

OPERATING CONDITIONS and SPECIFICATIONS

TSKgel® Chelate-5PW / TSKgel® Chelate-5PW Glass

分析カラム					接続方式/接続部品	適応ガードカラム		
品番	品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	粒子径 (μ m)	カラム材質		品番	品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)
0008645	TSKgel Chelate-5PW	7.5×7.5	10	ステンレス	フェール方式 1/16 インチチューブ	0008647	TSKgel guardgel Chelate-5PW kit	6.0×1
0008646		21.5×15	13			-	-	-
0014440	TSKgel Chelate-5PW Glass	5.0×5	10	ガラス	つば付フランジ方式 1/4 インチ-28UNF	-	-	-
0014441		8.0×7.5				-	-	-

この OCS シートには、適切な使用条件及び仕様が記載されています。一般的な使用法は TSKgel 取扱説明書をご覧ください。

A. 使用条件及び仕様

- 出荷溶媒 10mmol/L 酢酸塩緩衝液 (pH4.5)
- 最大圧力損失、最大流速、適正流速及び溶媒置換流速

品番	品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	最大圧力損失 (MPa)	最大流速 (mL/min)	適正流速 (mL/min)	溶媒置換流速 (mL/min)
0008645	TSKgel Chelate-5PW	7.5×7.5	1.0	1.2	0.5~1.0	≤0.3
0008646		21.5×15	1.5	8	4~6	≤2
0014440	TSKgel Chelate-5PW Glass	5.0×5	2.0	1.0	0.5~0.8	≤0.3
0014441		8.0×7.5	1.5	1.2	0.5~1.0	

注記 カラム圧力は、移動相の種類(緩衝液、塩濃度及び有機溶媒濃度)、カラム温度及びグラジエント条件によって異なります。
最大圧力損失を超える場合は、流速を下げてご使用ください。特にガラスカラムの場合は、ガラスの破損の恐れがあります。

- 移動相
 - (1) 水、塩の水溶液及び/又は緩衝液
 - (2) 20%以下の水溶性有機溶媒
 - (3) pH 2.0 ~ 12.0

注記 1 水は超純水又はそれに準じたグレードをご使用ください。有機溶媒及び試薬類は特級又は HPLC 用のご使用をお勧めします。
注記 2 出荷溶媒から水に置換した後、移動相に置換してご使用ください。
注記 3 有機溶媒は塩が析出しない条件でご使用ください。
- 使用温度範囲 4~45°C
- 使用方法
 - (1) 金属イオンの固定化
 - 1) 初期移動相に置換してください。初期移動相には金属イオンとたんぱく質が結合しやすい中性領域 (pH7.0~8.0) が適しています。以下に、典型的な初期移動相を例示します。
例 1 20 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液+0.5 mol/L 塩化ナトリウム (pH 8.0)
例 2 20 mmol/L リン酸塩緩衝液+0.5 mol/L 塩化ナトリウム (pH 7.0)
 - 2) 金属イオン (Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺ など) 水溶液を注入して固定させてください。
注記 1 金属イオンの結合量はカラム容積 1 mL 当たり約 20 μ mol です。
注記 2 金属イオンを固定するには、EDTA 及びクエン酸などのキレート剤は使用しないでください。また、Cu²⁺ 及び Zn²⁺ を使用する場合は、イオン交換作用を抑制するため、移動相に 0.5 ~ 1.0 mol/L の塩化ナトリウムを加えてください。
 - (2) たんぱく質の吸着
試料を注入して、たんぱく質を充填剤に吸着させてください。
 - (3) たんぱく質の脱着
 - 1) 濃度グラジエントによる脱着
グリシン、ヒスタミン、イミダゾール又は塩化アンモニウムなどの濃度グラジエントによって脱着可能です。
以下に、典型的な脱着用の移動相を例示しますが、たんぱく質によって脱着の最適条件は異なります。
例 1 20 mmol/L トリス塩酸塩緩衝液+0.5 mol/L 塩化ナトリウム+0.2 ~ 0.5 mol/L グリシン (pH 8.0)
例 2 20 mmol/L リン酸塩緩衝液+0.5 mol/L 塩化ナトリウム+20 mmol/L イミダゾール (pH 7.0)
 - 2) pH グラジエントによる脱着
金属イオンとたんぱく質との結合力は、酸性条件下において低下します。そのため、移動相の pH を中性から酸性へ変化させる pH グラジエント (代表的な例として、pH7.0 から pH3.0) によって脱着可能です。
 - 3) キレート剤による脱着
EDTA 及び EGTA などのキレート剤を添加した移動相を通液して脱着させます。たんぱく質は、金属イオンと結合した状態で脱着されるため、その種類に拠らず一度に溶出されます。
 - (4) 金属イオンの変更
充填剤表面の金属イオンを除去し、固定化する金属イオンの種類を変更する場合などに実施します。
50 mmol/L EDTA と 0.5 mol/L 塩化ナトリウムを含む水溶液を 10 ~ 20 mL (21.5 mm×15 cm カラムの場合 130 ~ 150 mL) 通液してください。

6. 保存 (1) 手順 :
 1) 移動相として塩の水溶液を使用した場合は、水で置換してください。
 2) 出荷溶媒に置換した後、カラムを装置から取り外し、両端をエンドプラグで密栓し保存してください。
 注記 溶媒の置換は、溶媒置換流速で行ってください。
 (2) 保存温度 : 15 ~ 30 °C
7. 洗浄 (1)及び(2)の操作を行ってください。カラム性能を確認し、回復していない場合は、(3)及び(4)の操作を行ってください。なお、(4)は、カラム内に尿素又は中性界面活性剤が残存する場合がありますので、(1)~(3)で回復しない場合にのみ実施してください。
 (1) イオン性物質の除去
 塩濃度を高くした移動相又は酸性水溶液を通液してください。有機溶媒を含む場合には、塩の析出に十分注意してください。
 (2) 疎水性物質の除去
 有機溶媒濃度を高くした移動相を通液してください。その際、塩の析出に十分注意してください。
 (3) (1)及び(2)で回復しない場合の洗浄方法
 インジェクターから、0.1~0.2 mol/L の水酸化ナトリウム水溶液又は 20~40 %の酢酸水溶液を数回注入してください。
 (4) 難溶性たんぱく質の除去
 6~8 mol/L の尿素を添加した移動相又は 0.2~0.3 %の中性界面活性剤 (Triton、Tween、Brij など) を添加した移動相を通液してください。
 注記 1 吸着物質の種類によっては回復しない場合があります。
 注記 2 カラムの洗浄は、溶媒置換流速で行ってください。
8. ガードカラム ガードカラムが用意されているカラムには、カラム保護のためガードカラムをご使用ください。
9. 廃棄上の注意 充填剤は、可燃性(ビニル共重合物)です。
 廃棄する場合には、TSKgel 取扱説明書に記載の“取扱い上のご注意”をご参照ください。

“Triton”は Union Carbide Corporation の登録商標です。
 “Tween”は Croda International Plc の登録商標です。
 “Brij”は Croda Americas LLC の登録商標です。
 “TSKgel”は日本、米国、欧州共同体などにおける東ソー株式会社の登録商標です。

B. 品質規格

このカラムは次の規格で出荷されています。検定条件及び検定結果は、INSPECTION DATA SHEET に記載されています。

品番	品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	理論段数	非対称係数
0008645	TSKgel Chelate-5PW	7.5×7.5	≥1300	0.8 ~ 1.6
0008646		21.5×15	≥2500	
0014440	TSKgel Chelate-5PW Glass	5.0×5	≥500	0.7 ~ 1.6
0014441		8.0×7.5	≥1300	

