

4

ゲルろ過用カラム

for Liquid Chromatography Develosil®

CONTENTS

Develosil® 100 Diol	P.045-P.046
Develosil® 300 Diol	

4

ゲルろ過クロマトグラフィー用カラム

Develosil® 100 Diol Develosil® 300 Diol

Develosil® ゲルろ過クロマトグラフィー用カラム

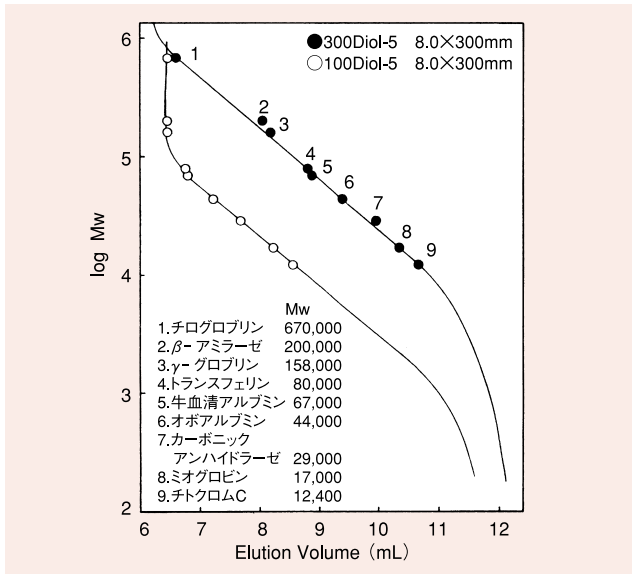
Develosil® 100Diol, 300Diolはゲルろ過クロマトグラフィー用に開発されたカラムです。分子量1万から数十万のタンパク質や酵素など水溶性高分子のサイズ排除クロマトグラフィーが可能です。充填剤タイプには低分子量の化合物用に100Diolを、高分子量用に300Diolの2種類があるため目的試料の分子量に合わせてカラムを選択することができます。

Develosil® 100 Diol, 300 Diolの物性

カラム名	結合基	炭素含有量	エンドキャップ	比表面積	細孔径	細孔容積	使用pH範囲
100 Diol	グリセロポピル基	12%	なし	350m ² /g	12nm	1.05mg/mL	pH2-7.5
300 Diol	グリセロポピル基	9%	なし	180m ² /g	25nm	1.05mg/mL	pH2-7.5

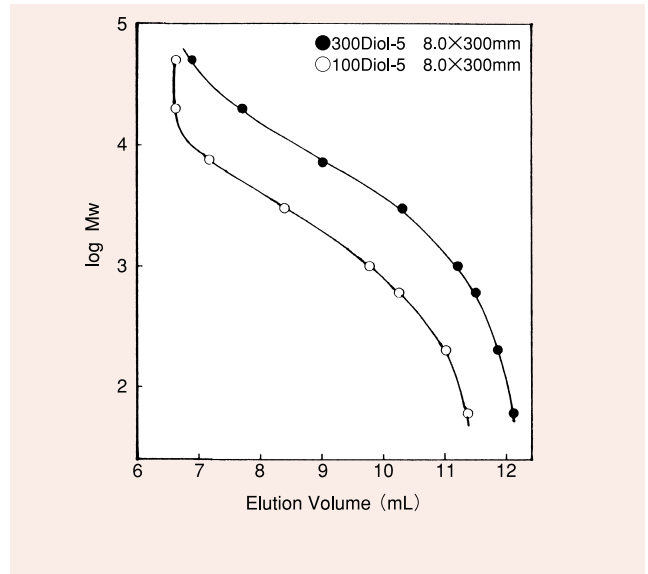
タンパク質・ポリエチレングリコールの較正曲線

■排除限界タンパク質の較正曲線



Conditions;
 Column : Develosil® 100Diol-5 (8.0x300mm)
 Develosil® 300Diol-5 (8.0x300mm)
 Mobile phase : 0.1M Phosphate buffer
 +0.2M NaCl (pH6.8)
 Flow rate : 1.0ml/min
 Temperature : 30°C
 Detection : UV280nm

■ポリエチレングリコールの較正曲線



Conditions;
 Column : Develosil® 100Diol-5 (8.0x300mm)
 Develosil® 300Diol-5 (8.0x300mm)
 Mobile phase : Water
 : 1.0ml/min
 Flow rate : 30°C
 Detection : RI

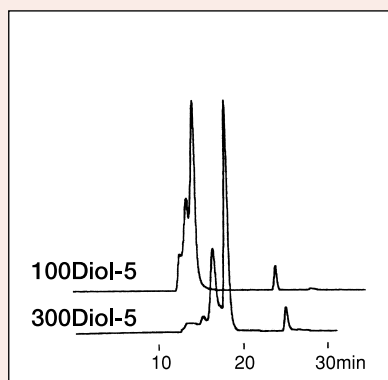
■Develosil® 100 Diol, 300 Diolのサイズ排除限界分子量

カラム名	タンパク質の排除限界分子量	ポリエチレングリコールの排除限界分子量
100 Diol	100,000	10,000
300 Diol	1,000,000	100,000

※上記排除限界分子量は目安としてご参考下さい。

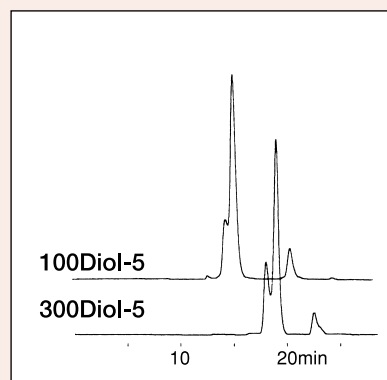
アプリケーション

○ 人血清の分析



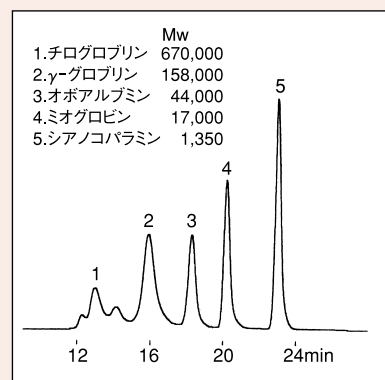
カラム : Develosil® 300Diol-5 8.0×300mm
Develosil® 100Diol-5 8.0×300mm
溶離液 : 0.1Mリン酸緩衝液+0.2M
NaCl (pH6.8)
流速 : 0.5mL/min
検出 : UV280nm

○ 卵白の分析



カラム : Develosil® 300Diol-5 8.0×300mm
Develosil® 100Diol-5 8.0×300mm
溶離液 : 0.1Mリン酸緩衝液+0.2M
NaCl (pH6.8)
流速 : 0.5mL/min
検出 : UV280nm

○ 標準タンパク質の分離



カラム : Develosil® 300Diol-5 8.0×300mm
溶離液 : 0.1Mリン酸緩衝液+0.2M
NaCl (pH6.8)
流速 : 0.5mL/min
検出 : UV280nm

○ 参考文献 Develosil® 100Diol-5カラムを用いたHPFA法による血液中の非結合型薬物濃度の測定

Determination of Unbound Concentration of Hydrophobic Drugs in Albumin Solutions by High-Performance Frontal Analysis Using a Diol-Silica Column.

Akimasa Shibukawa, Chikako Nakao, Takeshi Sawada, Akira Terakita, Noritsugu Morokoshi, Terumichi Nakagawa. J.Pharm.Sci.,83 [1994] 868-873.

Table 1—HPLC Conditions for the Determination of the Unbound Diclofenac Concentration

HPFA		Off-Line Reversed-Phase HPLC
Column	Develosil® 100Diol-5 (30cm×8.0mm i.d.,Nomura Chemical)	LiChrosphere 100 RP-18 (12.5cm×4mm i.d.,Merck)
Mobile phase	Sodium phosphate buffer (pH7.4, I =0.17)	Sodium phosphate buffer (pH6.0) /MeOH=1/1 (v/v)
Flow rate	1.0mL/min	0.8mL/min
Detection	UV,280nm	UV,280nm
Inj vol	167 μL	100 μL
Temperature	25 °C	25 °C

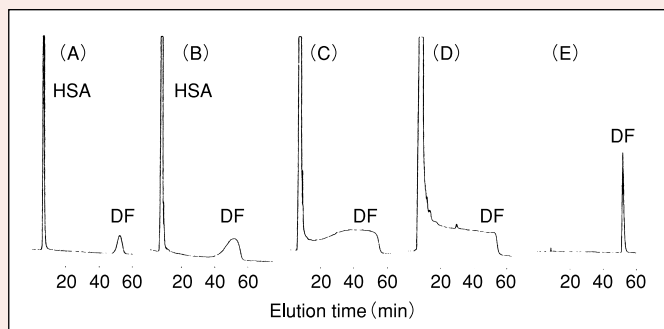


Figure 2 — Elution profile of 200μM diclofenac (DF) -550μM human serum albumin (HSA) mixed solution (A-D) and 200μM DF solution (E). Injection volume: (A) 2 μL, (B) 5 μL, (C) 20 μL, (D) 167 μL, (E) 20 μL. The AUFS of chromatogram E is 8 times larger than that of A-D. See Table 1 for the HPLC conditions.

Table 3 — Unbound Diclofenac (DF) Concentration in Human Serum Albumin (HSA) Solution

	Unbound Concentration (nM) ^a	
	HPFA/HPLC	Ultrafiltration/HPLC
100 μM DF-550 μM HSA	48.7±2.09 (99.95%)	53.1±3.74 (99.95%)
200 μM DF-550 μM HSA	112±2.24 (99.94%)	154±14.8 (99.92%)

^aMean ±SD (n=5 for HPFA/HPLC, n=4 for ultrafiltration/HPLC). The values in parentheses are the bound DF fraction.