[TECHNOLOGY BRIEF]

ACQUITY UPLC H-Class Bio システムにおけるサイズ排除クロマトグラフィー分析の信頼性

目的

4液混合送液が可能なACQUITY UPLC® H-Class Bioシステム及びタンパク質分析のために開発されたサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）用カラムであるACQUITY UPLC BEH200 SECカラムの信頼性を実証しました。

背景

バイオ医薬品の特性解析では、タンパク質凝集体やサイズバリアントの測定にサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）による分析が要求されます。特に、タンパク質凝集体は免疫原性に関わるため、正確な分析、定量が求められます。

従来のHPLCベースのSECカラムによる分析法は、分析時間が長く、信頼性にも問題がありました。

原因は短時間内でもおこる保持時間の変動やピーク形状、分離の変化、カラム間再現性の低さと考えられます。

ACQUITY UPLC H-Class Bioシステムと2 µm以下の粒子を使用したACQUITY UPLC BEH 200 SECカラムを使用することにより、信頼性、再現性にすぐれ、かつ、より短時間でのSEC分析を実現します。またAuto•Blend Plus™テクノロジーを装備した4液混合送液システムにより、最小限の時間での分析法開発が可能になります。

イナートで低拡散のUPLC® H-Class Bioシステムと化学的に安定なBEHカラムを使用することにより究極のパフォーマンスを実現します。

ACQUITY UPLC H-Class Bio システムとACQUITY UPLC BEH200 SECカラムにより、信頼性、再現性に優れた生体分子の分離を実現

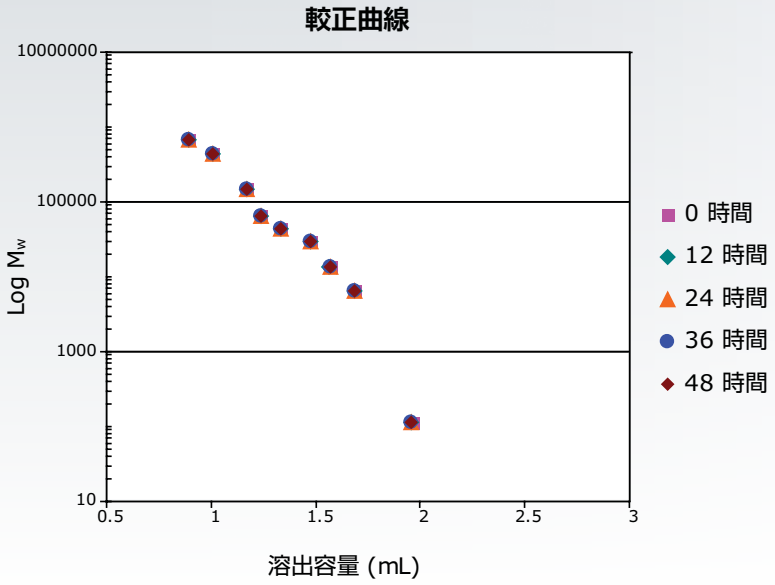


Figure 1.タンパク質標準品による較正曲線　48時間、5回重ね書きクロマトグラム
カラム: ACQUITY UPLC BEH200 SEC 1.7 µm, 4.6 x 150 mmカラム
分画分子量範囲: 10,000 - 450,000
バッファ: 20 mM リン酸バッファ/0.15 M NaCl, pH 6. 8
流速: 0.4 mL/min

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

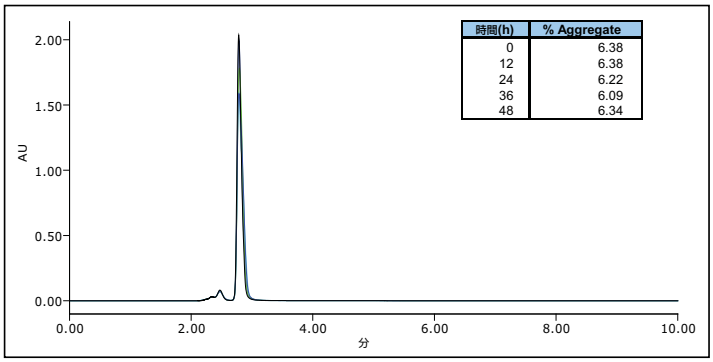
ソリューション

ACQUITY UPLC H-Class Bioシステムと1.7 µmのACQUITY UPLC BEH SECカラムにより、生体分子のSEC分離の信頼性を向上させることが可能です。イナートな流路を持ち、低拡散、高耐圧のACQUITY UPLC H-Class Bioシステムは、4液混合送液システムとAuto•Blend Plusテクノロジーを装備し、煩雑なバッファのpH調整をすることなく、多様なpH条件で分析を行っていただくことができます。

効果的にジオール基を結合させたACQUITY UPLC BEH200 SECの充てん剤は、安定で2次的相互作用を最小限に抑え、化学的にも物理的にも高い耐久性を示します。これらの特性により、ACQUITY UPLC BEH200 SEC カラムは600回以上のインジェクションにも耐え、さらに従来のシリカカラムと比較して低いバッファ濃度でご使用いただくことができます。

今回の一連の実験では、タンパク質標準品、抗体医薬品をACQUITY UPLC H-Class Bioシステム/ACQUITY UPLC BEH200 SECカラムを用いて分析いたしました。2日間にわたり分子量10,000から450,000の標準試料を用いて一定時間間隔での分析を行い較正曲線を作成し再現性を確認いたしました。

各タンパク質標準品の溶出容量（保持時間）のRSDは0.2 %以下でした。 SECの較正曲線の各ポイントは、タンパク質の分子量だけではなく形状の影響を受けるため、元来、完璧な直線にはなり得ませんが、曲線の一貫性は、カラム耐久性の高さ及びシステムの流量と注入量の正確な制御を証明しています。



時間(h)	% Aggregate
0	6.38
12	6.38
24	6.22
36	6.09
48	6.34

Figure 2. 20 mg/mLヒト化IgGのSEC分析データ
48時間での測定において、モノマーに対する凝集体含有率は6.09%-6.38%、RSD 0.2%。
バッファ: 20 mM リン酸バッファ/0.15 M NaCl, pH 6. 8
流速: 0.4 mL/min

定量再現性の試験にはヒト化モノクローナル抗体を使用いたしました。0-48時間、12時間間隔、5回の分析において、モノマーに対する凝集体の含有率は6.82% +/- 0.3%と信頼性の高い結果となりました。

UPLC SECテクノロジーによるSEC分析の正確さと高い再現性は、凝集体の正確な同定、定量をより確かなものにします。

まとめ

ACQUITY UPLC H-Class BioシステムとACQUITY UPLC BEH200 SECカラムが融合することにより、信頼性の高い凝集体分析が可能になります。前述のように、較正曲線の信頼性は、タンパク質標準品およびモノクローナル抗体双方の分析により実証され、その高い再現性がタンパク質凝集体の正確な同定と定量を確実にします。これにより、従来の再現性の低い結果やピークの誤同定による分析の遅れが解消され、分析効率の向上、費用対効果の向上を実現します。ACQUITY UPLC H-Class BioシステムとACQUITY UPLC BEH200 SECカラムが、生体分子のSEC分析を信頼性、再現性のある分析に変えていきます。

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 および Auto•Blend Plus 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 720003602JA PDF