

中～高分子質量範囲のタンパク質の GPC/SEC 分析

著者

Mathias Glaßner and
Jasmin Preis
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、Agilent PROTEEMA カラム、および溶出液として水溶性緩衝液を使用して行われたタンパク質の GPC/SEC 分析を説明します。

はじめに

タンパク質の凝集およびフラグメンテーションに関する調査は、バイオ医薬品ワークフローの必須情報です。この情報は、GPC/SEC 分析で得られます¹。

タンパク質の GPC/SEC 分析には、固定相との望ましくない非特異的な相互作用を回避するという課題があります。分析対象の分子量範囲に従って気孔率を選択することにより、Agilent PROTEEMA カラムを使用して、さまざまなプロテインを分析できます。

実験方法

表 1 を参照してください。

結果と考察

堅牢性と信頼性に優れた GPC/SEC によるタンパク質の分析は、固定相として PROTEEMA カラムを、溶出液として pH = 6.6 の水性リン酸緩衝液と 0.5 M 塩化ナトリウムを使用して行われました。中～高モル質量タンパク質の分析には、PROTEEMA 3 μm 300 \AA カラムを使用しました。図 1 は、670,000 ~ 35,000 Da の 5 種類のタンパク質（サイログロブリン、ガンマグロブリン、ウシアルブミン、ニワトリアルブミン、ベータラクトグロブリン）のサンプルクロマトグラムを重ね表示したものです。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。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。

DE88824697

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2020, 2023

Printed in Japan, March 2, 2023

5994-5728JAJP

表 1. 機器およびサンプル条件

	条件
ポンプ	イソクラティックポンプ 流量：1 mL/min 移動相：34 mM リン酸緩衝液、pH 6.6、0.5 M 塩化ナトリウム
注入システム	オートサンプラ 注入量：20 μL
カラム	PROTEEMA 3 μm 300 \AA 、8 \times 300 mm (p/n PRA0830033e2)
温度	23 $^{\circ}\text{C}$
サンプル濃度	1 mg/mL
検出器	可変波長 UV-Vis 検出器 (VWD) @ $\lambda = 280 \text{ nm}$
ソフトウェア	Agilent WinGPC

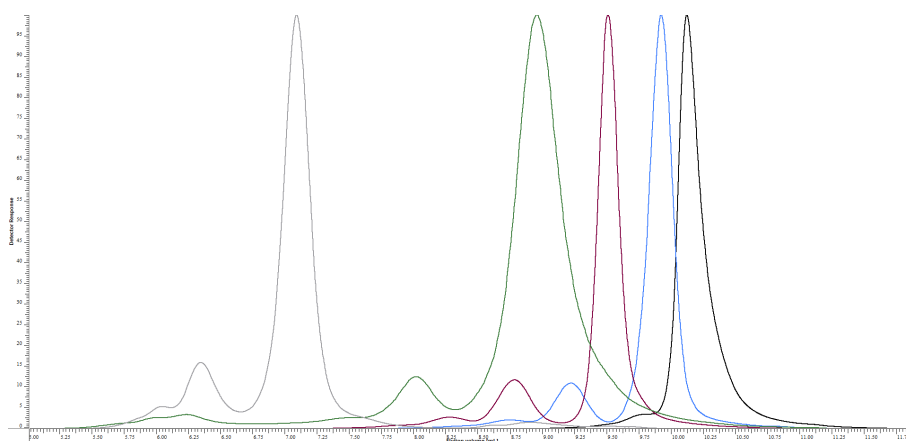


図 1. 670,000 ~ 35,000 Da の 5 種類のタンパク質の 280 nm での UV トレースを重ね表示（正規化後の検出器の反応）。Agilent PROTEEMA 3 μm 300 \AA カラムを使用

結論

PROTEEMA カラムは、水溶性緩衝液に溶けたタンパク質の GPC/SEC 分析に適しています。Agilent PROTEEMA 300 \AA カラムでは、中～高モル質量のタンパク質をサイズに従って分離できます。これにより、凝集体やフラグメントの検出が可能になります。

参考文献

1. Hong, P.; Koza, S.; Bouvier, E. S. P. Size-Exclusion Chromatography for the Analysis of Protein Biotherapeutics and their Aggregates *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2012**, *35*(20), 2923–2950.