

# Operation Manual

## Shodex KW403-4F

J-23

(Please read this manual carefully before using the column to keep its good performance and life.)

### 1. Introduction

Shodex KW403-4F is a size exclusion chromatography column developed for separation of hydrophilic substances with low molecular weight, such as small proteins and peptides.

### 2. Instructions in handling <Important>

#### Caution!

\* Take notice of keeping instructions about the solvents and the reagents used with the column not to occur problems related to losing your health or leaking.

#### Attention!

\* Use the column within the regular range of flow rate, pressure and temperature. There is a danger of deteriorating the performance when it is handled beyond the permissible range even for a short time. See the clause "Usable conditions" about the permissible range.

### 3. Specifications

Column size	: 4.6 mm I.D. × 300 mm L.
Column material (inside)	: SUS 316
Packing material	: Porous silica particle (3 μm) bound with hydrophilic polymer
In-column solvent (initial)	: Water
Exclusion limit M.W.	: 150,000 (pullulan)
Number of theoretical plates	: ≥ 35,000 per column

### 4. Usable conditions

Flow rate	: ≤ 0.5 ml/min
	* It should be 0.15 ml/min or less for replacing the in-column solvent.
Pressure	: ≤ 10MPa per column
Temperature	: 5~45 °C
pH	: 3.0~7.5
Eluent	: An aqueous solution of salt or a buffer solution is usually used.
	<Representative salts> sodium chloride, sodium nitrate, sodium sulfate, potassium sulfate, ammonium sulfate.
	<Representative buffers> phosphate buffer, tris buffer, acetate buffer, citrate buffer.
	* Methanol or acetonitrile can be added up to 100 vol%.

#### Attention!

- 1) Do not remove the end fittings of the column under any circumstances.
- 2) Do not make a strong impact on the column: such as hitting or dropping on the floor.
- 3) Replace the solvent in the chromatograph with the eluent to be used before connecting the column.
- 4) Connect the column so that the flow direction corresponds to the arrow mark on the tag.
- 5) When the column is not used for a month or more, replace the in-column solvent with water, close each end with a stopper, and store it at room temperature.
- 6) Adjust the total salt concentration of eluent to not more than 0.5 M.
- 7) Filtrate the sample with a disposable filter (0.45 μm) to prevent deterioration by adsorbing insoluble matters.
- 8) When methanol or acetonitrile is added to an aqueous solution of salt or a buffer solution, pay attention not to separate any salt after mixing.

# 充てんカラム取扱説明書

## Shodex KW403-4F

(寿命や性能を良好に維持していただくため、この取扱説明書をよく読んでからお使いください。)

### 1. はじめに

Shodex KW403-4Fは、サイズ排除クロマトグラフィ用カラムです。タンパク質、酵素、および多糖類のサイズ分離に適しています。

### 2. 取り扱い上の注意 <重要>

**警告**

\*カラムに付随して用いられる溶媒や薬品等については、それらの使用上の注意事項を遵守し、漏れ事故や健康上の問題が起きないように、十分に留意してください。

**注意**

\*必ず、定められた範囲内の流量、圧力、温度で使用してください。流量または圧力が瞬間的にでも許容範囲を超えると、カラムが急激に劣化することがあります。許容範囲については、「使用条件」の項を参照してください。

### 3. カラムの仕様

カラムサイズ	: 4.6 mm ID × 300 mm L
接液部のカラム材質	: SUS 316
充てん剤	: 親水基を化学結合したポラスシリカゲル
出荷時封入液	: 水
理論段数 (段/本)	: 35,000 以上 (ウリジン)

### 4. 使用条件

流量 : 0.5 mL/min 以下。通常は0.35 mL/minか、それ以下が適当です。

\*溶媒置換は、0.15 mL/min 以下で行ってください。

圧力 : カラム1本あたり 10MPa 以下

温度 : 5~45℃

pH : 3.0~7.5

溶離液 : 通常、磷酸緩衝液、トリス塩緩衝液、酢酸緩衝液等の緩衝液に塩を添加して使用します。添加する塩としては、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 、 $\text{K}_2\text{SO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ などがあります。添加する塩の濃度は0.1~0.3Mが適当です。

\*アセトニトリル、メタノール、エタノール等の極性溶媒は100%まで溶離液として使用可能です。緩衝液等と混合してお使いになる場合は、塩の析出などが無いことをご確認の上、御使用ください。

### 5. トラブル発生時の対策

カラム圧が上昇した場合、カラムを逆向きに接続して溶離液を流すと、回復できることがあります。

**注意**

①カラムのエンドフィッティングは、絶対に外さないでください。

②カラムには、叩く、落とす、などの強い衝撃を与えないでください。

③装置の流路を溶離液で完全に置換してから、カラムを接続してください。

④タグに表示されている矢印の方向に溶離液が流れるよう、カラムを接続してください。

⑤1ヶ月以上使用しない場合は、水または出荷時封入液に置換して両端に栓をし、室温で保存してください。

⑥粒子状物質の吸着による劣化を防ぐため、メンブランフィルター (0.45 μm) などを用いて、試料を予めろ過してください。

⑦専用のガードカラムKW400G-4Aを上流に接続して使用することにより、本カラムの劣化を防ぐことができます。

⑧カラムの接続には、樹脂製の押ネジとフェラルを用い、締め過ぎないように注意してください。手締めタイプのPEEK製コネクタ (押ネジ・フェラル一体型) の使用をお勧めします。