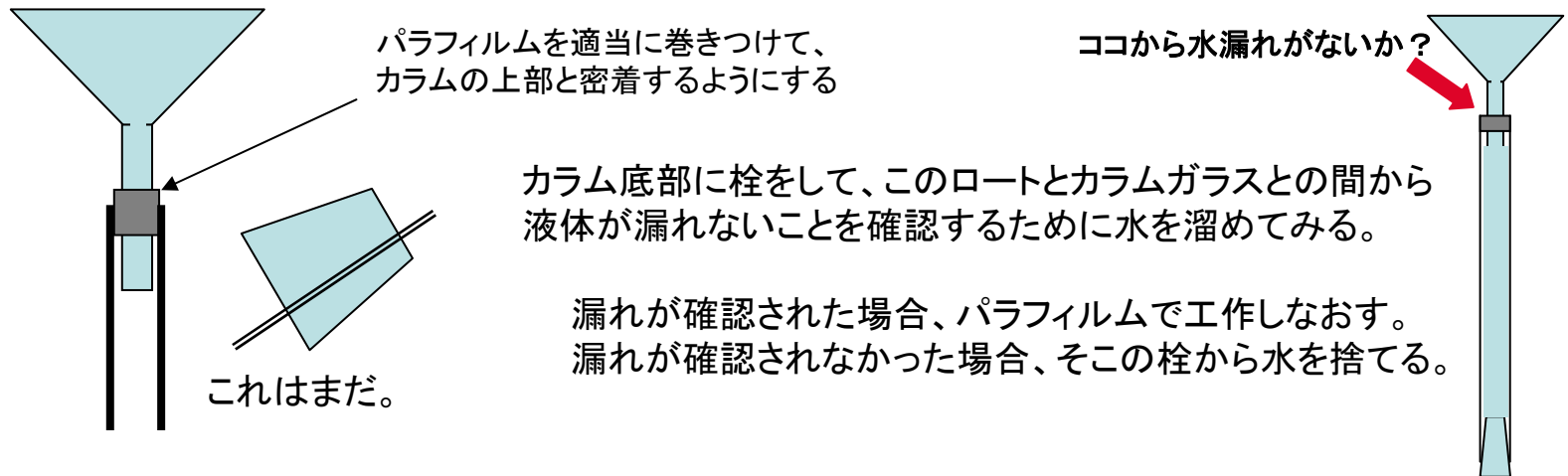


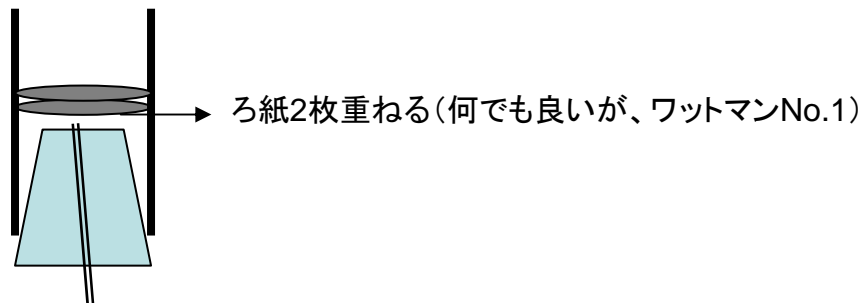
レジンの充填準備

即席リザーバーの工作

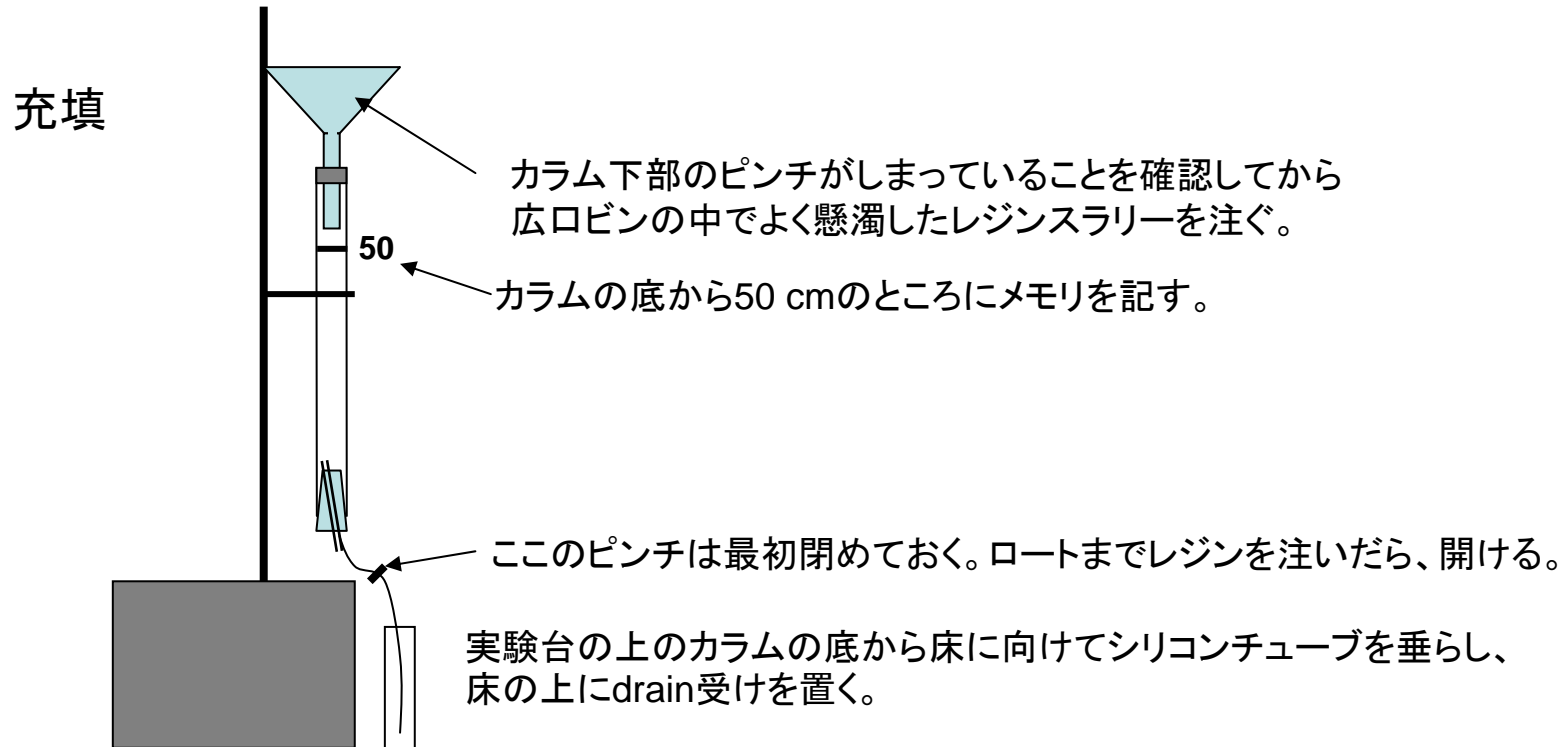
レジンがカラムの中に積もるまで、上部にレジンを溜めておけるリザーバーを、大型のプラスチックロートで工作する。



カラム下部からレジンが流れ出てしまわないように、以下の順になるように下から入れる。



レジンの充填



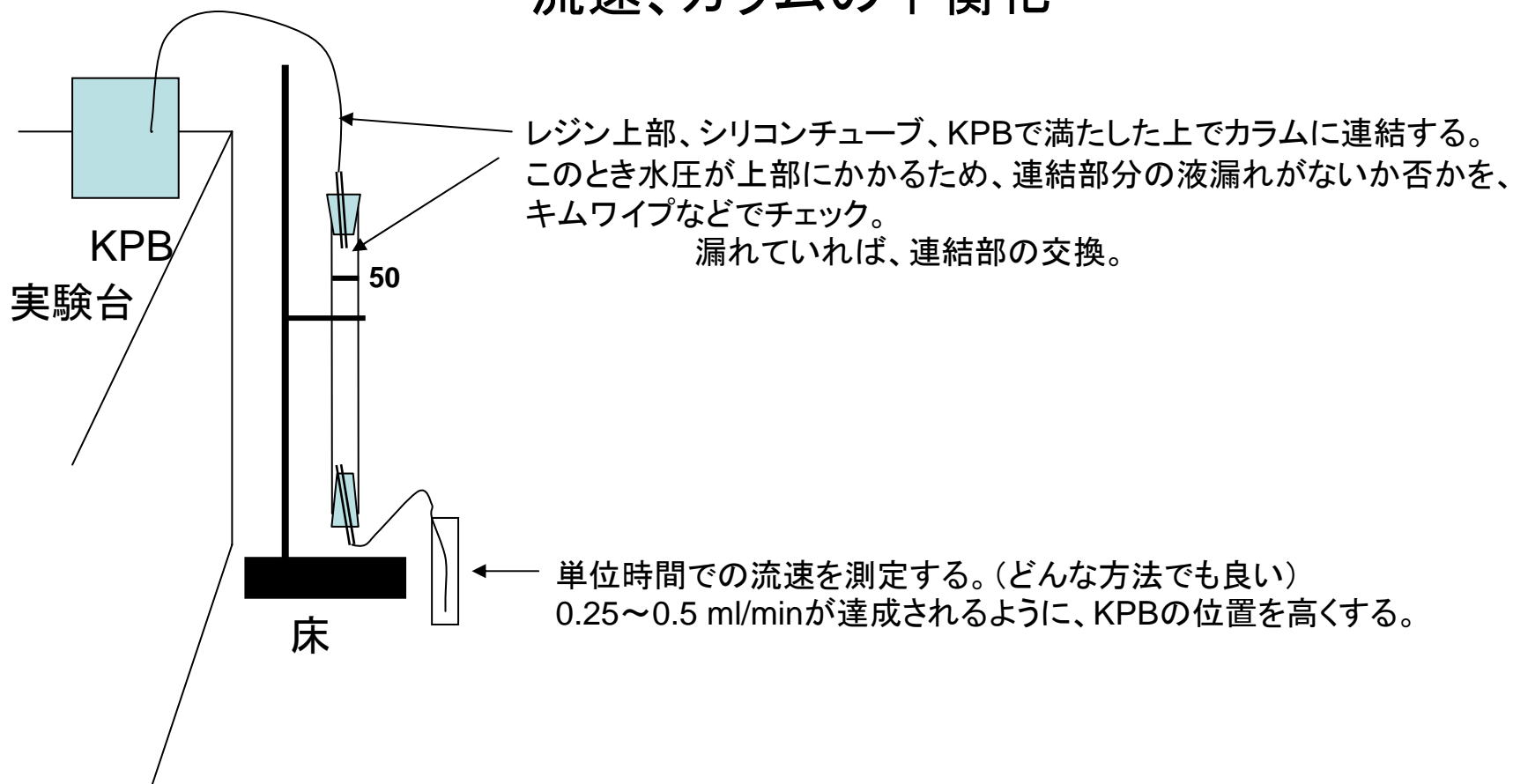
充填開始からしばらくはカラムは真っ白。しばらくするとカラム底に堆積したレジンが確認できるはず。すべてが堆積するまでに1時間程度かかる。

時々細いガラス棒でロートの軸が詰まっていないことを確認しながら待つ。

上部の液残量に注意

50 cmのラインまでレジンが堆積するまで、ロートにはKPBを注ぎ足す。
50 cmを1 cm以上オーバーした分のレジンはパスツールピペットで吸い取る。
ろ紙を円形にカットしたものをレジン上部に載せる。

流速、カラムの平衡化



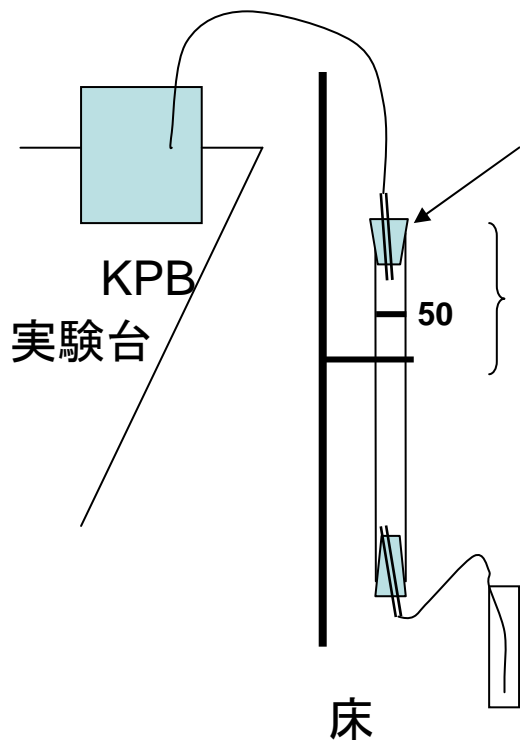
レジン上部、シリコンチューブ、KPBで満たした上でカラムに連結する。
このとき水圧が上部にかかるため、連結部分の液漏れがないか否かを、
キムワイプなどでチェック。

漏れていれば、連結部の交換。

単位時間での流速を測定する。(どんな方法でも良い)
0.25~0.5 ml/minが達成されるように、KPBの位置を高くする。

(流速) × (次の実験開始までの時間) に十分なKPBがカラムに繋がっていること、
液漏れがないこと、を確認してずっとKPBを流す。

サンプルのアプリイ(1)



カラム下部の流路を止め、カラム上部のシリコン栓をゆっくり緩めてから開く。
はずしてからチューブをピンチして緩衝液を止める。

平衡化後では、前日より更にレジンが縮んで、ろ紙が図のようにレジンの上端から離れていることが多い。
これを静かにレジン上面に押し下げる。

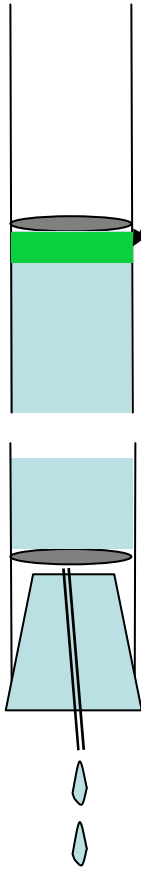
レジン上部の緩衝液をピペッターで吸い取る。
完全に吸い取ろうとはせず少し残して
あとはカラム下部のピンチを開放して、
レジン上面がちょうど空気と接するようにする。
乾いてしまわないように注意。
ここで下部のピンチを閉めておく。

サンプル液がカラムレジンにのった。
このときカラム下のピンチは閉まっているので
サンプルは移動しない。

ピペットのチップを

この当たりのガラス内壁にあて、
壁面をサンプル液が
つたうようにし、400 μ lのサンプルを
上面に静かに(しかし、速やかに)注ぐ。

サンプルのアプライ(2)



カラム下部のピンチを開放し、
サンプル液がろ紙の下
のレジンに
すべて吸い込まれるまで注意深く観察しながら。



下部のピンチを閉めてサンプルの移動を止める



400 μ lのKPBを静かに、レジン上面に注ぐ。
(サンプル液をアプライしたときの要領で)



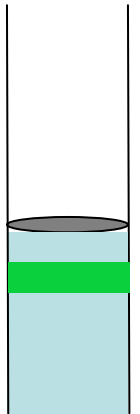
カラム下部のピンチを開放し、
KPBがろ紙の下
のレジンに
すべて吸い込まれるまで注意深く観察しながら。



200 μ lのKPBを静かに、レジン上面に注ぐ。
(サンプル液をアプライしたときの要領で)



カラム下部のピンチを開放し、
KPBがろ紙の下
のレジンに
すべて吸い込まれるまで注意深く観察しながら。

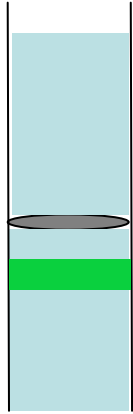


アプライ完了図

白いレジンが
1 ml分だけ下に
移動したサンプル液の
層の上に見られる。

カラム下部のピンチを閉めて移動を止める。

フラクションのコレクション開始へ



レジン上部にKPBを満たし、ゆっくりとシリコン栓をする。
空気の泡はあまり気にしなくても良いが、点滴のようにはしない。

フラクションコレクターの試験管ホルダーに試験管を90本以上セットする。

フラクションコレクターのシンプルモード、待ち時間なし、1フラクション当たり
1 mlぐらいになるようにフラクション回収時間を設定する。

後はスタートを押すだけ、となる。

**サンプルのアプライ後にカラムから出てきた溶出液の容積は重要ですので、
この作業中にどれだけの溶出があったか、記録しておいてください。**

**また、回収開始からしばらく観察しているうちに、
もしもフラクションコレクターがうまくフラクションを集めていないことが分かった場合、
トラブルシューティングをします。このときも、カラムから出てきた液量が分かるように
工夫して行ってください。**