

アニオン交換クロマトグラフィーワークフロー

AGILENT BIO IEX HPLC カラム

AGILENT PL-SAX 強アニオン交換カラム

AGILENT BIO-MONOLITH HPLC カラム



本書では、生体分子の特性分析に最適な LC システムとその構成の推奨事項について説明します。また、入門用の一般的なメソッドと、このメソッドを特定の分離目標に合わせて最適化する方法についても説明しています。

Agilent 1260 Infinity バイオイナート LC システム

ガイドライン

- 酸性タンパク質: SAX または WAX
- 移動相の pH を選択する場合は、タンパク質の等電点 (pI) を考慮します。pH が pI より大きいと、タンパク質は負電荷を持ちます。
- 開始時の緩衝液の pH は、pI から 0.5 ~ 1 pH 単位である必要があります (アニオン交換の場合は pI より大きい必要があります)。
- pI が不明の場合、アニオン交換では pH 8.0 で開始します。
- 操作範囲が最も広い SAX カラムで開始します。WAX を使用すると、選択できる範囲が変わります。
- アニオン交換用の緩衝液 (pH 7 ~ 10) には、Bis-Tris、トリス、ジエタノールアミン、ピペラジン等が使用可能です。

移動相

移動相には、必要な動作 pH (通常は 20 mM) を維持するための緩衝液が含まれる必要があります。溶出塩は通常 400 ~ 500 mM です。

Agilent Buffer Advisor は、4 種類の原液をさまざまな割合で組み合わせて必要なグラジエントプロファイルを作成するのに使用します。

サンプル注入量

分解能を最大にするには、1 ~ 10 μ L を注入します。サンプルは移動相または開始時条件よりもイオン強度の弱い条件で溶解します。

流量

4.6 mm の ID カラムの通常の流量は、0.5 ~ 1.0 mL/min です。

カラム温度

上限は 80 $^{\circ}$ C です。カラム寿命を考慮した、一般的な使用条件は 10 ~ 50 $^{\circ}$ C です。

検出

UV、G1315D、10 mm、バイオイナート標準フローセル

**BIO
inert**



カラムの選択

説明	Bio IEX HPLC カラム、PEEK	
	Bio SAX 部品番号	Bio WAX 部品番号
4.6 x 250 mm, 10 μ m	5190-2475	5190-2495
4.6 x 50 mm, 10 μ m	5190-2476	5190-2496
4.6 x 250 mm, 5 μ m	5190-2467	5190-2487
4.6 x 50 mm, 5 μ m	5190-2468	5190-2488
2.1 x 250 mm, 10 μ m	5190-2479	5190-2499
2.1 x 50 mm, 10 μ m	5190-2480	5190-2400
2.1 x 250 mm, 5 μ m	5190-2471	5190-2491
2.1 x 50 mm, 5 μ m	5190-2472	5190-2492

説明	Bio IEX HPLC カラム、ステンレス	
	Bio SAX 部品番号	Bio WAX 部品番号
21.2 x 250 mm, 5 μ m	5190-6883	5190-6877
10 x 250 mm, 5 μ m	5190-6882	5190-6876
4.6 x 250 mm, 10 μ m	5190-2473	5190-2493
4.6 x 150 mm, 3 μ m		5190-6875
4.6 x 250 mm, 5 μ m	5190-2465	5190-2485
4.6 x 50 mm, 3 μ m	5190-2463	5190-2483
4.6 x 50 mm, 1.7 μ m	5190-2461	5190-2481



Agilent Technologies

カラムの選択

結合相	
SAX (強アニオン交換) – N(CH ₃) ₃	
WAX (弱カチオン交換) – N(C ₂ H ₅) ₂	
サンプル	カラム
ペプチドおよびタンパク質	Bio SAX, WAX
球状タンパク質およびペプチド	PL-SAX 1000Å
超大型の生体分子/高速	PL-SAX 4000Å
ウイルス、DNA、高分子量タンパク質、プラスミド	Bio-Monolith QA
DNS、バクテリオファージ	Bio-Monolith DEAE

高速分離プロトコル

カラム: Bio WAX, 4.6 x 250 mm, 5 μm
 緩衝液 A: 20 mM Tris-HCl, pH 8.5
 緩衝液 B: A + 500 mM NaCl
 グラジエント: 1 ~ 100 % B 30 分 (50 mm カラムの場合)、
 60 分 (250 mm カラムの場合)
 流量: 0.5 mL/min
 温度: 室温
 注入量: 10 μL
 サンプル: 1 mg/mL (移動相の場合)
 検出: UV, 220/280 nm

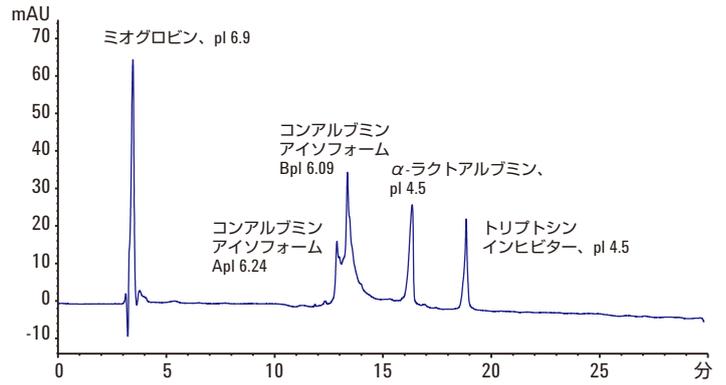
注: または、pH グラジエント (高 ~ 低 pH) を溶出に使用できます。

PL-SAX 強アニオン交換カラム

説明	1000Å	4000Å
	部品番号	部品番号
100 x 300 mm, 10 μm	PL1851-2102	PL1851-2103
50 x 150 mm, 30 μm	PL1751-3702	PL1751-3703
50 x 150 mm, 10 μm	PL1751-3102	PL1751-3103
25 x 150 mm, 30 μm	PL1251-3702	PL1251-3703
25 x 150 mm, 10 μm	PL1251-3102	PL1251-3103
25 x 50 mm, 10 μm	PL1251-1102	PL1251-1103
4.6 x 250 mm, 30 μm	PL1551-5702	PL1551-5703
4.6 x 150 mm, 30 μm	PL1551-3702	PL1551-3703
4.6 x 250 mm, 10 μm	PL1551-5102	PL1551-5103
4.6 x 150 mm, 10 μm	PL1551-3102	PL1551-3103
4.6 x 250 mm, 8 μm	PL1551-3802	PL1551-3803
4.6 x 150 mm, 8 μm	PL1551-1802	PL1551-1803
4.6 x 50 mm, 5 μm	PL1551-1502	PL1551-1503
2.1 x 150 mm, 8 μm	PL1951-3802	PL1951-3803
2.1 x 50 mm, 8 μm	PL1951-1802	PL1951-1803
2.1 x 50 mm, 5 μm	PL1951-1502	PL1951-1503
1 x 50 mm, 5 μm	PL1351-1502	PL1351-1503

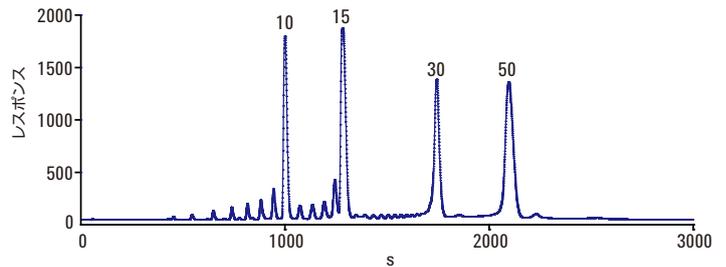
Bio-Monolith HPLC カラム

説明	部品番号
Bio-Monolith QA	5069-3635
Bio-Monolith DEAE	5069-3636



2 M NaCl を溶出塩として使用した、直線グラジエントによる AEX でのタンパク質分離。

カラム: Bio WAX, 4.6 x 250 mm, 5 μm
 緩衝液 A: 20 mM トリス, pH 7.6
 緩衝液 B: 20 mM トリス, pH 7.6 + 2 M NaCl
 グラジエント: 5 分 – 100 % A, 20 分 – 70 % B, 25 分 – 100 % B
 温度: 25 °C
 流量: 0.5 mL/min
 注入量: 5 μL



10 mer, 15 mer, 30 mer, 50 mer (メインピーク) は標準をスパイクしたポリ-T-オリゴヌクレオチドの高度な分離。

カラム: PL-SAX 1000Å, 4.6 x 50 mm, 8 μm
 緩衝液 A: 7:93 v/v アセトニトリル: 100 mM TEAA, pH 8.5
 緩衝液 B: 7:93 v/v アセトニトリル: 100 mM TEAA, 1 M NH₄Cl, pH 8.5
 グラジエント: 10 分で 0 ~ 40 % B, 14 分で 40 ~ 70 % B, 25 分で 70 ~ 100 % B
 温度: 60 °C
 流量: 1.5 mL/min
 検出器: 220 nm

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
 © Agilent Technologies, Inc. 2015
 Printed in Japan, August 1, 2015
 5991-6106JAJP



Agilent Technologies