



Agilent バイオ HPLC カラムセレクションガイド

バイオ医薬品および生体分子の分析のための リファレンスガイド

The Measure of Confidence



Agilent Technologies



目次

バイオカラム選択ガイドライン	1	メソッド開発	99
生体高分子の分離	4	ZORBAX カラムメソッド	99
UHPLC/HPLC 技術	16	逆相 LC/MS メソッド	101
逆相 HPLC	17	バイオイオン交換カラムメソッド	102
ZORBAX 300Å StableBond	19	SEC カラムメソッド	104
ZORBAX 300Å Extend-C18	26	高感度キャピラリーカラムメソッド	106
Poroshell 300	30	キャピラリーカラムとナノカラム	107
Poroshell 120	35	キャピラリーカラムとナノカラムによる 2D LC/MS 分析	111
PLRP-S HPLC カラム	37	ZORBAX Bio-SCX シリーズ II	113
ZORBAX アミノ酸分析 (AAA) カラムおよび消耗品	43	マイクロポア (内径 1.0 mm) カラム	116
イオン交換クロマトグラフィー	46	精製 - 分取 HPLC	119
Agilent Bio MAb HPLC カラム	48	ZORBAX PrepHT	121
Agilent Bio IEX HPLC カラム	51	逆相系分取・プロセス用 PLRP-S	122
PL-SAX 強陰イオン交換カラム	55	分取・プロセス用 PL-SAX および PL-SCX	127
PL-SCX 強陽イオン交換カラム	59	ペプチド精製	130
Agilent バイオモノリスイオン交換 HPLC カラム	61	合成ペプチド用 VariTide RPC カラム	130
サイズ排除クロマトグラフィー	65	VariPure IPE	131
Agilent Bio SEC-3	67	Load & Lock 分取 HPLC カラム充填システム	132
Agilent Bio SEC-5	73	ラボスケール Load & Lock カラム	132
ProSEC 300S	77	付録	133
ZORBAX GF-250 および GF-450 ゲルろ過カラム	80	カートリッジカラムシステム	133
Agilent PL aquagel-OH SEC カラム	83	カートリッジ/ガードカートリッジシステムの互換性ガイド	134
生体分子分析用の標準試料	87	USP 表記 - BioHPLC カラムのみ	135
アフィニティクロマトグラフィー	89	BioHPLC カラムについての資料	136
Agilent バイオモノリスプロテイン A HPLC カラム	89	BioPharm 用語集	143
アジレントのタンパク質分画システムおよび プロテオミクス用試薬	92	引用文献	150
マルチプルアフィニティ除去システム	93	ZORBAX 300 の引用文献	150
マルチプルアフィニティ除去システムスタータキット	96	Poroshell 300 の引用文献	151
mRP-C18 高回収率タンパク質カラム	97	PLRP-S の引用文献	151
		PL-SAX の引用文献	152
		PL-SCX の引用文献	152



バイオカラム選択ガイドライン

サンプルの精製から分析まで、再現性と品質の高いソリューションを実現するために、アジレントではさまざまなバイオ分子カラムと消耗品を提供しています。

このガイドでは、バイオ分子の分離に適したカラムの選択について説明します。また、カラムの選択やメソッドの開発に役立つ、メソッド開発、溶媒の選択、移動相の変更、最適化、および多くの分離例に関するアドバイスやヒントも紹介します。

アジレントは、お客様のニーズを満たす完全なソリューションを用意しています。金属を使用しないサンプル経路を持つ Agilent 1260 Infinity バイオイナート LC システム、UHPLC アプリケーション向けに最高の速度、分解能、および超高感度を提供するように設計された Agilent 1290 Infinity LC、ワイドポア 300Å ZORBAX StableBond カラムなど、さまざまな製品、消耗品をアジレントは提供しています。複雑な生体分子の分析も、アジレントの HPLC カラム、システム、消耗品を使用することで容易に行うことができます。

生体分子とは

生体分子は生物によって作られる化合物です。その範囲は、アミノ酸や低分子量の脂質から、DNA や RNA などの高分子量のポリヌクレオチドまでに及びます。

このガイドでは次の分離について説明します。

タンパク質 – サイズ排除クロマトグラフィーを使用したサイズに基づく分離、イオン交換クロマトグラフィーを使用した電荷に基づく分離、逆相クロマトグラフィーを使用した疎水性に基づく分離。

ペプチド – 疎水性、親水性、塩基性、および酸性ペプチドなど、すべてのサイズのすべてのペプチドの分析および精製用バイオカラム。また、HPLC および UHPLC によるペプチドマッピング用カラム。

DNA/RNA オリゴヌクレオチド – DNA および RNA オリゴの逆相およびイオン交換オプション。低分子量の合成オリゴから高分子量のプラスミドまで、あらゆるサイズのオリゴヌクレオチドに対応する粒子ポアサイズを備えています。

アミノ酸 – ZORBAX Eclipse アミノ酸分析 HPLC カラムは、24 種類のアミノ酸の高速分析を行う際に高い効率を発揮します。一般的な分析時間は、75 mm カラムで 14 分、150 mm カラムで 24 分です。

広分散ポリマー – 分子量の分布と組成を確認するためにポリマー系カラムと標準を使用した脂質、多糖、薬物送達化合物の分析。狭い MW 分布や定義済みの分子量を持つほかの生体分子とは異なり、これらの化合物は幅広い MW 分布を示す傾向があります。

バイオカラムとは

バイオクロマトグラフィーカラム、つまりバイオカラムは、ペプチドおよびタンパク質、オリゴヌクレオチドおよびポリヌクレオチド、またその他の生体分子や複合体の分離に使用する液体クロマトグラフィーカラムです。バイオカラムは、大きい分子サイズに対応する大きいポアサイズを持つ、生体分子の分析専用設計されたカラムです。充填剤は、対象化合物の非特異的な結合を最小限に抑えて回収率を向上させるように設計されています。分離メカニズムは、生体機能を維持して分析中に生体活性が失われないようにするために、または一次構造の特性解析で意図的に変性させるために選択されます。

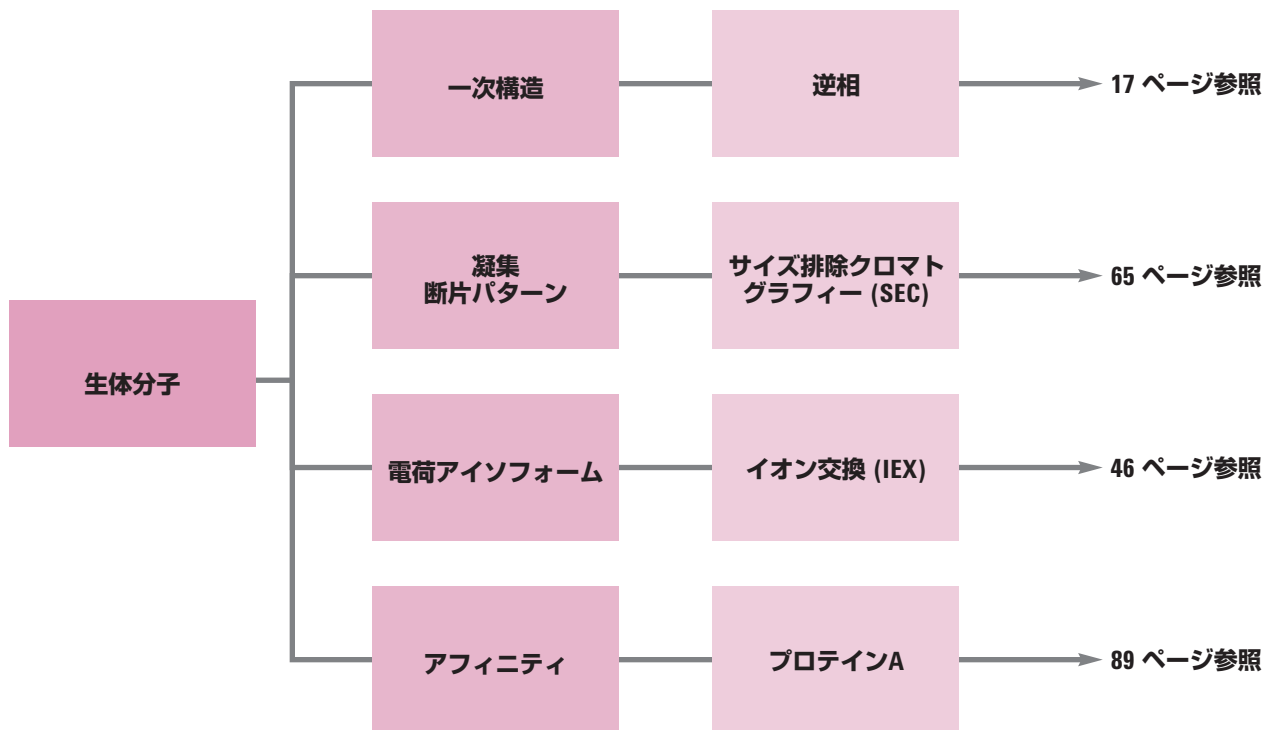
一般に、HPLCは生体分子の分離に使用されてきました。現在は、生体分子の特性解析で複数の分離メカニズムが必要となるため、UHPLCなどの高度な技術が一般に選択されるようになりました。アジレントは、サイズ排除、逆相、イオン交換、アフィニティ機能など、生体分子の分離用に開発された専用の高度なケミストリを提供しています。

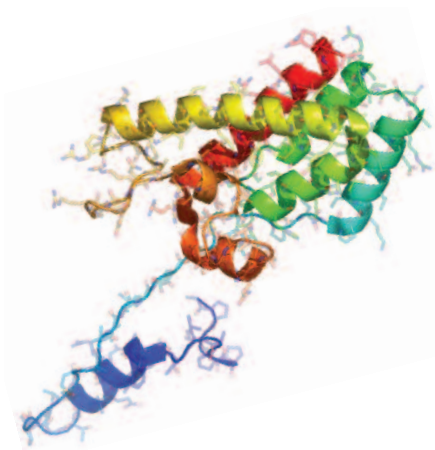


カラム選択フローチャート

次のフローチャートは、生体アプリケーションに最適なカラムを選択するために役立つ内容の掲載ページを示しています。

生体分子の分離に最適なカラムを選択するには次の手順に従ってください。まず、分子のサイズからカラム選択を開始します。サイズによって分離に使用する HPLC メソッドのポアサイズが決まるからです。次に、分子の溶解度を考慮します。次に、分離メカニズム、サイズ、疎水性、電荷に注目します。





生体高分子の分離

タンパク質の分離

タンパク質は、完全に特性解析するために複数の技術を必要とする複雑な分子です。三次元構造として存在し、この構造によって生体活性が決まります。

アミノ酸鎖の配列がタンパク質の一次構造を定義します。次に、一次構造のアミノ酸間の水素結合によって、通常はアルファヘリックスとブリーツシートの形式の二次構造が決まります。さらに、二次構造の領域間で生じる一連の相互作用、水素結合、イオン、疎水性およびジスルフィド架橋によって、タンパク質の三次構造、つまり三次元構造が決まります。タンパク質がいくつかのアミノ酸鎖で構成される場合、これらの鎖間の相互作用によって四次構造が決まります。

タンパク質の特性解析のメソッドを探している場合は、図 1 から明確にわかるように、三次および四次構造を破壊せずにタンパク質をネイティブの状態特性解析する技術が必要になります。また、三次構造を破壊した完全な変性状態で一次アミノ酸配列を評価するための技術も必要です。

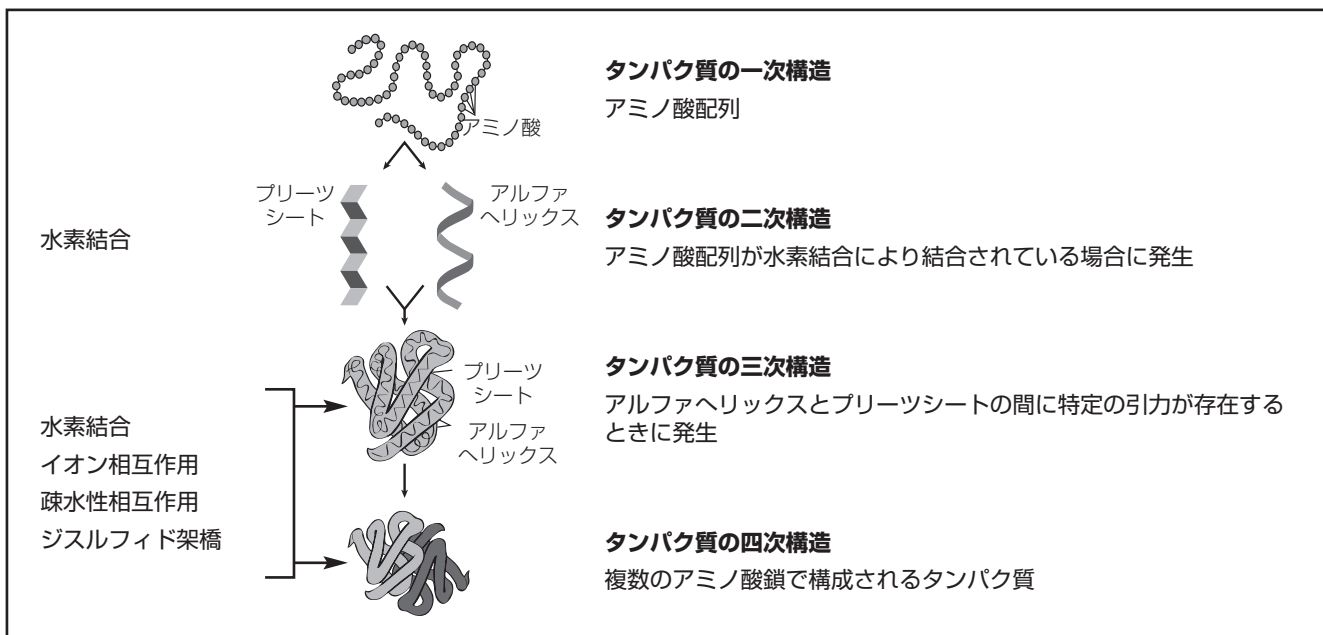


図 1. タンパク質のさまざまなレベルの構造を示す図

タンパク質の環境は、タンパク質の構造に影響を与え、安定化させたり、破壊したりします。考慮が必要な要素として、pH、温度、塩濃度、水系または有機溶媒の成分、また一部のタンパク質では、安定化低分子または金属イオンの存在などがあります。タンパク質の構造は、-S-S-結合を切断するスルフヒドリル還元試薬、または尿素や塩酸グアニジンなどのカオトロピック試薬の使用によって破壊されることもあります。タンパク質は複雑で、三次元構造を決定する分子相互作用があるため、タンパク質分子と、その他の分子または接触する表面との間に分子間相互作用が発生することもあります。この結果、HPLC カラムやシステムの表面など、表面でタンパク質複合体、凝集 (沈殿することもある)、分解が発生することがあります。したがって、タンパク質の処理方法や保存環境を考慮する必要があります。

タンパク質カラム選択ガイド

アプリケーション	技術	アジレントのカラム	説明
一次構造の分析	UHPLC/HPLC 逆相による分離	ZORBAX 300SB Poroshell 300SB ZORBAX 300Extend-C18 PLRP-S	逆相を使用した分離には、アミノ酸配列やアミノ酸修飾 (翻訳後修飾を含む) の詳細な情報を得るためにタンパク質の変性が必要です (または分離により変性させる必要がある)。
凝集の分析	サイズ排除による分離	Bio SEC-3 Bio SEC-5 ProSEC 300S ZORBAX GF	タンパク質バイオ医薬品の凝集は、免疫原性反応を誘発したり、最終製剤の組成に影響を与えたりすることがあるため、大きな問題です。
電荷変異体の分析	イオン交換による分離	Agilent Bio IEX Agilent Bio MAb PL-SAX PL-SCX	個々のアミノ酸の比率によってタンパク質分子の有効電荷が決まります。有効電荷がゼロになる pH は等電点 (pI) と呼ばれます。溶液の pH が pI よりも低い場合は、そのタンパク質は正に帯電し (酸性)、溶液の pH が pI よりも高い場合は、負に帯電します (塩基性)。イオン交換分析では、溶離液の pH をその pI から 1 pH 単位以上離すことを推奨します。イオン交換カラムを使用したタンパク質分析には、緩衝液を使用した移動相と、溶出のための塩グラジエントまたは pH グラジエントが必要です。

酸化物の高分解能分析

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C18
857750-902
2.1 x 50 mm, 1.8 μm

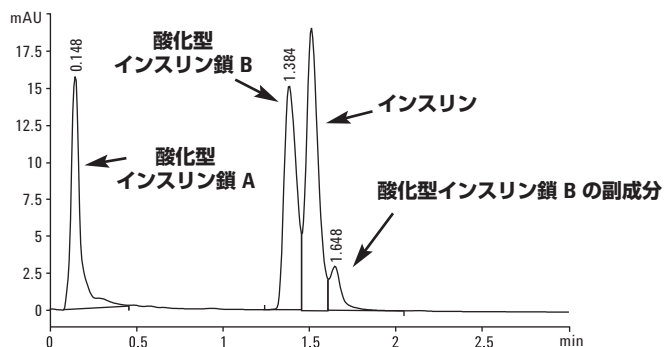
移動相: A: 0.1% TFA
B: 0.01% TFA + 80% ACN

流量: 1.0 mL/min

グラジエント: 33 ~ 50% B, 0 ~ 4分

検出器: ダイオードアレイ検出器を備えた 1290 Infinity LC (280 nm)

サンプル: インスリン、インスリン鎖 A
および鎖 B、酸化型
(bovinesigma, 1 mg/mL)



ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm カラムにより、酸化型インスリン鎖は 2 分以下で分離できました。

MAb 単量体と二量体の分離

カラム: Bio SEC-3、300 Å
5190-2511
7.8 x 300 mm, 3 μm

移動相: 150 mM リン酸緩衝液、pH 7.0

アイソクラティック: 0-100% Buffer A、0-30分

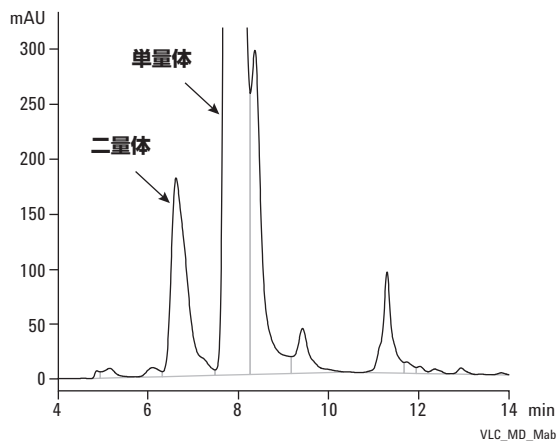
流量: 1.0 mL/min

サンプル: CHO-ヒト化 MAb、5 mg/mL - インタクト

注入: 5 μL

検出器: UV 220 nm

カラム温度: 室温



**pH グラジエントによる
ヒト IgG1 の電荷変異体の分離**

カラム: Agilent Bio MAb
2.1 x 150 mm、5 μm

移動相: A: 10 mM Na₂HPO₄, pH 6.0
B: A + 0.5 M NaCl または 0.5 M Na₂HPO₄, pH 6.0のみ

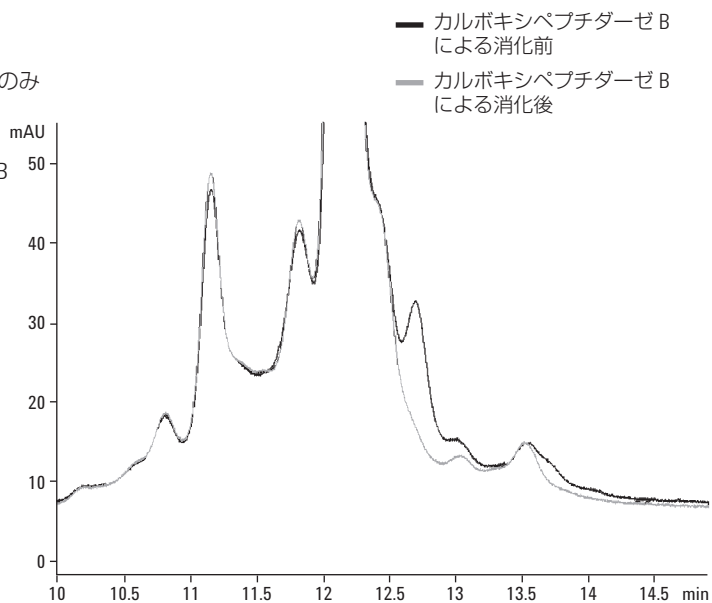
流量: 2 mL/min

グラジエント: 移動相 A で 0.5 分間保持、次に 15 分間で 45 % B までのリニアグラジエント (経過時間 15.5 分)。次に 15.6 分で 60 % B。20 分まで継続。
100 % B でカラムを 15 分間フラッシュした後、次の分析のために再平衡化。pH グラジエント:
A: 5 mM Na₂HPO₄, 緩衝液 (pH 5.5) および
B: 40 mM Na₂HPO₄ (緩衝液なし, pH 8.9)。
15 分間で 1 mL/min で 2 % B/min、次に 90 % B で 5 分間カラム洗浄。

検出器: UV、220 nm

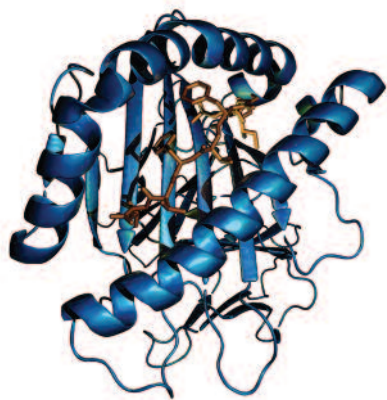
サンプル: 移動相 A にそれぞれ 1 mg/mL
モノクローナル抗体 (MAb) - CHO 細胞由来の
ヒト IgG1 (5 mg/mL の原液)

装置: ダイオードアレイ検出器を備えた Agilent
1200 SL HPLC システム



MAb の C 末端の切断: 25 mM Na₂HPO₄ 緩衝液 (pH 7.5) に溶解したヒト IgG1 MAb (1 mg/mL) を約 25 ユニットのカルボキシペプチダーゼ B と 18 時間インキュベートし、10 μL のサンプルを注入しました。





ペプチドの分離

ペプチドマッピング

ペプチドマッピングはタンパク質の特性解析に必要です。タンパク質の同定や、翻訳後修飾の同定と定量に使用されます。

精製済みのタンパク質は、最初にトリプシンなどの酵素を使用して消化し、幅広いペプチド断片を生成します。酵素による切断の特異性によって、そのタンパク質に特徴的なペプチドのフィンガプリントが得られます。ペプチド断片の同定によってタンパク質を確認し、ペプチド消化物のプロファイルの変更を使用することで、製造または精製プロセスで生じた可能性がある、そのタンパク質に対する翻訳後修飾を識別することができます。

逆相 UHPLC/HPLC は、MS または UV 検出によるペプチド消化物の分析用に好まれる技術です。LC/MS が、ペプチド断片の同定と配列の範囲の確認に使用されるのに対し、LC/UV は、一般に監視/QC 分野でのペプチドマップの比較に使用されます。定量および同定のための十分な分解能を得るためには、長いカラム長または高い効率の粒子 (2 μm 未満の ZORBAX RRHD など) や表面多孔性の Poroshell を推奨します。

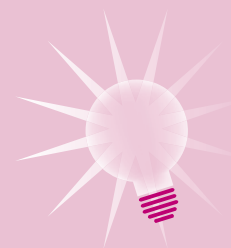
ペプチド消化物は複雑な混合物であり、個々のペプチドを分離するには、高効率/高分解能の分離カラムが必要です。ペプチド断片はサイズや疎水性が幅広いため、アジレントはペプチドマッピングのために複数のカラムを提供しています。UHPLC による分離には、ポアサイズ、粒子径、表面多孔質および全多孔質の 3 つのオプションがあります。

ヒントとテクニク

キャピラリー電気泳動は、複雑なペプチド混合物の分離に適した、液体クロマトグラフィーに代わる技術です。詳細については、次のケーススタディを参照してください。

An orthogonal view of peptide mapping – analysis of bovine serum albumin digest using capillary electrophoresis and quadrupole time-of-flight mass spectrometry (5990-7631EN)

www.agilent.com/chem/library



ペプチドマッピングの分解能の向上

カラム: ZORBAX 300SB-C18
858750-902
2.1 x 100 mm, 1.8 μm

移動相: A: 0.1 % TFA
B: 0.01 % TFA + 80 % ACN

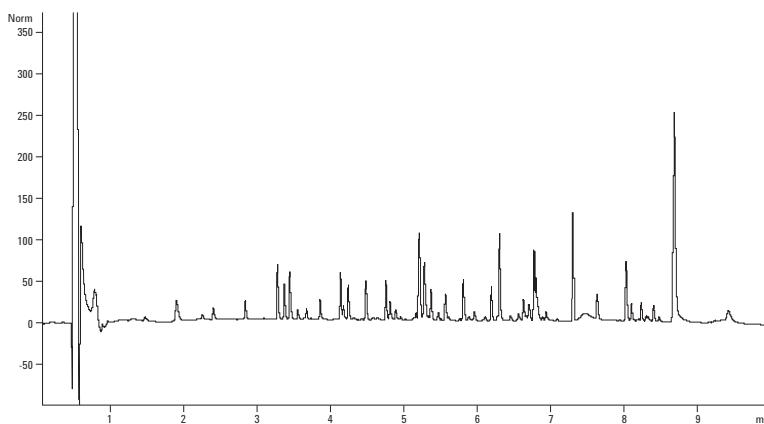
流量: 0.5 mL/min

グラジエント: 2 % B で 1 分間、8.8 分間で 2 ~ 45 %、
0.2 分間で 45 ~ 95 % B、95 % B で
2 分間、0.2 分間で 95 ~ 2 %

カラム温度: 50 °C

検出器: ダイオードアレイ検出器を備えた
1290 Infinity LC (280 nm)

サンプル: 酵素によるタンパク質消化物 (MAb)



長い 100 mm の Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 カラムがタンパク質分解物に最大の分解能を提供します。このサンプルでは、洗浄と平衡化を含む分析時間の合計は 15 分未満です。

ペプチドマッピングカラムの選択

推奨するカラムの選択は、システム/カラム圧の最大値とペプチドのサイズ/疎水性によって決まります。

アプリケーション	システム	アジレントのカラム	アジレントのシステム
高分子ペプチド断片/ 疎水性ペプチドコア	40 MPa HPLC	Poroshell 300 SB-C18 ZORBAX 300SB-C18、3.5 μm	Agilent 1200 LC
	60 MPa UHPLC	Poroshell 300 SB-C18	Agilent 1260 Infinity LC および 1260 Infinity バイオイナート クォータナリ LC
	120 MPa UHPLC	ZORBAX RRHD 300SB-C18、 1.8 μm Poroshell 300 SB-C18	Agilent 1290 Infinity LC
低分子量の 疎水性ペプチド	40 MPa HPLC	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Agilent 1200 LC
	60 MPa UHPLC	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Agilent 1260 Infinity LC および 1260 Infinity バイオイナート クォータナリ LC
	120 MPa UHPLC	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Agilent 1290 Infinity LC

Agilent 1290 Infinity LC をお使いの場合は、最初に ZORBAX RRHD 300SB-C18 カラムを使用して、ペプチドマップをスクリーニングすることを推奨します。

天然および合成ペプチドの分離

天然および合成ペプチドの単離や分析には精製カラムと充填剤が必要です。単離または精製されたペプチドの純度または回収率を測定するには、高効率カラムを使用する必要があります。単離および精製に使用する主な技術は逆相 HPLC です。

精製または単離ワークフローで得られた分画やペプチドの最終生成物は、高効率カラムを使用して純度分析を行います。ペプチドはサイズ、電荷、疎水性などがさまざまに異なるため、ペプチドマッピングアプリケーションと同様に、アジレントではすべてのペプチドの最適な分離を提供できる幅広いカラムを提供しています。一般に 10 個未満のアミノ酸残基を持つ低分子量のペプチドでは、ポアサイズの小さい UHPLC 充填剤を使用しますが、ペプチドが大きく、含まれるアミノ酸残基が多いか、または二量体や多量体の形で存在する場合は、質量移動が大きいため、ポアサイズの大きい 300 Å のカラムが優れた分離を実現します。

天然および合成ペプチドのカラムの選択

推奨するカラムの選択は、天然および合成ペプチドの分析に使用するシステム/カラム圧の最大値によって決まります。

アプリケーション	システム	アジレントのカラム	アジレントのシステム
10 を超えるアミノ酸残基を持つ大きいペプチド	40 MPa HPLC	Poroshell 300 SB-C18 ZORBAX 300SB-C18、3.5 μm PLRP-S	Agilent 1200 LC
	60 MPa UHPLC	Poroshell 300 SB-C18	Agilent 1260 Infinity LC および 1260 Infinity バイオイナートクォータナリ LC
	120 MPa UHPLC	ZORBAX RRHD 300SB-C18、1.8 μm	Agilent 1290 Infinity LC
一般に 10 個未満のアミノ酸残基を持つペプチド	40 MPa HPLC	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18 PLRP-S	Agilent 1200 LC
	60 MPa UHPLC	Poroshell 120 EC-C18 Poroshell 120 SB-C18	Agilent 1260 Infinity LC および 1260 Infinity バイオイナートクォータナリ LC

逆相カラムはペプチド精製の第一の選択肢です。精製量により、選択するカラムも変わります。表 1 にそれぞれの精製量に応じたアジレントのカラムを示します。

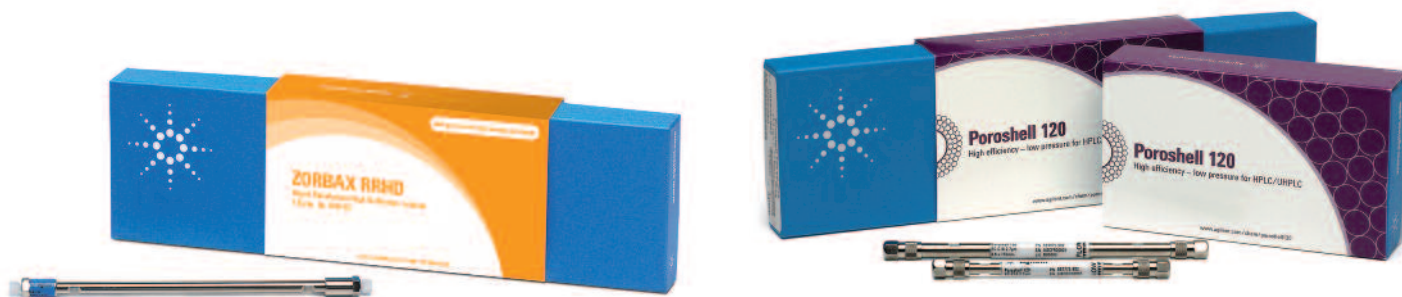


表 1. 精製量に応じたアジレントのカラム

アジレントのカラム	必要なペプチドの量		
	mg	g	kg
ZORBAX Prep HT 300StableBond	→		
VariTide RPC	→→		
PLRP-S	→→→		

ポリスチレン樹脂を使用した固相合成 (SPS) の後、ペプチドは担体から切断され、ここで生じた混合物を分離して対象ペプチドを取得します。候補のペプチドを構造が非常に類似したペプチドから分離する必要があるため、精製には高効率カラムが必要です。詳細については、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

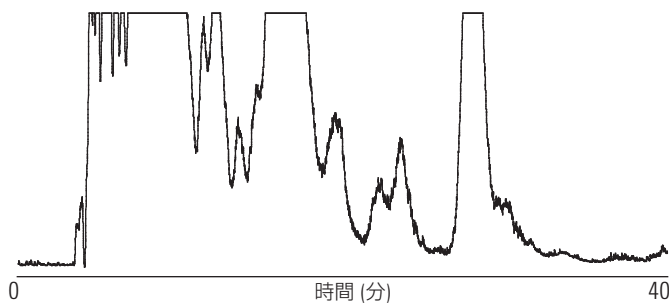
ロイプロリドの分取スケールの精製

カラム: PLRP-S 100 Å、10 µm
PL1412-4100

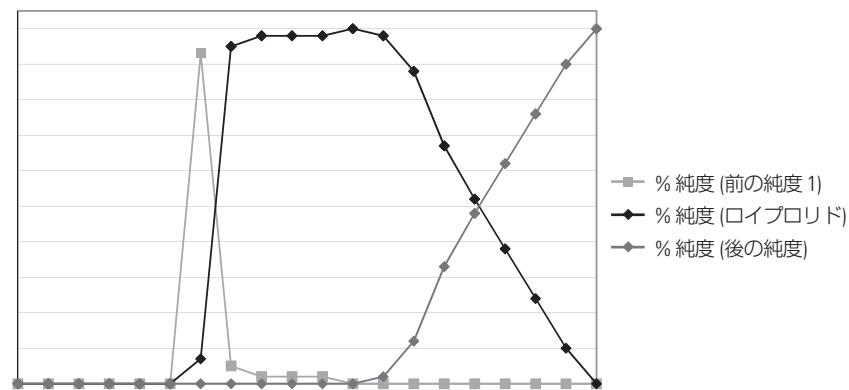
充填剤
バルク: Load & Lock 4001 カラム
PCG93LL500X25

移動相: 0.1 % TFA、28 % ACN : 72 %
水溶液を使用したアイソクラ
ティック分離

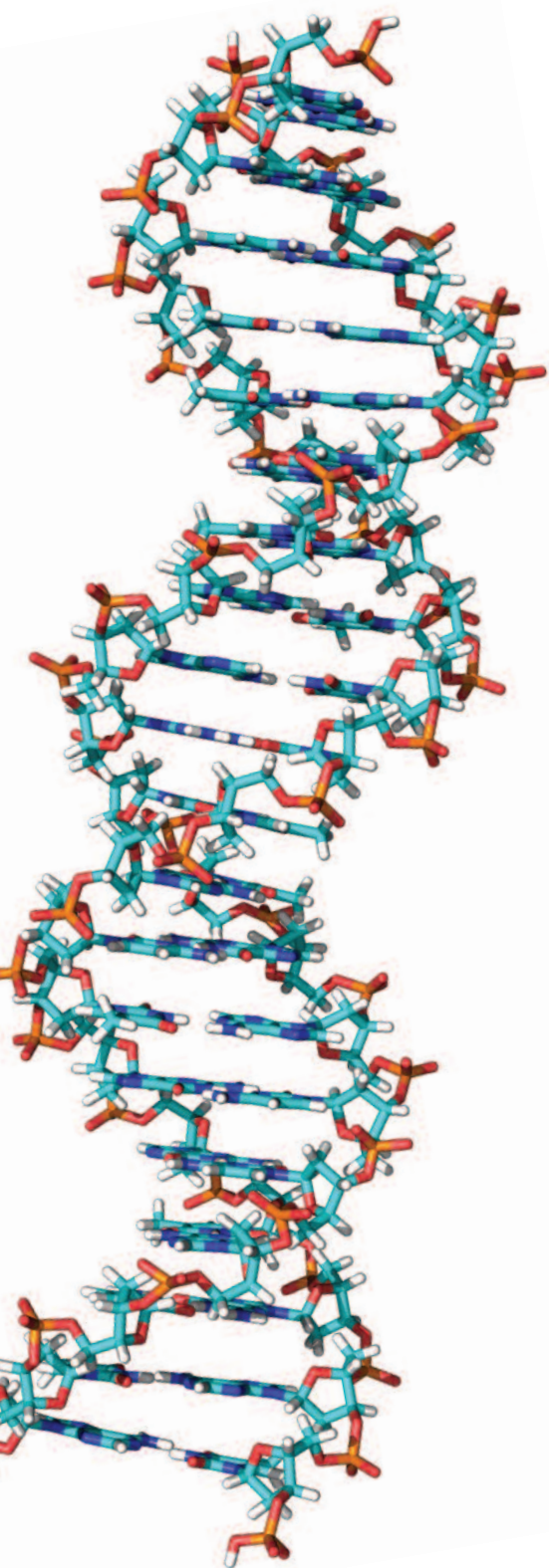
流量: 線速度 360 cm/hr



オンカラムロード 30 mg のときの未精製ロイプロリドの分離



分画分析 - 濃度過負荷条件での精製



DNA および RNA オリゴヌクレオチドの分離

多くのアプリケーションで使用されるため、オリゴヌクレオチド (オリゴ) が再び注目を集めています。合成ワークフローは確立された合成ペプチド生成物に使用するものと類似しています。つまり、活性化された固相合成樹脂を、特定のヌクレオチドの段階的な添加とあわせて使用し、希望の配列を作成します。

ヌクレオチドの構成ブロックは 5'ヒドロキシル末端でジメトキシトリチル (DMT) 基によって保護されており、切断された対象オリゴにはこの保護基が結合しています。DMT は疎水性を持ち、最初の段階で使用することができます。特に酵素分解に対するオリゴヌクレオチドの安定性を向上させる場合には、酸素を硫黄に置換してホスホロチオエートを生産するなど、化学的に修飾することができます。

化学合成を使用して生体分子を生成する場合は、追加する各サイクルの結合効率は決して 100 % になりません。固相合成の担体から切断された後、サンプルにはデリーション配列、1 つまたは複数の残基が欠けたオリゴ、および二重カップリングまたはブランディングによって生じた一定量の高分子オリゴが含まれます。サンプル混合物は複雑で、分析には高効率の技術が必要です。

オリゴヌクレオチドの分離には、次の 3 つの UHPLC/HPLC 技術が通常使用されています。

トリチルオン：この手順は実行が比較的容易で、対象オリゴを、DMT 基が結合したままの完全な長さで脱保護不完全配列から分離します。得られる分析情報には制限があるため、これは一般に精製メソッドと見なされます。

トリチルオフ、脱保護オリゴのイオン交換分離：このメソッドでは、オリゴバックボーンの負の電荷を使用して分離を促進します。短いオリゴでは良好な分解能が得られますが、鎖が長くなるほど分解能は低下します。水系溶離剤を使用しますが、オリゴは高い電荷を持っており、カラムから溶離するためには高濃度の塩が必要です。

トリチルオフ、脱保護オリゴのイオン対逆相分離：この技術は有機溶媒と揮発性イオン対試薬を使用するもので、LC/MS に適しています。この技術は高効率粒子で最適に実行できます。オリゴを完全に変性させ、相補的配列との結合を防止する条件が必要です。したがって、分離は高温で最適に実行できます。

DNA および RNA オリゴヌクレオチドのカラムの選択

アプリケーション	技術	アジレントのカラム	説明
トリチルオン/ トリチルオフオリゴ ヌクレオチド	トリチルオン	PLRP-S 50 μm 充填剤	疎水性の違いにより分離します。トリチルオフオリゴからトリチルオンオリゴの分離に理想的で、脱保護オリゴのイオン対逆相分離に使用されています。
脱保護オリゴ ヌクレオチド	トリチルオフ、 脱保護オリゴの イオン対逆相分離	PLRP-S 3 ~ 50 μm	
脱保護オリゴ ヌクレオチド	トリチルオフ、 脱保護オリゴの イオン交換分離	PL-SAX 1000Å	変性を発生させる高 pH 条件下で脱保護オリゴを分離します。ポリマー粒子上の第 4 級アミンの機能によって高 pH でのイオン交換分離が可能になり、自己相補的配列のクロマトグラフィーが向上します。



ヒントとテクニク

詳細については、次の資料を参照してください。
 Agilent PLRP-S 100Å HPLC Columns and Media (5990-8187EN)
 Agilent PL-SAX 1000Å HPLC Columns and Media (5990-8200EN)
www.agilent.com/chem/library



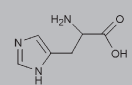
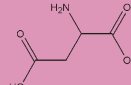
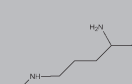
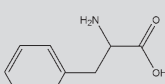
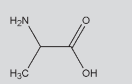
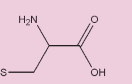
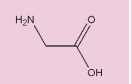
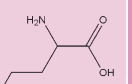
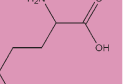
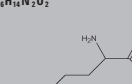
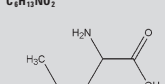
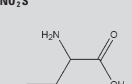
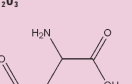
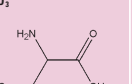
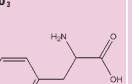
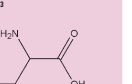
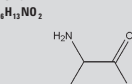
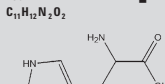
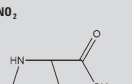
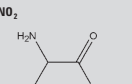
アミノ酸の分析

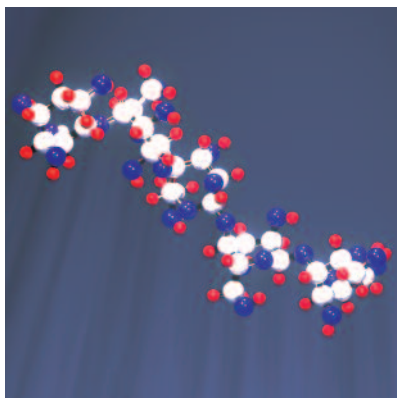
アジレントでは、更新されたプロトコルを使用し、アミノ酸を使用して特別にテストされた Agilent ZORBAX Eclipse AAA カラムなど、アミノ酸の分離に適したカラムを提供しています。ZORBAX Eclipse AAA 高効率カラムは、更新および改良されたプロトコルに従ってアミノ酸を迅速に分離します。注入から次の注入までの全分析時間は、7.5 cm のショートカラムでわずか 14 分 (分析時間は 9 分)、15 cm のカラムで 24 分 (分析時間は 18 分) です。Agilent 1200 Infinity LC を使用した 1 回の自動分析で、OPA と FMOC の誘導体化特性の両方を用いて、非常に優れた感度 (ダイオードアレイまたは蛍光検出器で 5 ~ 50 pmol) と信頼性を達成します。新しい ZORBAX Eclipse Plus C18 カラムは、アミノ酸分離に適切な選択肢です。

ZORBAX Eclipse AAA カラム

アプリケーション	直径×長さ (mm)	粒子径 (μm)
日常分析	4.6 x 150	5.0
日常分析、高分解能、FLD を使用	4.6 x 150	3.5
ルーチン分析、高スループット	4.6 x 75	3.5
溶剤トセーバ、高感度、高分解能	3.0 x 150	3.5

アミノ酸のチャート

<p>H 155.16 137.14 C₆H₉N₃O₂</p> <p>His</p>  <p>Histidine</p>					<p>D 133.10 115.09 C₄H₇NO₄</p> <p>Asp</p>  <p>Aspartic Acid</p>		
<p>R 174.20 156.19 C₆H₁₄N₄O₂</p> <p>Arg</p>  <p>Arginine</p>	<p>F 165.19 147.18 C₉H₁₁NO₂</p> <p>Phe</p>  <p>Phenylalanine</p>	<p>A 89.09 71.08 C₃H₇NO₂</p> <p>Ala</p>  <p>Alanine</p>	<p>C 121.16 103.14 C₃H₇NO₂S</p> <p>Cys</p>  <p>Cysteine</p>	<p>G 75.07 57.05 C₂H₅NO₂</p> <p>Gly</p>  <p>Glycine</p>	<p>Q 146.15 128.13 C₆H₁₁N₂O₃</p> <p>Gln</p>  <p>Glutamine</p>	<p>E 147.13 129.11 C₆H₉NO₄</p> <p>Glu</p>  <p>Glutamic Acid</p>	
<p>K 146.19 128.17 C₆H₁₄N₂O₂</p> <p>Lys</p>  <p>Lysine</p>	<p>L 131.17 113.16 C₆H₁₃NO₂</p> <p>Leu</p>  <p>Leucine</p>	<p>M 149.21 131.20 C₉H₁₉NO₂S</p> <p>Met</p>  <p>Methionine</p>	<p>N 132.12 114.10 C₄H₈N₂O₃</p> <p>Asn</p>  <p>Asparagine</p>	<p>S 105.09 87.08 C₃H₇NO₃</p> <p>Ser</p>  <p>Serine</p>	<p>Y 181.19 163.17 C₉H₉NO₃</p> <p>Tyr</p>  <p>Tyrosine</p>	<p>T 119.12 101.10 C₄H₉NO₃</p> <p>Thr</p>  <p>Threonine</p>	
<p>I 131.18 113.16 C₆H₁₃NO₂</p> <p>Ile</p>  <p>Isoleucine</p>	<p>W 204.23 186.21 C₁₁H₁₂N₂O₂</p> <p>Trp</p>  <p>Tryptophan</p>	<p>P 115.13 97.12 C₅H₉NO₂</p> <p>Pro</p>  <p>Proline</p>	<p>V 117.15 99.13 C₆H₁₁NO₂</p> <p>Val</p>  <p>Valine</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 塩基性 ■ 非塩性 (疎水性) ■ 極性、電荷なし ■ 酸性 		<p>1文字の アミノ酸コード</p> <p>分子量</p> <p>MW-H₂O</p> <p>分子式</p>	<p>3文字の アミノ酸 コード</p> <p>化学的 構造</p> <p>化学名</p>



さまざまな生体分子

糖、脂質、PEG

ポリマー系充填剤が充填されたカラムを使用した水系サイズ排除クロマトグラフィーは、生体分子や、幅広い分子量を持つその誘導体の確認にきわめて有効です。バイオ医薬品アプリケーションで使用される PEG 化されたタンパク質や複雑な多糖はその一例です。シリカ系充填剤に比べてポアサイズ分布の広いポリマー系 SEC カラムは、大きい多分散性を持つサンプルに適しています。

生体分子カラムの種類

低分子量ポリマーおよびオリゴマー、オリゴ糖、PEG、リグニンスルホン酸	2 または 3 PL aquagel-OH カラム <ul style="list-style-type: none"> • PL aquagel-OH 8 μm • PL aquagel-OH 20 5 μm • PL aquagel-OH MIXED-M 8 μm 	PL aquagel-OH 分析シリーズは、2 ~ 10 の pH 範囲、有機溶媒との互換性 (最大 50 % のメタノール)、最大 14 MPa (2030 psi) の機械的安定性を持ち、カラム動作圧は低めです。
多分散バイオポリマー、多糖、セルロース誘導体	2 または 3 PL aquagel-OH カラム <ul style="list-style-type: none"> • PL aquagel-OH MIXED-H 8 μm • PL aquagel-OH 60/50/40 8 μm 	
超高分子量ポリマー、ヒアルロン酸、デンプン、ゴム	PL aquagel-OH 60/50/40 15 μm シリーズ	



UHPLC/HPLC 技術

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、化合物の混合物を分離できるクロマトグラフィー技術で、混合物の個々の成分を同定し、定量し、精製するために生物化学および分析化学で使用されています。これが超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) として進化し、小さいものから中程度の大きさを持つ分子まで高効率分離に広く採用されるようになり、分析時間の短縮と分解能の向上に使用されてきました。600 ~ 1200 bar の圧力に耐えるワイドポアクロマトグラフィー充填剤をカラムに使用することにより、UHPLC の使用は分子量の大きい生体分子にも拡張されました。

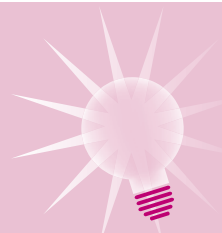
以降のページで、タンパク質やその他の生体分子の HPLC および UHPLC による分離用にアジレントが提供している幅広いカラムについて説明します。

生体分子分析向けの UHPLC/HPLC 技術

技術	利点	欠点
逆相	<ul style="list-style-type: none"> 高分解能 高容量 比較的容易 オンカラムでのサンプル濃縮 UHPLC による分離のための小さい粒子、1.8 μm ポリマー系充填剤による卓越した化学的および熱的安定性 	<ul style="list-style-type: none"> 変性条件 シリカ系カラムの場合、精製・クリーニング時にアルカリが使えない
サイズ排除	<ul style="list-style-type: none"> 生体活性の良好な復元 サンプル回収率が良好な非対話形式の技術 	<ul style="list-style-type: none"> サンプルの濃縮はされない 容量の制限
イオン交換	<ul style="list-style-type: none"> 生体活性の良好な復元 高容量 オンカラムでのサンプル濃縮 	<ul style="list-style-type: none"> 塩の存在により MS との互換性が制限される
アフィニティ	<ul style="list-style-type: none"> 高い選択性 生体活性の良好な復元 オンカラムでのサンプル濃縮 多くの場合はシングルステップでの単離 	<ul style="list-style-type: none"> サンプルの濃縮はされない 容量の制限

ヒントとテクニック

アジレントはお得なキャンペーンを行っています。
詳しくは、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。



逆相 HPLC

高分解能の分離を高い信頼性で実行

逆相 UHPLC/HPLC は疎水性の違いに基づいて溶質を分離し、最も疎水性の低いピークを最初に溶出します。この高分解能技術では、1つのアミノ酸またはヌクレオチド残基だけが異なるペプチド、タンパク質、オリゴヌクレオチドを分離することができます。

HPLC は、アセトニトリル、メタノール、エタノール、プロパノールなどの有機溶媒を使用するため、生体分子の三次元構造を破壊する変性技術の 1 つでもあります。この結果、分子の一次構造と配列に関する情報に加えて、配列の変位を特定することもできます。

アジレントは、世界中の技術サポート専門家やアプリケーション化学者により支持される、業界で最も幅広いワイドポア逆相カラムを提供しています。この項では、カラムにおける次の技術革新について説明します。

ZORBAX 300Å ポアシリカカラムは、タンパク質および生体分子の逆相による分離を業界で初めて実現したカラムで、6つの相と幅広いサイズが用意されています。高速 UHPLC 分離用に、最大 1200 bar の圧力に耐え、Agilent 1290 Infinity LC などの高圧機器に使用できる粒子サイズ 1.8 μm のオプションを提供しています。

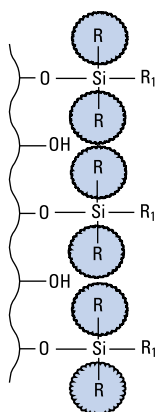
Agilent Poroshell カラムは、業界初の硬質コア/多孔質シェル粒子を備えています。アジレントのワイドポア Poroshell 300 カラムは高速クロマトグラフィーに理想的で、さまざまな相が用意されています。

Agilent PLRP-S カラムにはポリマー粒子が含まれ、さまざまなサイズのペプチドやタンパク質、および DNA/高分子複合体の分離に使用することができます。これらのカラムは 100% 有機という特徴を持ち、耐熱温度は最大 200 $^{\circ}\text{C}$ で、pH 1 ~ 14 の条件で使用することができます。幅広いカラムサイズ、粒子径 (分析分離で 3 ~ 8 μm)、ポアサイズ (100 ~ 4000 \AA) から選択します。分取カラム (10 ~ 50 μm) も、充填済みカラムまたは充填剤バルクとして提供しています。



逆相カラムの選択

アプリケーション	Agilent カラム	説明
タンパク質およびポリペプチド	ZORBAX 300Å, 1.8 μm <ul style="list-style-type: none"> • RRHD 300SB-C18 • RRHD 300SB-C8 • RRHD 300SB-C3 • RRHD 300-Diphenyl • RRHD 300-HILIC 	充填プロセスの向上により、Agilent 1290 Infinity LC での使用時に最大で 1200 bar の安定性を達成します。RRHD 1.8 μm カラムは、非常に複雑なサンプルの高速、高分解能での分離を可能にするために、50、100 mm の長さが用意されています。
	ZORBAX 300A StableBond <ul style="list-style-type: none"> • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300SB-CN 	タンパク質とペプチドなどの巨大分子を効率的に分離するには検体が結合相表面に近接する必要があるため、ワイドポア (300 Å) カラムが非常に有効です。C18 および C8 は、複雑なタンパク質およびタンパク質消化物の分離に理想的です。StableBond は、低 pH で優れた安定性を提供します。
	ZORBAX 300Å Extend-C18	独自の二座型シランが、最大で pH 11.5 での耐久性を実現しています。
最大 1,000 kDa のペプチドおよびタンパク質、モノクローナル抗体およびインタクトタンパク質	Poroshell 300 <ul style="list-style-type: none"> • 300SB-C18 • 300SB-C8 • 300SB-C3 • 300Extend-C18 	Poroshell カラムでは、多孔質シリカ層と硬質シリカコアを組み合わせた独自の粒子構造を使用しています。このためタンパク質の拡散距離が短縮され、ペプチドとタンパク質の高速 HPLC 分離が可能になっています。
タンパク質消化物に含まれる低分子ペプチド	Poroshell 120	120 Å のポアサイズは、タンパク質消化物中の低分子量親水性ペプチドとペプチド断片の高速高分離分析に理想的です。
ペプチドから DNA	PLRP-S <ul style="list-style-type: none"> • 100 Å • 300 Å • 1000 Å • 4000 Å 	ポリスチレン・ジビニルベンゼン共重合体の粒子で、粒子そのものに疎水性があります。
低分子/ペプチド/オリゴヌクレオチド	PLRP-S 100Å	
遺伝子組み換えペプチド/タンパク	PLRP-S 300Å	
高分子量タンパク質	PLRP-S 1000Å	
DNA/高速分離	PLRP-S 4000Å	



立体的に保護された 300StableBond 結合相

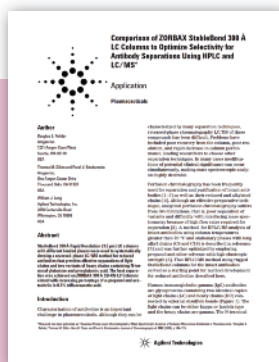
ZORBAX 300A StableBond

Agilent ZORBAX 300 Å StableBond カラムは、タンパク質とペプチドを再現性よく分離するための理想的な選択肢です。その主な理由は次の 2 つです。第一に、タンパク質とペプチドなどの巨大分子を効率的に分離するには検体が結合相表面に近接する必要があるため、ワイドポア (300 Å) カラムが非常に有効です。第二に、タンパク質やペプチド分離に使用される低 pH 領域での TFA 含有移動相の使用に対して 300StableBond カラムは卓越した耐久性を示します。低 pH 領域での LC/MS 分離では、300StableBond カラムにギ酸や酢酸の移動相溶媒を使用することも可能です。300StableBond カラムには異なる 4 種類の結合相 (C18、C8、C3、CN) が提供されており、タンパク質やペプチドの選択性と回収率を最適化することができます。300StableBond カラムを高温条件 (最高 80 °C) で使用すれば、分離の困難なタンパク質の回収率と効率をさらに向上させることができます。300SB-C18 および 300SB-C8 カラムは複雑なタンパク質やタンパク消化物の分離に理想的なカラムです。キャピラリ (0.3、内径 0.5 mm) およびナノ (0.075、内径 0.1 mm) サイズのカラムは、タンパク質消化物の逆相 LC/MS 分離に最適です。キャピラリおよびナノカラムは、1D または 2D プロテオミクス分離に使用できます。

結合相	ポアサイズ	表面積	上限温度*	pH 範囲*	エンドキャップ	カーボンロード
ZORBAX 300SB-C18	300 Å	45 m ² /g	90 °C	1.0-8.0	なし	2.8%
ZORBAX 300SB-C8	300 Å	45 m ² /g	80 °C	1.0-8.0	なし	1.5%
ZORBAX 300SB-C3	300 Å	45 m ² /g	80 °C	1.0-8.0	なし	1.1%
ZORBAX 300SB-CN	300 Å	45 m ² /g	80 °C	1.0-8.0	なし	1.2%

仕様は代表的な値のみを表しています。

*300StableBond カラムは低 pH で最高の性能を発揮するように設計されています。シリカを基材とするカラムを pH 6 ~ 8 の範囲で最高の安定性を確保しながら使用するには、40 °C 以下の使用温度、0.01 ~ 0.02 M の範囲の低濃度緩衝液を使用します。中性または高 pH では、300Extend-C18 の使用をお勧めします。



ヒントとテクニック

詳細については、次の資料を参照してください。

Comparison of ZORBAX StableBond 300 Å LC Columns to Optimize Selectivity for Antibody Separations Using HPLC and LC/MS (5989-6840EN)

www.agilent.com/chem/library



インタクトモノクローナル抗体の高い分解能

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C8
857750-906
2.1 x 50 mm, 1.8 μm

移動相: A: H₂O:IPA (98:2) + 0.1 % TFA (v/v)
B: IPA:ACN:H₂O (70:20:10) + 0.1 % TFA (v/v)

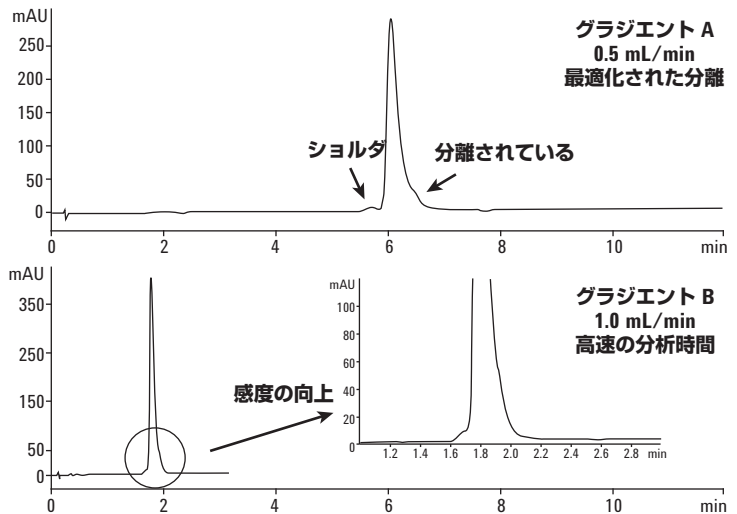
流量: 0.5 mL/min と 1.0 mL/min の間

グラジエント: 複数のセグメント、直線的な溶出

カラム温度: 80 °C

検出器: オートインジェクタ (ALS)、バイナリポンプ、サーモスタットオープン、ダイオードアレイ検出器 (DAD) を備えた Agilent 1290 LC Infinity システム

検出: UV、225 nm



酸化物の高分解能分析

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C18
857750-902
2.1 x 50 mm, 1.8 μm

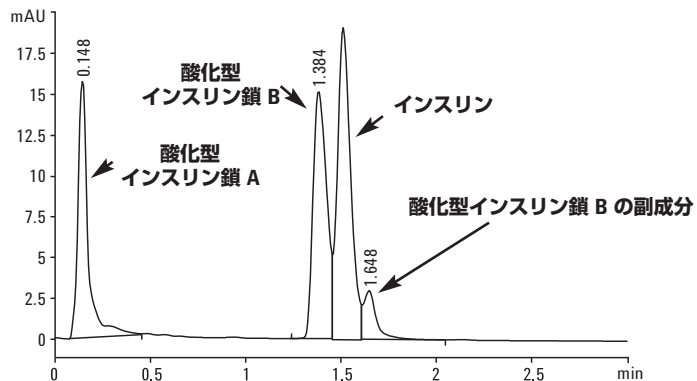
移動相: A: 0.1 % TFA
B: 0.01 % TFA + 80 % ACN

流量: 1.0 mL/min

グラジエント: 33 ~ 50 % B, 0 ~ 4 分

検出器: ダイオードアレイ検出器を備えた 1290 Infinity LC (280 nm)

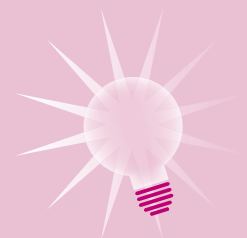
サンプル: インスリン、インスリン鎖 A および鎖 B、酸化型 (bovinesigma, 1 mg/mL)



ZORBAX RRHD 300SB-C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm カラムにより、酸化型インスリン鎖は 2 分以下で分離できました。

ヒントとテクニック

タンパク質やペプチド分離用の移動相としては、非常に低い pH の TFA (または他の酸) を可溶性タンパク質に組み合わせます。StableBond カラムはこれらの条件下でも極めて長い寿命を誇ります。最高 100 ~ 500 kDa のタンパク質に対応する 300 Å のポアサイズを用意しています。



モノクローナル抗体の再現性の向上

カラム: ZORBAX RRHD 300SB-C8
857750-906
2.1 x 50 mm, 1.8 μm

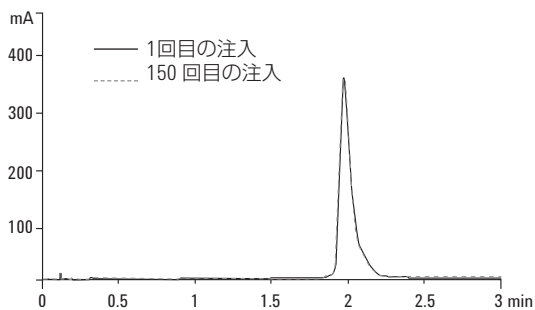
移動相: A:H₂O:IPA (98.2)、0.1 % TFA
B:IPA:ACN:H₂O (70:20:10)、0.1 % TFA

流量: 1.0 mL/min

カラム温度: 80 °C

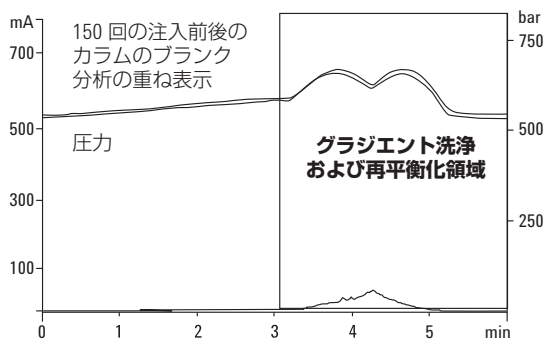
検出器: ダイオードアレイ検出器を備えた 1290 Infinity LC (225 nm)

サンプル: MAb



グラジエントのタイムスケール

時間 (分)	% 溶媒 B
0.00	25
3.00	35
4.00	90
5.00	25



Agilent ZORBAX 300SB-C8 による優れた再現性とタンパク質の回収率

ペプチドマッピングの分解能の向上

カラム: ZORBAX 300SB-C18
858750-902
2.1 x 100 mm, 1.8 μm

移動相: A:0.1 % TFA
B:0.01 % TFA + 80 % ACN

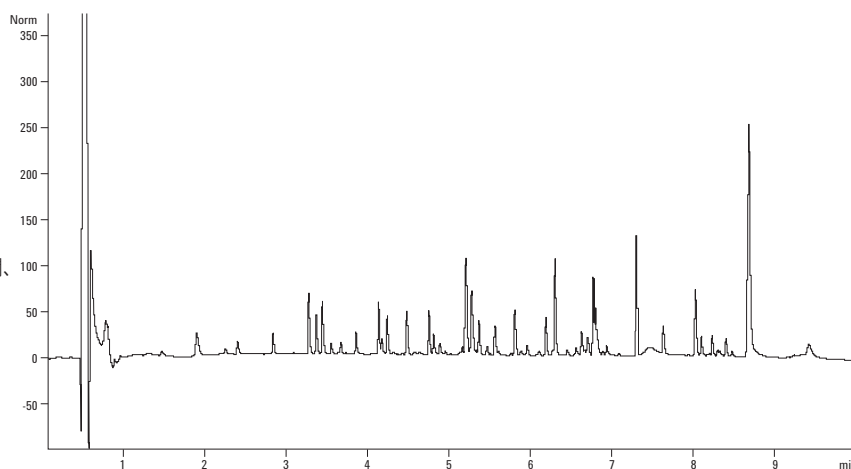
流量: 0.5 mL/min

グラジエント: 2 % B で 1 分間、8.8 分間で
2 ~ 45 %、0.2 分間で
45 ~ 95 % B、95 % B で 2 分間、
0.2 分間で 95 ~ 2 %

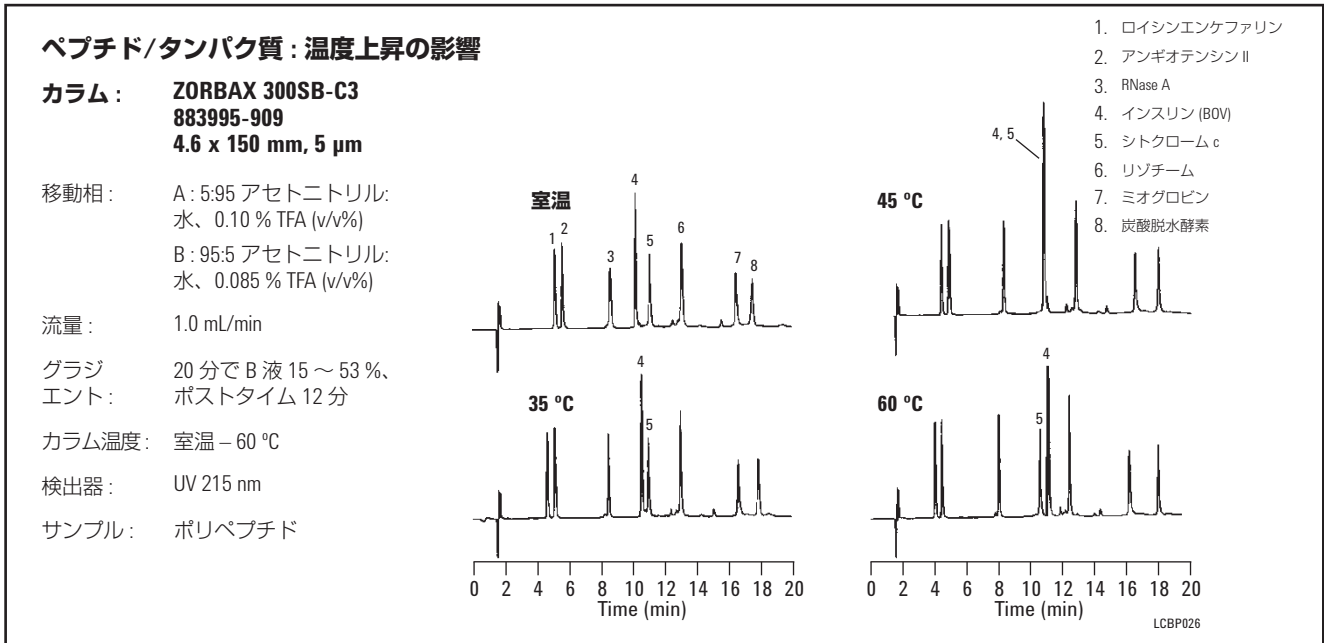
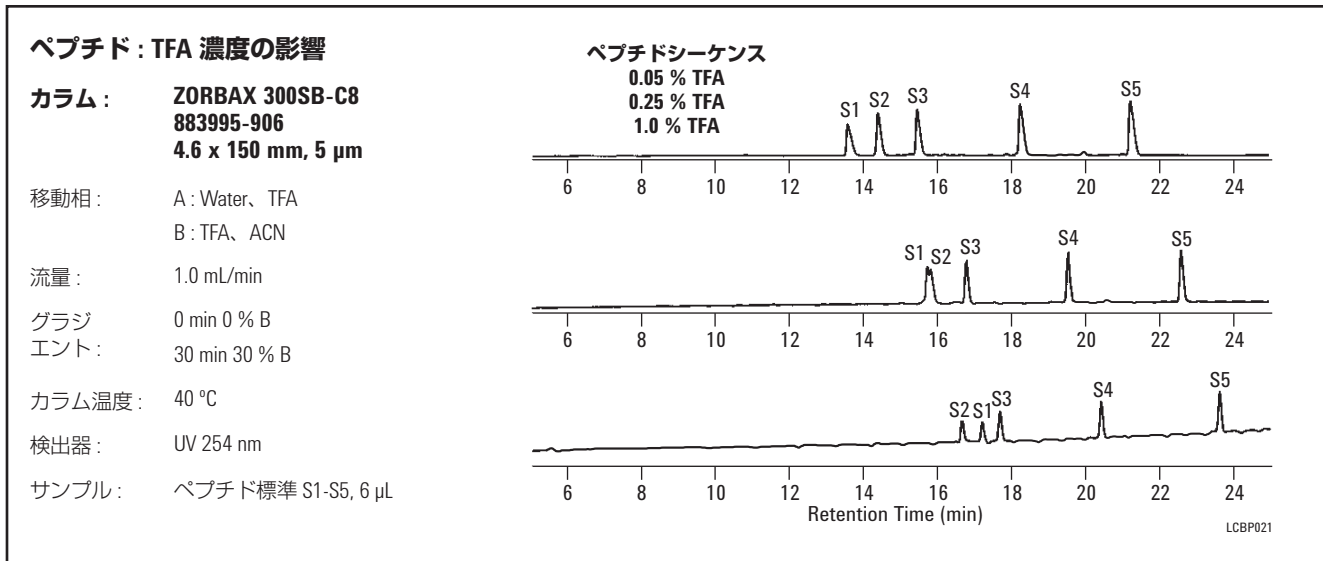
カラム温度: 50 °C

検出器: ダイオードアレイ検出器を
備えた 1290 Infinity LC (280 nm)

サンプル: 酵素によるタンパク質消化物
(MAb)



長い 100 mm の Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18 カラムがタンパク質分解物に最大の分解能を提供します。このサンプルでは、洗浄と平衡化を含む分析時間の合計は 15 分未満です。



ヒントとテクニック

Agilent 1290 Infinity LC は、品質の高い結果を迅速に提供します。多くの情報が得られるため、短時間での意思決定が可能になります。生産性を高めることで、ラボの競争力がアップし、投資に対して高いリターンを得ることができます。1290 Infinityの導入によるコスト削減を計算できます。オンラインメソッドトランスレータとコスト削減カリキュレータを使用することにより、HPLC メソッドを変換し、コスト削減額を計算することができます。ホームページをご覧ください。
www.agilent.com/chem/hplc2uhplc



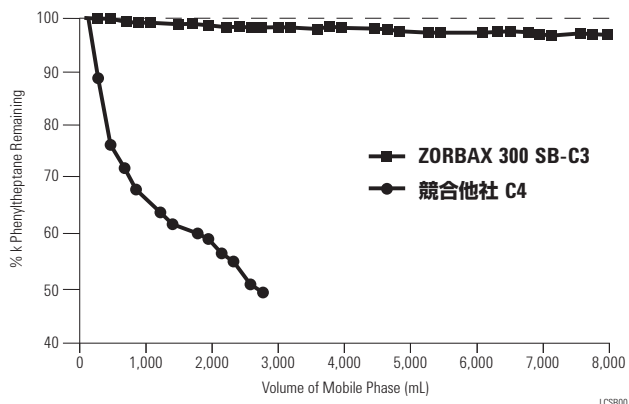
**低 pH、高温での安定性が高い短鎖
ZORBAX 300SB-C3**

カラム: ZORBAX 300SB-C3
883995-909
4.6 x 150 mm, 5 μm

移動相: 80分で0～100% Bのグラジエント
A: 0.5% TFA 水溶液
B: 0.5% TFA アセトニトリル溶液
アイソクラティック保持力試験条件:
1-フェニルヘプタン 50% A、50% B

流量: 1.0 mL/min

カラム温度: 60 °C



**4つの異なる 300SB 結合相による
高分子ポリペプチドの分離の最適化**

カラム A: ZORBAX RRHD 300SB-C18
883995-902
4.6 x 150 mm, 5 μm

カラム B: ZORBAX 300SB-C8
883995-906
4.6 x 150 mm, 5 μm

カラム C: ZORBAX 300SB-C3
883995-909
4.6 x 150 mm, 5 μm

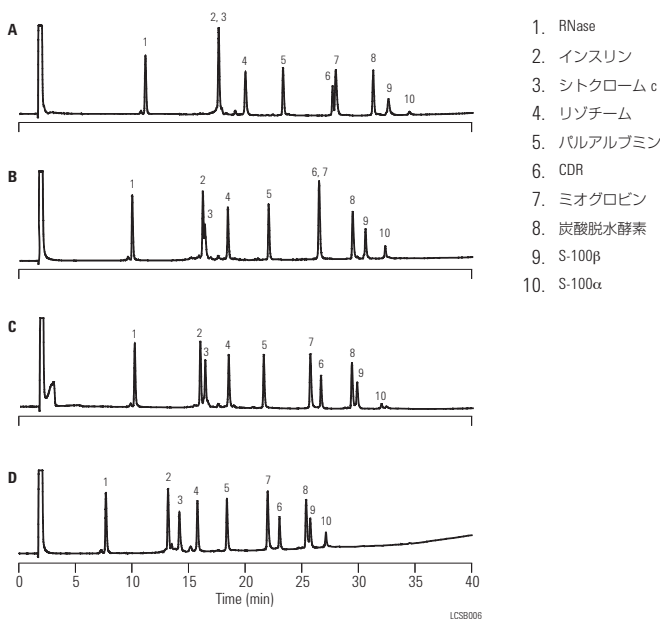
カラム D: ZORBAX 300SB-CN
883995-905
4.6 x 150 mm, 5 μm

移動相: リニアグラジエント、40分で25～70% B
A: 0.1% TFA 水溶液
B: 0.09% TFA 80% アセトニトリル/20%
水溶液

流量: 1.0 mL/min

カラム温度: 60 °C

サンプル: 各タンパク質 3 μg

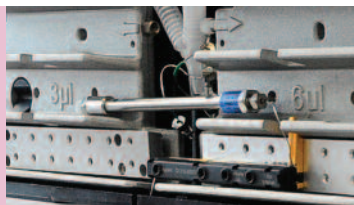


300SB- C18、C8、C3 および CN 結合相はペプチド混合物に対してそれぞれ異なる分離を与えます。このことはタンパク質分離をすばやく最適化する上での重要なパラメータになります。300SB-CN カラムはより親水性の高いポリペプチドに対して独自の選択性を示します。

ZORBAX 300A StableBond

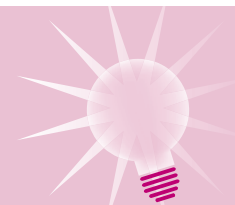
ハード ウェア	品名	寸法(mm)	粒子径 (μm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56
標準カラム (特別なハードウェアは必要としません)							
	セミ分取	9.4 x 250	5	880995-202	880995-206	880995-205	880995-209
	アナリティカル	4.6 x 250	5	880995-902	880995-906	880995-905	880995-909
	アナリティカル	4.6 x 150	5	883995-902	883995-906	883995-905	883995-909
	アナリティカル	4.6 x 50	5	860950-902	860950-906	860950-905	860950-909
	ラピッドレゾリューション	4.6 x 150	3.5	863973-902	863973-906	863973-905	863973-909
	ラピッドレゾリューション	4.6 x 100	3.5	861973-902	861973-906		
	ラピッドレゾリューション	4.6 x 50	3.5	865973-902	865973-906	865973-905	865973-909
	ソルベントセーブプラス	3.0 x 150	3.5	863974-302	863974-306		863974-309
	ソルベントセーブプラス	3.0 x 100	3.5		861973-306		
	ナローボア	2.1 x 250	5	881750-902			
	ナローボア	2.1 x 150	5	883750-902	883750-906	883750-905	883750-909
	ナローボア RR	2.1 x 150	3.5		863750-906		
	ナローボア RR	2.1 x 100	3.5	861775-902	861775-906		
	ナローボア RR	2.1 x 50	3.5	865750-902	865750-906		
	ナローボア RRHD	2.1 x 100	1.8	858750-902	858750-909		858750-909
	ナローボア RRHD	2.1 x 50	1.8	857750-902	857750-906		857750-909
	マイクロボア	1.0 x 250	5	861630-902			
	マイクロボア RR	1.0 x 150	3.5	863630-902	863630-906		
	マイクロボア RR	1.0 x 50	3.5	865630-902	865630-906		
	マイクロボアガード、3個	1.0 x 17	5	5185-5920	5185-5920		
P	ガードカートリッジ、2個	9.4 x 15	7	820675-124	820675-124	820675-124	820675-124
ZGC	ガードカートリッジ、4個	4.6 x 12.5	5	820950-921	820950-918	820950-923	820950-924
ZGC	ガードカートリッジ、4個	2.1 x 12.5	5	821125-918	821125-918	821125-924	821125-924
P	ガードハードウェアキット			840140-901	840140-901	840140-901	840140-901
ZGC	ガードハードウェアキット			820999-901	820999-901	820999-901	820999-901

(続く)











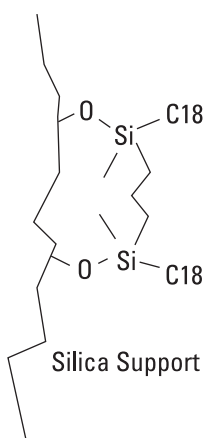
ヒントとテクニック

アジレントには、さまざまな機器にフィットするバイオカラムが揃っています。



ZORBAX 300A StableBond

ハード ウェア	品名	寸法(mm)	粒子径 (μm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56
PrepHT カートリッジカラム (エンドフィッティングキット 820400-901 が必要)							
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909
	PrepHT エンドフィッティング、 2 個			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901
	PrepHT ガードカートリッジ、 2 個	17.0 x 7.5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924
	ガードカートリッジハードウェアキット			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901
キャピラリーフローカラム (ガラス内面ステンレス)							
	キャピラリー	0.5 x 250	5	5064-8266			
	キャピラリー	0.5 x 150	5	5064-8264			
	キャピラリー	0.5 x 35	5	5064-8294			
	キャピラリー RR	0.5 x 150	3.5	5064-8268			
	キャピラリー RR	0.5 x 35	3.5	5065-4459			
	キャピラリー	0.3 x 250	5	5064-8265			
	キャピラリー	0.3 x 150	5	5064-8263			
	キャピラリー	0.3 x 35	5	5064-8295			
	キャピラリー RR	0.3 x 150	3.5	5064-8267	5065-4460		
	キャピラリー RR	0.3 x 100	3.5	5064-8259	5065-4461		
	キャピラリー RR	0.3 x 35	3.5	5064-8270	5065-4462		
	キャピラリー RR	0.3 x 50	3.5	5064-8300	5065-4463		
ナノフローカラム (PEEK フェーズドシリカ)							
	ナノ RR	0.1 x 150	3.5	5065-9910			
	ナノ RR	0.075 x 150	3.5	5065-9911			
	ナノ RR	0.075 x 50	3.5	5065-9924	5065-9923		
	トラップ/ガード 5 個	0.3 x 5	5	5065-9913	5065-9914		
	トラップ/ガードハードウェアキット:			5065-9915	5065-9915		



Extend-C18 結合相には、新開発の二座構造 C18-C18 結合が使用されています

ZORBAX 300Å Extend-C18

- 堅牢性が高く、高 pH から低 pH (pH 2-11.5) の広い範囲でポリペプチドとペプチドを分離します。
- 高 pH と低 pH では異なる選択性を示します。
- 高 pH 領域で疎水性ペプチドに対して優れた効率と回収率を示します。
- 水酸化アンモニウムの移動相を使用する LC/MS 分析に最適です。

Agilent ZORBAX 300Å Extend-C18 は、pH 2 ~ 11.5 でペプチドの高効率分離を行うワイドポア HPLC カラムです。独自の二座結合相が高低両方の pH 領域で優れた寿命と再現性を提供します。高 pH 領域でのペプチドやポリペプチドに対する保持特性と選択性は、これらの分子が荷電することによって著しく変化します。疎水性ポリペプチドの優れた回収率を得るには、室温、高 pH での分離が有効です。ペプチドとポリペプチドの LC/MS 分析感度を向上させる場合も、単純な水酸化アンモニウム含有移動相を用いて高い pH で分析するのが有効です。

カラム仕様

結合相	ポアサイズ	表面積	上限温度*	pH 範囲	エンドキャップ	カーボンロード
ZORBAX 300Å Extend-C18	300 Å	45 m ² /g	60 °C	2.0-11.5	ダブル	4 %

仕様は代表的な値のみを表しています。

*温度上限: pH 8 までは 60 °C、pH 8 ~ 11.5 は 40 °C。



ヒントとテクニック

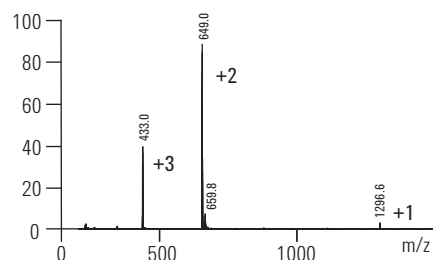
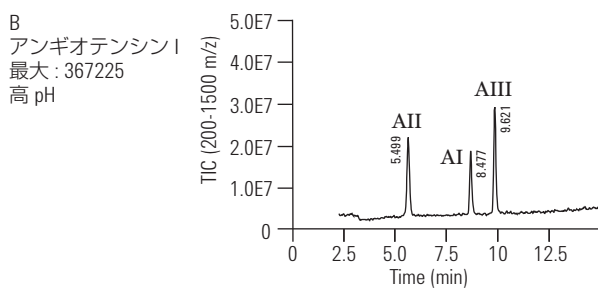
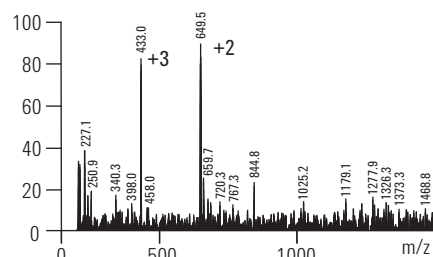
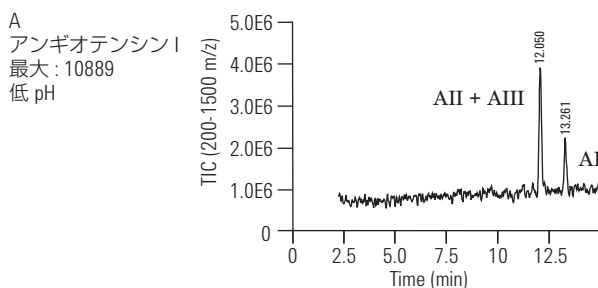
カラムの選択以外にも分析には欠かせない消耗品があります。アジレントでは、LC ランプなどの消耗品を幅広く取り揃えています。



**Extend-C18 を使用した
アンギオテンシンの LC/MS 分析**

カラム: ZORBAX Extend-C18
773700-902
2.1 x 150 mm, 5 μm

移動相:	酸性条件:	流量:	0.2 mL/min	MS 条件	ポジティブイオン ESI - Vf 70 V, Vcap 4.5 kV,
	A: 0.1 % TFA 水溶液	グラジエント:	15 分で 15 ~ 50 % B		N2- 35 psi, 12 L/min, 325 °C
	B: 0.085 % TFA 80 % アセトニトリル (ACN) 溶液	カラム温度:	35 °C	サンプル:	2.5 μL サンプル (各 50 pmol) アンギオテンシン I, II, III
	塩基性条件:				
	A: 10 mM NH ₄ OH 水溶液				
	B: 10 mM NH ₄ OH 80 % ACN 溶液				



LC30003

低分子ペプチドと高分子ペプチドのいずれについても、高 pH と低 pH で選択性が変化しています。高 pH では、荷電状態が変化するため、3 種類のアンギオテンシンすべてを分離できます。さらに、水酸化アンモニウム移動相を使用して高 pH で分析することにより、アンギオテンシン I のスペクトルが著しく明瞭になります。Extend-C18 カラムは、低分子ペプチドを高 pH で分析する際にも効果を発揮します。

参考: B.E. Boyes. Separation and Analysis of Peptides at High pH Using RP-HPLC/ESI-MS, 4th WCBP, San Francisco, CA, Jan. 2000.

高 pH でも長寿命な 300Extend-C18

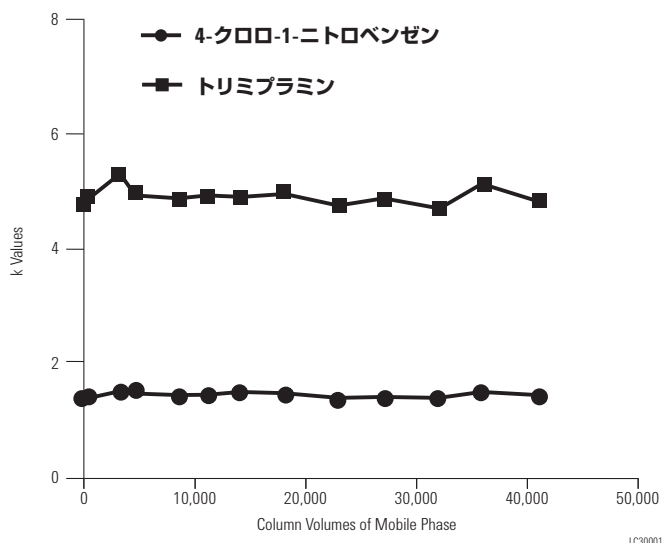
カラム: ZORBAX Extend-C18
773450-902
4.6 x 150 mm, 5 μm

移動相: 20 % 20 mM NH₄OH, pH 10.5
80 % メタノール

流量: 1.5 mL/min

カラム温度: エージング 24 °C
試験 40 °C

10,000 カラム容積は、およそ 1 ヶ月の稼働時間に相当します。



高 pH で異なる選択性が得られる ZORBAX Extend-C18

カラム: ZORBAX Extend-C18
773700-902
2.1 x 150 mm, 5 μm

移動相: A: 0.1 % TFA 水溶液
B: 0.085 % TFA 添加 80 % ACN 溶液

A: 20 mM NH₄OH 水溶液
B: 20 mM NH₄OH 80 % ACN 溶液

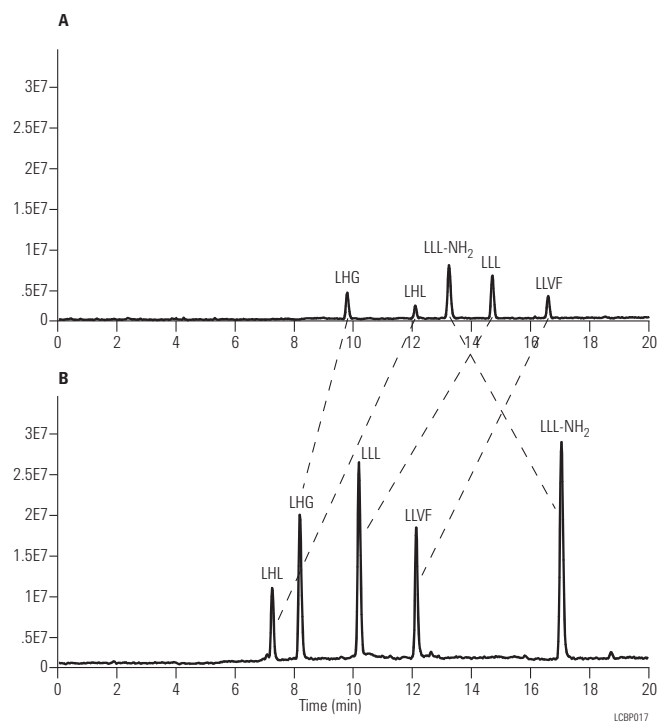
流量: 0.25 mL/min

グラジエント: 5-60 % B in 20 min




カラム温度: 25 °C

MS 条件 ポジティブイオン ESI - Vf
70V, Vcap 4.5 kV
N₂ - 35 psi, 12 L/min, 300 °C
4 μL (各ペプチド 50 ng)

Extend カラムはペプチドの高 pH 分離に使用できます。高 pH と低 pH では選択性が大きく異なります。pH を変えるだけで補完的なメソッド開発が可能となり、すべてのピークを確実に溶出させることができます。Extend カラムは高 pH と低 pH の両方で使用できるため、単一のカラムで補完的な分離を試すことも可能です。高 pH ではサンプルの MS 感度が向上します。

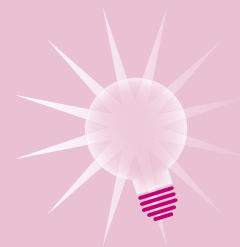


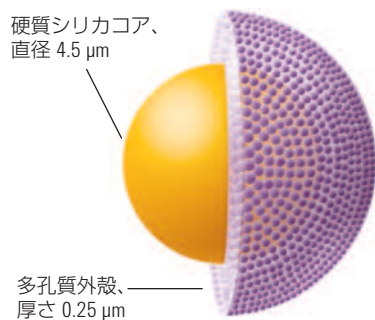
ZORBAX 300Å Extend-C18

ハードウェア	品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	部品番号
	アナリティカル	4.6 x 250	5	770995-902
	アナリティカル	4.6 x 150	5	773995-902
	ラピッドレゾリューション	4.6 x 150	3.5	763973-902
	ラピッドレゾリューション	4.6 x 100	3.5	761973-902
	ラピッドレゾリューション	4.6 x 50	3.5	765973-902
	ナローポア RR	2.1 x 150	3.5	763750-902
	ナローポア RR	2.1 x 100	3.5	761775-902
	ナローポア RR	2.1 x 50	3.5	765750-902
	ガードカートリッジ、4 個	4.6 x 12.5	5	820950-932
	ガードカートリッジ、4 個	2.1 x 12.5	5	821125-932
	ガードハードウェアキット			820999-901
キャピラリーフローカラム (ガラス内面ステンレス)				
	キャピラリー RR	0.3 x 150	3.5	5065-4464
	キャピラリー RR	0.3 x 100	3.5	5065-4465
	キャピラリー RR	0.3 x 75	3.5	5065-4466
	キャピラリー RR	0.3 x 50	3.5	5065-4467

ヒントとテクニック

ガードカラムとフィルタは、システムの性能を低下させるカラムや装置内の粒子の詰まりを防ぎます。よくある問題の解決方法については、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。





Poroshell 300

- 表面多孔質粒子構造により生体分子を高速分離
- 300 Å のポアサイズがタンパク質 (最大1,000 kDa) とモノクローナル抗体の分離で高い効率と回収率を実現
- Poroshell 300SB (低 pH)、300Extend-C18 (高 pH) でカラム寿命が向上
- 4 種類の結合相 (300SB-C18、300SB-C8、300SB-C3、300Extend-C18) で回収率と選択性を最適化

Agilent Poroshell 300 カラムはタンパク質やペプチドの高速分離に理想的なカラムです。表面多孔質粒子により、流量を大きくしてもシャープで効率の良いピーク形状が損なわれることはありません。一般にペプチドやタンパク質分析では、拡散の遅い目的成分のピークの広がりを抑えるために、分離はゆっくりと行われます。しかし、Poroshell カラムでは、多孔質シリカ表面薄層と硬質シリカコアを組み合わせた、厚さ 0.25 μm の独自の粒子構造が導入されています。そのため、タンパク質の拡散距離が短縮され、Agilent 1260 Infinity バイオイナートなどの 400/600 bar HPLC システムを使用して、500~1,000 kDa までのペプチドとタンパク質の高速 HPLC 分離が可能になります。StableBond 結合相と結合した Poroshell カラムは、TFA およびギ酸移動相で優れた安定性と感度を発揮します。Poroshell 300Extend-C18 カラムを使用すれば、pH 2 ~ 11 の範囲で無類の分離性能が得られます。ZORBAX Poroshell カラムは分析用タンパク質分離および LC/MS 分離に有用です。



カラム仕様

結合相	ポアサイズ	上限温度*	pH 範囲	エンドキャップ
Poroshell 300SB-C18、C8、C3	300 Å	90 °C	1.0-8.0	なし
Poroshell 300Extend-C18	300 Å	pH 8 超で 40 °C pH 8 未満で 60 °C	2.0-11.0	あり

仕様は代表的な値のみを表しています。

*300StableBond カラムは低 pH で最高の性能を発揮するように設計されています。シリカを基材とするカラムを pH 6 ~ 8 の範囲で最高の安定性を確保しながら使用するには、40 °C 以下の使用温度、0.01 ~ 0.02 M の範囲の低濃度緩衝液を使用します。中性または高 pH では、300Extend-C18 の使用をお勧めします。

タンパク質やペプチドを数秒間で分離する Poroshell 300 カラム

カラム: **Poroshell 300SB-C18**
660750-902
2.1 x 75 mm, 5 μm

移動相: A: 0.1% TFA in H₂O
 B: 0.07% TFA in ACN

流量: 3.0 mL/min

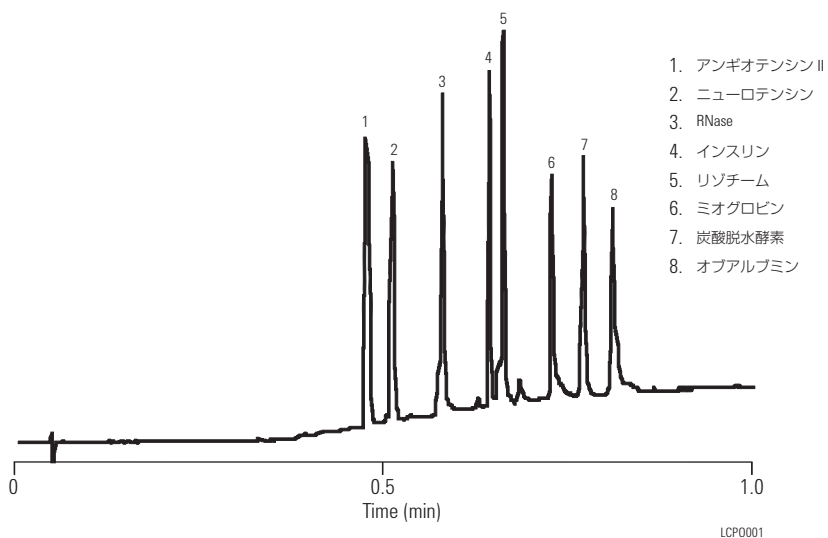
グラジエント: 5-100% B in 1.0 min

カラム温度: 70 °C、圧力 260 bar

検出器: 215 nm

サンプル: タンパク質とペプチド

この例における 8 種類のポリペプチドとタンパク質の分離は 60 秒未満で完了しています。それぞれのピーク形状はシャープで高い効率を持ちます。



ヒントとテクニック

詳細については、次の資料を参照してください。

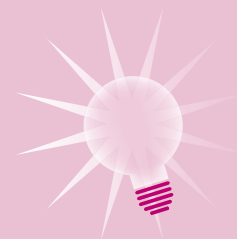
Poroshell 300SB-C18 (5988-2100ENUS)

Rapid HPLC Analysis of Monoclonal Antibody IgG1 Heavy Chains Using ZORBAX Poroshell 300SB-C8 (5989-0070EN)

Use of Temperature to Increase Resolution in the Ultrafast HPLC Separation of Proteins with ZORBAX Poroshell 300SB-C8 HPLC Columns (5989-0589EN)

Using the High-pH Stability of ZORBAX Poroshell 300Extend-C18 to Increase Signal-to-Noise in LC/MS (5989-0683EN)

www.agilent.com/chem/library



Poroshell 300SB によるペプチドマップ 分析時間の 90 % の短縮

カラム A: Poroshell 300SB-C18
660750-902
2.1 x 75 mm, 5 μm

カラム B: ZORBAX 300SB-C18
883750-902
2.1 x 150 mm, 5 μm

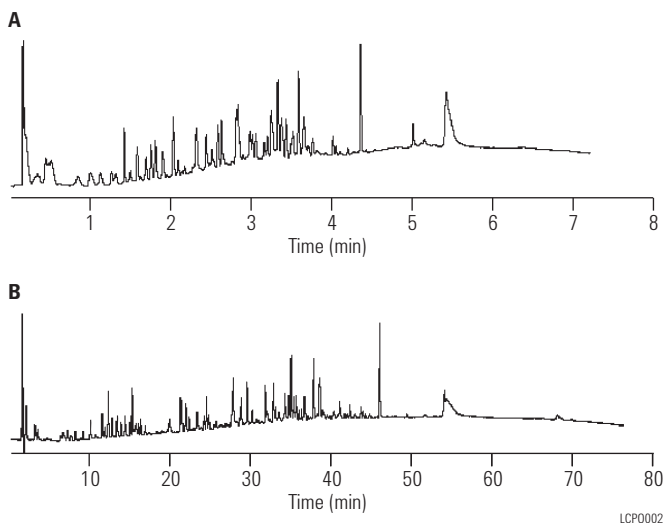
移動相: A: 95 % H₂O, 5 % ACN, 0.1 % TFA
B: 5 % H₂O, 95 % ACN, 0.07 % TFA

流量: 1 mL/min
0.208 mL/min

グラジエント: 0-100 % B = 12 分
0-100 % B = 120 分

カラム温度: 70 °C

サンプル: 20 μL (0.22 μg/1 μL)
BSA トリプシン消化物
(15 時間, 70 pmol)



タンパク質トリプシン消化物の分析では、1 回のクロマトグラフ分析に 1 時間以上もかかることがあります。Poroshell カラムを使用すれば、同様の複雑な分離を 1/10 の時間で分析することができます。

LC/MS で最高の感度を実現する MicroBore Poroshell 300 カラム

カラム: Poroshell 300SB-C18
661750-902
1.0 x 75 mm, 5 μm

移動相: A: 水 + 0.1 % ギ酸
B: ACN + 0.1 % ギ酸

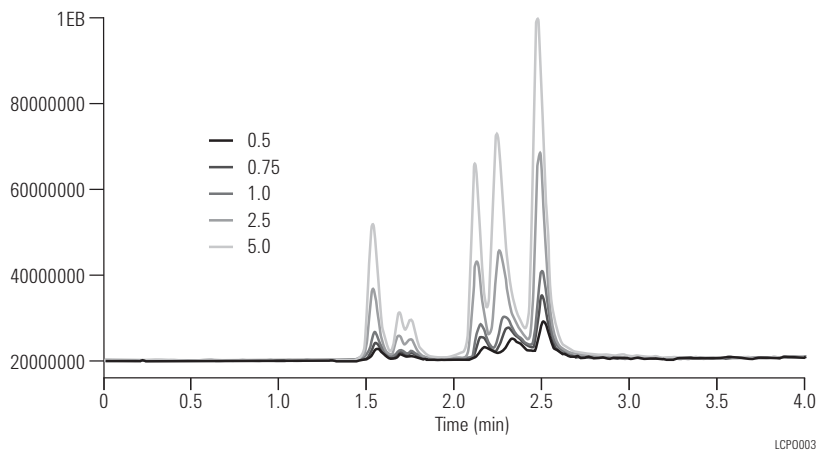
流量: 600 μL/min

グラジエント: 5.5 分で 20 ~ 100 % B

カラム温度: 80 °C

MS 条件 LC/MS: ポジティブイオン
ESI - Vcap 6000 V
乾燥ガス流量: 12 L/min
乾燥ガス温度: 350 °C
ネブライザ: 45 psi
フラグメンタ電圧: 140 V
スキャン: 600-2500
刻み幅: 0.15 amu
ピーク幅: 0.06 min

サンプル: 1 μL



内径の小さい (2.1 mm, 1.0 mm, 0.5 mm) Poroshell カラムは、LC/MS に理想的なカラムです。サンプル量が限られている場合、高感度 LC/MS 分析には内径 1.0 mm または 0.5 mm の Poroshell カラムが最適です。Poroshell カラムでは、0.5 ~ 5 pmole の微量タンパク質での高感度 MS 分析が可能です。また Poroshell カラムは、安定剤や組織培地の存在下でも MS によるタンパク質の高速検出に使用できます。

モノクローナル IgG1 鎖： Poroshell 300SB-C8 での分離

カラム： **Poroshell 300SB-C8**
660750-906
2.1 x 75 mm, 5 μm

移動相： A: 90 % 水 : 10 % ACN + 3 mL/L の
MW 300 PEG
B: 10 % 水 : 90 % ACN + 3 mL/L の
MW 300 PEG

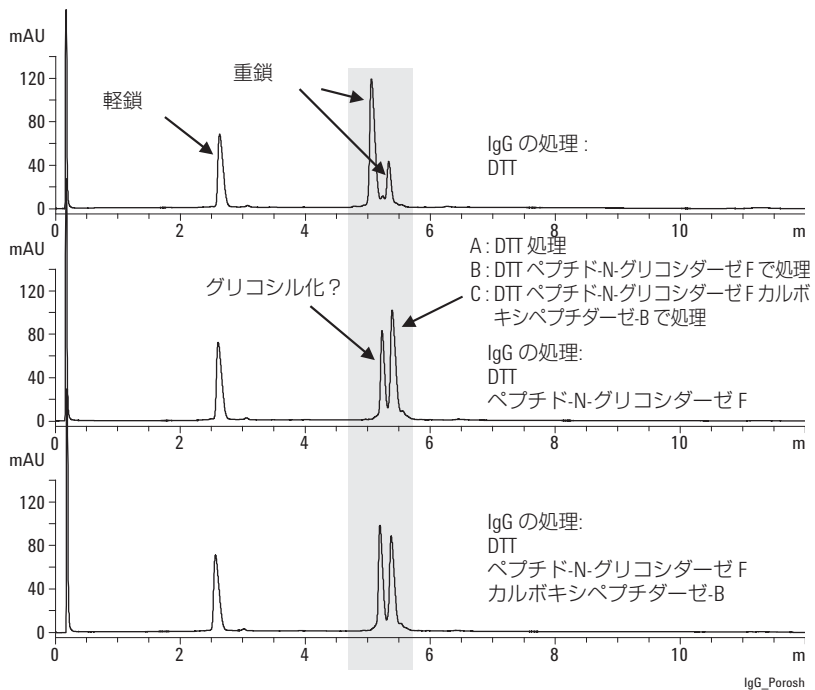
流量： 1.0 mL/min

グラジエント： 0 分 25 % B
10 分 40 % B
10.1 分 25 % B
12 分 25 % B

カラム温度： 70 °C

サンプル： モノクローナル IgG1

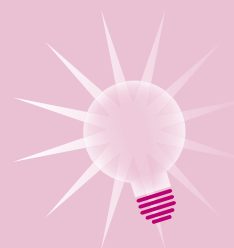
Courtesy of:
Novartis Pharma,
Biotechnology, Basel
Dr. Kurt Forrer
Patrik Roethlisberger



ヒントとテクニック

アジレントは、ポリプロピレン、不活性処理済み、シリコン処理済みガラス製など、多様なサンプルに適したバイアルを提供しています。詳細については 5990-9022JAJP をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp



ZORBAX Poroshell 300SB-C8 でのタンパク質の溶出パターン

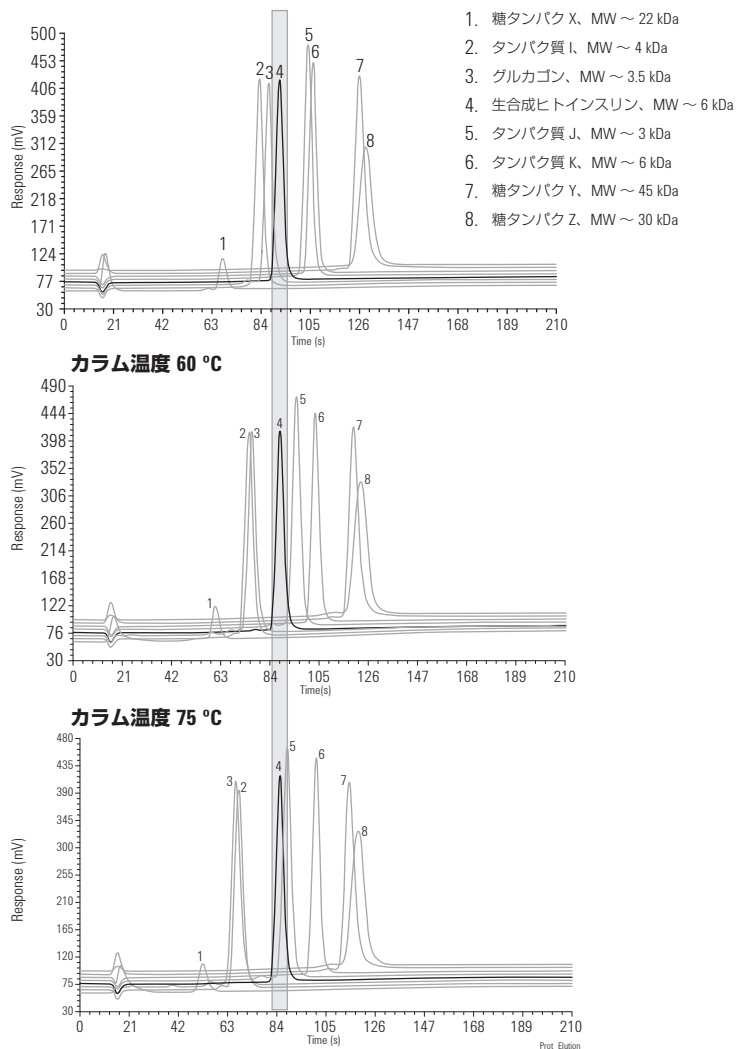
カラム: Poroshell 300SB-C8
660750-906
2.1 x 75 mm, 5 μm

移動相: A: 0.1% TFA 水溶液
B: 0.1% TFA アセトニトリル溶液

流量: 1.0 mL/min

グラジエント: B: 20 ~ 70% (3分)

検出器: UV (214 nm)



Poroshell 300

ハードウェア	品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	Poroshell 300SB-C18	Poroshell 300SB-C8	Poroshell 300SB-C3	Poroshell 300Extend-C18
	ナローポア	2.1 x 75	5	660750-902	660750-906	660750-909	670750-902
	マイクロポア	1.0 x 75	5	661750-902	661750-906	661750-909	671750-902
	キャピラリー	0.5 x 75	5	5065-4468			
ZGC	ガードカートリッジ、4 個	2.1 x 12.5	5	821075-920	821075-918	821075-924	
ZGC	ガードハードウェアキット			820999-901	820999-901	820999-901	
	マイクロポアガード、3 個	1.0 x 17	5	5185-5968	5185-5968	5185-5968	5185-5968



Poroshell 120

- 短鎖ペプチドマッピング向けの 120 Å のポアサイズ
- 60 MPa (600 bar) のシステムで UHPLC の性能
- 2 μm 未満の粒子径に対して最大 90 % の効率
- 3.5 μm の粒子径に対して効率は 2 倍
- 2 μm 未満のカラムよりも最大で 50 % 低い圧力

Agilent Poroshell 120 カラムは、1.7 μm のソリッドコアと 0.5 μm の多孔質外殻を持つ 2.7 μm 粒子です。この小さな粒子径によって、2 μm 未満のカラムと同様の高い効率が得られますが、圧力は 40 ~ 50 % 低くなります。これらの高効率、高分離カラムは、どのタイプの LC でも使用できます。多孔質外殻とソリッドコアによって拡散距離が制限され、分離スピードが向上する一方で、粒子径が小さいため効率と分解能が向上します。カラムは高圧に対応し、複数のカラムを使用すると、可能な限り最高の分解能と効率を実現できます。120 Å のポアサイズは、タンパク質消化物の低分子量ペプチドの高速高分離分析に理想的です。

カラム仕様

結合相	ポアサイズ	上限温度	pH 範囲	エンドキャップ	カーボンロード
SB-C18	120Å	90 °C	1.0-8.0	なし	7.5 %
EC-C18	120Å	60 °C	2.0-8.0	ダブル	8 %

仕様は代表的な値のみを表しています。



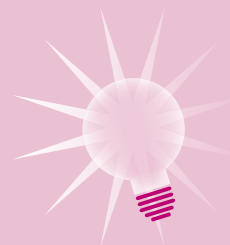
Poroshell 120

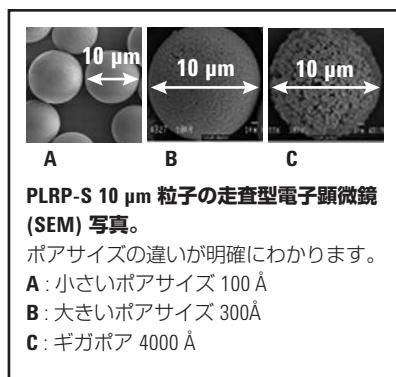
品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	SB-C18 USP L1	EC-C18 USP L1
分析用	4.6 x 150	2.7	683975-902	693975-902
分析用	4.6 x 100	2.7	685975-902	695975-902
ソルベントセーバ	3.0 x 150	2.7	683975-302	693975-302
ソルベントセーバ	3.0 x 100	2.7	685975-302	695975-302
ナローボア	2.1 x 150	2.7	683775-902	693775-902
ナローボア	2.1 x 100	2.7	685775-902	695775-902

ヒントとテクニック

アジレントのすべての従来型 LC カラム (カートリッジなし) には QC クロマトグラムが付属しています。新しいカラムごとに QC 化合物の標準サンプルまたは重要成分を分析し、クロマトグラムをログブックに記録します。再テストを定期的 to 実施し、カラムの消耗をチェックします。問題のトラブルシューティングに役立つビデオを公開しています。

www.agilent.com/chem/lctroubleshooting をご覧ください。





PLRP-S HPLC カラム

- 高再現性と長寿命を達成する最も頑丈なポリマー系粒子
- 高い熱安定性と化学的安定性
- USP L21 に準拠
- 分野を問わずあらゆる分析で使用可能

PLRP-S シリーズには、さまざまな粒子径とポアサイズを有する充填剤が使用され、分析の用途に応じて使い分けることが可能です。粒子には疎水性があるため、逆相系での分離には結合相、アルキル結合基は必要ありません。そのため、残存シラノールや残留重金属は存在しません。幅広いカラム製品は、プロテオミクス、分析分離、分取精製などのマイクロ分離に適しています。さらに、プロセスカラムには充填剤バルクを充填することもできます。

カラム仕様

使用可能 pH 範囲	1-14
緩衝液種類	制限なし
使用可能有機溶媒濃度	1-100 %
使用可能最高温度	200 °C
使用可能最大圧力	5 ~ 8 μm : 3000 psi (210 bar) 3 μm : 4000 psi (300 bar)

PLRP-S アプリケーション

ポアサイズ	アプリケーション
100 Å	低分子/ペプチド/オリゴヌクレオチド
300 Å	遺伝子組み換えペプチド/タンパク
1000 Å	分子量の大きなタンパク質
4000 Å	DNA/プラスミド

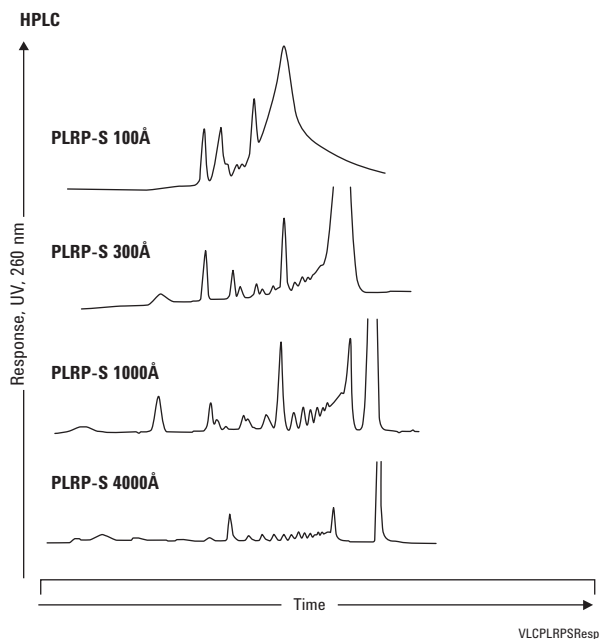
25 bp DNA ラダーの HPLC

カラム: PLRP-S、2.1 x 150 mm

移動相: A: 0.1 M TEAA
B: 50 % 0.1 M TEAA 水溶液 : 50 % ACN

流量: 200 μ L/min

グラジエント: 12.5~50 % B、150 分



ポリエチレングリコール

カラム: PLRP-S 100Å
PL1111-3500
4.6 x 150 mm, 5 μ m

移動相: A: 水
B: アセトニトリル

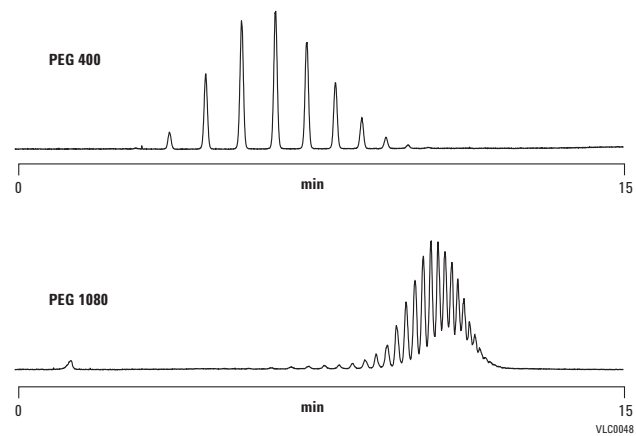
グラジエント: 12 分で 10 ~ 30 % B、30 % B で 3 分間保持

流量: 1.0 mL/min

注入量: 10 μ L

サンプル濃度: 1 mg/mL

検出器: ELS (neb = 50 °C、evap = 70 °C、
gas = 1.6 SLM)



TFA 濃度による分析結果の違い

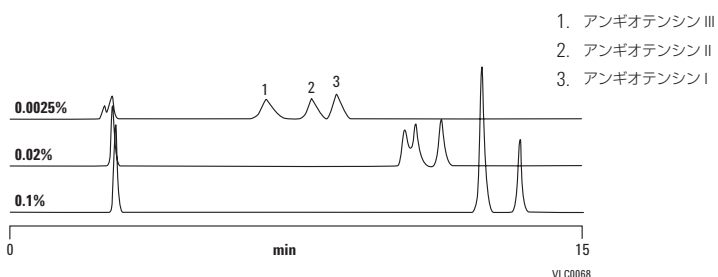
カラム: PLRP-S 100Å
PL1512-5500
4.6 x 250 mm, 5 μm

移動相: A: TFA (各種 %) 水溶液
B: TFA (各種 %) ACN 溶液

グラジエント: 15 分で 12 ~ 40 % B (リニア)

流量: 1.0 mL/min

検出器: ELS (neb = 75 °C、evap = 85 °C、
gas = 1.0 SLM)

化学的安定性 - NH₄OH 濃度

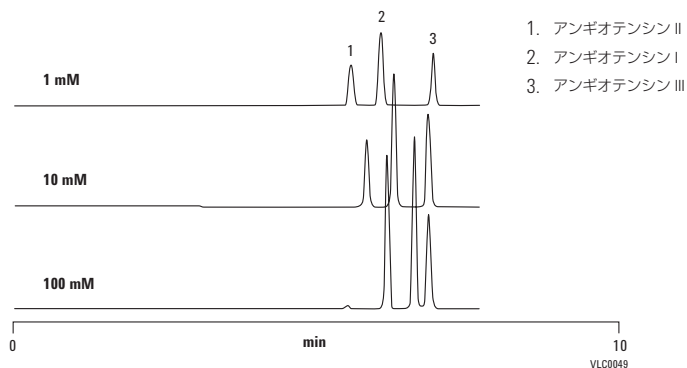
カラム: PLRP-S 100Å
PL1512-5500
4.6 x 250 mm, 5 μm

移動相: A: アンモニア水 (濃度はクロマト
グラムを参照)
B: canアンモニア含有アセトニトリル
(濃度はクロマトグラムを参照)

グラジエント: 15 分で 10 ~ 100 % B (リニア)

流量: 1.0 mL/min

検出器: ELS (neb = 80 °C、evap = 85 °C、
gas = 1.0 SLM)



Alberta Peptide Institute 試験混合物

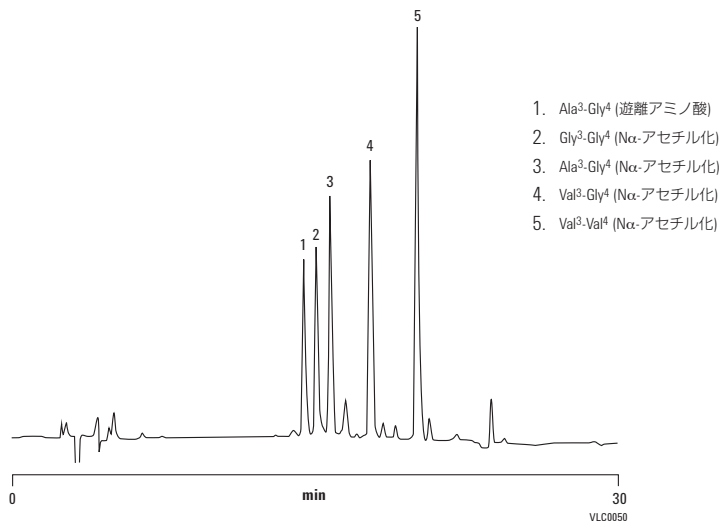
カラム: PLRP-S 100Å
PL1512-5500
4.6 x 250 mm, 5 μm

移動相: A: 99 % TFA 水溶液 (0.1 %) : 1 % ACN
B: 70 % TFA 水溶液 (0.1 %) : 30 % ACN

グラジエント: 30分で0 ~ 100 % B

流量: 1.0 mL/min

検出器: UV、220 nm



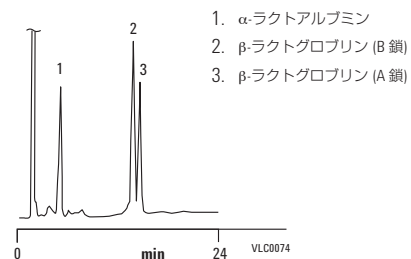
乳製品サンプル中の乳清タンパク - 牛乳

カラム: PLRP-S 300 Å
PL1512-3801
4.6 x 150 mm, 8 μm

移動相: A: 0.1 % TFA、99 % 水 : 1 % ACN 溶液
B: 0.1 % TFA、1 % 水 : 99 % ACN 溶液

グラジエント: 24分で36-48 % B、24-30分で48-100 % B、
100 % Bで5分間保持、35-40分で100-36 % B

流量: 1.0 mL/min
注入量: 10 μL
検出器: UV、220 nm



**イオンペア剤を用いた逆相系 HPLC における
温度の違いによるオリゴヌクレオチドの
分離結果の比較**

カラム: PLRP-S 100Å
PL1512-1300
4.6 x 50 mm, 3 μm

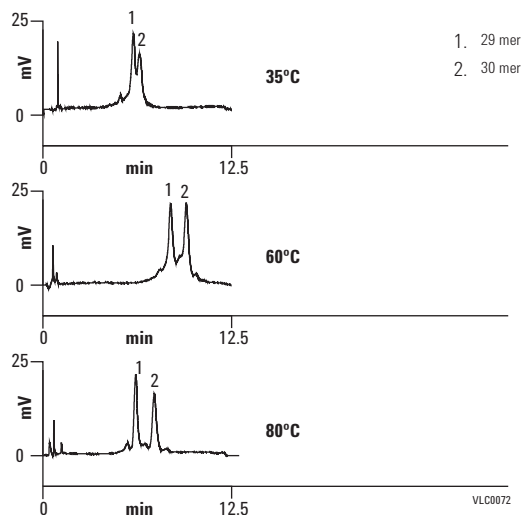
移動相: A: 100 mM TEAA
B: 25 % ACN 溶液中の 100 mM TEAA

グラジエント: 緩衝液 B を 5 分で 5 % 変化

流量: 1.0 mL/min

カラム温度: 35 °C、60 °C、または 80 °C

検出器: UV、254 nm



分子量の大きい繊維状タンパク質

カラム: PLRP-S 300 Å
PL1512-3801
4.6 x 150 mm, 8 μm

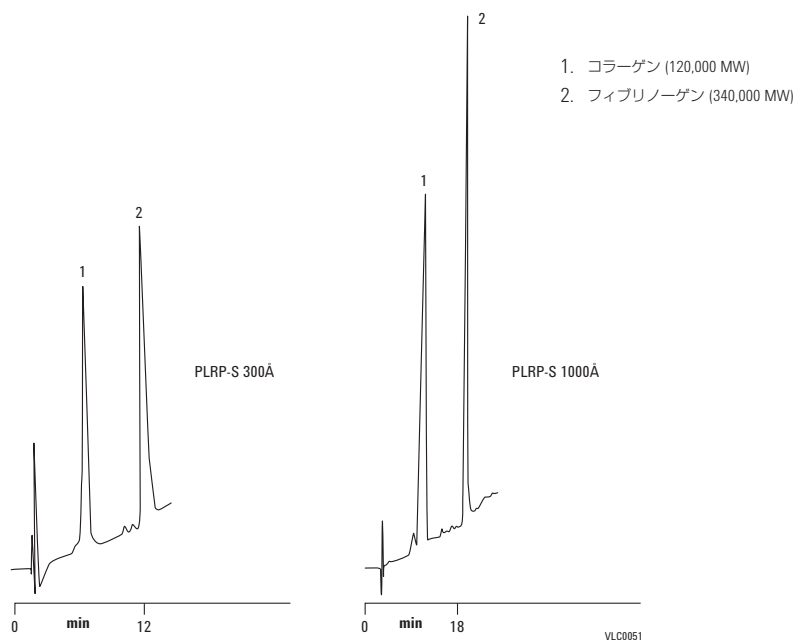
カラム: PLRP-S 1000Å
PL1512-3802
4.6 x 150 mm, 8 μm

移動相: A: 0.25 % TFA 水溶液
B: 5 % TFA 水溶液 (0.25 %) : 95 % ACN



流量: 1.0 mL/min

グラジエント: 15 分で 20 ~ 60 % B

検出器: UV、220 nm



PLRP-S HPLC カラム

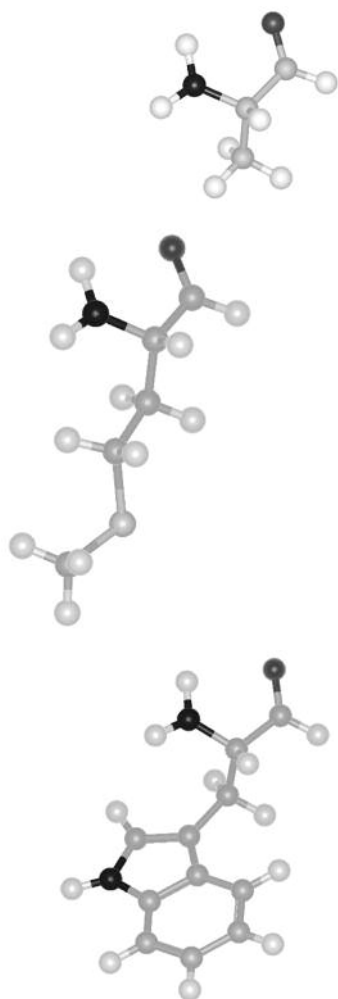
ハードウェア	寸法(mm)	粒子径 (μm)	PLRP-S 100 Å USP L21	PLRP-S 300 Å USP L21	PLRP-S 1000 Å USP L21	PLRP-S 4000 Å USP L21
	4.6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801	PL1512-5802	
	4.6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801	PL1512-3802	PL1512-3803
	4.6 x 50	8		PL1512-1801	PL1512-1802	PL1512-1803
	4.6 x 250	5	PL1512-5500	PL1512-5501		
	4.6 x 150	5	PL1111-3500	PL1512-3501		
	4.6 x 50	5	PL1512-1500	PL1512-1501	PL1512-1502	PL1512-1503
	4.6 x 150	3	PL1512-3300	PL1512-3301		
	4.6 x 50	3	PL1512-1300	PL1512-1301		
	2.1 x 250	8		PL1912-5801		
	2.1 x 150	8		PL1912-3801	PL1912-3802	PL1912-3803
	2.1 x 50	8		PL1912-1801	PL1912-1802	PL1912-1803
	2.1 x 250	5	PL1912-5500	PL1912-5501		
	2.1 x 150	5	PL1912-3500	PL1912-3501		
	2.1 x 50	5	PL1912-1500	PL1912-1501	PL1912-1502	PL1912-1503
	2.1 x 150	3	PL1912-3300	PL1912-3301		
	2.1 x 50	3	PL1912-1300	PL1912-1301		
	PLRP-S ガードカートリッジ、5 x 3 mm 用, 2 個		PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801	PL1612-1801
	3.0 x 5.0 mm カートリッジ用ガードカートリッジホルダ		PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016	PL1310-0016

ヒントとテクニック

マイクロボアカラムの製品一覧は、118 ページを参照してください。
分取カラムと充填剤の製品一覧は、125 ページを参照してください。



アミノ酸分析 (AAA) カラムおよび消耗品





ZORBAX Eclipse アミノ酸分析 (AAA) カラム

- 24 種類のアミノ酸の高分解能、高速分析
- アミノ酸分析析用としてテスト済み
- よく知られた OPA および FMOC プレカラム誘導体化法を使用
- Agilent 1100/1200 オートサンプラでオンラインによる誘導体化プロトコルを使用して簡単に自動化

Agilent ZORBAX Eclipse AAA 高効率カラムは、更新および改良されたプロトコルに従ってアミノ酸を迅速に分離します。注入から次の注入までの全分析時間は、50 mm、1.8 μm のカラムでわずか 8 分 (分析時間は 7 分)、それよりも短い長さ 75 mm のカラムで 14 分 (分析時間は 9 分)、長さ 150 mm のカラムで 24 分 (分析時間は 18 分) です。Agilent 1100/1200 HPLC を使用した 1 回の自動分析で、OPA と FMOC の誘導体化特性の両方を用いて、非常に優れた感度 (DAD、FLD で 5 ~ 50 pmol) と信頼性を達成します。

ZORBAX Eclipse アミノ酸分析 (AAA) カラム

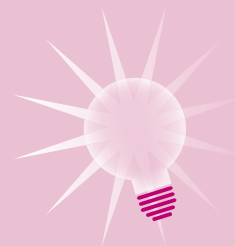
ハードウェア	説明	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	部品番号
	日常的分析	4.6 x 150	5	993400-902
	FLD を使用した日常分析、高分解能	4.6 x 150	3.5	963400-902
	日常的分析、ハイスループット	4.6 x 75	3.5	966400-902
	ソルベントセーバ、高感度、高分解能	3.0 x 150	3.5	961400-302
	ガードカートリッジ、4 個	4.6 x 12.5	5	820950-931
	ガードハードウェアキット			820888-901

ヒントとテクニック

詳細については、次の資料を参照してください。

High-Speed Amino Acid Analysis (AAA) on 1.8 μm Reversed-Phase (RP) Columns (5989-6297EN)

www.agilent.com/chem/library



アミノ酸標準試料

それぞれのアミノ酸標準試料には次のアミノ酸が含まれます。

- | | | |
|-----------|--------------|-------------|
| • グリシン | • L-セリン | • L-アルギニン |
| • L-システイン | • L-アラニン | • L-トレオニン |
| • L-ヒスチジン | • L-フェニルアラニン | • L-バリン |
| • L-チロシン | • L-グルタミン酸 | • L-リジン |
| • L-ロイシン | • L-プロリン | • L-アスパラギン酸 |
| • L-メチオニン | • L-イソロイシン | |

アミノ酸標準試料, 10 x 1 mL アンプル*

品名	部品番号
1 nmol/μL	5061-3330
250 pmol/μL	5061-3331
100 pmol/μL	5061-3332
25 pmol/μL	5061-3333
10 pmol/μL	5061-3334
アミノ酸補助キット ノルバリン、サルコシン、アスパラギン、グルタミン、トリプトファン、 4-ヒドロキシプロリン各 1 g	5062-2478

*寿命を考慮して必要量を購入してください。5062-2478 は 1 g パイアルとして出荷されます

アミノ酸分離試薬

品名	部品番号
OPA 試薬、0.4 M ホウ酸緩衝液 o-フタルアルデヒド (OPA)、 3-メルカプトプロピオン酸、各 10 mg/mL、6 x 1 mL アンプル	5061-3335
FMOC 試薬、アセトニトリルに 2.5 mg/mL、9-フルオレニルメチルクロロギ酸、 1 mL、10 アンプル	5061-3337
ホウ酸緩衝液、100 mL	5061-3339
DTDPA (ジチオジプロピオン酸) 試薬、システイン分析用、5g	5062-2479

ZORBAX Eclipse-AAA プロトコルを使用した 24 種類のアミノ酸の高分離

カラム: ZORBAX Eclipse AAA
963400-902
4.6 x 150 mm, 3.5 μm

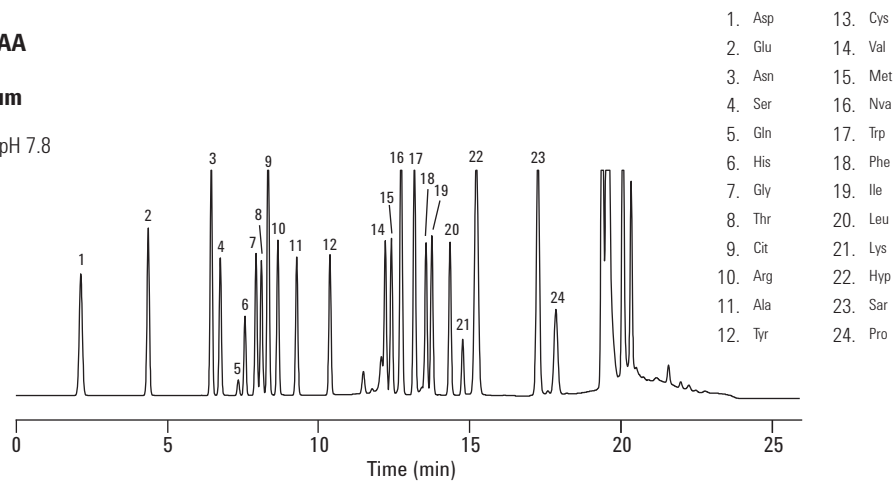
移動相: A: 40 mM Na₂HPO₄, pH 7.8
B: ACN:MeOH:水、
45:45:10 v/v

流量: 2 mL/min

カラム温度: 40 °C

検出器: 蛍光検出器

サンプル: 24 種類のアミノ酸

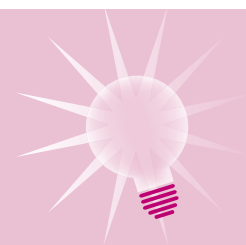


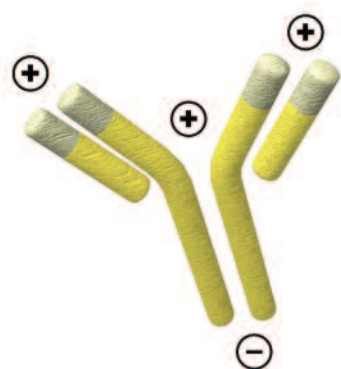
LCPAH01

24 種類のアミノ酸の高分離分析は 18 分で完了しました。ラピッドレゾリューション 4.6 x 75 mm Eclipse AAA カラムを選択すれば、これらのアミノ酸を 9 分で分離できます。

ヒントとテクニック

クイックリファレンスガイドには、Agilent 1200 シリーズ LC を常に最高の状態で使用するために常備しておきたい消耗品が記載されています。www.agilent.com/chem/getguides から無償でダウンロードできます。





イオン交換クロマトグラフィー

タンパク質やその他の荷電分子の精製

イオン交換クロマトグラフィー (IEX) は、イオンや極性分子をその電荷に基づいて分離できる高感度の技術です。SEC と同様に、IEX もタンパク質をネイティブの状態 で分離するために使用できます。

電荷変異体分析への IEX の適用

生成および精製時に、アミノ酸置換、グリコシル化、リン酸化、その他の翻訳後修飾や化学修飾の結果、抗体の電荷均一性に変化が生じることがあります。このような変化は安定性と活性に影響を与えることがあるため、または免疫上マイナスの反応を引き起こすことがあるため、モノクローナル抗体 (MAb) の生成における電荷均一性の分析はバイオ医薬品にとって非常に重要です。

タンパク質の分析では、特定の pH における電荷の変動は、分子の一次構造が変化し、問題となるタンパク質に別の形態が生じたことを示しています。これらはアイソフォーム (または電荷変異体) と呼ばれ、IEX クロマトグラフィーによって分離することができます。IEX は前処理技術としても有効です。

以降のページで、アジレントの弱および強イオン交換カラム (アニオンおよびカチオン) について説明します。

- **アジレントの非多孔質 Bio IEX カラム**は、高分解能、高効率、および高回収率の分離用に設計されています。
- **Agilent Bio MAb カラム**は、モノクローナル抗体の電荷アイソフォームの分離用に最適化されています。
- **アジレントの多孔質 IEX カラム** (PL-SAX および PL-SCX) は化学的な安定性があり、2つのポアサイズが用意されているため、ペプチド、オリゴヌクレオチド、超高分子量タンパク質を分離することができます。
- **バイオモノリス IEX カラム**は、抗体、ウィルス、および DNA の分離に特に適しています。



イオン交換カラムの選択

アプリケーション	Agilent カラム	説明
モノクローナル抗体	Agilent Bio MAb	モノクローナル抗体の特性解析には、酸性および塩基性イソフォームの同定とモニタリングが含まれます。Agilent Bio MAb HPLC カラムには、モノクローナル抗体の電荷に基づく高分解能の分離用に設計された独自の樹脂が使用されています。
ペプチドおよびタンパク質	Agilent Bio IEX	Agilent バイオイオン交換カラムには、ポリマー系の非多孔質イオン交換粒子が充填されています。Bio IEX カラムは、高分解能、高回収率、および高効率の分離用に設計されています。
タンパク質、ペプチド、および脱保護合成オリゴヌクレオチド	PL-SAX • 1000 Å • 4000 Å	化学的に安定した全多孔質ポリマーに強アニオン交換基が共有結合しているため、広い動作 pH 範囲を提供します。さらに、アニオン交換容量は pH の影響を受けません。合成オリゴヌクレオチドを変性条件下で分離する際には、変性させるための要素として温度、有機溶媒、高 pH など、あらゆる手法を採用できます。また、5µm の充填剤は高分解能用、30µm は中圧 LC 用に使用します。
球状タンパク質およびペプチド	PL-SAX 1000Å	
生体超高分子/高速	PL-SAX 4000Å	
低分子ペプチドから高分子タンパク質まで	PL-SCX • 1000 Å • 4000 Å	PL-SCX は、マクロポーラス型のスチレンジビニルベンゼンポリマーに親水性コーティングと陽イオン交換基を化学結合させた、ポリマー系の陽イオン交換 HPLC カラムです。さまざまなサイズの生体分子を効率よく分離精製するために、強カチオン交換部位の密度が最適になるように制御されています。また、5µm の充填剤は高分解能用、30µm は中圧 LC 用に使用します。
球状タンパク質	PL-SCX 1000Å	
生体超高分子/高速	PL-SCX 4000Å	
抗体 (IgG、IgM)、プラスミド DNA、ウイルス、ファージ、その他の生体高分子	バイオモノリス • バイオモノリス QA • バイオモノリス DEAE • バイオモノリス SO ₃ • バイオモノリスプロテイン A	強カチオン交換、強/弱アニオン交換、プロテイン A の各相。
ウイルス、DNA、高分子量タンパク質	バイオモノリス QA	
プラスミド DNA、バクテリオファージ	バイオモノリス DEAE	
タンパク質、抗体	バイオモノリス SO ₃	



Agilent Bio MAb HPLC カラム

- 硬質球状高架橋ポリスチレンジビニルベンゼン(PS/DVB) 非多孔質ビーズから構成される充填担体
- 非多孔質ビーズは親水性ポリマー層で覆われ、抗体タンパク質の非特異的結合を排除して、効率と回収率を高める粒子
- 粒子に対する弱カチオン交換相の層形成に異なるプロセスを使用することで、Agilent Bio WCX カラム粒子よりも高い密度を実現
- モノクローナル抗体のアイソフォームの特性解析用に設計

ヒントとテクニック

キャピラリー電気泳動は、電荷アイソフォームの分離に適した、液体クロマトグラフィーに代わる技術です。詳細については、次のテクニカルノートを参照してください。

Capillary electrophoresis focusing on the Agilent Capillary Electrophoresis system (5989-9852EN)

www.agilent.com/chem/library

モノクローナル抗体の特性解析には、酸性および塩基性アイソフォームの同定とモニタリングが含まれます。Agilent Bio MAb HPLC カラムには、モノクローナル抗体の高分解能電荷ベース分離用に設計された、独自の樹脂が使用されています。水系緩衝液、アセトニトリル/アセトン/メタノールおよび水の混合溶液を使用できます。一般に使用される緩衝液は、リン酸塩、Tris、MES、および酢酸です。

Bio MAb カラムは、1.7 μm 、3 μm 、5 μm 、および10 μm サイズの粒子を取り揃えています。小さい粒子ほど分離能が高くなります。

カラム仕様

結合相	ID	粒子径	pH 安定性	使用温度 上限	流量
弱カチオン交換 (カルボン酸)	2.1 および 4.6 mm	1.7、3、5、 および 10 μm	2-12	80 °C	0.1 ~ 1.0 mL/min



イオン交換 MAb の分離

カラム: Bio MAb、PEEK
5190-2411
2.1 x 250 mm, 5 μm

移動相: A: 20 mM リン酸ナトリウム緩衝液
B: 緩衝液 A + 400 mM NaCl

グラジエント: 0 ~ 30 分で 15 ~ 35% 緩衝液 B

流量: 0.65 mL/min

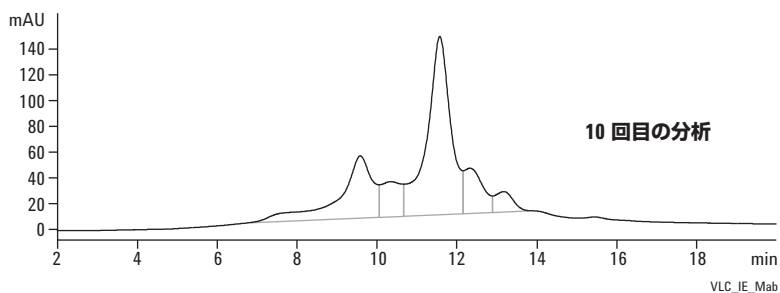
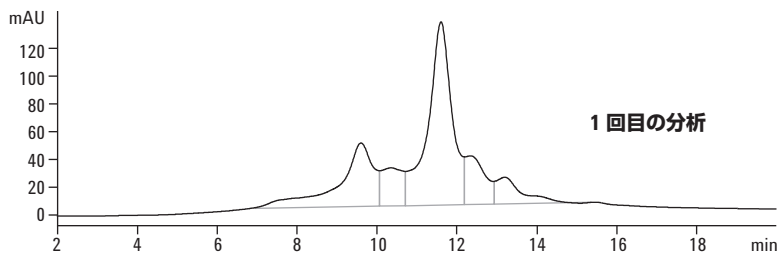
サンプル: CHO-ヒト MAb, 1 mg/mL

注入: 2.5 μL

検出器: UV 220 nm

カラム温度: 室温

金属フリーの流路を確保するには、Bio MAb PEEK カラムをお選びください。



VLC_IE_Mab

保持時間の変動を排除

カラム: Bio MAb、ステンレス
5190-2413
4.6 x 250 mm, 10 μm

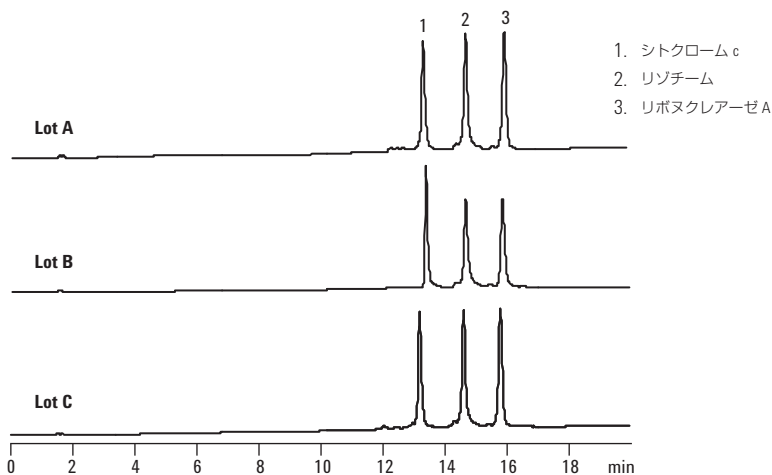
移動相: A: 10 mM リン酸、pH 6.0
B: A + 1.0M 塩化ナトリウム

流量: 1.0 mL/min

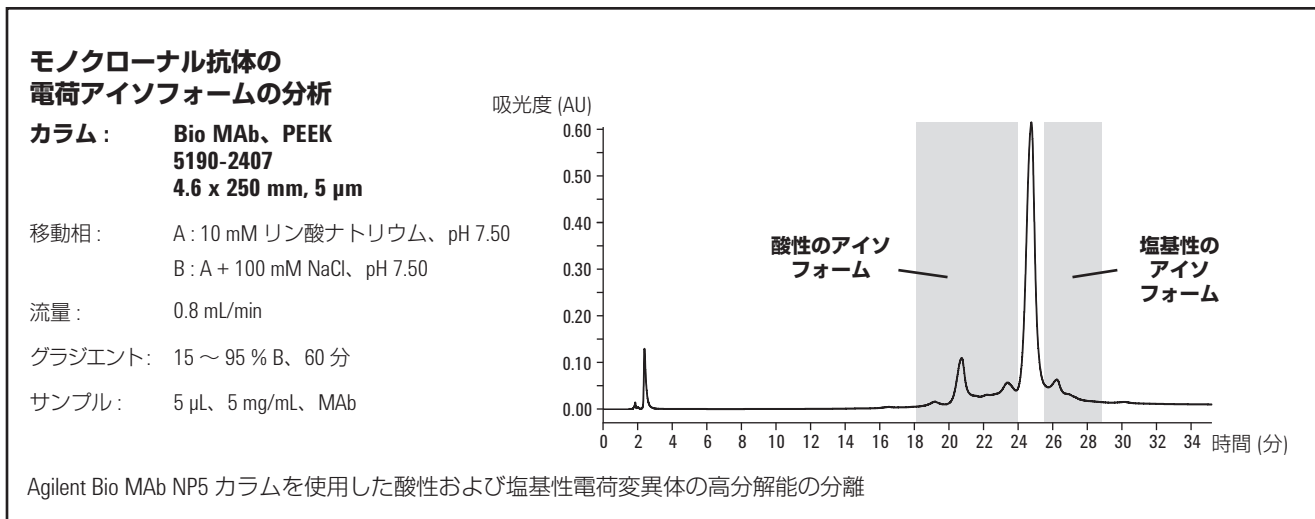
グラジエント: 0-100 % B, 42 分

カラム温度: 25 °C

検出器: UV 214 nm



樹脂製造、カラム表面の化学的特性、カラム充填剤のすべてを適切に管理することで、カラム間やロット間でのリテンションタイムの変動を排除します。



Agilent Bio MAb HPLC カラム

寸法(mm)	粒子径 (μm)	Bio MAb PEEK	圧力限界	Bio MAb ステンレス	圧力限界
4.6 x 250	10	5190-2415	275 bar, 4000 psi	5190-2413	275 bar, 4000 psi
4.6 x 50, ガード	10	5190-2416	275 bar, 4000 psi		
4.6 x 250	5	5190-2407	400 bar, 5800 psi	5190-2405	400 bar, 5800 psi
4.6 x 50, ガード	5	5190-2408	400 bar, 5800 psi		
4.6 x 50	3			5190-2403	551 bar, 8000 psi
4.6 x 50	1.7			5190-2401	600 bar, 8700 psi
4.0 x 10, ガード	10			5190-2414	275 bar, 4000 psi
4.0 x 10, ガード	5			5190-2406	413 bar, 6000 psi
4.0 x 10, ガード	3			5190-2404	551 bar, 8000 psi
4.0 x 10, ガード	1.7			5190-2402	600 bar, 8700 psi
2.1 x 250	10	5190-2419	275 bar, 4000 psi		
2.1 x 50, ガード	10	5190-2420	275 bar, 4000 psi		
2.1 x 250	5	5190-2411	400 bar, 5800 psi		
2.1 x 50, ガード	5	5190-2412	400 bar, 5800 psi		



Agilent バイオHPLC イオン交換カラム

- 高架橋の硬質の非多孔質ポリスチレンジビニルベンゼン (PS/DVB) 粒子は親水性ポリマー層で覆われ、非特異的結合を排除
- 均一で細密に充填されたイオン交換官能基(結合点に複数のイオン交換基)が親水性層に化学結合され、高いキャパシティ
- 粒子、被膜、および交換基は高圧に対する耐性があり、より高い分解能で高速な分離が可能
- キャパシティを増やすために、1つの結合点に複数のイオン交換基を結合

Agilent バイオ HPLC イオン交換カラムには、非多孔質イオン交換ポリマー粒子が充填されており、ペプチド、オリゴヌクレオチド、およびタンパク質の高分解能、高回収率、高効率分離を実現するように設計されています。

バイオ HPLC イオン交換カラムでは、強カチオン交換 (SCX)、弱カチオン交換 (WCX)、強アニオン交換 (SAX)、弱アニオン交換 (WAX) の 4 種類のイオン交換基を用意しています。1.7 μm 、3 mm、5 μm 、および10 μm の非多孔質粒子径を提供しています。

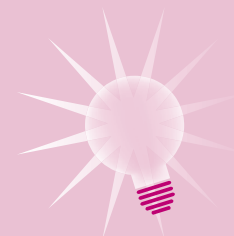
カラム仕様

結合相	ID	粒子径	pH 安定性	使用温度上限	流量
SCX (強カチオン交換) – SO_3H	2.1 および 4.6 mm	1.7、3、5、 および 10 μm	2-12	80 °C	0.1 ~ 1.0 mL/min
WCX (弱カチオン交換) – COOH					
SAX (強アニオン交換) – $\text{N}(\text{CH}_3)_3$					
WAX (弱カチオン交換) – $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$					

ヒントとテクニック

ホームページで各種資料をご覧いただけます。入門書、アプリケーションノート、メンテナンスガイドなど、さまざまな資料を用意しています。

詳細については、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。



卓越した分離能

カラム: Agilent Bio SCX、ステンレス
5190-2423
4.6 x 50 mm, 3 μm

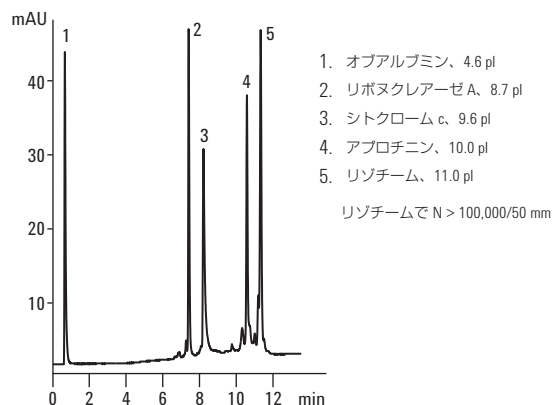
移動相: 10 mM リン酸、pH 6.0

流量: 0.5 mL/min

グラジエント: 0-1.0 M 塩化ナトリウム、15 分

検出器: 280 nm

親水性ポリマー層および密に充填されたイオン交換官能基により、広範な等電点 (pI) でタンパク質混合物の極めてシャープなピーク形状と高分解能が実現します。



カチオン交換クロマトグラフィーによる Agilent 3 μm イオン交換カラムを使用したタンパク質標準の分離

カラム A: Agilent Bio SCX、NP 3、4.6 x 50 mm、SS

カラム B: Agilent Bio WCX、NP 3、4.6 x 50 mm、SS

カラム C: Agilent Bio MAb、NP 3、4.6 x 50 mm、SS

移動相: A: 10 mM NaH₂PO₄·2H₂O、pH 5.70
B: A + 1 M NaCl

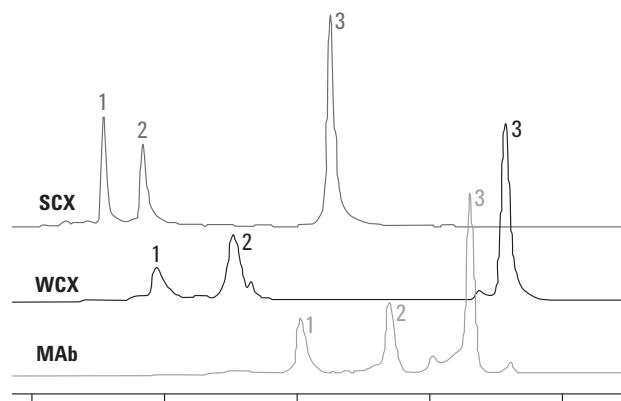
流量: 0.5 mL/min

グラジエント: 0分 - 100% A: 0% B
25分 - 0% A: 100% B

カラム温度: 室温

検出器: Agilent Infinity 1260 バイオイナート HPLC システム -
ダイオードアレイ検出器を使用 (220 nm)

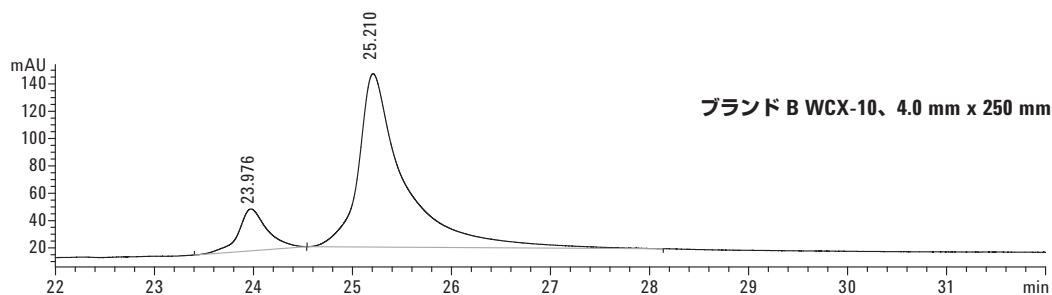
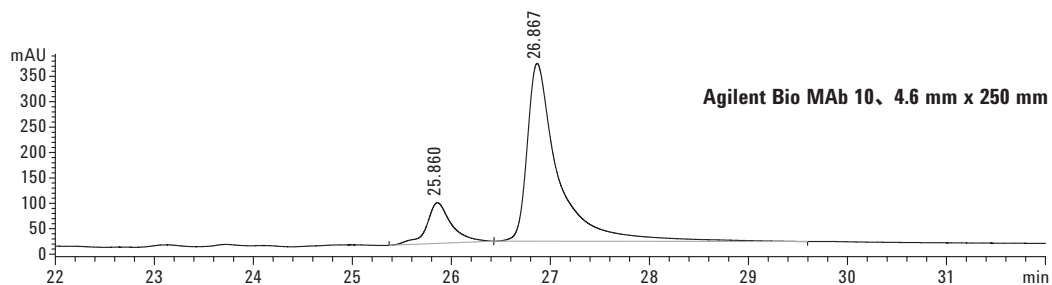
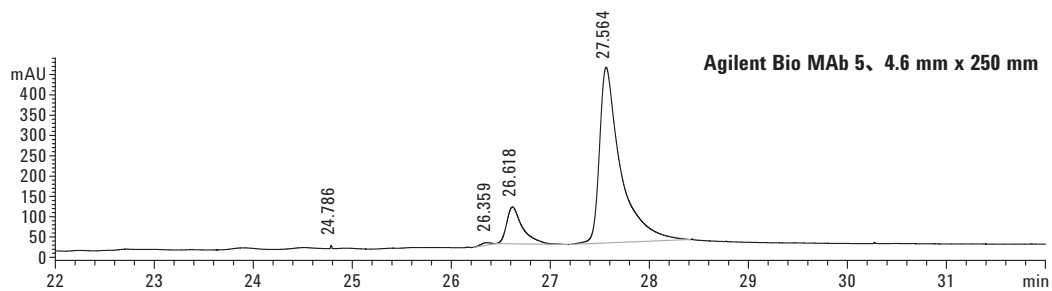
サンプル: シトクローム c、リボヌクレアーゼ A、リゾチーム、およびタンパク質混合物



Bio WCX、SCX、および MAb カラムのタンパク質の分離性能

Agilent カラム	ピーク番号	ピーク名	RT (分)	高さ (mAU)	面積 (mAU*s)	段数	幅 (分)	分解能
Bio WCX NP、3 μm	1	シトクローム c	7.86	124	1833	7844	0.2089	-
	2	RNase A	9.03	241	3358	10800	0.2044	3.32
	3	リゾチーム	13.13	636	7274	44488	0.1466	13.73
Bio SCX NP、3 μm	1	RNase A	7.06	396	2616	39847	0.0832	-
	2	シトクローム c	7.66	297	2778	28920	0.1060	1.08
	3	リゾチーム	10.49	763	7186	44828	0.1167	1.37
Bio MAb NP、3 μm	1	シトクローム c	10.04	203	2369	21814	0.1600	-
	2	RNase A	11.37	256	2690	33314	0.1467	3.11
	3	リゾチーム	12.59	652	6616	56734	0.1244	5.28

さまざまなカチオン交換カラムを使用した Agilent 1260 バイオイナートフォータナリ LC システムでの P128 治療用タンパク質サンプルの弱カチオン交換クロマトグラフィー



Agilent バイオ HPLC イオン交換カラム、PEEK

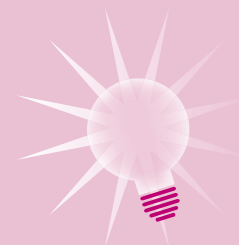
寸法 (mm)	粒子径 (μm)	圧力限界	Bio-SCX 部品番号	Bio WCX 部品番号	Bio SAX 部品番号	Bio WAX 部品番号
4.6 x 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2435	5190-2455	5190-2475	5190-2495
4.6 x 50、ガード	10	275 bar, 4000 psi	5190-2436	5190-2456	5190-2476	5190-2496
4.6 x 250	5	400 bar, 5800 psi	5190-2427	5190-2447	5190-2467	5190-2487
4.6 x 50、ガード	5	400 bar, 5800 psi	5190-2428	5190-2448	5190-2468	5190-2488
2.1 x 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2439	5190-2459	5190-2479	5190-2499
2.1 x 50、ガード	10	275 bar, 4000 psi	5190-2440	5190-2460	5190-2480	5190-2500
2.1 x 250	5	400 bar, 5800 psi	5190-2431	5190-2451	5190-2471	5190-2491
2.1 x 50、ガード	5	400 bar, 5800 psi	5190-2432	5190-2452	5190-2472	5190-2492

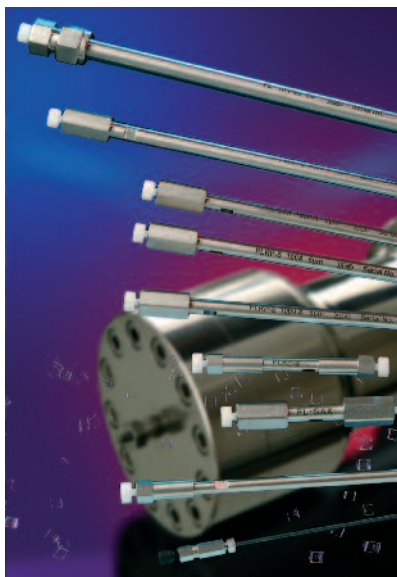
Agilent バイオ HPLC イオン交換カラム、ステンレス

寸法 (mm)	粒子径 (μm)	圧力限界	Bio-SCX 部品番号	Bio WCX 部品番号	Bio SAX 部品番号	Bio WAX 部品番号
4.6 x 250	10	275 bar, 4000 psi	5190-2433	5190-2453	5190-2473	5190-2493
4.6 x 250	5	413 bar, 6000 psi	5190-2425	5190-2445	5190-2465	5190-2485
4.6 x 50	3	551 bar, 8000 psi	5190-2423	5190-2443	5190-2463	5190-2483
4.6 x 50	1.7	600 bar, 8700 psi	5190-2421	5190-2441	5190-2461	5190-2481
4.0 x 10、ガード	10	275 bar, 4000 psi	5190-2434	5190-2454	5190-2474	5190-2494
4.0 x 10、ガード	5	413 bar, 6000 psi	5190-2426	5190-2446	5190-2466	5190-2486
4.0 x 10、ガード	3	551 bar, 8000 psi	5190-2424	5190-2444	5190-2464	5190-2484
4.0 x 10、ガード	1.7	275 bar, 4000 psi	5190-2422	5190-2442	5190-2462	5190-2482

ヒントとテクニック

クロマトグラフィーの技術向上に役立つ各種の e セミナーとオンサイトトレーニングを用意しています。 www.agilent.com/chem/education をご覧ください。





PL-SAX 強陰イオン交換 HPLC カラム

- 小さな粒子径で分離性能を向上
- 幅広い粒子径と2つのポアサイズにより分析から分取に容易にスケールアップ
- 高い安定性と長寿命

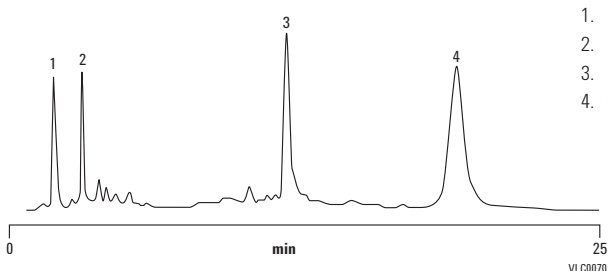
PL-SAX-N(CH₃)₃⁺ は、タンパク質やペプチド、変性条件下での脱保護合成オリゴヌクレオチドのアニオン交換 HPLC 分離に理想的なカラムです。化学的に安定した全多孔質ポリマーに強アニオン交換基が共有結合しているため、あらゆる pH において効果を発揮し、その保持容量は pH の影響を受けません。合成オリゴヌクレオチドを変性条件下で分離するには、変性させるための要素として温度、有機溶媒、高 pH など、あらゆる手法を採用できます。また PL-SAX は、凝集体やヘアピン構造を引き起こす自己相補的配列や G リッチ配列を持つオリゴの分離も改善します。粒子径 5 μ m のカラムは、n と n-1 のオリゴを分離できるほど高い性能を有しています。幅広い粒子径とカラムサイズを取り揃えており、分析から分取へのスケールアップも可能です。PL-SAX は、化学的安定性および熱安定性に優れ、水酸化ナトリウムでカラムを洗浄することによりカラム寿命を長く保つことができます。

カラムの仕様

結合相	ID	粒子径	ポアサイズ	pH 安定性	使用温度 上限
強アニオン交換	2.1、4.6、 7.5、25、 50、100	5、8、10、30	1000 Å および 4000 Å	1-14	80 °C

標準タンパク質の分離

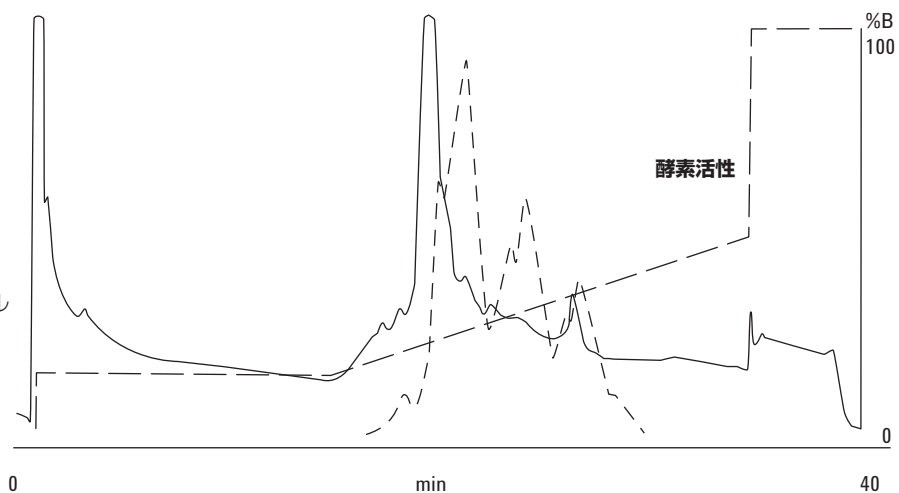
カラム: PL-SAX 1000Å
 PL1551-1502
 4.6 x 50 mm, 5 μm
移動相: A: 10 mM Tris HCl pH 8
 B: A + 0.35 M NaCl pH 8
グラジエント: 0-100 % B in 20 min
流量: 1.0 mL/min
検出器: UV、220 nm



1. ミオグロビン
2. ウシ炭酸脱水酵素
3. オブアルブミン
4. 大豆トリプシンインヒビター

PL-SAX 4000Å を使用した コリンキナーゼの分析

カラム: PL-SAX
 PL1551-1803
 4.6 x 50 mm, 8 μm
移動相: A: 20 mM トリス 5 %
 エチレングリコール、pH 7.5
 (以下は酵素活性を維持する
 ために必要)
 1.0 mM エチレングリコール
 四酢酸
 2.0 mM β-メルカプトエタノール
 0.2 mM フッ化フェニルメチル
 スルホニル
 B: A + 1 M KCl
流量: 3.0 mL/min
検出器: UV、280 nm



分離データ提供: T Porter, Purdue University, USA

代表的な乳清タンパク質の分析

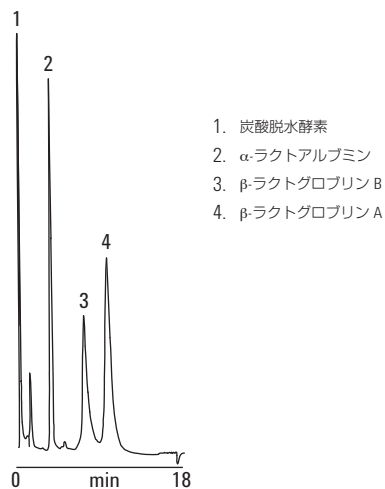
カラム: PL-SAX 1000Å
 PL1551-1802
 4.6 x 50 mm, 8 μm

移動相: A: 0.02 M トリス塩酸、pH 7
 B: A + 0.5 M CH₃COONa、pH 7

流量: 1.0 mL/min

グラジエント: 10 ~ 50 % B (10 分)

検出器: UV、280 nm



ポリ-T-オリゴヌクレオチドの高度な分離
 (10 mer、15 mer、30 mer、50 mer は
 標準をスパイク)

カラム: PL-SAX 1000Å
 PL1551-1802
 4.6 x 50 mm, 8 μm

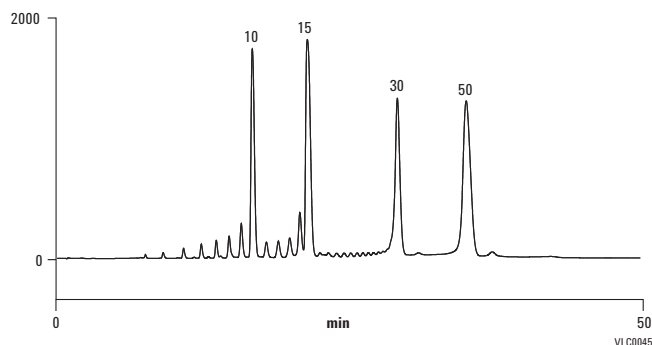
移動相: A: 7:93 v/v アセトニトリル: 0.1 M TEAA、pH 8.5
 B: 7:93 v/v アセトニトリル: 0.1 M TEAA、
 1 M 塩化アンモニウム、pH 8.5

グラジエント: 10 分で 0 ~ 40% B、次に 14 分で 40 ~ 70% B、
 25 分で 70 ~ 100% B

流量: 1.5 mL/min

カラム温度: 60 °C

検出器: UV、220 nm



PL-SAX 強陰イオン交換 HPLC カラム

寸法(mm)	粒子径 (μm)	圧力限界	PL-SAX 1000 Å	PL-SAX 4000 Å
1.0 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1351-1502	PL1351-1503
2.1 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1951-1502	PL1951-1503
4.6 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1551-1502	PL1551-1503
2.1 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1951-1802	PL1951-1803
2.1 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1951-3802	PL1951-3803
4.6 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1551-1802	PL1551-1803
4.6 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1551-3802	PL1551-3803
4.6 x 250	10	207 bar, 3000 psi	PL1551-5102	PL1551-5103
4.6 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1551-3102	PL1551-3103
25 x 50	10	207 bar, 3000 psi	PL1251-1102	PL1251-1103
25 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1251-3102	PL1251-3103
50 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1751-3102	PL1751-3103
100 x 300	10	207 bar, 3000 psi	PL1851-2102	PL1851-2103
4.6 x 250	30	207 bar, 3000 psi	PL1551-5702	PL1551-5703
4.6 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1551-3702	PL1551-3703
25 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1251-3702	PL1251-3703
50 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1751-3702	PL1751-3703
100 x 300	30	207 bar, 3000 psi	PL1851-3102	PL1851-3103

PL-SAX 強陰イオン交換充填剤バルク

サイズ	粒子径 (μm)	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
100 g	10	PL1451-4102	PL1451-4103
1 kg	10	PL1451-6102	PL1451-6103
100 g	30	PL1451-4702	PL1451-4703
1 kg	30	PL1451-6702	PL1451-6703



PL-SCX 強陽イオン交換カラム

- 生体高分子の分離に最適なカラム
- 目的の化合物に応じてポアサイズを選択可能
- 高い安定性と長寿命

PL-SCX $-SO_3^-$ は、マクロポーラス型のスチレンジビニルベンゼンポリマーに親水性コーティングと陽イオン交換基を化学結合させた、ポリマー系の陽イオン交換 HPLC カラムです。小さなペプチドから大きなタンパク質までを効率よく分離精製するために、イオン交換基の官能基密度を適切にコントロールしています。目的の化合物に応じて、1000 Å と 4000 Å の 2 つのポアサイズを選択できます。また、粒子径 5 μ m は高分離用、粒子径 30 μ m は中圧 LC 用として使用します。

カラム仕様

結合相	ID	粒子径	ポアサイズ	pH 安定性	使用温度 上限
強カチオン交換	2.1、4.6、 7.5、25、 50、100	5、8、10、30	1000 Å および 4000 Å	1-14	80 °C

標準タンパク質の分離

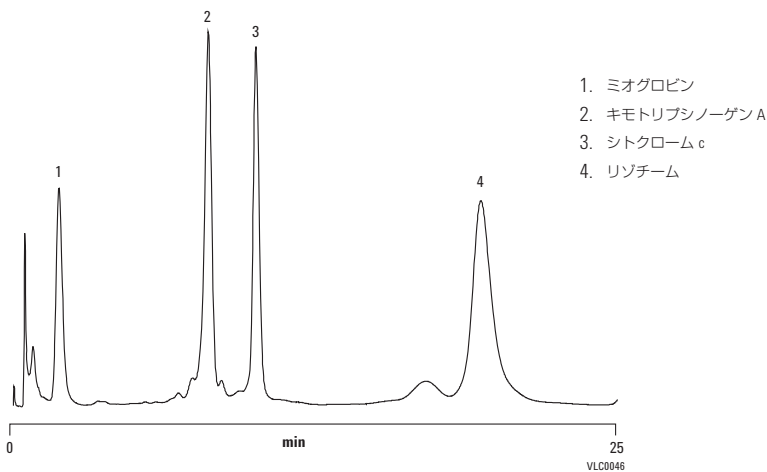
カラム: **PL-SCX 1000Å**
PL1545-1502
4.6 x 50 mm, 5 μ m

移動相: A: 20 mM リン酸二水素一
カリウム水溶液、pH 6.0
B: A + 1M 塩化ナトリウム

グラジエント: 20 分で 0 ~ 100 % B

流量: 1.0 mL/min

検出器: UV、280 nm



ヒントとテクニック

分取・プロセス用の PL-SAX および PL-SCX カラムや充填剤バルクも用意しています。127 ページをご覧ください。



PL-SCX 強陽イオン交換カラム

寸法 (mm)	粒子径 (μm)	圧力限界	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
1.0 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1345-1502	PL1345-1503
2.1 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1945-1502	PL1945-1503
4.6 x 50	5	207 bar, 3000 psi	PL1545-1502	PL1545-1503
2.1 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1945-1802	PL1945-1803
2.1 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1945-3802	PL1945-3803
4.6 x 50	8	207 bar, 3000 psi	PL1545-1802	PL1545-1803
4.6 x 150	8	207 bar, 3000 psi	PL1545-3802	PL1545-3803
4.6 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1545-3102	PL1545-3103
4.6 x 250	10	207 bar, 3000 psi	PL1545-5102	PL1545-5103
25 x 50	10	207 bar, 3000 psi	PL1245-1103	PL1245-1103
25 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1245-3103	PL1245-3103
50 x 150	10	207 bar, 3000 psi	PL1745-3103	PL1745-3103
100 x 300	10	207 bar, 3000 psi	PL1845-2103	PL1845-2103
4.6 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1545-3702	PL1545-3703
4.6 x 250	30	207 bar, 3000 psi	PL1545-5703	PL1545-5703
25 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1245-3702	PL1245-3703
50 x 150	30	207 bar, 3000 psi	PL1745-3703	PL1745-3703
100 x 300	30	207 bar, 3000 psi	PL1845-3102	PL1845-3103

PL-SCX 強陽イオン交換充填剤バルク

サイズ	粒子径 (μm)	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
100 g	10	PL1445-4102	PL1445-4102
1 kg	10	PL1445-6102	PL1445-6103
100 g	30	PL1445-4702	PL1445-4703
1 kg	30	PL1445-6702	PL1445-6703



Agilent バイオモノリスイオン交換 HPLC カラム

- 大型生体分子分離用に設計されたポリマーベースのモノリス HPLC カラム
- 流速に依存しない分離を実現。拡散、ポア、およびボイドボリュームがないため、移動相と固定相間的高速移動が可能
- モノリスディスクは 5.2 mm x 4.95 mm (カラム容量 100 μ L) で、拡散による物質移動を排除
- 超高速分離によってメソッド開発時間とコストを削減し、メソッドパラメータを固定することで分析時間と緩衝液を大幅に削減可能

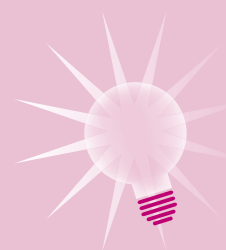
Agilent バイオモノリスイオン交換 HPLC カラムは、抗体 (IgG、IgM)、プラスミド DNA、ウィルス、ファージ、その他のマクロ生体分子の高速高分解能の分離を実現します。強カチオン交換、強アニオン交換、弱アニオン交換、プロテイン A の各相が用意されています。バイオモノリス HPLC カラムは、Agilent 1100 および 1200 HPLC システムを含む HPLC システムに適合します。

Agilent バイオモノリス HPLC カラム選択ガイド

カラム	説明	主要アプリケーション	部品番号
バイオモノリス QA	第 4 級アミン結合相 (強アニオン交換) は使用 pH 範囲 2 ~ 13 で完全に荷電し、負電荷により生体分子と結合します。	<ul style="list-style-type: none"> • アデノウィルスのプロセスモニタリングと品質管理 • IgM 精製のモニタリングと品質管理 • DNA 不純物除去のモニタリング • エンドトキシン除去のモニタリング • HSA 純度分析 	5069-3635
バイオモノリス DEAE	ジエチルアミノエチル結合相 (弱アニオン交換) は、使用 pH 範囲 3 ~ 9 で負電荷を帯びるため、生体分子の選択性を拡大します。	<ul style="list-style-type: none"> • バクテリオファージ精製のプロセスモニタリングと品質管理 • プラスミド DNA 精製のプロセスモニタリングと品質管理 	5069-3636
バイオモノリス SO ₃	スルホンル結合相 (強カチオン交換) は使用 pH 範囲 2 ~ 13 で完全に荷電し、正電荷により生体分子と結合します。	<ul style="list-style-type: none"> • タンパク質や抗体などの大型生体分子の高速高分離 • ヘモグロビン A1c の高速分析 	5069-3637

ヒントとテクニック

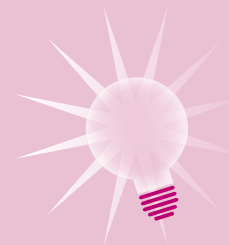
アジレントのメソッド変換ツールを使用することで、さまざまな粒子径やカラム寸法に合わせてメソッドを容易に移管することができます。www.agilent.com/chem/lcmethodtranslator で、短縮される時間や溶媒使用量の減少を計算することができます。



カラム仕様	
寸法	5.2 mm x 4.95 mm
カラム容量	100 μ L
最大圧力	150 bar (15 MPa、2200 psi)
最低/最高使用温度	使用範囲: 4 ~ 40 °C 保管: 4 ~ 30 °C
推奨 pH	使用範囲: 2-13 洗浄: 1-14
使用材質	ハードウェア: ステンレス製 パッキング材: ポリ (グリシジル メタクリレート-co-エチレン ジメタクリレート) 多孔モノリス
カラー識別リング	バイオモノリス QA: 青 バイオモノリス DEAE: 緑 バイオモノリス SO ₃ : 赤
保管期限/使用期限	SO ₃ 、QA、DEAE: 24 ~ 36 ヶ月

ヒントとテクニック

アジレントバイオモノリスプロテイン A アフィニティ
カラムについては、89 ページを参照してください。



タンパク質標準の分離例の ベースライン拡大図

カラム: Agilent バイオモノリス CM15、
5.5 x 15 mm

移動相: A: 10 mM Na₂HPO₄、pH 6.0
B: A + 0.5 M NaCl または 0.5 M Na₂HPO₄、
pH 6.0 のみ

流量: 2 mL/min

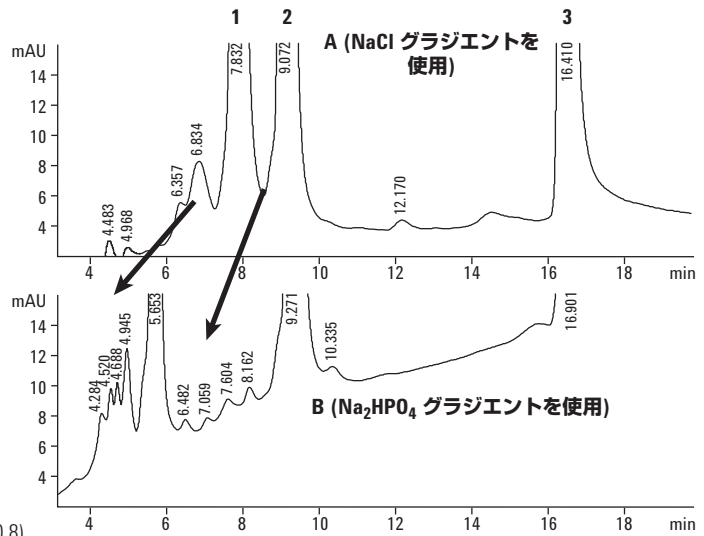
グラジエント: 移動相 A で 0.5 分間保持、次に 15 分間で
45% B までのリニアグラジエント (経過時間
15.5 分)。次に 15.6 分で 60% B。
20 分まで継続。

100% B でカラムを 15 分間フラッシュした
後、次の分析のために再平衡化。pH グラジ
エント: A: 5 mM Na₂HPO₄、緩衝液 (pH 5.5)
および B: 40 mM Na₂HPO₄ (緩衝液なし、pH
8.9)。15 分間で 1 mL/min で 2% B/min、次に
90% B で 5 分間カラム洗浄。

検出器: UV、220 nm

サンプル: 移動相 A にそれぞれ 1 mg/mL。
1. ウシ脾臓由来の RNase (pI 9.6)
2. ウシ心臓由来のシトクローム c (pI 10.37 ~ 10.8)
3. 鶏卵由来のリゾチーム (pI 11.35) (0.5 mg)

装置: ダイオードアレイ検出器を備えた Agilent 1200 SL



Bの方がタンパク質の夾雑物質を良好に分離します。

バイオモノリス DEAE カラムを使用した ファージ精製のモニタリング

カラム: DEAE
5069-3636
5.2 x 4.95 mm

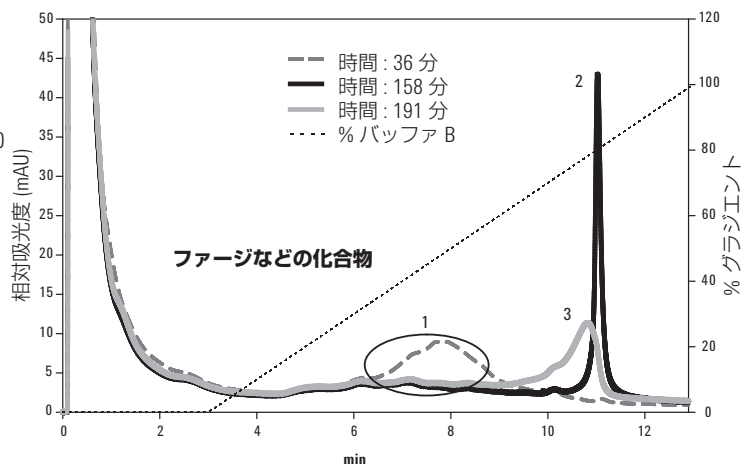
移動相: A: 125 mM リン酸緩衝液、pH 7.0
 B: 125 mM リン酸緩衝液 + 1 M NaCl、pH 7.0

流量: 1 mL/min

グラジエント: 100 % バッファ A (2.5 分)
 0 ~ 100 % バッファ B (10 分)
 100 % バッファ A (2 分)

検出器: UV、280 nm

装置: 高圧グラジエント HPLC システム、
 Agilent 1200 Infinity LC



ファージ増殖が進むにつれて、宿主細胞が溶解されているためにゲノム DNA (gDNA) 濃度は高くなります。発酵の最終段階で、gDNA は断片に分解し始めます。精製培地ではこれらの gDNA 断片を簡単に除去できないため、ゲノム DNA の分解前に発酵サイクルを停止させることが重要です。上記は、36 分、158 分、191 分にバイオリアクターから採取した 3 種類のサンプルのクロマトグラムです。ピーク 1 はファージ、培地、宿主細胞、ピーク 2 はインタクト gDNA、ピーク 3 は断片化された gDNA を表します。





サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

生体分子の凝集、断片化、化学的ライゲーション/ 修飾を正確に確認

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) は、水系溶離液を使用し、サイズによってタンパク質、オリゴヌクレオチド、その他の複雑なバイオポリマーを分離するための技術です。

凝集分析への SEC の適用

タンパク質バイオ医薬品での凝集のサイズ、種類、内容は、効能と処方の両方に影響を与えたり、さらには免疫反応を誘発したりすることもあります。凝集は、ジスルフィド結合の形成や非共有結合など、さまざまなメカニズムによって発生します。

二量体など、タンパク質の凝集のサイズはタンパク質単量体とは大きく異なるため、SEC を使用してさまざまな形態を分離することができます。実際に、UV または光分散を使用した SEC は、タンパク質の凝集を定量するための標準的な技術です。

定量および分子量測定に対する SEC の適用

中程度の分子量を持つタンパク質やその他の分子では、SEC を使用して単量体、二量体、凝集、断片などを検出し、定量することができます。SEC はオリゴヌクレオチド混合物も分離できます。

デンプンやその他の多糖のようにさまざまなサイズを持つバイオポリマーでは、SEC は分子量分布とブランチング (適切な検出器を使用) に関するデータを提供します。

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

SEC カラムおよび機器のトップメーカーとして 30 年を超える実績を持つアジレントは、より高い分解能と高速の分離を提供する新しい SEC 製品を絶え間なく開発してきました。この項では、タンパク質バイオポリマー分析のためのアジレントの SEC カラムファミリーについて説明します。

- **バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-3 カラムおよびバイオ HPLC ゲルろ過 SEC-5 カラム**にはさまざまなポアサイズがあり、特に治療用生体制剤での二量体や凝集の存在の確認など、タンパク質分析に最適です。バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-3 カラムが、業界標準の 5 μm Bio SEC-5 カラムよりも高い分解能を提供する点に注意してください。
- **ProSec 300S カラム**は、高塩濃度条件下での球状タンパク質の分析に適しています。
- **ZORBAX GF-250 および GF-450 カラム**は、カラムサイズが大きく、流量が大きいため、タンパク質の分取 SEC に最適です。
- **PL aquagel-OH カラム**は、PEG、オリゴ糖、多糖、デンプン、ゴムなど、幅広い分子量のバイオポリマーの分析に使用することができます。

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)		
アプリケーション	Agilent カラム	説明
ペプチド、タンパク質	Agilent Bio SEC-3	100 Å、150 Å、300 Åのポアサイズによる 3 μm 粒子からの高速高分離分析。
いくつかの分子量を持つ成分が含まれる生体高分子およびサンプル	Agilent Bio SEC-5	幅広い分析に対応する多くのポアサイズオプション (100 Å、150 Å、300 Å、500 Å、1000 Å、2000 Å)。
球状タンパク質、抗体	ProSEC 300S	高塩濃度条件下でのタンパク質分析のためのシングルカラムオプション。
タンパク質、球状タンパク質	ZORBAX GF-250/450	SEC セミ分取および分取に対応する大きい流量機能と大きいカラムサイズ
低分子量ポリマーおよびオリゴマー、オリゴ糖、PEG、リグニンスルホン酸	2 または 3 PL aquagel-OH <ul style="list-style-type: none"> • PL aquagel-OH 8 μm • PL aquagel-OH 20 5 μm • PL aquagel-OH MIXED-M 8 μm 	PL aquagel-OH 分析シリーズは、2 ~ 10 の pH 範囲、有機溶媒との互換性 (最大 50 % のメタノール)、最大 140 bar (2030 psi) の機械的安定性を持ち、カラム動作圧は低めです。
多分散バイオポリマー、多糖、セルロース誘導体	2 または 3 PL aquagel-OH <ul style="list-style-type: none"> • PL aquagel-OH MIXED-H 8 μm • PL aquagel-OH 60/50/40 8 μm 	
超高分子量ポリマー、ヒアルロン酸、デンプン、ゴム	PL aquagel-OH 60/50/40 15 μm シリーズ	



Agilent バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-3 カラム

- 分子量ベースの生体分子分離に対する卓越した保持容量、安定性、再現性
- よりシャープなピーク、高い分解能、および優れたタンパク質回収率
- 粒子の大きい SEC カラムよりも高速な分離
- ほとんどの水系緩衝液を使用可能
- 高濃度および低濃度緩衝液での優れた安定性

Agilent バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-3 カラムは、ユニークなテクノロジーで製造されたサイズ排除クロマトグラフィー(SEC) カラムです。このカラムには、独自の親水性層で被膜された球状の狭分散性 3 μm シリカ粒子が充填されています。この薄いポリマー層は、厳しく管理された条件下で、高純度で機械的に安定したシリカ粒子に化学的に結合されており、効率の高いサイズ排除充填剤となっています。

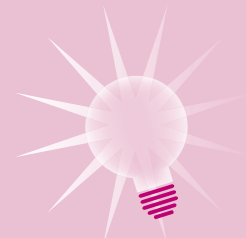
Agilent バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-3 カラムは、ほとんどのペプチドとタンパク質サイズ排除分離に対応するために、100 Å、150 Å、300 Å のポアサイズを提供しています。

カラム仕様

ポアサイズ	粒子径	MW 範囲	pH 範囲	最大圧力	流量
100 Å	3 μm	100-100,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)
150 Å	3 μm	500-150,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)
300 Å	3 μm	5,000-1,250,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)

ヒントとテクニック

不活性処理/シラン処理済みバイアルは、金属、生物学的製剤、タンパク質との相互作用がなく、サンプルの pH をシフトさせません。生体化合物や光に敏感な化合物には標準のポリプロピレンバイアルを使用しないでください。



サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

検量線 - Bio SEC-3

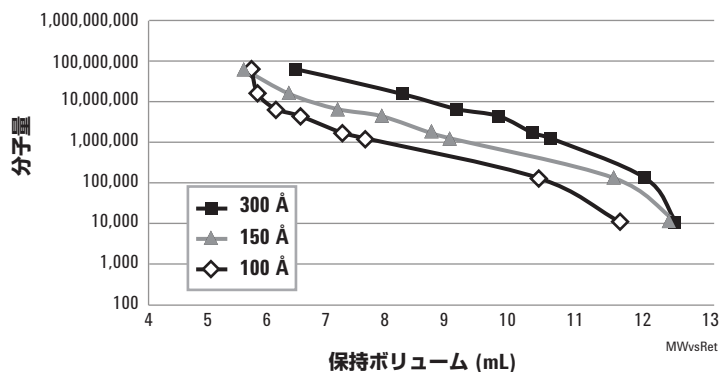
カラム: Bio SEC-3
7.8 x 300 mm, 3 μm

移動相: 150 mM リン酸ナトリウム、pH 7.0

流量: 1.0 mL/min

検出器: UV

タンパク質	MWt	300 Å	150 Å	100 Å
サイログロブリン	670000	6.34	5.50	5.63
ガンマグロブリン	158000	8.03	6.24	5.74
BSA	67000	8.90	7.00	6.03
オブアルブミン	45000	9.57	7.70	6.41
ミオグロビン	17000	10.12	8.50	7.10
リボヌクレアーゼ A	12700	10.40	8.80	7.46
ビタミン B-12	1350	11.90	11.40	10.20



MAb 単量体と二量体の分離

カラム: Bio SEC-3、300 Å
5190-2511
7.8 x 300 mm, 3 μm

移動相: 150 mM リン酸緩衝液、pH 7.0

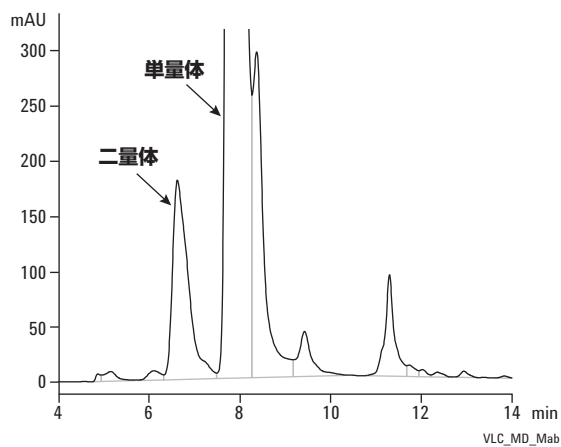
流量: 1.0 mL/min

サンプル: CHO-ヒト化 MAb、5 mg/mL - インタクト

注入: 5 μL

検出器: UV 220 nm

カラム温度: 室温



モノクローナル抗体の分析における
Agilent Bio SEC-3 と他社カラムとの比較

カラム: Bio SEC-3、300 Å
5190-2511
7.8 x 300 mm, 3 μm

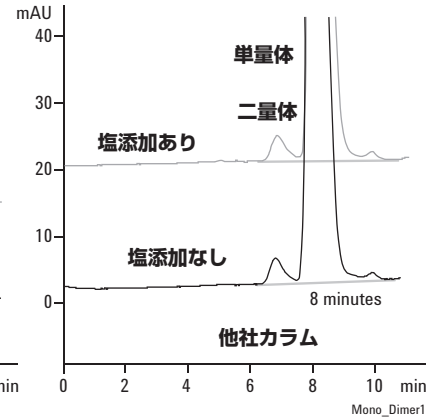
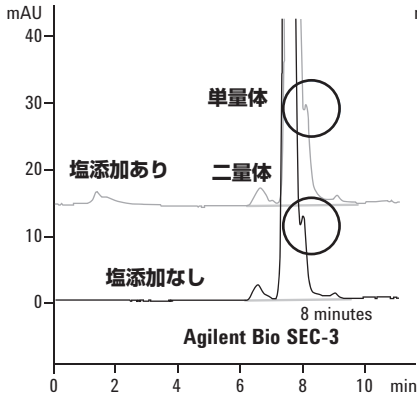
カラム: 他社製カラム 7.8 x 300 mm

移動相: 150 mM リン酸ナトリウム +
100 mM 硫酸ナトリウム
(塩添加あり)
150 mM リン酸ナトリウム
(塩添加なし)

流量: 1.0 mL/min

検出器: UV、220 nm

サンプル: MAb (2 mg/mL)



Agilent Bio SEC-3 カラムと他社カラムを使用した
モノクローナル抗体の単量体および二量体の分析

溶離液	カラム	分離比 (単量体 : 二量体)	単量体の効率	二量体の割合
塩添加あり	アジレント	2.04	7,518	0.59
塩添加あり	他社製品	1.88	3,967	0.59
塩添加なし	アジレント	2.08	7,942	0.60
塩添加なし	他社製品	1.92	4,164	0.57

ポアサイズを選択

充填剤のポアサイズを選択は SEC の分解能に影響を与えます。溶液での分子サイズの違いに基づいて分離が行われるため、サンプルは粒子の多孔質構造に浸透できなければなりません。ポアサイズが小さすぎる場合は、サンプルはポアから除去され、カラムのボイドボリュームで溶出します。ポアサイズが大きすぎる場合は、粒子に完全に浸透し、ほとんど分離されません。

ポアサイズを選択：タンパク質

カラム A: Bio SEC-3、100 Å
5190-2503
4.6 x 300 mm, 3 μm

カラム B: Bio SEC-3、150 Å
5190-2508
4.6 x 300 mm, 3 μm

カラム C: Bio SEC-3、300 Å
5190-2513
4.6 x 300 mm, 3 μm

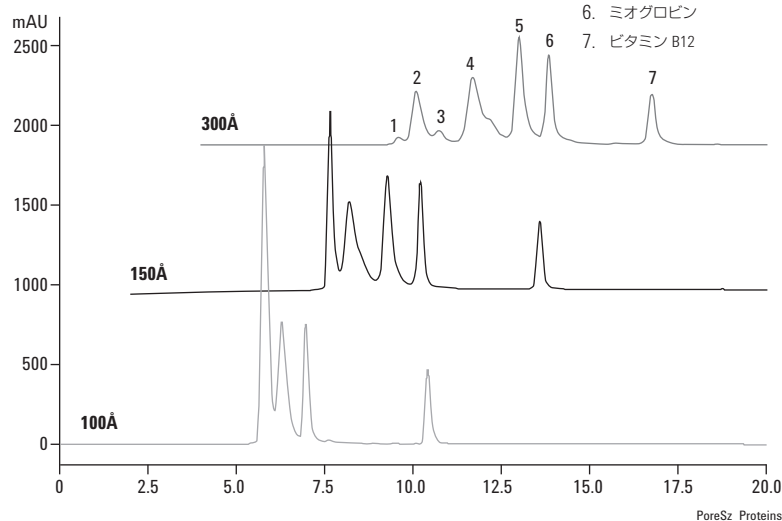
移動相: 50 mM Na₂HPO₄、50 mM NaH₂PO₄
+ 0.15 M NaCl, pH 6.8

流量: 0.35 mL/min

検出器: UV、220 nm

サンプル: BioRad ゲルろ過標準混合物

1. サイログロブリンの凝集体
2. サイログロブリン
3. IgA
4. γ-グロブリン
5. オブアルブミン
6. ミオグロビン
7. ビタミン B12



ポアサイズを選択：マウス IgG

カラム A: Bio SEC-3、100 Å
5190-2503
4.6 x 300 mm, 3 μm

カラム B: Bio SEC-3、150 Å
5190-2508
4.6 x 300 mm, 3 μm

カラム C: Bio SEC-3、300 Å
5190-2513
4.6 x 300 mm, 3 μm

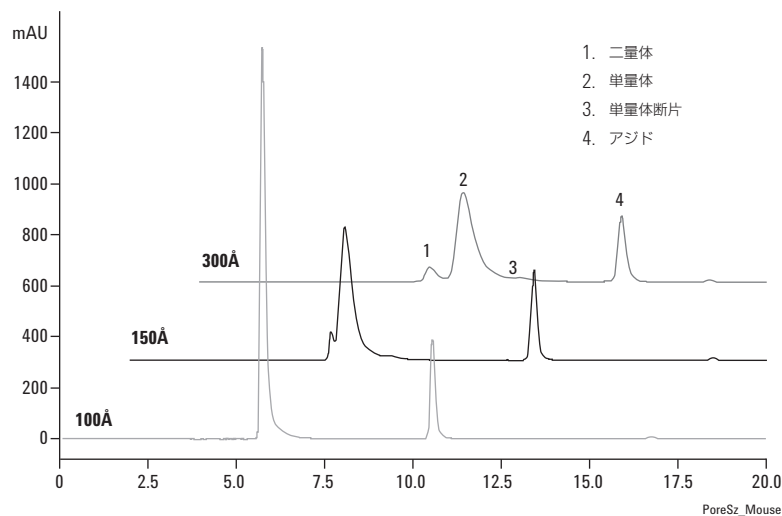
移動相: 50 mM Na₂HPO₄、50 mM NaH₂PO₄
+ 0.15 M NaCl, pH 6.8

流量: 0.35 mL/min

検出器: UV、220 nm

サンプル: マウス IgG

1. 二量体
2. 単量体
3. 単量体断片
4. アジド



カラム長

分離時間が重要なパラメータである場合は、高効率の 3 μm 充填剤を充填した短いカラムを使用します。短いカラムで大きい流量を使用すると分析時間が短縮されますが、この場合でもデータ品質が低下することはありません (モノクローナル抗体の単量体と二量体の定量)。

Agilent Bio SEC-3 カラムの長さの比較、150 mm

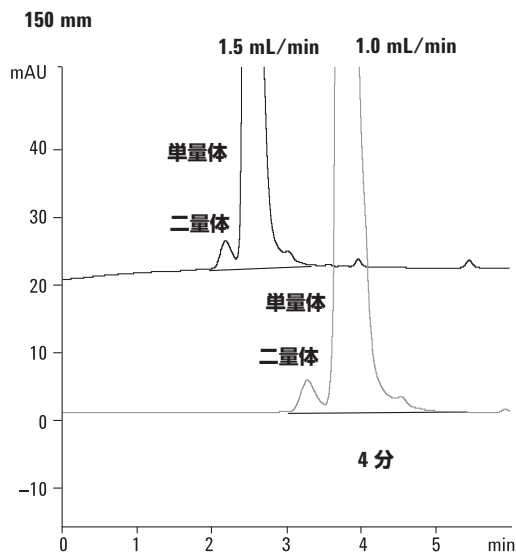
カラム: Bio SEC-3、300 Å
5190-2512
7.8 x 150 mm, 3 μm

移動相: 150 mM リン酸ナトリウム

流量: 1.0 mL/min (56 bar)、1.5 mL/min (75 bar)

検出器: UV、220 nm

サンプル: MAb (2 mg/mL)



Agilent Bio SEC-3 カラムの長さの比較、300 mm

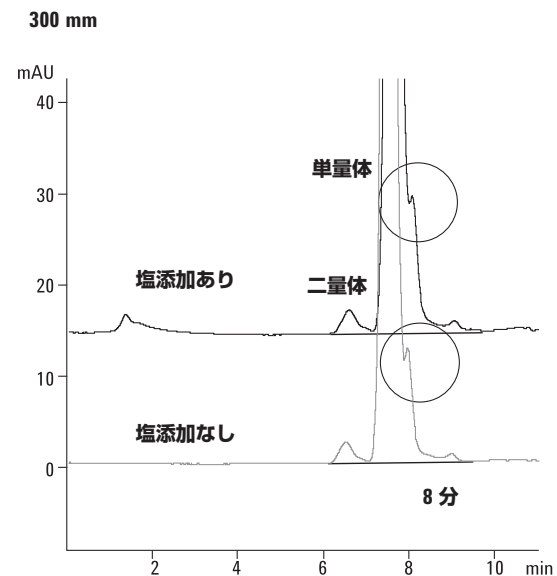
カラム: Bio SEC-3、300 Å
5190-2511
7.8 x 300 mm, 3 μm

移動相: 150 mM リン酸ナトリウム + 100 mM 硫酸ナトリウム (塩添加あり)
150 mM リン酸ナトリウム (塩添加なし)

流量: 1.0 mL/min

検出器: 220 nm

サンプル: MAb (2 mg/mL)



サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

Agilent バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-3 カラム

寸法 (mm)	粒子径 (μm)	Bio SEC-3 100 Å USP L33	Bio SEC-3 150 Å USP L33	Bio SEC-3 300 Å USP L33
7.8 x 300	3	5190-2501	5190-2506	5190-2511
7.8 x 150	3	5190-2502	5190-2507	5190-2512
4.6 x 300	3	5190-2503	5190-2508	5190-2513
4.6 x 150	3	5190-2504	5190-2509	5190-2514
7.8 x 50, ガード	3	5190-2505	5190-2510	5190-2515





Agilent バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-5 カラム

- 広範囲の分子量ベース生体分子分離に対する最大の回収率
- 卓越した再現性とカラム寿命
- 高塩および低塩条件やその他の過酷な緩衝液条件下でも優れた安定性
- ほとんどの水系緩衝液を使用可能

Agilent バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-5 カラムには、効率と安定性を高めるために、独自の中性親水性層で被膜された5 μm シリカ粒子が充填されています。特別に設計された充填剤は、ポア容積を高め、ピークキャパシティと分解能の両方を向上させます。

100 Å、150 Å、300 Å、500 Å、1000 Å および2000 Å ポアサイズ、幅広い排除上限から選択可能

カラム仕様					
ポアサイズ	粒子径	MW 範囲	pH 範囲	最大圧力	流量
100 Å	5 μm	100-100,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)
150 Å	5 μm	500-150,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)
300 Å	5 μm	5,000-1,250,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)
500 Å	5 μm	15,000-5,000,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)
1000 Å	5 μm	50,000-7,500,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)
2000 Å	5 μm	>10,000,000	2-8.5	240 bar、3500 psi	0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm)
					0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm)

バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-3 カラムとバイオ HPLC ゲルろ過 SEC-5 カラムの比較

モノクローナル抗体の分析

カラム: Bio SEC-3、300 Å
5190-2511
7.8 x 300 mm, 3 μm

カラム: Bio SEC-5、300 Å
5190-2526
7.8 x 300 mm, 5 μm

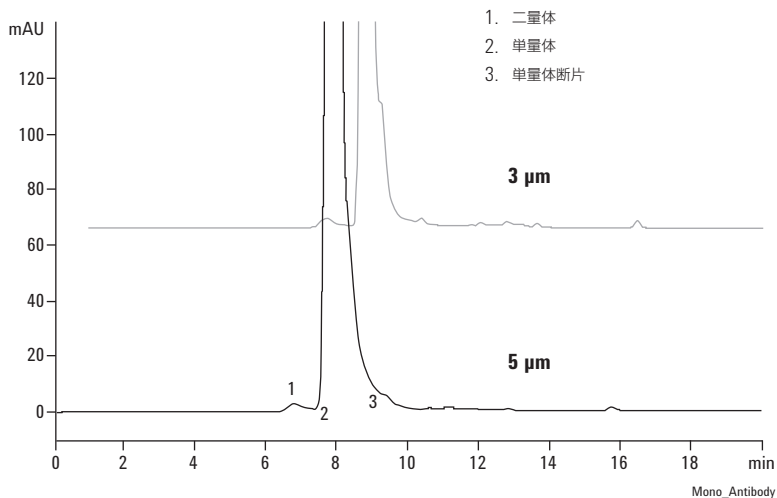
移動相: 150 mM リン酸ナトリウム、pH 7

流量: 1 mL/min

検出器: UV、220 nm

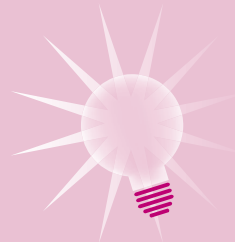
サンプル: ヒトモノクローナル抗体

3 μm カラムの方が高い解像度の断片パターンが得られます。



ヒントとテクニック

アジレントは、LC および MS 機器向けに機器部品や消耗品を幅広く取り揃えています。詳細については、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。



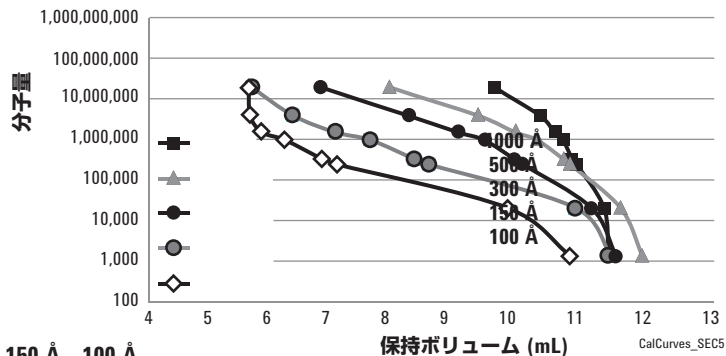
検量線 - Bio SEC-5

カラム: Bio SEC-5
7.8 x 300 mm, 5 μm

移動相: 150 mM リン酸ナトリウム, pH 7.0

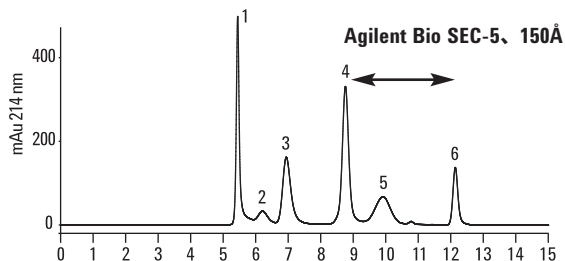
流量: 1.0 mL/min

検出器: UV, 214 nm

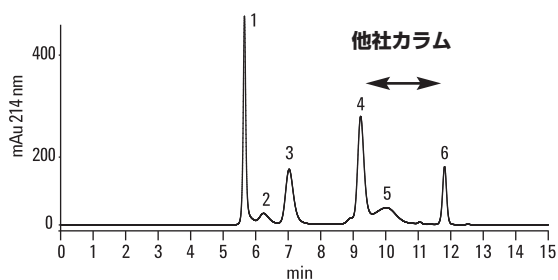


タンパク質	MW	1000 Å	500 Å	300 Å	150 Å	100 Å
サイログロブリン	670000	10.07	8.23	7.03	5.82	5.77
ガンマグロブリン	158000	10.88	9.80	8.57	6.55	5.79
BSA	67000	11.13	10.44	9.44	7.29	6.00
オブアルブミン	45000	11.28	10.83	9.89	7.90	6.40
ミオグロビン	17000	11.44	11.28	10.42	8.66	7.05
リボヌクレアーゼA	12700	11.52	11.41	10.58	8.93	7.32
ビタミン B-12	1350	12.00	12.59	11.78	11.49	10.30

比較



1. チログロブリン, 5.43分
2. BSA, 6.19分
3. BSA 単量体, 6.93分
4. リボヌクレアーゼA, 8.74分
5. ポリ-DL-アラニン (1 ~ 5 kDa), 9.90分
6. ウラシル, 12.13分



1. チログロブリン, 5.64分
2. BSA 二量体, 6.23分
3. BSA 単量体, 7.02分
4. リボヌクレアーゼA, 9.22分
5. ポリ-DL-アラニン (1 ~ 5 kDa), 10.02分
6. ウラシル, 11.81分

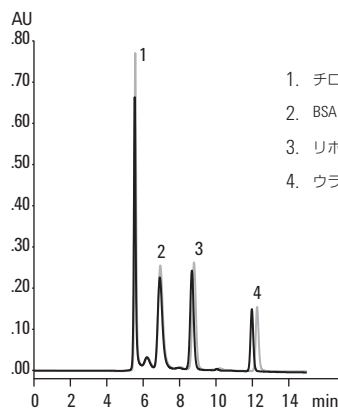
Agilent Bio SEC-5 HPLC カラムと他社カラムでのタンパク質混合物質の分離。Agilent Bio SEC-5 HPLC カラムのピークの方がシャープで分離能が優れていることに注目してください。

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

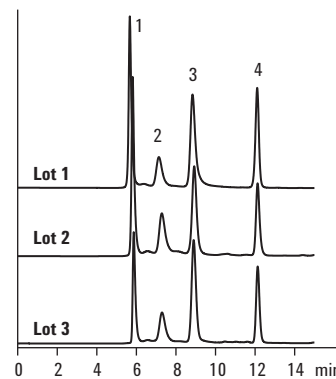
卓越した寿命とロット間再現性

カラム: Bio SEC-5、150 Å
5190-2521
7.8 x 300 mm, 5 μm

移動相: 150 mM リン酸緩衝液、
pH 7.0



1. チログロブリン
2. BSA
3. リボヌクレアーゼ A
4. ウラシル



4 種類のタンパク質の混合物は、300 回を超える注入と異なる3 ロットのカラムにおいて、優れた保持時間の再現性を示しています。

— 3 回目の分析
— 300 回の注入後

Agilent バイオ HPLC ゲルろ過 SEC-5 カラム

寸法 (mm)	粒子径 (μm)	Bio SEC-5	Bio SEC-5	Bio SEC-5	Bio SEC-5	Bio SEC-5	Bio SEC-5
		100 Å USP L33	150 Å USP L33	300 Å USP L33	500 Å USP L33	1000 Å USP L33	2000 Å USP L33
7.8 x 300	5	5190-2516	5190-2521	5190-2526	5190-2531	5190-2536	5190-2541
7.8 x 150	5	5190-2517	5190-2522	5190-2527	5190-2532	5190-2537	5190-2542
4.6 x 300	5	5190-2518	5190-2523	5190-2528	5190-2533	5190-2538	5190-2543
4.6 x 150	5	5190-2519	5190-2524	5190-2529	5190-2534	5190-2539	5190-2544
7.8 x 50、ガード	5	5190-2520	5190-2525	5190-2530	5190-2535	5190-2540	5190-2545



ProSEC 300S

- 使用時のブリードがない堅牢なシリカ粒子
- 直線性範囲が広がったシングルカラム
- マルチ検出器システムに使用できるカラムサイズ

Agilent ProSEC 300S カラムは、球状タンパク質分析用に特別に設計されたカラムです。ポアサイズを選択と最適化によって直線性の分離範囲が広がったため、幅広い球状タンパク質の分析に使用することができます。

粒子はきわめて堅牢で、使用中に断片化して溶出することはありません。この結果、非常に安定したベースラインが得られるため、このカラムは光散乱検出器での使用に理想的です。

マルチ検出器によるサイズ排除クロマトグラフィー用に、内径 7.5 mm と 4.6 mm の 2 つのカラムサイズが用意されています。少量分析向けにお選びいただけます。

ProSEC 300S カラムの仕様

結合相	ポア サイズ	粒子径	タンパク質の MW 範囲	pH 範囲	流量	最大 圧力
ProSEC 300S	300 Å	5 μm	1,500-800,000	2-7.5	<1.5 mL/min (内径 7.5 mm)	250 bar, 3700 psi
					<0.5 mL/min (内径 4.6 mm)	

ProSEC 300S

寸法 (mm)	粒子径 (μm)	部品番号
4.6 x 250	5	PL1547-5501
7.5 x 300	5	PL1147-6501
ガードカラム		
4.6 x 50	5	PL1547-1501
7.5 x 50	5	PL1147-1501

球状タンパク質を使用した ProSEC 300S カラムのキャリブレーション

移動相: 0.3 M の NaCl が含まれる 50 mM KH_2PO_4 - K_2HPO_4 (pH 6.8)

流量: 1.0 mL/min

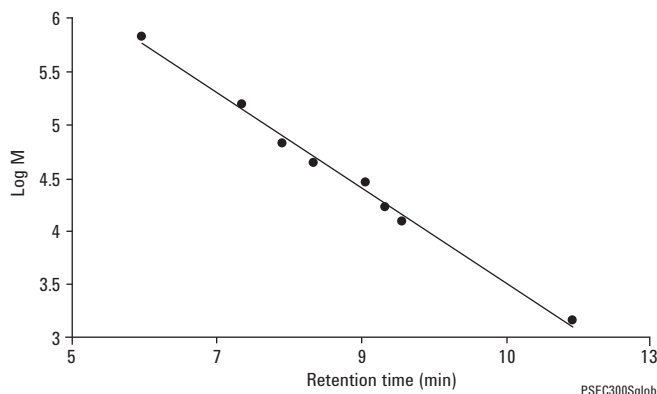
検出器: UV、280 nm

サンプル: タンパク質サンプル

タンパク質の分子量

Mw/ダルトン タンパク質

670,000	サイログロブリン
155,000	γ -グロブリン
66,430	ウシ血清アルブミン
44,287	オプアルブミン
29,000	炭酸脱水酵素
16,700	ミオグロブリン
12,384	シトクローム c
1,423	バシトラスイン



ProSEC 300S カラムを使用した光散乱によるウシ血清アルブミンの分析

カラム: ProSEC 300S
PL1147-6501
7.5 x 300 mm, 5 μm

移動相: 水 + 120 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM NaH_2PO_4

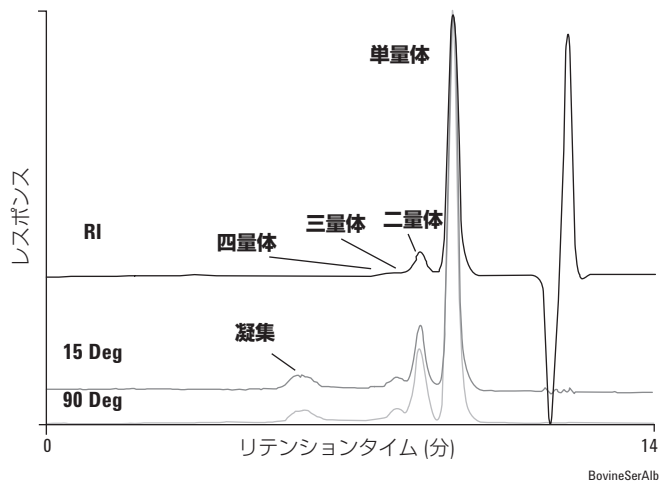
流量: 1.0 mL/min

検出器: 示差屈折率 + 15/90 二重角光散乱

サンプル: ウシ血清アルブミン

分子量

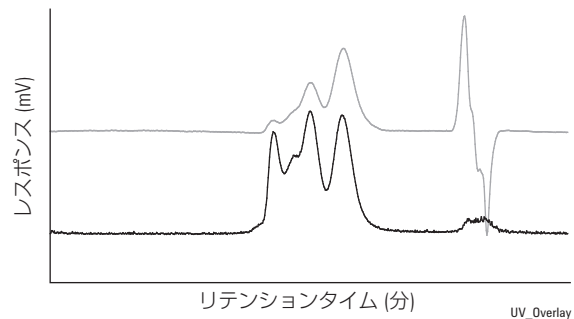
単量体	66,900 ダルトン、88.5 %
二量体	34,900 ダルトン (2.02 x 単量体の分子量)、9.8%
三量体	197,000 ダルトン (2.94 x 単量体の分子量)、1.2 %
四量体	279,300 ダルトン (5.17 x 単量体の分子量)、0.5%



示差屈折率と二重角光散乱サンプルの重ね表示。

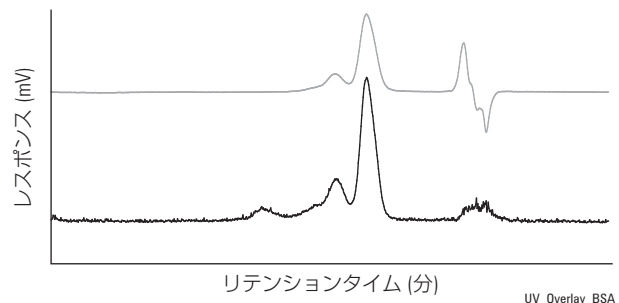
単量体、二量体、および三量体のピークを示す γ-グロブリンサンプルの UV および光散乱の 重ね表示

カラム: ProSEC 300S
 PL1147-6501
 7.5 x 300 mm, 5 μm
移動相: 0.3 M NaCl を含む 0.1 M KH₂PO₄, pH 8.0
流量: 1.0 mL/min
カラム温度: 5 °C
検出器: 310 nm における UV + PL-LS 15/90 °
サンプル: タンパク質



単量体、二量体、三量体、および凝集体の ピークを示す BSA サンプルの UV および 光散乱の重ね表示

カラム: ProSEC 300S
 PL1147-6501
 7.5 x 300 mm, 5 μm
移動相: 0.3 M NaCl を含む 0.1 M KH₂PO₄, pH 8.0
流量: 1.0 mL/min
カラム温度: 5 °C
検出器: 310 nm における UV + PL-LS 15/90 °
サンプル: タンパク質



ヒントとテクニック

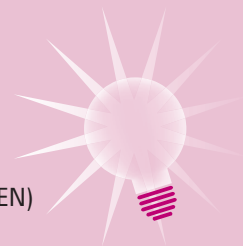
詳細については、次の資料を参照してください。

ProSEC 300S Protein Characterization Columns (5990-7468EN)

Analysis of Globulins using Agilent ProSEC 300S Columns (5990-7851EN)

Static Light Scattering Analysis of Globular Proteins with Agilent ProSEC 300S Columns (5990-7939EN)

www.agilent.com/chem/library





ZORBAX GF-250、GF-450 ゲルろ過カラム

- 短い分析時間で高い効率性、再現性
- セミ分取および分取に対応するカラムサイズ
- 有機修飾剤、変成剤に対応
- 広い pH 範囲 (pH 3 ~ 8) に使用可能

Agilent ZORBAX GF-250、GF-450 ゲルろ過カラムは、タンパク質やその他の生体分子のサイズ分離に最適です。GF-250 と GF-450 カラムをつなげて使用すれば、球状タンパク質の場合、分離範囲は 4,000 ~ 900,000 となります。GF-250/GF-450 ゲルろ過カラムは親水性ジオール結合相を使用することによって高いタンパク質回収率 (通常 > 90 %) を示し、独自のジルコニア修飾を施したシリカによって pH 3 ~ 8 と広い pH 範囲に対応しています。GF-250、GF-450 カラムには正確に大きさを揃えた多孔質シリカ微細球が充填されており、ポアサイズと粒子径のばらつきが小さくなっています。その結果、流量 3 mL/min までのタンパク質分析分離と分取分離のいずれにも対応する、効率がよく、堅牢で再現性の高いゲルろ過カラムとなっています。これらのカラムは移動相内の有機修飾剤 (< 25 %) と変成剤に対応しているため、タンパク質の凝集を軽減することができます。一般的な分析用途としては、単量体、二量体、凝集体の分離、脱塩、タンパク質分子量の推定と修飾タンパク質の分離があります。

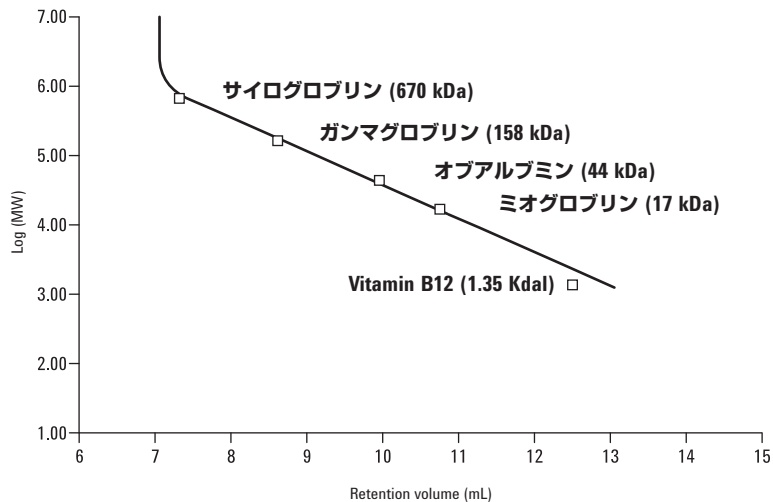
カラム仕様

結合相	ポアサイズ	粒子径	MW 範囲	表面積	pH 範囲	流量	最大圧力
ZORBAX GF-250	150 Å	4 μm	4,000-400,000	140 m ² /g	3.0-8.0	3.0 mL/min 未満	350 bar
ZORBAX GF-450	300 Å	6 μm	10,000-900,000	50 m ² /g	3.0-8.0	3.0 mL/min 未満	350 bar

仕様は代表的な値のみを表しています。

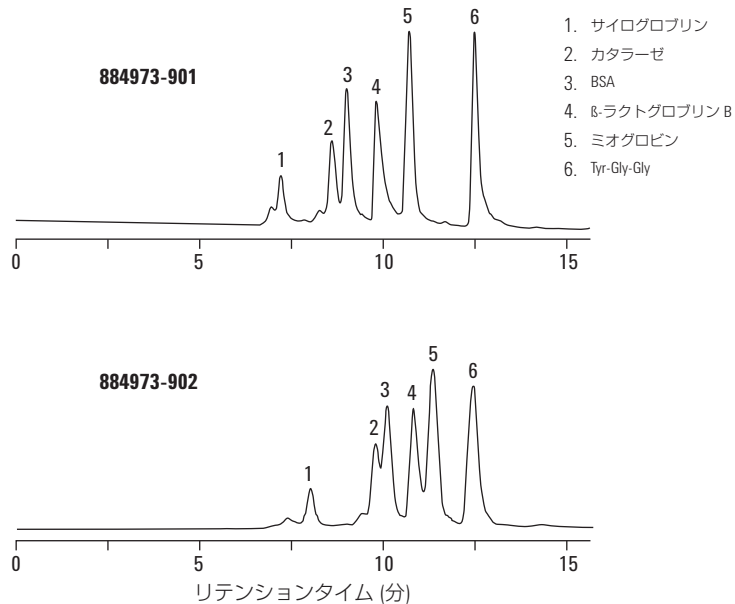
Agilent ZORBAX GF-250 カラムで分離された Bio-Rad 標準の保持ボリューム対 log (MW)

カラム: ZORBAX GF-250
 884973-901
 9.4 x 250 mm, 4 μm
移動相: 200 mM リン酸ナトリウム、pH 7.0
カラム温度: 室温
検出器: UV、254 nm



分取カラムを使用したタンパク質の分離







カラム A: 884973-901
カラム B: 884973-902
移動相: 0.2 M Na₂HPO₄、pH 7.0
流量: 5.0 mL/min
検出器: UV、280 nm
サンプル: 200 μL









ZORBAX GF-250 (USP L33) および GF-450 (USP L35) ゲルろ過カラム

ハードウェア	品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	部品番号
	GF-250、150Å	9.4 x 250	4	884973-901
	GF-250、150Å	4.6 x 250	4	884973-701
	GF-450、300Å	9.4 x 250	6	884973-902

ガードカラム (ハードウェアが必要)

	GF-250 Diol、ガードカートリッジ、2 個	9.4 x 15	6	820675-111
	GF-250 Diol、ガードカートリッジ、4 個	4.6 x 12.5	6	820950-911
	GF-450 Diol、ガードカートリッジ、2 個	9.4 x 15	6	820675-111
	GF-250 Diol、ガードカートリッジ、4 個	4.6 x 12.5	6	820950-911
	分取ガードハードウェアキット			840140-901
	ガードハードウェアキット			820999-901

PrepHT カラム

	PrepHT GF-250、150Å	21.2 x 250	6	877974-901
	PrepHT GF-450、300Å	21.2 x 250	6	877974-910
	PrepHT エンドフィッティング、2 個			820400-901
	PrepHT GF-250、ガードカートリッジ、2個	17.0 x 7.5	5	820212-911
	PrepHT GF-450、ガードカートリッジ、2個	17.0 x 7.5	5	820212-911
	ガードカートリッジハードウェアキット			820444-901



生体分析用の Agilent PL aquagel-OH SEC カラム

耐久性と多機能性を備えた生体分子 SEC カラム

水系サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) は、生体高分子など、水溶性ポリマーの分子量分布の測定に広く使用されています。医療アプリケーションの賦形剤や有効成分として使用できる天然物や誘導体の分析に使用されています。

PL aquagel-OH シリーズは、信頼性の高い水系 SEC 分離に対して化学的および物理的に安定したマトリクスを提供します。カラムには、きわめて親水性の高いポリヒドロキシル官能基を持つマクロポーラス共重合体ビーズが充填されています。幅広い溶出条件で動作する"中性"表面とキャピラリーは、中性、イオン性、および疎水性部分(単体または組み合わせ)のある化合物に対して高い分析性能を提供します。PL aquagel-OH は、分析アプリケーションと分取アプリケーションの両方に使用できます。

PL aquagel-OH 充填剤材料は安定性に優れているため、高いカラム効率を維持したまま、ポリマーに合わせて溶離液を調製できます。イオン相互作用については、塩の添加、pH の調整、またはその両方によって溶離液を調製できます。疎水性特性を持つ水溶性ポリマーについては、疎水性相互作用を阻止するために弱有機溶媒 (メタノール) の添加のみが必要です。

PL aquagel-OH 分析カラム

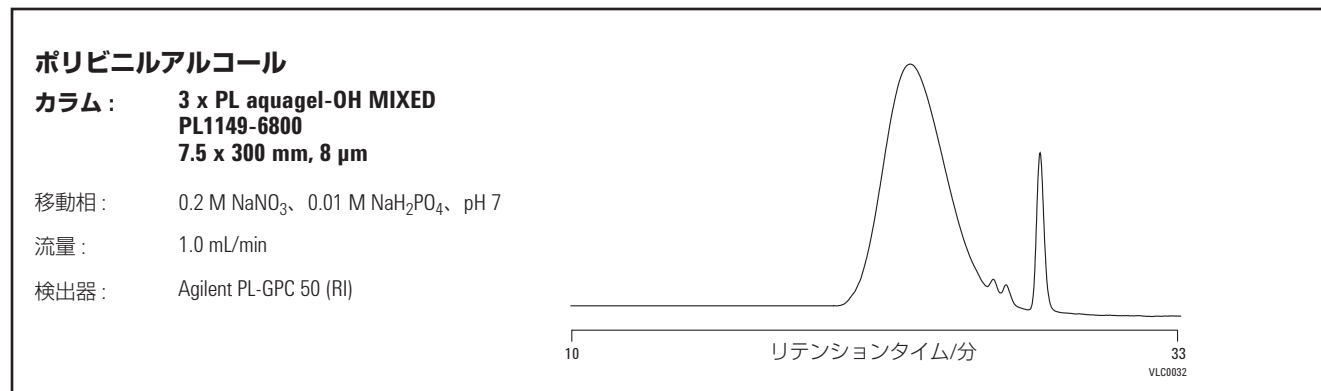
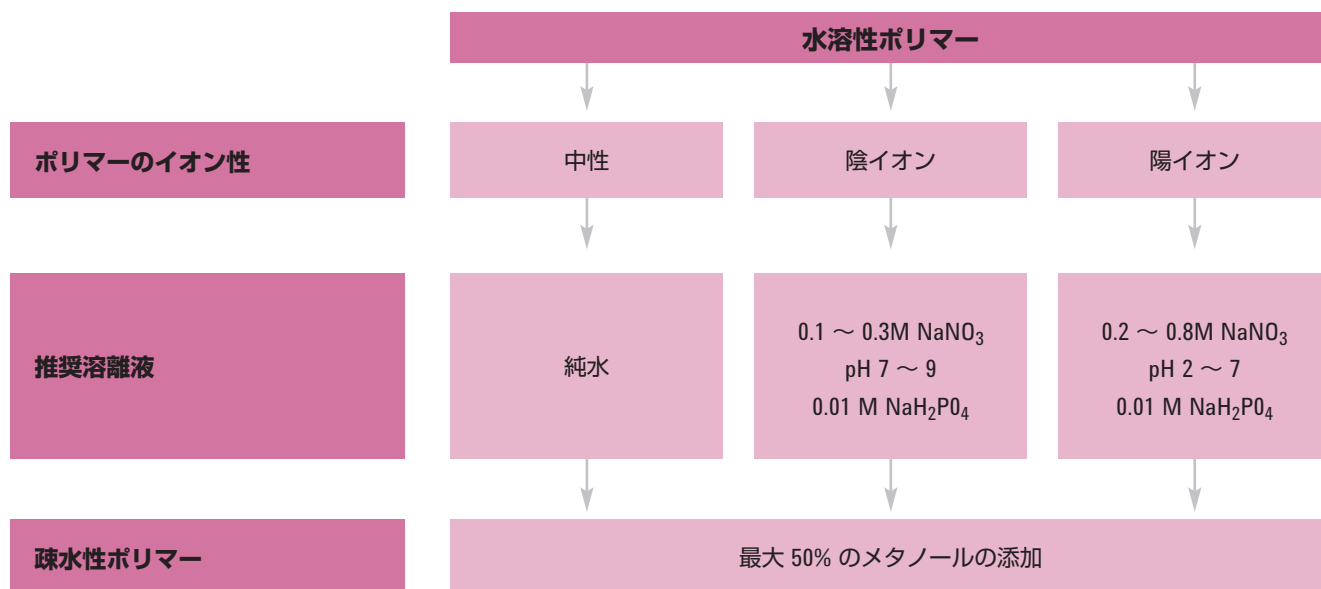
幅広い分子量に対応するために、混合および個別のポアサイズに加え、5、8、および 15 μm の粒子サイズが用意されています。

PL aquagel-OH 分取カラム

分析分離からの迅速で便利なスケールアップが可能です。分析カラムと同じ堅牢なマクロポーラス粒子が充填されています。



PL aquagel-0H アプリケーションの溶離液選択ガイド



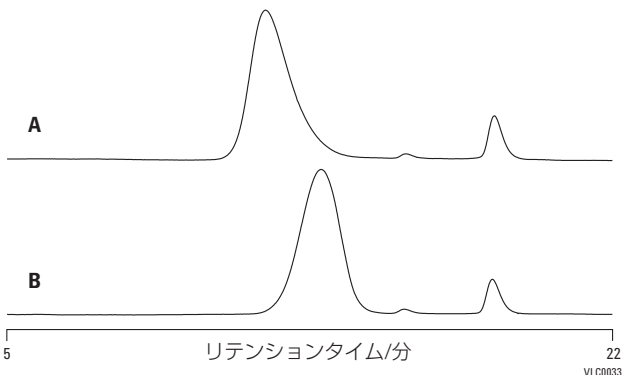
ヘパリン

カラム: 2 x PL aquagel-OH 30
PL1120-6830
7.5 x 300 mm, 8 μm

移動相: 0.2 M NaNO₃, 0.01 M NaH₂PO₄, pH 7

流量: 1.0 mL/min

検出器: Agilent PL-GPC 50 (RI)



SECの結果とポリマーの仕様との相関関係

サンプル	Mn	Mw
A	22,500	28,200
B	9,350	10,770

ヒアルロン酸

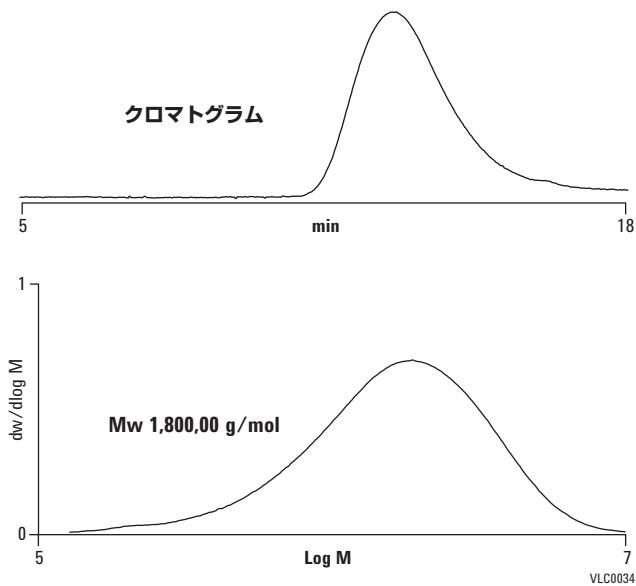
カラム: PL aquagel-OH 60 15 μm
PL1149-6260
7.5 x 300 mm, 15 μm

カラム: PL aquagel-OH 40 15 μm
PL1149-6240
7.5 x 300 mm, 15 μm

移動相: 0.2 M NaNO₃, 0.01 M NaH₂PO₄, pH 7

流量: 1.0 mL/min

検出器: Agilent PL-GPC 50 (RI)



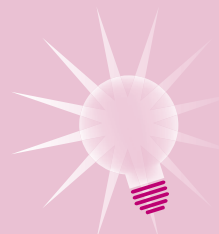
PL aquagel-OH 分析

品名	寸法 (mm)	MW 範囲 (g/mol) (PEG/PEO)	保証 効率 (p/m)	部品番号
PL aquagel-OH 20 5 μm	7.5 x 300	100-10,000	> 5,000	PL1120-6520
PL aquagel-OH 20 8 μm	7.5 x 300	100-20,000	> 35,000	PL1149-6820
PL aquagel-OH 30 8 μm	7.5 x 300	100-30,000	> 35,000	PL1120-6830
PL aquagel-OH 40 8 μm	7.5 x 300	10,000-200,000	> 35,000	PL1149-6840
PL aquagel-OH 40 15 μm	7.5 x 300	10,000-200,000	> 15,000	PL1149-6240
PL aquagel-OH 50 8 μm	7.5 x 300	50,000-1,000,000	> 35,000	PL1149-6850
PL aquagel-OH 50 15 μm	7.5 x 300	50,000-1,000,000	> 15,000	PL1149-6250
PL aquagel-OH 60 8 μm	7.5 x 300	200,000-> 10,000,000	> 35,000	PL1149-6860
PL aquagel-OH 60 15 μm	7.5 x 300	200,000-> 10,000,000	> 15,000	PL1149-6260
PL aquagel-OH MIXED-H 8 μm	7.5 x 300	100-10,000,000	> 35,000	PL1149-6800
PL aquagel-OH MIXED-M 8 μm	7.5 x 300	最大 600,000	> 35,000	PL1149-6801

ヒントとテクニック

生体分子アプリケーション向けの主な PL aquagel-OH カラム製品の詳細については、資料 5990-7995EN を参照してください。

www.agilent.com/chem/library



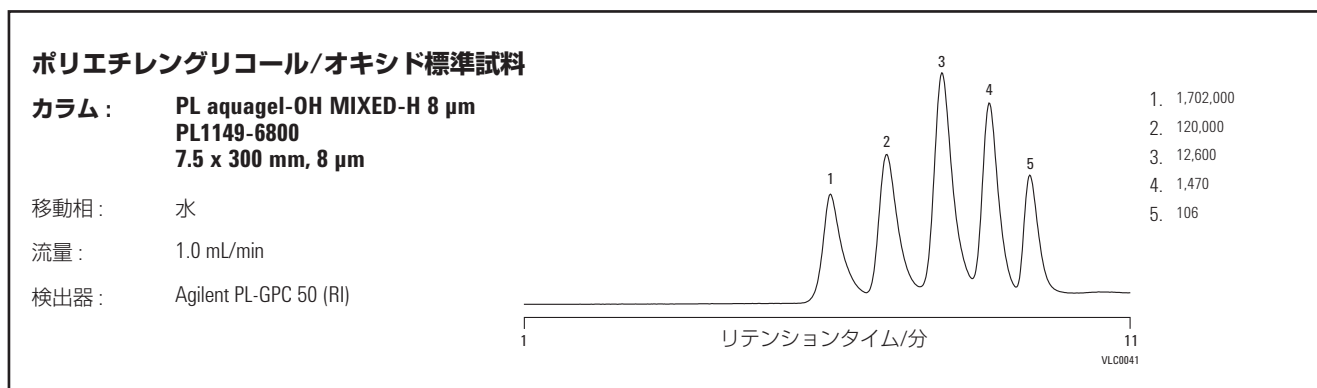


生体分子分析用標準試料 - ポリエチレングリコール/オキシド

水系 SEC の最も一般的な標準試料

- 個別のキット、または EasiVial 形式で提供
- エチレングリコールとエチレンオキシドを組み合わせて MW 範囲を拡大し、より多くのアプリケーションに対応
- 等間隔キャリブレーションポイントを設定して精度を高めるために選択された分子量

これらの親水性ポリマーは、いずれも水系 SEC に適しています。高分子量にはエチレンオキシドが適しており、エチレングリコールは低分子量範囲に適しています。



仕様

EasiVial の色	EasiVial PEG/PEO	EasiVial PEG
赤	600	282
	12,000	1,000
	125,000	6,000
	1,200,000	35,000
黄	200	194
	4,000	600
	60,000	3,750
	1,000,000	21,000
緑	100	106
	1,500	420
	25,000	2,000
	460,000	12,000

ポリエチレングリコール/オキシドキャリブレーションキット

PEG-10 (10 x 0.5 g)
PL2070-0100

PEO-10 (10 x 0.2 g)
PL2080-0101

構成ポリマ公称 Mp (g/mol)

106	20,000
194	30,000
400	50,000
600	70,000
1,000	100,000
2,000	200,000
4,000	300,000
7,000	400,000
13,000	700,000
20,000	1,000,000

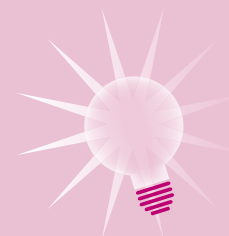
キャリブレーションキット

品名	バイアル容量 (mL) (バイアル/キット)	入数	部品番号
EasiVial PEG/PEO	2	30 個	PL2080-0201
EasiVial PEG/PEO	4	30 個	PL2080-0200

ヒントとテクニック

各標準の詳細については、『GPC/SEC Standards Product Guide』 (5990-7996EN) を参照してください。

www.agilent.com/chem/library





アフィニティクロマトグラフィー

アフィニティクロマトグラフィーは、高い特異性を持つ分子間 (多くの場合は抗原/抗体間などの特定のタンパク質間) の相互作用を利用したパワフルな技術です。アジレントは、IgG の単離および定量用のモノリシックプロテイン A カラムや、生体サンプル中の存在量の多いタンパク質除去用のマルチプルアフィニティ除去システムなど、専用の製品を取り揃えています。

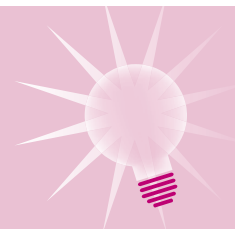
Agilent バイオモノリスプロテイン A HPLC カラム

- IgG クラス 3 を除くすべての IgG (ヒトおよびマウス) の分析分離用に設計
- 流速に依存しない分離を実現。拡散、ポア、およびボイドボリュームがないため、移動相と固定相間的高速移動が可能
- 超高速分離によって、メソッド開発時間とコストを削減
- メソッドパラメータのロックにより分析時間と緩衝液を大幅に削減可能

Agilent バイオモノリスプロテイン A HPLC カラムは、Agilent バイオモノリスカラムファミリの製品の 1 つです。プロテイン A バイオモノリスカラムは、Agilent 1100 および 1200 HPLC システムを含む HPLC および分取 LC システムに適合します。

ヒントとテクニック

Agilent バイオモノリスイオン交換カラムについては、61 ページを参照してください。



ヒントとテクニック

詳細については、次のアプリケーションノートを参照してください。

Rapid Human Polyclonal IgG Quantification Using the Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC Column (5989-9733EN)

www.agilent.com/chem/library



カラム仕様	
寸法	5.2 mm x 4.95 mm
カラム容量	100 µL
最大圧力	75 bar
最低/最高使用温度	使用範囲: 4 ~ 40 °C 保管: 4 ~ 30 °C
推奨 pH	使用範囲: 2 - 11 洗浄: 2 - 13
使用材質	ハードウェア: ステンレス製 パッキング材: ポリ (グリシジル メタクリレート-co-エチレンジメタクリレート) 多孔モノリス
カラー識別リング	白
保管期限/使用期限	12 ヶ月

バイオモノリス プロテイン A

カラム	説明	主要アプリケーション	部品番号
バイオモノリス プロテイン A	プロテイン A アフィニティカラムは、IgG クラス 3 を除くすべての IgG (ヒトとマウス) の分析分離用に設計されています。	• IgG の定量 (発酵滴定濃度計算)	5069-3639

**Agilent バイオモノリスプロテイン A HPLC カラムを
使用したヒトポリクローナル IgG の迅速な定量**

カラム: プロテインA
5069-3639
5.2 x 4.95 mm

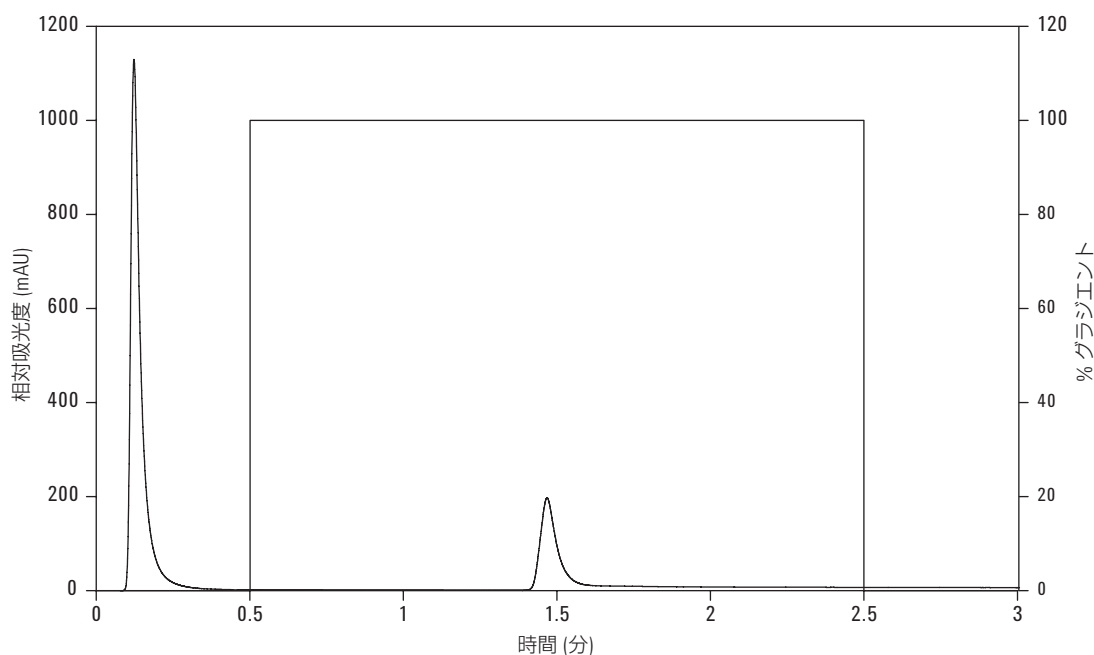
移動相: PBS 緩衝液、pH 7.4
0.5 M 酢酸、pH 2.6

グラジエント: ステップグラジエント: 100 % 緩衝液
A - 100 % 緩衝液、B - 100 % 緩衝液 A (各ステップ 0.5 分)

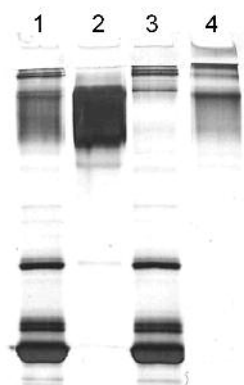
流量: 1 mL/min

検出器: 高圧グラジエント HPLC システム、Agilent 1200 Infinity LC - UV (280 nm)

サンプル: 結合緩衝液で希釈したヒト血漿 (PBS 緩衝液、pH 7.4)



ヒト血漿由来の IgG に関するバイオモノリスプロテイン A カラムの選択性。IgG はタンパク質 A に結合し、100 % 緩衝液 B のステップグラジエントを適用すると、IgG は 1.5 分に溶出します。



説明:

レーン 1: 分離前の全血清

レーン 2: IgG 標準

レーン 3: ピーク 1 (フロースルー分画)

レーン 4: ピーク 2 (タンパク質 A 結合分画、IgG1 および IgG2 など)

分離で得られた分画の SDS PAGE 分析。



アジレントのタンパク質分画システムおよび プロテオミクス用試薬

- 生体サンプルの LC/MS 分析
- 電気泳動分析のための前処理
- バイオマーカー検出のためのサンプル前処理
- 機器およびワークフローのバリデーション
- コストパフォーマンスの高い免疫除去
- サンプルの脱塩、濃縮、分画

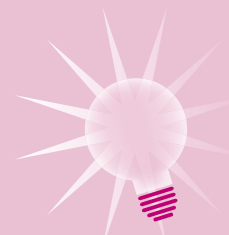
血漿、血清、髄液 (CSF) 中に大量に存在するタンパク質を除去し、低濃度タンパク質中に含まれるバイオマーカーの同定とキャラクタライゼーションを可能にします。存在量の多いタンパク質を除去すると、ダイナミックレンジの拡張によって、それに続く LC/MS および電気泳動分析の性能が向上します。

Agilent mRP-C18 高回収率タンパク質カラムは、従来の RP HPLC カラムに比べてきわめて高いサンプル回収率で、脱塩、濃縮、分画を容易なステップで行えるように設計されています。

さらに、バイオマーカー検出やその他のプロテオミクスアプリケーションでのサンプル前処理用に、標準試料、プロテオミクスグレードのトリブシンなど、バリデーション済み試薬が用意されています。さらに、これらの試薬はアジレントの LC/MS メソッドと完全に互換性があり、これ以上のサンプル前処理は必要ありません。

ヒントとテクニック

アジレントのサポートサービスの詳細については、www.agilent.co.jp/chem/service:jp をご覧ください。





マルチプルアフィニティ除去システム

アジレントのマルチプルアフィニティ除去システム (MARS) は、血清/血漿中に大量に存在するタンパク質を除去し、低濃度タンパク質中に含まれるバイオマーカーの同定とキャラクタライゼーションを可能にします。

マルチプルアフィニティ除去システムは、ヒト体液中に高濃度に存在する最大 14 種類のタンパク質と、マウス体液中の 3 種類のタンパク質を再現性高く、確実に除去します。

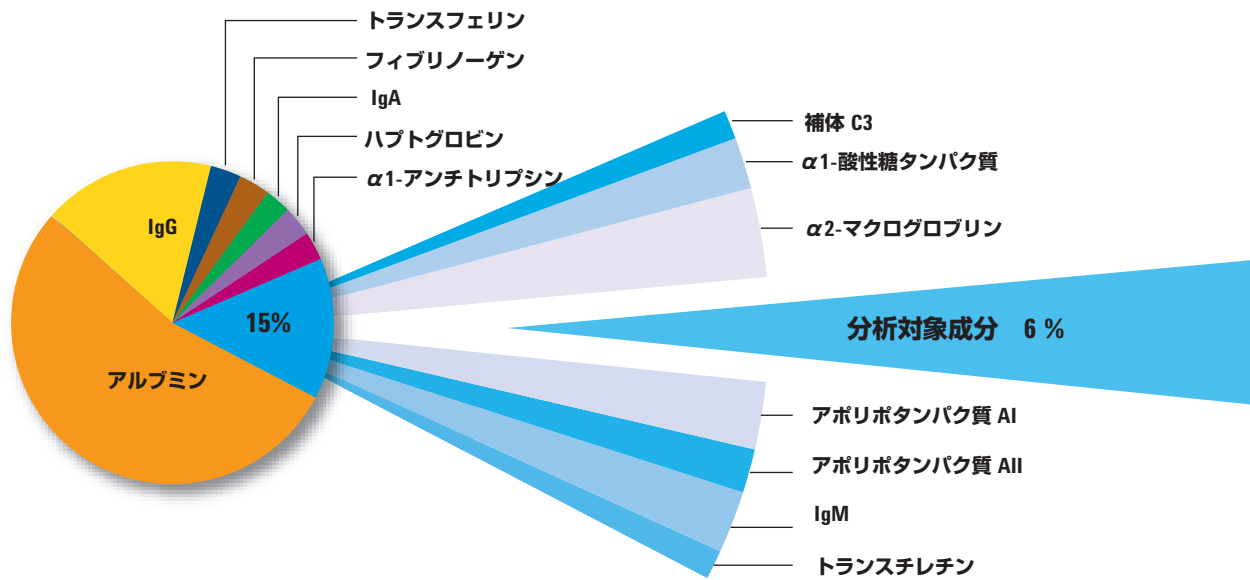
マルチプルアフィニティ除去システムでは、さまざまな仕様の LC カラムや、スピンカートリッジを提供しています。最適化されたバッファ、便利なスピンフィルタ、コンセンレータからなる Agilent マルチプルアフィニティ除去システムは、ほとんどの LC 装置と卓上小型遠心分離器に対応しています。

マルチプルアフィニティ除去システムを用いて処理したサンプルは、2D ゲル電気泳動、LC/MS など、次行程の分析方法での解析が可能です。

マルチプルアフィニティ除去システム選択ガイド

製品	除去されるタンパク質	除去されるタンパク質	寸法	負荷量	部品番号
MARS Human-14	アルブミン、IgG、アンチトリプシン、IgA、トランスフェリン、ハプトグロビン、フィブリノゲン、 α 2-マクログロブリン、 α 1-酸性糖タンパク質、IgM、アポリポプロテイン AI、アポリポプロテイン AII、補体タンパク C3、トランスチレチン	94 %	スピニングカートリッジ	8 ~ 10 μ L	5188-6560
			4.6 x 50 mm	20 μ L	5188-6557
			4.6 x 100 mm	40 μ L	5188-6558
			10.0 x 100 mm	250 μ L	5188-6559
MARS Human-7	アルブミン、IgG、IgA、トランスフェリン、ハプトグロビン、アンチトリプシン、フィブリノゲン	88-92 %	スピニングカートリッジ	12 ~ 14 μ L	5188-6408
			4.6 x 50 mm	30 ~ 35 μ L	5188-6409
			4.6 x 100 mm	60 ~ 70 μ L	5188-6410
MARS Human-6	アルブミン、IgG、IgA、トランスフェリン、ハプトグロビン、アンチトリプシン	85-90 %	スピニングカートリッジ	7 ~ 10 μ L	5188-5230
			4.6 x 50 mm	15 ~ 20 μ L	5185-5984
			4.6 x 100 mm	30 ~ 40 μ L	5185-5985
MARS Human-6 ハイキャパシティ	アルブミン、IgG、IgA、トランスフェリン、ハプトグロビン、アンチトリプシン	85-90 %	スピニングカートリッジ	14 ~ 16 μ L	5188-5341
			4.6 x 50 mm	30 ~ 40 μ L	5188-5332
			4.6 x 100 mm	60 ~ 80 μ L	5188-5333
			10.0 x 100 mm	最高 340 μ L	5188-5336
MARS Human-2	アルブミン、IgG	69 %	スピニングカートリッジ	50 μ L	5188-8825
			4.6 x 50 mm	100 μ L	5188-8826
MARS Human-1	アルブミン	50-55 %	スピニングカートリッジ	65 μ L	5188-5334
			4.6 x 50 mm	130 μ L	5188-6562
MARS Mouse-3	アルブミン、IgG、トランスフェリン	80 %	スピニングカートリッジ	25 ~ 30 μ L	5188-5289
			4.6 x 50 mm	37 ~ 50 μ L	5188-5217
			4.6 x 100 mm	75 ~ 100 μ L	5188-5218

マルチプルアフィニティ除去カラムとスピニングカートリッジによって除去される存在量の多いタンパク質





LC カラム用試薬スタータキット、5185-5986



ルアーロックアダプタ、5188-5249



ルアーロックシリンジ、5188-5250



ルアーロックニードル、5188-5253

マルチプルアフィニティ除去システム スタータキット

LC カラム用およびスピカートリッジ用スタータ試薬キットには、マルチプルアフィニティ除去システムに必要な消耗品が含まれています。これらのバッファは、カラム寿命とサンプル再現性を最適化します。

- このキットは、4.6 x 50 mm LC カラムを用いた場合は約 200 回、4.6 x 100 mm LC カラムを用いた場合は約 100 回、スピカートリッジを用いた場合は約 200 回使用できます。
- サンプル注入用バッファであるバッファ A は、タンパク質間の相互作用を最小限に抑え、高濃度タンパク質に結合しやすい低濃度タンパク質を通過させ、高濃度タンパク質を関連抗体と結合させます。
- 溶出バッファであるバッファ B により、抗体から結合タンパク質を解離して高濃度タンパク質をカラムの外に溶出させます。

マルチプルアフィニティ除去システムスタータキット

品名	部品番号
LC カラム用スタータ試薬キット	5185-5986
内容:	
バッファ A、1 L、サンプル注入、洗浄、カラム平衡化用	5185-5987
バッファ B、1 L、溶出用	5185-5988
スピカフィルター、0.22 μm 酢酸セルロース、25 個	5185-5990
スピカコンセントレータ、5K MWCO、4 mL、25 個	5185-5991
マルチプルアフィニティ除去スピカートリッジ試薬キット	5188-5254
内容:	
バッファ A、1 L、サンプル注入、洗浄、カラム平衡化用	5185-5987
バッファ B、1 L、溶出用	5185-5988
スピカフィルター、0.22 μm 酢酸セルロース、25 個	5185-5990
スピカコンセントレータ、5K MWCO、4 mL、25 個	5185-5991
ルアーロックアダプタ、2 個	5188-5249
プラスチック製シリンジ、5 mL、ルアーロック、2 個	5188-5250
マイクロチューブ、1.5 mL、スクリュートップ、100 個	5188-5251
キャップとプラグ、6 個	5188-5252
PTFE ニードル、ルアーロック、10 個	5188-5253
高濃度サンプル希釈用緩衝液、50 mL	5188-8283



mRP-C18 高回収率タンパク質カラム

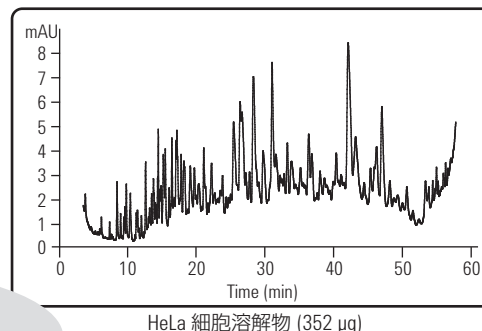
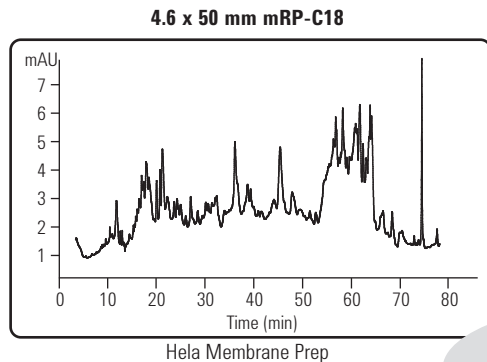
mRP (多孔性逆相) C18 高回収率タンパク質カラムを用いると、複雑なタンパク質サンプル (MARS 処理後の血清または血漿タンパク質) をユーザが選択した分画数に分けたり、サンプルの脱塩、濃縮を行うことができます。

- Agilent マルチプルアフィニティ除去システム- LC カラムを用いた MARS 処理後の血清で、95 ~ 99 % 以上のタンパク質サンプル回収率が得られることを確認
- タンパク質のクロマトグラフィー分解能を損なわずに、最大で合計 380 μg のタンパク質をロード可能
- タンパク質の強い吸着を低減または除去するように設計された多孔性 C18 結合高純度 5 μm 粒子シリカを充填
- 最大動作圧力は 25 MPa (4000 psi)
- 水および一般的な有機溶媒に対応

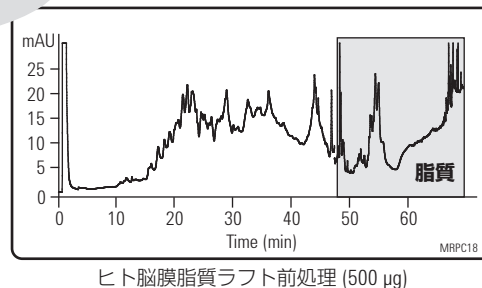
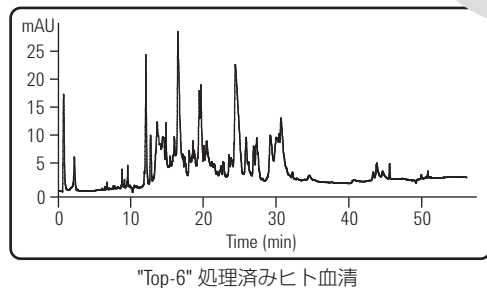
mRP-C18 高回収率タンパク質カラム

品名	タンパク質負荷量	部品番号
mRP-C18、0.5 x 100 mm	10 ng ~ 5 μg	5188-6510
mRP-C18、2.1 x 75 mm	8 ~ 85 μg	5188-6511
mRP-C18、4.6 x 50 mm	40 ~ 380 μg	5188-5231

mRP カラムによる複雑なサンプルのタンパク質分離



優れた回収率



メソッド開発

ZORBAX カラムメソッド

このタンパク質およびペプチド用の ZORBAX カラムの選択方法では、タンパク質またはポリペプチド向けのメソッド開発に役立つ重要な詳細情報が得られます。

ペプチド、ポリペプチド、タンパク質について最初に選択するカラムと分析条件

ペプチド、ポリペプチド、タンパク質
MW < 50 kDa

ペプチド、ポリペプチド、タンパク質
MW > 50 kDa

最初に選択する結合相

StableBond 300SB-C8

300 SB カラムは、TFA を含む移動相で比類のない長寿命を持つワイドポアカラムです。この特性により、ペプチドおよびタンパク質の分離に最初に選択するカラムとして理想的です。

- C8 は中程度の疎水性を特徴とするため、最初に選択する結合相として適しています。
- C18 と C8 は、一般にペプチドおよびタンパク質消化物用に選択しますが、タンパク質にも使用できます。
- C3、C4、CN は、一般に高分子量の疎水性ポリペプチドおよびタンパク質用に選択される結合相ですが、ペプチドにも使用できます。
- 化学的/温度安定性が必要な場合は PLRP-S を選択できます。

Poroshell 300SB-C18

Poroshell 300SB カラムは、革新的な粒子技術を使用してタンパク質を迅速に分離します。Poroshell カラムを使用すると、短い分析時間で効率のよいピークを簡単に得ることができます。

- C18 は保持時間を最大にするため、ほとんどのペプチド、ポリペプチド、タンパク質向けに Poroshell で最初に選択する結合相として適しています。
- C8 は、一般に中程度の大きさのタンパク質用として選択されますが、ポリペプチドや非常に分子量の大きいタンパク質にも使用できます。
- C3 は、一般に抗体や高分子量のタンパク質の分析用に選択されますが、ペプチドやポリペプチドにも使用できます。

初期分離条件

カラム : StableBond 300SB-C8、4.6 x 150 mm、
3.5 または 5 μ m
883995-906
863973-906

移動相 : A: 95 % H₂O : 5 % ACN 溶液中に 0.1 % の TFA
B: 5 % H₂O : 95 % ACN 溶液中に 0.085 % の TFA

グラジエント : 60 分間で 0 ~ 60 % B

温度 : 35 ~ 40 °C

流量 : 1 mL/min

カラム : Poroshell 300SB-C18、2.1 x 75 mm、
5 μ m
660750-902

移動相 : A: 95 % H₂O : 5 % ACN 溶液中に 0.1 % の TFA
B: 5 % H₂O : 95 % ACN 溶液中に 0.085 % の TFA

グラジエント : 60 分間で 0 ~ 60 % B

温度 : 35 ~ 40 °C

流量 : 2 mL/min

低 pH で単純な水系/有機溶媒グラジエントからスタート

通常は、水/アセトニトリルに 0.1 % TFA を添加したグラジエント溶出で、すべての対象成分が溶出します。ポアサイズ 300 Å のカラムを使用した高分解能グラジエント溶出には、通常 30 ~ 50 分必要です。Poroshell カラムを使用すれば、流量を上げて分析時間を短縮することができ、しかも優れた分解能を維持します。さらに分解能を改善するには、グラジエント時間を延長する、カラム長を短くする、または流量を上げるという方法があります。

サンプル溶解度の最適化

どの pH を使用する場合も、最良のピーク形状と回収率を達成するためには、サンプルを完全に溶解することが重要です。ZORBAX 300StableBond および Poroshell 300SB では、強酸性または中性の溶媒を使用することができ、ZORBAX 300Extend-C18 では中性溶媒および希釈した塩基性溶媒を使用できます。

タンパク質とペプチドを溶解させる溶媒の選択

水/リン酸バッファ
 希釈した酸 (TFA、酢酸、HCl)
 中性 pH、6 ~ 8 M 塩酸グアニジンまたはイソチオシアネート
 5 % 酢酸/6 M 尿素
 希釈した酸 + 水/有機溶媒 (ACE、MeOH、THF)
 希釈した塩基 (水酸化アンモニウム)
 DMSO、または 0.1 ~ 1 % DMSO 溶液
 ホルムアミド

最も弱い

最も強い

温度の上昇

タンパク質およびペプチドの分離は温度の影響を受けます。カラム温度を上げることにより、タンパク質や凝集した疎水性ペプチドの分解と回収率が劇的に改善されることがあります。

StableBond 300SB – 最高 80 °C

Poroshell 300SB - 最高 80 °C

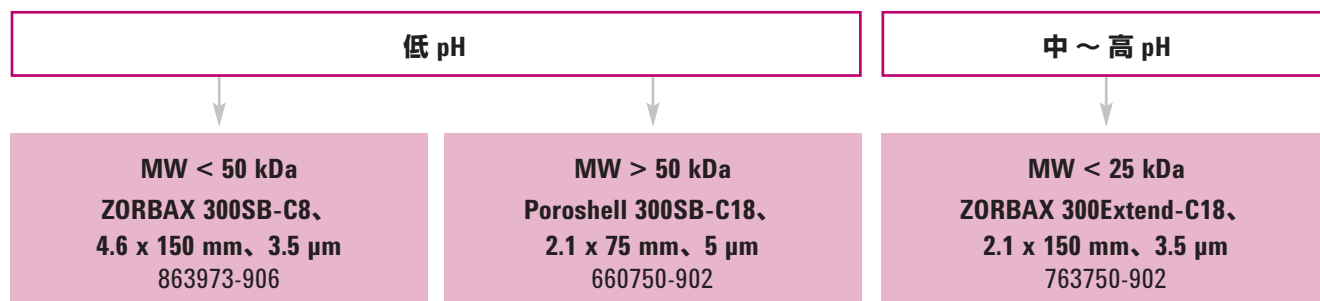
移動相 pH の最適化

低 pH で希望の結果が得られなければ、中~高 pH を試す

最適化した低 pH メソッドで理想的な分離が得られない場合は、中または高 pH の移動相を使用できます。酸性のアミノ酸は pH を上げることで負に荷電し、一部の塩基性アミノ酸は電荷を失うことがあるため、pH の上昇によって選択性が大幅に変化する可能性があります。ZORBAX 300Extend-C18 は、中~高 pH での分離向けの優れた選択肢です。

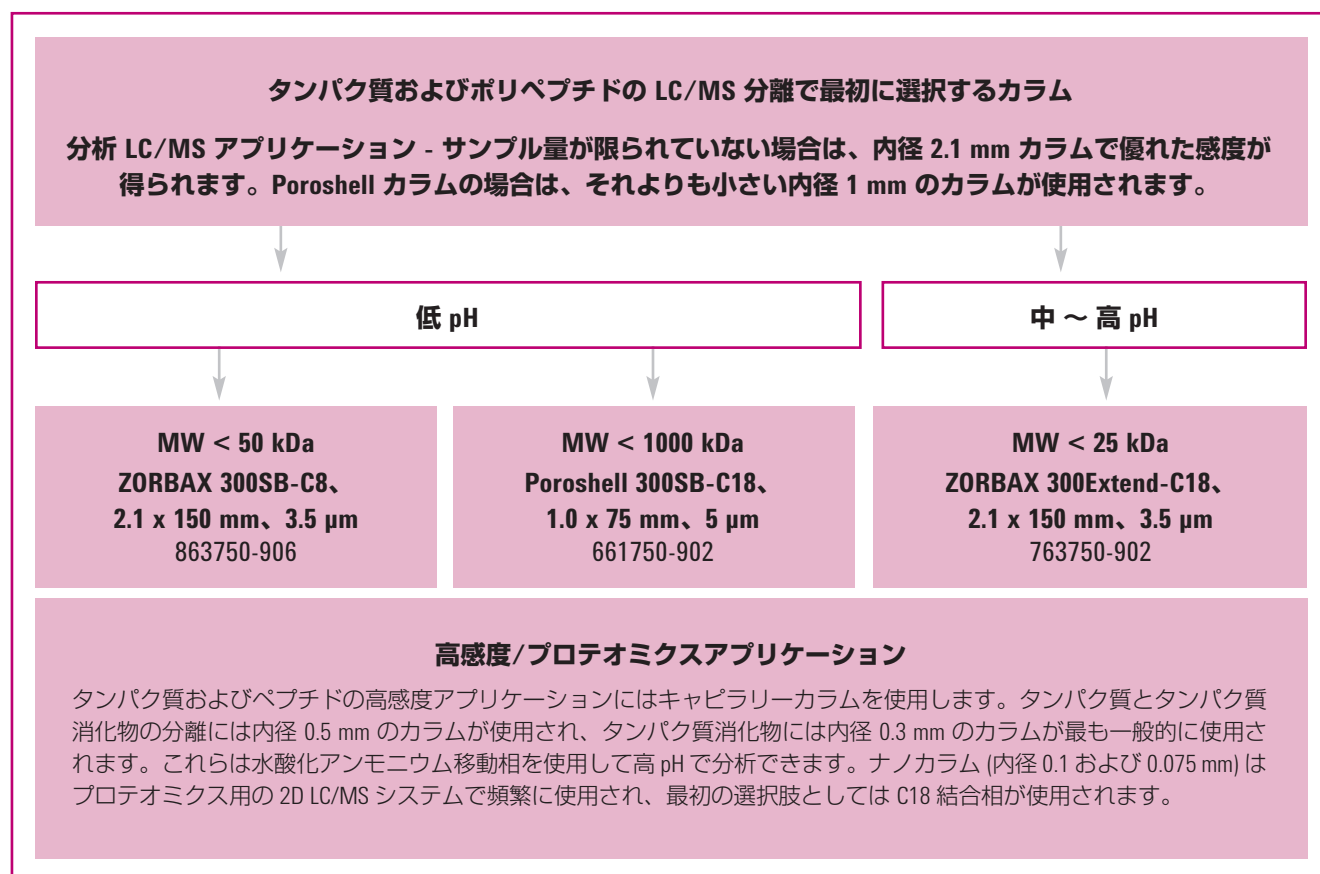
カラム:	ZORBAX 300Extend-C18、 4.6 x 150 mm、5 μm 773995-902	グラジエント:	30 分間で 5 ~ 60 % B
		温度:	25 ~ 30 °C (<60 °C)
移動相:	A: 20 mM NH ₄ OH 水溶液 B: 20 mM NH ₄ OH 80 % ACN 溶液	流量:	1 mL/min

ペプチド、ポリペプチド、タンパク質の分析分離用に最初に選択するカラム

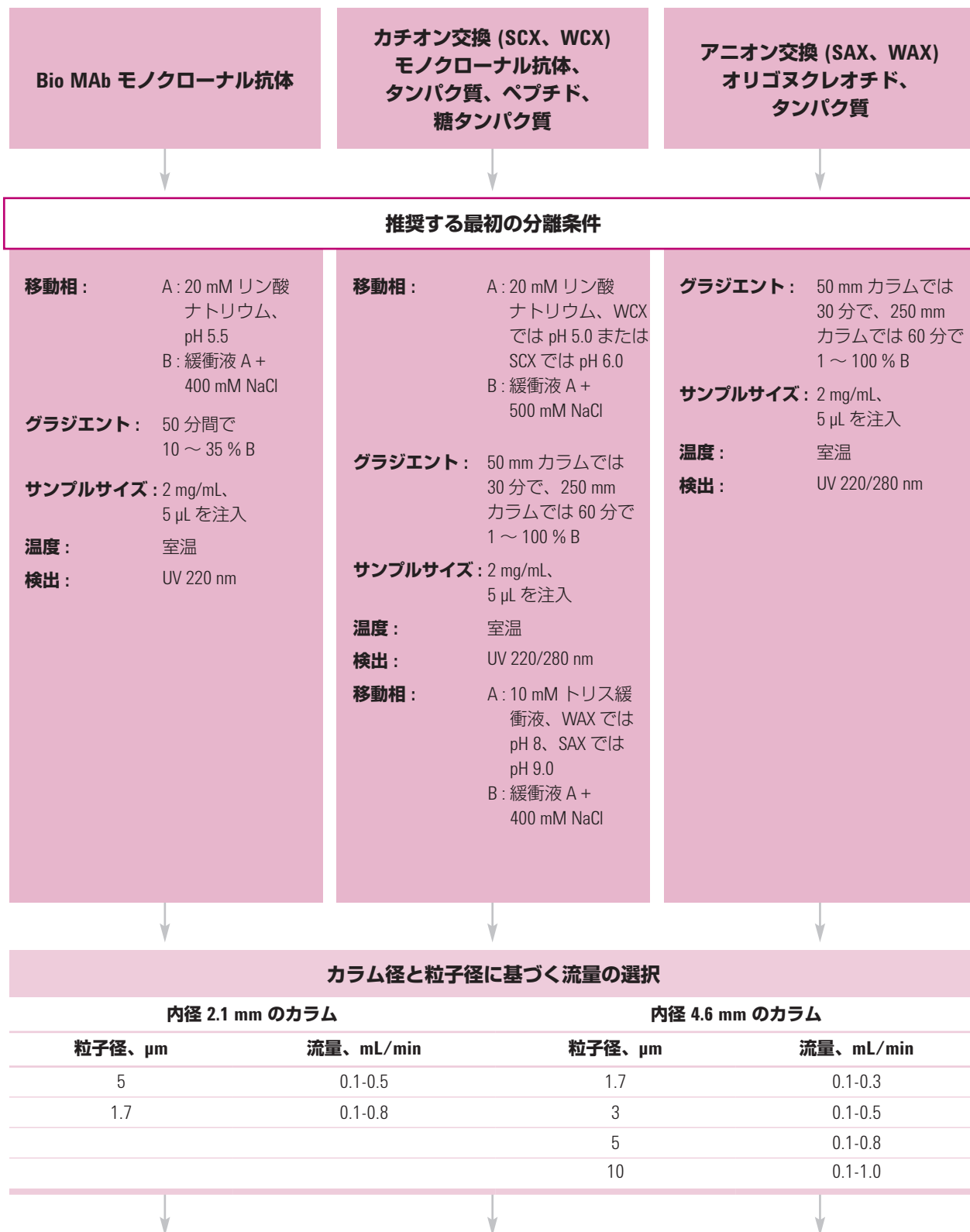


逆相 LC/MS メソッド

タンパク質およびペプチドの LC/MS 分析は、タンパク質の特性解析や翻訳後修飾されたタンパク質の正確な同定、さらには合成および天然ペプチドの分子量決定のために重要な情報を提供します。プロテオミクスアプリケーションにおける 2D 分離でも、タンパク質の同定を行うために LC/MS が使用されます。そのため、タンパク質およびペプチドの LC/MS 分析は重要な分離分野であり、目的に適したカラムや移動相を正しく選択する必要があります。一般に、LC/MS には小さいサイズのカラムが使用され、移動相に TFA を添加すると MS の感度が低下するため、この添加剤の使用を避けるのが普通です。



イオン交換カラムメソッド



条件の最適化

一部の分離には、特定の緩衝液、イオン強度、pH、温度が必要になることがあります。

イオン強度：

カラムの機能を維持するためには、特定のイオン強度が必要です。通常は、最小濃度 10 ~ 20 mM の塩が必要です。ただし、カラムへの生体分子の吸着を防ぐために、20 mM を超える強度が必要になることがあります。一般に使用される塩は、塩化/酢酸ナトリウムおよびカリウムです。溶出での一般的な塩濃度は 400 ~ 500 mM です。

注： 背圧が大きく増加するため、水のみでのカラム洗浄は避けてください。

緩衝液と pH の選択：

分離の最適化では緩衝液が重要な役割を果たします。抗体や多くの生体分子にはリン酸緩衝液が一般に使用されます。MES、トリス、ACES 緩衝液も推奨します。pH 5.0 ~ 6.5 の緩衝液を使用します。pH は、通常は +/- 0.2 単位で調整できます。特定のタンパク質では、高い pH (>pH 6.5) が必要になることがあります。pH の調整には、リン酸、酢酸、HCl、NaOH を使用できます。

pH グラジエントは溶出にも使用できます。

緩衝液と pH の選択：

アニオン交換では、pH 8.0 ~ 9.0 の酢酸およびリン酸緩衝液を推奨します。pH は、通常は +/- 0.2 単位で調整できます。特定のタンパク質では、高いまたは低い pH が必要になることがあります。pH の調整には、リン酸、酢酸、HCl、NaOH を使用できます。

pH グラジエントは溶出にも使用できません。

添加剤**有機溶媒：**

アセトニトリル、エタノール、メタノール、その他の類似した溶媒を最大で 50 % 使用できます。

界面活性剤：

非イオン、アニオン、双性イオン性の界面活性剤を使用できます。カチオン系界面活性剤は推奨しません。

添加剤**有機溶媒：**

アセトニトリル、エタノール、メタノール、その他の類似した溶媒を最大で 50 % 使用できます。

界面活性剤：

非イオン、カチオン、双性イオン性の界面活性剤を使用できます。アニオン系界面活性剤は推奨しません。

温度：

Agilent Bio MAb および IEX カラムは 80 °C まで安定しています。ただし、多くのタンパク質やバイオ分子は熱の影響を大きく受けます。高温で分離する前に、サンプルの温度安定性を必ず確認してください。

SEC カラムメソッド

生体分子、凝集分析 (ペプチド、ポリペプチド、タンパク質) のサイズに基づく
分離のための初期条件の選択

ペプチド、ポリペプチド、タンパク質
MW >0.1 ~ 1,250 kDa

ペプチド、ポリペプチド、タンパク質
MW >0.1 ~ 10,000 kDa

分子量範囲とポアサイズに基づくカラムの選択

Agilent Bio SEC-3 (3 µm)

ポアサイズ	MW 範囲、kDa
100 Å	0.1-100
150 Å	0.5-150
300 Å	5-1,250

Agilent Bio SEC-5 (5 µm)

ポアサイズ	MW 範囲、kDa
100 Å	0.1-100
150 Å	0.5-150
300 Å	5-1,250
500 Å	15-5,000
1000 Å	50-7,500
2000 Å	>10,000

推奨する初期分離条件

カラム: Agilent Bio SEC (3 µm および 5 µm)
移動相: 150 mM リン酸緩衝液、pH 7.0*
グラジエント: 30 ~ 60 分の範囲のアイソクラティック

温度: 推奨:10 ~ 30 °C、最高温度:80 °C
流量: 0.1 ~ 0.4 mL/min (内径 4.6 mm カラムの場合)
 0.1 ~ 1.25 mL/min (内径 7.8 mm カラムの場合)

サンプルサイズ: 総カラムボリュームの 5 % 未満

* 高および低塩濃度のさまざまな水溶性緩衝液を使用可能

詳細については、アプリケーションノート『Defining the Optimum Parameters for Efficient Size Separations of Proteins』 (5990-8895EN) を参照してください。

最初分離後、分離のさらなる向上、タンパク質溶解度の維持、サンプルとクロマトグラフィー充填剤との相互作用の軽減のために、さらに変更が必要になることがあります。最適な分離を実現するために、移動相のイオン強度を調整します。pH も、通常は + 0.2 単位で調整できます。さらに最適化が必要な場合は、範囲を拡張する必要があります。温度の変更や、有機溶媒を追加することも検討します。



その他の塩が必要なプロトコルでは、次の緩衝液が一般的です。

50 mM リン酸ナトリウム、pH 7.0 中に 100 ~ 150 mM の塩化ナトリウム

50 mM リン酸ナトリウム、pH 7.0 中に 100 ~ 150 mM の硫酸ナトリウム

50 mM リン酸ナトリウム、pH 7.0 中に 50 ~ 100 mM の尿素

その他の類似した塩 (KCl など) や塩酸グアニジンも使用できます。

pH 範囲 :

2.0-8.5

添加可能な有機溶媒 :

50 mM リン酸ナトリウム、pH 7.0 中に 50 ~ 10 % のエタノール (またはその他の類似した溶媒)

50 mM リン酸ナトリウム、pH 7.0 中に 5 % の DMSO

温度 :

通常は、SEC の分離は 20 ~ 30 °C で行います。タンパク質や疎水性ペプチドの分解能と回収率の両方を向上するために、タンパク質とペプチドの分離に高い温度が必要になることがあります。

高感度キャピラリーカラムメソッド

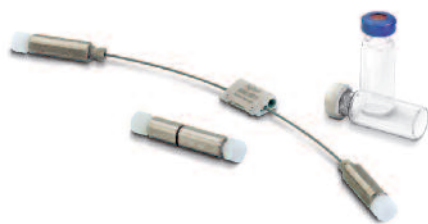
移動相についての検討事項

低 pH

タンパク質およびペプチドの LC/MS 分離には、一般に TFA は使用されません。通常は、最初のステップとして TFA を 0.1 ~ 1.0 % 酢酸に置き換えます。濃度 1 % までの酢酸を代わりの移動相添加剤として使用することもできます。低 pH では、移動相に TFA を添加した場合に最良の分離が得られることがあります。場合によっては、カラムからの流出後にプロピオン酸などの別種の酸で TFA を置き換えることができます。

中 ~ 高 pH

LC/MS は、10 ~ 20 mM NH_4OH を移動相添加剤として使用し、高 pH で実行することもできます。



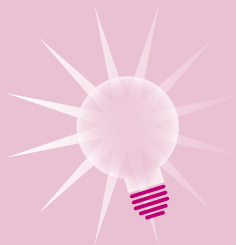
キャピラリーカラムとナノカラム

- 試料量がごく限られている場合に非常に高い感度を発揮
- あらゆる LC/MS インタフェースに対応
- 内径 0.5mm、0.3mm、0.1mm、0.075mm を用意
- 充填剤/結合相は小さい分子量から大きい分子量までに対応可能 (それぞれポアサイズ 80Å と 300Å)
- 一次元 (1-D)、二次元 (2-D、プロテオミクス) アプリケーションに最適なカラム

ヒントとテクニック

クロマトグラフィーの技術向上に役立つ各種の e セミナーとオンサイトトレーニングを用意しています。

詳細については、
www.agilent.com/chem/jp を
ご覧ください。



Agilent ZORBAX キャピラリーカラム (内径 0.5 mm、0.3 mm) およびナノカラム (内径 0.1 mm、0.075 mm) は、幅広い種類の結合相、ポアサイズ、寸法から選択可能です。これらのカラムは、カラム内でのサンプル希釈を減らして感度を高めるため、サンプル量が非常に限られている分析に理想的なカラムです。Agilent カラム、低分散 HPLC 装置を使えば、高感度に加えて比類ない再現性を得ることができます。複雑なプロテオミクスサンプルの二次元 LC/MS 分析で、キャピラリー、ナノカラムの使用が急速に進んでいます。アジレントは、二次元分離に必要とされているすべてのカラム、一次元用の SCX カラム、逆相トラップカラム、二次元用の逆相カラムを提供しています。



ZORBAX ナノカラム、LC/MS による 高感度タンパク質消化物分析

カラム: ZORBAX 300SB-C18
5065-9911
0.075 x 150 mm, 3.5 μ m

移動相: A: 水 + 0.1 % ギ酸、
B: ACN + 0.1 % ギ酸

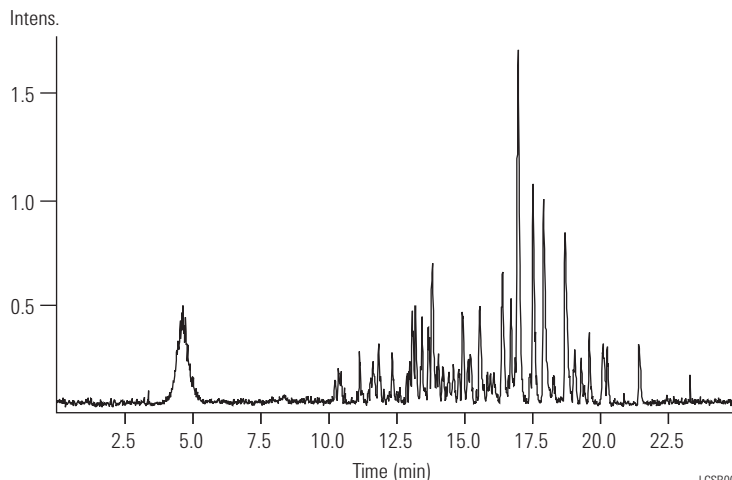
流量: 600 nL/min

グラジエント: 25 分で 2 % B から 52 % B に

検出器: ポジティブイオンナノエレクトロ
スプレー MS

サンプル: 8 種類のタンパク質の 100 fm
(1 μ l) 消化物

ZORBAX ナノ HPLC カラム (内径 0.075 mm) は、
LC/MS によるタンパク質消化物の高感度分析
を実現します。



LCSB008

キャピラリーカラムによる高感度分析

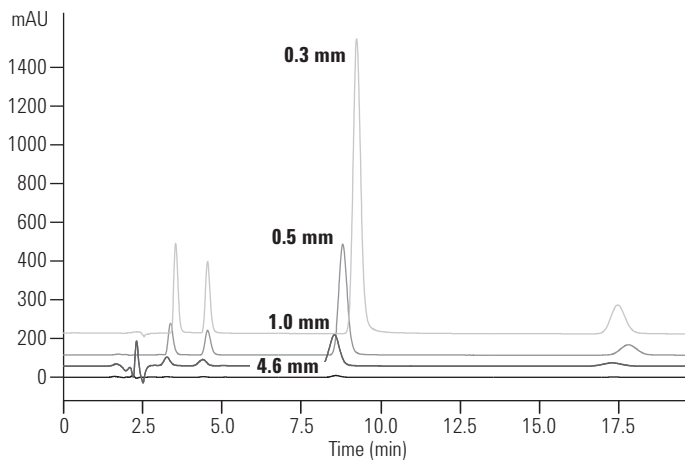
カラム: ZORBAX SB-C18
5064-8255
0.3 x 150 mm, 5 μ m

カラム: ZORBAX SB-C18
5064-8256
0.5 x 150 mm, 5 μ m

カラム: ZORBAX SB-C18
863600-902
1.0 x 150 mm, 3.5 μ m

カラム: ZORBAX SB-C18
883975-902
4.6 x 150 mm, 5 μ m

サンプル: 200 ng ビフェニル



LCCN002

試料量の限られた分析では、カラム内希釈を最小限にとどめ、感度を高めるためにキャピラリーサイズのカラムが必要とされます。この例では、0.3 mm キャピラリーカラムは標準的な 4.6 mm カラムに比べて 100 倍の感度があることが示されています。微量サンプルアプリケーションでは、アジレントのナノボアカラム (内径 0.1 ~ 0.075 mm) を使用して最高で 2000 倍もの感度向上を得ることができます。

ヒト血清 : LC/MS による低存在量タンパク質の分離と同定

カラム : ZORBAX 300SB-C18
 Trap: 0.3 x 5 mm, 5 μm, 5065-9913
 Analytical: 0.3 x 150 mm, 5 μm, 5064-8263

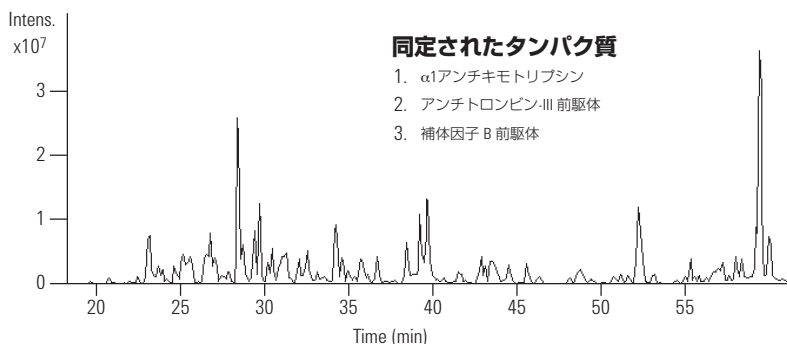
移動相 : A: 水 + 0.1 % ギ酸
 B: アセトニトリル + 0.1 % ギ酸

流量 : 6 μL/min

グラジエント : 0 min 3 % B
 5 min 3 % B (loading)
 50 min 45 % B
 52 min 80 % B
 57 min 80 % B
 60 min 3 % B

サンプル : ヒト血清、1-D gel digest

ベースピーククロマトグラム



サンプル前処理 :
 マルチプルアフィニティ除去カラム (4.6 x 100 mm, P/N 5185-5985) で主要タンパク質を除去した後、1-D gel digest を実施

LCBP014

キャピラリー LC カラムを使用した LC および LC/MS によるペプチドリノ酸化部位の検出

カラム : ZORBAX 300SB-C18
 5064-8268
 0.5 x 150 mm, 3.5 μm

移動相 : A: 水 + 0.1 % ギ酸
 B: アセトニトリル + 0.1 % ギ酸

流量 : 5.5 μL/min

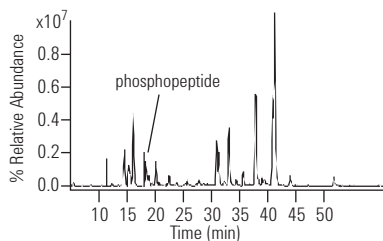
グラジエント : 5-55 % B in 50 min, to 85 % B from 55-57 min

検出器 : UV、206 nm

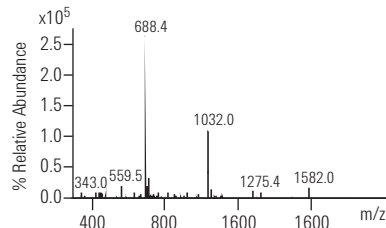
MS 条件
 LC/MS: ポジティブイオン ESI、LC/MSD トラップ付き
 Vcap: 4,000 V
 乾燥ガス流量: 7 L/min
 乾燥ガス温度: 250 °C
 ネブライザ: 15 psi
 キャピラリー出口電圧: 最大 50 V
 積算時間: 300 ms
 総平均: 3
 分離幅: 3 m/z
 フラグ振幅: 1.0 V

サンプル : ベータカゼイン消化物、100 nL (4 pmol)

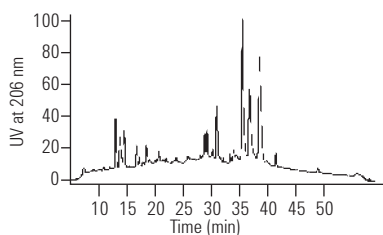
MS



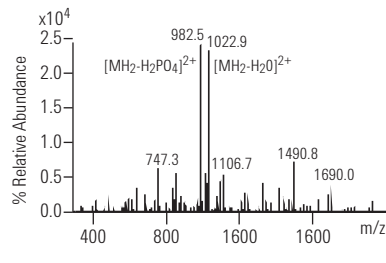
Full Scan MS



UV



MS/MS of [M+2H]²⁺ at m/z 1032



LCBP037

UV と MS 検出を用いたキャピラリーカラムによる HPLC 分析

カラム: ZORBAX 300SB-C18
5064-8263
0.3 x 150 mm, 5 μm

移動相: 50 分で 5 ~ 55 % B、55 ~ 57 分で 85 % B に
A: 水 + 0.1 % ギ酸
B: アセトニトリル + 0.1 % ギ酸

流量: 5.5 μL/min

検出器: UV、206 nm

MS 条件 LC/MS: ポジティブイオン ESI
LC/MSD トラップ -
Vcap 4000 V

乾燥ガス流量: 7 L/min

乾燥ガス温度: 250 °C

ネブライザ: 15 psi

キャピラリー出口電圧: 50 V

最大積算時間: 300 ms

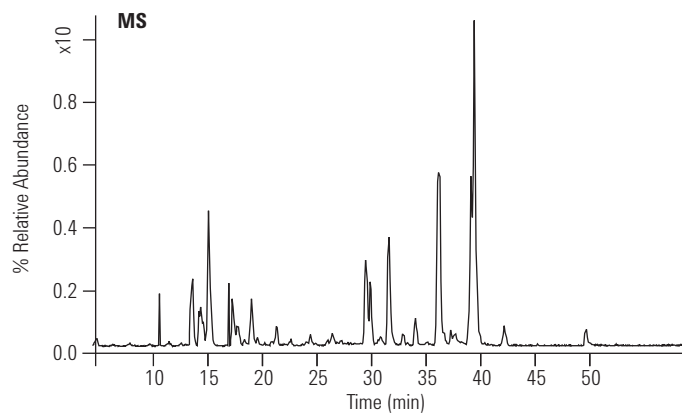
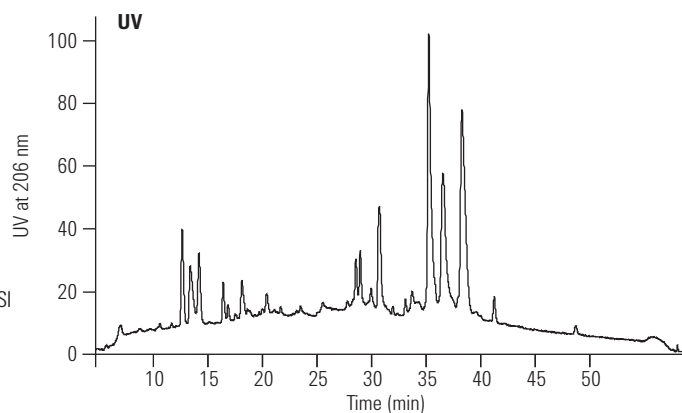
総平均: 3

分離幅: 3 m/z

フラグメンタ振幅: 1.0 V

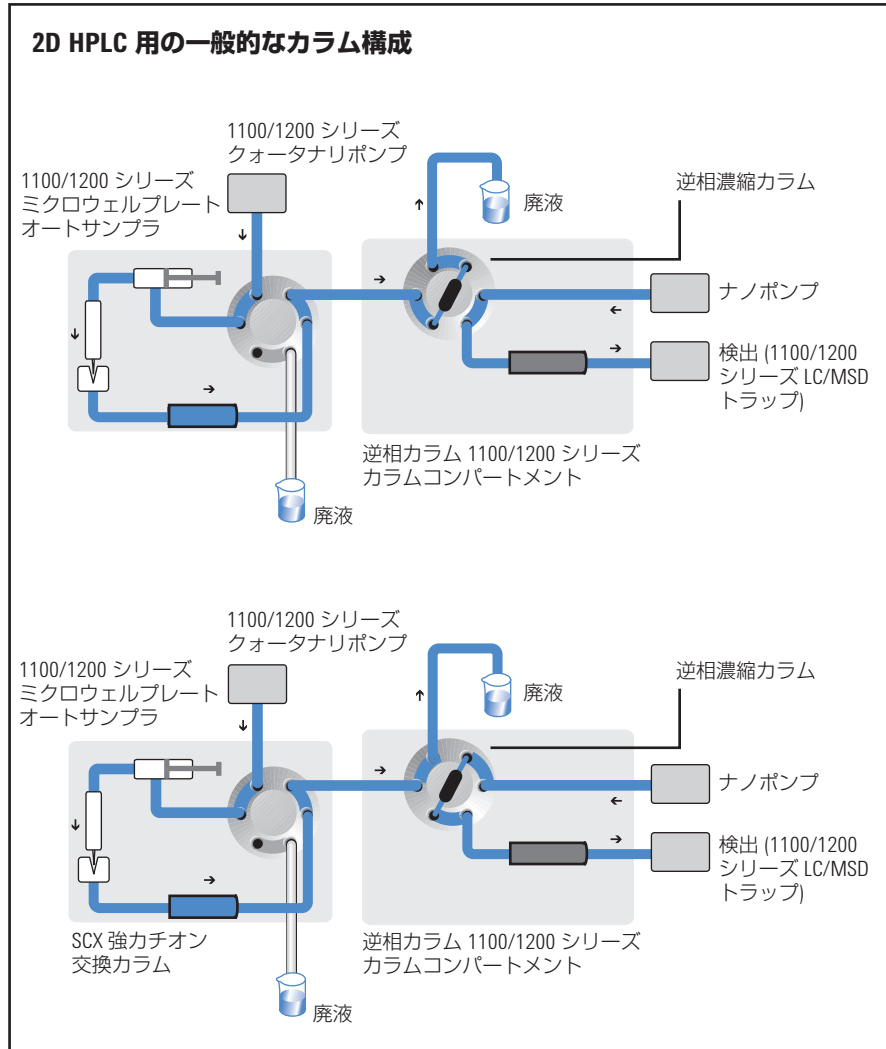
サンプル: 100 nL
ベータカゼイン消化物 (4 pmol)

ZORBAX 300SB-C18 キャピラリーカラム (内径 0.3 mm) を使用してタンパク質消化物を分離し、UV およびエレクトロスプレー MS で検出。MS 検出によりペプチド断片を検出できます。



LCSB007

キャピラリーカラムとナノカラムによる
2D LC/MS 分析



アジレントのカスタマイズされたナノフロープロテオミクスソリューションのフローパス。

1. サンプルローディング、SCX からの溶出、濃縮カラムへのトラップ
2. カラムコンパートメントのバルブスイッチ、濃縮カラムからの溶離、RP での分離、MS 分析

ナノ HPLC カラムを使った 二次元 HPLC のペプチド分析

カラム: ZORBAX 300SB-C18
5065-9913
0.3 x 5 mm, 5 μ m

カラム: ZORBAX 300SB-C18
5065-9911
0.075 x 150 mm, 3.5 μ m

移動相: クォータナリポンプ: 3%
アセトニトリル/0.1% ギ酸
ナノポンプ: A = 水、0.1% ギ酸、
B = ACN、0.1% ギ酸

流量: クォータナリポンプ: 30 μ L/min
ナノポンプ: 300 nL/min

グラジエント: クォータナリポンプ: アイソクラティック
ナノポンプ:
6分 = 3% B、120分 = 60% B、
125分 = 80% B、130分 = 80% B、
131分 = 3% B、140分 = 3% B

MS 条件

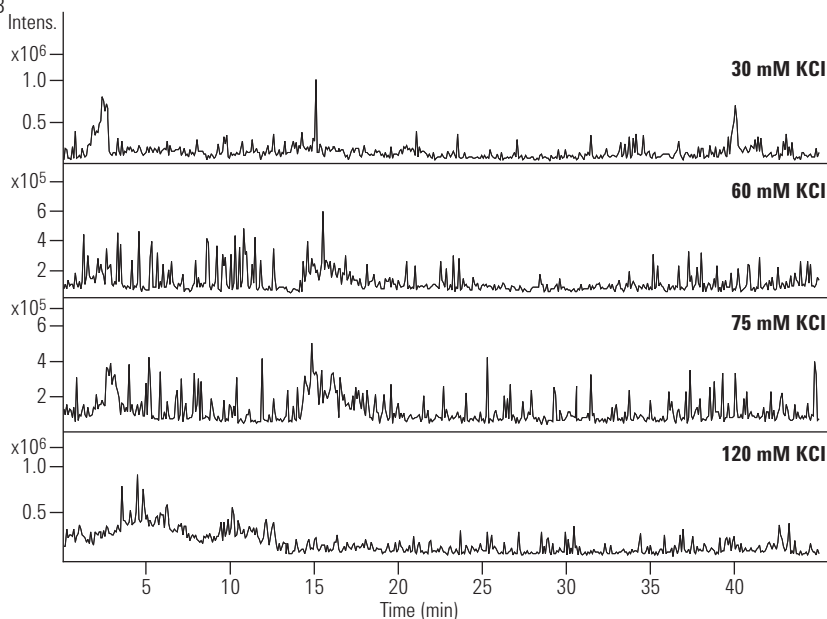
イオン源: Nano ESI、乾燥ガス流量: 5 L/min、
乾燥ガス温度: 225 $^{\circ}$ C

イオントラップ: スキム: 1:35 V、
キャピラリー出口オフセット: 115 V、オクタポール 1:12 V、
オクタポール 2:3.5 V、トラップドライブ: 80 V、
ICC: オン、平均: 4、最高積算時間: 150 ms、
ターゲット 60,000、イオンモードポジティブ、
MS/MS モード

サンプル:

ウシ血清アルブミンのトリプシン消化物
容量: 1 から 8 μ L
塩段階溶出: 8 mL の 10 mM-100 mM KCl を
(10 mM の増分)、125 mM、150 mM、200 mM、
300 mM、500 mM、1 M

ウシ血清アルブミン (BSA) のトリプシン消化物。ベースピーククロマトグラムでは、二次元 HPLC 分離によるフラクションの一部が現れています。シングルクロマトグラムは、所定の塩濃度で溶出した後、濃縮、逆相クロマトグラフィーで分離した BSA のペプチドを示しています。



LCCN004



ZORBAX Bio-SCX Series II

LC/MS を使ったペプチドとタンパク質の二次元分離の最適化を目的に設計された Bio-SCX シリーズ II カラムを提供しています。この充填剤は超高純度の ZORBAX シリカ粒子 (3.5 μm) を基材として、スルホン酸基を導入して機能性を持たせた生体高分子になじみの良いポリマーを化学的に結合してあります。このカラムを使えばペプチド、タンパク質の二次元分析のイオン交換段階で強い保持と優れたピーク形状を得ることができます。

カラム仕様

名称	ポアサイズ	表面積	pH 範囲	交換基	最大圧力
ZORBAX Bio-SCX シリーズ II	300 Å	90 m ² /g	2.5-8.5	スルホン酸	350 bar

ZORBAX Bio-SCX Series II

品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	Bio-SCX Series II
キャピラリー	0.3 x 35	3.5	5065-9912
キャピラリー	0.8 x 50	3.5	5065-9942



ZORBAX Bio-SCX シリーズ II の低分子量ペプチドに対する強い保持力

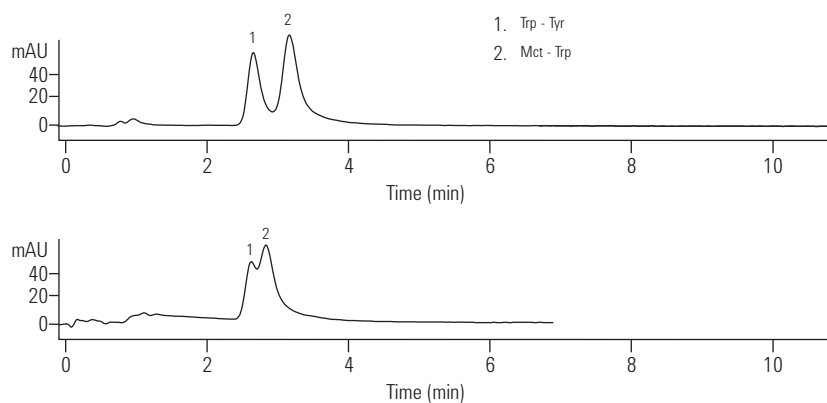
カラム: ZORBAX Bio SCX シリーズ II
5065-9912
0.3 x 35 mm, 3.5 μ m

移動相: 95 % 40 mM NaCl:5 % ACN,
0.3 % ギ酸

流量: 5 μ l/min

検出器: 230 nm

サンプル: 合成ジペプチド



LCIE002

ZORBAX Bio-SCX シリーズ II カラムには、小型のペプチドに対して他の SCX カラムよりも強い保持力が備わっています。その結果、親水性の高いペプチドフラグメントに対して高い分離能を示し、二次元 HPLC 分析でより正確な同定を行うことができますようになっています。

ZORBAX HPLC キャピラリーカラム (ガラスライニングステンレス)

品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	300SB-C18	300SB-C8	Poroshell 300SB-C8	300Extend C18	Bio-SCX シリーズ II
キャピラリー	0.8 x 50	3.5					5065-9942
キャピラリー	0.5 x 250	5	5064-8266				
キャピラリー	0.5 x 150	5	5064-8264				
キャピラリー	0.5 x 75	5			5065-4468		
キャピラリー	0.5 x 35	5	5064-8294				
キャピラリー RR	0.5 x 35	3.5	5065-4459				
キャピラリー	0.3 x 250	5	5064-8265				
キャピラリー	0.3 x 150	5	5064-8263				
キャピラリー	0.3 x 35	5	5064-8295				
キャピラリー	0.3 x 35	3.5					5065-9912
キャピラリー RR	0.3 x 150	3.5	5064-8267	5065-4460		5065-4464	
キャピラリー RR	0.3 x 100	3.5	5064-8259	5065-4461		5065-4465	
キャピラリー RR	0.3 x 75	3.5	5064-8270	5065-4462		5065-4466	
キャピラリー RR	0.3 x 50	3.5	5064-8300	5065-4463		5065-4467	
交換用スクリーン、10個			5065-4427	5065-4427	5065-4427	5065-4427	

ZORBAX ナノ HPLC カラム (PEEK)

品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7
ナノ RR	0.1 x 150	3.5	5065-9910	
ナノ RR	0.075 x 150	3.5	5065-9911	
ナノ RR	0.075 x 50	3.5	5065-9924	5065-9923
トラップ/ガード 5 個	0.3 x 5	5	5065-9913	5065-9914
トラップ/ガードハードウェアキット:			5065-9915	5065-9915



ZORBAX 300SB-C18 トラップ/ガード、
5065-9913



マイクロボア (内径 1.0 mm) カラム

- 少ないサンプル量でも高感度
- LC/MS インタフェースに対応
- 豊富な種類の結合相
- シリカ系およびポリマー系粒子

サンプル量が限られている場合、Agilent ZORBAX マイクロボア (内径1.0 mm) カラムが最適です。同じサンプル量の場合、内径 2.1 mm のカラムより検出限界を5 倍向上できます。この感度向上が、特に決定的に重要な条件になります。マイクロボアカラムは低流量 (一般的に最高で 50 $\mu\text{L}/\text{min}$) を使用します。そのため、これらのカラムは、LC/MS などの低流量が必要な検出器や、キャピラリー LC システムで使用するのに理想的です。

マイクロボアカラムは、マイクロボア用に設計あるいは変更された HPLC システムで最適に機能します。StableBond SB-C18 と SB-C8、300SB-C18、Eclipse XDB-C18 と XDB-C8、Bonus RP、Extend C-18、Poroshell カラムを含む種類豊富な結合相が耐圧 40 MPa で使用可能です。ガードカラムも、アップタイト (直結式) のものが用意されており、デッドボリュームなく接続できます。

ZORBAX MicroBore 300SB-C18 を使用した トリプシン消化物の分離

カラム: ZORBAX 300SB-C18
863630-902
1.0 x 150 mm, 3.5 μm

移動相: グラジエント: 60 分間で 2 ~ 60 % B

A: 0.1 % TFA

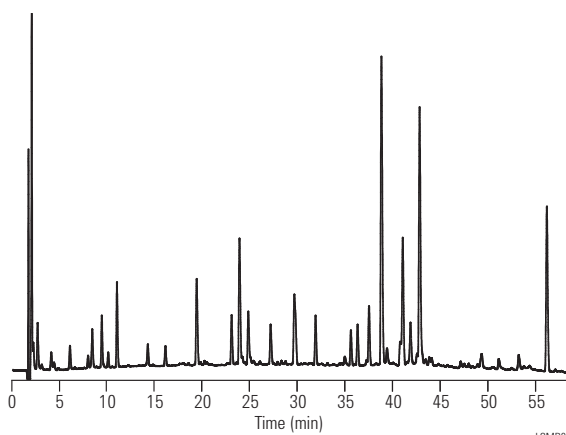
B: 0.075 % TFA/80 % ACN

流量: 50 $\mu\text{L}/\text{min}$

カラム温度: 50 $^{\circ}\text{C}$

検出器: UV、215 nm

サンプル: 2 μL
recombinant- ヒト成長ホルモンの
トリプシン消化物



マイクロボアカラムを使用して分離したトリプシン分解物の例では、内径 1.0 mm のカラムを使用して高感度と高分離が得られることが示されています。

高感度ペプチド分析用のマイクロボア HPLC

カラム: PLRP-S 100Å 5 μm、150 mm x 各種の内径

移動相: A:0.01 M トリス塩酸、pH 8
B:A + 0.35 M NaCl、pH 8

流量: 1 mL/min

グラジエント: リニア 20 % ACN、0.1 % TFA ~ 50 % ACN、0.1 % TFA で 15 分間

注入量: 0.5 μL

サンプル濃度: 0.25 mg/mL

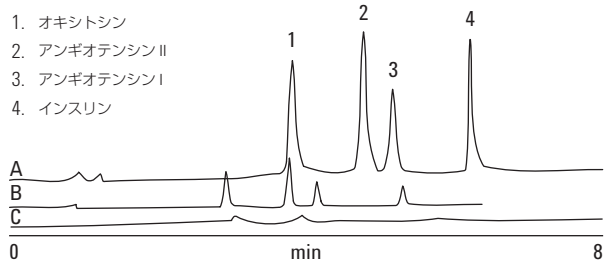
ピーク特定

A. 内径 1.0 mm (流量 47 μL/min)

B. 内径 2.1 mm (流量 200 μL/min)

C. 内径 4.6 mm (流量 1 mL/min)

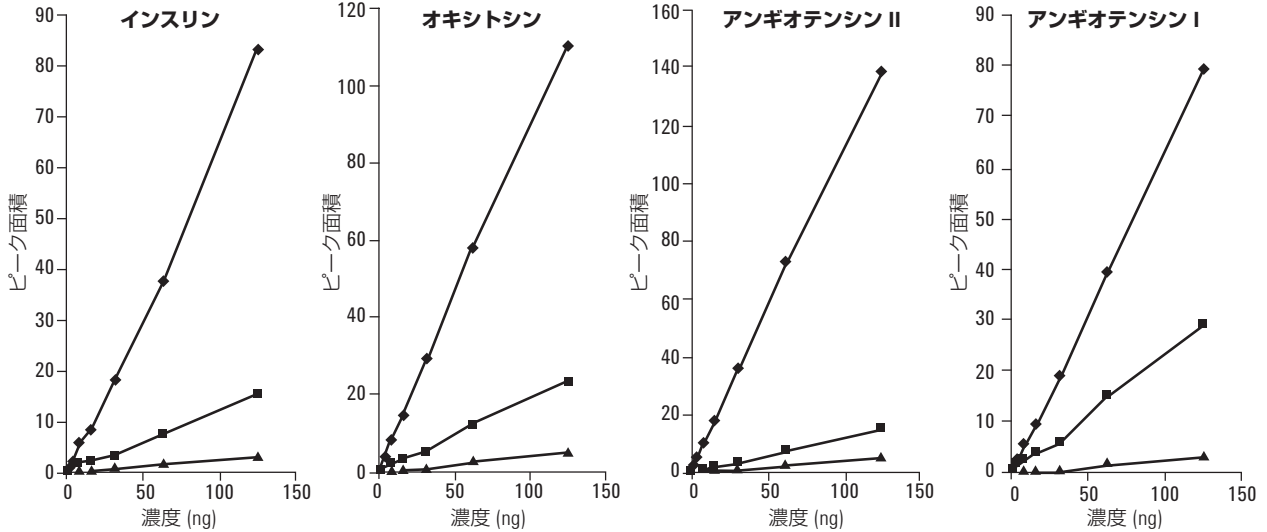
1. オキシトシン
2. アンギオテンシン II
3. アンギオテンシン I
4. インスリン



Agilent PLRP-S 100Å 5 μm カラムを使用したペプチドの分離

ピーク特定

- ◆ 1.0 mm
- 2.1 mm
- ▲ 4.6 mm



Agilent PLRP-S カラムでの標準曲線のデータポイントのグラフ

マイクロボア (内径 1.0 mm) カラム

マイクロボア (内径 1.0 mm)

品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7
マイクロボア	1.0 x 250	5	861630-902	
マイクロボア RR	1.0 x 150	3.5	863630-902	863630-906
マイクロボア RR	1.0 x 50	3.5	865630-902	865630-906
マイクロボアガード、3 個	1.0 x 17	5	5185-5920	5185-5920

品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	Poroshell 300SB-C18	Poroshell 300SB-C8	Poroshell 300SB-C3	Poroshell 300Extend-C18
マイクロボア	1.0 x 75	5	661750-902	661750-906	661750-909	671750-902
マイクロボアガード、3 個	1.0 x 17	5	5185-5968	5185-5968	5185-5968	

品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	PLRP-S 100 Å USP L21	PLRP-S 300 Å USP L21	PLRP-S 1000 Å USP L21	PLRP-S 4000 Å USP L21
マイクロボア	1.0 x 50	3	PL1312-1300	PL1312-1301		
マイクロボア	1.0 x 150	3	PL1312-3300			
マイクロボア	1.0 x 50	5	PL1312-1500		PL1312-1502	

品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
マイクロボア	1.0 x 50	5	PL1351-1502	PL1351-1503	PL1345-1502	PL1345-1503



精製 – 分取 HPLC

アジレントは、生体分子の精製用に、さまざまなシリカ系カラムとポリマー系カラム、および充填剤を提供しています。μg および mg レベルのバイオ医薬品候補物質の精製用に最適化された高効率の粒子径の小さい分取カラムのほか、開発およびプロセスカラムに充填し、100 g、kg、数 kg の API を精製するための全多孔質充填剤バルクも取り揃えています。

効率の高い精製専用設計されているカラムや、粒子径の小さい分析カラムからフルスケールの API の製造まで容易に拡張できるカラムがあります。図 1 に、分取カラム/充填剤オプションと精製可能な生成物の量を示します。

バイオ医薬品のライフサイクル		検出		開発	製造	
		μg	mg		g	kg
		高い効率			ハイスループット	
逆相	mRP-C18	→				
	ZORBAX Prep HT 300Å StableBond	→		→		
	VariTide RPC	→		→		
	PLRP-S 100Å、300Å、1000Å、4000Å	→		→	→	→
イオン交換	PL-SAX	→		→	→	→
	PL-SCX	→		→	→	→
サイズ排除	ZORBAX GF-250/450	→		→		

図 1: アジレントの生体分子精製用カラムおよび充填剤と適用途

精製カラムの選択

アプリケーション	モード	説明	Agilent カラム
プロテオミクス	逆相	プロテオミクスアプリケーション用のスペシャリスト向け高回収率カラム。 μg スケールの精製を最大の回収率で行うための設計。	mRP-C18
すべての生体分子	逆相	高効率 300 Å シリカ系粒子	ZORBAX PrepHT 300SB
合成ペプチド	逆相	合成ペプチドの精製用に設計されたポリマー系充填剤。幅広い合成ペプチド (酸性および塩基性、疎水性および親水性) の高効率シングルカラムソリューションで、溶液および固相合成により生成されるペプチドのサイズ範囲に対応。	VariTide RPC
すべての生体分子	逆相	ラボスケールにおける粒子径の小さい分取カラムを使用した高効率の精製から、プロセススケールにおける大きい粒子径を使用した高い回収率の生成物精製への拡張まで、幅広いポアサイズと粒子径を持つ最高のポリマー系逆相製品ファミリー。API を製造するために精製を拡張する場合は PLRP-S を使用。規制対応の書類が必要。 <ul style="list-style-type: none"> 高効率用の 3 μm および 5 μm 大規模な低圧精製用の 8 μm、10 μm、10 ~ 15 μm、15 ~ 20 μm、30 μm、50 μm 粒子 	PLRP-S
すべての生体分子	イオン交換	全多孔質強アニオン交換カラム <ul style="list-style-type: none"> 高効率分離用の 5 μm の粒子径 大規模な中～低圧精製用の 8 μm、10 μm、および 30 μm 粒子 	PL-SAX
		全多孔質強カチオン交換カラム <ul style="list-style-type: none"> 高効率分離用の 5 μm の粒子径 大規模な中～低圧精製用の 8 μm、10 μm、および 30 μm 粒子 	PL-SCX

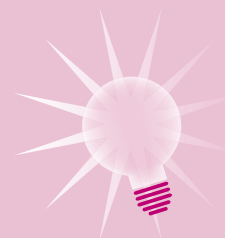


ヒントとテクニック

詳細については、次の資料を参照してください。(英語版)

Biomolecule Purification (5990-8335EN)

www.agilent.com/chem/library





ZORBAX PrepHT

- ZORBAX の結合相を使えば分析スケールから分取スケールに簡単にスケールアップが可能
- 2000 mg までの高速分取分離
- 高効率性、高収率をもたらす 5 μm 、7 μm の粒子径
- 取り付けやすいフィンガタイトコネクションシールにより、5000 psi/35 MPa までの圧力に対応
- 分取分離の分析相の選択性を維持

Agilent ZORBAX PrepHT カラムを使えば高純度、高回収率、ハイスルーブットも簡単に実現できます。StableBond 300Å、C18、C8、C3、CN など、どのような条件下でも最適な分解能とロード量を提供するさまざまな結合相を用意しています。

ZORBAX PrepHT カラムには 5 μm 、7 μm の粒子径で充填剤が詰められており、非常に高い分解能をもたらします。この高い分解能は高い試料負荷量をもたらし、高い収率、純度で化合物を分取することを可能にします。直径が大きく強度の高い ZORBAX 粒子は 100 mL/min までの流量を可能にし、スルーブットを高めます。

ZORBAX PrepHT カラムは、分解能を低下させることなく分析スケールから分取スケールにすばやくスケールアップできるように設計されています。複雑な分離目的に使用するサイズの大きいカラム (内径 21.2 mm 以上、長さ 150 mm 以上) には、高い効率性と高い試料負荷量のバランスを慎重に図った結果、7 μm の粒子径を選びました。

ZORBAX 300A StableBond

ハード ウェア	品名	寸法 (mm)	粒子径 (μm)	300SB-C18 USP L1	300SB-C8 USP L7	300SB-CN USP L10	300SB-C3 USP L56
PrepHT カートリッジカラム (エンドフィッティングキット 820400-901 が必要)							
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 250	7	897250-102	897250-106	897250-105	897250-109
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 150	7	897150-102	897150-106		897150-109
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 150	5	895150-902	895150-906		895150-909
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 100	5	895100-902	895100-906		895100-909
	PrepHT カートリッジ	21.2 x 50	5	895050-902	895050-906		895050-909
	PrepHT エンドフィッティング、2 個			820400-901	820400-901	820400-901	820400-901
	PrepHT ガードカートリッジ、2 個	17.0 x 7.5	5	820212-921	820212-918	820212-924	820212-924
	ガードカートリッジハードウェアキット			820444-901	820444-901	820444-901	820444-901



逆相系分取・プロセス用 PLRP-S

- μg スケールから kg 製造スケールまで対応
- 分離、最適化、クリーニング、再生時の化学的安定性により選択性とカラム寿命が延長
- 複数のカラムを1つのバッチで充填することでシステムのダウンタイムを短縮し、バリデーションコストを削減

頑丈なポリスチレンジビニルベンゼンからなる PLRP-S は、低分子から高分子まで、また生体高分子に至るまで幅広い化合物の分離を行えるよう、様々なポアサイズの充填剤を用意しています。温度および化学的安定性に優れているため、サンプル前処理、化合物の溶出、およびカラムの再生に極端な条件が必要な精製に理想的です。

保持容量と分解能は、化合物精製の効率を左右する重要なポイントです。さまざまな分析条件を適用できる PLRP-S は、化合物精製の可能性をさらに広げます。3 μm から 50 μm の粒子径により、 μg スケールから数 kg の cGMP 製造スケールまで対応しています。優れた化学的安定性 (最大 1 M NaOH) により、カラム寿命を延ばすためのクリーニングと再生が可能になります。PLRP-S の最大 600 L のバッチサイズにより、複数のカラムを 1 回のバッチで充填できます。

高品質な製品を継続的にかつ確実に提供するために、アジレントでは文書で規定された方法に従い、すべての製造工程を厳格に管理しています。なお、この製品に関しては Type II Drug Master File および関連規制法に基づいて製造され、製造工場においても定期的な監査を受けています。



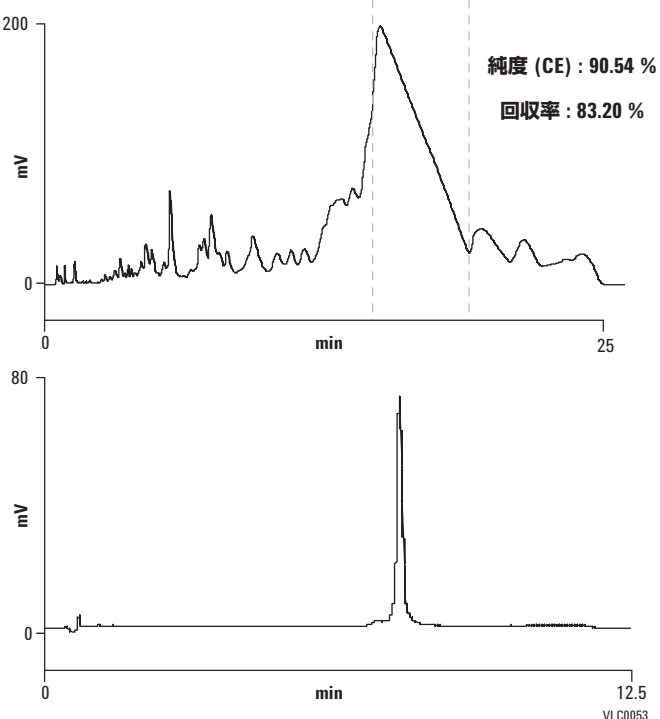
分取・プロセス用 PLRP-S アプリケーションガイド

目的・対象	PLRP-Sのポアサイズ			
	100 Å	300 Å	1000 Å	4000 Å
合成生体高分子、ペプチド、オリゴヌクレオチド	◆	◆		
遺伝子組み換え生体高分子、ペプチド、タンパク質	◆	◆		
巨大生体高分子、抗体、DNA 断片			◆	◆
低分子化合物、金属感受性の高い不安定化合物	◆			

カラム仕様

使用可能 pH 範囲	1-14
緩衝液種類	制限なし
使用可能有機溶媒濃度	1-100 %
使用可能最高温度	200 °C
使用可能最大圧力	5 ~ 8 μm: 3000 psi (21 MPa) 3 μm: 4000 psi (30 MPa)

25 mer のトリチロフオリゴヌクレオチドの精製と、
PLRP-S 100Å、4.6 x 50 mm を使用した分画の
定量分析



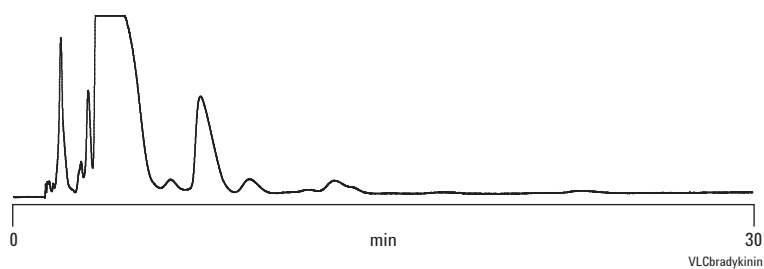
未精製ブラジキニンの分取分析

カラム : PLRP-S 100 Å
PL1512-5100
4.6 x 250 mm, 10 μm

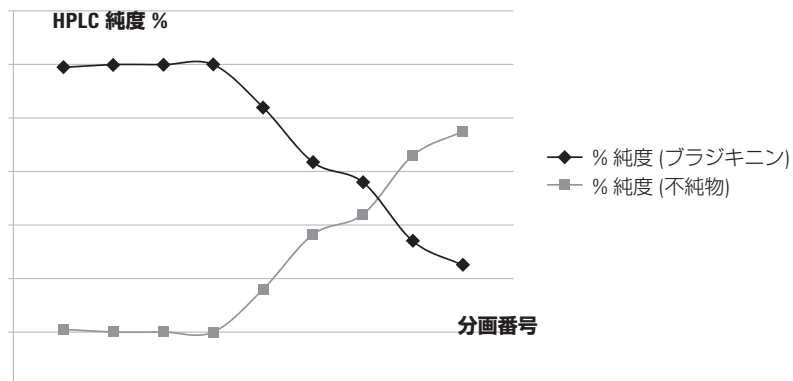
サンプル : 30 μL に未精製ペプチドを 1.5 mg 含む

移動相 : 21 % ACN 中 0.1 % TFA : 79 % 水

流量 : 1 mL/min (360 cm/hr)



分画分析 – 濃度過負荷条件での精製



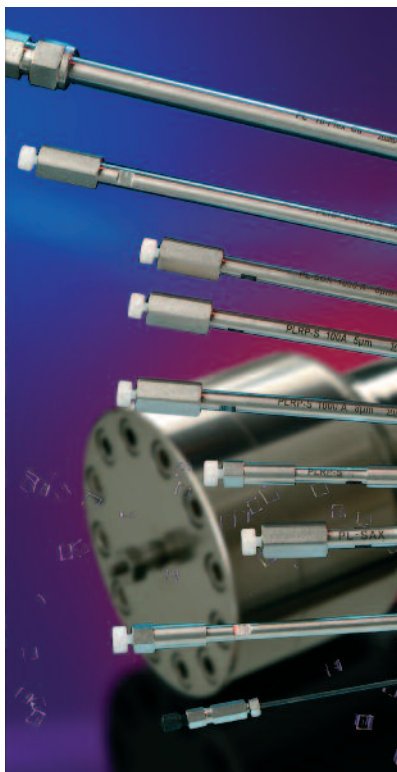
分取・プロセス用 PLRP-S

寸法 (mm)	粒子径 (μm)	PLRP-S 100 Å	PLRP-S 300 Å	PLRP-S 1000 Å	PLRP-S 4000 Å
100 x 300	30			PL1812-3102	PL1812-3103
100 x 300	15-20	PL1812-6200	PL1812-6201		
100 x 300	10-15	PL1812-6400	PL1812-6401		
100 x 300	10	PL1812-6100	PL1812-6101		
100 x 300	8	PL1812-6800	PL1812-6801		
50 x 300	8	PL1712-6800	PL1712-6801		
50 x 150	30			PL1712-3702	PL1712-3703
50 x 150	15-20	PL1712-3200	PL1712-3201		
50 x 150	10-15	PL1712-3400	PL1712-3401		
50 x 150	10	PL1712-3100	PL1712-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
50 x 150	8	PL1712-3800	PL1712-3801		
25 x 300	15-20	PL1212-6200	PL1212-6201		
25 x 300	10-15	PL1212-6400	PL1212-6401		
25 x 300	10	PL1212-6100	PL1212-6101		
25 x 300	8	PL1212-6800	PL1212-6801		
25 x 150	30			PL1212-3702	PL1212-3703
25 x 150	10	PL1212-3100	PL1212-3101	PL1712-3102	PL1712-3103
25 x 150	8	PL1212-3800	PL1212-3801		
25 x 50	10			PL1212-1102	PL1212-1103
PLRP-S メソッド開発カラム					
4.6 x 250	30			PL1512-5702	PL1512-5703
4.6 x 250	15-20	PL1512-5200	PL1512-5201		
4.6 x 250	10-15	PL1512-5400	PL1512-5401		
4.6 x 250	10	PL1512-5100	PL1512-5101	PL1512-5102	PL1512-5103
4.6 x 250	8	PL1512-5800	PL1512-5801		
4.6 x 150	30			PL1512-3702	PL1512-3703
4.6 x 150	15-20	PL1512-3200	PL1512-3201		
4.6 x 150	10-15		PL1512-3401		
4.6 x 150	10	PL1512-3100	PL1512-3101	PL1512-3102	PL1512-3103
4.6 x 150	8	PL1512-3800	PL1512-3801		

PLRP-S 充填剤バルク

粒子径 (μm)	入数	PLRP-S 100 Å	PLRP-S 200 Å	PLRP-S 300 Å	PLRP-S 1000 Å	PLRP-S 4000 Å
50	1 kg	PL1412-6K00	PL1412-6K05	PL1412-6K01	PL1412-6K02	
	100 g	PL1412-4K00	PL1412-4K05	PL1412-4K01	PL1412-4K02	
30	1 kg				PL1412-6702	PL1412-6703
	100 g				PL1412-4702	PL1412-4703
15-20	1 kg	PL1412-6200	PL1412-6201			
	100 g	PL1412-4200	PL1412-4201			
10-15	1 kg	PL1412-6400	PL1412-6401			
	100 g	PL1412-4400	PL1412-4401			
10	1 kg	PL1412-6100	PL1412-6101		PL1412-6102	PL1412-6103
	100 g	PL1412-4100	PL1412-4101		PL1412-4102	PL1412-4103
8	1 kg	PL1412-6800	PL1412-6801			

大量のご注文については、担当営業にお問い合わせください。



分取・プロセス用 PL-SAX および PL-SCX

- あらゆる pH で性能を発揮するポリマー系強イオン交換カラム
- 高流速と迅速な平衡化より精製サイクルを短縮
- 大きなポアサイズで生体高分子を効率よく精製

アジレントは、生体高分子の分取精製用の PL-SAX 強陰イオン交換ポリマー系 HPLC カラムと、PL-SCX 強陽イオン交換ポリマー系 HPLC カラムを製造・販売しています。これらのカラムは分析カラムから分取カラムまで、さまざまなカラムサイズを取り揃えています。また、バルク供給も可能です。アジレントはすべての製品を ISO 9001:2000 認可工場で作っています。

1000 Å のポアサイズは大容量の精製に使用し、高い質量移動性能を備えた 4000 Å ギガポア粒子は、分子量の大きい生体分子や高速、高分離能の精製に使用します。



充填剤仕様

	PL-SAX	PL-SCX
基材材質	ポリマー系	ポリマー系
ポアサイズ	1000 Å、4000 Å	1000 Å、4000 Å
粒子径	10 μm、30 μm	10 μm、30 μm
充填剤の形状	球状	球状
結合官能基	4 級アミン	スルホン酸
使用可能最大圧力	3000 psi	3000 psi
使用可能最高温度	80 °C	80 °C
使用可能 pH 範囲	1-14	1-14
緩衝液種類	すべての陰イオン交換緩衝液	すべての陽イオン交換緩衝液
充填剤密度	0.39 g/mL	0.39 g/mL

分子量の大きいオリゴヌクレオチドの精製

カラム: PL-SAX 1000 Å, 8 μm

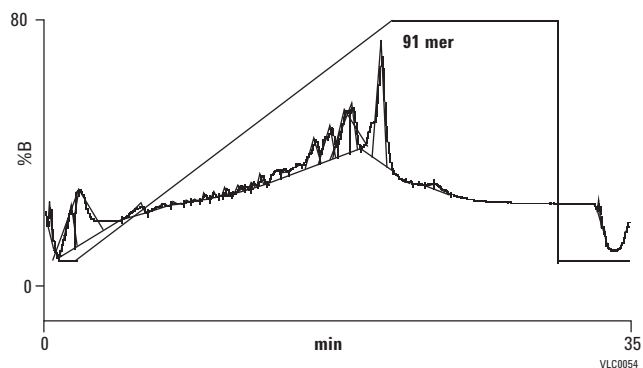
移動相: A: 93 % 0.1 M TEAA、pH 7.7 % ACN
 B: 93 % 0.1 M TEAA、
 3.24 M 酢酸アンモニウム、pH 7.7 % ACN

グラジエント: 20 分で 0 ~ 100 % B

流量: 1.5 mL/min

カラム温度: 60 °C

検出器: UV、290 nm



Agilent PL-SAX 4000Å を使用した アミログルコシダーゼが含まれる 培養濾液の分取分画

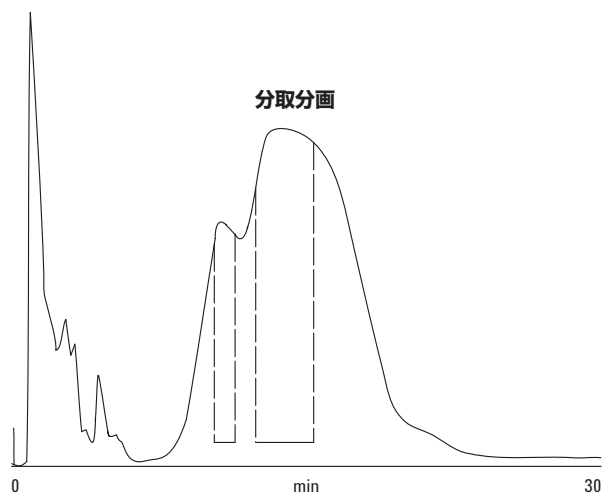
カラム: PL-SAX
 PL1551-1803
 4.6 x 50 mm, 8 μm

移動相: A: 0.01 M トリス塩酸、pH 8
 B: A + 0.5 M NaCl、pH 8

流量: 4.0 mL/min

グラジエント: 0 ~ 100 % B (2 分)

検出器: UV、280 nm





分取・プロセス用 PL-SAX および PL-SCX

寸法 (mm)	粒子径 (μm)	PL-SAX 1000Å	PL-SAX 4000Å	PL-SCX 1000Å	PL-SCX 4000Å
100 x 300	30	PL1851-3102	PL1851-3103	PL1845-3102	PL1845-3103
100 x 300	10	PL1851-2102	PL1851-2103	PL1845-2102	PL1845-2103
50 x 150	30	PL1751-3702	PL1751-3703	PL1745-3702	PL1745-3703
50 x 150	10	PL1751-3102	PL1751-3103	PL1745-3102	PL1745-3103
25 x 150	30	PL1251-3702	PL1251-3703	PL1245-3702	PL1245-3703
25 x 150	10	PL1251-3102	PL1251-3103	PL1245-3102	PL1245-3103
25 x 50	10	PL1251-1102	PL1251-1103	PL1245-1102	PL1245-1103
7.5 x 150	8	PL1151-3802	PL1151-3803		
7.5 x 50	8	PL1151-1802	PL1151-1803	PL1145-1802	PL1145-1803

PL-SAX および PL-SCX メソッド開発カラム

4.6 x 250	30	PL1551-5702	PL1551-5703	PL1545-5702	PL1545-5703
4.6 x 250	10	PL1551-5102	PL1551-5103	PL1545-5102	PL1545-5103
4.6 x 150	30	PL1551-3702	PL1551-3703	PL1545-3702	PL1545-3703
4.6 x 150	10	PL1551-3102	PL1551-3103	PL1545-3102	PL1545-3103

PL-SAX および PL-SCX 充填剤バルク

粒子径 (μm)	入数	PL-SAX 1000 Å	PL-SAX 4000 Å	PL-SCX 1000 Å	PL-SCX 4000 Å
30	1 kg	PL1451-6702	PL1451-6703	PL1445-6702	PL1445-6703
	100 g	PL1451-4702	PL1451-4703	PL1445-4702	PL1445-4703
10	1 kg	PL1451-6102	PL1451-6103	PL1445-6102	PL1445-6103
	100 g	PL1451-4102	PL1451-4103	PL1445-4102	PL1445-4103

大量のご注文については、担当営業にお問い合わせください。



ペプチド精製

VariTide は、合成ペプチドの生成にコストパフォーマンスの高いソリューションを提供します。このカラムは、 μg から g のスケールで、大量の合成ペプチド精製のコストと効率を管理することができます。VariTide は、少量多品目のペプチドを短時間で生産しなければならない場合に最適です。

合成ペプチド用 VariTide RPC カラム

- 1つのカラムでほとんどの合成ペプチドに対応
- 1 および 2 インチの分取カラムを使用した場合でも小さい粒子サイズで最大の効率
- 1 および 2 インチ分取カラムに充填する充填剤バルクにより mg から g レベルの精製が可能

アジレントは生産性を高め、合成ペプチドの分析・分取を経済的に行うポリマー系 HPLC カラム、VariTide を開発しました。ポリマー系カラムであることから、様々な範囲の pH で使用可能で、酸性/塩基性/親水性/疎水性ペプチドのいずれも、この VariTide で分析・分取を行うことができます。

合成ペプチド用 VariTide RPC カラム

寸法(mm)	部品番号
21.2 x 250	PL1E12-5A05
10.0 x 250	PL1012-5A05
4.6 x 250	PL1512-5A05

VariTide RPC 充填剤バルク

品名	部品番号
100 g	PL1412-4A05
1 kg	PL1412-6A05

粗精製ペプチドのスクリーニング

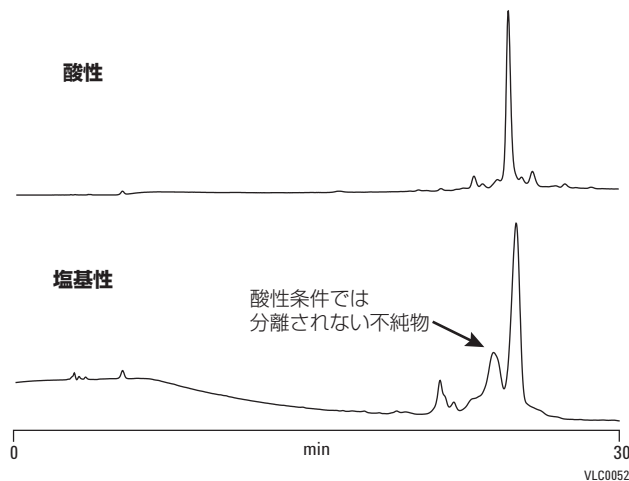
カラム: VariTide RPC
PL1512-5A05
4.6 x 250

移動相: 酸性
A: 95 % TFA 水溶液 (0.1 %) : 5 % アセトニトリル
B: 50 % TFA 水溶液 (0.1 %) : 50 % アセトニトリル
塩基性
A: 5 % アセトニトリル、
95 % 20 mm 炭酸アンモニウム pH 9.5
B: 50 % アセトニトリル、
50 % 20 mm 炭酸アンモニウム pH 9.5

流量: 1.0 mL/min (360 cm/h)

グラジエント: 30分で0 ~ 100 % B

検出器: UV、220 nm



VariPure IPE

- 球状ポリマーを使用し粒度分布を狭く設定
- 少量でも再現性の高いフローを提供
- 高純度なサンプルを低コスト・高回収率で獲得

VariPure IPE は、対イオンとして炭酸イオンを結合した第 4 級アミンを官能基として持つポリマー系の固相抽出カラムで、TFA やギ酸、酢酸などの酸性イオンペア剤の除去用として開発されました。通常の固相抽出カラムに比べて、使用法も簡単で、さらに効率よく酸性イオンペア剤を除去します。適切に調整した粒子径と充填剤量によって、自然落下でも十分なイオンペア剤除去能力を発揮します。特に酸性条件下で不安定なペプチドでは、イオンペア剤を除去することによってペプチドの損失を防ぎ、純度と回収率が向上します。

VariPure IPE

充填剤量	イオンペア剤除去能力	入数	部品番号
100 mg/3 mL	0.1 % の TFA で 5 mL まで	50 個	PL3540-D603VP
500 mg/6 mL	0.1 % の TFA で 25 mL まで	50 個	PL3540-C603VP
1 g/20 mL	0.1 % の TFA で 50 mL まで	25 個	PL3540-P603VP
25 g			PL3549-3603VP

Load & Lock 分取 HPLC カラム 充填システム

アジレントは、ラボスケールおよびプロセススケールの分取用 LC である、さまざまな大きさの Load & Lock カラムを提供しています。容易かつ迅速に充填でき、高効率の分取用カラムをすばやく作成できるように設計されています。医薬品化合物、ペプチド、および天然物の開発 (数グラム) から製造 (数キログラム) までのアプリケーションに最適なソリューションです。このカラムには生産性を最大限に高めるため、独特な移動相分散システムが備わっています。このシステムは、動的軸圧縮 (DAC) と静的「ロック」軸圧縮 (SAC) を備えており、容易な操作が可能になるように設計されています。

ラボスケール Load & Lock カラム





- 1つのパッキングステーションで3サイズのカラムをサポート
- 電源は必要なし (敷設するエアコンプレッサーには必要)
- 迅速かつ簡単に充填剤を充填

アジレントのラボスケール Load & Lock カラムには、カラム内に移動相を均一に通液させ、高度な精製を達成させるシステムを搭載しています。カラムの大きさは、内径 1 インチ (25 mm)、2 インチ (50 mm)、3 インチ (75 mm) の3種類があります。別途ご用意いただくエアコンプレッサー以外、電源は必要ありません。簡単に脱着できるシングルボルトクランプによって、充填作業を短時間で行うことができます。

Load & Lock 分取 HPLC カラム充填システム





品名	ウォータージャケット	寸法(mm)	部品番号
Load & Lock 4001 カラム	No	25.0 x 500	PCG93LL500X25
	Yes	25.0 x 500	PCG93LL500X25WJ
	スペアパーツ キット		PCG931AAKIT
Load & Lock 4002 カラム	No	50.0 x 500	PCG93LL500X50
	Yes	50.0 x 500	PCG93LL500X50WJ
	スペアパーツ キット		PCG932AAKIT
Load & Lock 4003 カラム	No	75.0 x 500	PCG93LL500X75
	Yes	75.0 x 500	PCG93LL500X75WJ
	スペアパーツ キット		PCG933AAKIT
可動型パッキングステーション			PCG93LLSTAND123

ガードカラム

カートリッジ選択ガイド			
アイコン	カートリッジの種類	特徴	効果
	ZORBAX ガード カートリッジ： スタンドアロンシステム	高効率、スタンドアロン、低デッドボリュウムカートリッジ 金属面に対して漏れをなくした樹脂カートリッジ 再使用可能なフィッティング	最高 400 bar (40MPa) まで密閉 ガスケットは必要なし PEEK より溶媒耐性が高い 1/16 インチ LC フィッティングへの 接続に適合
	ZORBAX セミ分取ガード HPLC ハードウェアキット： スタンドアロンシステム	簡単な低デッドボリュウムアセンブリ 金属面に対して漏れをなくしたチューブ (ポリフェニレンスルホン) 再使用可能なフィッティング	最高 2,000 psi (135 bar, 13.5MPa) まで 密閉 ガスケット不要 1/16 インチ LC フィッティングへの 接続に適合
	ZORBAX および Agilent 分取 カートリッジカラムおよび ガード HPLC システム： スタンドアロンおよび一体 型ハードウェアオプション	簡単な低デッドボリュウムアセンブリ 再使用可能なフィッティング 一体型または外部ガード用のハードウェアオプション	カラムの寿命を伸ばす 迅速なカラム交換が可能 内径 21.1 mm および 30 mm のカラム に使用可能
	MetaGuard カラムハード ウェア： 完全なシステムと交換用 カートリッジ	高い効率 低デッドボリュウム 再使用可能なホルダ	経済的 迅速なカートリッジ交換 長いカラム寿命

*各種ガードカートリッジハードウェアシステムに対応するガードカートリッジについては、アイコンを確認して選択してください。

カートリッジ/ガードカートリッジシステム互換性ガイド*

アイコン	カラムの種類	ガードカートリッジホルダ	内径 (mm)	相
	標準フィッティング	カラムガードカートリッジ (スタンドアロン) カートリッジホルダ 820999-901	2.1 3.0 4.6	ZORBAX
	セミ分取カラム	セミ分取ガードカートリッジ (スタンドアロン) カートリッジホルダ 840140-901	9.4	ZORBAX
	PrepHT	ガードカートリッジ 820444-901	21.2	ZORBAX Agilent Prep
	分析用	ガードカートリッジホルダ (PL1310-0016) および PLRP-S ガードカートリッジ、 2 個 (PL1612-1801)	3.0	PLRP-S
		ガードカートリッジホルダ (PL1310-0016) および PL-SAX ガードカートリッジ、 2 個 (PL1651-0102)	3.0	PL-SAX
		ガードカートリッジホルダ (PL1310-0016) および PL-SCX ガードカートリッジ、 2 個 (PL1645-0102)	3.0	PL-SCX

*スタンドアロンのガードカートリッジは、アジレントが販売するすべてのカートリッジおよびフィッティングカラムに適合します。アイコンのないカラムはすべてスタンドアロンのフィッティングカラムです。

USP 表記 – BioHPLC カラムのみ

HPLC カラムの USP 表記の一覧については、アジレントのカatalogまたは www.chem.agilent.com/cag/cabu/usp.htm をご覧ください。
米国薬局方 (USP) には、多数の医薬品の分析方法に関する標準的な情報があり、カラムはメーカーではなく充填剤の種類で指定されています。次の一覧には、USP に登録されているほとんどの LC メソッドに最適なアジレントのカラムが記載されています。

USP メソッド	USP 充填剤	カラム	粒子径 (μm)
L1	多孔質シリカまたはセラミックマイクロ粒子 (直径 1.5 ~ 10 μm) に化学結合したオクタデシルシラン	Poroshell 120 EC-C18	2.7
		Poroshell 120 SB-C18	2.7
		ZORBAX 300SB-C18	1.8, 3.5, 5, 7
		ZORBAX 300 Extend C18	3.5, 5
L7	全多孔質マイクロシリカ粒子 (直径 1.5 ~ 10 μm) に化学結合したオクチルシラン	Poroshell 120 EC-C8	2.7
		ZORBAX 300SB-C-8	1.8, 3.5, 5, 7
L10	多孔質シリカ粒子 (直径 3 ~ 10 μm) に化学結合したニトリル基	ZORBAX 300 SB-CN	3.5, 5, 7
L14	強塩基性第 4 級アンモニウムアニオン交換基を化学結合したシリカゲル (直径 10 μm)	ZORBAX SAX	5
L17	水素型のスルホン化架橋スチレン - ジビニルベンゼン共重合体 (直径 7 ~ 11 μm) で構成される強カチオン交換樹脂	Hi-Plex H	8
		Bio SCX NP10	10
L21	硬質球状スチレン - ジビニルベンゼン共重合体 (直径 5 ~ 10 μm)	PLRP-S 100Å	3, 5, 8, 10
		PLRP-S 300Å	3, 5, 8, 10
		PLRP-S 1000Å	5, 8, 10
		PLRP-S 4000Å	5, 8, 10
L25	中性、イオン、およびカチオン水溶性ポリマーに適用される、分子量範囲 1,000 ~ 5,000 Da の化合物を分離できる充填剤 (ポリエチレンオキサイドにより決定)	PL aquagel-OH	5, 8
L33	分子量範囲 4,000 ~ 400,000 Da でタンパク質を分離できる充填剤。シリカを基本とする球状で、pH 安定性を持たせるように処理されています。	ZORBAX GF-250	4
		Bio SEC-3	3
		Bio SEC-5	5
		ProSEC 300S	5
L35	親水性 (ジオールタイプ) 単分子層結合相を持つ、ジルコニウムで安定化した球状シリカ充填剤	ZORBAX GF-250	4
		ZORBAX GF-450	6
L50	スルホプロピル基を持つ多孔質シリカ (直径 5 ~ 10 μm) による強カチオン交換樹脂	ZORBAX 300SCX	5
L56	全多孔質シリカ粒子 (直径 3 ~ 10 μm) に化学結合したプロピルシラン	ZORBAX SB-C3	1.5, 3, 5

BioHPLC カラムについての参考資料

タイトル	カラム/製品	アプリケーション	資料番号	資料の種類
Rapid Analysis of Adenovirus Type 5 Particles with Bio-Monolith Anion-Exchange HPLC Columns to Support the Development of a High-Titre Manufacturing Platform	バイオモノリス QA	アデノウィルス	5990-5524EN	アプリケーションノート
Separation of Two Sulfurated Amino Acids with other Seventeen Amino Acids by HPLC with Pre-Column Derivatization	Eclipse Plus-C18	アミノ酸の分析	5990-5977EN	アプリケーションノート
Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids	ZORBAX Eclipse AAA	アミノ酸の分析	5980-1193EN	アプリケーションノート
High-Speed Amino Acid Analysis (AAA) on 1.8 μ m Reversed-Phase (RP) Columns	ZORBAX Eclipse Plus	アミノ酸の分析	5989-6297EN	アプリケーションノート
Improved Amino Acid Methods Using Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Columns for a Variety of Agilent LC Instrumentation and Separation Goals	ZORBAX Eclipse Plus	アミノ酸の分析	5990-4547EN	アプリケーションノート
Rapid and Precise Determination of Cellular Amino Acid Flux Rates using HPLC with Automated Derivatization with Absorbance Detection	ZORBAX Eclipse Plus	アミノ酸の分析	5990-3283EN	アプリケーションノート
Agilent PL-SAX 1000Å HPLC Columns and Media	PL-SAX	分析/分取 - オリゴヌクレオチド	5990-8200EN	リーフレット
Compliance for Biopharmaceutical Laboratories	LC カラム	コンプライアンス	5990-7001EN	入門書
Macroporous Reversed-Phase C18 High-Recovery Protein Fractionation HPLC Column	mRP-C18	ヒト血清、バイオマーカ	5989-2714EN	カタログ
Rapid Human Polyclonal IgG Quantification using the Agilent Bio-Monolith Protein A HPLC Column	バイオモノリス	IgG	5989-9733EN	アプリケーションノート
Rapid IgM Quantification in Cell Culture Production and Purification Process Monitoring using the Agilent Bio-Monolith QA Column	バイオモノリス QA	IgM	5989-9674EN	アプリケーションノート
Optimization of Protein Separations on Weak Cation-Exchange Columns – a Study of the Particle Size, Buffer Salts and Gradients	Bio IEX	MAB	5990-8833EN	技術ポスター
Characterization of Monoclonal Antibodies on the Agilent 1260 Infinity Bio-inert Quaternary LC by Size Exclusion Chromatography using the Agilent Bio SEC Columns	Bio SEC	MAB	5990-6414EN	アプリケーションノート

(続く)



BioHPLC カラムについての参考資料

タイトル	カラム/製品	アプリケーション	資料番号	資料の種類
Agilent BioHPLC Columns for the Characterization of Monoclonal Antibodies	バイオカラム	MAb	5990-7753EN	リーフレット
Fast Separation of Monoclonal Antibody and Dimer by SEC with Agilent Bio SEC	Bio SEC	MAB	5990-8613EN	アプリケーションノート
Choosing a ZORBAX Poroshell Phase (C3, C8, or C18) for Fast Separation of Monoclonal Antibodies	Poroshell 300	MAB	5989-0071EN	アプリケーションノート
Determination of the Glycosylation Status of Intact Recombinant Human Antibodies using Time of Flight Mass Spectrometry	Poroshell 300	MAB	N/A	技術ポスター
High Speed and Ultra-High Speed Peptide Mapping of Human Monoclonal IgG on Poroshell 300SB-C18, C8, and C3	Poroshell 300	MAB	5989-0590EN	アプリケーションノート
Rapid HPLC Analysis of Monoclonal Antibody IgG1 Heavy Chains using ZORBAX Poroshell 300SB-C8	Poroshell 300	MAB	5989-0070EN	アプリケーションノート
Comparison of ZORBAX StableBond 300Å LC Columns to Optimize Selectivity for Antibody Separations Using HPLC and LC/MS	ZORBAX 300SB	MAB	5989-6840EN	アプリケーションノート
Reversed-Phase Separation of Intact Monoclonal Antibodies (MAb) using Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C8	ZORBAX RRHD 300SB-C8	MAB	5990-9016EN	アプリケーションノート
Increased UV-Sensitivity in Combination with Novel WCX Column Separation for Better Detectability of Charge State Variants of Biotherapeutic Proteins	Bio MAB	MAB およびその他のタンパク質	N/A	技術ポスター
Agilent HPLC Column Selection Guide	HPLC カラム	多数	5990-4435EN	セレクションガイド
The LC Handbook: Guide to LC Columns and Method Development	LC カラム	メソッド開発	5990-7595EN	入門書
Agilent PLRP-S 100Å HPLC Columns and Media	PLRP-S	オリゴヌクレオチド	5990-8187EN	リーフレット
HPLC Purification of 26-bp Serial Analysis of Gene Expression Dtags	PLRP-S	オリゴヌクレオチド	5990-7739EN	アプリケーションノート
Improved Column Lifetime with Thermally Stable Polymer Columns for Oligonucleotide Ion-Pair RP HPLC	PLRP-S	オリゴヌクレオチド	5990-7764EN	アプリケーションノート
Ion-Pair Reversed-Phase Purification of De-Protected Oligonucleotides – Choice of Pore Size	PLRP-S	オリゴヌクレオチド	5990-7763EN	アプリケーションノート
Use Temperature to Enhance Oligonucleotide Mass Transfer and Improve Resolution in Ion-Pair RP HPLC	PLRP-S	オリゴヌクレオチド	5990-7765EN	アプリケーションノート
High Resolution Separations of Oligonucleotides using PL-SAX Strong Anion-Exchange HPLC Columns	PL-SAX	オリゴヌクレオチド	5990-8297EN	アプリケーションノート
Fast Impurity Profiling of Synthetic Oligonucleotides with the Agilent 1290 Infinity LC System and Agilent 6530 Accurate-Mass QTOF LC/MS	ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD	オリゴヌクレオチド	5990-5825EN	アプリケーションノート

(続く)

BioHPLC カラムについての参考資料

タイトル	カラム/製品	アプリケーション	資料番号	資料の種類
Agilent PLRP-S Media and Load & Lock Columns – The Future of Prep/Process Chromatography	分取/プロセス	オリゴヌクレオチド、ペプチド、タンパク質	5990-8201EN	リーフレット
Agilent PLRP-S 50 µm HPLC Media	PLRP-S	オリゴヌクレオチド、ペプチド、低分子量タンパク質	5990-8188EN	リーフレット
Reduce Tubing Volume to Optimize Column Performance	小径カラム	機器性能の最適化	5990-4964EN	アプリケーションノート
Using the High-pH Stability of ZORBAX Poroshell 300Extend-C18 to Increase Signal-to-Noise in LC/MS	ZORBAX 300 Extend-C18	機器性能の最適化	5989-0683EN	アプリケーションノート
Increase Sensitivity with Microbore Polymeric HPLC Columns from Agilent	PLRP-S (マイクロボア)	ペプチドホルモン、低分子量タンパク質、低分子	5990-8666EN	技術概要
Decreasing Analysis Time Using Poroshell 300SB-C18 in Analysis of a Protein Digest	Poroshell 300	ペプチドマッピング	5988-6081EN	アプリケーションノート
Rapid Peptide Mapping Method with High Resolution using a sub 2-µm Column	ZORBAX 300SB-C18	ペプチドマッピング	5990-4712EN	アプリケーションノート
Increased Peak Capacity for Peptide Analysis with the Agilent 1290 Infinity LC System	ZORBAX Eclipse Plus	ペプチドマッピング	5990-6313EN	アプリケーションノート
Trypsin-Digested Monoclonal Antibody and BSA using Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18	ZORBAX RRHD 300SB-C18	ペプチドマッピング	5990-8244EN	アプリケーションノート
Preparative Scale Purification of Bradykinin by Concentration Overload	PLRP-S	ペプチド精製	5990-7736EN	アプリケーションノート
Preparative Scale Purification of Bradykinin by Volume Overload	PLRP-S	ペプチド精製	5990-7741EN	アプリケーションノート
Preparative Scale Purification of Dephelin by Concentration Overload	PLRP-S	ペプチド精製	5990-7742EN	アプリケーションノート
Preparative Scale Purification of Leuprolide by Concentration Overload	PLRP-S	ペプチド精製	5990-7735EN	アプリケーションノート
Superior Resolution of Peptides on SepTech ST150 10-C18 using Acetonitrile-Free Gradient Elution	SepTech	ペプチド精製	5990-7761EN	アプリケーションノート
Agilent PLRP-S Media for HPLC Analysis of Peptides	PLRP-S	ペプチド	5990-8667EN	技術概要

(続く)

BioHPLC カラムについての参考資料

タイトル	カラム/製品	アプリケーション	資料番号	資料の種類
Analysis of Peptides on a PLRP-S 100Å 10 µm with ELS Detection and Acetonitrile-Free Eluents	PLRP-S	ペプチド	5990-7760EN	アプリケーションノート
Investigation into the Alternatives to Acetonitrile for the Analysis of Peptides	PLRP-S	ペプチド	5990-7740EN	アプリケーションノート
Investigation into the Alternatives to Acetonitrile for the Analysis of Peptides on a SepTech ST150 10-C18	SepTech	ペプチド	5990-7951EN	アプリケーションノート
Investigation into the Alternatives to Acetonitrile for the Analysis of Peptides on a VariTide RPC	VariTide RPC	ペプチド	5990-8145EN	アプリケーションノート
Fast Monitoring of Bacteriophage Production During Fermentation Using the Agilent Bio-Monolith HPLC Column	バイオモノリス	ファージ精製、プロセスモニタリング	5990-3247EN	アプリケーションノート
Physicochemical Characterization of a Therapeutic Protein by Peptide Mapping, SEC and IEX using the Agilent 1260 Infinity Bio-inert Quaternary LC System	Bio MAb、Bio SEC、ZORBAX Eclipse Plus、Poroshell 120	タンパク質分析	5990-6192EN	アプリケーションノート
Optimization of the Agilent 1100 HPLC System for Superior Results with ZORBAX Poroshell Columns	Poroshell 300	タンパク質分析	5988-9998EN	アプリケーションノート
Using Poroshell 300SB-C18 for High-Sensitivity, High-Throughput Protein Analysis on the Agilent LC/MSD	Poroshell 300-C18	タンパク質分析	5988-7031EN	アプリケーションノート
Analysis of Albumin Proteins using ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-7852EN	アプリケーションノート
Analysis of Complex Bacterial Cell Division Proteins by Size Exclusion Chromatography (SEC)	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-8143EN	アプリケーションノート
Analysis of Globulins using ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-7851EN	アプリケーションノート
Analysis of Hsp47, a Collagen Chaperone, by Size Exclusion Chromatography (SEC)	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-8142EN	アプリケーションノート

(続く)

BioHPLC カラムについての参考資料

タイトル	カラム/製品	アプリケーション	資料番号	資料の種類
Analysis of Various Globular Proteins using ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-7850EN	アプリケーションノート
Effect of pH on Protein Size Exclusion Chromatography	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-8138EN	アプリケーションノート
Globular Proteins and the Calibration of ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-7767EN	アプリケーションノート
Light Scattering Analysis of BSA with ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-7766EN	アプリケーションノート
Static Light Scattering Analysis of Globular Proteins with Agilent ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	タンパク質分析	5990-7939EN	アプリケーションノート
LC Handbook and Compliance Guide to Recombinant Protein Characterization	N/A	タンパク質分析	5990-8561EN	入門書
Agilent ZORBAX 300SB-C18 1.8µm Rapid Resolution High Definition Columns for Proteins	ZORBAX 300SB-C18	タンパク質分析	5990-7989EN	技術概要
Analysis of Oxidized Insulin Chains using Reversed-Phase Agilent ZORBAX RRHD 300SB-C18	ZORBAX RRHD 300SB-C18	タンパク質分析	5990-7988EN	アプリケーションノート
ACN-free HPLC Analysis and Prep Purification of ACP Fragment	PLRP-S	タンパク質精製	5990-7762EN	アプリケーションノート
Isocratic Purification of Synthetic Acyl Carrier Protein Fragment 65-74	PLRP-S	タンパク質精製	5990-7737EN	アプリケーションノート
Agilent PL-SAX Anion-Exchange Media for Amyloglucosidase Purification and Analysis	PL-SAX	タンパク質精製	5990-8664EN	技術概要
Progressive Denaturation of Globular Proteins in Urea	ProSEC 300S	タンパク質精製	5990-8141EN	アプリケーションノート
Separation of High MW Fibrous Proteins	PLRP-S	タンパク質分離	5990-8137EN	アプリケーションノート
Fast Protein Separations Using Agilent Poroshell 300	Poroshell 300	タンパク質分離	5989-9899EN	アプリケーションノート

(続く)

BioHPLC カラムについての参考資料

タイトル	カラム/製品	アプリケーション	資料番号	資料の種類
Fast Separation of Large and Heterogeneous Proteins using ZORBAX Poroshell C18, C8, and C3 Phases	Poroshell 300	タンパク質分離	5989-0015EN	アプリケーションノート
Use of Temperature to Increase Resolution in the Ultrafast HPLC Separation of Proteins with ZORBAX Poroshell 300SB-C8 HPLC Columns	Poroshell 300-C8	タンパク質分離	5989-0589EN	アプリケーションノート
The Effect of NaCl Concentration on Protein Size Exclusion Chromatography	ProSEC 300S	タンパク質分離	5990-8139EN	アプリケーションノート
The Effect of Temperature on Protein Size Exclusion Chromatography	ProSEC 300S	タンパク質分離	5990-8140EN	アプリケーションノート
Infinitely Better for Bio-Molecule Analysis	Agilent 1260 Infinity バイオイナートクォータナリ LC システム	タンパク質	5990-6220EN	カタログ
Defining the Optimum Parameters for Efficient Size Separations of Proteins	Bio SEC	タンパク質	5990-8832EN	技術ポスター
Defining the Optimum Parameters for Efficient Size Separations of Proteins	Bio SEC	タンパク質	5990-8895EN	アプリケーションノート
Compliance for Biopharmaceutical Laboratories	多数	タンパク質	5990-7001EN	入門書
Gradient Purification of Synthetic Acyl Carrier Protein Fragment 65-74	PLRP-S	タンパク質	5990-7738EN	アプリケーションノート
Fast Agilent HPLC for Large Biomolecules	PLRP-S、PL-SAX、PL-SCX	タンパク質	5990-8663EN	技術概要
Agilent Anion-Exchange Media for Proteins – Loading vs Resolution – Effect of Flow Rate and Example Protein Separations	PL-SAX	タンパク質	5990-8777EN	技術概要
Purity Assessment Following Affinity Separation	PL-SAX	タンパク質	5990-8436EN	技術概要
Agilent PL-SCX Cation-Exchange Media for Large Biomolecules	PL-SCX	タンパク質	5990-8665EN	技術概要

(続く)

BioHPLC カラムについての参考資料

タイトル	カラム/製品	アプリケーション	資料番号	資料の種類
Poroshell 300SB-C18 for Fast, High Protein Separation	Poroshell 300	タンパク質	5988-2100ENUS	カタログ
Progressive Denaturation of Globular Proteins in Urea	ProSEC 300S	タンパク質	5990-8141EN	アプリケーションノート
ProSEC 300S Columns Protein Characterization Columns	ProSEC 300S	タンパク質	5990-7468EN	リーフレット
Static Light Scattering Analysis of Globular Proteins with Agilent ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	タンパク質	5990-7939EN	アプリケーションノート
Confidently Separate and Characterize Biomolecules with Agilent BioHPLC Columns	Bio SEC、Bio IEX、Bio MAb	タンパク質	5990-5195EN	カタログ
Increase your Productivity with Agilent ZORBAX RRHD 300Å 1.8 µm Columns	ZORBAX RRHD 300SB-C18、C8	タンパク質、ペプチド	5990-8124EN	リーフレット
High Purity, High Recovery, High Throughput – Agilent Technologies Offers Two New Lines of Preparative HPLC Columns	Agilent Prep HT	精製/分取	5989-2350EN	カタログ
Biomolecule Purification – Purification Columns and Media for Peptides, Oligonucleotides, and Proteins	PLRP-S、PL-SAX、PL-SCX	精製/分取	5990-8335EN	カタログ
The Influence of Silica Pore Size on Efficiency, Resolution and Loading in Reversed-Phase HPLC	SepTech	精製/分取	5990-8298EN	アプリケーションノート
Analysis of Protein Primary Structure when using Wide-Pore sub-2-µm Particles and UHPLC	ZORBAX RRHD 300SB-C18	精製/分取	5990-8830EN	技術ポスター
Polyethylene Glycol/Oxide Standards and the Calibration of Agilent ProSEC 300S Columns	ProSEC 300S	SEC	5990-8147EN	アプリケーションノート

BioPharm 用語集

A

有効出発物質 (active starting material)

製品を構成する活性化学物質に直接関連するものとして特定される原料で、重要な成分の一部またはほとんどが含まれる化学合成の初期段階で定義される原料。有効出発物質を定義することで、製造時の cGMP 要件への準拠が始まるステップが定義されます。バイオ医薬品ではこの用語は使用されません。

親和性 (affinity)

粒子または物質間の引力。相対的には、1つの分子に対する別の分子の引力の尺度。

凝集 (aggregate)

タンパク質分子の固まり。またはそのように固まること。細胞の凝集 (固体、綿毛状、小球) によってフィルタやその他の発酵装置の穴が詰まることがあります。

アルブミン (albumins)

血漿および血清のタンパク質成分。筋肉、卵白、牛乳にも含まれます。

アルキル化 (alkylation)

置換または添加による有機化合物へのアルキル基の導入。アルキル化試薬には、アルキルラジカルが含まれ、有機化合物の水素原子を置換できるさまざまな種類があります。アルキル化は、ペプチドマッピングの際にすでに還元されたタンパク質のリフォールディングを防止するために使用します。

アルファヘリックス (α -helix)

タンパク質の二次構造のコイルまたはらせん状の要素。

アミノ酸 (amino acids)

結合によって生物のタンパク質を形成する、自然に発生する20種類の炭化水素分子の分類。アラニン (A)、アスパラギン酸 (D) またはアスパラギン (N)、システイン (C)、グルタミン酸 (E) またはグルタミン (Q)、フェニルアラニン (F)、グリシン (G)、ヒスチジン (H)、イソロイシン (I)、リジン (K)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、プロリン (P)、アルギニン (R)、セリン (S)、トレオニン (T)、バリン (V)、トリプトファン (W)、チロシン (Y) が含まれます (これらは天然アミノ酸と呼ばれ、ほかのアミノ酸は合成されて医薬品化学で使用される)。これらのアミノ酸は、遺伝コードに従って、トランスファ RNA によりタンパク質に組み込まれます。

両性 (amphoteric)

酸と塩基の両方の特性を持つ物質。両性分子は、プロトンを受け取ることで酸として、または渡すことで塩基として働くことができます。

抗体 (antibody)

免疫系によって生成されるタンパク質分子。抗体は、バクテリア、ウイルス、身体が曝されるさまざまな抗原など、外来分子または構造を認識します。

抗原 (antigen)

抗体と特異的に反応する任意の試薬。各抗体には、特定の抗体と結合できる複数の部位が含まれます。「免疫原」を参照してください。

抗原性 (antigenicity)

動物に注入したときに物質が抗原の形成を誘発する、または免疫応答を誘発する能力。

API

活性中間生成物 (Active Product Intermediate)。薬物活性と構造を持つが、賦形剤を使用して製剤化されていない化学物質。

B

塩基対 (base pair)

核酸の異なる鎖上にあり、結合している2つの塩基。DNA では、シトシン (C) は常にグアニン (G) と対になり、アデニン (A) は常にチミン (T) と結合します。RNA 分子では、アデニンはウラシル (U) と結合します。

ベータシート (β -sheet)

アコーディオンに類似したポリペプチド鎖の通常の折りたたみによって発生する構造。アルファヘリックスでなければ、主にこの構造を取ります。

生理活性 (bioactivity)

体の活性部位に提供された後に (in vivo) 正しく機能するタンパク質の能力。

バイोजェネリック (biogeneric)

分子の本来のライセンスを持つ企業ではない異なる企業が製造し、ライセンスを取得した医薬品。バイोजェネリックは同一の効能を目的として使用されるもので、比較的類似したプロセスで、または同様の製品が生成される異なるプロセスで製造されます。

生物製剤 (biologics)

疾病の予防や治療に使用される生物製品。

バイオシミラー (biosimilar)

異なる細胞株やマスターセルバンク、異なるプロセスを使用して製造されるが、臨床活性の同等性の基準を満たしている医薬品。バイオシミラーは純度/不純度プロファイルが異なることも、限定的に力価が異なることもあります。「バイオジェネリック」および「バイオ後続品」も参照してください。

BLA

生物製剤承認申請 (Biologics License Application)。米国で生物製剤を販売するために必要な申請。遺伝子組み換えインスリンやヒト成長ホルモンなど、構造が単純で十分に特性解析されている一部の生物製剤は NDA により承認されますが、ほとんどのバイオ由来の医薬品は、NDA ではなく BLA を通じて承認されます。

バルク有効成分 (bulk active ingredient)

バルク原薬とも呼ばれます。賦形剤を使用して製剤化し、医薬品を製造するときの有効成分。バイオ医薬品はバイオプロセスにより「大量」生産されます。

C**CBER**

FDA の生物製剤評価研究センター (Center for Biologics Evaluation and Research)。CBER は、ワクチン、遺伝子治療、細胞製品、アレルギー抽出物、抗毒素、抗蛇毒素、蛇毒、血液、および血液製品 (凝固因子および血漿由来の製品) を規制します。

CDER

医薬品評価研究センター (Center for Drug Evaluation and Research)。FDA の 6 つのセンターで最も大きい CDER は、処方薬や市販薬の規制を担当します。2003 年に開始された生物製剤に関する責任の移管の後、以前は CBER が行っていた、治療用タンパク質とモノクローナル抗体の in vivo での使用の規制も CDER が行うようになりました。

cGMP

current Good Manufacturing Practice。「GMP」を参照してください。

変更管理 (change control)

施設、装置、およびプロセスの変更を文書化し、承認するシステム。変更管理システムは、施設、装置、およびプロセスをバリデーションされた状態に維持するために、変更が評価され、承認されていることを実装前に保証します。

カオトロピック (chaotropic)

水、高分子、または生態系の構造を乱し、水、分子、または系によって抑制されていた活動を促進します。尿素や塩酸グアニジン、タンパク質に使用される一般的なカオトロピック試薬です。

特性解析 (characterization)

物質の特性 (分子の場合は物理的および化学的特性、細胞株の場合は遺伝的および安定性特性) を正確に解読し、説明すること。

C 末端 (C-terminal)

カルボキシル末端。遊離カルボキシル基を持つタンパク質鎖のカルボキシル末端。

D**脱アミド化 (deamidation)**

タンパク質の 1 つまたは複数のアミド基が Gln または Asn 残基から取り除かれ、その残基を Glu、Asp、または isoAsp に変換すること。タンパク質に応じて効能、安定性、溶解度に影響がないものと大きな影響があるものがあります。

変性 (denature)

タンパク質をアンフォールドまたは切断するために、通常の三次元構造を変化させること。タンパク質は化学反応や熱によって、またタンパク質溶液の攪拌によっても変性することがあります。

変性タンパク質 (denatured protein)

折りたたまれていない、または無秩序なポリペプチド鎖を持つタンパク質。この結果、分子の溶解度が落ち、通常は機能しなくなります。場合によっては、変性タンパク質のリフォールディング (復元) が可能です。

二量体 (dimer)

2つの同一の分子によって構成されるポリマー。3つの分子が結合すると、そのポリマーは三量体と呼ばれます。これ以上大きいポリマーは、四量体、五量体、六量体など、通常は接尾辞の「-量体」の前に置かれる数値を置き換えた名前と呼ばれます。

ジスルフィド結合 (disulfide bond)

タンパク質内の異なるシステインの硫黄原子間に形成される共有結合。このような結合 (結合、架橋) は、タンパク質を1つにまとめるために役立ちます。

DNA

デオキシリボ核酸。デオキシリボース (糖) とヌクレオチド G、A、T、C に基づく核酸。2本鎖 DNA はらせん階段のような形状を持ち (「ダブルヘリックス」)、生命の遺伝的特性を伝える染色体の主な構成成分となっています。「ヌクレオチド」および「核酸」を参照してください。

原薬 (drug substance)

(または有効医薬品原料)。精製済みのバルクに含まれる活性薬物の化学物質または生体物質。原薬をさらに処理することで医薬品を生成します。

E**効能 (efficacy)**

強度および効力、有効性、効果をもたらす能力など、希望の臨床効果を産み出す物質の能力 (タンパク質治療など)。

酵素 (enzymes)

それ自体はプロセスで変化することなく、反応を発生させたり、反応速度を上げたりすることで生化学反応を触媒するタンパク質。

エピトープ (epitope)

免疫反応を誘発し、そのような反応によって発生した特定の抗体と結合できる抗原表面の分子領域。決定基または抗原決定基とも呼ばれます。

賦形剤 (excipient)

医薬品に含まれる原料の一種で、患者と直接接触するもの。充填剤、安定剤、防腐剤、塩、溶媒、水などの不活性の原料が含まれます。GRAS として承認されていない、または承認済み賦形剤のリストに含まれない賦形剤は、動物で安全性評価を実施する必要があります。

発現 (express)

DNA (遺伝子) に保存された細胞の遺伝情報を特定のタンパク質に翻訳すること。

発現システム (expression system)

ホスト生物と、対象遺伝子を載せた遺伝ベクタ (ウイルス、またはプラスミドと呼ばれる環状 DNA 分子など) との組み合わせ。発現系は、遺伝子が細胞内で機能するための、つまり遺伝子がタンパク質として発現するための遺伝子の構成を提供します。

発現ベクタ (expression vector)

ウイルス、プラスミド、コスミド、または外来遺伝子をホストに提供し、希望のタンパク質を発現する遺伝子組み換え生物を生成する人工染色体。

F**Fab**

免疫グロブリンの抗原結合性フラグメント。IgG Fab は、インタクトな四量体 IgG の酵素による切断と鎖間ジスルフィド結合の還元により生成され、1モルあたり1モルの抗原を結合します。「F(ab)'2」を参照してください。

F(ab)'2

免疫グロブリンの二量体型抗体結合性フラグメント。IgG F(ab)'2 は、インタクト IgG の酵素分解によって生成されます。この分解により分子の Fc 部分が除去されます。F(ab)'2 は、1モルあたり2モルの抗体を結合します。「Fab」を参照してください。

FAb

抗体は Y 字型の分子です。各 Y の「腕」が抗原に結合する Fab 領域 (抗原結合性フラグメント) で、Y の幹は、細菌貪食細胞を引き付け、結合したものを破壊する Fc 領域です。抗原の活性部分を特定できれば、治療分子として必要な部分をその箇所に限定することもできます (サイズを小さくすることで製造と処理を促進し、薬物を摂取した患者で免疫反応が発生する確率を下げる)。安定性やその他の理由により、この断片を別の分子 (PEG など) に「接合」させることができます。

Fc

補体を結合する能力など、免疫グロブリン分子のさまざまなエフェクタ機能を持つ部分。免疫作用で重要であり、酵素または化学的切断により抗原結合部分から分離することができます。「Fab」を参照してください。

FDA

食品医薬品局 (Food and Drug Administration)

フォールディング (folding)

タンパク質がその正しい複雑な三次構造を自然に形成するプロセス。タンパク質は、化学結合と原子間引力によって所定位置に維持されます。

バイオ後続品 (follow-on biologic)

バイオシミラーまたは生物起源の別の用語。

G**遺伝子 (gene)**

ゲノム内の特定の位置を占める DNA 配列によって構成される遺伝の単位。特定のタンパク質を暗号化する構造遺伝子、ほかの遺伝子の発現を制御する規制遺伝子、タンパク質ではなく RNA またはリボソーム RNA を運ぶための遺伝子の 3 種類の遺伝子が特定されています。

遺伝子治療 (gene therapy)

ヒトの遺伝子の発現を変化させたり、ゲノムに遺伝子を挿入したりすることで疾病を治療、治癒、予防すること。初期段階にある現在の遺伝子治療は主として実験的なものであり、ヒトのほとんどの臨床試験は研究段階にすぎません。遺伝子治療は、体細胞 (身体) または生殖細胞 (卵子および精子) を対象にすることができます。体細胞遺伝子療法では、レシピエントのゲノムが変化しますが、その変化は次の世代には受け継がれません。生殖細胞系列の遺伝子治療では、変化を子孫に引き継ぐことを目的として親の卵子および精子細胞を変化させます。

GLP

Good Laboratory Practice。21 CFR Part 58 に従い、安全性に関して非臨床ラボの研究品質を保証する規制。すべての活動を記録し、トレーニングを受けたスタッフが確立された手順だけを実施し、記録とサンプルを保持します。

糖タンパク (glycoproteins)

翻訳後プロセスとして添加された糖側鎖が含まれるタンパク質。多くの場合、糖側鎖の存在が活性と in vivo の安定性に影響を与えます。

グリコシル化 (glycosylation)

リボソームによる合成後のタンパク質に 1 つまたは複数の炭化水素分子を添加すること (糖タンパク)。翻訳後修飾。

GMPs

Good Manufacturing Practice。21 CFR Part 210、211、600、610、および 820 (機器向け) によると、cGMP (current Good Manufacturing Practice) は、医薬品やその他の薬物および医療機器の製造方法に影響を与えます。標準操作手順書に従ってプロセスのバリデーションを実施し、装置の適格性評価を行い、適切なトレーニングを受けたスタッフがクリーンな/無菌の環境を維持する必要があります。

ゴルジ体 (Golgi body)

タンパク質の翻訳後修飾が行われる、重なり合った膜で構成される細胞内小器官。ゴルジ装置とも呼ばれます。

H**ハイブリダイゼーション (hybridization)**

DNA の相補鎖を結合して RNA-DNA ハイブリッドを形成するプロセス。遺伝的に異なるソースからの DNA 一本鎖の部分的な対形成。

親水性 (hydrophilic)

水に対する親和性があるため、水を引き付け、水に溶解し、水を吸収します。高い吸湿性があり、水と容易に反応する強極性分子群を持っています。

疎水性 (hydrophobic)

水に不溶。不溶の程度。水を容易に吸着せず、水をはじき、湿ったり、水和されたりすることがない。または、水によるマイナスの影響を受けない。

I ~ J**免疫原 (immunogen)**

免疫反応を引き起こす、つまり排除し、破壊する必要がある外来物質と体が認識する物質。

in vitro

生物ではなく、ラボの装置を使用して実施されるもの。

in vivo

生きている動物やヒトを検体として使用するもの。

中間生成物 (intermediates)

一連の処理ステップの中間段階で形成される物質。親物質と最終生成物の間の「踏み石」として働きます。

K ~ L

リガーゼ (ligase)

分子の断片 (DNA、RNA、ペプチドなど) を互いに結合させる酵素。DNA リガーゼは、遺伝子組み換え DNA を作成するために制限酵素とともに使用します。

光散乱分析 (light-scattering analysis)

分子が紫外および可視光線を分散させる方法に基づいて分子のサイズや形状に関する情報を提供する分析方法。

M

MAB

モノクローナル抗体。1つのエピトープだけを認識する、高い特異性を持つ精製済みの抗体。

微小不均一性 (microheterogeneity)

BioPharm では、通常はアミノ酸配列またはポリペプチド鎖の構造のわずかな違いのこと。たとえば、E. coli で遺伝子組み換え型タンパク質を合成するには、タンパク質の合成を開始する信号として機能するように、タンパク質配列の1つの末端にメチオニン (Met) を添加する必要があります。ほとんどの場合、この Met はタンパク質が合成されると除去されます。場合によっては、一部の分子だけで Met が除去されます。精製済みの生成物は、ネイティブ配列を持つタンパク質と、ネイティブ配列に加えて追加のアミノ酸を持つタンパク質との混合物になります。

mRNA

メッセンジャー RNA。タンパク質合成の鋳型として機能します。DNA 配列の補体として生成され、細胞核からリボソームに移動します。

多量体 (multimer)

BioPharm 内の小さいポリマー。通常は複数のポリペプチド鎖からなるタンパク質です。

N

ネイティブ (native)

生物活性を示す変性のない自然の状態。BioPharm の文脈では、通常は、最適な条件下での分子の正常な三次元構造を指します。

NDA

新薬承認申請 (New Drug Application)。CDER の BLA に相当するもの。CBER ではなく CDER によって規制される低分子や一部のバイオ医薬品 (ホルモンや低分子ペプチドなど) に使用します。

N 末端 (N-terminal)

アミノ末端、またはタンパク質鎖のアミン末端 (遊離 α -アミノ基を持つ)。

核酸 (nucleic acids)

DNA または RNA:ヌクレオチドで構成される鎖のような分子。

ヌクレオチド (nucleotides)

窒素の多い塩基、リン酸、糖で構成される分子。塩基にはアデニン (A)、シトシン (C)、グアニン (G)、チミン (T)、ウラシル (U) があります。

O

酸化 (oxidation)

酸化剤 (酸素、過酸化物、既存イオンなど) との反応によって化合物または原子が価電子を失う化学反応。多くのタンパク質は、空気に曝されると酸化しやすい特性があります (メチオニン (Met) アミノ酸が硫化メチオニンまたはメチオニンスルホンに酸化されるなど)。「レドックス」も参照してください。

P

PAT

Process Analytical Technology。プロセス開発、製造、品質管理試験の際のリスク管理の一環として、業界が新しい分析技術や多変量解析を開発し、使用することを推奨する FDA イニシアティブ。PAT には、オンライン、リアルタイム分析、プロセス管理ツール、改善および情報管理ツール、統計ツールが含まれます。

ペグ化 (PEGylation)

遊離アミノ酸やスルフヒドリル基など、選択されたアミノ酸側鎖基を通じたポリエチレングリコール分子からタンパク質分子への共有結合。毒性を抑えるため、または体内でのその溶解度および循環半減期を向上するためにに行います。

ペプチド結合 (peptide bond)

水が除去されることで形成される、1つのアミノ酸のアミノ基と別のアミノ酸のカルボキシル基の間の炭素 - 窒素共有結合 (結合)。その結果、RCO-NH 基が生成されます。この結合によって自由な回転ができなくなります。これは、アミノ酸単量体を接続して、ポリペプチドと呼ばれるポリマーを形成するための重要な結合です。

ペプチドマッピング (peptide mapping)

タンパク質を酵素で選択的に切断し、クロマトグラフィーによる分離や分光検出によって解釈できるペプチドの特徴的なパターンを生成するバイオ分析メソッド。

ペプチド (peptides)

複数のアミノ酸がペプチド結合で繋がったもの。

リン酸化 (phosphorylation)

リン酸 (PO₄) 基の分子への添加。通常は酵素によって ATP (アデノシン三リン酸) のリン酸基を移動することで行われます。

pI

等電点。物質が有効電荷を持たなくなる pH。これ以上の pH では、物質は塩基として機能し、これ以下の pH では酸として機能します。等電点では、タンパク質やアミノ酸の溶液の伝導度と粘度が最小になります。pI は特定の物質の pH 値です。たとえば、ゼラチンの pI は pH 4.7 です。pI は、タンパク質の特定と特性解析に使用できます。

プラスミド (plasmid)

染色体の一部ではない遺伝物質。プラスミドは環状で自己複製能力を持ち、細胞質内に見られます (バクテリアや一部の酵母中に自然に含まれる)。外来生 DNA の最大 10,000 個の塩基対を受容細胞に導入するためのベクタとして使用できます。

ポリシング (polishing)

バイオ医薬品製造プロセスの最後の精製ステップ。通常は、アフィニティークロマトグラフィーやその他の精製クロマトグラフィーメソッドを使用します。多くの場合、このステップでは微量の原料を扱うため、プロセスで最も高コストの技術を使用します。

翻訳後修飾 (post-translational modification)

DNA 配列が解読され、タンパク質が生成された後に、糖の添加 (グリコシル化) またはその他の分子の添加によって修飾することができます。このタンパク質の処理は、タンパク質がリボソームにより構築された後、ゴルジ体によって行われます。

プロテアーゼ (protease)

タンパク質分子内のアミノ酸を結びつけているペプチド結合を切断する酵素。

タンパク質変異体 (protein variants)

同一のアミノ酸配列を持つが、フォールディングや炭水素残基が異なるタンパク質。治療用タンパク質から分離する必要があります。

タンパク質 (proteins)

構造が生物の DNA に暗号化された複雑な有機高分子。それぞれは、ペプチド結合で結合された 40 を超えるアミノ酸の鎖であり、その鎖は特定の方法で折りたたまれます。タンパク質はすべての細胞原形質 (生細胞全体を構成するもの) の主な構成物質です。各タンパク質には、その特定の形状と機能 (酵素、構成要素、ホルモン、および免疫グロブリンとして、酸素伝達、筋収縮、または電子伝達などに関わる) を決定する遺伝的に定義された独自のアミノ酸配列があります。

タンパク質分解 (proteolysis)

プロテアーゼ (特定のペプチド結合を認識し、切断する酵素) またはその他の手段によってタンパク質のペプチド結合を分割 (切断) すること。

Q ~ R**遺伝子組み換え (recombinant)**

別の生物の遺伝物質を含むように遺伝子操作された DNA (または、またはそのような DNA から生じるタンパク質) を指します。通常は、遺伝子を改変した微生物は遺伝子組み換えと呼ばれ、植物や動物などは「トランスジェニック」と呼ばれます (「トランスジェニクス」を参照)。

レドックス (redox)

チオジスルフィド交換などの酸化/還元平衡反応。正しい対のスルフヒドリル基 (-SH) を形成し、安定したジスルフィド (S-S) 結合を形成するために、システイン (Cys) 残基が含まれる遺伝子組み換え型タンパク質のリフォールディング中に使用するステップ。

RNA

リボ核酸。リボース (糖) とヌクレオシド G、A、U、C に基づく核酸。DNA によって暗号化された情報を、細胞がタンパク質の生成に使用するアミノ酸配列に翻訳します。DNA に類似していますが、リボースで構成され、塩基のチミン (T) ではなくウラシル (U) が含まれます。mRNA (メッセンジャ RNA)、tRNA (トランスファ RNA)、rRNA (リボソーム RNA) など、さまざまな形式の RNA があります。ほとんどの RNA 分子は 1 本鎖ですが、2 本鎖の単位を形成することもあります。

S

二次構造 (secondary structure)

アルファヘリックスまたはベータシート内と同様に、タンパク質内で分子の隣接した部位の間に水素結合が生じた結果発生するフォールディング、ねじれ、らせん、場合によってはバネに類似した鎖。

SOP

標準操作手順書 (Standard Operating Procedures)。特定のプロセスや一部の装置の性能に均一性を持たせるための詳細な (順を追った) 手順書。品質管理部門によって承認され、GMP 操作に使用されます。

T ~ U

三次構造 (tertiary structure)

タンパク質分子のポリペプチド鎖の三次元フォールディング (正常な状態)。

トランスジェニクス (transgenics)

別の生物の遺伝子を含むように植物または動物の DNA を変化させること。動物や植物には 2 種類の細胞、つまり生殖系列細胞 (動物の精子や卵子、植物の花粉や胚珠) と体細胞 (その他のすべての細胞) があります。生殖系列 DNA をトランスジェニック動物および植物で変化させると、この変化は子孫に引き継がれます。これは、治療法の開発、疾病の研究、家畜の血統の向上を目的として行われています。トランスジェニック植物は、病気や昆虫への耐性を向上させることのほか、バイオ医薬品を作り出すためにも作成されてきました。

翻訳 (translation)

RNA によって DNA から選ばれた情報がポリペプチド (タンパク質) 鎖のアミノ酸配列を指定するプロセス。

tRNA

トランスファ RNA。mRNA のヌクレオチドコード配列に相補的な三つ組のヌクレオチド配列を持つタイプの RNA。タンパク質合成では、tRNA はアミノ酸と結合して、これをリボソームに転送します。ここで、mRNA によって選ばれた遺伝コードに従ってタンパク質が組み立てられます。

アンフォールディング (unfolding)

分子の三次元構造が解きほどこかれて、アミノ酸の塩基鎖に類似したものになる一種のタンパク質変性。

V ~ Z

ワクチン (vaccines)

人または動物を病気の原因となる物質から保護するために免疫反応 (抗体の生成) を誘発する製剤。

ウイルス (virus)

最も単純な構造を持つ生命。場合によっては遺伝物質を宿主生物に注入すること (感染) で得られる、タンパク質の殻に包まれた RNA または DNA。ウイルスはそれ自体で複製することはできず、宿主 (バクテリア、植物、動物) の助けが必要です。多くの場合、宿主細胞の合成は感染元のウイルスによって抑制され、病気を発症することも、発症しないこともあります (200 を超えるウイルスがヒトの疾病を引き起こすことが知られている)。個別のウイルス粒子はビリオンと呼ばれます。ビリオンの構造、複雑さ、サイズはさまざまです (20 ~ 25 nm 未満から 2,000 nm 以上まで)。1 本鎖または 2 本鎖、DNA または RNA、正または負の 6 種類のウイルスが定義されています。

well-characterized (十分に特性解析された)

その同一性、純度、不純物、効能、および量を測定し、制御できる化学物質。最も十分に特性解析された生物製剤は、遺伝子組み換え DNA 由来のタンパク質またはモノクローナル抗体です。

Guide to BioTerminology 2nd edition. BioPharm International. August 2006.

引用文献

ZORBAX 300 の引用文献

Portelius, E. et al. (2007) Characterization of Amyloid β Peptides in Cerebrospinal Fluid by an Automated Immunoprecipitation Procedure Followed by Mass Spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 6(11):4433-4439

Montes-Bayon, M. et al. (2006) Direct comparison of capillary electrophoresis and capillary liquid chromatography hyphenated to collision-cell inductively coupled plasma mass spectrometry for the investigation of Cd-, Cu- and Zn-containing metalloproteins. *Journal of Chromatography A*, 1114(1):138-144

Zahariev, S. et al. (2006) Synthesis of 'difficult' peptides free of aspartimide and related products, using peptoid methodology. *Tetrahedron Letters*, 47(25):4121-4124

Kohler, M. et al. (2009) Identification of Human Pituitary Growth Hormone Variants by Mass Spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 8(2):1071-1076

Berg, M. et al. (2006) Reproducibility of LC-MS-based protein identification. *Journal of Experimental Botany*, 57(7):1509-1514

Esteban-Fernández, D. et al. (2008) Atomic (HPLC-ICP-MS) and molecular mass spectrometry (ESI-Q-TOF) to study cis-platin interactions with serum proteins. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 23:378-384

Everberg, H. et al. (2006) Aqueous Two-Phase Partitioning for Proteomic Monitoring of Cell Surface Biomarkers in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Journal of Proteome Research*, 5(5):1168-1175

Portelius, E. et al. (2010) Identification of novel N-terminal fragments of amyloid precursor protein in cerebrospinal fluid. *Experimental Neurology*, 223(2):351-358

Ahrends, R. et al. (2009) Metal-Coded Affinity Tag Labeling: A Demonstration of Analytical Robustness and Suitability for Biological Applications. *Analytical Chemistry*, 81(6):2176-2184

Biliková, K. et al. (2009) Towards functional proteomics of minority component of honeybee royal jelly: The effect of post-translational modifications on the antimicrobial activity of apalbumin2. *Proteomics*, 9(8):2131-2138

Schwab, K. et al. (2011) Adaptation of proteomic techniques for the identification and characterization of protein species from murine heart. *Amino Acids*, 41(2):401-414

Perreault, A. et al. (2009) A Methyltransferase-independent Function for Rmt3 in Ribosomal Subunit Homeostasis. *The Journal of Biological Chemistry*, 284:15026-15037

Magherini, F. et al. (2009) Different carbon sources affect lifespan and protein redox state during *Saccharomyces cerevisiae* chronological ageing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(5):933-947

Cao H. & Xu S-Y. (2008) Purification and characterization of type II collagen from chick sternal cartilage. *Food Chemistry*, 108(2):439-445

Chen, X. et al. (2010) Quantitative Proteomics Analysis of Cell Cycle-regulated Golgi Disassembly and Reassembly. *The Journal of Biological Chemistry*, 285:7197-7207

Trusch, M. et al. (2010) Application of displacement chromatography for the analysis of a lipid raft proteome. *Journal of Chromatography B*, 878(3-4):309-314

Amoresano, A. et al. (2008) A Rapid and Selective Mass Spectrometric Method for the Identification of Nitrated Proteins. *Methods in Molecular Biology*, 477(1):15-29

Kodali, V.P., Das, S. & Sen, R. (2009) An exopolysaccharide from a probiotic: Biosynthesis dynamics, composition and emulsifying activity. *Food Research International*, 42(5-6):695-699

Loeber, R. et al. (2008) Cross-Linking of the DNA Repair Protein O⁶-Alkylguanine DNA Alkyltransferase to DNA in the Presence of Antitumor Nitrogen Mustards. *Chemical Research in Toxicology*, 21(4):787-795

Millette, M. et al. (2008) Purification and identification of the pediocin produced by *Pediococcus acidilactici* MM33, a new human intestinal strain. *Journal of Applied Microbiology*, 104(1):269-275

Chen, X. et al. (2009) Quantitative Organellar Proteomics Analysis of Rough Endoplasmic Reticulum from Normal and Acute Pancreatitis Rat Pancreas. *Journal of Proteome Research*, 9(2):885-896

Ameri, M., Daddona, P. & Maa, YF. (2009) Demonstrated Solid-State Stability of Parathyroid Hormone PTH(1-34) Coated on a Novel Transdermal Microprojection Delivery System. *Pharmaceutical Research*, 26(11):2454-2463

Gianazza, E. et al. (2010) Different expression of Fibrinopeptide A and related fragments in serum of type 1 diabetic patients with nephropathy. *Journal of Proteomics*, 73(3):593-601

Yuan, W. et al. (2008) Two New Holostan-Type Triterpene Glycosides from the Sea Cucumber *Bohadschia marmorata* JAEGER. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 56(8):1207

Poroshell 300 の引用文献

Matilainen, L. et al. (2008) The effect of cyclodextrins on chemical and physical stability of glucagon and characterization of glucagon/ γ -CD inclusion complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(7):2720-2729

Astarita, G., Ahmed, F. & Piomelli, D. (2008) Identification of biosynthetic precursors for the endocannabinoid anandamide in the rat brain. *The Journal of Lipid Research*, 49:48-57

Matilainen, L. et al. (2008) The stability and dissolution properties of solid glucagon/ γ -cyclodextrin powder. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36(4-5):412-420

Wang, Y. et al. (2009) Comparison of Methods for Extracting Kafirin Proteins from Sorghum Distillers Dried Grains with Solubles. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 57(18):8366-8372

Guerrera, IC. et al. (2009) A Novel Lipidomic Strategy Reveals Plasma Phospholipid Signatures Associated with Respiratory Disease Severity in Cystic Fibrosis Patients. *PLoS ONE*, 4(11):e7735

Yung, KM. et al. (2011) An amyloid β_{42} -dependent deficit in anandamide mobilization is associated with cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*

Reid, CQ. et al. (2010) Rapid whole monoclonal antibody analysis by mass spectrometry: An Ultra scale-down study of the effect of harvesting by centrifugation on the post-translational modification profile. *Biotechnology and Bioengineering*, 107(1):85-95

Heinig, K. & Wirz, T. (2009) Determination of Taspoglutide in Human and Animal Plasma Using Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry with Orthogonal Column-Switching. *Analytical Chemistry*, 81(10):3705-3713

Rossi, EA. et al. (2010) A Bispecific Antibody-IFN α 2b Immunocytokine Targeting CD20 and HLA-DR Is Highly Toxic to Human Lymphoma and Multiple Myeloma Cells. *Cancer Research*, 70:7600

Murphy, MP. et al. (2010) Changes in Cognition and Amyloid- β Processing with Long Term Cholesterol Reduction using Atorvastatin in Aged Dogs. *Journal of Alzheimer's Disease*, 22(1):135-150

PLRP-S の引用文献

Nakagawa, M., Tojo, H. & Fujii, S. (2011) A Glycan of Ψ -Factor from *Dictyostelium discoideum* Contains a Bisecting-GlcNAc, an Intersecting-GlcNAc, and a Core α -1,6-Fucose. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75(10):1964-1970

Della Donna, L. et al. (2011) Mass spectrometric measurements of the apolipoproteins of bovine (*Bos taurus*) HDL. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*

Vondenhoff, GHM. et al. (2011) Characterization of Peptide Chain Length and Constituency Requirements for YejABEF-Mediated Uptake of Microcin C Analogues. *The Journal of Bacteriology*, 193(14):3618-3623

Štokovský, P. et al. (2011) A new approach to the isolation and characterization of wheat flour allergens. *Clinical & Experimental Allergy*, 41(7):1031-1043

Laabs, E. et al. (2011) Optical Imaging of CCK2/Gastrin Receptor-Positive Tumors With a Minigastrin Near-Infrared Probe. *Investigative Radiology*, 46(3):196-201

Rickert, KW. et al. (2011) Structural Basis for Selective Small Molecule Kinase Inhibition of Activated c-Met. *The Journal of Biological Chemistry*, 286:11218-11225

Stuknyte, M. et al. (2011) Potential immunomodulatory activity of bovine casein hydrolysates produced after digestion with proteinases of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 21(10):63-769

Nakano, E. et al. (2011) Riboflavin Depletion Impairs Cell Proliferation in Adult Human Duodenum: Identification of Potential Effectors. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(4):1007-1019

Webb, K. et al. (2011) The ribosomal L1 protuberance in yeast is methylated on a lysine residue catalyzed by a seven beta-strand methyltransferase. *The Journal of Biological Chemistry*

Uehata, T. et al. (2011) Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrology Dialysis Transplantation*

Lohman, G, Chen, L. & Evans Jr, T. (2011) Kinetic characterization of single strand break ligation in duplex DNA by T4 DNA Ligase. *The Journal of Biological Chemistry*

(続<)

PLRP-S の引用文献 (続き)

Hudak, J., Yu, H. & Bertozzi, C. (2011) Protein Glycoengineering Enabled by the Versatile Synthesis of Aminoxy Glycans and the Genetically Encoded Aldehyde Tag. *Journal of the American Chemical Society*, 133(40):16127-16135

Schneider, N. et al. (2011) Prevalence and stability of lysozyme in cheese. *Food Chemistry*, 128(1):145-151

Yan, B. & Boyd, D. (2011) Breaking the Light and Heavy Chain Linkage of Human Immunoglobulin G1 (IgG1) by Radical Reactions. *The Journal of Biological Chemistry*, 286:24674-24684

Landau, M. et al. (2011) Towards a Pharmacophore for Amyloid. *PLoS Biology*, 9(6):e1001080

Kerkaert, B. et al. (2011) Use of lysozyme as an indicator of protein cross-contact in fresh-cut vegetables via wash waters. *Food Research International*, 45(1):39-44

Schneider, N., Werkmeister, K. & Pischetsrieder, M. (2011) Analysis of nisin A, nisin Z and their degradation products by LCMS/MS. *Food Chemistry*, 127(2):847-854

Quenee, L. et al. (2011) Prevention of pneumonic plague in mice, rats, guinea pigs and non-human primates with clinical grade rV10, rV10-2 or F1-V vaccines. *Vaccine*, 29(38):6572-6583

PL-SAX の引用文献

Pratto, F. et al. (2008) *Streptococcus pyogenes* pSM19035 requires dynamic assembly of ATP-bound ParA and ParB on parS DNA during plasmid segregation. *Nucleic Acids Research*, 36(11):3676-3689

Sendovski, M. et al. (2010) Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of a bacterial tyrosinase from *Bacillus megaterium*. *Acta Crystallographica*, 66(9):1101-1103

Bunger, MK. et al. (2008) Automated Proteomics of *E. coli* via Top-Down Electron-Transfer Dissociation Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 80(5):1459-1467

Vantourout, P. et al. (2009) Specific Requirements for V γ 9V δ 2 T Cell Stimulation by a Natural Adenylated Phosphoantigen. *The Journal of Immunology*, 183(6):3848-3857

Scaboo, AM. et al. (2009) Confirmation of Molecular Markers and Agronomic Traits Associated with Seed Phytate Content in Two Soybean RIL Populations. *Crop Science*, 49(2):426-432

PL-SCX の引用文献

Zhang, W. & Czupryn, M. (2003) Analysis of isoaspartate in a recombinant monoclonal antibody and its charge isoforms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30(5):1479-1490

Collinge, J. et al. (2005) Differential Proteomics via Probabilistic Peptide Identification Scores. *Analytical Chemistry*, 77(2):596-606

Schönleben, S. et al. (2007) Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(4):1087-1093

Lohaus, C. et al. (2007) Multidimensional Chromatography: a Powerful Tool for the Analysis of Membrane Proteins in Mouse Brain. *Journal of Proteome Research*, 6(1):105-113

Zahedi, RP. et al. (2007) Phosphoproteome of Resting Human Platelets. *Journal of Proteome Research*, 7(2):526-534

Boehm, A. et al. (2007) Precise protein quantification based on peptide quantification using iTRAQ™. *BMC Bioinformatics*, 8:214

Heller, M. et al. (2003) Trypsin catalyzed ¹⁶O-to-¹⁸O exchange for comparative proteomics: tandem mass spectrometry comparison using MALDI-TOF, ESI-QTOF, and ESI-ion trap mass spectrometers. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 14(7):704-718



**BIO
inert**

Agilent 1260 Infinity バイオイナートクォータナリ LC

限りなく優れた生体分子分析を実現

タンパク質は分析時に多くの相互作用を受けるため、不活性な流路が重要です。バイオアプリケーションでは、Agilent 1260 Infinity バイオイナートクォータナリ LC をご使用ください。ポンプヘッドと混合装置はチタン製のため、腐食することがありません。オートサンブラに加えてキャピラリー、接続、検出器のフローセルや加熱素子には金属がまったく使用されていません。pH 範囲が pH 13 まで拡張されて、アクティブシール洗浄が含まれ、低圧アプリケーションも実行できます。

オプションの追加により、1260 バイオイナートシステムの機能を拡張することができます。対象タンパク質を精製する場合は、冷却オプションと高度なピークトリガオプションを利用し、バイオイナートフラクションコレクタを最大 10 mL/min の流量で使用できます。大量注入には、マニュアルインジェクタが理想的です。バイオイナートフローセルは、ダイオードアレイ検出器、多波長検出器および蛍光検出器に使用できます。

詳細については、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。



ホームページ:

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ:

フリーダイヤル 0120-477-111

本書に記載の情報は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2012

Printed in Japan November 30, 2012

5990-9384JAJP