

サイズ排除クロマトグラフィーのワークフロー

AGILENT BIO SEC-3 および BIO SEC-5 HPLC カラム

本書では、生体分子の特性解析に最適な LC システムとその構成を紹介します。
また、メソッド開発のスタート地点となる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も示します。



Agilent 1260 Infinity バイオイナート LC システム

移動相

イソクラティック溶出: 150 mM リン酸ナトリウム (pH 7.0)、またはタンパク質が溶解して安定するサンプル緩衝液を選択します。Bio SEC-3 および Bio SEC-5 は、最大 30 % の極性有機溶媒が含まれる移動相に対する耐性があります。

ポンプ流量 (G5611A)

内径 7.8 mm の場合は 0.8 ~ 1 mL/min
内径 4.6 mm の場合は 0.2 ~ 0.4 mL/min

サンプル注入量 (G5667A)

1 ~ 5 mg/mL のタンパク質を含むサンプルの場合、
10 ~ 20 µL

カラムコンパートメント (G1316C)

良好な分離が得られる一般的な温度は 25 °C です。
カラム寿命を考慮した、一般的な使用条件は 10 ~ 30 °C です。

検出器 (G1315D)

Agilent 1260 Infinity DAD VL
10 mm バイオイナート標準フローセル

**BIO
inert**



分析速度と分離能を高めるための 推奨グラジエント

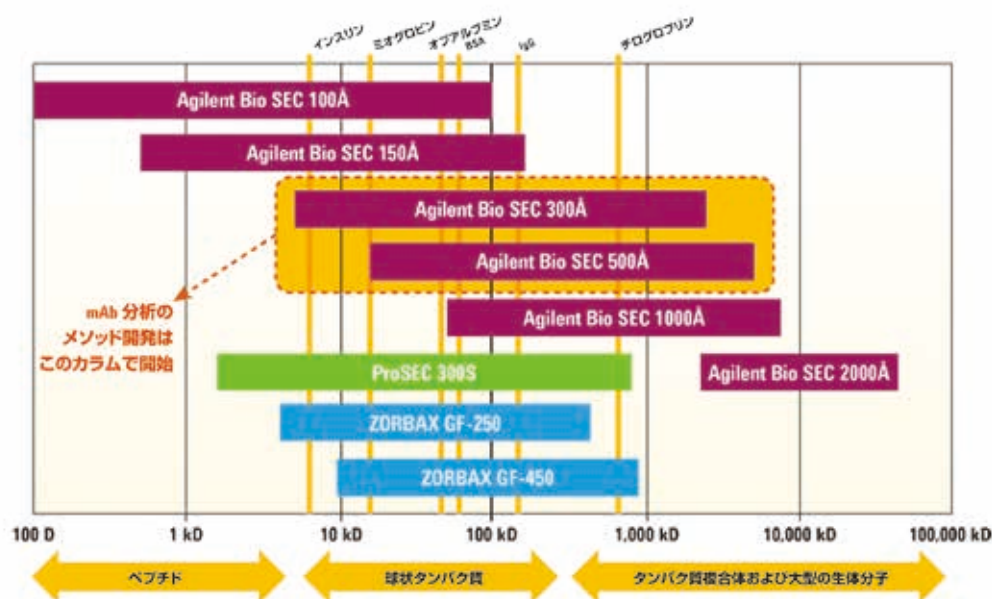
時間	移動相	流量
0~15 分	移動相による イソクラティック溶出	0.8~1 mL/min

	Bio SEC-3 サイズ排除カラム 粒子サイズ 3 µm	Bio SEC-5 サイズ排除カラム 粒子サイズ 5 µm
ポアサイズ	100Å (0.1~100 kDa) 150Å (0.5~150 kDa) 300Å (5~1250 kDa)	100Å (0.1~100 kDa) 150Å (0.5~150 kDa) 300Å (5~1,250 kDa) 500Å (15~5,000 kDa) 1000Å (50~7,500 kDa) 2000Å (>10,000 kDa)
特長	最高の分離能と効率	高い安定性と長寿命
利点	SEC 分離を高速化	良好な再現性



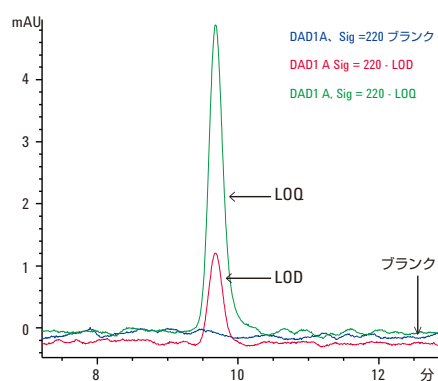
Agilent Technologies

アプリケーションに適した Agilent SEC カラムの選択チャート

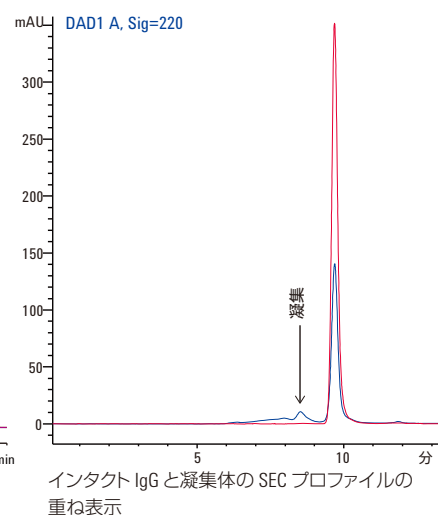
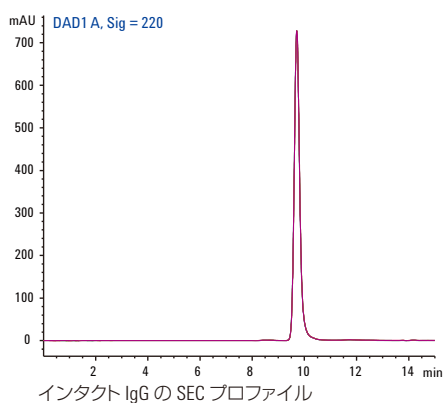


モノクローナル抗体 (IgG) の SEC

カラム: Bio SEC-3、300Å、
7.8 x 300 mm、3 μm
サンプル: IgG1 (1 mg/mL)
注入量: 10 μL
移動相: 50 mM リン酸
ナトリウム緩衝液
(pH 7.4) + 150 mM NaCl
流量: 0.8 mL/min
分析時間: 15 分



IgG の SEC。検出下限 (12.5 μg/mL) および定量下限 (25 μg/mL) とブランクの重ね表示。



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
5991-6109JAJP



Agilent Technologies