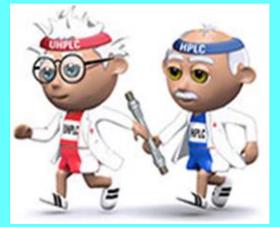


生体高分子の UHPLC-SEC 分析はこれで決まり！

TSKgel UP-SW3000-LS カラムを用いた微量たんぱく質の分析、光散乱 (LS)、MS 検出

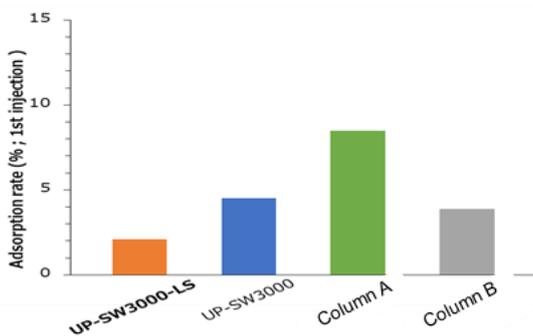


超高性能サイズ排除クロマトグラフィー (UHPLC-SEC) は、組換えたんぱく質の純度検定や、バイオ医薬品中の凝集体分析に用いられます。しかし微量分析では、SEC カラムに、たんぱく質が非特異的に吸着し定量や再現性に問題が生じる場合があります。また光散乱 (LS) 検出による凝集体分析や質量 (MS) 分析では、カラム由来の妨害物質の溶出などにより十分必要な検出ができない場合があります。このような問題を解決した新しい UHPLC-SEC カラム TSKgel UP-SW3000-LS を紹介します。

●SEC カラム (新品) における、たんぱく質の非特異的吸着の比較

新品カラムを用いて、微量の標準たんぱく質混合溶液 (全 2.5 μg/回) を 10 回連続注入し、10 回目の溶出ピーク面積を 100 としたときの 1 回目の溶出ピーク面積から、たんぱく質の非特異的吸着率 (%) を算出しました。その結果、TSKgel UP-SW3000-LS では非特異的吸着率は約 2 % であり、既存の TSKgel UP-SW3000 や他社市販品 UHPLC-SEC カラムの半分以下の非特異的吸着率を示しました。

TSKgel UP-SW3000-LS では、たんぱく質の非特異的吸着率から逆算して、新品カラムでは 2 回の試料注入 (エイジング処理) を行えば、微量たんぱく質でも正確な分離と再現性が得られることが示唆されました。



分析条件

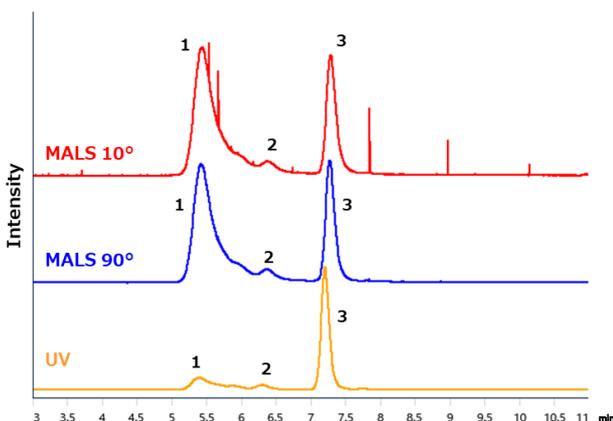
カラム ; TSKgel UP-SW3000-LS、TSKgel UP-SW3000
市販UHPLC-SECカラム Column A、Column B (全て4.6 mm I.D. x 30 cm)
溶離液 ; 0.1 mol/L sodium phosphate buffer + 0.1 mol/L Na₂SO₄ + 0.05 % NaN₃ (pH 6.7)
流速 ; 0.35 mL/min
検出 ; UV (280 nm)
温度 ; 25 °C
試料 ; 標準たんぱく質混合液 (10 μL 注入)
1. Thyroglobulin, 640,000 Da (0.05 g/L)
2. γ-Globulin, 155,000 Da (0.1 g/L)
3. Ovalbumin, 47,000 Da (0.1 g/L)

備考; 非特異的吸着率は、3種の標準たんぱく質の溶出ピーク面積の合計から算出した

●光散乱 (LS) 検出

抗体医薬品のサイズバリエーション解析で使用される SEC 分析は、UV 検出法だけでは得られる情報が限られることから、光散乱 (LS) 検出器による分析が推奨されています。しかし LS 検出器では、カラム由来の溶出物や妨害物質によりスパイクノイズやゴーストピークが検出され、分析の精度が低くなる場合があります。

TSKgel UP-SW3000-LS では、このようなスパイクノイズ、ゴーストピークの出現を抑え、より正確な LS 検出ができる設計となっています。



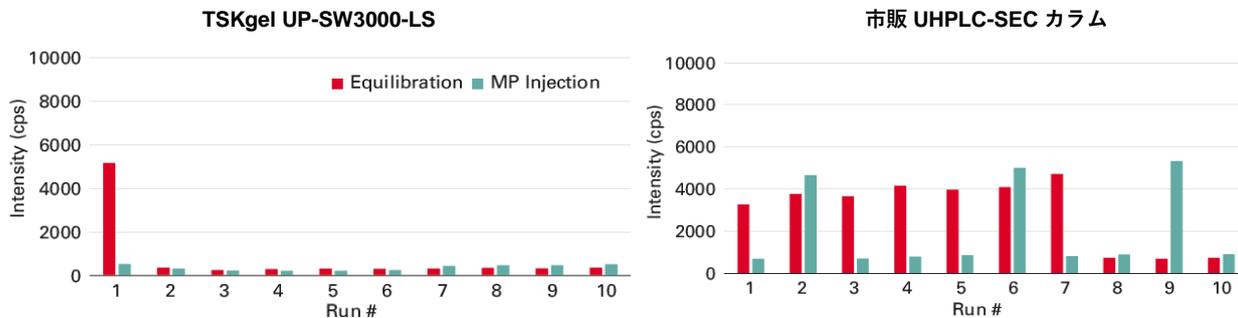
分析条件

カラム ; TSKgel UP-SW3000-LS (4.6 mm I.D. x 30 cm)
溶離液 ; 0.1 mol/L sodium phosphate buffer + 0.1 mol/L Na₂SO₄ + 0.05 % NaN₃ (pH 6.7)
流速 ; 0.35 mL/min
検出 ; UV (280 nm), MALS 10° , 90°
温度 ; 25 °C
試料 ; Human monoclonal IgG1 (10 μL, 2 g/L)

●質量 (MS) 分析検出

SEC 分析システムに MS 検出器を直結し、正確な分子量の測定やサイズバリエーション、糖鎖構造などの分子量情報を解析することが増えています。しかし LS 分析と同様に MS 分析においても、カラム由来の溶出物など（ブリード；Bleeding）の影響で分析が困難になる場合があります。

TSKgel UP-SW3000-LS では、MS 検出において、最初のカラムの平衡化でほとんどのブリードは除去され、その後のブランク試料の注入（溶離液）においてもブリードは少なくなっており、市販の UHPLC-SEC カラムと比較して、より再現性の良いベースラインが得られます。



分析条件

カラム ; TSKgel UP-SW3000-LS、市販UHPLC-SECカラム (共に4.6 mm I.D. x 30 cm)

溶離液 ; 0.1 mol/L ギ酸アンモニウム (pH 6.8)

流速 ; 0.2 mL/min

検出 ; ESI-MS

試料 ; ブランク試料 (溶離液、10 μL)

備考 ; 12時間の平衡化後、ブランク試料を注入 (MP Injection) し、12時間分析する手順を計10回繰り返し、その間のシグナル強度を測定した

Ref.; Product Overview No. 50, Tosoh Bioscience LLC

●関連技術資料

- セパレーションレポート No. 124, 高性能 SEC カラム TSKgel UP-SW3000-LS について
- Tosoh Bioscience Application Note No. 129, SEC-MALS of Antibody Therapeutics – A Robust Method for In-Depth Sample Characterization
- Tosoh Bioscience Product Overview, PO No. 50, TSKgel UP-SW3000-LS – Size-Exclusion UHPLC Columns, Designed for smooth and efficient combination of light scattering and mass spectrometry detection

※たんぱく質、ペプチド、核酸等の SEC に関する技術資料は、弊社ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/litip> からアクセスできます

●TSKgel UP-SW3000-LS およびガードカラム

品番	品名	粒子径	カラムサイズ
0023546	TSKgel UP-SW3000-LS	2 μm	4.6 mm I.D. x 30 cm
0023547	TSKgel UP-SW3000-LS	2 μm	4.6 mm I.D. x 15 cm
0023548	TSKgel guardcolumn UP-SW-LS	-	4.6 mm I.D. x 2 cm
0023549*	TSKgel guardcolumn UP-SW-LS DC	-	4.6 mm I.D. x 2 cm

出荷時溶媒 ; 20 % エタノール

*分析カラムに直接接続可能です



※ “TSKgel” は日本等における東ソー株式会社の登録商標です

※ 掲載のデータ等はその数値を保証するものではありません。お客様の使用環境・条件・判断基準に合わせてご確認ください

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部 ☎(03) 5427-5180 〒105-8623 東京都港区芝3-8-2
 大阪支店 バイオサイエンスG ☎(06) 6209-1948 〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-4-9
 名古屋支店 バイオサイエンスG ☎(052) 211-5730 〒460-0008 名古屋市中区栄1-2-7
 福岡支店 ☎(092) 781-0481 〒810-0001 福岡市中央区天神1-13-2
 仙台支店 ☎(022) 266-2341 〒980-0014 仙台市青葉区本町1-11-1
 カスタマーサポートセンター ☎(0467) 76-5384 〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川12743-1

バイオサイエンス事業部ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/>
 HPLC Applications Database <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/applications-database-jp>
 お問い合わせE-mail hlc@tosoh.co.jp