

## Agilent Bio SEC-5 によるウイルス様粒子 (VLP) の分析

### 著者

Jianqiu Mi  
Agilent Technologies, Inc.

### はじめに

ワクチンに代表される免疫療法は、疾患の予防と治療の重要な手段です。ワクチンの開発は現代医学における非常に大きな進歩です。ウイルス様粒子 (VLP) は高度に構造化されたタンパク質粒子であり、1 つまたは複数の構造タンパク質 (一般的に直径 20 ~ 150 nm) から自己組織化されます。VLP は、ウイルス抗原タンパク質の天然の組成を維持するため、ウイルスペノムや、感染に必要な複製機構を含むことなく、宿主の免疫反応を刺激する機能があります。この特徴から、VLP は長年にわたり、ワクチンの開発とアプリケーションの良好なプラットフォームとなっています。<sup>1,2</sup>

サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) は、高分子量凝集体とそれに関連する低分子量タンパク質を分析する有効な手段です。良好な分離能を得るためには、VLP 分子の大きな動的直径に基づき、ポアサイズの大きい SEC カラムを用いる必要があります。現在市販されているポア直径の大きい SEC カラムは、選択肢が比較的限られており、最適な分離を得られません。Agilent Bio SEC-5 カラムファミリーには超大型のポアサイズが幅広く揃っているため、優れたカラム効率によってメソッドの開発と最適化が容易になり、最適な分離結果を実現できます。このアプリケーションでは、ポア直径の異なる Bio SEC-5 クロマトグラフィーカラムを用いて VLP の SEC 分析を実行し、結果を比較しました。

## ウイルス様粒子の分析

0.71 g のリン酸二水素ナトリウム、15.8 g のリン酸水素二ナトリウム十二水和物、23.4 g の塩化ナトリウムを正確に計量し、1 L の脱イオン水に溶解して、バッファを作成しました。このバッファを十分に混合し、これらの実験の移動相として用いました。

クロマトグラフィー分析には、Agilent 1260 Infinity II クォータナリポンプと可変波長検出器を取り付けた Agilent 1260 Infinity II LC システムを使用しました。クロマトグラフィー条件を表 1 に、クロマトグラフィーによる分離の結果を図 1 に示します。

VLP サンプルの濃度が比較的低い (1 mg/mL 未満) ため、検出波長として 220 nm を選択したところ、同じサンプル量で 280 nm を上回る高いシグナル応答が得られ、シグナル応答とベースラインノイズのバランスをとることができました。

この研究では、Bio SEC-5、2,000 Å カラムと Bio SEC-5、1,000 Å カラムを用いた結果を比較しました (図 1 を参照)。VLP のクロマトグラムを比較した結果、Bio SEC-5、2,000 Å の方が良好な分離を達成できました。溶液中の VLP の動的直径が比較的大きいことを考えると、適切なポアサイズの SEC カラムを選択することが、効率的な分離を実現するうえで非常に重要です。Agilent Bio SEC-5 カラムファミリーには 100 ~ 2000 Å の幅広いポアサイズが揃っているため、VLP の特性解析に最適な分析カラムが選択可能です。

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

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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, September 29, 2021

5994-4227JAJP

DE44452.4321643518

表 1. 液体クロマトグラフィー分析条件

パラメータ	設定値
カラム	Agilent Bio SEC-5、7.8 × 300 mm、5 μm、2000 Å (p/n 5190-2541) Agilent Bio SEC-5、7.8 × 300 mm、5 μm、1000 Å (p/n 5190-2536)
流量	0.6 mL/min
移動相	50 mM リン酸バッファ (pH 7.4)、400 mM 塩化ナトリウム
カラム温度	室温
サンプル量	5 μL
検出波長	220 nm
分析時間	30 分
HPLC システム	Agilent 1260 Infinity II LC システムとクォータナリポンプ

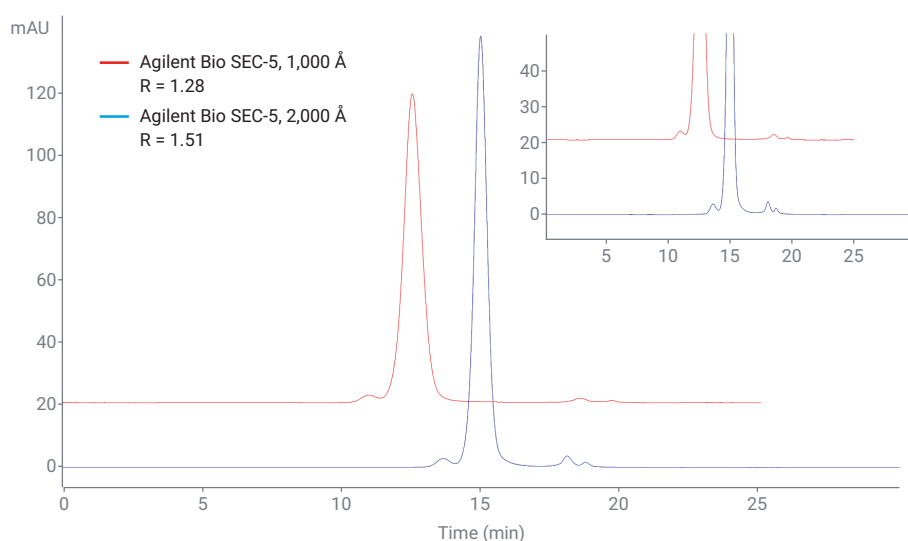


図 1. 同じウイルス様粒子を Agilent Bio SEC-5、2,000 Å カラムと Bio SEC-5、1,000 Å カラムで分析した結果

## 参考文献

1. Rob, N; Polly, R. Virus-Like Particles as Immunogens. *Trends Microbiol.* **2003**, 11(9), 438-444.
2. Grgacic, E. V. L.; Anderson, D. A. Virus-Like Particles: Passport to Immune Recognition. *Methods* **2006**, 40(1), 60-65.