

試料の吸着を抑えた UHPLC-SEC カラムはこれで決まり！

たんぱく質のカラムエイジングが、大幅に低減可能な TSKgel UP-SW3000-LS

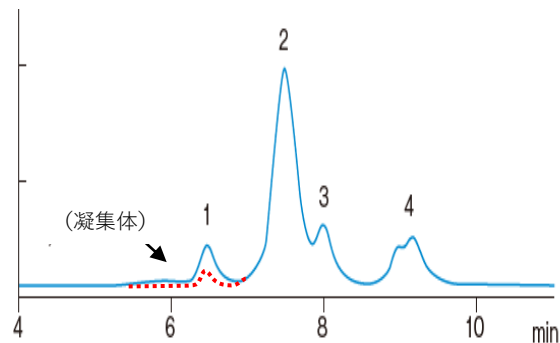


新品のサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 用カラムを溶離液で平衡化し、たんぱく質試料を注入した際に、たんぱく質がカラムに非特異的に吸着する現象 (初期吸着) がしばしば観察されます。特に抗体試料では、凝集体や二量体が吸着して溶出ピークが減少する、あるいは、全くピークが溶出しなことがあることがあります (下図を参照)。このような現象は、ほとんど全ての SEC カラムで起こります。

SEC カラムで定常的に再現性良く分離するため、通常、連続 10 回程度の試料注入や、抗体成分を含む市販ヒト血清試料 (溶解後、フィルタでろ過) などを注入するなど、カラムのエイジング (マスキング) 処理が行われています。しかしながら、このような処理は時間を要するばかりでなく、貴重で高価なたんぱく質試料を無駄に消費してしまうことになるため、微量たんぱく質の分析に有用な超高性能 (UHPLC) -SEC カラムでは好ましくありません。この問題を克服したのが、TSKgel UP-SW3000-LS カラムです。

免疫グロブリンの SEC 分離 (イメージ図)

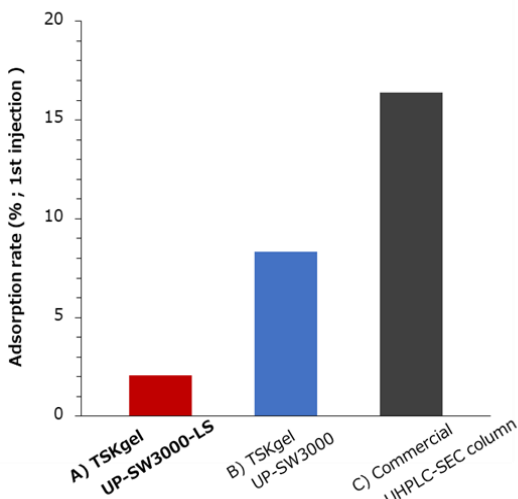
青実線; 定常時、エイジング後のクロマトグラム
赤破線; 新品カラムの初期クロマトグラム
ピーク; 1. 二量体、2. 単量体、3. および 4. 断片
(凝集体および二量体の一部が吸着)



●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 3 種の混合溶液 (合計 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 5 分の 1 以下の値を示しました。

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定量分析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 (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

●TSKgel UP-SW3000-LS の特長

- ・新品カラムの使用時、**わずか2回のたんぱく質試料の注入（試し打ち）により非特異的吸着は抑えられ**、定量分析が可能になります。
- ・たんぱく質試料の分析では、**1~2.5 µg 程度の試料負荷量**で定量分析が可能です。
- ・カラム由来のシェディング、スパイクノイズ、ブリードが少ないため、**光散乱（LS）検出器や質量分析（MS）検出器**による検出にも適しています（テクニカルノート TSKgel No.24 参照）。
- ・現行の TSKgel UP-SW3000 から同一分離条件で、**そのままカラムの切り替えが可能**です。
- ・UHPLC-SEC カラムですが使用圧力が低いため、**汎用の HPLC システムでも使用することが可能**です（注；セミマイクロ仕様が必要）。
- ・汎用の **TSKgel G3000SW_{XL} を 2 本連結したカラムと同等以上**の高い分離能が得られます。
- ・超高分離分析には 30 cm カラム、超高速分析には 15 cm カラムが利用できます。
- ・低デッドボリュームを実現した、**本カラムに直結できるガードカラム（DC タイプ）**があります。

●関連技術資料

1. 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
2. Tosoh Bioscience Application Note No. 129, SEC-MALS of Antibody Therapeutics – A Robust Method for In-Depth Sample Characterization
3. 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
4. テクニカルノート TSKgel No.24 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

※たんぱく質、ペプチド、核酸等の SEC 分離に関する技術資料は、弊社ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/litjp> 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2743-1

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

