[TECHNOLOGY BRIEF]

ACQUITY UPLC H-Class システムを用いたペプチドマッピングの信頼性

目的

ペプチドのような複雑な混合物を分離するために用いる長く緩やかなグラジエントにおける、ACQUITY UPLC® H-Classシステムでの分析再現性を確認します。

ACQUITY UPLC H-Classシステムは、ペプチドマッピングにおいて、確かな分離コントロールと再現性を提供します。

背景

ペプチドマッピングは、タンパク質の一次構造の確認、翻訳後修飾（PTM）の同定、そして不純物の存在を確認するために用いられます。タンパク質構造の違いは、含まれるペプチドの違いとして、保持時間に影響します。ペプチドの相対的な量は、タンパク質断片を測定するために使用され、面積比の変化は、タンパク質分子断片の変化に相当します。

このアプリケーションでは、長い緩やかなグラジエントが必要となります。これまでは、このような分析はシングルポンプグラジエントシステムによって行われていました。一般的なペプチドマッピングプロトコルにおいて、ACQUITY UPLC H-Classシステムの性能を確認しました。

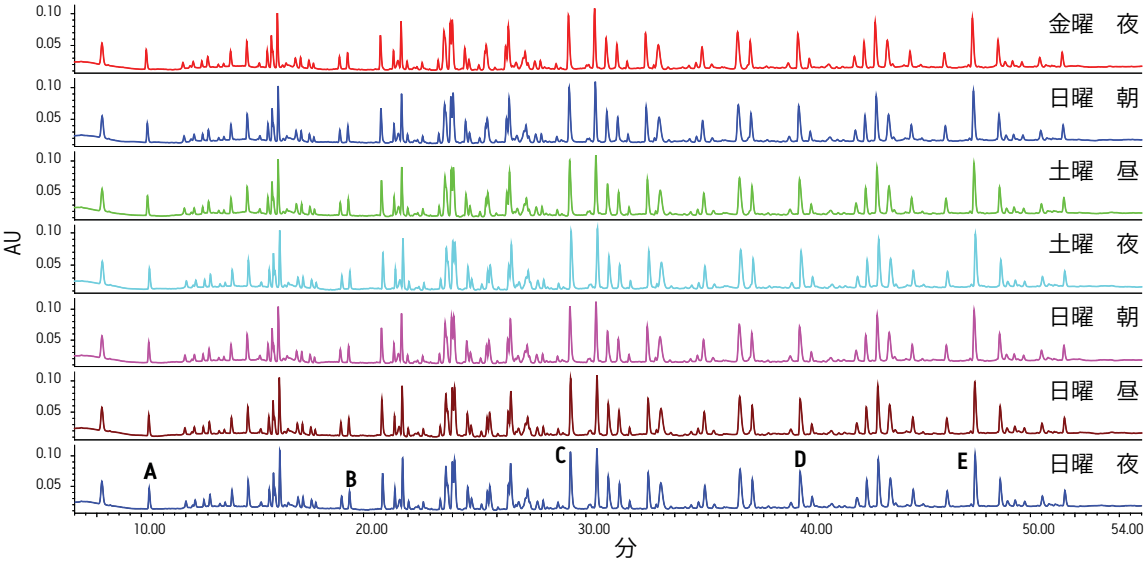

図1. 3日間に渡りペプチドマッピングの連続分析を行いました。分離と保持時間において優れた再現性が得られています。定量分析における再現性の確認としてとしてAからEのピークを選択し、保持時間と面積値の結果一覧を表1に示しました。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ソリューション

ACQUITY UPLC H-Classシステムはクォータナリソルベントマネージャ(QSM)、フロースルーニードルサンプルマネージャ(SM-FTN)、カラムヒータとフォトダイオードアレイ検出器(PDA)から構成し、250µLのオプションミキサーをインストールしています。ペプチド分離テクノロジーであるACQUITY UPLC BEH 300 C18カラムを用いて、MassPREP™ BSA消化物スタンダードを分離しました。一般的なペプチドマッピンググラジエントとして、1.0%/カラム(約0.6%/分)の緩やかなグラジエントを用いました。

この分析では、水をAラインに、アセトニトリルをBラインに、1% TFA水溶液をDラインにセットし、Auto・Blend™機能を用いてグラジエント分析を行いました。グラジエントは、TFA濃度が0.05%から0.04%に変化させるため、Dラインの比率を5%から4%になるように設定しています。

得られたペプチドマップを図1に、保持時間とピーク面積の一覧を表1に示しました。相対的な保持時間と分離は長時間の分析中でも維持され、ピーク同定に十分な保持時間の再現性を確認しました。ピーク面積比はピークAを基準とし、ピークB、C、D、Eとの面積比を算出しました。表1に示したこれら面積比の再現性は、サンプル中の変性したタンパク質の割合を評価するために必要十分な精度を持っています。

	保持時間再現性	ピークAを基準とした面積比
ピーク	時間 ± 標準偏差	面積比 ± 標準偏差
A	10.311 ± 0.093	1
B	19.331 ± 0.064	0.727 ± 0.008
C	29.284 ± 0.064	3.621 ± 0.014
D	39.614 ± 0.073	2.801 ± 0.009
E	47.470 ± 0.086	3.504 ± 0.020

表1. 各ピークの保持時間再現性と面積比の一覧。10分間隔で代表的なピークを選択しました。

まとめ

ペプチドマッピングにおいては、定性と定量的な再現性が要求されます。ACQUITY UPLC H-Classシステムは、分析者が、保持時間の変化が装置の性能によるものではなく、サンプルの変化として確信できるよう、長時間の連続分析において正確なペプチドマッピングの分離コントロールを提供します。マルチ溶媒混合機能により分離を検討することができ、現在の生化学分析が要求する定性能と定量性を確実に担保できるよう設計されています。

適用規格：JISQ9001:2008(ISO9001:2008)
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・ データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

Waters、ACQUITY UPLC および UPLC は Waters Corporation の登録商標です。MassPREP、Auto・Blend および The Science of What's Possible は Waters Corporationの商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡

©2010 Waters Corporation. Produced in Japan.
2010年10月 720003288JA PDF