

# バイオ医薬品における光散乱および サイズ排除クロマトグラフィー (SEC)

## 著者

Moritz Susewind  
Agilent Technologies, Inc.

## はじめに

光散乱とサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) の原理に基づく検出は、ポリスチレン (PS)、ポリメチルメタクリレート (PMMA)、ポリカーボネート (PC) などの合成ポリマー、および生体高分子の分子量とサイズ分布の特定に最適です。特に SEC は最近、バイオコンジュゲーション、タンパク質、モノクローナル抗体 (mAb)、mRNA<sup>1</sup>、ウイルス (アデノ随伴ウイルス (AAV))、細胞外小胞 (EV)、リポソームナノ粒子 (LNP) などのアプリケーションにおいて、バイオ医薬品業界での注目度が増しています。

## SEC を用いた生体高分子分析

複雑なポリマーサンプルを分画する手段として SEC を使用する理由は何でしょうか。SEC に基づく分析により、生体分子の高次な凝集体を同定および定量し、光散乱装置を使用することで、これをさらに分析できます。その情報を用いて、生体分子の品質管理、例えば抗体薬複合体 (ADC) の薬物抗体比 (DAR) 分析などのアプリケーションを実行できます。<sup>2</sup> まず分子をサイズで分離してから単一サイズの分率を分析するという方法を用いると、一括測定よりも分析結果の精度が向上します。

## SEC でのキャリブントを用いた分子量の測定

SEC は分子量の相対的な測定メソッドであるため、クロマトグラフィーカラムのキャリブレーションは通常、分布域の狭いポリマーで構成される分析標準で実行されます。これは幅広い成分クラスに使用できます。<sup>3</sup> このメソッドは汎用性が高い反面、調査対象である元の分子のサイズに関する一次情報を得られず、ポリマークラスと一致する標準試料がないと正確な分子量測定ができないという欠点があります。

## 光散乱による物理化学的パラメータの直接測定

分析科学者はキャリブントの使用を回避するため、光散乱検出器を使用して、クロマトグラフィーカラムをキャリブレーションせずに重量平均分子量 (Mw) を直接測定するだけでなく、分子サイズに関する情報も取得しています。分子サイズは、静的光散乱 (SLS) では成分の回転半径 ( $R_g$ )、動的光散乱 (DLS) では成分の流体力学半径 ( $R_h$ ) によって推定できます。また、2つのサイズ表現の比率に基づいて、分子のトポロジを推定できます。この方法は、ポリマーやポリマー凝集体が、均質球、中空球、ランダムなポリマーコイルなどの形態である場合に利用できます。<sup>4</sup> または、このトポロジ情報を、粘度測定やマルク - ホウインクプロット<sup>5</sup>、または Mark-Houwink プロットと類似した  $R_g$ -M 関係によって抽出することもできます。DLS はより堅牢で使いやすいシステムです。重要なのは、SEC では連続連結により、多角度 (20 個の角度) の静的光散乱と DLS の両方を同時に実行できるということです。

## バイオ医薬品における光散乱の理論的、実践的な考慮事項

このホワイトペーパーでは、理論的、実践的な背景とバイオ医薬品から選択した例を組み合わせで紹介する場合があります。これは、SEC における検出メソッドとして、光散乱に大きな可能性があることを具体的に示すためです。光散乱を用いることで、生理学的条件下で、分画された生体高分子の分子量、サイズ、コンホメーションをオンラインでモニタリングできます。

## SEC における静的光散乱 (SLS)

入射光がソフトマターで弾性的に散乱する場合 (図 1 を参照)、散乱光の強度は重量平均分子量 (Mw)、濃度 (c)、散乱コントラスト係数 (K) に比例します。K は定数  $(4\pi^2)/N_L$ 、溶媒の屈折率  $n_0^2$ 、溶液中のポリマーの屈折率増分  $(\delta n_p/\delta c)^2$ 、入射レーザー光の波長  $\lambda^{-4}$  の積です。

これを、この基本的な方程式 (式 1) と  $A_2$ 、第 2 ビリアル係数を参照して、ポリマーと溶媒間の相互作用のスクリーニングに適用すると、すべての散乱成分の合計により、重量平均分子量 Mw を得られることがわかりました。

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M} + 2A_2c$$

式 1.

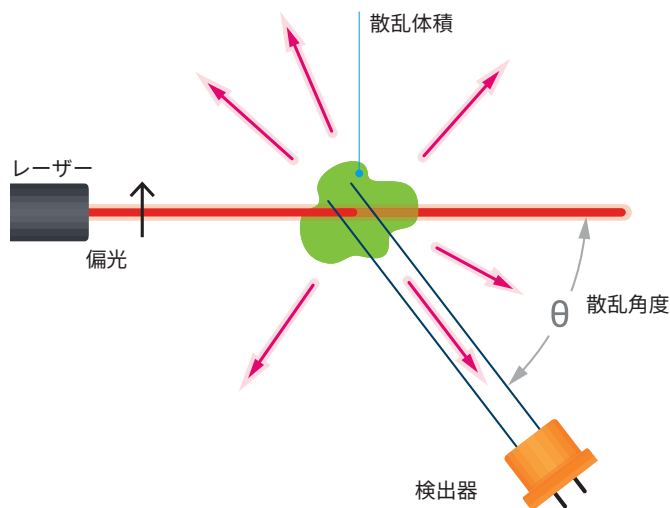


図 1. 散乱角度  $\theta$  による従来の光散乱設定のスキーム

このシンプルな項は、等方散乱体（レイリー散乱）にのみ有効です。分子が  $d > \lambda/20$  より大きくなると、複数の散乱中心からの散乱光が干渉するため、粒子形状係数  $P(q)$  が必要になります。つまり、散乱光の強度が角度に依存します（図 2 を参照）。

すべての散乱中心と質量座標システムの中心のペアワイズ合計が級数展開（式 2）になり、回転半径  $R_g < 50$  nm の粒子では終了できます。<sup>4</sup>

$$P(q) = 1 - \frac{R_g^2 q^2}{3} + \dots$$

**式 2.**

散乱ベクトル  $q$  を散乱角度  $\theta$  に置き換えて、第 2 ビリアル係数  $A_2$  によりポリマーと溶媒間の相互作用を導入すると、最終的な静的光散乱方程式（式 3）が完成します。

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{Mw} \left[ 1 + \frac{16}{3} \frac{\pi^2 n_0^2}{\lambda^2} \langle R_g^2 \rangle_z \sin^2\left(\frac{\theta}{2}\right) \right] + 2A_2c$$

**式 3.**

Zimm に基づく  $\theta \rightarrow 0$  および  $c \rightarrow 0$  に対する項  $Kc/R_\theta$  の二重外挿により、分子量の逆重量平均を求めることができます。 $\theta$  に対する  $Kc/R_\theta$  の傾きから、二乗回転半径の  $z$  平均、 $c$  依存の線形外挿の傾きから第 2 ビリアル係数を求めます。

実際に、データ取り込みに多角度光散乱（MALS）検出器が使用されている場合、Agilent WinGPC などのソフトウェアでは、クロマトグラフエルグラムのスライスごとに、この分析を自動的に実行しています。このため各クロマトグラフスライスでは、 $M_w$  と  $R_g$  が、 $\theta \rightarrow 0$  の外挿による角度依存の散乱強度プロットから測定されます。このような制限があるのは、粒子形状係数  $P(q) \rightarrow 1$  により、散乱強度が粒子のサイズや形状に依存しなくなるためです。ただし、そのサイズ測定は、 $R_g > 10$  nm の下限を上回る場合にのみ有効です。また分子量は、等方性標準分子としてよく使用されるウシ血清アルブミン（BSA）などの等方散乱体でも測定できます。

重要なのは、分子量  $M_i$  の  $N_i$  種で構成される多分散サンプルの場合、式 4 によって二乗回転半径の  $z$  平均が求められるということです。<sup>6</sup>

$$\langle R_g^2 \rangle_z = \frac{\sum_i w_i M_i \langle R_g^2 \rangle_i}{\sum_i w_i M_i}$$

**式 4.**

つまり種ごとに、すべての構造にわたる固有の平均二乗回転半径があります。

実用的な目的では、WinGPC などのソフトウェアで、各クロマトグラフスライスの配座平均  $\langle R_g^2 \rangle_i$  が自動的に測定されます。それらは単分散と見なされるためです。エルグラム全体の平均サイズは、二乗回転半径の

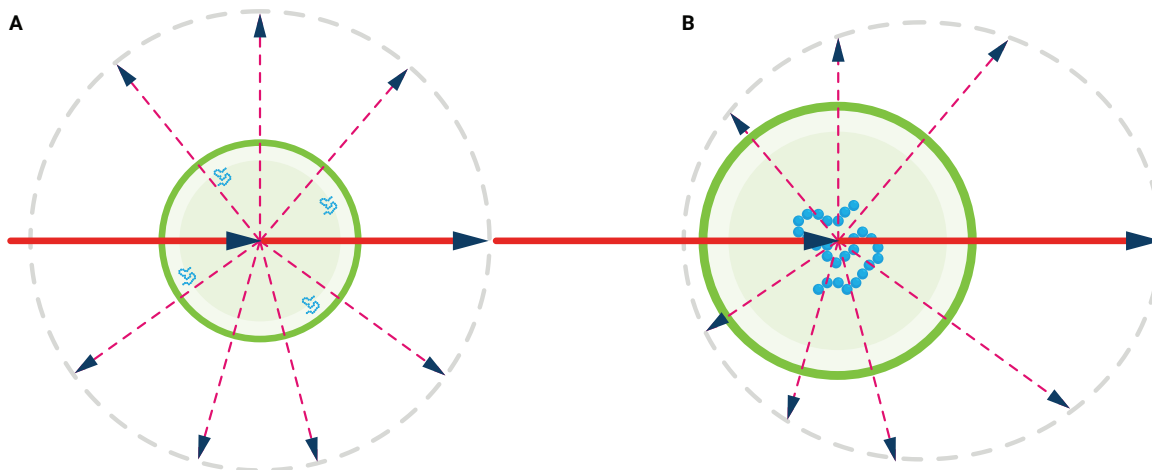


図 2. 等方散乱体の散乱強度分布 (A) と、 $d > \lambda/20$  の分散分子の散乱強度分布 (B)

z 平均です。このサイズは、式 5 に従って質量ベースの座標システムの中心から測定されます。このため必然的に、文献中の幾何学的または顕微鏡的な半径 R の計算とは異なります。<sup>4</sup>

$$\langle R_g^2 \rangle_i = \frac{\sum_j m_j r_j^2}{\sum_j m_j}$$

**式 5.**

前述のとおり、式 3 における粒子形状係数の級数展開と Guinier 近似  $1/(1-x) = 1+x$  の使用は、 $qR \ll 1$  の場合にのみ有効です。より大きい分子の場合、粒子形状係数の解は、その粒子トポロジに依存します。例えば、均質球粒子の散乱強度の局所的な最小値と最大値は、式 6 に基づき、散乱角度に依存します。<sup>4</sup>

$$P(q) = \frac{9}{(qR)^6} \left[ \sin(qR) - qR \cos(qR) \right]^2$$

**式 6.**

粒子形状係数  $P(q)$  に依存しないようにするため、 $q \rightarrow 0$  に対して散乱強度が外挿されます。この場合の粒子形状係数は 1 です。

Agilent InfinityLab GPC/SEC ソリューション (Agilent 1260 Infinity II 多角度光散乱検出器と WinGPC ソフトウェアの組み合わせによるデータ取り込みを含む) では、この外挿を正確に実行できます。20 個の散乱角度プロットを取り込んでから処理できるためです。

また、散乱角度の範囲が非常に重要です。q ベクトルは逆の長さスケールとしてスケールされるため、角度が大きくなると解像度が上がり、構造変化などを詳しく観察できるようになります。これに対し、角度が小さいと、より信頼性の高い近似の質量情報 (粒子形状係数に依存しない散乱強度) を得ることができます。1260 Infinity II 多角度光散乱検出器では、広範囲の 20 個の角度 (12 ~ 164°) を使用できます。1260 Infinity II 多角度光散乱検出器では特に、小さい角度領域でさらに 3 つの角度 (12°, 20°, 28°) を使用できるため、分子量の測定精度が向上します。

一部の種類の光散乱検出器にはセル設計の問題があるため、液体/ガラスインタフェースでの屈折率の変化により、補正項が必要となります。1260 Infinity II 多角度光散乱検出器では、ガラス製の円筒型セルにフォトダイオードの平面を配置し、検出器の角度が散乱角度と等しくすることで、この問題を回避できます。さらにセルの設計により、ほこりなどの汚染物質による散乱寄与を低減し、信号のノイズを減らすことができます。赤の波長の 660 nm 120 mW のレーザーダイオードなら、検出器を弱散乱サンプルにも十分使用できます。図 3 に、mAb SiO<sub>2</sub> 3 μm 分析カラムと PBS バッファを用いた、モノクローナル抗体ペバシズマブの一次構造の LS トレースクロマトグラムを示します。クロマトグラフスライスごとに 20 個の角度を

使用して対応するスライス全体の Zimm プロットを作成した結果、分子量の適合度は図 4 のようになりました。この技法により、真の分子量は 147 kDa であると推定できます。この数値の文献との差は、約 1% しかありません。<sup>7</sup> ペバシズマブの一次構造の回転半径は  $\langle R_g \rangle_z = 11$  nm です。

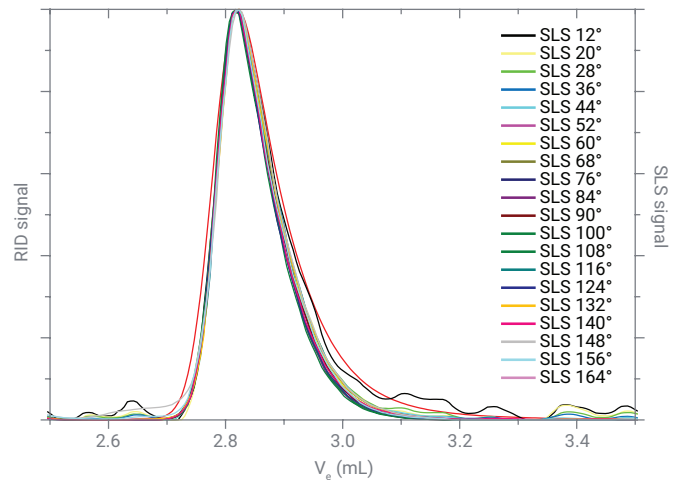


図 3. mAb SiO<sub>2</sub> 3 μm マイクロボアカラムと 34 mM PBS + 0.3 M NaCl を用いた、5 g/L のペバシズマブの 20 個の角度の光散乱強度

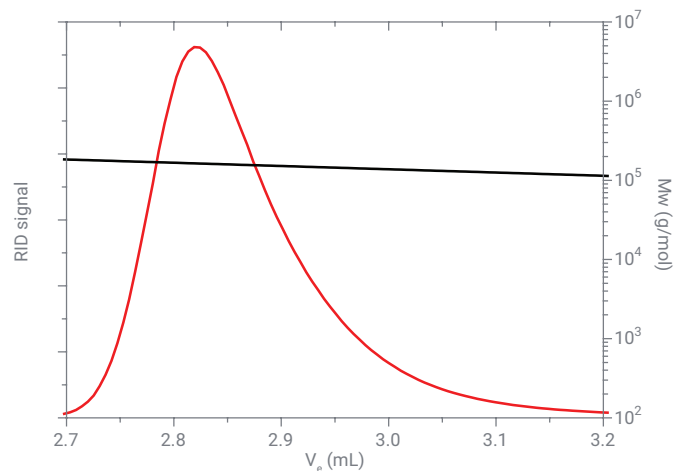


図 4. Mw = 147 kDa の光散乱検出器によるペバシズマブエルグラムの分子量適合度

## SEC における動的光散乱 (DLS)

サイズが 1 nm ~ マイクロメートル単位の分子のサイズ測定には、動的  
光散乱 (DLS) も使用できます。一般的に、DLS は SLS よりサイズ測定  
範囲がずっと広く、ナノメートル単位からマイクロメートル単位まで対応  
できます。サイズ (流体力学半径  $R_H$ ) は、分子のブラウン運動による拡  
散係数  $D$  から計算されます。 $R_H$  は、ストークス-アインシュタイン方程式  
(式 7) によって求められます。

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R_H}$$

### 式 7.

静止液体中の分散粒子の運動に関するアインシュタインの法則によると、  
 $R_H$  は同等の球体の半径と見なされます。<sup>8</sup> 単分散剛体球のシンプルな形状  
では、拡散係数  $D$  は緩和時間  $\tau = 1/Dq^2$  の一部です。正規化後の単一  
指数関数的減衰関数  $g_1(t)$  の散乱ベクトル  $q$  は、特定の増分時間間隔  $\Delta t$   
後の 2 つの個別の散乱強度を比較して求めます。この間隔は、各相関器  
チャンネルの相関器の実行時間全体にわたり、式 8 と  $A$  のベースライン  
( $t \rightarrow \infty, \langle I(q,t) \rangle^2$  の散乱強度相関) に従って平均化されます。<sup>4, 6</sup>

$$g_2(t) - 1 = \frac{\langle I(q,t)I(q,t + \Delta t) \rangle - A}{A} = g_1(t)^2 = \exp(-2t/\tau)$$

### 式 8.

式 8 の一番右の項は、二乗動的構造係数とも呼ばれます。図 5 に、SEC  
で分画された免疫グロブリン G (IgG) の一次構造 ( $R_H = 6$  nm および  
高結合  $R_H = 11$  nm) の、正規化後の自己相関関数を示します。

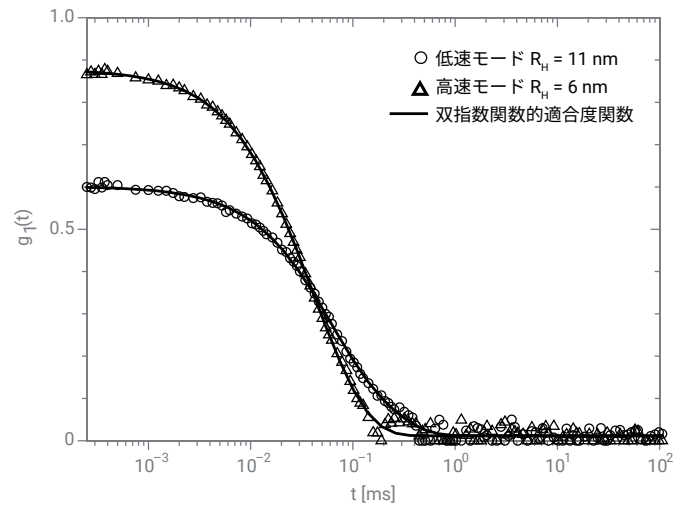


図 5.  $R_H = 6$  nm (高速モード) と  $R_H = 11$  nm (低速モード) の SEC で分離した  
IgG フラクシオンの単一自己相関関数

前述のとおり、このシンプルな方程式は、単分散剛体球にのみ使用でき  
ます。非単分散または非球状ポリマー<sup>9, 10</sup> の場合、動的構造係数は (散  
乱強度寄与によって重み付けされた) 1 つの単一指数関数的減衰関数  $i$   
の合計として表現できます。これは粒子数濃度  $n_i$ 、分子量  $M_i$ 、粒子形状  
係数  $P_i(q)$  に依存するため、<sup>4</sup> 式 9 のようになります。<sup>1</sup>

$$g_1(t) = \frac{\sum_i n_i M_i^2 P_i(q) g_{1,i}(t)}{\sum_i n_i M_i^2 P_i(q)}$$

### 式 9.

簡素化するため、式 10 のように変更できます。<sup>6</sup>

$$g_1(t) = \sum_{i=1}^m a_i \exp(-t/\tau_i)$$

### 式 10.

式 10 は、最初のキュムラントを固定散乱ベクトルでの平均拡散係数にして、  
対数  $g_1(t)$  を用いた級数展開の形式で解くことができます。<sup>4</sup> ほとんどの  
幅広い単峰性相関関数では、 $m = 2$  の双指数関数的適合アプローチで  
十分です。<sup>1</sup> 分子量  $M_i$  ごとに拡散係数  $D_i$  があるため、平均拡散係数は  
式 11 のように定義できます。

$$\langle D_{app}(q) \rangle = \frac{\sum_i n_i M_i^2 P_i(q) D_i}{\sum_i n_i M_i^2 P_i(q)}$$

### 式 11.

多分散サンプルの場合、動的構造係数  $g_1(t)$  と見かけの拡散係数  $D_{app}(q)$  は、多分散度または運動の内部セグメント/回転モードにより、 $q$  依存になります。このため、 $D_{app}(q)$  は  $q \rightarrow 0$  に外挿される必要があります。この制限においては、見かけの拡散係数が式 12 に従って  $z$  平均になります。<sup>1</sup> 粒子形状係数も  $P_1(q) = 1$  となり、セグメントの変動と回転の項はいずれも考慮する必要がありません。

$$\langle D \rangle_z = \lim_{q \rightarrow 0} \langle D_{app}(q) \rangle = \frac{\sum_i n_i M_i^2 D_i}{\sum_i n_i M_i^2}$$

## 式 12.

ストークス-アインシュタイン方程式に従い、逆流体力学半径の  $z$  平均  $\langle R_H^{-1} \rangle_z$  を求めます。拡散係数の角度依存性が、 $R_H > 20$  nm を上回る粒子に関連するようになります。<sup>1</sup> オンライン機器として使用できるほとんどの粒子サイズ測定器は、単一角度機械 (sla-DLS) として設計されています。通常、相関は  $90^\circ$  の静的光散乱信号で実行されます。SEC では分子がサイズにより分離されるため、各スライスの単一指数関数的減衰関数を推定できます。ただし、セグメントモードや回転モードの散乱寄与も、20 nm を超える柔軟な等方性ポリマーや異方性粒子に関連するようになる可能性があります。これらの項は、小さい  $qR$  レジームでのみ無視できます。この問題を回避する方法の 1 つは、例えば  $\theta = 15^\circ$  などの小さい散乱角度で測定し、真の分子量と拡散係数を求めることです。SEC で、カラムブリードやほりこり粒子などによる大きい粒子フラクションが存在すると、分子量の重み付き散乱強度により、小さいフラクションを判別できなくなります。散乱角度が大きくなると、まず大きい粒子で粒子形状係数が減衰し、小さい粒子フラクションの散乱寄与が減少する可能性があります。Agilent 1260 Infinity II Bio-SEC マルチ検出器システムに搭載されているデュアルアングル動的光散乱検出器 (LSD) ( $\theta = 15^\circ$  および  $90^\circ$ ) では、 $\theta = 90^\circ$  で適度の相関データを収集できます。相関の結果が当てはまるのは、サイズ範囲が  $R_H < 40$  nm の柔軟な生体分子か、剛体球 (サイズは無関係) で偏差が小さい場合のみです。<sup>1</sup>

動的光散乱により、サイズ計算の基準となる拡散係数を求めることができます。分子量に関する情報は提供されません。この情報を取得するには、静的光散乱を使用する必要があります。

LNP などの生体分子は多くの場合、より不均一でサイズが大きく、角度依存性があります。このような分子では、真の  $z$  平均より大きい見かけの拡散係数のみを使用できるため、分子の推定サイズが小さくなります。大きい分子のサイズ測定では、SEC 分離による単分散が推測される場合でも、この事実を考慮する必要があります。図 6 に、pH 7.4 の 50 mM PBS バッファで凝集体を形成する、ウシ血清アルブミン (BSA) の  $90^\circ$  の光散乱検出器の信号 (紫の曲線) を示します。

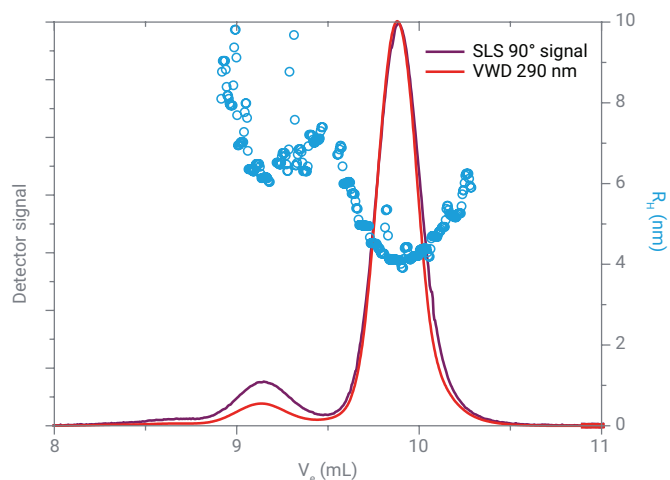


図 6. 動的光散乱 (水色の曲線)、UV-Vis 信号 280 nm (赤の曲線)、光散乱信号  $90^\circ$  (紫の曲線) で検出された、部分的に結合したウシ血清アルブミン (BSA) のクロマトグラム

LS の利点は、散乱強度の分子量依存性による、UV-Vis 検出器と比較した場合の光散乱検出器の感度です。

BSA の一次構造のサイズは  $R_H \sim 4$  nm、結合体のサイズは  $R_H \sim 8$  nm で、Agilent PROTEEMA 300 Å、5  $\mu$ m 分析カラムと 50 mM の PBS バッファを用いて分解しました。この分子は等方散乱体と見なされるため、静的光散乱によってサイズを測定することはできません。

もう 1 つの例は、mAb SiO<sub>2</sub> 3  $\mu$ m 分析カラムでの一次構造 ( $R_H = 5.5$  nm) からの高結合の免疫グロブリン G (IgG) の分離とサイズ測定です。図 7 の  $R_H$  曲線 (水色の曲線) は、溶出量  $V_e$  に対して指数関数的減衰関数を適用したもので、理論と一致しています。<sup>11</sup>

濃度検出器信号に関して、高結合の IgG ( $R_H \sim 8$  nm) の  $15^\circ$  の LS 信号の強度が相対的に強いのは、質量寄与が高いためです。図 7 の水色の曲線は強度曲線ではなく、自己相関計の流体力学半径の計算値です。



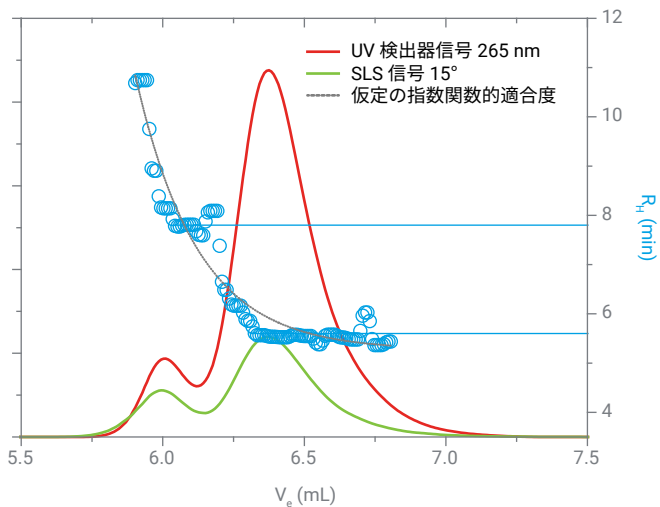


図 7. SiO<sub>2</sub> 3 μm 分析カラムと 34 mM のリン酸バッファ pH = 6.6 + 0.5 M NaCl を用いた IgG のクロマトグラム。UV 信号は赤、15° の LS 信号は緑、仮定の指数関数的適合度は灰色で表示しています。

静的光散乱と動的光散乱を組み合わせると、実験的無次元パラメータ  $\rho$  により、分子のトポロジを測定できます (式 13)。均質球の場合は  $\rho = 0.8$ 、ランダムなポリマーコイルの場合は  $\rho = 1.5$  を適用します。<sup>4</sup>

$$\rho = \frac{R_g}{R_H}$$

式 13.

このトポロジ情報は、オンラインで抽出することもできます。図 8 に、pH = 7.4 の 10 mM PBS バッファでのサイログロブリンのクロマトグラムを示します。この測定では、濃度検出器 (VWD) と 20 個の角度の 1260 Infinity II 多角度光散乱検出器、および動的光散乱検出器 (1260 Infinity II Bio-SEC マルチ検出器システム) を組み合わせて使用しました。溶出容量が低いところでは、関連するサイログロブリンの分子量分率が高くなり、分子量依存性により光散乱信号がより顕著になります。クロマトグラム中の各スライスの回転半径は、それぞれ既知の濃度で、20 個の角度の Zimm プロットで検出しました。このため、光散乱信号が強くても、 $R_g$  プロットは濃度検出器の最高強度の範囲に制限されています。これに対し、平静な状態での拡散プロセスで希釈度が高い場合は、流体力学を使用したほうが分析結果の信頼性が向上します。 $R_H$  プロットの範囲はずっと広がります。低溶出量では濃度信号の依存性がなく、拡大したサイズ範囲が高溶出量では小さくなるためです。サイログロブリンの一次構造の場合は  $R_g = 12$  nm および  $R_H = 9$  nm、高結合の場合は  $R_g = 16$  nm および  $R_H = 14$  nm となります。両方の曲線 ( $R_g/R_H$ ) を組み合わせることで、クロマトグラムと共にトポロジの変化を検出できます ( $\rho$  比率、青の曲線)。SEC の場合、DLS を代わりに使用すると、溶出量  $V_e$  に対して  $\log V_H$  をプロットすることで、一般的にカラムシステムを確実にかつ簡単にキャリブレーションできます。これは、ポリマーと溶媒の個々の組み合わせに依存しない、汎用的な直線減衰関数です。<sup>4</sup> 唯一の要件は、非エンタルピーの SEC 分離メカニズムです。

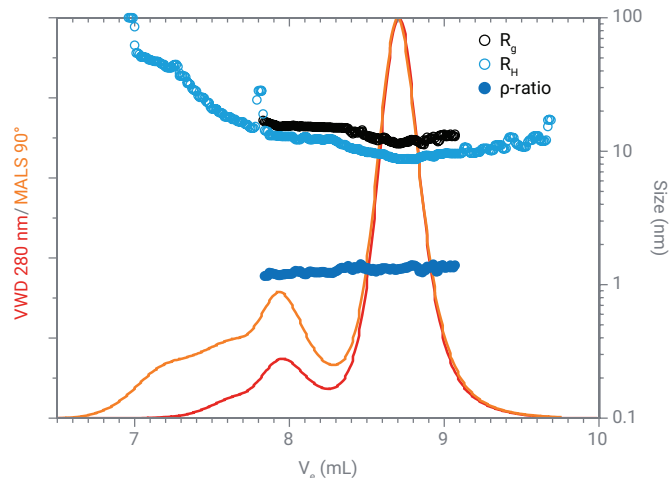


図 8. 静的/動的光散乱検出器を搭載した Agilent PROTEOMA 300 Å、5 μm 分析カラムでの、10 mM の PBS pH = 7.4 に含まれるサイログロブリンのクロマトグラム

## 結論

静的光散乱 (SLS)、動的光散乱 (DLS) または両方の技法を組み合わせると、分析対象のあらゆる生体分子の分子量、サイズ、トポロジに関する情報を確実に入手できます。SEC によるサイズ分離の後に、サイズ分率を個々に測定できるため、個々の生体サンプルを高精度で分析できます。Agilent 1260 Infinity II 多角度光散乱検出器の 20 個の角度により、散乱角度をゼロにする正確な外挿が可能になり、重量平均分子量と回転半径を正確に求めることができます。これらのデータ (分子量と回転半径) により、回転半径の対数と分子量の対数を対比してプロットし、Mark-Houwink プロットと類似する傾きによりトポロジを取得することで、分子のトポロジを分析することもできます。Agilent WinGPC ソフトウェアでは、動的光散乱検出器 (Agilent 1260 Infinity II Bio-SEC マルチ検出器システム) を追加で実装して、サンプルフラクションのサイズをモニタリングできます。静的光散乱と比較した場合の動的光散乱のメリットの 1 つは、サイズ範囲が 1 ~ 2 nm からマイクロメートル単位までと広く、ソフトウェアで直接的なサイズ情報を取得できることです。静的光散乱と動的光散乱から取得したサイズを組み合わせることで、生体分子結合のトポロジを把握することもできます。つまり、適切な検出器を選択するだけで、SEC により、これらすべての分析作業を簡単かつ正確に実行できるのです。

## 参考文献

1. Fischer, K.; Schmidt, M. Pitfalls and Novel Applications of Particle Sizing by Dynamic Light Scattering. *Biomaterials* **2016**, 98, 79–91.
2. Coffey, A.; Kondaveeti, S. An AdvanceBio HIC Column for Drug-to-Antibody Ratio (DAR) Analysis of Antibody Drug Conjugates (ADCs). Agilent Technologies application note, publication number 5994-0149EN, **2018**.
3. Agilent GPC/SEC Standards home page. <https://www.agilent.com/en/product/gpc-sec-columns-standards/gpc-sec-standards> (accessed **2023**).
4. Schärfl, W. *Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions*; Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, **2007**.
5. Masuelli, M.; Gassmann, J. *Advances in Physicochemical Properties of Biopolymers, Part 1*; Bentham Science Publishers: **2017**, pp 28–59.
6. Arndt, K.; Müller, G. *Polymercharakterisierung*; Carl Hanser Verlag München Wien, **1996**.
7. Hirvonen, L. et al. Hydrodynamic Radii of Ranibizumab, Aflibercept and Bevacizumab Measured by Time-Resolved Phosphorescence Anisotropy. *Pharm. Res.* **2016**, 33, 2025–2032.
8. Einstein, A. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Ann. Phys.* **1905**, 17, 549–560.
9. Borsali, R.; Nguyen, H.; Pecora, R. Small-Angle Neutron Scattering and Dynamic Light Scattering from a Polyelectrolyte Solution: DNA. *Macromolecules* **1998**, 31(5), 1548–1555.
10. Lehner, D.; Lindner, H.; Glatter, O. Determination of the Translational and Rotational Diffusion Coefficients of Rodlike Particles Using Depolarized Dynamic Light Scattering. *Langmuir* **2000**, 16(4), 1689–1695.
11. Giddings, J. et al. Statistical Theory for the Equilibrium Distribution of Rigid Molecules in Inert Porous Networks. Exclusion Chromatography. *J. Phys. Chem.* **1968**, 72(13), 4397–4408.

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタマ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。

RA45065.4247800926

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, May 30, 2023

5994-6110JAJP