

使用説明書

マクロポアイオン交換担体

MacroSep IEX Q

① はじめに

このたびは MacroSep IEX Qをお買い上げいただき、ありがとうございます。MacroSep IEX Qは、高強度のマクロポア構造を有する親水性メタクリレートポリマーに強アニオン交換基(第4級アンモニウム基)を導入したイオン交換担体です。

弊社は MacroSep IEX Qの製造にあたり厳格な品質管理を行い、安定した品質の製品をお客様にお届けしております。お届けしました製品の性能を十分に発揮させてご使用いただくために本使用説明書をご一読ください。

② 製品仕様一覧表

項目	強アニオン交換体 MacroSep IEX Q
粒子径(μm)	30
細孔径(nm)	900
基材	親水性メタクリレートポリマー
イオン交換基	-R-N ⁺ (CH ₃) ₃
使用pH 範囲	2-12
使用温度範囲(°C)	4-60
使用圧力範囲	常用(推奨):2 MPa以下 上限:3 MPa
出荷溶媒	20%エタノール水溶液
用途	ウイルスベクターやプラスミドDNAなどのサイズが大きい新モダリティの精製に有用

③ 充填方法

3-1 担体の前処理

推奨する前処理溶媒 : 蒸留水、緩衝液、20%エタノール溶液

1. 充填するカラム容積に対し、沈降している担体量として1.05~1.10倍量(目安)です。懸濁させた担体を必要なスラリー溶液の5倍量以上の容器に移し、静置後に担体量を確認してください。
2. 担体の4倍量の前処理溶媒を加えてください。
3. 攪拌棒を使用して静かに攪拌し、懸濁させます。担体の破損を防ぐために鋭利なものや攪拌子は使用しないでください。
4. 担体が沈降するまで静置させます。静置時間の目安は約120分です。
5. デカンテーションにより上澄み液を流し出してください。
6. 上澄み液の濁りがなくなるまで2~5の手順を繰り返してください。

3-2 スラリーの調製とカラムへの充填

推奨する充填用溶媒 : 高イオン強度溶媒(使用する溶離液のうち最もイオン強度が高い溶媒、1 M NaCl、0.5 M Na₂SO₄など)

1. 3-1 担体の前処理にて20%エタノールを使用した場合は、蒸留水でろ過洗浄します。蒸留水もしくは緩衝液を使用した際はこの手順を省きます。
2. 担体の約3倍量の充填用溶媒でろ過洗浄します。
3. スラリー濃度が30~50%(体積比)になるように充填用溶媒を加えてスラリー化し、カラムにゆっくりとスラリーを流し込みます。このとき気泡が入らないようご注意ください。
4. 充填用溶媒を使用流速の約2倍を目安として充填層が安定するまで通液してください。
5. 通液により、目的とするカラム容積が得られます。押し込み型のカラム使用時は、押し込みを実施することでカラム性能が良好になる場合があります。

注) 充填するカラムの使用説明書も合わせてご参照ください。カラムによって充填方法の変更が可能です。

3-3 カラム性能の確認(充填状態の評価)

充填後、カラム性能評価を実施し理論段数(N)、ピーク形状を確認してください。目標とする理論段数(N)、非対称係数(As)が得られない場合は、充填条件(スラリー濃度や充填用溶媒を通液する際の流速など)を再検討してください。

充填状態評価の検査条件例

条件例1			条件例2			カラム性能		
溶離液	0.5 M NaCl	20 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 8)			粒子径	30 μm		
サンプル	1 M NaCl	ホルムアミド (2 μL/mL)			理論段数 (N/m)	≥ 5,000		
検出	導電率	UV at 220 nm			非対称係数 (As)	0.7~1.7		
線流速	70~90 cm/h 程度							
温度	室温(25°C)							
注入量	ベッド体積の1%							

*あくまでも目安であり、この範囲外であってもご使用の条件によっては十分な性能が得られる場合があります。

*システム流路における試料の拡散(カラム外拡散)はカラム性能に大きく影響します。充填条件を変えてもカラム性能が変化しない場合、配管径や装置性能が評価カラムに適しているかご確認ください。

④ 平衡化および溶出

- ・ 分離前のカラムの平衡化は、カラム容積の5~10倍量を目安に初期溶離液を通液してください。
- ・ 20~50 mMの緩衝液を初期溶離液として目的試料を吸着させ、塩グラジエントにより対象物を溶出させて分離します。塩濃度は0~1 M程度の範囲で上げるリアグラジエントが一般的ですが、対象物がうまく溶出できない場合は対象物を失活させない範囲でさらに高塩濃度で溶出させることも有効です。また、使用する塩の種類の変更およびpHグラジエントを用いることで分離が改善する場合があります。最終溶離液で溶出されずに残った夾雑物を除去するため、1回の分離ごとにさらに高塩濃度の溶離液の通液をお勧めします。
- ・ 水溶性有機溶媒は 30%程度まで溶離液へ添加可能です。添加前に緩衝液中の塩が析出しないことを確認してください。

⑤ 洗浄

試料中の脂溶性物質や溶解性の小さい物質等のカラムへの吸着により、保持やピーク形状の変化、圧力上昇が生じることがあります。この場合、以下に示す手順で洗浄・再生を行ってください。

5-1 一般的な洗浄方法

- ・ 定置洗浄(Cleaning in place, CIP)

カラム性能に変化が生じた場合や、長期保存前には、以下のようなCIPが効果的です(カラムを検出器に接続せずに洗浄することをお勧めします)。

まず、1~2 M NaCl をカラム容積の 3~5 倍量通液します。続いて、0.1~0.5 M NaOH をカラム容積の 3~5 倍量通液します。NaOH 通液は、濃度を上げる(~1 M)、流速を遅くして接触時間を長くすることで、洗浄効果を上げることができます。中和のため、1~2 M NaCl をカラム容積の 3~5 倍量通液します。中和後、使用する溶離液で十分に平衡化してください。長期保存時は、中和後に蒸留水で洗浄した後に 20%エタノールに置換して保存してください(「⑥保存」の項に従う)。

なお、カラム圧力が高くなる場合は流速を下げてください。

- ・ バッチ洗浄

担体量に対し3~5倍の洗浄液に浸漬し、攪拌してください。静置後、デカンテーションにより上澄み液を流し出します。この操作を2、3回繰り返します。洗浄液として、CIPと同じ溶媒が使用可能です。

5-2 界面活性剤、その他の添加剤による洗浄

- ・ タンパク質の変性剤として使用される尿素 (≤8 M)や塩酸グアニジン(≤6 M)、非イオン性界面活性剤、カチオン性界面活性剤などの添加が可能です。アニオン性界面活性剤及び酸化剤は使用しないでください。
- ・ 洗浄溶媒の種類(高粘度溶媒等)によっては圧力が高くなる場合があります。その場合は流速を下げてください。

⑥ 保存

製品は20%エタノール水溶液中で、出荷時の容器に密封して4~35°Cで保存してください。

●製品に破損があった場合、ご注文の品と異なる製品が届いた場合には、製品到着後2週間以内にご連絡ください。速やかに交換いたします。2週間を過ぎた製品は良品受領させていただきます。

●製品容器の上部が上向き状態で輸送や保管がされていない場合や、担体が容器壁面や上部に付着していても製品の品質に影響はありません。

ただし担体の乾燥防止のために製品容器は上向き状態で立てて保管し、担体全体を20%エタノール水溶液(製品容器内の保管溶媒)に浸漬させることを推奨します。