



SEPARATION REPORT

TSK-GEL SuperSWシリーズについて

——目 次——

	ページ
1. はじめに	2
2. 特徴	2
3. 基本的性質	6
3-1 ハードウェア (システム) の最適化	6
3-1-1 配管類のボイドボリュームについて	6
3-1-2 検出器のセル容積について	7
3-1-3 インジェクタについて	8
3-2 感度	8
3-3 理論段高さ(HETP)の流速依存性試料負荷量	10
3-4 試料負荷量	12
3-5 タンパク回収率	12
4. TSK-GEL SuperSWシリーズを用いた応用例	14
5. おわりに	14

1. はじめに

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は迅速性、操作性そして感度の高さから生体高分子の分野では分離・精製手段として幅広く利用されています。特にサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)は試料の分子サイズによる分離であることから、古くからタンパク質の分離・精製に使われてきました。初期のSEC用充填剤にはデキストラン、アガロースなどの網目構造を有する軟質充填剤が使用されていましたが、HPLCでは高強度を有するシリカ系充填剤がSECにも利用されるようになりました。

当社のTSK-GEL SWシリーズはタンパク質の分離に適した細孔分布を有するシリカ系SEC充填剤で、その優れた分離性能から世界中で利用されています。

近年、HPLCの分野ではこれまでと同様に高速・高分離性能が要求されていますが、一方で試料の微量化・低濃度化にともない微量分析に対応できる高感度化への要求が強くなっています。既にHPLCの他の分離モード、例えば逆相クロマトグラフィー(RPC)では微量分析に対応したセミマイクロカラムが上市されています。SECの分野でも、HPLCの微量分析への対応に伴い高感度・高分離能カラムの要求が強くなっています。

本報では、これまでのTSK-GEL SWシリーズをさらに微粒子化するとともにカラムのダウンサイズ化により高感度・高分離能を追求した、TSK-GEL SuperSWシリーズの特徴、基本的性質、及び応用例について述べます。

2. 特徴

表-1にTSK-GEL SuperSW及びSW_{XL}シリーズの仕様を示します。表-2にTSK-GEL SuperSWシリーズのポリエチレングリコール(PEG)、デキストラン、及びタンパク質の分画範囲を示します。TSK-GEL SuperSWシリーズのカラムサイズは、4.6mm I.D.×30cmです。従来の高性能化カラムTSK-GEL SW_{XL}に比べて、より小さな粒子径の充填剤を使用しているため、保証理論段数は、表-1に示したように、TSK-GEL SW_{XL}シリーズの約1.5倍高くなっています。

図-1および図-2に、標準ポリエチレングリコール(PEG)、及び標準タンパク質試料により測定した

TSK-GEL SuperSWシリーズの較正曲線を示します。TSK-GEL SuperSWシリーズは従来のTSK-GEL SW_{XL}シリーズと同じ較正曲線を有しているため、従来と同じ分子量分画範囲で使用できます。一般的には、TSKgel SuperSW2000は分子量70,000以下のタンパク質、TSKgel SuperSW3000は分子量70,000から300,000のタンパク質の分離に適しています。

図-3及び図-4に標準タンパク質のTSK-GEL SuperSWシリーズおよび従来のTSK-GEL SW_{XL}シリーズを用いたクロマトグラムを示します。検出セルにはマイクロセルを使用しました。表-3にこれらのクロマトグラムから求めた分離能(Rs)を示します。表よりTSK-GEL SuperSWシリーズの分離能はTSK-GEL SW_{XL}シリーズに比べて約1.2倍の分離能を有していることがわかります。

図-5及び図-6はTSK-GEL SW_{XL}シリーズとTSK-GEL SuperSWシリーズにおいて分離能をほぼ同一にした場合の分析時間を比較したものです。TSK-GEL SuperSWシリーズは高い分離性能を有しているため、約1/2の短時間で従来と同じ分離能を得ることができます。

表-1 TSK-GEL SuperSWシリーズおよびTSK-GEL SW_{XL}シリーズの仕様

	粒子径 (μm)	カラムサイズ	保証理論段数
TSKgel SuperSW2000	4	4.6mm I.D.×30cm	30,000
TSKgel SuperSW3000	4	4.6mm I.D.×30cm	30,000
TSKgel G2000SW _{XL}	5	7.8mm I.D.×30cm	20,000
TSKgel G3000SW _{XL}	5	7.8mm I.D.×30cm	20,000

表-2 TSK-GEL SuperSWシリーズの分子量分画範囲

	分子量分画範囲	
	SuperSW2000	SuperSW3000
ポリエチレングリコール	500-15,000	1,000-35,000
デキストラン	1,000-30,000	2,000-70,000
タンパク質	5,000-100,000	10,000-500,000

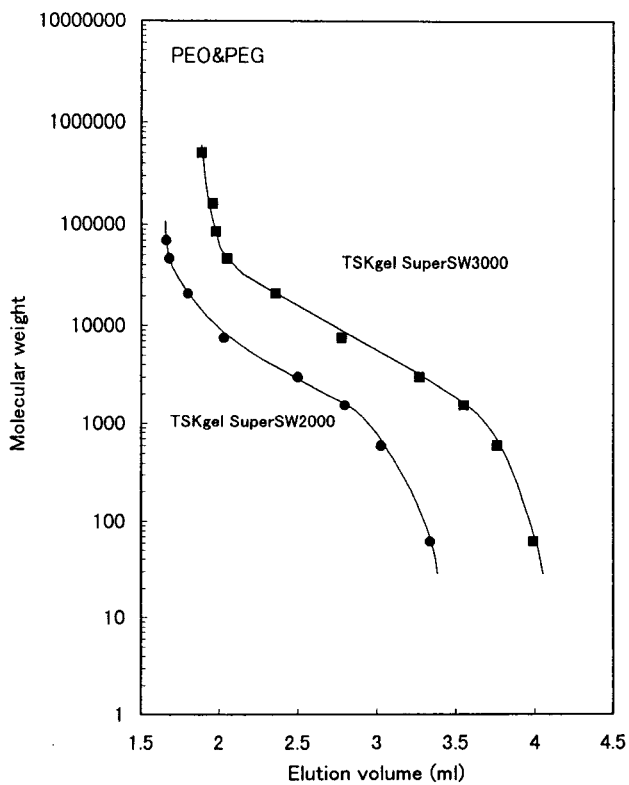


図-1 TSK-GEL SuperSWシリーズのPEO&PEG校正曲線

カラム ; TSK-GEL SuperSWシリーズ

(4.6mm I.D.×30cm)

溶離液 ; 0.05%アジ化ナトリウム水溶液

流速 ; 0.35ml/min

温度 ; 25°C

検出器 ; RI

試料 ; PEO,PEG (5 μ l)

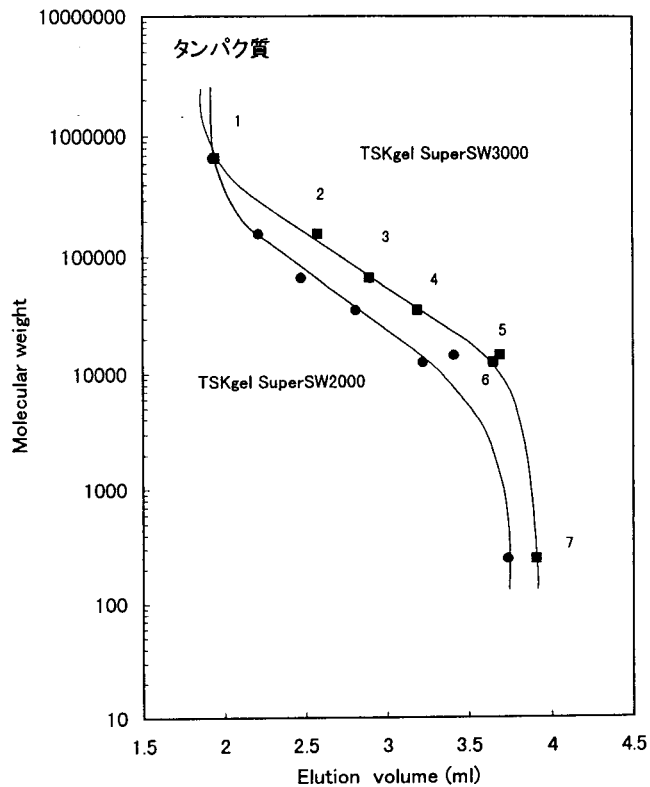


図-2 TSK-GEL SuperSWシリーズのタンパク質校正曲線

カラム ; TSK-GEL SuperSWシリーズ

(4.6mm I.D.×30cm)

溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液 (pH6.7)

流速 ; 0.35ml/min

検出器 ; UV (280nm)

試料 ; 標準タンパク質 (5 μ l, 各0.1mg/ml)

1. チログロブリン
2. γ -グロブリン
3. 牛血清アルブミン
4. β -ラクトグロブリン
5. リゾチーム
6. シトクロムC
7. グリシン4量体

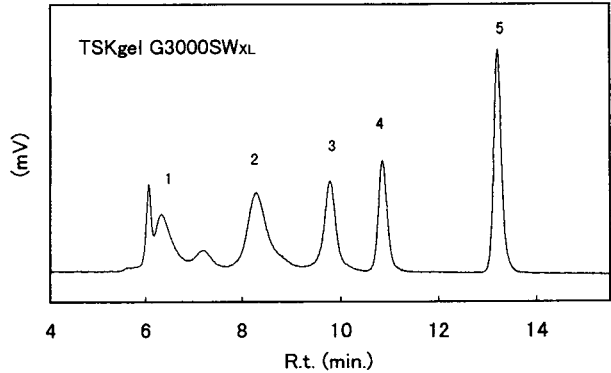
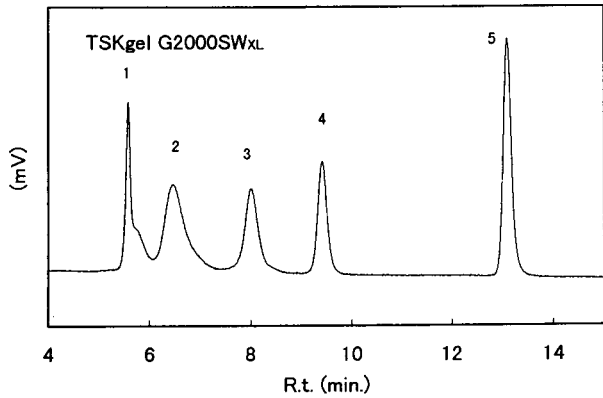
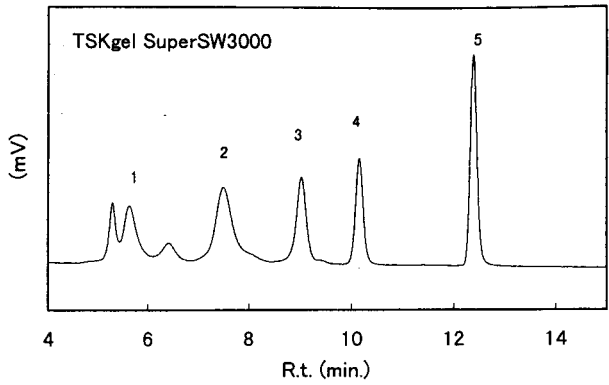
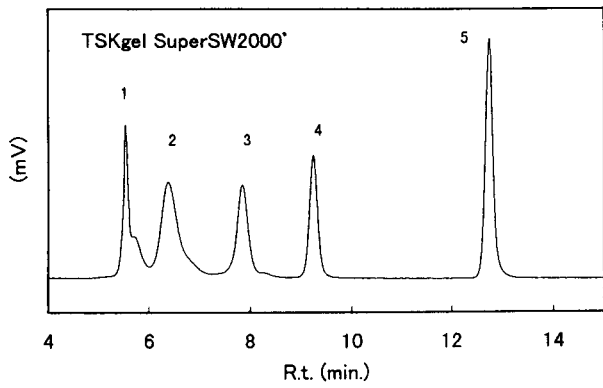


図-3 TSKgel SuperSW2000とTSKgel G2000SW_{XL}の比較

カラム ; TSKgel SuperSW2000 (4.6mm I.D.×30cm)
TSKgel G2000SW_{XL} (7.8mm I.D.×30cm)

溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液 (pH6.7)

流速 ; 0.35ml/min (TSKgel SuperSW2000)
1.00ml/min (TSKgel G2000SW_{XL})

検出 ; UV (280nm)、マイクロセル使用

試料 ; 標準タンパク質 (5 μ l)

1. チログロブリン (0.5mg/ml)
2. γ -グロブリン (1mg/ml)
3. オブアルブミン (1mg/ml)
4. リボヌクレアーゼA (1mg/ml)
5. p-アミノ安息香酸 (0.01mg/ml)

図-4 TSKgel SuperSW3000とTSKgel G3000SW_{XL}の比較

カラム ; TSKgel SuperSW3000 (4.6mm I.D.×30cm)

TSKgel G3000SW_{XL} (7.8mm I.D.×30cm)

条件は図-3に同じ

表-3 TSK-GEL SuperSWシリーズとTSK-GEL SWXLシリーズの分離能比較

	分離能 (Rs)	
	SuperSW2000	G2000SW _{XL}
チログロブリン	2.29	2.24
γ -グロブリン	3.15	2.85
オブアルブミン	4.15	3.55
リボヌクレアーゼA	12.48	11.62
p-アミノ安息香酸		

	分離能 (Rs)	
	SuperSW3000	G3000SW _{XL}
チログロブリン	3.61	—
γ -グロブリン	3.39	2.79
オブアルブミン	3.73	2.94
リボヌクレアーゼA	8.63	7.67
p-アミノ安息香酸		

※検出器にはマイクロセルを使用

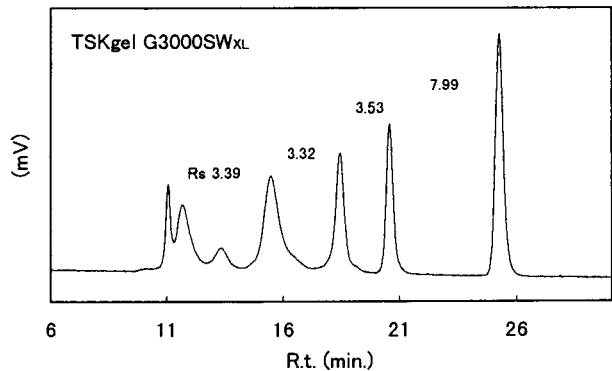
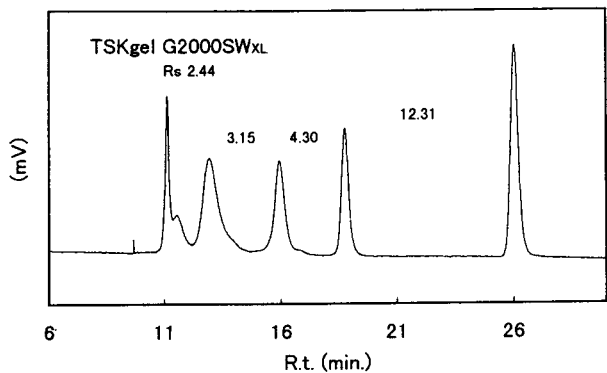
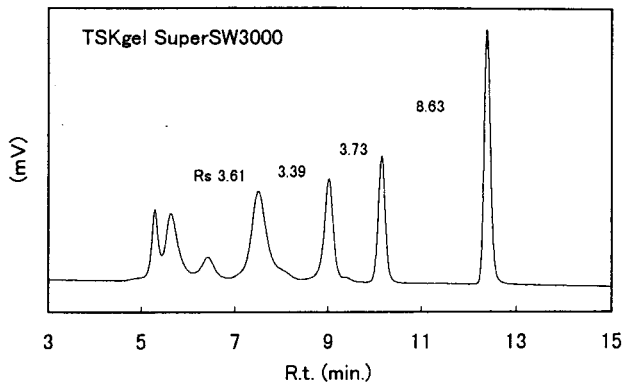
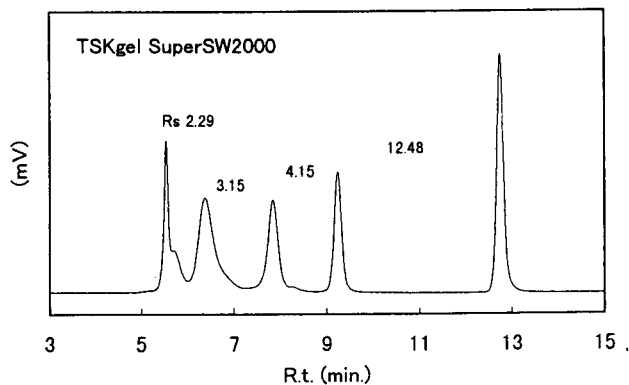


図-5 TSKgel SuperSW2000とTSKgel G2000SW_{xL}の比較

カラム ; TSKgel SuperSW2000 (4.6mm I.D.×30cm)

TSKgel G2000SW_{xL} (7.8mm I.D.×30cm)

溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液 (pH6.7)

流速 ; 0.35ml/min (TSKgel SuperSW2000)

0.50ml/min (TSKgel G2000SW_{xL})

検出 ; UV (280nm)、マイクロセル使用

試料 ; 標準タンパク質 (5 μ l)

1. チログロブリン (0.5mg/ml)
2. γ -グロブリン (1mg/ml)
3. オブアルブミン (1mg/ml)
4. リボヌクレアーゼ A (1mg/ml)
5. p-アミノ安息香酸 (0.01mg/ml)

図-6 TSKgel SuperSW3000とTSKgel G3000SW_{xL}の比較

カラム ; TSKgel SuperSW3000 (4.6mm I.D.×30cm)

TSKgel G3000SW_{xL} (7.8mm I.D.×30cm)

条件は図-5に同じ

3. 基本的性質

3-1 ハードウェア (システム) の最適化

TSK-GEL SuperSWシリーズは高分離能と高感度を有する高性能SECカラムですが、カラム性能を最大限に発揮させるためには検出器のセルや配管類に代表されるハードウェアを最適化する必要があります。ここでは、ハードウェアの最適化について報告します。

TSK-GEL SuperSWシリーズのようにカラム内容積の小さなカラムでは、ハードウェアのボイドボリュームがカラム効率に大きく影響します。ハードウェアのボイドボリュームとして次の3点が考えられます。

- ・ 配管類のボイドボリューム
- ・ 検出器のセル容量
- ・ インジェクタ内での広がり

TSK-GEL SuperSWシリーズでは、これらのボイドボリュームでの広がりを抑える必要があります。

3-1-1 配管類のボイドボリュームについて

図-7にインジェクタ/カラム、及びカラム/検出器間の配管容積がカラム効率に及ぼす影響を示します。配管容積が増えるに従い、配管内での試料の広がりが大きくなりカラム効率は低下します。TSK-GEL SuperSWシリーズでは配管容積が $10\mu\text{l}$ ($0.1\text{mm I.D.}\times 150\text{cm}$)を超えるとカラム効率が低下し始めます。TEK-GEL SuperSWではインジェクタ/カラム、及びカラム/検出器間に 0.1mm I.D. 配管を使用し、配管長を 100cm 以下に抑えることが望まれます。当社では $0.1\text{mm I.D.}\times 40\text{cm}$ 配管、2本セットの「接続パイプセット、Lタイプ」(品番18186)を用意しています。

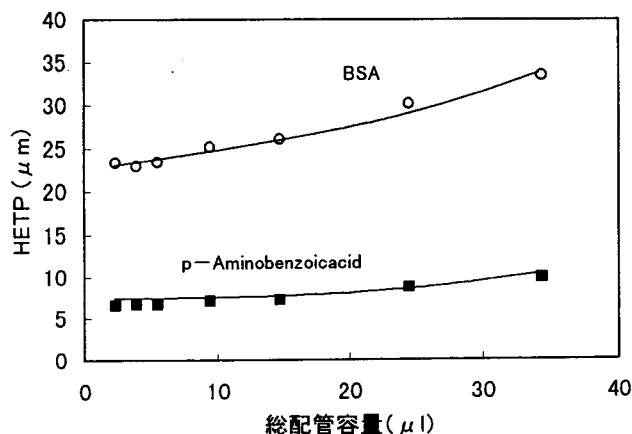


図-7 HETPに及ぼす総配管容量の影響

カラム ; TSKgel SuperSW3000 ($4.6\text{mm I.D.}\times 30\text{cm}$)

溶離液 ; 0.1M リン酸緩衝液 + 0.1M 硫酸ナトリウム + 0.05% アジ化水溶液 (pH 6.7)

流速 ; 0.35ml/min

検出 ; UV (280nm)

試料 ; ウシ血清アルブミン、p-アミノ安息香酸

※配管容量はインジェクタ/カラム間、及びカラム/検出器間の総容量

3-1-2 検出器のセル容積について

表-4に検出器のセルの影響を示します。ローデッドポリリウムタイプのセル（標準セルからヒートシンクを除去したもの）は、マイクロセルに比べてセル容量が大きいためカラム効率が若干低下しますが、低下率を5%以内に抑えることができます。しかし、標準セルではヒートシンクの容量が約30 μ lあるため、カラム効率が約30%も低下します。

一方、感度はセルの光路長に比例します。図-8にマイクロセルとローデッドポリリウムタイプのセルを使用した場合のクロマトグラムを示します。光路長10mmのローデッドポリリウムタイプのセルでは、光路長4mmのマイクロセルを使用した場合に比べて2.5倍の感度が得られます。TSK-GEL SuperSWシリーズでは高分離能を必要とする場合にはマイクロセルを使用し、高感度を必要とする場合にはローデッドポリリウムタイプのセルを使用することが必要です。尚、通常の標準セルを用いた場合でも、TSK-GEL SW_{XL}シリーズと比較すると、約3倍の感度向上となります。

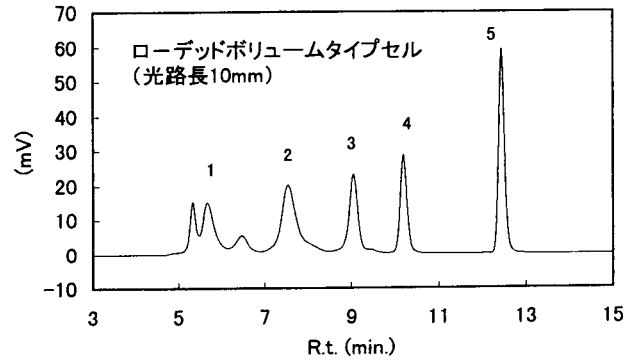
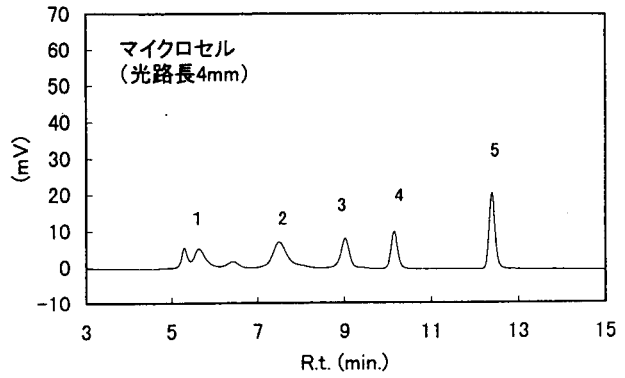


図-8 検出セルの違いによるピーク高さの比較
 カラム；TSKgel SuperSW3000(4.6mmI.D.×30cm)
 条件は図-3に同じ

表-4 セル容量のカラム効率に及ぼす影響

セル容量	カラム段数 (段数の低下率)
2 μ l (マイクロセル)	41,199 (0%)
10 μ l (ローデッドポリリウムタイプ)	40,189 (2.5%)
10 μ l (標準セル)	30,855 (25%)

ローデッドポリリウムタイプ：標準セルで、ヒートシンクを除去したもの (Lタイプ配管を使用)

カラム：TSK-GEL SuperSW3000

溶離液：0.2M リン酸緩衝液 (pH 6.7)，試料：p-アミノ安息香酸

3-1-3 インジェクターについて

図-9にインジェクタと検出器のセルの影響を示します。最もピークの広がりが小さいと考えられる低拡散型インジェクタ（レオダイン8125）とマイクロセルを使用した場合のカラム効率を100%として、インジェクタとセルの影響を検討しました。マイクロセルを使用した場合でも、汎用型インジェクタ（レオダイン7125）ではインジェクタ内での広がりが大きく、カラム効率が約10%低下することがわかります。汎用型インジェクターと標準セルの組み合わせの場合には、カラム効率は20%以上低下します。

TSK-GEL SuperSWのカラム性能を十分に発揮させるためには、低拡散型インジェクタの使用が望ましいと考えられます。また、オートサンプラを使用する場合には、微量試料注入用オートサンプラ（AS-8021等）を使用して下さい。

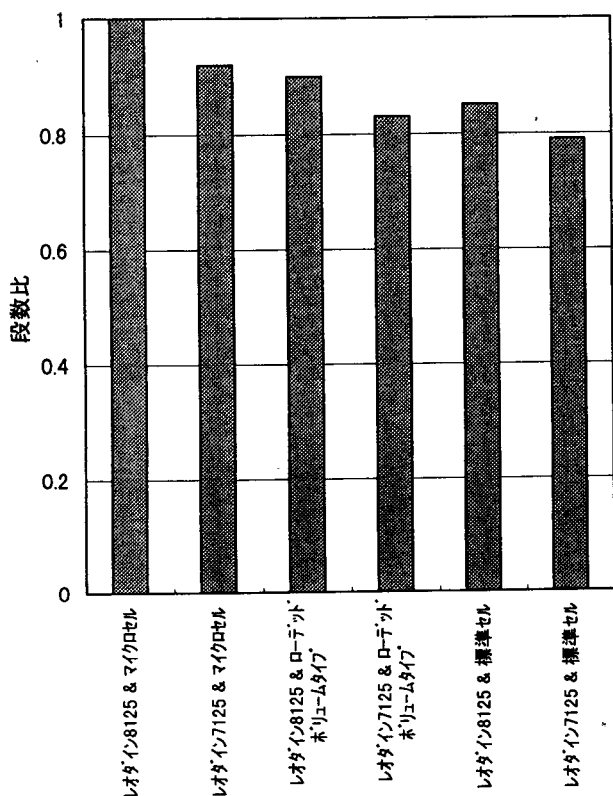


図-9 インジェクター及び検出セルがカラム効率に及ぼす影響

カラム ; TSKgel SuperSW3000(4.6mm I.D.×30cm)
 溶離液 ; 0.1Mリン酸緩衝液+0.1M硫酸ナトリウム
 +0.05%アジ化ナトリウム水溶液(pH6.7)
 流速 ; 0.35ml/min
 検出 ; UV(280nm)
 試料 ; p-アミノ安息香酸(5μl)

3-2 感度

図-10及び図-11に標準タンパク質を用いてTSK-GEL SuperSWシリーズとTSK-GEL SW_{XL}シリーズのピーク強度を比較したクロマトグラムを示します。カラムのダウンサイズ化と高段数化により、TSK-GEL SuperSWシリーズではTSK-GEL SW_{XL}シリーズに比べて約4倍のピーク強度が得られることがわかります。

表-5に主なタンパク質での検出限界を示します。検出限界は試料、分離条件、検出波長およびセルの光路長により異なりますが、TSK-GEL SuperSWシリーズでは光路長10mmのセル（ローデッドボリュームタイプ）を使用した場合、検出限界はSW_{XL}シリーズの約1/2~1/3で、ナノグラムオーダーでの分析も可能です。TSK-GEL SuperSWシリーズは、微量分析に適したSECカラムと言えます。

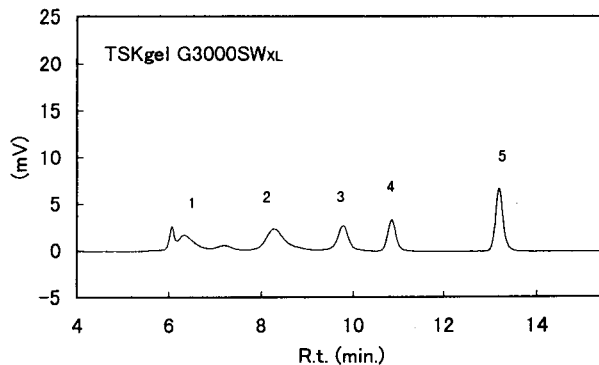
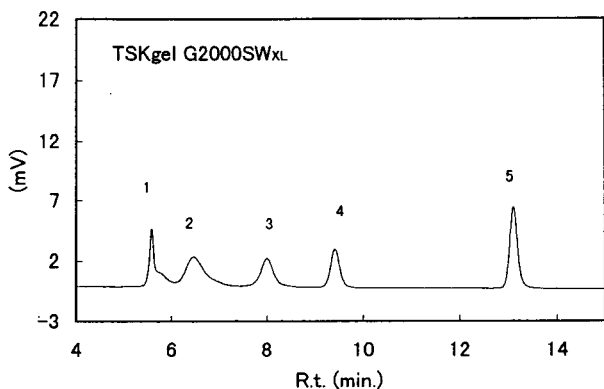
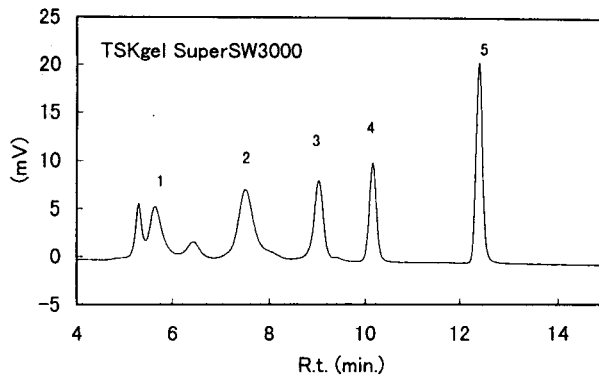
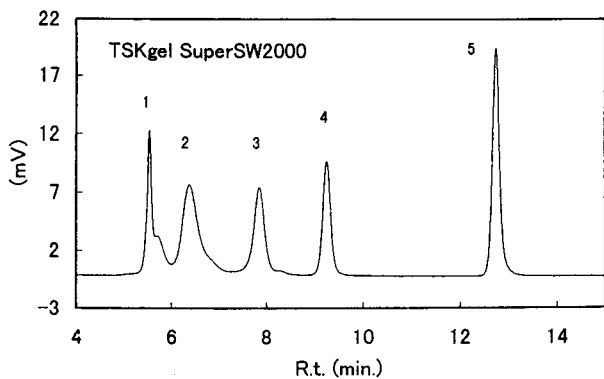


図-10 TSKgel SuperSW2000とTSKgel G2000SW_{XL}の感度比較

カラム ; TSKgel SuperSW2000 (4.6mm I.D.×30cm)
 TSKgel G2000SW_{XL} (7.8mm I.D.×30cm)
 条件は図-3 に同じ

図-11 TSKgel SuperSW3000とTSKgel G3000SW_{XL}の感度比較

カラム ; TSKgel SuperSW3000 (4.6mm I.D.×30cm)
 TSKgel G3000SW_{XL} (7.8mm I.D.×30cm)
 条件は図-3 に同じ

表-5 タンパク質の検出限界 (S/N=3)

	SuperSW3000		G3000SW _{XL}
	標準セル (ローデットタイプ) 光路長 10mm	マイクロセル 4 mm	標準セル (ローデットタイプ) 10mm
チロ球蛋白	70 ng	300 ng	200 ng
γ-球蛋白	50 ng	100 ng	100 ng
ウシ血清アルブミン	70 ng	300 ng	200 ng
オブアルブミン	50 ng	100 ng	100 ng
ミオグロビン	15 ng	50 ng	30 ng

カラム : TSKgel SuperSW3000 (4.6mm I.D.×30cm)
 溶離液 : 0.2M リン酸緩衝液 (pH 6.7)
 検出 : UV (280nm)

3-3 理論段高さ(HETP)の流速依存性

流速の理論段高さ(HETP)への影響は充填剤の粒子径、試料の分子サイズ、溶離液の粘度などに依存します。代表的な例として、ウシ血清アルブミン(BSA)とミオグロビンをを用いTSK-GEL SuperSWシリーズとTSK-GEL SW_{XL}シリーズにおけるHETPへの流速依存性を図-12に示します。粒子径が小さいため、TSK-GEL SuperSWシリーズはTSK-GEL SW_{XL}シリーズに比べて、全流速範囲でHETPは小さく、流速依存性も小さいことがわかります。TSK-GEL SuperSWシリーズの適正流速は0.1~0.35 ml/minです。

図-13に市販分子量マーカーを用いて、各流速でのクロマトグラフを示します。表-6にクロマトグラムから求めた分離能(Rs)を示します。流速を遅くすると、高分子量タンパク質の分離が良くなり、流速0.05 ml/minでは0.35 ml/minの2倍の分離能が得られます。TSK-GEL SuperSWシリーズは、従来に比べて流速依存性の小さなカラムですが、より高い分離能が必要な場合には流速を遅くして使用して下さい。

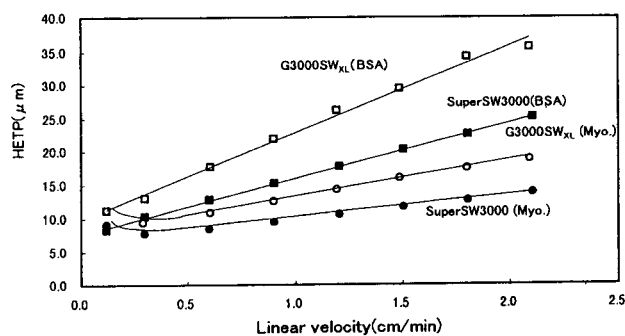
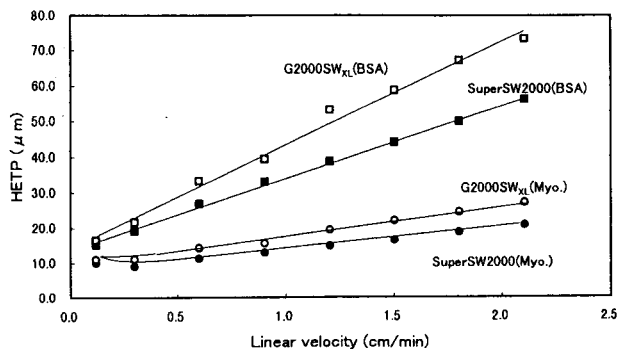


図-12 TSK-GEL SuperSWシリーズ及びTSK-GEL SW_{XL}シリーズにおける流速とHETPの関係

カラム ; TSK-GEL SuperSWシリーズ

(4.6mm I.D.×30cm)

TSK-GEL SW_{XL}シリーズ(7.8mm I.D.×30cm)

溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液 (pH6.7)

検出 ; UV (280nm)、マイクロセル使用

試料 ; 標準タンパク質 (5μl)

牛血清アルブミン (1mg/ml)

ミオグロビン (1mg/ml)

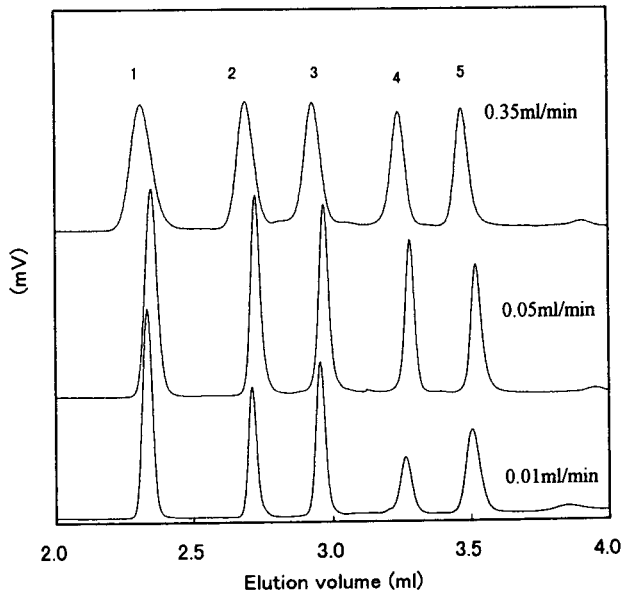


表-6 流速と分離能の関係

	分離能 (Rs)		
	0.35ml/min	0.05ml/min	0.01ml/min
グルタミン酸デヒドロゲナーゼ	2.91	5.10	6.13
乳酸デヒドロゲナーゼ	2.13	3.78	4.12
エノラーゼ	2.97	4.79	4.75
アデニル酸キナーゼ	2.44	3.50	3.18
シトクロムc			

図-13 分離に及ぼす流速の影響

カラム ; TSKgel SuperSW3000 (4.6mm I.D. × 30cm)

溶離液 ; 0.1Mリン酸緩衝液 + 0.1M硫酸ナトリウム
+ 0.05%アジ化ナトリウム水溶液 (pH6.7)

流速 ; 0.01, 0.05, 0.35ml/min

温度 ; 25°C

検出 ; UV (280nm)、マイクロセル使用

試料 ; 1. グルタミン酸デヒドロゲナーゼ

2. 乳酸デヒドロゲナーゼ

3. エノラーゼ

4. アデニル酸キナーゼ

5. シトクロム c

3-4 試料負荷量

図-14に注入量一定条件下での試料負荷量がHETPに及ぼす影響を示します。TSK-GEL SuperSWシリーズのほうがTSK-GEL SW_{XL}シリーズに比べてHETPは小さいのですが、負荷量100 μ g以上では急激に増大することがわかります。TSK-GEL SuperSWシリーズでは負荷量100 μ g以下での使用が望ましいことがわかります。

図-15に試料濃度一定条件下での注入量がHETPに及ぼす影響を示します。HETPが変化し始める注入量もTSK-GEL SuperSWシリーズでは約10 μ lで、TSK-GEL SW_{XL}シリーズに比べて少ないことがわかります。

TSK-GEL SuperSWシリーズの試料条件は試料負荷量100 μ g以下、試料注入量10 μ l以下が望ましいと考えられます。

3-5 タンパク質回収率

表-7に試料濃度20 μ g/ml(試料負荷量 100ng)でのタンパク質回収率を示します。TSK-GEL SW_{XL}シリーズでは、試料負荷量1 μ gでのチログロブリンの回収率は70%台でした。また、試料負荷量が1 μ g以下では回収率が低下しました(当セパレーションレポートNo.46参照)。一方、TSK-GEL SuperSWシリーズでは試料負荷量が100ngの場合でも、ほとんどのタンパク質が定量的に回収されることがわかりました。TSK-GEL SuperSWシリーズは試料負荷量が1 μ g以下の微量分析でも高いタンパク質回収率を得ることが出来ます。

TSK-GEL SuperSWシリーズは試料濃度が低い場合にも高い回収率を有していますが、HPLCの微量分析ではカラム以外のHPLCシステム(配管等)で試料が吸着されることがあります。微量分析を行う場合には、測定前に数回、類似の試料を注入し、予めシステム内の吸着点を不活化することが重要です。

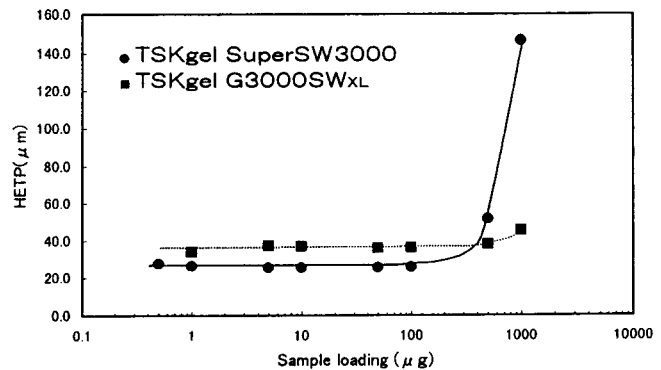
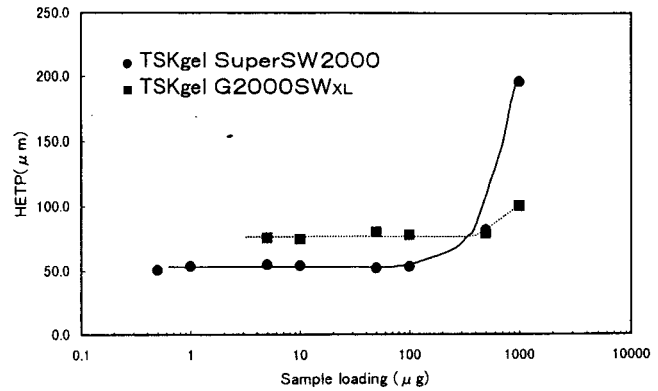


図-14 TSK-GEL SuperSWシリーズ及びTSK-GEL SW_{XL}シリーズにおける試料負荷量とHETPの関係

カラム ; TSK-GEL SuperSWシリーズ

(4.6mm I.D. \times 30cm)

TSK-GEL SW_{XL}シリーズ

(7.8mm I.D. \times 30cm)

溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液 (pH6.7)

流速 ; 0.35ml/min (TSK-GEL SuperSWシリーズ)

1.00ml/min (TSK-GEL SW_{XL}シリーズ)

検出 ; UV (280nm)、マイクロセル使用

試料 ; ウシ血清アルブミン (5 μ l)

表-7 タンパク質の回収率

	SuperSW2000	SuperSW3000
チログロブリン	86%	97%
γ-グロブリン	90%	90%
ウシ血清アルブミン	99%	86%
オプアルブミン	97%	98%
リボヌクレアーゼA	86%	87%
ミオグロビン	93%	96%
シトクロムc	85%	90%
リゾチーム	93%	89%

溶離液：0.2M リン酸緩衝液 (pH6.7)

流速：0.35ml/min

検出器：UV (280nm), マイクロセル使用

試料：100ng (20μg/ml, 5μl)

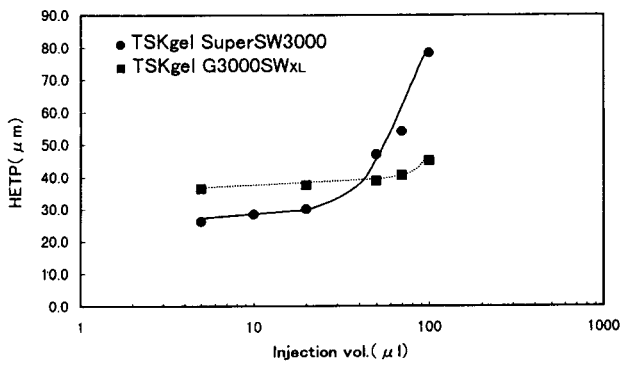
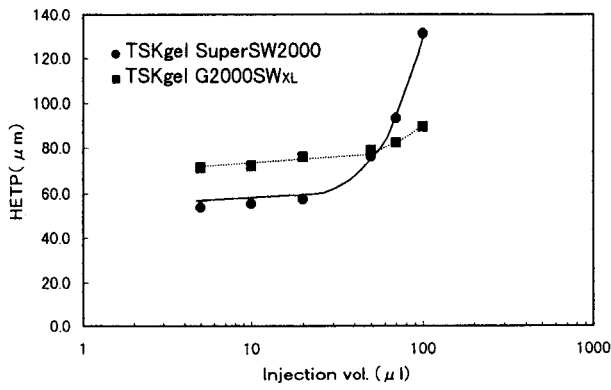


図-15 TSK-GEL SuperSWシリーズ及びTSK-GEL SW_{XL}シリーズにおける注入量とHETPの関係

カラム；TSK-GEL SuperSWシリーズ

(4.6mmI.D.×30cm)

TSK-GEL SW_{XL}シリーズ(7.8mmI.D.×30cm)

溶離液；0.2Mリン酸緩衝液(pH6.7)

流速；0.35ml/min(TSK-GEL SuperSWシリーズ)

1.00ml/min(TSK-GEL SW_{XL}シリーズ)

検出；UV(280nm)、マイクロセル使用

試料；ウシ血清アルブミン(0.2mg/ml)

4. TSK-GEL SuperSWシリーズを用いた応用例

図-16にTSKgel SuperSW2000を用いたペプチド混合物の分離例を示します。図-17、18および19にTSKgel SuperSW3000を用いた市販グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ、マウス腹水モノクロナール抗体 (IgG₁) および人血清の分離例を示します。

5 おわりに

TSK-GEL SuperSWシリーズは従来のTSK-GEL SW_{XL}シリーズをさらに微粒子化し、同時にカラムをダウンサイズ化することにより分離と感度を向上させたカラムです。従来のTSK-GEL SW_{XL}シリーズに比べて分離能で1.2-1.5倍、感度は約2-3倍に向上しています。また、低濃度の試料注入でも高い回収率を有しており、生体分子の微量分析に適しています。

TSK-GEL SuperSWシリーズの性能をより良く引き出すために、出来る限りデットボリュームを小さくしたシステムでの分離を行って下さい。カラム外でのピークの広がりや分離性能を低下させる大きな原因となります。表-8にTSK-GEL SuperSWシリーズの使用上の注意点をまとめます。

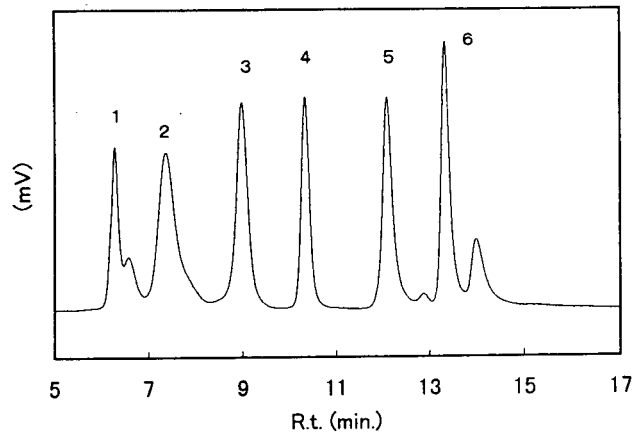


図-16 タンパク質・ペプチド混合物の分離

カラム ; TSKgel SuperSW2000 (4.6mm I.D. × 30cm)

溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液 (pH6.7)

流速 ; 0.35ml/min

検出器 ; UV (220nm)、マイクロセル使用

試料 ; タンパク質・ペプチド混合物 (5μl)

1. チログロブリン (0.1mg/ml)
2. γ-グロブリン (0.2mg/ml)
3. オブアルブミン (0.2mg/ml)
4. ミオグロビン (0.1mg/ml)
5. インシュリン (0.1mg/ml)
6. オキシトシン (0.1mg/ml)

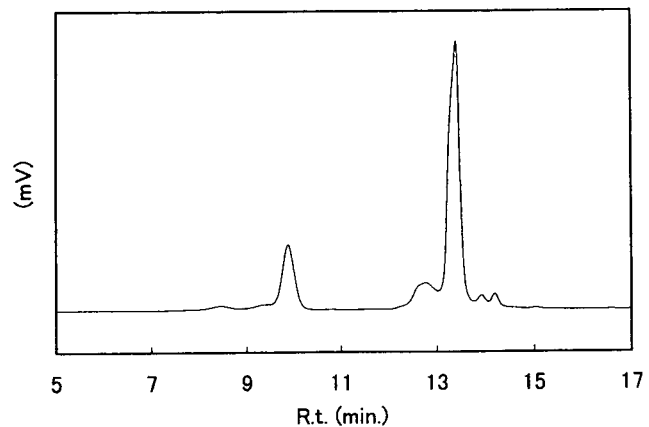


図-17 市販グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼの分離

カラム ; TSKgel SuperSW3000 (4.6mm I.D. × 30cm)

溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液 (pH6.7)

流速 ; 0.35ml/min

検出器 ; UV (280nm)、マイクロセル使用

試料 ; グルタミン酸-オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (1mg/ml, 5μl)

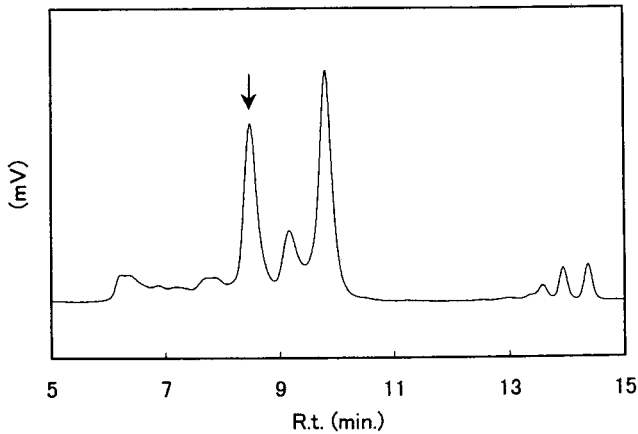


図-18 マウス腹水モノクローナル抗体(IgG₁)の分離

カラム ; TSKgel SuperSW3000(4.6mm I.D.×30cm)
 溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液(pH6.7)
 流速 ; 0.35ml/min
 検出 ; UV(280nm)、マイクロセル使用
 試料 ; マウス腹水(5 μ m)

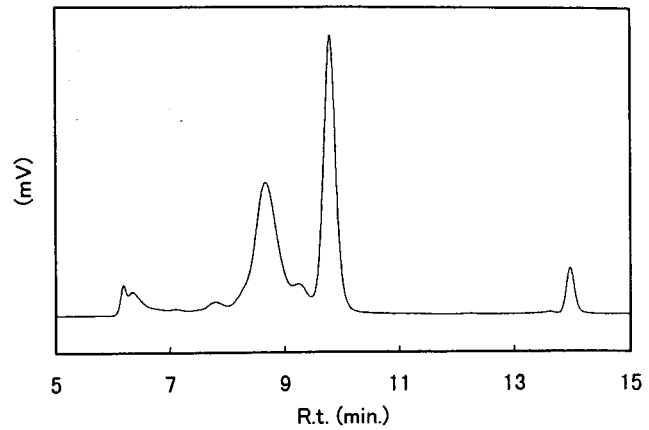


図-19 人血清の分離

カラム ; TSKgel SuperSW3000(4.6mm I.D.×30cm)
 溶離液 ; 0.2Mリン酸緩衝液(pH6.7)
 流速 ; 0.35ml/min
 検出器 ; UV(280nm)、マイクロセル使用
 試料 ; 人血清(5 μ l)

表-8 TSK-GEL SuperSWシリーズ使用上の注意点

- * 配管、検出器等でのピークの広がりを抑える。
- * サンプルがオーバーロードしないようにする。
- * 流速が遅いので、ポンプの流速に注意する。

配管 :

0.1mm I.D.配管を使用。配管の総合計の長さは100cm以下が望ましい。

接続パイプセット・Lタイプ (品番018186 : 0.1mm I.D.×40cm、2組入り) が使用可能 ; 接続面 (両末端) はファインカット仕上げ

0.1mm I.D.配管が必要な部分

- a) インジェクションバルブ / カラム入口間、あるいはオートサンブラ / カラム入口間
- b) カラム出口 / 検出器入口間 (検出器入口側配管)

ポンプ :

セミマイクロ対応ポンプDP-8020の使用が望ましい。

流速は0.1~0.35ml/min。

インジェクタ及びオートサンブラ :

低拡散型インジェクタ(レオダイン8125)もしくはオートサンブラAS-8021が望ましい。

ガードカラム :

ガードカラム(品番 18762)を必ず接続し、カラムを保護する。

(ガードカラムには、接続用配管セットが標準付属品となっています。)

検出器 :

UV検出器は、マイクロフローセルあるいはローデッドボリュームタイプのセルを使用して下さい。高感度分析を行う場合にはローデッドボリュームタイプのセルが有効です。

(標準セルでの使用も可能です。ただし理論段数はマイクロセルの使用時の約80%となります)

UV-8020 : マイクロフローセル (品番17545)

標準セル (入口側配管をLタイプ配管に交換したローデッドボリュームタイプが望ましい。)

試料 : 試料注入量は、1~10 μ l。試料負荷量100 μ g以下。