

# 사용 설명서

## BioPro IEX Column

단백질 · 핵산 분리용

### ① 머리말

항상 저희 HPLC 용 BioPro IEX Column을 이용해 주셔서 대단히 감사합니다. BioPro IEX Column은 새롭게 개발된 친수성 Polymer에 강음이온 교환기(제4급 암모늄기)/강양이온 교환기(Sulfopropyl기)를 도입한 단백질 · 핵산분리에 최적인 Column입니다. 고분리 · 고흡착량의 Porous Polymer type의 BioPro IEX QA / SP와, 초고속 · 고분리에 적합한 Non-Porous(비다공성) Polymer type의 BioPro IEX QF / SF로 구성되어 있습니다.

YMC는 BioPro IEX Column 제조에 있어서 엄격한 품질관리를 실시하여 항상 안정된 품질의 제품을 제공하고 있습니다.

(검사 성적서 「COLUMN INSPECTION REPORT」를 참조하여 주십시오.)

Column의 성능을 충분히 활용하여 오랫동안 사용하기 위하여 본 사용 설명서를 충분히 숙지하신 후, 올바르게 사용하여 주십시오.

### ② 제품사양 일람표

항목	BioPro IEX QA / BioPro IEX SP			BioPro IEX QF / BioPro IEX SF					
기재	다공성 친수성 Polymer			비다공성 친수성 Polymer					
이온교환기	-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> / -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>			-CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> / -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>					
출하 시 이온	Cl <sup>-</sup> / Na <sup>+</sup>			Cl <sup>-</sup> / Na <sup>+</sup>					
Particle size(μm)	5			5			3		
Column size length X I.D. (mm)	30x4.6	50x4.6	100x4.6	30x4.6	50x4.6	100x4.6	30x4.6	50x4.6	100x4.6
권장유속(mL/min)	0.5~0.8	0.5~0.7	0.4~0.5	1.0~1.5	1.0~1.2	0.2~0.8	0.5~1.0	0.5~1.0	0.2~0.5
최대유속(mL/min)	1.0	0.8	0.6	1.8	1.5	1.0	1.3	1.0	0.6
최대압력(MPa)	2.5	3.0	3.5	6.0	10.0	12.0	25.0	25.0	25.0
사용 pH범위	2.0~12.0			2.0~12.0			2.0~12.0		
사용온도범위(℃)	4~60			4~60			4~60		
Column 재질	PEEK			PEEK			PEEK		

### ③ Column 연결 및 시스템 설정 상 주의점

- 연결 타입은 Waters 호환 사양입니다. 배관 연결 부분에 공극이 있으면 누액이나 Column 성능(이론단수, Peak 대칭성) 저하의 원인이 됩니다. 공극이 생기지 않도록 배관의 Ferrule 끝부분과 절단면에 주의하여 사용하여 주십시오.
- 시스템 유로에서 시료의 확산(column 외 확산)을 저감 시키기 위해서, Injector~Column간과 Column~검출기 간의 배관은 가능한 짧고 내경이 작은(≤0.15 mm추천) 것을 사용하며, 접속 부분에 공극이 생기지 않도록 주의하여 주십시오.
- 검출기의 Response나 데이터 처리 장치의 데이터 샘플링 속도를 Peak폭에 맞춰서 최적화시켜 주십시오.  
특히, BioPro IEX QF / SF에 의한 초고속 분석에서 Retention time은 짧고 Sharp한 Peak가 될 수 있도록 Response는 0.5 sec 이하, 데이터 샘플링 속도는 10 points/sec 이상을 기준으로 하여 주십시오.
- Column 연결 시에는 Column 내에 기포가 들어가지 않도록 주의하여 주십시오.

#### ④ 이동상 및 시료 용액

- Column 출하 시 봉입 용매는 다음과 같습니다.([COLUMN INSPECTION REPORT]에 기재된 검사 이동상과 같음). Column을 장기간 보관하는 경우에도 해당 용매로 치환시켜 주십시오. 1주일 이내로 보관하실 경우, 고농도의 염을 제거한 후에 분석 이동상 그대로 보관하실 수 있습니다.

##### 출하 시 봉입 용매

BioPro IEX QA / QF : 20 mM Tris-HCl buffer (pH 8.1)

BioPro IEX SP / SF : 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)

- Flow방향은 Column 라벨의 화살표 방향입니다. 「②제품 사양 일람표」에 기재되어 있는 최대 유속, 최대 압력 이하로 사용하여 주십시오. 급격한 압력 및 유속의 변동은 Column 성능을 저하시킬 우려가 있으므로 피해 주십시오.
- 일반적으로는 20-50 mM의 완충액을 초기 이동상으로서, 목적 시료를 흡착시켜 염농도 Gradient (NaCl 농도를 0~0.5 M 정도의 범위로 올리는 Gradient가 일반적), 또는 pH Gradient로 용출시켜 분리합니다. 최종 이동상에서는 용출되지 않은 Column에 남은 협잡물을 제거 하기 위해 분석 시 마다 1 M 정도의 NaCl를 포함한 완충액을 흘려 주는 것을 추천 드립니다.
- 수용성 유기용매는 30% 정도까지 이동상에 첨가 할 수 있습니다. 첨가 전에 완충액 안에 염이 석출되는 것을 확인하여 주십시오. 그 외에 단백질 변성제로 사용되는 요소( $\leq 8$  M)나 염산 guanidine ( $\leq 6$  M), 비이온성 계면활성제, 양이온성 계면활성제(BioPro IEX QA/QF), 비이온성 계면활성제(BioPro IEX SP/SF)등만 첨가할 수 있습니다.
- 산화제가 포함된 용매를 이동상으로 사용은 자제하여 주십시오.
- 시료는 초기 이동상과 동일 조성 용매에 용해하여 주십시오. 시료 용액의 염 농도나 pH가 이동상과 다른 경우, Peak확대나 흡착량 저하가 생길 수가 있습니다. 미리 탈염이나 희석 등으로 초기 이동상 조성을 맞추어 주십시오.
- 로딩에 의한 압력 상승이나 Column 열화를 막기 위하여 이동상 및 시료 용액은 미리 0.2~0.5  $\mu$ m의 membrane filter로 여과시켜 주십시오. 아울러, Pre-Column filter (XAPPC02)의 사용을 권장 드립니다.

#### ⑤ Column의 세정(Column 성능에 변화가 있을 경우)

시료 중에 지용성 물질이나 용해성이 작은 물질이 Column에 흡착하여 Retention time이나, Peak 형상의 변화, 압력 상승 등이 생길 수 있습니다. 이 경우, 하기의 순서대로 Column을 세정 하여 주십시오. 세정 후에도 Column 성능이 회복되지 않을 경우, 새로운 Column으로 교환하여 사용하여 주십시오.

우선, Column을 「COLUMN INSPECTION REPORT」에 기재 된 검사 이동상(출하 시 봉입 용매)으로 치환시켜 주십시오. 그 다음, 검사 이동상을 흘려주면서 Injector를 이용해 아래와 같이(1)~(4)의 세정 용매를 순서대로 각 4~5 mL가 될 때까지 주입시켜 주십시오.

(Sample loop  $\geq 2$  mL 등 큰 것이 편리합니다)

##### 세정용매

- (1) 0.2 N NaOH 수용액/acetonitrile (80/20)
- (2) 1 M 초산 수용액
- (3) 비이온성 계면활성제를 첨가한 (예를 들어 0.02% Brij™ 35) 이동상
- (4) 6 M 염산 guanidine을 첨가한 이동상

각 용매로 세정하여 Retention time과 Peak 형상이 회복되는지 확인하여 주십시오.