

사 용 설 명 서

Ion Exchange Media

BioPro IEX SmartSep Q / BioPro IEX SmartSep S

① 머리말

항상 저희 BioPro IEX SmartSep Q/S를 이용해 주셔서 감사합니다. BioPro IEX SmartSep Q/S는 고강도의 친수성 Polymer에 강 음이온 교환기 (제4급 ammonium기) /강 양이온 교환기(sulfo기)를 도입한 바이오 의약품 정제에 특화된 제품입니다. 당사는 BioPro IEX SmartSep 의 제조에 있어서 엄격한 품질관리를 실시하여, 항상 안정된 품질의 제품을 제공하고 있습니다. 제품을 우수한 성능으로 오랫동안 사용하시기 위하여 본 사용설명서를 충분히 숙지 하신 후, 올바르게 사용하여 주십시오.

② 제품사양

항목	강 음이온(anion)교환 Media BioPro IEX SmartSep Q			강 양이온(cation) 교환 Media BioPro IEX SmartSep S		
	10	20	30	10	20	30
기재	친수성 Porous polymer					
이온교환기	-R-N+(CH ₃) ₃			-R-SO ₃ ⁻		
사용pH 범위	2.0~12.0			2.0~12.0		
사용온도범위 (°C)	4~40			4~40		
사용압력범위	상용(권장):3MPa이하 최대 : 4MPa	상용(권장):2MPa이하 최대 : 3MPa	상용(권장):3MPa이하 최대 : 4MPa	상용(권장):2MPa이하 최대 : 3MPa		
출하 용매	20% Ethanol 수용액					
특징	중간정제에서 최종정제에 적합					

③ 충전 방법

3-1 전처리

권장 전처리 용매 : 증류수, 20% Ethanol 용액

1. 침강되었을 때의 충전제 부피는 충전하려는 Column 부피의 약 1.05~1.10배 정도가 되어야 합니다(압축 감안). 현탁시킨 충전제를 필요한 Slurry 용액의 5배량 이상의 용기에 옮겨, 정치 한 후, 충전제의 양을 확인하여 주십시오.
2. 충전제의 4배량의 전처리 용매를 추가하여 주십시오.
3. 교반봉을 사용하여 천천히 교반, 현탁시킵니다. 충전제 손상을 방지하기 위해 날카로운 물건, 교반자 등의 사용은 삼가 하여 주십시오.
4. 충전제가 침강 될 때까지 정치시켜 주십시오. 30µm의 정치 시간 기준은 약 120분입니다.
5. 디칸테이션(Decantation)에 의해 생긴 상층액을 흘려버려 주십시오.
6. 상층액의 탁도가 없어질 때까지 2~5단계를 반복 합니다.

3-2 Slurry 조제와 Column으로 충전

권장 충전용 용매 : 고 이온강도 용매 (사용하는 이동상 중, 가장 이온 강도가 높은 용매, 1 M NaCl, 0.5 M Na₂SO₄ 등)

1. 3-1 전처리에서 20% Ethanol을 사용했을 경우, 증류수로 여과 세정합니다. 증류수를 사용했을 때는 이 단계를 생략합니다.
2. 충전제의 약 3배량의 충전용 용매로 여과 세정합니다.
3. Slurry농도가 30~50%(체적비)가 되도록 충전용 용매를 추가하여 Slurry화 시킨 후, Column에 천천히 Slurry를 흘려 넣어줍니다. 이 때, 기포가 들어가지 않도록 주의하여 주십시오.
4. 충전용 용매를 사용 유속의 약 2배 정도로 충전층이 안정될 때까지 통액 시켜 주십시오.
5. 통액으로 목적하는 Column 용적을 얻을 수 있습니다. Axial compression 실시 시, 성능이 향상되는 경우가 있습니다.

※ 주) 충전하는 Column의 사용설명서도 같이 참조하여 주십시오. Column에 따라 충전 방법 변경이 가능합니다.

3-3 Column 성능 확인 (충전 상태 평가)

충전 후, Column 성능평가를 실시하여 이론단수(N), Peak 형상을 확인하여 주십시오. 목표로 하는 이론단수(N), 비대칭계수(As)가 얻어지지 않을 경우, 충전 조건 등을 재검토 하여 주십시오.

충전제 성능 평가 검사 조건 예시

	조건 예 1	조건 예 2
이동상	0.5 M NaCl	저이온 강도 완충액 강 음이온 교환체(Q):20 mM Tris염산 완충액 (pH 8) 강 양이온 교환체(S) : 20 mM 인산 완충액 (pH 7)
Sample	1 M NaCl	Formamide (2μL/mL)
검출	도전율	UV at 220 nm
선유속	70~90 cm/h 정도	
온도	상온 (25℃)	
주입량	충전 베드 체적의 1%	

Column 성능			
Particle size	10 μm	20 μm	30 μm
이론단수 (N/m)	≥20,000	≥10,000	≥7,000
비대칭계수 (As)	0.7 ~ 1.4		

* 어디까지나 대략적인 기준치입니다. 이 범위가 아니더라도 사용 조건에 따라서는 충분한 성능을 얻을 수 있습니다.

* System의 유로에서의 확산(Column외 확산)은 Column 성능에 큰 영향을 줍니다. 충전 조건을 바꾸어도 Column 성능이 바뀌지 않을 경우, 배관 size나 장비 성능이 평가 Column에 적합한지 확인하시기 바랍니다.

④ 평형화 및 용출

- 분리 전 Column의 평형화는 Column용적의 5~10배량을 기준으로 초기 이동상을 통액 시켜 주십시오.
- 일반적으로는 20~50 mM의 완충액을 초기 이동상으로서 목적 시료를 흡착시켜 염농도 Gradient(염화 나트륨 농도를 0~0.5M 정도의 범위로 올리는 Gradient가 일반적), 또는 pH Gradient로 용출 시켜 분리 합니다. 최종 이동상으로 용출되지 않고 남은 협잡물을 제거하기 위하여 한번 분리할 때 마다 1M 정도의 염화 나트륨이 포함된 완충액 통액을 권장합니다.
- 수용성 유기용매는 30% 정도까지 이동상에 첨가 할 수 있습니다. 첨가 전에 완충액 중 염이 석출되지 않도록 확인하여 주십시오.

⑤ 세정

시료 중에서 지용성 물질이나 용해성이 작은 물질이 Column내에 흡착하여, RT 재현성이나 Peak 형상의 변화, 압력 상승이 발생할 수 있습니다. 이 경우 다음과 같은 절차로 세정, 재생 시켜 주십시오.

5-1. 일반적인 세정 방법

· 정치 세정 (Cleaning in place, CIP)

Column 성능에 변화가 생겼을 경우나 장기적으로 보관하기 전에는 다음과 같은 CIP가 효과적입니다. (Column을 검출기에 연결하지 않고 세정하는 것을 권장합니다.)

먼저 1~2M NaCl을 Column용적의 3~5배량 통액합니다. 이어 0.1~0.5M NaOH를 Column 용적의 3~5배량 통액합니다. NaOH 통액은 농도를 높이고 (~1M), 유속을 줄여서 접촉 시간을 길게 하여 세정 효과를 높일 수 있습니다. 중화를 위해 1~2NaCl을 Column 용적의 3~5배량 통액 합니다. 중화 후, 사용하는 이동상으로 충분히 평형화 하십시오. 장기 보관할 시에는 중화 후 증류수로 세정한 뒤, 20% Ethanol에 치환하여 보관하여 주십시오. (「⑥보관」을 따름). Column의 오염 상태에 따라 Column압력이 높아지는 경우가 있습니다. 그런 경우는 유속을 낮추어 통액하십시오.

· 배치 세정

충전제 양의 3~5배 가량의 세정액에 담근 후 교반 하여주십시오. 정치 후, Decantation에 의한 상층액은 흘려 버려 주십시오. 이 방법을 2, 3회 반복합니다. 세정액으로 CIP와 같은 용매가 사용 가능합니다.

5-2. 계면활성제 등의 첨가제에 의한 세정

- 단백질의 변성 방지제로 사용되는 요소(urea)(≤8M)과 염산구아니딘(≤6 M), 비이온성 계면활성제, 양이온 계면활성제, 음이온성 계면활성제 등의 첨가가 가능합니다. 산화제는 사용하지 마십시오.
- BioPro IEX SmartSep Q에 음이온성 계면활성제 첨가와 BioPro IEX SmartSep S에 양이온 계면활성제를 첨가하는 것은 피하십시오.
- Column의 오염 상태와 세정 용매의 종류(고점성 용매 등)에 따라 Column 압력이 높아지는 경우가 있습니다. 그런 경우는 유속을 낮추어 통액하여 주십시오.

⑥ 보관

제품은 20% Ethanol 수용액으로 치환 한 후, 출하 시의 용기에 밀봉하여 4~35℃로 보관하여 주십시오.