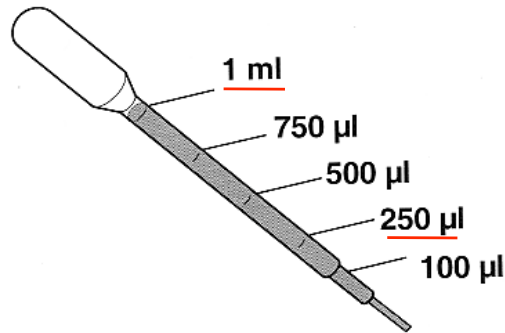
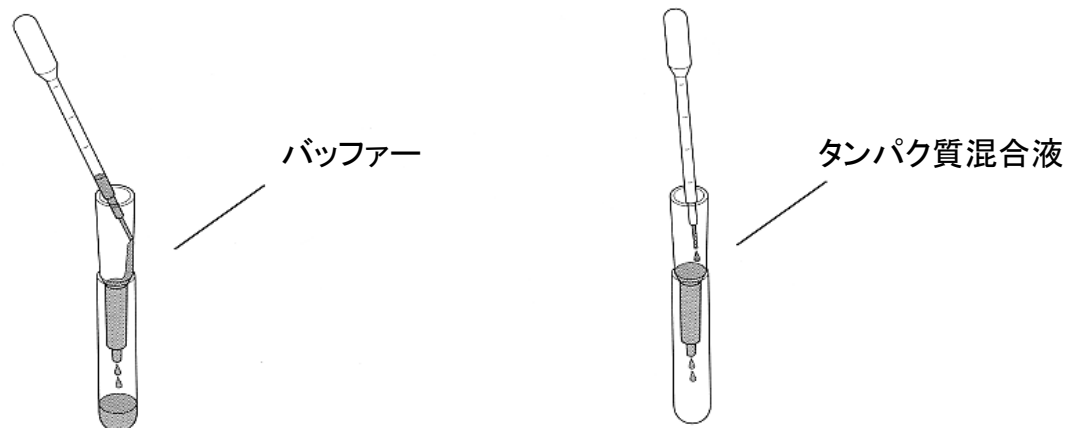


### <ピペットの取り扱い>



### <クロマトグラフィー>

カラムベッド上部を乱さないようにすることが非常に重要です。カラムベッドにサンプルまたはバッファをローディングする際には、ピペットをカラム壁にそってカラムベッドの近くまで差し込みます。カラム壁にそって(バッファの場合)またはカラムベッドの上端(タンパク質混合液の場合)に、ピペットからゆっくりと溶液を出します。

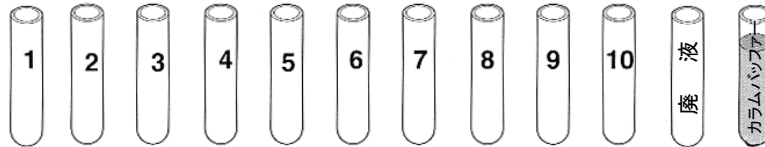


#### ・クロマトグラフィー成功のための重要なポイント

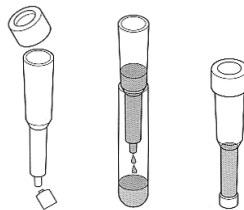
1. カラムはコレクションチューブに軽く置く程度にセットしてください。コレクションチューブにカラムを固く押し込むと、空気が閉じ込められて、サンプルが流れなくなります。
2. カラムの移動はカラムベッドの乱れの大きな原因となるため、コレクションチューブの交換に必要なときはまっすぐ持ち上げてカラムを移動させて下さい。それ以外は、カラムを動かさないようにすることが重要です。

## <実験方法>

1. 12本のコレクションチューブをチューブ立てに立てます。10本のチューブには、1から10までの番号をつけます。最後の2本には、「廃液」および「カラムバッファー」の表示をつけます。
2. 4mlのカラムバッファーをカラムバッファーと表示したチューブにピペットで採集します。



3. カラムの上部キャップと、底部エンドキャップを取り外します。バッファーを「廃液」コレクションチューブに流し込みます。このとき、カラムベッド上部を良く観察すると良いでしょう。バッファーがカラム上部から全てなくなると、上部表面がざらざらした状態に見えます。カラムの底部にエンドキャップをはめます。

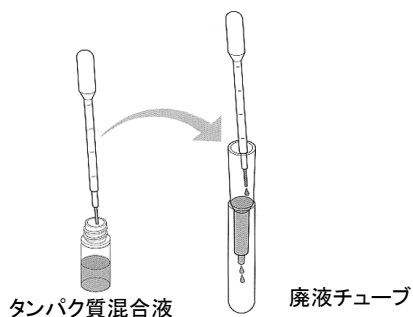


4. カラムを廃液チューブに立てます。カラムをコレクションチューブに固く押し込むとバッファーが流れにくくなるので、軽く置く程度にしてください。この段階で、カラムにタンパク質サンプルを流し入れる準備が整います。

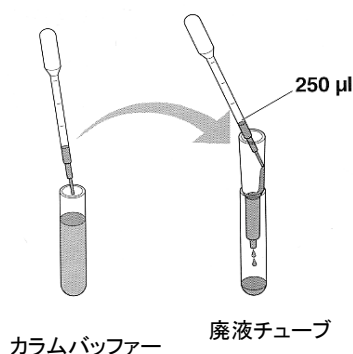


廃液チューブ

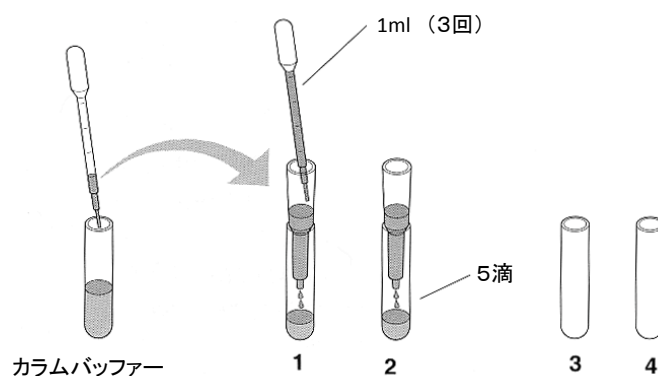
5. カラムベッドの上端に慎重にタンパク質混合液50 $\mu$ lを流し入れます。ピペットをカラムに差し込み、タンパク質サンプルを加えることによるカラムベッドが乱れないようにしながら、カラムベッドの真上にそっと置く様に流し入れます。



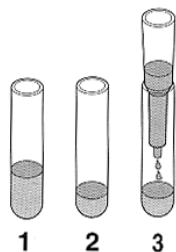
6. カラムからエンドキャップを取り外し、タンパク質混合液をカラムベッド内に入り込ませます(カラム底部から約1滴排出させる)。この時も、カラムベッド上部を良く観察すると良いでしょう。タンパク質混合液がカラムに流れ込んだ段階で、カラムの底にエンドキャップをはめます。ついで、250  $\mu$ lのカラムバッファーをカラム上端に慎重に加えます。ピペットの先端をカラムに差し込み、先端がカラムの真上に静止するようにして行います。バッファーがカラム側壁からカラムベッドの上端に流れ落ちるよう、慎重に流し込みます。



7. エンドキャップをはずし、全バッファーがカラムに流れ込んだ段階で、カラムの底にエンドキャップをはめます。ピペットをカラム上端の真上に差し込み、カラムの側壁からバッファーが流れ落ちるようにして、3mlのカラムバッファーをカラムの上端に加えます。これは、ピペットを用いて1mlを3回加えることにより行います。カラムをチューブ1に立て、エンドキャップを取り外します。チューブ1に5滴を採取します。



9. チューブ1 に5 滴が採集されたら、カラムをチューブ2 に移します。それぞれのコレクションチューブに5 滴を採集します。1 本のチューブに5 滴が採集されたら、カラムをそのチューブから次のチューブに移します。



10. 各チューブへの5 滴の採集を継続します。チューブ10の滴下の採集が終わったら、カラムにキャップをします。カラムはバッファーチューブに立てます。

