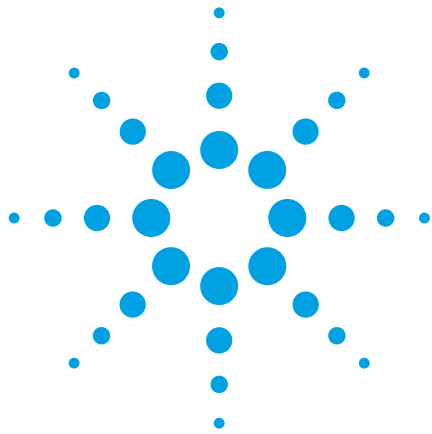




タンパク質分析用 Agilent ZORBAX 300-SB C18 1.8 μ m ラピッドレゾリューション High Definition カラム

技術概要

はじめに

Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18 1.8 μ m は、タンパク質とペプチドの UHPLC 分析向けの新しい逆相系充填剤です。UHPLC システム向けに設計された 1.8 μ m 粒子を使用すると、HPLC の分析時間が大幅に短縮されます。このことは、タンパク質一次構造分析の QC 効率を高めるうえで重要です。

逆相分析に日常的に使用される溶離液はトリフルオロ酢酸またはギ酸を含んだ酸性物質ですが、酸性物質の使用により多くの HPLC カラムの寿命が短くなる場合があります。しかし、StableBond テクノロジーを使用することにより、酸性条件でも安定な 300Å ボアサイズの充填剤が生成可能になり、再現性の高い安定したタンパク質・ペプチド分離を実現できます。

インタクトタンパク質の分析

インタクトタンパク質の分離と分解には、50 mm の短いカラムを使用します。ここで示す例は、0.5 mL/min~1.0 mL/min のさまざまな流量と 60 °C~50 °C の温度を使用して、流量が効率に与える影響を示しています。予想されるとおり、流量が大きいかほど効率が向上します。

3 つの異なる流量の結果を図 1、3、および 5 に示します。図 7 は、50 °C での分離を示しています。この温度では分離がわずかに向上します。図 2、4、6、および 8 にはベースライン分離を示しています。

条件

カラム	Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18, 2.1 x 50 mm, 1.8 μ m (P/N 857750-902)
サンプル	Sigma タンパク質標準試料 (リボヌクレアーゼ A、シトクロム C、トランスフェリン、ミオグロビン)
サンプル濃度	1 mg/mL
注入量	5 μ L
溶離液	A : 0.1 % TFA 水溶液。B : 0.085 % TFA/ ACN 溶液
グラジエント	20 % B 0.5 分、20~60 % B 2 分、60~90 % B 0.5 分、90 % B 1 分、90~20 % B 0.1 分、20 % B 0.9 分
温度	図に表示
流量	図に表示
圧力	図に表示
システム	Agilent 1290 Infinity LC



Agilent Technologies

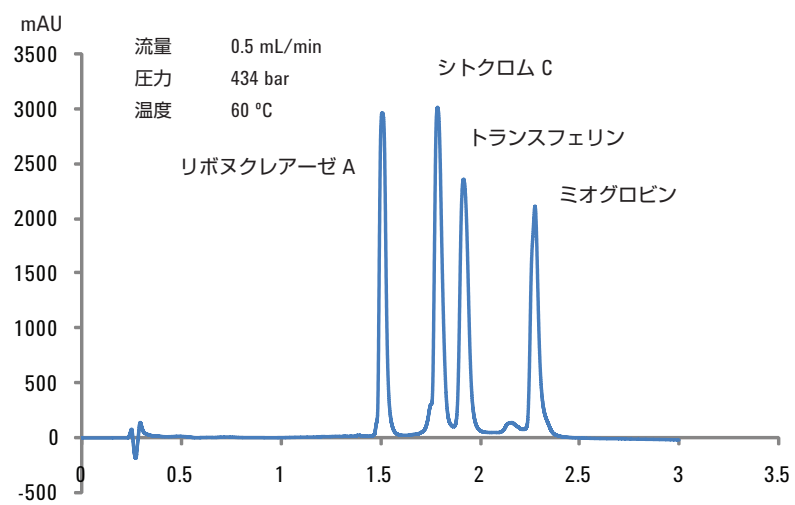


図 1. Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18、2.1 x 50 mm、1.8 μ m カラムで分析したタンパク質標準試料

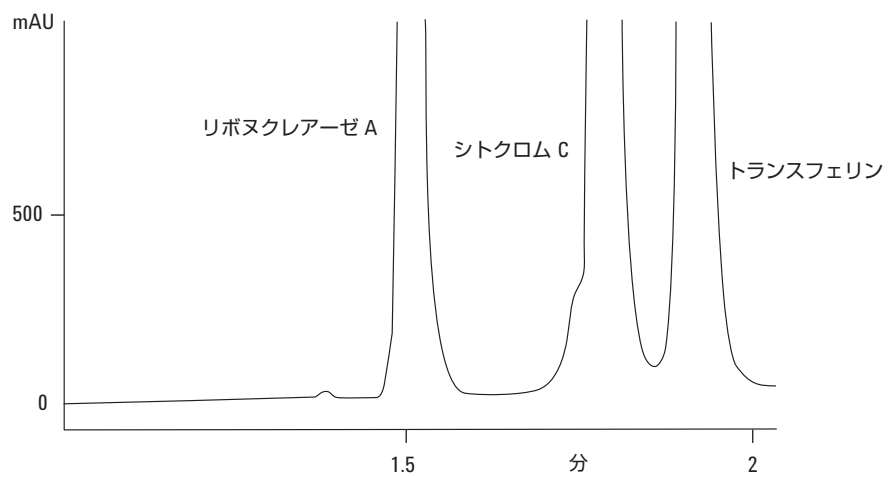


図 2. 図 1 のベースライン拡大図

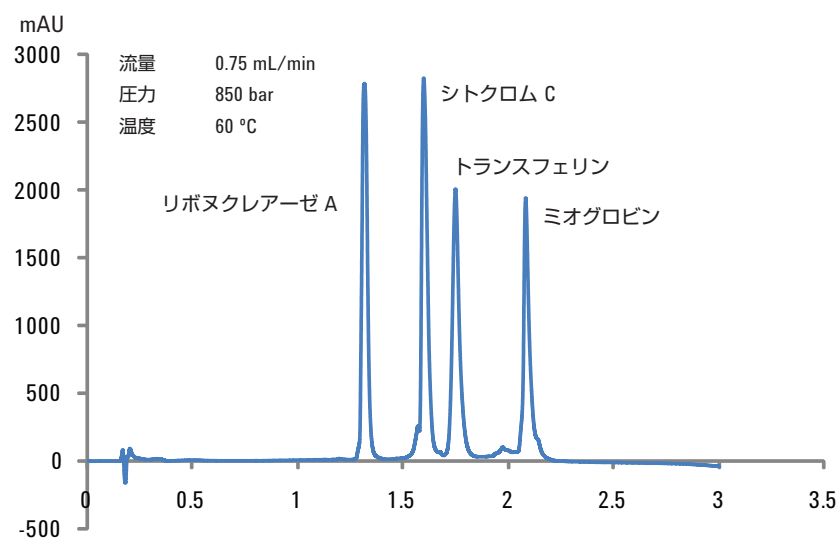


図 3. Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18、2.1 x 50 mm、1.8 μ m で分析したタンパク質標準試料

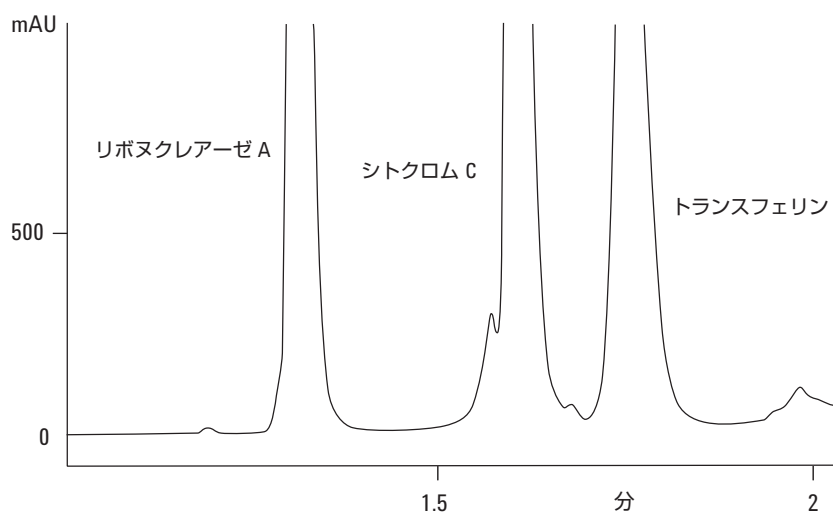


図 4. 図 3 のベースライン拡大図

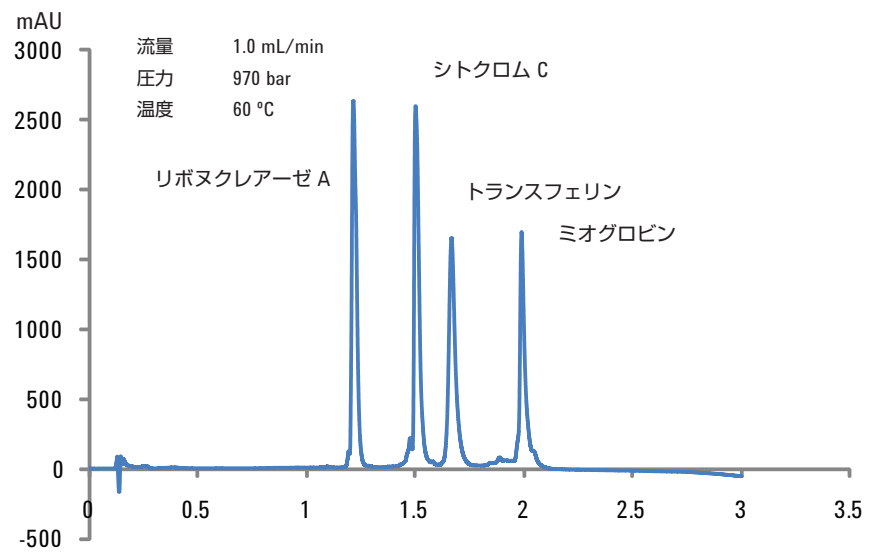


図 5. Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18、2.1 x 50 mm、1.8 μ m カラムで分析したタンパク質標準試料

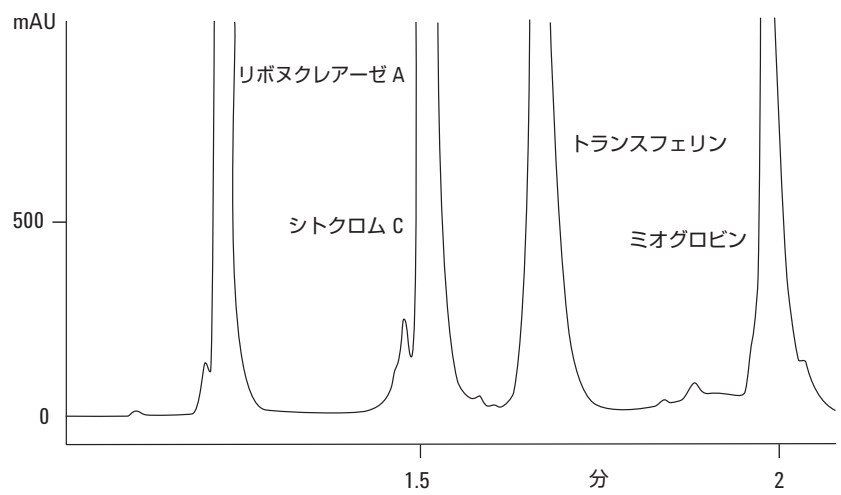


図 6. 図 5 のベースライン拡大図

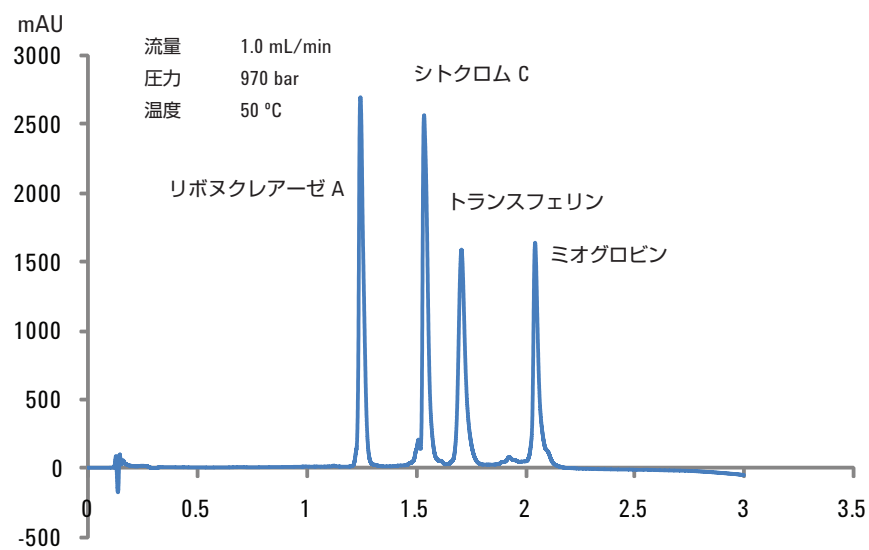


図 7. Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18、2.1 x 50 mm、1.8 μ m カラムで温度を下げて分析したタンパク質標準試料

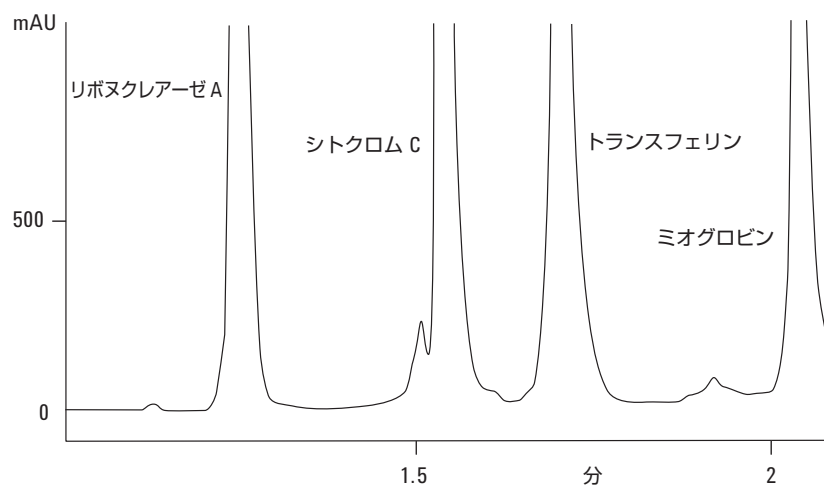


図 8. 図 7 のベースライン拡大図

タンパク質消化物の分析

ペプチド成分と酵素消化タンパク質の分析に、同じ ZORBAX 充填剤をより長い 100 mm カラムで使用して、一次アミノ酸の配列とアミノ酸の改変における変化を同定します (図 9)。30 回の分析後のカラムの再現性を図 10 に示します。

条件

カラム	Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18、2.1 x 100 mm、1.8 μ m (P/N 858750-902)
サンプル	タンパク質消化物
サンプル濃度	1 mg/mL
注入量	5 μ L
溶離液	A : 0.1 % TFA 水溶液。B : 0.085 % TFA/ ACN 溶液
グラジエント	20 % B 1 分、2~45 % B 8.8 分、45~95 % B 0.2 分、95 % B 2 分、98~2 % B 0.2 分、210 % B 1.8 分
温度	50 $^{\circ}$ C
流量	0.5 mL/min
圧力	~640 bar
システム	Agilent 1290 Infinity LC

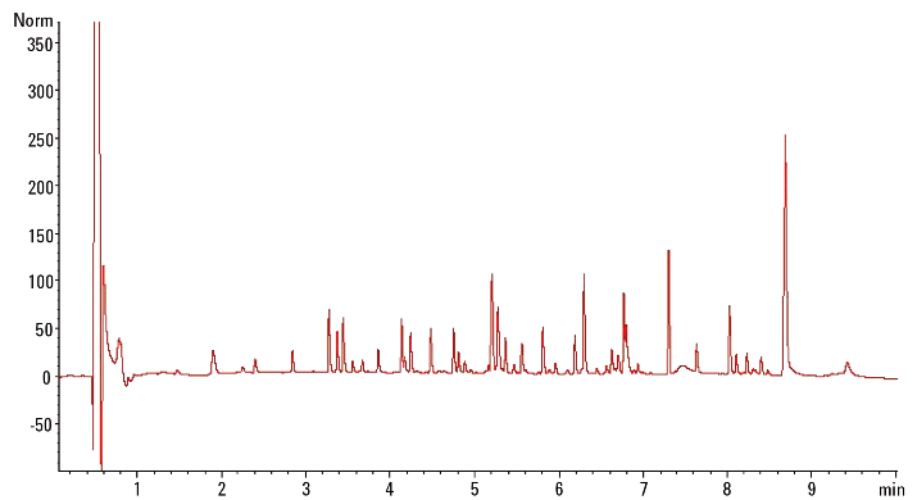


図 9. Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18、2.1 x 100 mm、1.8 μ m カラムを使用したタンパク質消化物の分離

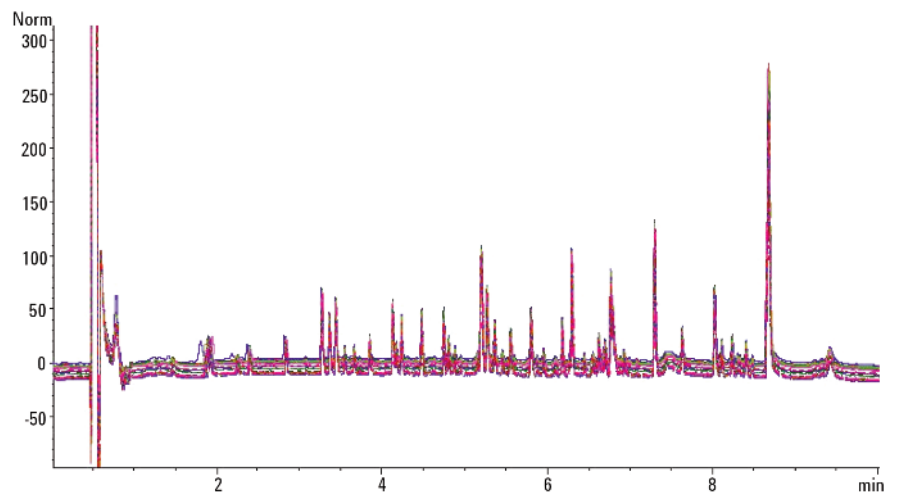


図 10. Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18、2.1 x 100 mm、1.8 μ m カラムを使用したタンパク質消化物の
30 回分析によるクロマトグラムの重ね書き

タンパク質分析用 Agilent ZORBAX カラム

インタクトバイオセラピューティックタンパク質およびペプチドアリコートは、Agilent ZORBAX RRHD 300-SB C18 1.8 μ m カラムで高速かつ簡単に分析できます。カラムのラピッドレゾリューション High Definition テクノロジーによって高圧 UHPLC が可能になる一方、酸性条件が必要な分析では StableBond 300Å ポアサイズ粒子が優れた安定性を発揮します。再現性は非常に高く、分解能、非対称性、および効率も良好です。これらのカラムはタンパク質一次配列分析に最適です。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2011
Printed in Japan
May 18, 2011
5990-7989JAJP