

SEPARATION REPORT

生体高分子用イオン交換カラム TSK-GEL BioAssistシリーズによるタンパク質の分離

—— 目 次 ——

	ページ
1. はじめに	1
2. 基本的性質	1
2-1. 交換容量と細孔特性	1
2-2. 標準タンパク質の分離	2
2-3. 吸着容量	3
2-4. 試料負荷量の影響	4
2-5. 分離能の流速依存性	5
2-6. 分離能のグラジエント時間依存性	5
2-7. タンパク質の回収率	6
3. カラム使用上の注意	7
3-1. カラム圧力損失	7
3-2. アルカリ耐久性	7
3-3. 緩衝液	8
3-4. HPLCシステム	8
3-5. 洗浄再生	8
4. タンパク質の分離例	8
5. 終わりに	9

1. はじめに

タンパク質などの生体高分子の精製・分取に液体クロマトグラフィーを用いる場合、複数の分離モードを組合せ段階的に精製する方法が一般的です。種々の分離モードの中でイオン交換クロマトグラフィーは、タンパク質の吸着容量が多いことから最も広く使われています。充てん剤の吸着容量を向上させるためには、充てん剤表面に比較的厚いイオン交換層を導入する方法が有効であるとされており、ポリマー鎖をグラフト重合などにより導入する方法が知られていました。しかしこの様な方法では、カラムの圧力が極端に高くなることから、充てん剤の微粒化が困難となり、高い分離性能と高い吸着容量を両立させることは困難でした。

TSK-GEL BioAssistシリーズは、多孔質基材表面に緩く架橋されたイオン性ポリマーを導入することにより、この問題を解決したイオン交換カラムです。本稿では、高い吸着容量と高い分離性能を従来カラム並みの低いカラム圧力で実現し、かつ強い保持力を持ったTSK-GEL BioAssistシリーズの基本的性質、応用例及び使用上の注意について解説します。

表-1 TSK-GEL BioAssistシリーズの特長

項目	BioAssist Q	BioAssist S
基材	多孔質アクリルレート系ゲル	多孔質アクリルレート系ゲル
平均粒子径 (μm)	10	7
官能基	ポリアミン	スルフォプロピル基
イオン交換容量 (eq/L)	0.1	0.1
使用pH範囲 (長期間)	3-10	3-10
使用pH範囲 (短期間)*	2-12	2-12
動的吸着容量 (g/L)	>70 (牛血清アルブミン) >70 (チログロブリン)	>70 (γ-グロブリン) >70 (リゾチーム)
適正流速 (mL/min)	1	0.8
最大流速 (mL/min)	1.2	1
最大圧力 (MPa)	2.5	2.5
カラム部材	PEEK	PEEK
カラムサイズ (mm I.D. × cm)	4.6 × 5	4.6 × 5

* 1ヶ月以内

2. 基本的性質

2-1. 交換容量と細孔特性

TSK-GEL BioAssistシリーズには、アニオン交換カラムのTSKgel BioAssist Q とカチオン交換カラムのTSKgel BioAssist S があります。TSKgel BioAssist Q はイオン交換基としてポリアミンを導入しており、イオン交換基構造は第4級および3級アンモニウムの混合となっています。また、TSKgel BioAssist S はスルフォプロピル基を有するポリマーを導入しており、イオン交換基構造はスルフォプロピル基です。これらの総イオン交換容量はゲル1 mL当たり各充てん剤共に約0.1meqに調製されています (表-1)。

図-1は、TSK-GEL BioAssistシリーズの細孔特性を示しています。TSKgel BioAssist Q は排除限界分子量500万以上 (ポリスチレン換算)、TSKgel BioAssist S は排除限界分子量約300万 (ポリスチレン換算) の基材にイオン交換基が導入されており、イオン交換体としての排除限界分子量は共に100万以上 (プルラン換算) です。TSK-GEL BioAssistシリーズは従来の充てん剤より大きな細孔径を有しているため、表面積は従来の充てん剤より小さいと考えられますが、分子量の小さい試料に対しては立体的な吸着によりまた、分子量の大きい試料に対しては細孔径が大きく試料が細孔内に十分浸透できることから、試料の分子量によらず高い吸着容量を有しています。

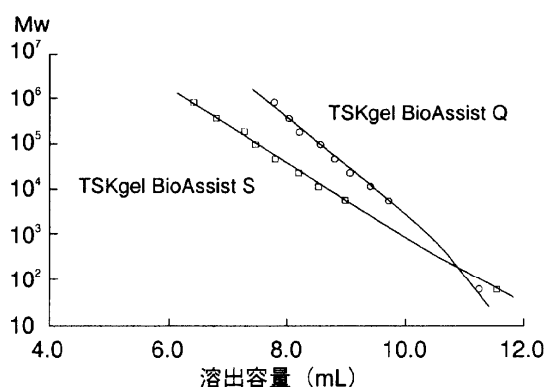


図-1 TSK-GEL BioAssistシリーズの較正曲線

溶離液: 20mmol/L Tris-HCl緩衝液, pH8.0

(BioAssist Q)

20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH7.0

(BioAssist S)

流速: 0.5mL/min (BioAssist Q)

0.4mL/min (BioAssist S)

測定試料: プルラン

* 充てん剤を7.8mm I.D. × 30cmカラムに充てんし測定しました。

2-2. 標準タンパク質の分離

図-2に標準タンパク質のTSKgel BioAssist Q と従来品カラムの分離比較を示します。TSKgel BioAssist Q は、従来品と比較し大きい保持力と高い分離性能を有していることがわかります。図-3に示すように TSKgel BioAssist S と従来カラムの分離比較でも、TSKgel BioAssist S は同様に大きな保持力と高い分離性能を有していることがわかります。

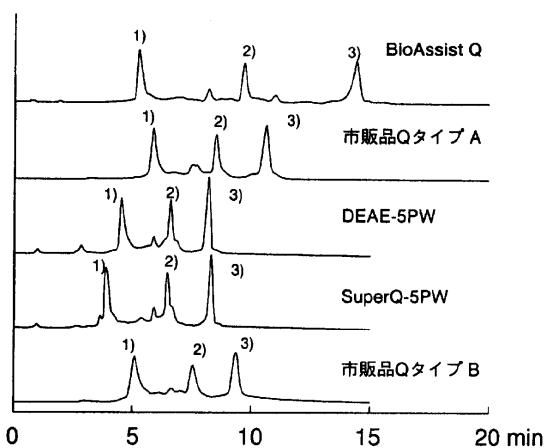


図-2 TSKgel BioAssist Qと従来カラムの標準タンパク質分離比較

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品Qタイプ A 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 TSKgel DEAE-5PW 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 TSKgel SuperQ-5PW 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 市販品Qタイプ B 4.6mm I.D.×5cm, PEEK

溶離液：A; 20mmol/L Tris-HCl緩衝液, pH8.0
 B; 1.0mol/L NaClを含む20mmol/L Tris-HCl 緩衝液, pH8.0

A→B リニアグラジエント 30分

流速：1.0mL/min

温度：25℃

検出：UV (280nm)

注入量：60μL

試料：1) コンアルブミン 0.5g/L
 2) オブアルブミン 1.0g/L
 3) トリブシンインヒビター 1.0g/L

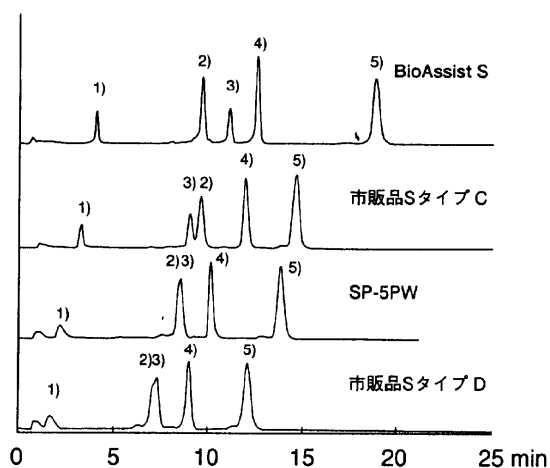


図-3 TSKgel BioAssist Sと従来カラムの標準タンパク質分離比較

カラム：TSKgel BioAssist S 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品Sタイプ C 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 TSKgel SP-5PW 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 市販品Sタイプ D 4.6mm I.D.×5cm, PEEK

溶離液：A; 20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5
 B; 1.0mol/L NaClを含む20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5

A→B リニアグラジエント 32分

流速：0.8mL/min

温度：10℃

検出：UV (280nm)

注入量：20μL

試料：1) ミオグロビン 1g/L
 2) α-キモトリプシノーゲン A 2g/L
 3) リボヌクレアーゼ A 4g/L
 4) シトクロム C 2g/L
 5) リゾチーム 2g/L

2-3. 吸着容量

図-4はタンパク質の分子量に対する動的吸着容量の変化を従来品と比較した結果です。従来品がタンパク質の分子量が高くなると吸着容量が低下するのに対し、TSKgel BioAssist Qは低分子量試料から高分子量試料まで高い吸着容量を維持しています。表-2,3にそれぞれTSKgel BioAssist Q及びTSKgel BioAssist Sの各種タンパク質に対する動的吸着容量を示します。

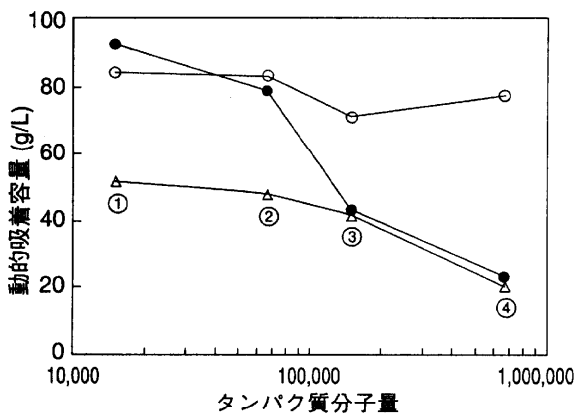


図-4 動的吸着容量測定における試料分子量の影響
 カラム：○ TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×1cm
 △ 市販品Qタイプ A 4.6mm I.D.×1cm
 ● TSKgel SuperQ-5PW 4.6mm I.D.×1cm
 流速：0.38mL/min 温度：25℃
 検出：UV (280nm)
 試料溶媒：20mmol/L Tris-HCl 緩衝液, pH8.0
 試料濃度：①チログロブリン 5g/L
 ②IgG1 (PRF) 2.3g/L
 ③ヒト血清アルブミン 10g/L
 ④トリブシンインヒビター 10g/L
 * 破過曲線の10%高さ

表-2 タンパク質動的吸着容量の比較 (BioAssist Q)

タンパク質	吸着容量 (g/L)			
	BioAssist Q	SuperQ-5PW	市販品QタイプA	市販品QタイプB
チログロブリン	77.4	22.9	20.2	1.8
モノクローナルIgG1	57.8	43.3	46.7	47.7
ヒト血清アルブミン	83.1	78.9	48.2	48.8
トリブシンインヒビター	84.3	92.8	51.8	57.8

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×1cm
 TSKgel SuperQ-5PW 4.6mm I.D.×1cm
 市販品Qタイプ A 4.6mm I.D.×1cm
 市販品Qタイプ B 4.6mm I.D.×1cm
 溶媒：20mmol/L Tris-HCl 緩衝液, pH8.0
 流速：0.38mL/min
 検出：UV (280nm)
 * 破過曲線の10%高さ

また、表-4に抗体 (マウス IgG1LHG pI 6.41) を用いた場合の吸着容量のpH依存性を示します。表-3からTSKgel BioAssist Sは、TSKgel BioAssist Qと同様に低分子量試料から抗体のような高分子量試料まで分子量によらず高い吸着容量を持つことが分ります。また表-4から、保持力が強いために従来の市販イオン交換カラムよりもよりマイルドな中性条件下でIgGが保持可能であることがわかります。

表-3 タンパク質動的吸着容量の比較 (BioAssist S)

タンパク質	吸着容量 (g/L)	
	BioAssist S	市販品Sタイプ C
γ-グロブリン	79	48
リゾチーム	84	63
シトクロム C	95	43
α-キモトリプシノーゲン A	119	-

カラム：TSKgel BioAssist S
 市販品Sタイプ C
 サイズ：4.6mm I.D.×5mm (リゾチーム、シトクロム C、α-キモトリプシノーゲン A)
 5.0mm I.D.×1cm (γ-グロブリン)
 溶媒：20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5 (リゾチーム、シトクロム C、α-キモトリプシノーゲン A)
 20mmol/L 酢酸ナトリウム緩衝液, pH5.0 (γ-グロブリン)
 流速：0.38mL/min
 温度：25℃
 検出：UV (280nm)
 * 破過曲線の10%高さ

表-4 抗体吸着容量に対する溶媒pHの関係

溶媒pH	吸着容量 (g/L)	
	BioAssist S	市販品Sタイプ
7.0	0	0
6.5	1.5	0
6.0	67	0
5.5	62	30

カラム：TSKgel BioAssist S 5.0mm I.D.×1cm
 市販品Sタイプ C 5.0mm I.D.×1cm
 溶媒：20mmol/L 酢酸ナトリウム緩衝液, pH5.5
 20mmol/L MES-HCl緩衝液, pH6.0
 20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5, 7.0
 流速：0.44mL/min 温度：25℃
 検出：UV (280nm)
 試料：IgG1 LHG
 * 破過曲線の10%高さ

2-4. 試料負荷量の影響

図-5、6にそれぞれTSKgel BioAssist Q 及び市販品QタイプAについて、試料負荷量を変えて測定した場合のクロマトグラムの重ね書きを示します。TSKgel BioAssist Q については負荷量10mgまではほとんどピーク形状や分離に変化は見られませんでした。一方、市販品QタイプAについては(図-6)負荷量10mgで、最初に溶出するオブアルブミンのピーク形状が変化しています。このようにTSKgel BioAssist Q はカラムサイズが小さいにもかかわらず分離・ピーク形状を維持したまま

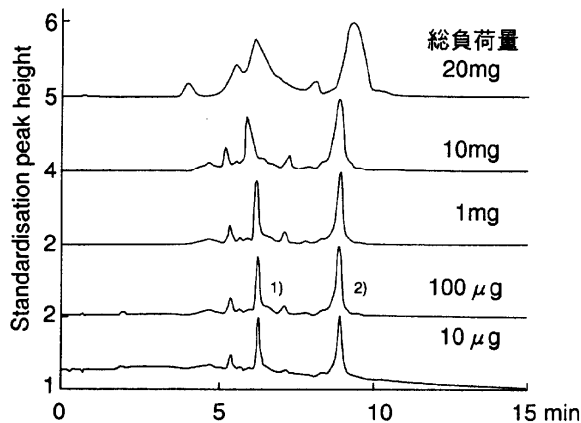


図-5 試料負荷量がクロマトグラムに与える影響 (TSKgel BioAssist Q)

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 溶離液：A; 20mmol/L Tris-HCl緩衝液, pH8.0
 B; 1.0mol/L NaClを含む20mmol/L Tris-HCl緩衝液, pH8.0

A→B リニアグラジエント 30分

流速：1.0mL/min 温度：25℃ 検出：UV (280nm)

試料：1) オブアルブミン 2) トリプシンインヒビター

*クロマトグラムは正規化されています。

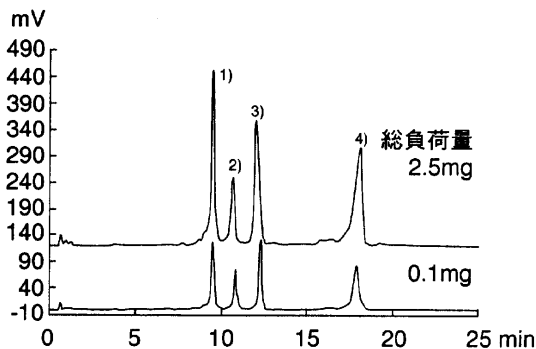


図-7 試料負荷量がクロマトグラムに与える影響 (TSKgel BioAssist S)

カラム：TSKgel BioAssist S 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 溶離液：A; 20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5
 B; 1.0mol/L NaClを含む20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5

A→B リニアグラジエント 30分

流速：0.8mL/min 温度：10℃

検出：UV (280nm) (10mmセル; 総負荷量0.1mg, 1mmセル; 総負荷量2.5mg)

試料：1) α-キモトリプシノーゲン A、2) リボヌクレアーゼ A、3) シトクロム C、4) リゾチーム

市販品と同等以上の試料を負荷することが可能です。図-7、8にそれぞれTSKgel BioAssist S と市販品SタイプCについて、試料負荷量が0.1mgと2.5mgの場合のクロマトグラムの重ね書きを示します。市販品SタイプCの場合は負荷量が2.5mgではピーク形状・分離が変化していますが、TSKgel BioAssist S ではほとんど変化していません。したがってTSKgel BioAssist S も分離・ピーク形状を維持したまま市販品と同等以上の試料を負荷することが可能です。

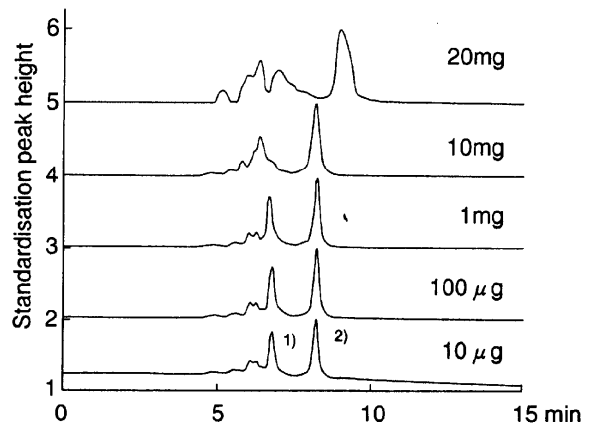


図-6 試料負荷量がクロマトグラムに与える影響 (市販品QタイプA)

カラム：市販品Qタイプ A 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 他の条件は図-5と同じ

*クロマトグラムは正規化されています。

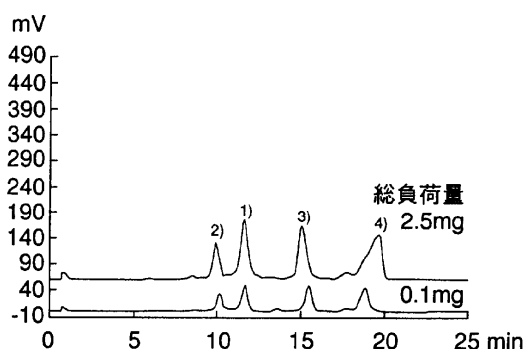


図-8 試料負荷量がクロマトグラムに与える影響 (市販SタイプC)

カラム：市販品Sタイプ C 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 他の条件は図-7と同じ

2-5. 分離能の流速依存性

図-9にTSKgel BioAssist Q の溶出ピーク幅への測定流速の影響を示します。流速の増加と共にピーク幅は徐々に狭くなりますが、0.8mL/min以上ではピーク幅の流速依存性が小さくなっています。測定流速の増加につれて溶出時間は、わずかず短くなり分離時間も短縮できますが、溶離液による試料の希釈も大きくなること、またカラムの耐圧を考慮すると、測定流速は1.0mL/minが最適であると言えます。また、TSKgel BioAssist S でも同様の結果を得ており、最適な測定流速は0.8mL/minです。

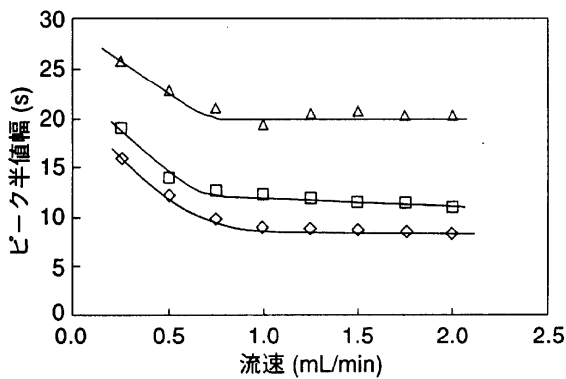


図-9 TSKgel BioAssist Qを用いたタンパク質の分離における溶出ピーク幅の測定流速依存性

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK

溶離条件：図-2に同じ

(測定流速, グラジエント時間を除く)

グラジエント時間 ◇ 10分

□ 15分

△ 30分

試料：オブアルブミン

2-6. 分離能のグラジエント時間依存性

図-10にTSKgel BioAssist Q の分離能へのグラジエント時間依存性を示します。グラジエント時間が長くなるに従い分離能が向上していますが、20分以上ではその傾きが小さくなっています。グラジエント時間を長くすると分析時間が長くなり、また試料の希釈が大きくなりますので、グラジエント時間は20~30分が最適と思われます。TSKgel BioAssist S でも同様の結果を得ております。

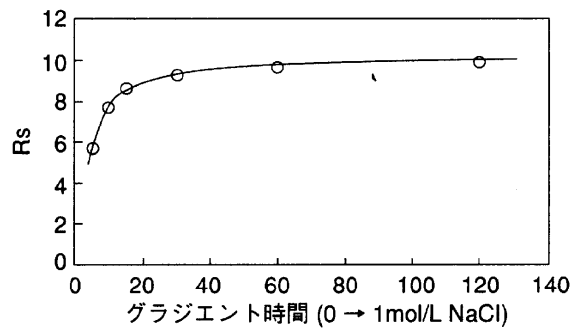


図-10 TSKgel BioAssist Qを用いたタンパク質の分離における分離能のグラジエント時間依存性

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK

溶離条件：図-2に同じ (グラジエント時間を除く)

試料：オブアルブミン、トリプシンインヒビター

2-7. タンパク質の回収率

表-5及び表-6にTSKgel BioAssist S及びQのタンパク質回収率をそれぞれ示します。TSK-GEL BioAssistシリーズは、親水性アクリレート基材を用いているため、非特異的な吸着が少なく各種タンパク質に対し低負荷量でも良好な回収率が得られています。図-11にTSKgel BioAssist Sを用いた低負荷量域での抗体回収率を示します。従来のスチレン系充てん剤は負荷量が

少なくなると回収率が低下するのに対して、TSKgel BioAssist Sは低負荷量でも回収率が低下せず100ng~20 μ gの範囲で90%以上の高回収率でした。また図-12にペプチドであるアンジオテンシン類の回収率を示します。TSKgel BioAssist Q及びSは低負荷量まで良好な回収率を示しました。市販品Sタイプはこの負荷量の範囲では検出不能でした(図-12の上図)。

表-5 TSKgel BioAssist Sのタンパク質回収率

試料名	回収率 (%)
アンジオテンシン II	98
ヘモグロビン	93
γ -グロブリン	100
リゾチーム	109
シトクロム C	105
α -キモトリプシノーゲン A	102

カラム：TSKgel BioAssist S 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 溶離液：20mmol/L 酢酸ナトリウム緩衝液, pH5.0
 (アンジオテンシン II)
 20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5
 (アンジオテンシン II 以外)

試料負荷量：10 μ g

測定方法：注入と同時に1.0mol/L NaClにステップグラジェント。ブランクテストとのピーク面積比から算出。

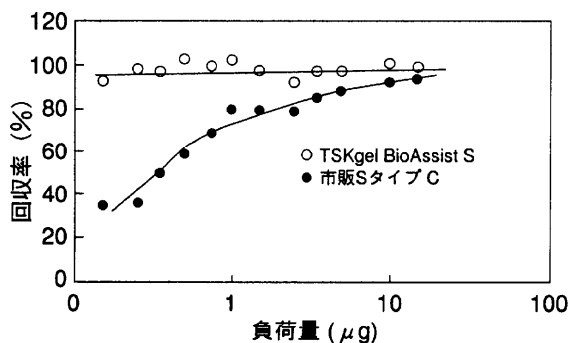


図-11 γ -グロブリン回収率比較

カラム：TSKgel BioAssist S 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品SタイプC 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 測定条件：表-5と同じ

表-6 TSKgel BioAssist Qのタンパク質回収率

試料名	回収率 (%)
アンジオテンシン II	100
オプアルブミン	94
トリプシンインヒビター	107
コンアルブミン	86
γ -グロブリン	93
ミオグロビン	95

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 溶離液：20mmol/L Tris-HCl緩衝液, pH8.0

試料負荷量：10 μ g

測定方法：注入と同時に1.0mol/L NaClにステップグラジェント。ブランクテストとのピーク面積比から算出。

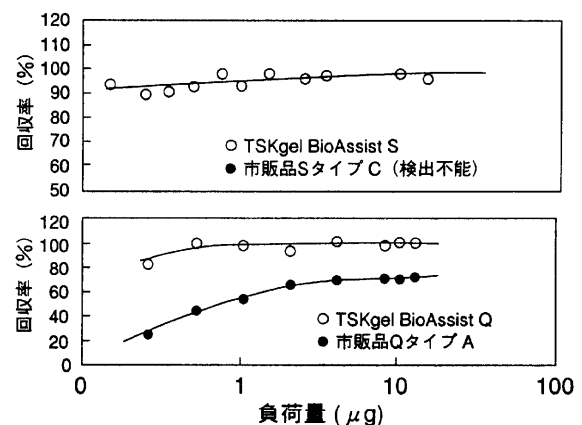


図-12 アンジオテンシン II 回収率比較

カラム：TSKgel BioAssist S 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品SタイプC 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 測定条件：表-5と同じ

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品QタイプA 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 測定条件：表-6と同じ

3. カラム使用上の注意

3-1. カラム圧力損失

TSK-GEL BioAssistシリーズの最大使用圧力は2.5MPaです。同一測定流速においても、カラム温度、溶離液組成によりカラム圧力は変動しますので注意してお使い下さい。一般的な有機溶媒を含まない塩濃度グラジエント分析においては、最適流速（TSKgel BioAssist Q：1.0mL/min, TSKgel BioAssist S：0.8mL/min）でのご使用をおすすめします。

3-2. アルカリ耐久性

アルカリ水溶液によるカラム洗浄は、カラム再生法として有効な方法です。TSKgel BioAssist Q と S に0.5mol/L NaOH水溶液等を封入し室温下放置した場合の選択性の変化を図-13と図-14に示します。いずれのカラムも20日以上経過後もクロマト上ほとんど変化が見られませんでした。また、図-2及び図-3と同様な測定条件下、標準タンパク測定後に0.5mol/L NaOH水溶液をカラム体積の5倍程度通液する測定法を50回繰り返しましたが、選択性、カラム圧力などに変化は見られませんでした。

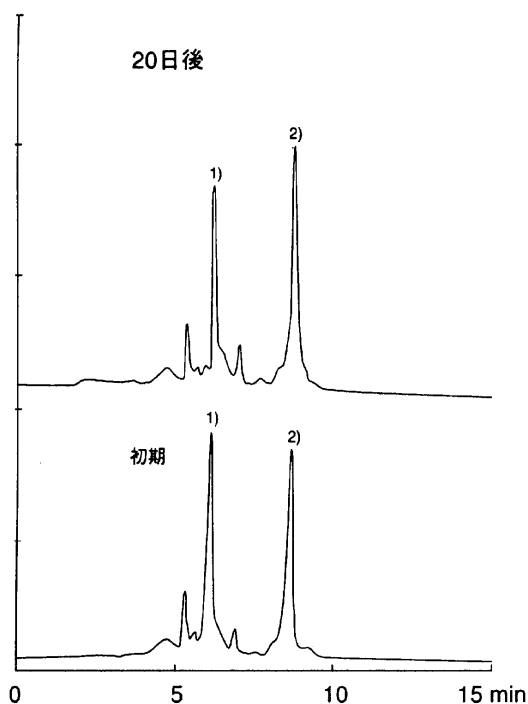


図-13 TSKgel BioAssist Q

0.5mol/L NaOH封入変化

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 溶離液：A; 20mmol/L Tris-HCl 緩衝液, pH8.0
 B; 1.0mol/L NaClを含む20mmol/L Tris-HCl 緩衝液, pH8.0
 A→B リニアグラジエント 15分

流速：1.0mL/min

温度：25℃

検出：UV (280nm)

注入量：60μL

試料：1) オブアルブミン 1.0g/L
 2) トリプシンインヒビター 1.0g/L

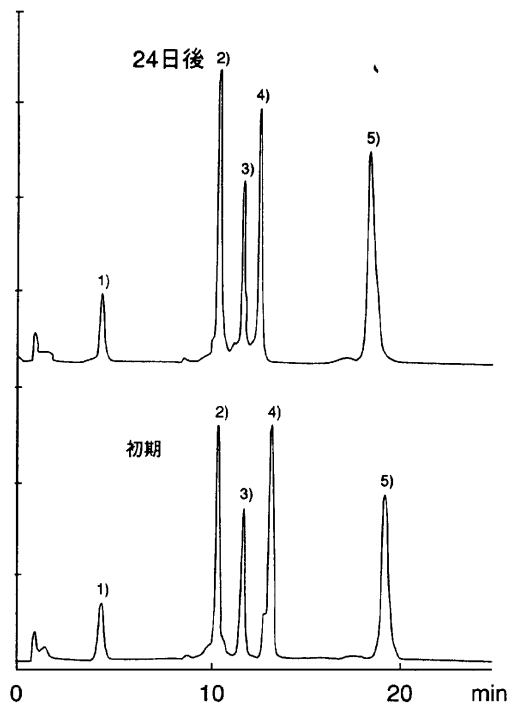


図-14 TSKgel BioAssist S

0.5mol/L NaOH封入変化

カラム：TSKgel BioAssist S 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 溶離液：A; 20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5
 B; 1.0mol/L NaClを含む20mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液, pH6.5
 A→B リニアグラジエント 32分

流速：0.8mL/min

温度：10℃

検出：UV (280nm)

注入量：20μL

試料：1) ミオグロビン 1.0g/L
 2) α-キモトリプシノーゲン A 2.0g/L
 3) リボスクレアーゼ A 4.0g/L
 4) シトクロム C 2.0g/L
 5) リゾチーム 2.0g/L

3-3. 緩衝液

カラムは試料由来の汚染の他に、緩衝液に使用した水や試薬中の不純物により汚染されます。したがって、水には超純水、HPLC用蒸留水、注射用蒸留水などを使用し、試薬類はHPLC用グレードまたは特級品を使用してください。さらに調製した緩衝液はフィルタ（0.22 μm または0.45 μm）でろ過してから使用してください。

3-4. HPLCシステム

カラム内へ微粒子や不純物の進入を防ぐために、送液ポンプとインジェクターの間にラインフィルタ¹⁾を取り付けてください。また測定試料中の微粒子等の進入を防ぐため、測定試料はフィルタ等²⁾でろ過してから測定に供してください。さらにインジェクターとカラムの間にラインフィルタ³⁾を取り付けるとより有効です。

- 1) ラインフィルタホルダ (品番: 14766)
フィルタエレメントC (品番: 13963)
- 2) マイシヨリディスク (水系) 表-7 参照
- 3) ラインフィルタキットPEEK (品番: 18014)
ラインフィルタエレメントPEEK (品番: 18021)

3-5. 洗浄再生

試料中の不純物が、エンドフィッティングに詰まる、又は充てん剤へ吸着することにより、カラムの分離能が低下することがあります。この場合カラムへ通常とは逆方向に溶離液を流す、又はアルカリ洗浄などを行うと、回復することがあります。詳細については、カラムに添付されている取扱説明書を参照してください。

4. タンパク質の分離例

図-15から図-17にTSKgel BioAssist Q を用いたタンパク質の分離例を示します。図-15は卵白を分離した測定例です。市販品と比較して良好な分離が得られることがわかります。図-16はモノクローナル抗体を含むマウス腹水の測定例です。抗体とアルブミンの良好な分離が得られています。図-17は市販粗精製リポキシダーゼの測定例です。この試料についても、良好な分離が得られていることがわかります。

図-18にTSKgel BioAssist S を用いた、ペプチドの分離例を示します。一般的に、スチレン系の基材を用いたカラムでペプチドなどを測定すると、充てん剤に試料が疎水的に吸着しやすいために正常なクロマトグラムが得られにくいことが知られています。しかし、TSKgel BioAssist S は親水性アクリレート基材を用いているために、アンジオテンシン等のペプチドを測定溶媒に有機溶媒などを添加することなく測定可能です。

表-7 マイシヨリディスク (水系) 一覧表

規格	W-3-2	W-13-2	W-25-2	W-3-5	W-13-5	W-25-5	
タイプ	mm	3	13	25	3	13	25
品番	16145	16146	16147	16148	16149	16150	
孔径	μm	0.2		0.45			
メンブランの材質	セルロースアセテート						
ハウジングの材質	ポリプロピレン						
サイズ(φ×L)	mm	7×19	18×19	30×24	7×19	18×19	30×24
有効ろ過面積	cm ²	0.06	0.9	4	0.06	0.9	4
残液量	μL	<10	<30	<100	<10	<30	<100
耐圧	MPa(25℃)	0.51					
最高使用温度	℃	60					
可能滅菌法	エチレンオキシサイドガス						
接続部	入口	ルアーロック					
	出口	ルアースリップ					
梱包単位	個数/箱	100					

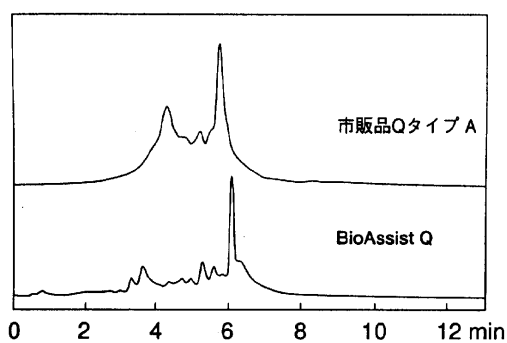


図-15 卵白の分離比較

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品Qタイプ A 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 測定条件はグラジエント時間15分に変更以外は、図-2
 と同じ

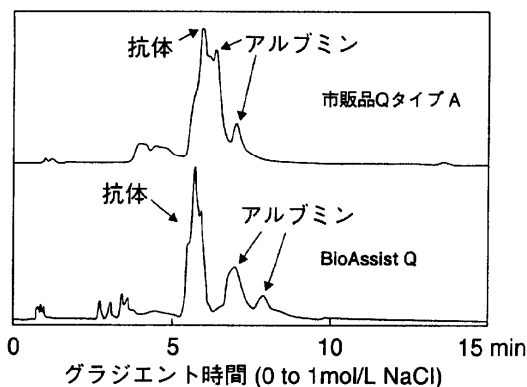


図-16 マウス腹水中の抗体の分離比較

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品Qタイプ A 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 測定条件はグラジエント時間15分に変更以外は、図-2
 と同じ

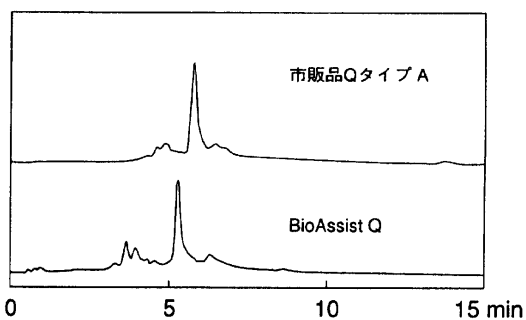


図-17 リポキシダーゼの分離比較

カラム：TSKgel BioAssist Q 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 市販品Qタイプ A 5.0mm I.D.×5cm, Glass
 測定条件はグラジエント時間15分に変更以外は、図-2
 と同じ

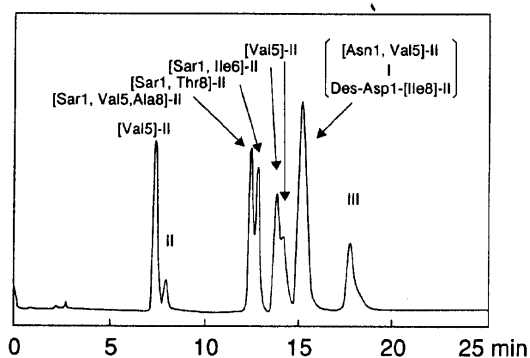


図-18 アンジオテンシン類の分離

カラム：TSKgel BioAssist S 4.6mm I.D.×5cm, PEEK
 溶離液：A; 20mmol/L 酢酸ナトリウム緩衝液, pH5.0
 B; 1.0mol/L NaClを含む 20mmol/L 酢酸ナト
 リウム緩衝液, pH5.0
 A→B リニアグラジエント 20分
 温 度：25℃
 検 出：UV (280nm)

5. 終わりに

高吸着容量、高保持力、高分離能で低カラム圧を実現したTSK-GEL BioAssistシリーズの基本特性について述べました。TSK-GEL BioAssistシリーズは、その特性から大量注入時にも分離能低下が少なく、微量成分の回収も良好なことから、分析レベルでの高純度精製やタンパク質の粗抽出試料などの多成分試料分離に適しています。