

# カチオン交換 クロマトグラフィーワークフロー

Agilent Bio IEX および Bio MAb HPLC カラム



本書は、生体分子の特性分析に最適な LC システムとその構成に関する、アジレントのアプリケーションケミストからの推奨事項を記載しています。また、メソッド開発のスタート地点となる一般的なメソッドと、このメソッドを分離目標に合わせて最適化する方法も示します。

詳細な情報については [www.agilent.com/chem/advancebio](http://www.agilent.com/chem/advancebio) をご覧ください。

## ガイドライン

- 塩基性タンパク質：強カチオン交換（SCX）または弱カチオン交換（WCX）。
- 移動相の pH を選択する場合は、タンパク質の等電点（pI）を考慮します。pH が pI より小さいと、タンパク質は正電荷を持ちます。
- 開始時の緩衝液の pH は、pI から 0.5 ~ 1 pH 単位である必要があります（カチオン交換の場合は pI より小さい必要があります）。
- pI が不明の場合、カチオン交換では pH 6 で開始します。
- 操作範囲が最も広い SCX カラムで開始します。WCX を使用すると、選択できる範囲が変わります。
- カチオン交換用の緩衝液（pH 4 ~ 7）には、ギ酸塩、酢酸、MES、リン酸塩、HEPES などが使用可能です。



Agilent BioHPLC Columns and Consumables  
Your essential resource for biopharmaceutical analysis

**BioHPLC カラムのカタログ**

特性解析に役立つヒントやツールなど、重要な成分の測定に必要なものがすべて見つかります。

[ダウンロードはこちら](#)

結合相	
SCX	SO <sub>3</sub> H
WCX	COOH
サンプル	カラム
モノクローナル抗体	Bio MAb
ペプチドおよびタンパク質	Bio SCX および WCX
球状タンパク質およびペプチド	PL-SCX 1000Å
非常に大きい生体分子/高速	PL-SCX 4000Å
タンパク質、抗体	バイオモノリス S03

## Agilent 1260 Infinity II バイオイナート LC システム

### 移動相

移動相には必要な動作 pH を維持するための緩衝液が含まれる必要があります (通常は 20 mM)。溶出塩は通常 400 ~ 500 mM です。

Agilent Buffer Advisor は、4 種類の原液をさまざまな割合で組み合わせて必要なグラジエントプロフィールを作成するのに使用します。

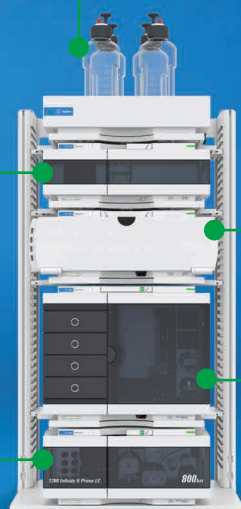
### 検出

UV、10 mm、バイオイナート標準フローセル。

### ポンプ

内径 4.6 mm のカラムの標準的な流量は 0.5 ~ 1.0 mL/min です。

内径 2.1 mm のカラムの標準的な流量は 0.2 ~ 0.4 mL/min です。



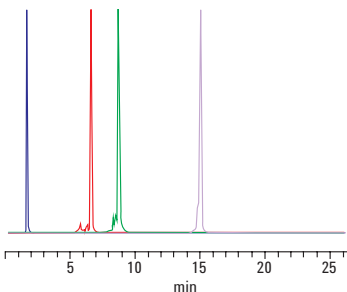
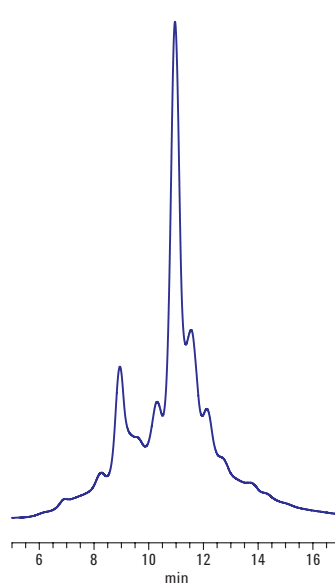
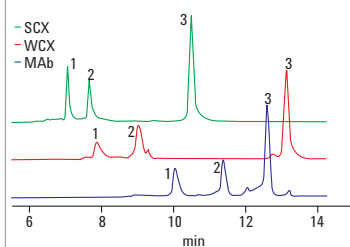
BIO

### カラムコンパートメント

上限は 80 °C です。カラム寿命を考慮した、一般的な使用条件は 10 ~ 50 °C です。

### サンプル注入量

最大分解能の場合、1 ~ 10  $\mu$ L を注入。サンプルは、移動相で溶解します。

	モノクローナル抗体		モノクローナル抗体、タンパク質およびペプチド
	塩グラジエント	pH グラジエント	塩グラジエント
カラム	Bio WCX、4.6 x 250 mm、10 μm Bio WCX、4.6 x 250 mm、5 μm	Bio MAb、4.6 x 250 mm、5 μm	Bio SCX、4.6 x 50 mm、3 μm WCX、4.6 x 50 mm、3 μm Bio MAb、4.6 x 50 mm、3 μm
移動相	A : 水 B : 1.6 M NaCl C : 40.0 mM NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> D : 40.0 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>  C と D を事前に決定した割合で混合することで、最適な pH 範囲の 20 mM 緩衝液が作製されます。	A : 水 B : 1.6 M NaCl C : 40.0 mM NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> D : 40.0 mM Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>  C と D を事前に決定した割合で混合することで、最適な pH 範囲の緩衝液溶液が選択した緩衝液強度で作製されます。	A : 20 mM リン酸ナトリウム、WCX で pH 5.0、SCX で pH 6.0 B : 緩衝液 A + 1 M NaCl
グラジエント	0 ~ 50 % B、0 ~ 20 分 (一定の pH、例えば pH 6.0 など)  50 % B、20 ~ 25 分 0 % B、25 ~ 35 分	pH 6.0 ~ 8.0、0 ~ 20 分  0 ~ 800 mM NaCl、20 ~ 25 分 800 mM NaCl、25 ~ 30 分	1 ~ 100 % B 30 分 (50 mm カラムの場合)、60 分 (250 mm カラムの場合)
流量	1 mL/min	1 mL/min	0.5 mL/分
温度	室温	室温	室温
注入	10 μL	10 μL	10 μL
サンプル	2 mg/mL (20 mM リン酸ナトリウムバッファ中、pH 6.0)	2 mg/mL (20 mM リン酸ナトリウムバッファ中、pH 6.0)	
検出	UV、220 nm	UV、220 nm	UV、220 nm
	Agilent Bio WCX、4.6 x 250 mm、10 μm カラムによる pH 7.0 でのタンパク質標準の分離。  オボアルブミン (pI 4.5) リボヌクレアーゼ (pI 9.4) シトクローム c (pI 9.8) リゾチーム (pI 11)	6.5 ~ 7.5 の pH グラジエント (0 ~ 20 分)、50 mM、Agilent Bio MAb、4.6 x 50 mm、5 μm カラム を用いた IgG モノクローナル抗体の分析。	アジレントの 3 μm イオン交換カラムを使用したカチオン交換クロマトグラフィーによるタンパク質標準の分離。  リボヌクレアーゼ (pI 9.4) シトクローム c (pI 9.8) リゾチーム (pI 11)
			

## 製品情報

説明	Bio IEX HPLC カラム、PEEK		Bio MAb HPLC カラム、PEEK
	Bio SCX 部品番号	Bio WCX 部品番号	部品番号
4.6 x 250 mm、10 µm	5190-2435	5190-2455	5190-2415
4.6 x 50 mm、10 µm	5190-2436	5190-2456	5190-2416
4.6 x 250 mm、5 µm	5190-2427	5190-2447	5190-2407
4.6 x 50 mm、5 µm	5190-2428	5190-2448	5190-2408
2.1 x 250 mm、10 µm	5190-2439	5190-2459	5190-2419
2.1 x 50 mm、10 µm	5190-2440	5190-2460	5190-2420
2.1 x 250 mm、5 µm	5190-2431	5190-2451	5190-2411
2.1 x 50 mm、5 µm	5190-2432	5190-2452	5190-2412

注：Bio IEX および Bio MAb ステンレス HPLC カラムの部品番号については、BioHPLC カラムのカタログ ([5994-6123JAJP](#)) を参照してください。

## CQA モニタリングにアジレント品質を

Agilent AdvanceBio カラムがあれば、複雑な生物製剤分子について信頼性の高い分析結果が得られ、重要品質特性（CQA）を確実にモニタリングすることができます。

アジレントでは、以下の分析に最適な Agilent AdvanceBio カラムをご用意しています。

- アミノ酸および細胞培地
- インタクトおよびサブユニット
- HIC によるインタクトの分析
- 凝集体および断片
- 電荷変異体
- ペプチドマッピング
- グリカン
- タンパク質抗体価
- オリゴヌクレオチド
- アデノ随伴ウイルス

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://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](mailto: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おりません。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。

DE53946936

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, November 9, 2023

5994-6910JAJP

