[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

生物学的製剤の宿主細胞タンパク質を同定し定量する一般的な 2D-UPLC/MS 法

Catalin Doneanu, Keith Fadgen, StJohn Skilton, Martha Stapels, and Weibin Chen
Waters Corporation, Milford, MA, U.S.

アプリケーションの利点

濃度の範囲が4～5桁に及ぶ生物学的治療薬の宿主細胞タンパク質(HCP)を同定し定量するのに効果的かつ一般的なUPLC/MS^{E}法が開発されています。

選択されたHCPタンパク質に対するこの標的ハイスループット定量法によって、研究者がその変動量をモニタリングすることが可能になります。

ウォーターズのソリューション

nanoACQUITY UPLC with 2D Technology
SYNAPT HDMS
XBridge and ACQUITY UPLC Columns
ACQUITY UPLC
Xevo TQ MS

キーワード

宿主細胞タンパク質(HCP)、2D クロマトグラフィー、高pH、低pH、MS^E、多重反応モニタリング(MRM)

はじめに

今日存在するほとんどの生物学的治療薬は、適切に選択された宿主細胞系を用いた組換えDNAテクノロジーによって生産されています。宿主細胞にはそれ自体のタンパク質が大量に発現し、組換えタンパク質製剤を容易に汚染する可能性があります。高度な精製段階後でも、最終精製した生物学的製剤に少量(1～100 ppm)の宿主細胞タンパク質(HCP)が残留するおそれがあります。HCPはときに予測不可能な免疫原性反応を引き起こすことがあるため、規制ガイドラインによって、HCPを同定して定量し、患者の安全性を守る必要があることが定められています。

タンパク質製剤中のHCPの有無によって、生物学的製剤が規制当局により認可されるかどうかが決まる可能性があります。たとえば、2008年に欧州医薬品庁(EMA)は、製造業者が患者に免疫原性反応を引き起こす原因となるHCPを除去するために追加の精製段階を加えた場合に限り、組換え型ヒトソマトロピンを承認しました[1]。同庁は2006年、免疫原性検査のバリデーションが不十分であるという理由により、インターフェロンバイオシミラーの承認を認めませんでした。

HCPの測定に用いられる分析方法はすべて、タンパク質濃度のダイナミックレンジが広い(4～5桁)ため、重大な問題に直面しています。プロセス特異的ELISAおよびウエスタンブロット法など[2]、広く用いられている分析方法には、HCP不純物の性質に関する予備知識を必要とするものがあります。さらに、プロセス特異的免疫測定法は、多大な時間を要し(たとえば6ヵ月)、開発費用も多額であり(10万ドル以上)、さまざまなタイプの細胞および精製計画によって製造された生物学的製剤を十分に評価することに迅速に適応していません。

HCP分析によく用いられる別の方法、蛍光染色と組合せた二次元ゲル電気泳動[3,4]は、唯一の半定量法であり、ダイナミックレンジが狭く(2～3桁)、HCP同定には補助的な確認方法(たとえば質量分析法)が必要です。HCPモニタリングに一般的に用いられる市販のELISAキットが開発されていますが、プロセス特異的免疫測定法よりも特異度が低く、試料中に既存のHCPすべてを完全にカバーすることはできません[5,6]。

生物学的治療薬に含まれるHCPの正確な同定およびモニタリングを行う能力があることを明らかにすることができる組織であれば、その製品の承認を得る妨げとなる規制上の障害を乗り越えることができるのではないかと思われます。

本アプリケーションノートでは、生物学的治療薬のタンパク質試料にみられるHCPを包括的に同定し定量する一般的なUPLC®/MS法について記載します。この分析法では、ペプチド分離にオンライン二次元LC法、タンパク質の同定および定量に高分解能ならびに高質量精度の質量分析装置を用います。

実験方法

LC 条件

2D-UPLCシステム：　2Dテクノロジーおよびオンライン希釈機能を搭載したnanoACQUITY UPLC® システム

一次元 LC（pH 10.0 で操作）

カラム：　XBridge™ BEH300C$_{18}$、5 µm、1 x 50 mm、（P/N 186003615）

流速：　10 µL/分

移動相A：　20 mM ギ酸アンモニウム pH10

移動相B：　アセトニトリル

ステップグラジエント：　pH 10で一次元目にペプチドを分画するのに10段階溶出グラジエントを実施する。各段階に占める移動相Bの割合は、10.8%、12.4%、14.0%、15.0%、16.7%、18.6%、20.4%、25.0%、30.0%および50.0%。

希釈溶液：　0.1% TFA / Milli-Q水、流速100 µL/分

トラップカラム：　Symmetry C$_{18}$、0.5 x 20 mm、5 µm（内容積2.7 µL）

二次元 LC（pH 2.4 で操作）

カラム：　ACQUITY UPLC® BEH C$_{18}$、0.3 x 150 mm、1.7 µm（P/N 186002605）

カラム温度：　65℃

流速：　12 µL/分

移動相A：　0.1% ギ酸 / Milli-Q水（pH2.4）

移動相B：　0.1% ギ酸 / アセトニトリル

グラジエント溶出：　7-35% B/30 分

MS 条件

HCP 探索用プラットホーム

MSシステム：　SYNAPT® HDMS™

データ取得時間：　0.5 秒

m/z 範囲：　50 ～ 1990

ESIスプレー電圧：　2.6 kV

コーン電圧：　37 V

ソース温度：　120℃

低衝突エネルギー：　5eV（固定）

高衝突エネルギー：　15 eV から 35 eV へランピング

ハイスループット MRM 法プラットフォーム

LCシステム：　ACQUITY UPLC®

カラム：　ACQUITY UPLC BEH300 C$_{18}$、2.1 x 150 mm 1.7 µm（P/N 186003687）

カラム温度：　35℃

MSシステム：　Xevo® TQ MS

ESIスプレー電圧：　3.5 kV

コーン電圧：　37 V

ソース温度：　90℃

MS1/MS2アイソレーションウィンドウ：　0.75 Da（FWHM）

滞留時間：　20 ～ 30ミリ秒

インフォマティクス

ProteinLynx Global SERVER™ (PLGS) 2.4

強陽イオン交換（SCX）および低pH逆相[7]分離に基づく伝統的な2Dクロマトグラフィー設定計画と対照的に、本稿で用いた2D法には、最大のクロマトグラフィー分離を達成し、HCP試料にみられる複雑性および広範囲のダイナミックレンジに対処することができるように、高pH逆相(RP)分離と低pH RP分離とを組み合わせています。

また、少量のHCPペプチドでも再現性を示す試料が採取され、バイアスが生じることなく同定されるように、質量分析法には多重データ取得法（MS^E）を用いています。

さらに、多種多様な製造/精製条件から得られた試料にみられるHCPの変動をモニタリングするハイスループット法を提供するために、多重反応モニタリング（MRM）の原理に基づく迅速定量分析法が開発されてきました。

このアプリケーションノートでは、さまざまな精製法から得られたモノクローナル抗体試料を用いた分析法の性能を評価します。

試料の調製

MIX-4 タンパク質消化物標準液

MIX-4タンパク質消化物標準液は、20 mMギ酸アンモニウム（pH10）を用いて、MassPREP™タンパク質消化物ADH(P/N 186002328)、PHO(P/N 186002326)、BSA(P/N 186002329) およびENL（P/N 186002325）それぞれの原液を最終濃度が20 nM ADH、4nM PHO、1 nM BSAおよび0.2 nM ENLとなるように希釈することによって調製しました。

HCP 試料の調製

2種類のチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞系を用いてキメラ抗ホスホチロシンIgG1 モノクローナル抗体（PTG1 mAb）を発現させ、製造業者の推奨事項に準拠した2種類のプロトコルを用いてプロテインAクロマトグラフィーにより精製しました。

分析試料6個のうち、A1、B1、A2およびB2と表示された試料4個はDG-44 CHO細胞を用いて発現させ、CおよびDと表示した試料2個はCHO-S細胞を用いて発現させました。2種類の精製プロトコルに準拠して実施しました。試料A1/A2およびB1/B2は、同じ条件下で増殖させた生物学的複製でした。

250 µLのPTG1に5種類のタンパク質標準液（LA、PHO、ADH、BSA、ENL）をスパイクとして添加しました（5 ～ 10 mg/mL）。その結果得られたタンパク質混合物は、60℃で15分間0.1% RapiGest™を用いて変性させ、60℃で30分間10 mM DTTを用いて還元し、30分間（RTで）20 mM IAMを用いてアルキル化し、比率を1:20（w/w、酵素：タンパク質）としたブタトリプシン（Promega社）を用いて一晩（37℃）消化させました。消化後、純TFAを5 µL加えてRapiGest表面活性物質を分解し、37℃で30分間試料を保温したのち、遠心分離（10,000 rpmで10分間）を実施して沈殿によりRapiGestの不溶性成分を分離しました。2 Mギ酸アンモニウム（pH 11）溶液を用いて、上澄み液がpH 10になるまで調整したのち、20 mMギ酸アンモニウム（pH10）を用いて消化物の容積を1 mLとしました。100 µL試料ループを用いてカラムに負荷したスパイク添加タンパク質消化物の量は、LA（ウシαラクトグロブリン）が4000 fmol、PHOが800 fmol、ADHが320 fmol、BSAが80 fmol、ENLが16 fmolでした。

MRM 分析の内部標準

MRM定量については、上記の消化プロトコルに準拠して調製したPTG1消化物の濃度を20 nMから250 µLとして、$^{13}C^{15}N$同位体標識ペプチド3種（Sigma Aldrich社）をスパイク添加しました。

結果および考察

2D-UPLC システムのクロマトグラフィー性能

図1A ～ 1Cに、試料負荷、一次元による試料溶出および二次元による試料分離を実施中の2D-UPLCシステムの動作を示した回路図を示しています。基本条件（pH 10）下で一次元カラム（図1A）にペプチド試料を負荷し、アセトニトリル濃度を増大させた10段階の溶出を用いたRPクロマトグラフィーによって分画します（図1B）。各ペプチド分画は、一次元で溶出したペプチドを一時的にトラッピングカラムで保持することができるように、1:10の比率で0.1% TFA（pH 2.1）を含有する溶液を用いて（オンライン）希釈します。次に、酸性条件下の30分グラジエントを用いて、二次元分析カラムでペプチドを分離します(図1C)。

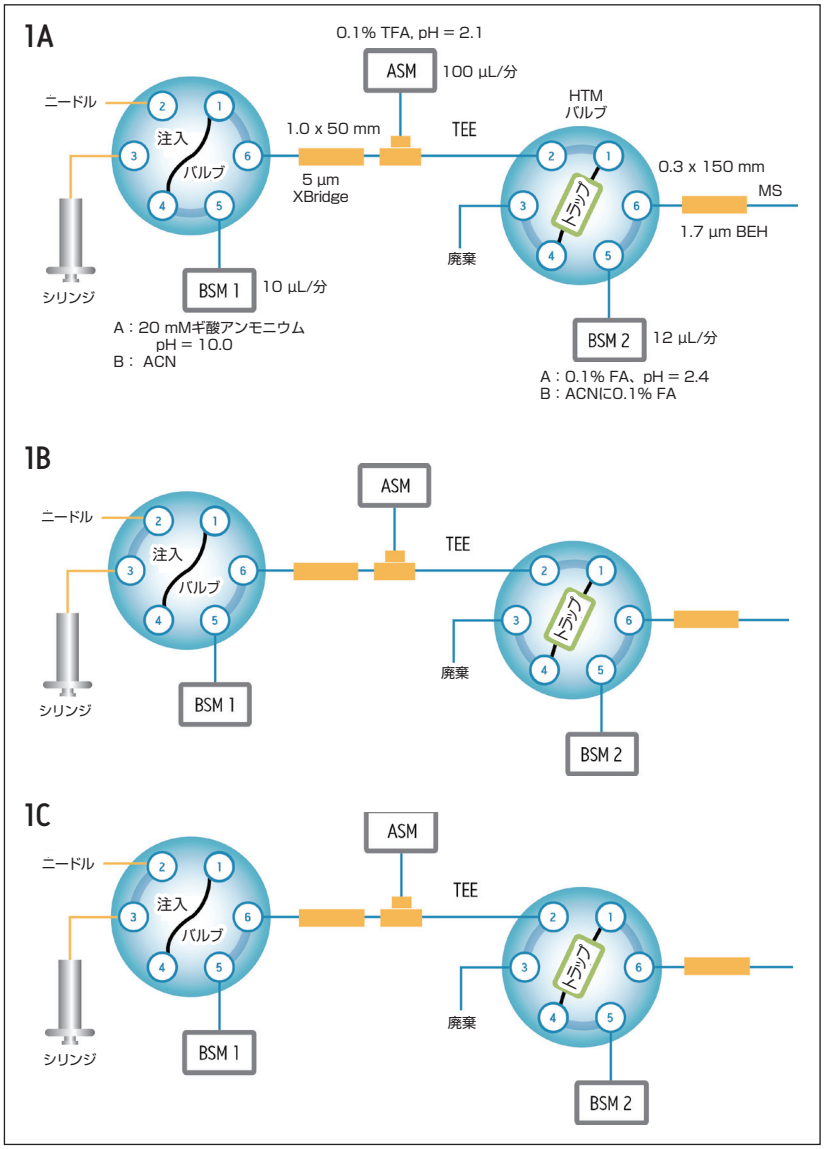

図1. オンライン希釈機能を搭載した2Dクロマトグラフィーの流路（A）試料負荷、（B）一次元クロマトグラフィー（高pH逆相）を用いたペプチド分画およびペプチドトラッピング、（C）二次元（低pH逆相）でのペプチド分離。

多次元クロマトグラフィー分離の重要なクロマトグラフィーパラメーターは、長期にわたる操作中にみられるペプチド分画の再現性です。これについては、20 mMギ酸アンモニウム（pH 10）を用い、ADHを20 nM、PHOを4 nM、BSAを1 nM、ENLを0.2 nM含有しているMIX-4タンパク質消化物を使用して得られた結果を図2にまとめています。図2は、連続注入4回の二次元（低pH）分離（実験）によってENLタンパク質（VNQIGTLSESEIK, 644.86のモノアイソトピックピーク $[M+2H]^{2+}$）から抽出したT43ペプチドのマスクロマトグラムを示しています。各実験の一次元では、10.8%、12.4%、15.4%、18.6%および50%の溶離液B（100% ACN）を用いた5段階の分画を実施しました。T43 ENLペプチドは分画4のみで溶出されており、一次元分画の再現性が高いことが明らかになりました。さらに、48時間にわたる分離中に同じペプチドの保持時間再現性（0.05% RSD）が認められ、2D-UPLCシステムの安定性が示されています。

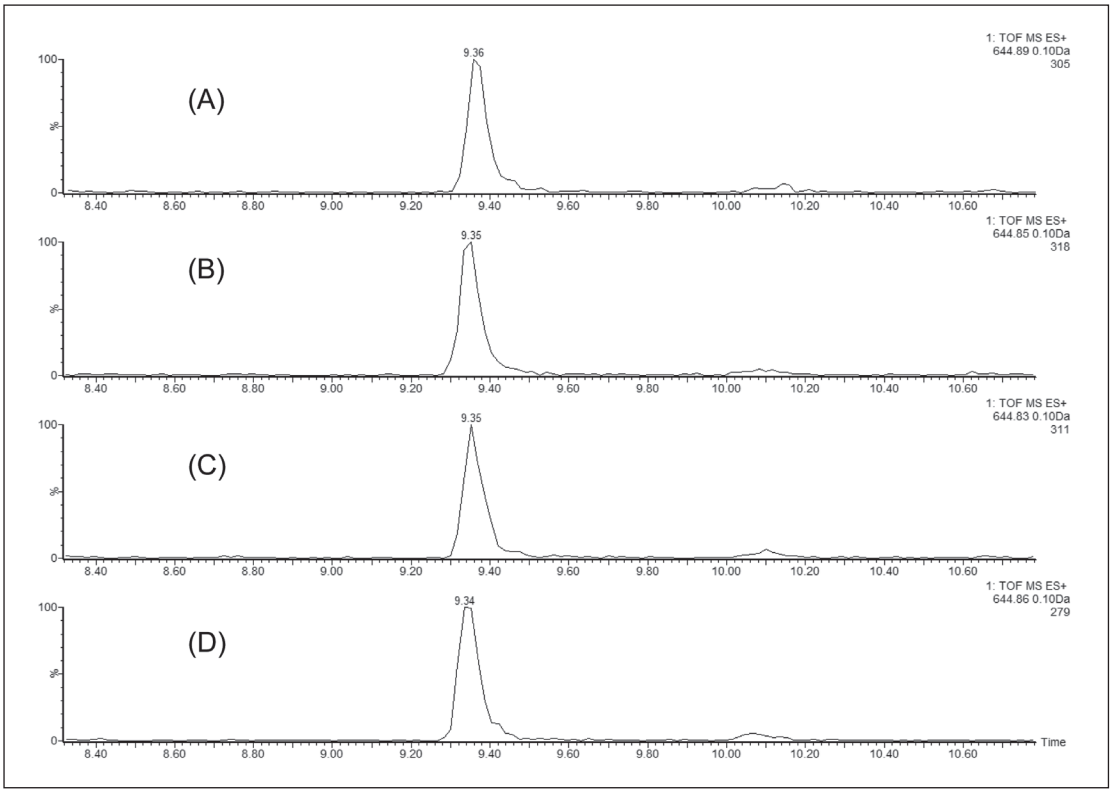

図2. 連続4回の実験にみられる2D-UPLCの再現性：（18.6% ACNを用いた）5段階分画のうち分画4にのみ溶出したENL（VNQIGTLSESEIK, $[M+2H]^{2+}$ のm/z: 644.86）から抽出されたT43ペプチドのマスクロマトグラム。30分グラジエント（7 ～ 35% ACN, 0.1% FA）を用いて12 µL/分で二次元クロマトグラフィーを実行した。ENL消化物20 fmolをカラムに負荷した。

2回目の実験では、一次元の分画段階数と関係なく、2D-UPLCシステムが優れたクロマトグラフィー性能を維持する能力について検討しました。図3に、「模擬1D」（溶離液B 10.8 ～ 50%の1段階溶出）、3段階、5段階および10段階の分画という4通りの分画計画下で二次元分離によって得られたT43ペプチドから抽出したマスクロマトグラムを示しています。このシステムによって、さまざまな操作計画（0.15% RSD）について再現性の高い保持時間が明らかにされています。10段階の分画実験によって、高pH/低pHのペプチド2D分離に関する重要な側面が明らかにされました。ペプチドは比較的狭い溶出段階グラジエント（1.9%B）でも、1段階の分画（5/10）で完全に溶出することができます。図4に示しているように、それ以前またはそれ以後の分画で検出することができたT43ペプチドはありませんでした。

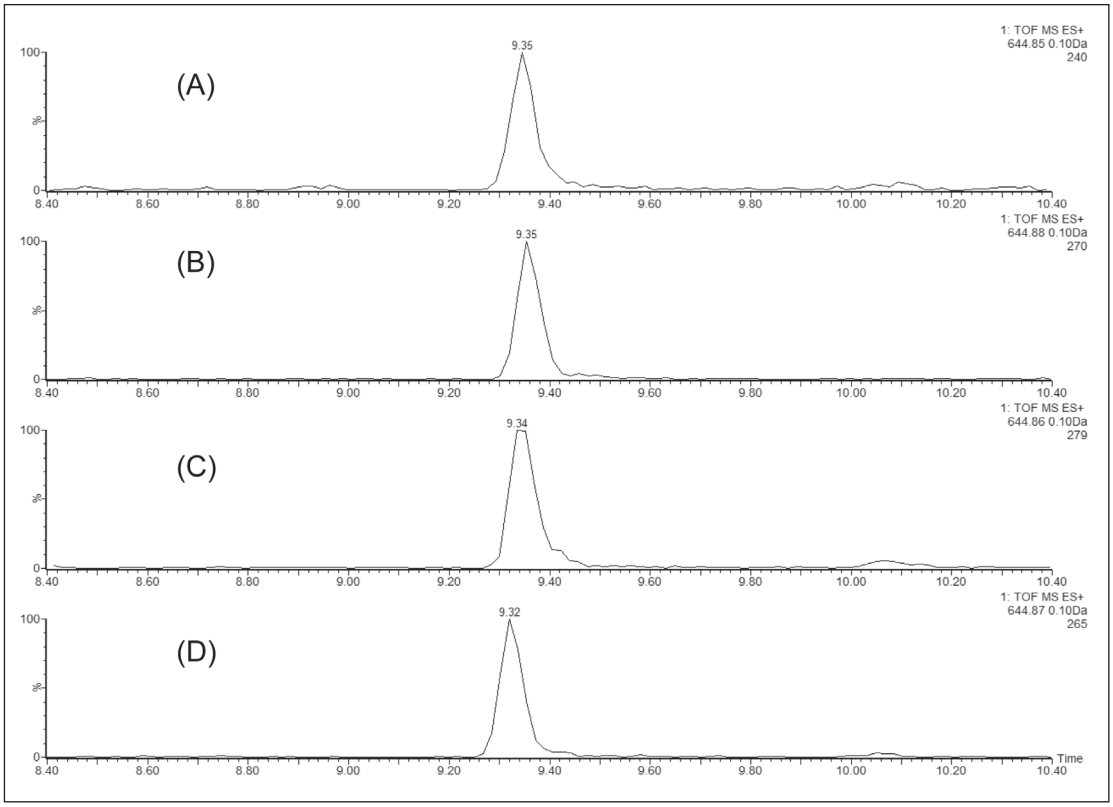

図3. 一次元分画中のクロマトグラフィー性能（たとえばRT再現性およびピーク幅）を維持：4通りの分画条件下で得られたENL T43ペプチドのマスクロマトグラム：(A) 1段階溶出を用いた「模擬」1D実行（10.8 ～ 50% ACN）、(B) 3段階分画のうち分画2（10.8 ～ 18.6% ACN）、(C) 5段階分画のうち分画4（15.4 ～ 18.6% ACN）、(D) 10段階分画のうち分画5（15.4 ～ 16.7% ACN）。どの分離にも30分グラジエント（7 ～ 35% ACN, 0.1% FA）を用いた。

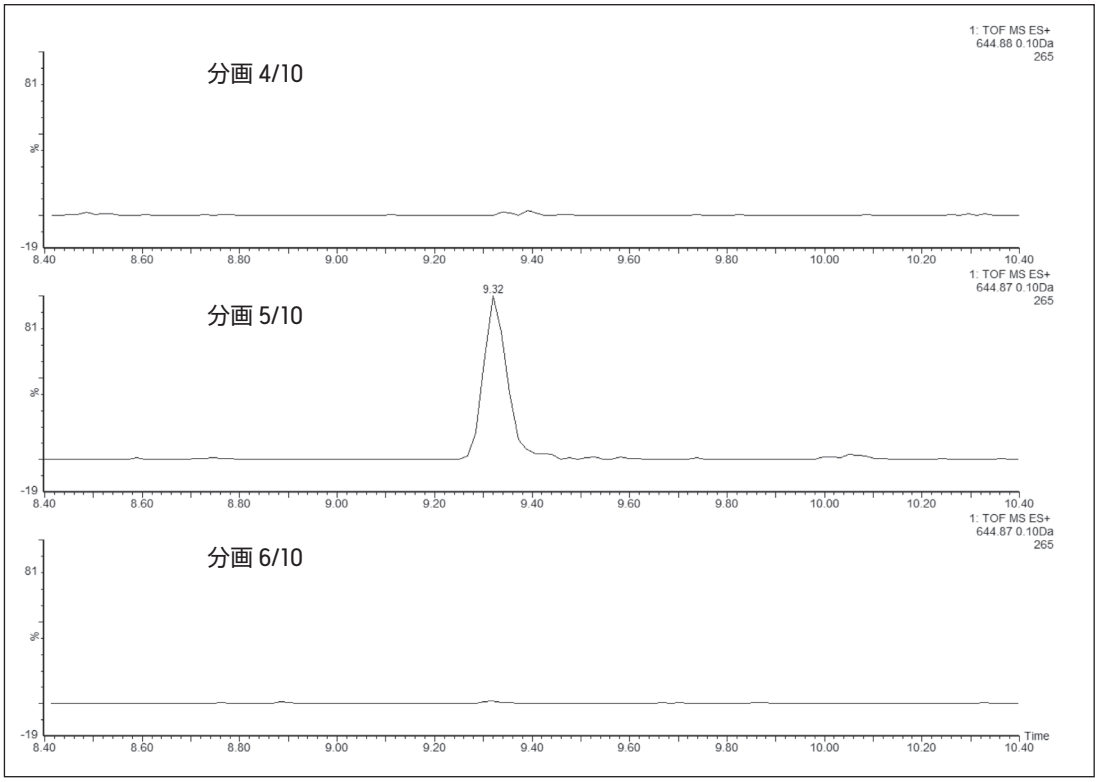

図4. 高pH条件でみられるペプチド分画の性能：一次元で10段階分画を用いて連続3回の実験を実施して得られたENL T43ペプチドのマスクロマトグラム：分画番号4は14.0 ～ 15.4% ACNによる溶出段階に相当。分画番号5は15.4 ～ 16.7% ACN。分画番号6は16.7 ～ 18.6% ACN。どの分離も30分グラジエント（7 ～ 35% ACN, 0.1% FA）を用いて実施した。カラムに負荷した量はENL消化物20 fmole。

2D-UPLC設定のクロマトグラフィー性能は、分画段階数に関係なく維持することができます。連続4回の実験ではESI-MSのシグナルの保持時間、ピーク幅/形状および強度について2D-UPLC設定の再現性が得られたことから、HCPに関する試験室試験について、システムに絶対的な信頼をおくことができることがわかります。データを全体的にみると、分画実験期間全体にわたって（6～10時間）、測定可能な試料が減少することもなく、高pH XBridgeカラムにペプチドを保持する能力があることが明らかにされています。

mAb 調製物中の HCP 同定

生物学的製剤にみられる少量のHCPを同定する2D-UPLC/MS^{E}テクノロジーの分析能力を検討するために、DG-44（A1、A2、B1およびB2と表示した試料）およびCHO-Sハムスター細胞系(試料CおよびD)によって発現させたmAb（PTG1）試料6個を分析しました。

2種類のプロテインAクロマトグラフィーカラムによって、各試料を精製しました。この1段階精製プロトコルは、最も精度の高いmAbを得るために完全に最適化された精製を達成するようにデザインされておらず、むしろ比較的複雑な生物学的試料からHCPを同定するLC/MS法の能力を検討するのに適した試験試料を得ることができました。

比較的多数のCHOタンパク質（約40）を標的mAbと共に同時精製しました（表1参照）。トリプシン消化前、PTG1調製物に（宿主ハムスター細胞以外の細胞種を由来とする）5種類のタンパク質標準液をスパイク添加しました。このタンパク質標準液は、分析法のダイナミックレンジを確認し、分析で同定された各タンパク質のペプチドのうち特に良好な反応を示したペプチド3個のシグナルを合計してHCP定量の内部基準を得るための内部対照として有用です[8]。

表1に示しているように、PTG1調製物6個から計37個のHCPが同定されました。パブリックドメインではCHOタンパク質のデータベースを利用することができないため、このようなHCPタンパク質はマウス/ハムスターのホモロジー検索を用いて同定しました。測定したHCP濃度には大きなばらつきがみられ、10～3000 ppmでした。スパイク添加タンパク質標準液5個のうち4個（最低量のENLを除く）が全試料で同定されました（複製3個のうち2個）。この試験で同定されたHCPのほとんどが多量のCHOタンパク質でした。

表1は、HCP組成/濃度がPTG1発現に用いられる細胞系に大きく左右されることを示しています。CHO-S細胞系によって得られた試料CおよびDの総HCP濃度は、DG-44（試料A1、A2、B1、B2）について測定した総HCP濃度よりも有意に低くなっています。さらに、PTG1のプロテインA精製に用いられるプロトコルも、表1によって示唆されているようにHCP組成/濃度に影響を及ぼします。

プロトコル番号	タンパク質の詳細	タンパク質濃度(ppm)					
		DG-44細胞				CHO-S細胞	
		A1	A2	B1	B2	C	D
1	Nucleolin Mesocricetus auratus ゴールデンハムスター		191	1615	3034		
2	ヘテロ核リボ核タンパク質アイソフォーム Mus musculus			1459	2413		
3	延長因子アイソフォーム Mus musculus	304	745	1705	1354	142	532
4	プロコラーゲンCエンドペプチダーゼエンハンサー1 Mus musculus			1655	1265		
5	アクチン細胞質アイソフォーム Mesocricetus auratus ゴールデンハムスター	907	956	813	877	287	45
6	クラステリン Mus musculus	1010	1068	658	855	537	185
7	グリコーゲンホスホリラーゼbウサギ – PHO	621	423	536	659	801	621
8	プラスミノーゲン活性化因子1 RNA結合タンパク質 Mus musculus			400	464		
9	リポタンパク質リパーゼ Mesocricetus auratus ゴールデンハムスター	1168	481	669	464		
10	78 kDaグルコース調節タンパク質 Mesocricetus auratus ゴールデンハムスター	201	341	168	463		
11	グリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼゴールデンハムスター	448	771	573	442	104	31
12	新生ポリペプチド結合複合体サブユニット Mus musculus			494	440		40
13	ナイドジェン1 Mus musculus	38	263	42	300		
14	T複合タンパク質1サブユニット Mus musculus	100	271	95	296		
15	セリンプロテアーゼHTRA1 Mus musculus	565	265	471	286		
16	高速移動群タンパク質アイソフォーム Mus musculus			113	278		59
17	40Sリボソームタンパク質S3 Mus musculus	354	323	268	278		
18	αラクトアルブミンウシ - LA	120	260	155	270	200	104
19	リソソームαグルコシダーゼ Mus musculus	40	385	152	266		
20	ヌクレアーゼ感受性領域結合タンパク質1 Mus musculus		17	296	208		
21	ピルビン酸キナーゼアイソザイム M2 Mus musculus	242	332	143	196		
22	活性RNAポリメラーゼII転写コアクチベーター p15			132	161		
23	熱ショックタンパク質HSP 90 β Mus musculus	76	114	121	154		
24	ヌクレオホスミン Mus musculus			96	145		
25	インスリン様成長因子結合タンパク質4 Mus musculus			150	129		51
26	補体C1q腫瘍壊死因子関連タンパク質4	53	51	164	104		
27	真核生物翻訳開始因子アイソフォーム Mus musculus	26	16	239	98		17
28	アルコールデヒドロゲナーゼ酵母 – ADH	72	59	81	83	101	77
29	インターロイキンエンハンサー結合因子2 Mus musculus			71	81		
30	ラミニンサブユニット Mus musculus			31	71		
31	グアニンヌクレオチド結合タンパク質サブユニット Mus Musculus	52	86	44	78		
32	血清アルブミン前駆物質ウシ – BSA	46	25	47	57	61	46
33	コフィリン Mus musculus	15	39	21	53		
34	ペルオキシレドキシン1 Mus musculus	31	33	39	49		
35	熱ショックコグネート71 kDaタンパク質 Mus musculus	122	212				
36	熱ショックタンパク質HSP 90 α Mus musculus	71	83				
37	チューブリンアイソフォーム Mus musculus	122	147			81	60
	HCPの総ppm(スパイク添加タンパク質は考慮せず)	5945	7190	12897	15302	1151	1020
	PTG1の純度	94.05	92.81	87.10	84.30	98.85	98.98

表1. ESI-MSのペプチドのうち特に良好な反応を示したペプチド3個を用いたPTG1 mAB試料6個について測定したHCP濃度（ppmまたはタンパク質1 g当たりのHCPで表示）。A1、A2およびCと表示した試料はProSep-vAカラムで精製したのに対して、B1、B2およびDと表示した試料はMabSelect Sureカラムで処理した。試料A1/A2およびB1/B2はDG-44ハムスター細胞によって作製された生物学的複製であったのに対して、試料CおよびDは同じ条件下で増殖したCHO-Sハムスター細胞を用いて発現させた。各調製物のmAB純度は各試料用カラムの底部に表示している。

UPLC/ タンデム四重極 MS による HCP のハイスループットモニタリング

精製プロセスが確立されれば、組織は既知のHCPに対するモニタリングを行い、そのプロセスが十分に管理されていることを確認する必要があります。また、製品に関する主張が多数のバッチ全体を通じて一貫していることを規制当局に示す必要があります。

UPLC/MRM-MS法によって、オペレーターの解釈に左右されない厳格かつ客観的な方法でこの情報を提供することができます。さらに、プロセスの方法を変更することは新しいELISAの開発に数ヵ月要する可能性があることも意味しているのに対して、UPLC/MRM/MS法は数分以内で変更して、新しいタンパク質に適応することができます。

このため、2D-UPLC/MS^{E}段階から得られた発見に関する結果に基づき、20分UPLC/MRM-MS法が開発されました。UPLC/MRM-MS法は、さまざまな実験条件によって調製され、以前同定されているHCPの濃度にみられる変化を迅速にモニタリングするために開発されたものです。試料6個で同定されたタンパク質の一覧からHCP 20個を選択しました。

MRM実験では、HCP 20個を示すペプチド29個の転移、計58回をモニタリングしました。この分析法によって、MRMデータセット全体の平均ピーク面積RSDが13.8%という再現性の高い測定値が得られました。この結果は、UPLC/MRM-MS法が、生物学的製剤精製の後期段階にハイスループットHCPモニタリングを行うのに効果的な方法となることを示しています。さらに、MRM法では、スパイクとして添加する同位体標識ペプチドを用いて、各HCPの簡便な絶対的定量方法が得られます。

使用するさまざまなUPLC/MS法の相関を理解することも重要です。スパイクとして添加する同位体標識ペプチドを用いて（MRM実験でモニタリングしたHCP 20個のうち）HCP 3個を定量しました。この方法は、絶対的定量値を得るために今日産業界で用いられている方法と一致しています。MRMの結果は、図5A ～ Cに示しているように、試料6個全体のMS^{E}定量と十分に相関しています。

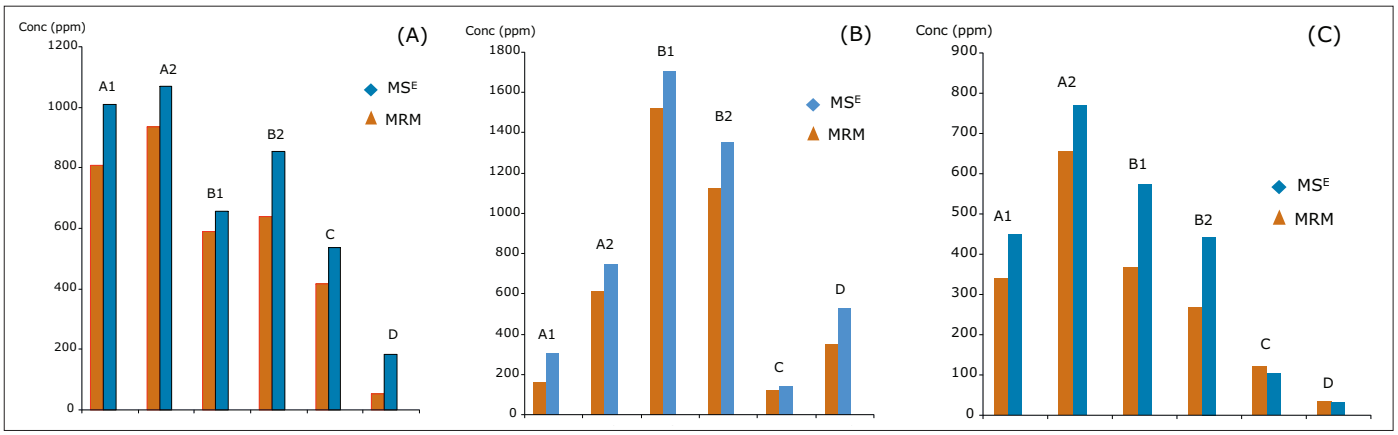

図5. MS^{E}法とMRM法によるHCP定量の比較。TOFをベースとした定量（MS^E）は、既知の濃度を用いてスパイクとして添加するタンパク質標準液によって誘発されたシグナルに対し特に良好なイオン化ペプチド3個の平均強度によって発生した前駆体シグナルに基づく。MRM定量は、既知の濃度を用いたスパイク添加$^{13}C^{15}N$同位体標識ペプチドのシグナルによるピーク面積の使用に基づく。mAb調製物質6個で測定したタンパク質濃度（ppm）は、（A）がクラステリン、（B）が延長因子1α、（C）がグリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼを示す。

まとめ

- UPLC/MS^{E}法によって、濃度範囲4～5桁で生物学的製剤の少量のHCP不純物を同定し定量することができます。
- mAb精製に用いた細胞系がHCPの同定および濃度に大きな影響を及ぼす可能性があります。
- さまざまな精製プロトコルを用いたmAbのプロテインA精製によって、さまざまなHCPパターンが得られます。
- タンデム四重極質量分析法を用いた標的HCPのモニタリング用ハイスループットUPLC/MRM-MS法を迅速に実施することができます。

参考文献

1. European Medicines Agency. Omnitrope: Scientific Discussion 2006. http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/Omnitrope/060706en6.pdf
2. Wang X, Hunter AK, Mozier NM. Biotech & Bioeng. 2009: 103, 446.
3. Hayduk EJ, Choe LH, Lee KH. Electrophoresis. 2004: 25, 2545.
4. Jin M, Szapiel N, Zhang J, Hickey J, Ghose S. Biotech & Bioeng. 2010: 105, 306.
5. Savino E, Hu B, Sellers J, Sobjak A, Majewski N, Fenton S, Yang TY. BioProcess Intl. 2011: 9, 38.
6. Savino E, Hu B, Sellers J, Sobjak A, Majewski N, Fenton S, Yang TY. BioProcess Intl. 2011: 9, 68.
7. Wolters DA, Washburn MP, Yates JR III. Nat Biotechnol. 2001: 19, 242.
8. Li GZ, Vissers JP, Silva JC, Golick D, Gorenstein MV, Geromanos SJ. Proteomics. 2009: 1696.

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 札幌

Waters、ACQUITY UPLC、UPLC、nanoACQUITY UPLC、SYNAPTおよびXevoはWaters Corporationの登録商標です。
XBridge、MassPREP、RapiGest、ProteinLynx Global SERVER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。

©2012 Waters Corporation. Produced in Japan. 2012年9月 720004043 JA PDF