ACQUITY UPLC H-Class システムのマルチ溶媒混合機能を用いた効率的なペプチドマッピング分析法の開発

目的

ACQUITY UPLC® H-ClassシステムのAuto•Blend™機能を用いて、系統的に最適化されたペプチドマッピング分析法を開発します。

背景

ペプチドマッピングは、タンパク質の一次構造を確認、翻訳後修飾(PTM)の同定、そして不純物分析に使用されます。タンパク質構造の変化は、ペプチドの保持時間の変動に現れます。

タンパク質の完全な構造決定のためには、大きさと分子特性が異なる100以上のペプチドを分離する必要があります。この要求を満たす分析法を開発するには、移動相の種類や混合比率の検討を行います。条件を検討するには3種類以上の混合溶媒を準備する必要があります。

ACQUITY UPLC H-ClassシステムのAuto•Blend™機能を用いれば、ソフトウェアからのプログラムにより、単一溶媒からこれらの混合溶媒を調製することが可能です。これにより、複数の混合溶媒を事前に準備する手間や、調製ミスも無くなります。また、効率的に中間組成での検討を実施することも可能です。

ACQUITY UPLC H-Classシステムは、タンパク質構造を決定するための、信頼性のあるペプチドマッピング分析法開発を容易にします。

ACQUITY UPLC H-Classシステムとその Auto•Blend™機能は、効率的に信頼性の高い結果を得ることができるよう、分析の質にフォーカスすることが可能です。

ソリューション

ACQUITY UPLC BEH 300 C18カラムと複数の移動相を組み合わせたペプチドセパレーションテクノロジーを用いてMassPREP™ タンパク質消化物スタンダードの分離を検討しました。ACQUITY UPLC H-Classシステムには、溶媒Aに水、Bにアセトニトリル、Cにイソプロパノール、そしてDに1% TFA水溶液をセットしました。TFA濃度の影響を評価するために、Dラインの組成を2.5%、5%、10%とすることにより、TFA濃度がそれぞれ0.025%、0.05%、0.1%となる3条件で検討を行いました。

図1に移動相中のTFA濃度が、選択性において顕著な影響を与えることを実証するクロマトグラムを示しました。イソプロパノール比率を増加させるグラジエントを用いることにより、さらに拡張性のある分析が可能になります。先に示した分析と同濃度で溶媒Dを一定組成に固定し、溶媒Aの水から溶媒Cのイソプロパノールへグラジエントをかけるのは非常に簡単です。アセトニトリルからイソプロパノールへの有機溶媒変化は保持時間と選択性に大きな変化を与えます。

ペプチドマッピングを最適化するために、この分析では6種の異なる移動相組成を評価しました。選択性の検討は、混合物中の重要なペプチドを最適に分離するために実施します。溶媒選択バルブやバイナリシステムを用いて、このような分析を行うには、12種類の移動相を準備する必要があります。ACQUITY UPLC H-Classシステムを用いると、混合溶媒1種類と3種類の単一溶媒を準備するだけになります(図2)。ACQUITY UPLC H-Classシステムは、最適な分析法開発ための仕事量と時間、そして潜在的なミスの削減を可能にします。

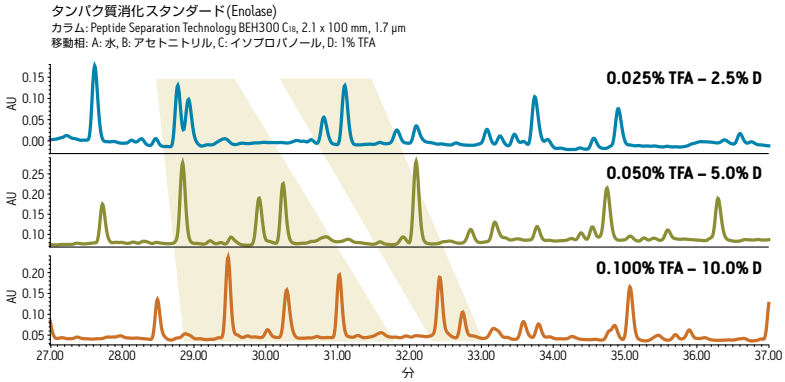

図1. 溶媒組成は、ACQUITY UPLC H-ClassシステムのAuto•Blend™機能を用いることにより簡単に調整できます。このサンプルでは、ペプチドマッピングのためのTFA濃度の調整は、Dラインの比率によって決定します。溶媒の再調製の必要がなく、中間組成の検討も可能です。

まとめ

ACQUITY UPLC H-Classシステムを用いて、タンパク質の構造決定のために効率的なペプチドマッピングの分析法開発を行うことが可能です。Auto•Blend™機能により、効率的で信頼性のある分離条件を開発することができ、ユーザーが分析の質にフォーカスすることを可能にします。ACQUITY UPLC H-Classシステムは、UPLCの分離テクノロジーとその操作性によって、バイオセパレーションに最高の結果をもたらします。

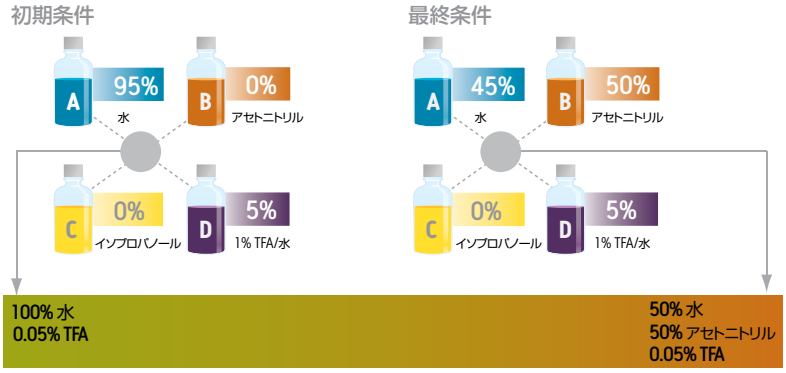

図2. ACQUITY UPLC H-ClassシステムのAuto•Blend™機能によって、単一溶媒のボトルから混合溶媒を調製することが可能です。

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 the Japan.
2010年10月 720003289JA PDF
720003289JA 10A