタノール、0.2 M 酢酸ナトリウム) を満たした状態で出荷しています。使用前に以下の方法でカラムの平衡化を行います。

- 1、超純水もしくは低塩濃度のバッファーをカラム体積の 2 倍量送液し、保存液を除去します。流速は 25 cm/h (内径 16 mm のカラムは 0.8 ml/min、内径 26 mm のカラムは 2.2 ml/min) 以下で行います。高塩濃度のバッファーを用いると塩が析出する可能性があるため避けます。
- 2、保存液の除去後、開始バッファーをカラム体積の 2~5 倍量送液し、カラムを平衡化します。

クロマトグラフィー

試料によりクロマトグラフィーの至適条件は異なります。条件の設定には、製品添付のマニュアル、その他弊社発行のハンドブックをご利用ください。

- ゲルろ過： 試料と担体との相互作用を抑えるため、バッファー中の塩濃度は 0.15 M 以上をおすすめします。
- イオン交換： 試料吸着後に、カラム体積の 10~20 倍量のグラジエント溶出をおすすめします。
- 疎水性相互作用： 結合バッファー：1~2 M 硫酸アンモニウム、100 mM リン酸ナトリウム (pH 7.0)
溶出バッファー：100 mM リン酸ナトリウム (pH 7.0)
結合バッファーでカラムの平衡化、試料吸着後に、カラム体積の 10~20 倍量のグラジエント溶出をおすすめします。

洗浄法

クロマトグラフィー操作後、数回に 1 度行うことにより、担体に吸着している非特異的吸着物質の多くを除去することができます。流速は 25 cm/h 以下で行います。

- ゲルろ過： 0.5 M NaOH を 0.5~1 カラム体積送液し、ただちに平衡化します。
- イオン交換： 1 M NaCl を 1 カラム体積送液し、ただちに平衡化します。
- 疎水性相互作用： 1 M NaOH を 1 カラム体積送液し、ただちに平衡化します。



定置洗浄法 (CIP)

担体をカラムから取り出すことなく洗浄する方法です。CIPは担体および汚染物質により異なります。カラムに添付されたマニュアルをご参照ください。

ネットリングの交換

CIPを行っても背圧の上昇、流速の低下が認められる場合、ネットリング目詰まりの可能性があります。以下の手順に沿ってネットリングを交換します。超純水をご使用ください。

- 1、ドムナットでアウトレットチュービングを閉じます。担体上端の位置を油性ペン等でカラムに印をつけます。
- 2、アダプター上部の黒いノブを反時計方向に回してアダプターのOリングを緩めます。次にトップピースを緩めます。
- 3、アダプターをポンプに接続して送液します。
流速： HiLoad 16/10、16/60 → 約 1 ml/min
HiLoad 26/10、26/60 → 約 2.6 ml/min
送液しながらアダプターをカラム上部まで持ち上げます。
- 4、カラムに十分溶液が満たされたら、アダプターを外して送液を止めます。古いネットリングを外し、新しいネットリングを装着します。ネットリングを交換する間、カラム上部は十分な超純水で満たしたままにします。
- 5、ネットリングの下にある気泡を完全に除去するためには、20%エタノールをシリンジで送液することをおすすめします (写真参照)。



- 6、カラム上端まで超純水を満たし、気泡が入らないように注意しながらアダプターをカラムに挿入します。プランジャーを1~2 cm沈めたところでOリングを軽く締め、プランジャー上部にある過剰の超純水をピペット等で取り除き、トップピースをカラムに装着します。
- 7、シリンジを外し、アダプターを担体面に接するまで沈めます。Oリングをしっかり締め、気泡が入ないようにインレットチュービングをポンプに接続します。
- 8、アウトレットチュービングのドムナットを外し、送液を開始します。担体上部が1でつけた印の3 mm 上に戻るまで流速を上げます。送液を止め、アウトレットチュービングをドムナットで再び閉じます。
- 9、インレットチュービングをポンプから外し、ノブを反時計方向に回してOリングを若干緩め、アダプターを1でつけた印まで押し下げます。Oリングをしっかり締めます。
- 10、気泡が入らないように注意しながらポンプに再び接続します。送液を開始してカラムを平衡化するか、保存液に置換します。

アクセサリー、消耗品

製品名	包装	製品コード
ネットリング XK 16	5 個	18-8761-01
ネットリング XK 26	5 個	18-8760-01
Oリング XK 16	5 個	19-0163-01
Oリング XK 26	5 個	28-9782-27
トランスポートデバイス	1 個	18-1176-43
1/16" male / M6 female	5 個	18-3858-01
1/16" female / M6 female	2 個	18-1123-94
Luer female / M6 female	2 個	18-1027-12
ドムナット	4 個	18-2450-01

掲載されている内容は予告なく変更される場合がありますのであらかじめご了承ください。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

GE ヘルスケア・ジャパン株式会社

ライフサイエンス統括本部

東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング

お問合せ：バイオダイレクトライン

TEL : 03-5331-9336、FAX : 03-5331-9370

e-mail : Tech-JP@ge.com

Home page : <http://www.gelifesciences.co.jp>