[TECHNOLOGY BRIEF]

ACQUITY UPLC H-Class Bio システムおよびAuto•Blend Plus テクノロジーを使用したタンパク質の逆相分析

目的

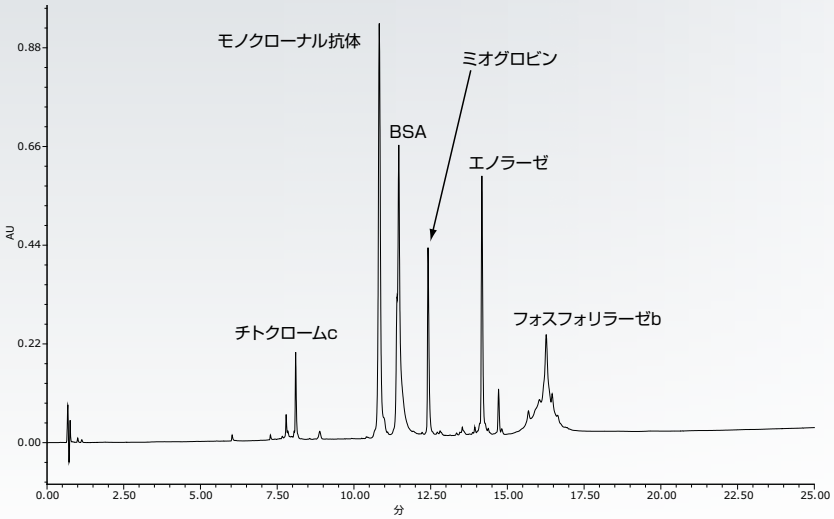
ACQUITY UPLC® H-Class Bioシステムの4液混合機能とUPLC® Protein Separation Technology(PrST)カラムにより、逆相分析におけるタンパク質の高分離で頑健性の高い分析条件を確立します。

背景

タンパク質の特性解析では分子のわずかな化学的な差異を高感度に検出する必要が生じます。これは、たとえその成分が微量であっても、生物学的に大きな影響を及ぼす可能性があるためです。この問題を解決するため、一般的に、様々な分離法で物理学的、化学的特性を特異的に高感度に分析するという手法が用いられます。ACQUITY UPLC H-Class Bioシステムは、イオン交換、サイズ排除、HILIC、そして逆相と一般的なタンパク質分析のすべての手法で使用可能なように設計されています。今回は、インタクトプロテインの逆相での分析についてご紹介いたします。

タンパク質の逆相での分離では、ポアサイズの大きい、短い官能基をもつカラムがよく用いられます。300 Åのポアサイズ、C4の官能基を持つACQUITY UPLC BEH 300 C4, 1.7 µmは、このようなタンパク質の分析のために開発されました。試料は酸の存在下で有機溶媒グラジエントにより溶出され、分離は酸や有機溶媒の種類と濃度によって決定されます。ACQUITY UPLC H-Class Bioシステムでは、4液混合機能を活用し、任意の組成で

様々な移動相組成を自由に設定できる生体サンプル分析対応のACQUITY UPLC H-Class Bioシステムで、インタクトプロテインの確実な分離の実現



Auto•Blend™は、溶媒ラインにセットした有機溶媒や水などの純粋な溶媒と高濃度の酸等の添加剤溶液を、自在に比率を変えて混合するテクノロジーです。この機能を使用して幅広い分子量のタンパク質を逆相で分離したクロマトグラムです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

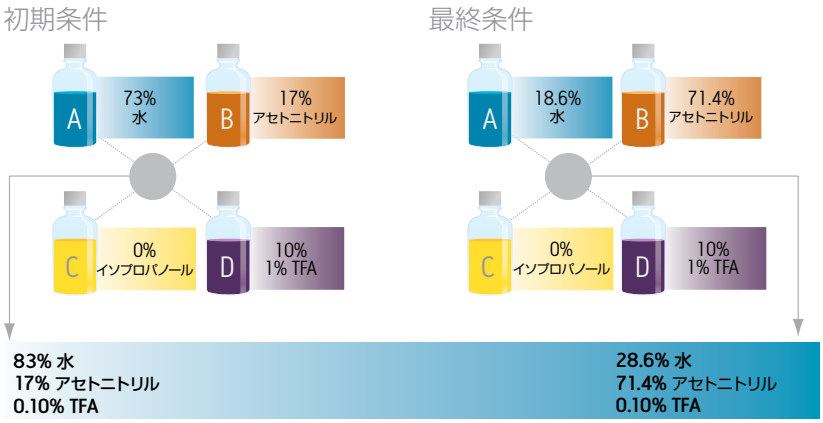
有機溶媒、添加剤（酸）の濃度をプログラムすることが可能です。このAuto•Blend Plus™テクノロジーはプログラムされた移動相組成が、正確、精密に送液できる信頼性の高い装置でのみ威力を発揮します。

ここではこのシステム性能に関してご紹介いたします。

ソリューション

頑健性の高いタンパク質分析法は、装置、カラム、移動相条件が最適化されて初めて実現します。ここでご紹介する分析法開発では、UPLCテクノロジーが基盤となっています。UPLCテクノロジーとは、2 µm以下の粒子を充てんしたカラムを、拡散を最小限に抑えたシステムで使用することにより最高の分離、感度、そしてスループットを得ることができるテクノロジーです。ACQUITY UPLCファミリーはその要求にお応えします。

ACQUITY UPLC H-Class Bioシステムは、生体試料に適合した材質で構成され、その4液混合送液システムとAuto•Blend Plusテクノロジーとを組み合わせることにより、分析法開発や分析自体を簡便化できるよう設計されています。あわせて使用したUPLC PrSTカラム（BEH 300 C4 1.7um）は、大きなポア、短い官能基、シラノール基が少ないBEHパーティクルにより、最高の分離と回収率を達成します。Auto•Blend Plusテクノロジーによる簡便な分析法開発には、きわめて精密な溶液混合性能が要求されます。3溶媒混合での分析条件とその分析結果を図に示しました。



注入#	チトクローム c	モノクローナル抗体	BSA	ミオグロビン	エノラーゼ	フォスフォリラーゼ b
1	8.169	10.898	11.532	12.497	14.252	16.353
2	8.16	10.882	11.523	12.482	14.237	16.359
3	8.18	10.909	11.548	12.505	14.259	16.356
4	8.176	10.897	11.546	12.497	14.251	16.358
5	8.179	10.898	11.536	12.501	14.244	16.354
6	8.179	10.909	11.548	12.504	14.257	16.358
平均	**8.174**	**10.899**	**11.539**	**12.498**	**14.250**	**16.356**
標準偏差	**0.008**	**0.010**	**0.010**	**0.008**	**0.008**	**0.002**
%RSD	**0.096**	**0.091**	**0.089**	**0.067**	**0.058**	**0.015**

表には、各タンパク質の保持時間再現性を示しました。今回使用した混合標品には様々な性質、サイズのタンパク質が含まれており、分離の一貫性を確認するのに適した試料であると考えられます。この分離の再現性は、ルーチン分析にも十分適合するものであり、Auto•Blend Plusテクノロジーによる自動での混合溶媒調製は、ラボワークや調製時のミスを軽減し、信頼性の高い結果をもたらします。

まとめ

ACQUITY UPLC H-Class Bioシステム、UPLCカラム、ソフトウェアのトータルシステムソリューションにより、インタクトプロテインの逆相分析における問題点を解決し、要求にお応えします。そのすぐれた再現性は、自動移動相調製機能を含むシステムの一貫性を実証しています。

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。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 720003646JA PDF