ACQUITY UPLC H-Class Bio システムによるイオン交換クロマトグラフィー分析法開発

目的

Auto•Blend Plus™テクノロジーを搭載した4液混合タイプのACQUITY UPLC H-Class Bioシステムを用い、タンパク質特性解析に使用されるイオン交換クロマトグラフィー(IEX)での分析法開発を簡略化します。

背景

タンパク質の性質を、物理学的に、また化学的にも明らかにするためには、様々な分析法を用いなければなりません。イオン交換クロマトグラフィーは、タンパク質の分離や、脱アミド化などの翻訳後修飾によるチャージバリアントの存在を評価するためによく使われる分析法です。イオン交換クロマトグラフィーの分析法開発では、移動相のpHが最も重要なパラメーターとなります。しかし、様々なpHの移動相を使用する実験は時間と労力を要します。ACQUITY UPLC® H-Class BioシステムではUPLC®テクノロジーとAuto•Blend Plusテクノロジーを使用することにより、IEXでの分析法開発を簡便化します。

Auto•Blend Plusテクノロジーとは、バッファの組成を自動計算して送液するテクノロジーで、自在にpHやイオン強度を操作することが可能です。この機能は、タンパク質のIEX分析法開発において、強力なツールとなります。

ACQUITY UPLC H-Class BioシステムとAuto•Blend Plusテクノロジーにより、イオン交換クロマトグラフィー(IEX)でのタンパク質とそのチャージバリアントの分析法開発を効率化

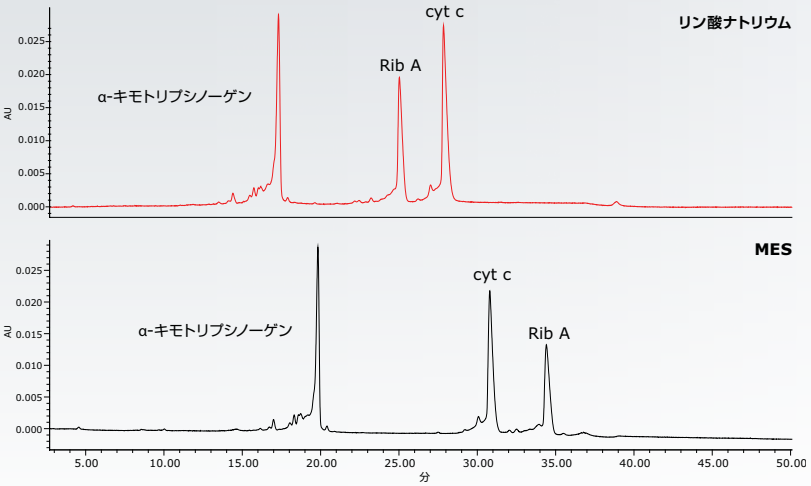

図1.タンパク質サンプルのIEX分離におけるバッファ組成の影響
サンプル：ウシ由来α-キモトリプシノーゲン、ウシ由来リボヌクレアーゼA、ウマ由来チトクロームc
カラム：Protein-Pak Hi Res CM 7μm, 4.6 x 100 mm
分析条件：20 mMバッファ（MESまたはリン酸ナトリウム）pH 6、流速1 mL/分、0-0.2 M NaCl（34分）、30 ℃

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ソリューション

Auto•Blend Plusテクノロジーを搭載したACQUITY UPLC H-Class BioシステムとProtein-Pak™ Hi Resカラムをタンパク質のIEXに利用することにより分析法開発を効率化することが可能です。ACQUITY UPLC H-Class Bioシステムは、IEXに使用されるイオン強度の高いバッファの使用に耐えうるイナートシステムで、高いサンプル回収率を達成します。

Auto•Blend Plusテクノロジーは、ACQUITY UPLC H-Class Bioシステムの4液混合機能を利用し、純粋な有機溶媒、水、使用濃度より高濃度（たとえば10倍）に調製した酸、アルカリ、バッファを組み合わせて様々な移動相を調製するテクノロジーです。移動相送液条件を入力する画面には、各溶媒の割合を%で入力するのではなく、生化学者にとって馴染み深く、わかりやすいpHやイオン強度を入力する方法を採用しています。

タンパク質のIEXにおけるバッファ組成、pHの影響を示した一連の実験を、Auto•Blend Plusテクノロジーを用いて実施しました。タンパク質混合試料を弱陽イオン交換クロマトグラフィーにて分析し、バッファ組成の影響を調べました。陽イオン交換クロマトグラフィーで一般的によく用いられるバッファとしてリン酸ナトリウムとMES ((N-Morpholino)ethanesulfonic acid)を使用し、バッファの種類による分離の違いを比較しました。図1.に示しましたように、pH6において、塩基性の高いタンパク質で異なる選択性が見られました。

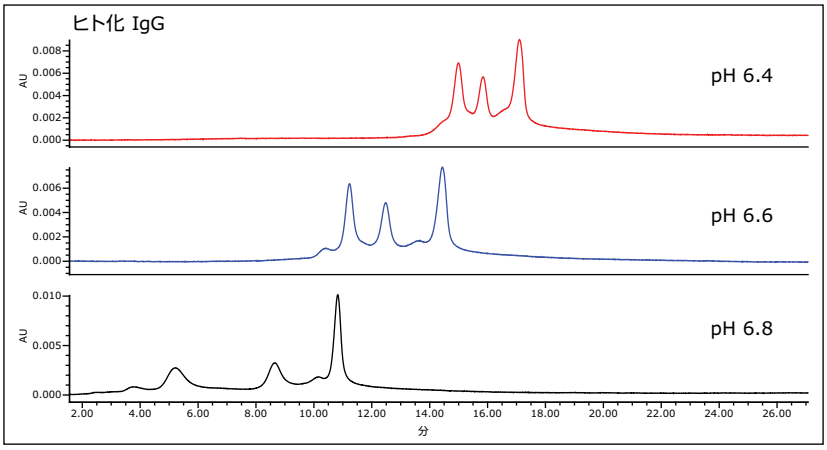

図 2.ヒト化IgGのIEX分離におけるpHの影響
サンプル：1.5 mg/mLヒト化IgG　カラム：Protein-Pak Hi Res CM 7-μm, 4.6 x 100 mm
分析条件：20 mMリン酸ナトリウムバッファ、流速0.5 mL/分、0-0. 1 M NaCl (40分)、30 ℃

また、全体の保持時間にもバッファの種類による影響が見られました。MESバッファは、3種類すべてのタンパク質の保持を強めました。2つ目の実験として、リジンバリアントを含むヒト化モノクローナル抗体をpHが異なるリン酸バッファで分離しました。バッファのpHが、ヒト化モノクローナル抗体とそのバリアントの保持時間と分離に与える影響が図2に示しました。Auto•Blend Plusテクノロジーと4液混合システムの採用により、IEXにおける簡便かつ迅速な分析法開発を実現します。

まとめ

ACQUITY UPLC H-Class BioシステムとAuto•Blend Plusテクノロジーとの融合により、IEXでのタンパク質とそのチャージバリアントの分析法開発を迅速に簡便に行うことが可能になります。Auto•Blend Plusテクノロジーを用いれば、酸、アルカリ、塩、水の4溶媒を簡単にかつ自在に混合し、pH調整を行うことができます。移動相調製や分析にかかる時間および溶媒コストの削減は、生産性の向上につながります。

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。The Science of What's Possible、Auto•Blend Plus および ProteinPak 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　720003601JA　PDF