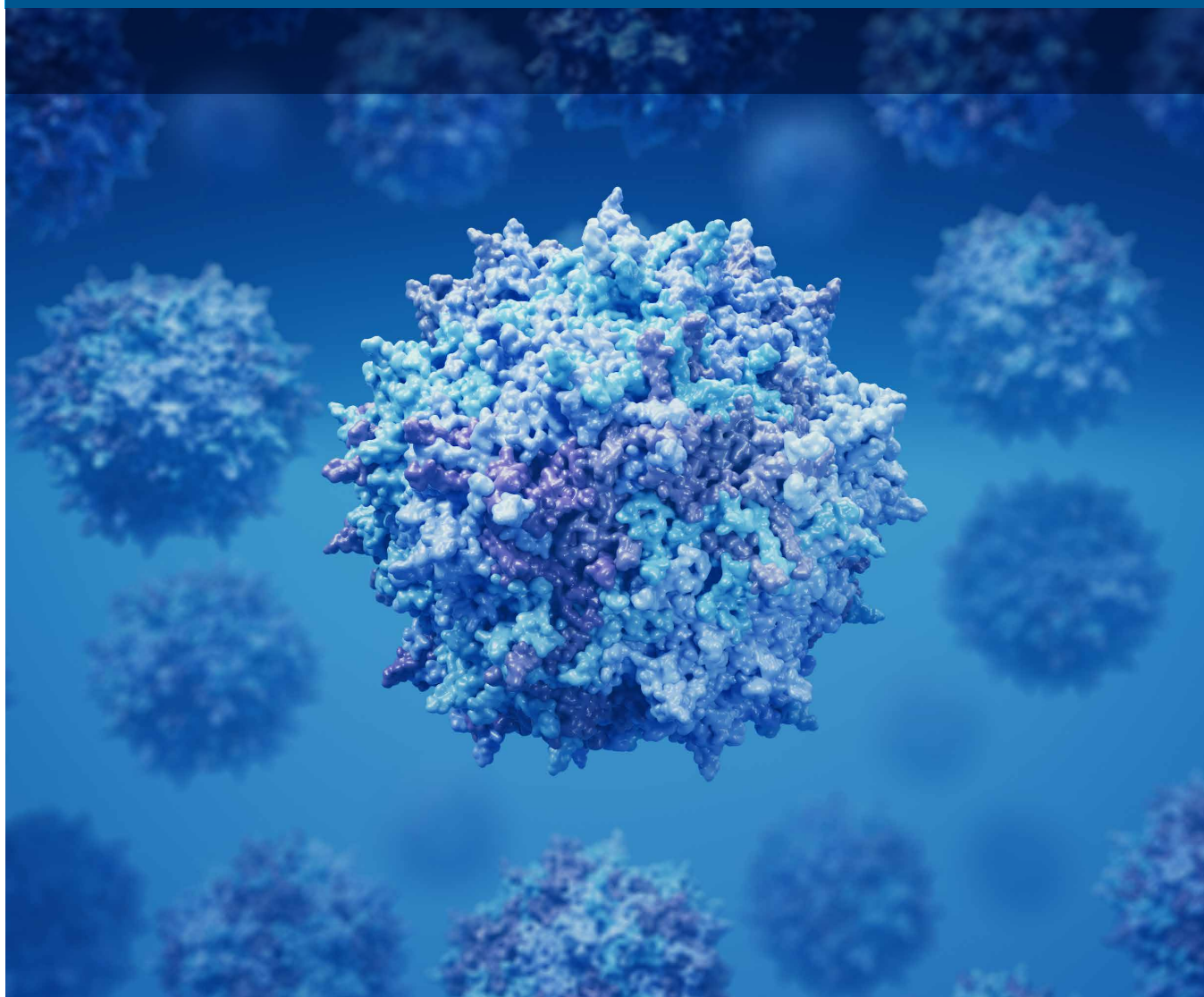


超大型生物製剤の高速・高分離能の凝集体分析

500 Å および 1000 Å ポアの Agilent AdvanceBio SEC 2.7 μm カラム



超大型生物製剤分析に最適なポアサイズ

アデノ随伴ウイルス（AAV）、ウイルス様粒子（VLP）、オリゴヌクレオチド、脂質ナノ粒子（LNP）は、細胞および遺伝子治療、ワクチンのための次世代の生物製剤です。これらの新しい分析困難な生物製剤の特性解析には、先進的な優れた技術が必要になります。

今回新たに 500 Å および 1000 Å のポアサイズが追加になりました。従来の Agilent AdvanceBio SEC カラムの優れた特長はすべて維持しながら、より大きい直径のサンプルにも対応できるようになったため、AAV や VLP などの超大型生体分子（> 1 MDa）の凝集体分析に最適です。

信頼性の高い結果を迅速に提供

創薬、生体分子の特性解析、バイオ医薬品の品質管理においては、高分離能の結果を迅速に得られる堅牢なカラムが必要です。

Agilent AdvanceBio SEC カラムは、2.7 μm の小さい粒子と大きいポアサイズを備えており、より短いカラムで高分離能分離を実行できます（図 1）。これにより、スループットが向上し、より多くの時間を確保できるようになるため、さらに多くのサンプルを分析したり、次のプロジェクトに着手したりすることができます。

HPLC 条件	
カラム	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 μm, 4.6 x 150 mm (p/n PL1580-3325)
移動相	50 mM リン酸ナトリウム + 400 mM NaCl, pH 7.2
流量	0.35 mL/min
検出	蛍光、λ _{ex} 280 nm、λ _{em} 348 nm
HPLC システム	Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムとバイナリ高速ポンプ
サンプル	AAV8、5 μL 注入

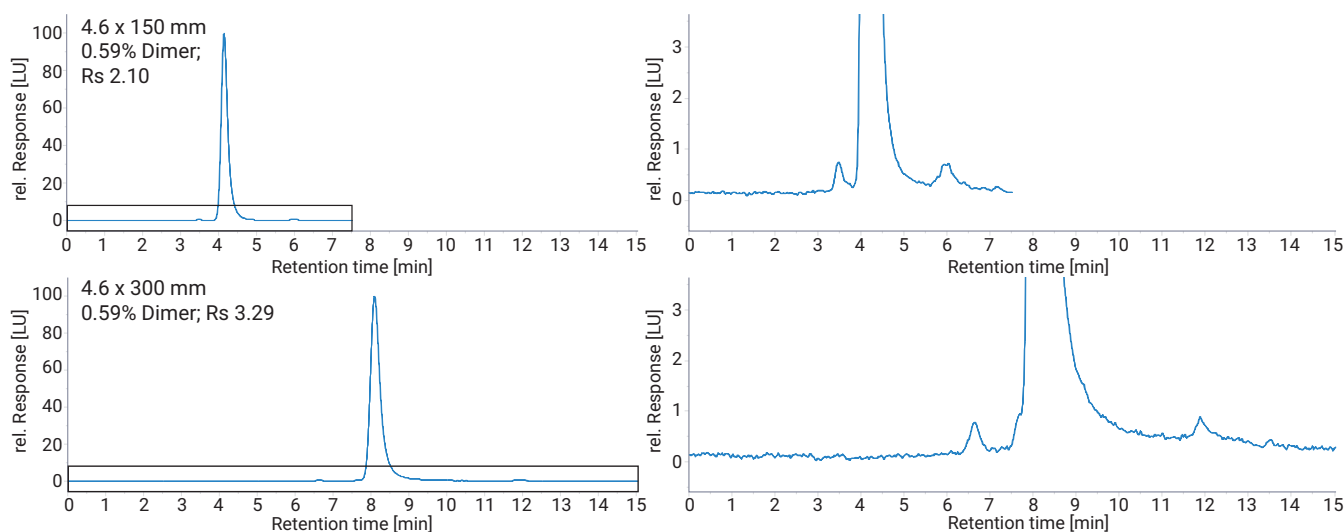


図 1. 300 mm Agilent AdvanceBio SEC 2.7 μm, 500 Å カラムを使用した標準的な使用条件下で、高分離能が実現できるため、より短い 150 mm カラムに切り替えた場合でも、信頼性の高い測定において十分な分離能を維持しながら、半分の時間で分析を完了できます。

相互作用を大幅に抑制し、良好なピーク形状と優れた分離能を実現

従来の Agilent AdvanceBio SEC カラムで一般的となっている親水性結合相を備えているため、サンプルと固定相間の二次的反応が最小限に抑制されます。これにより、良好なピーク形状が得られ、サイズ測定の信頼性が高まり、良好な分離能を確保することができます（図 2）。

HPLC 条件	
カラム	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 4.6 x 300 mm (p/n PL1580-5325)
移動相	50 mM リン酸ナトリウム + 400 mM NaCl, pH 7.2
流量	0.35 mL/min
検出	蛍光、 λ_{ex} 280 nm、 λ_{em} 348 nm
HPLC システム	Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムとバイナリ高速ポンプ

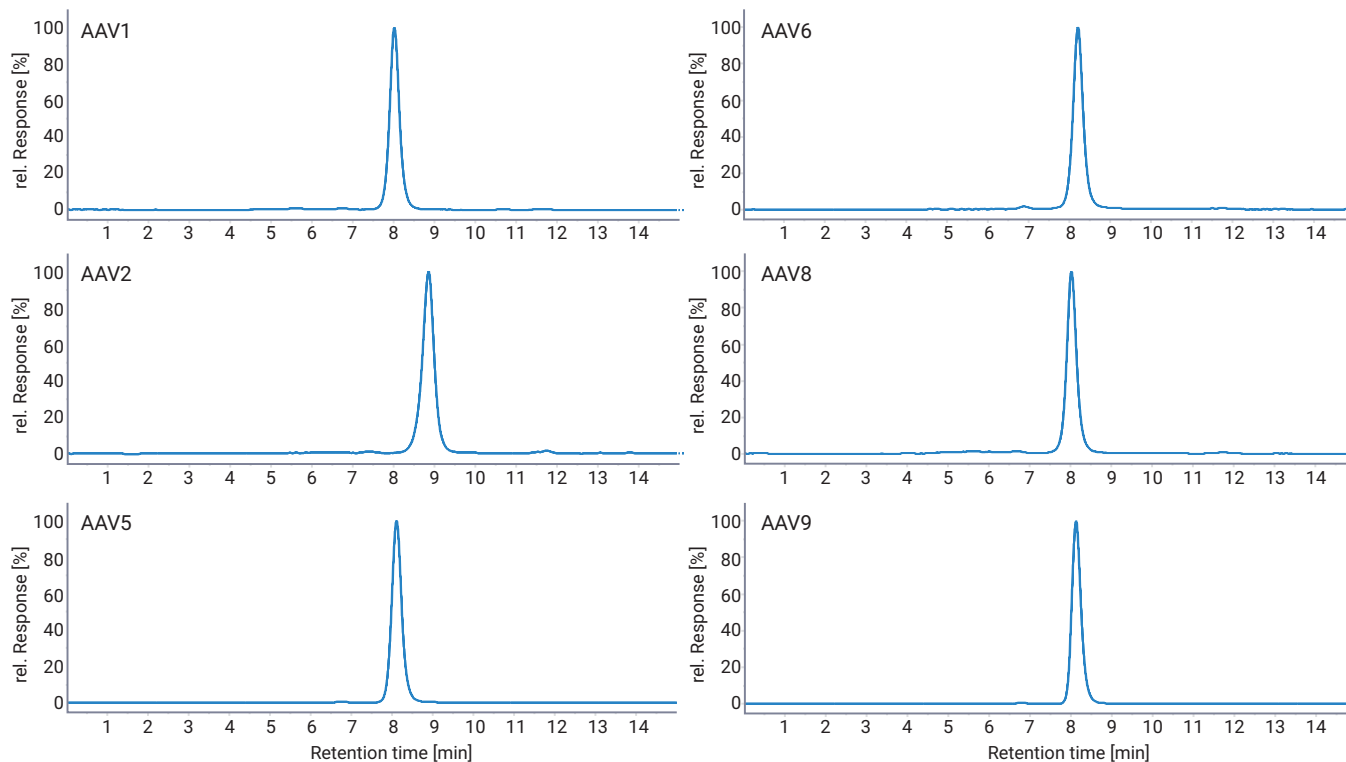


図 2. Agilent AdvanceBio SEC 2.7 µm, 500 Å カラムにより、さまざまな血清型の AAV を高分離能分離できます。

バッチ間の高い再現性により、結果の信頼性がさらに向上

AdvanceBio SEC カラムはバッチ間の再現性が高いため、毎回信頼性の高い結果が得られるだけでなく、より再現性の高いピーク積分も実行できます（図 3 および 4）。

PEG/PEO 検量線は、バッチ間のポアサイズと構造に一貫性があることを示しており、AAV または VLP を用いた試験により、関連する生体サンプルにこの一貫性が反映されることを保証しています。

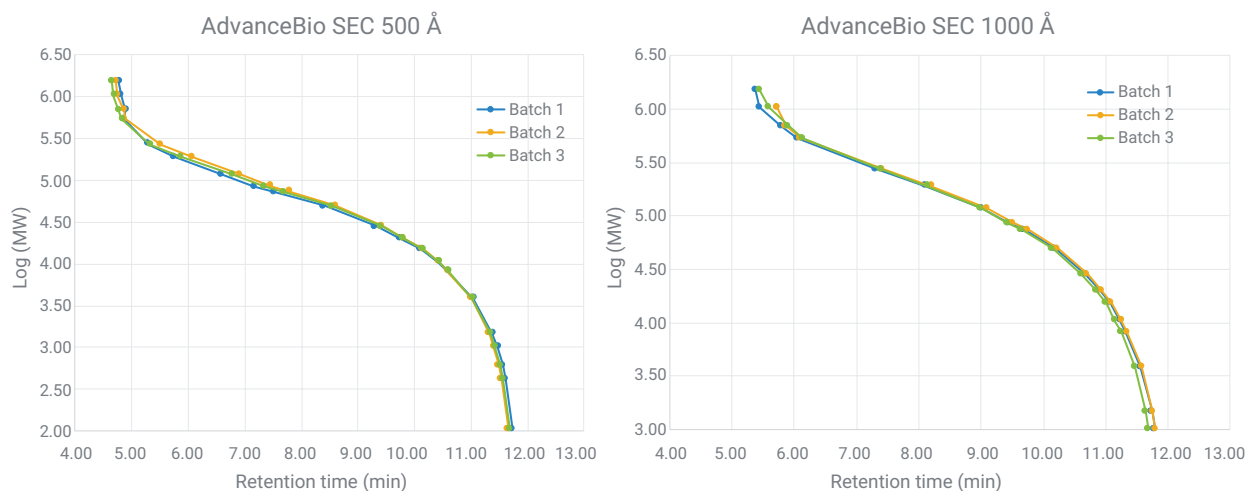
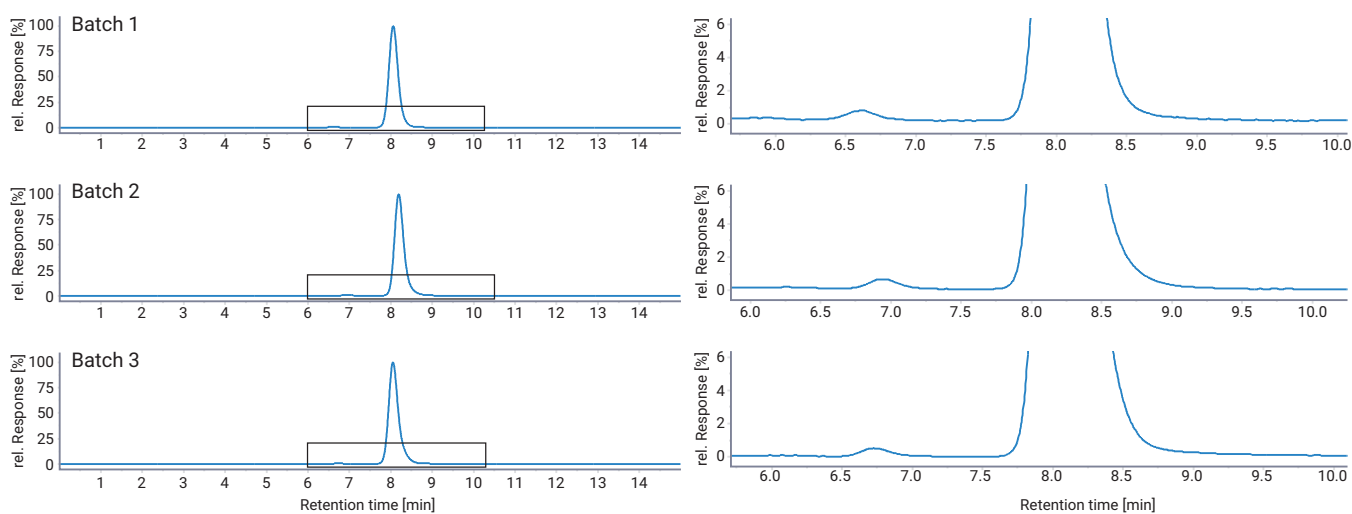


図 3. Agilent AdvanceBio SEC 500 Å および 1000 Å ポアサイズの分離範囲を調べるために、一連の PEG/PEO ポリマー標準を使用しました。得られた曲線を重ね表示してみると、バッチ間の再現性が優れていることがわかります。

HPLC 条件	
カラム	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 4.6 x 150 mm (p/n PL1580-3325)
移動相	50 mM リン酸ナトリウム + 400 mM NaCl, pH 7.2
流量	0.35 mL/min
検出	蛍光, λ _{ex} 280 nm, λ _{em} 348 nm
HPLC システム	Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムとバイナリ高速ポンプ

500 Å



1000 Å

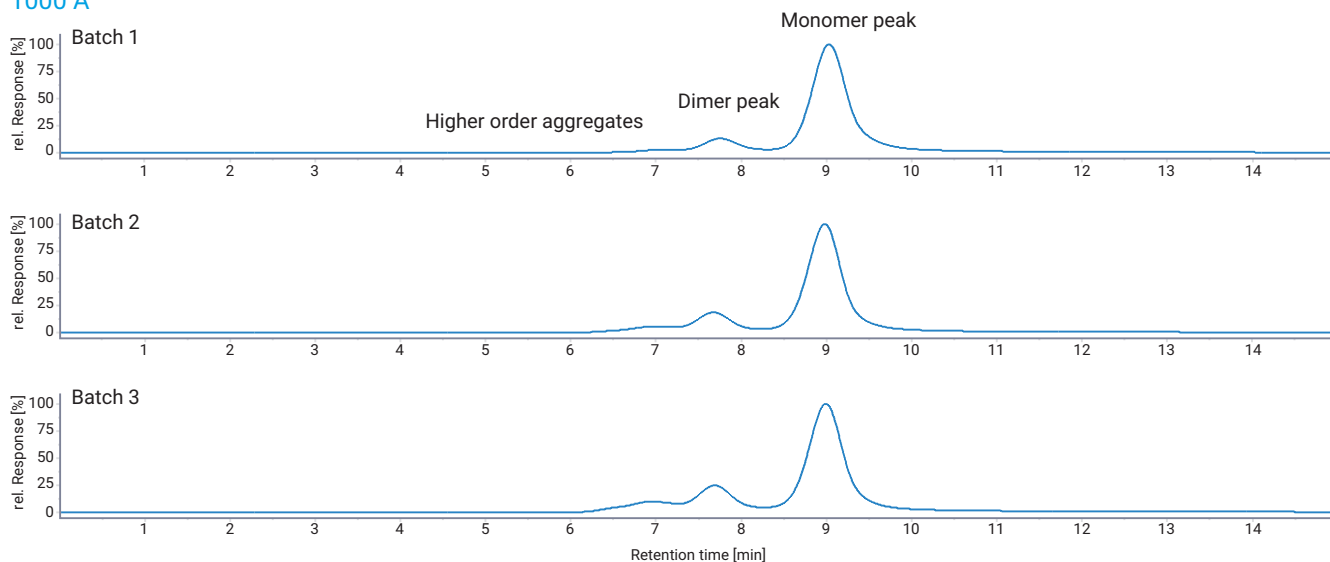


図 4. Agilent AdvanceBio SEC 500 Å カラムでの AAV2 と、AdvanceBio SEC 1000 Å カラムでの直径約 50 nm の VLP により、バッチ間の再現性を試験しました。

カラムの交換頻度を減らしてコストを削減

AdvanceBio SEC カラムは、堅牢な粒子と均一な充填によりカラム寿命を延ばしており、カラムの交換頻度が低いいため、コストと手間を削減できます（図 5）。カラム寿命は、ウリジン標準を注入して試験しました。カラム効率とシステム背圧は、少なくとも 1000 回の注入試験まで維持されていました。

HPLC 条件	
カラム	AdvanceBio SEC 500 Å、2.7 µm、4.6 x 300 mm (p/n PL1580-5325) AdvanceBio SEC 1000 Å、2.7 µm、4.6 x 300 mm (p/n PL1580-5302)
移動相	150 mM リン酸ナトリウム、pH 7
流量	0.35 mL/min
検出	UV 220 nm
HPLC システム	Agilent 1260 Infinity II Bio LC システム
サンプル	1 mg/mL ウリジンを 2 µL 注入

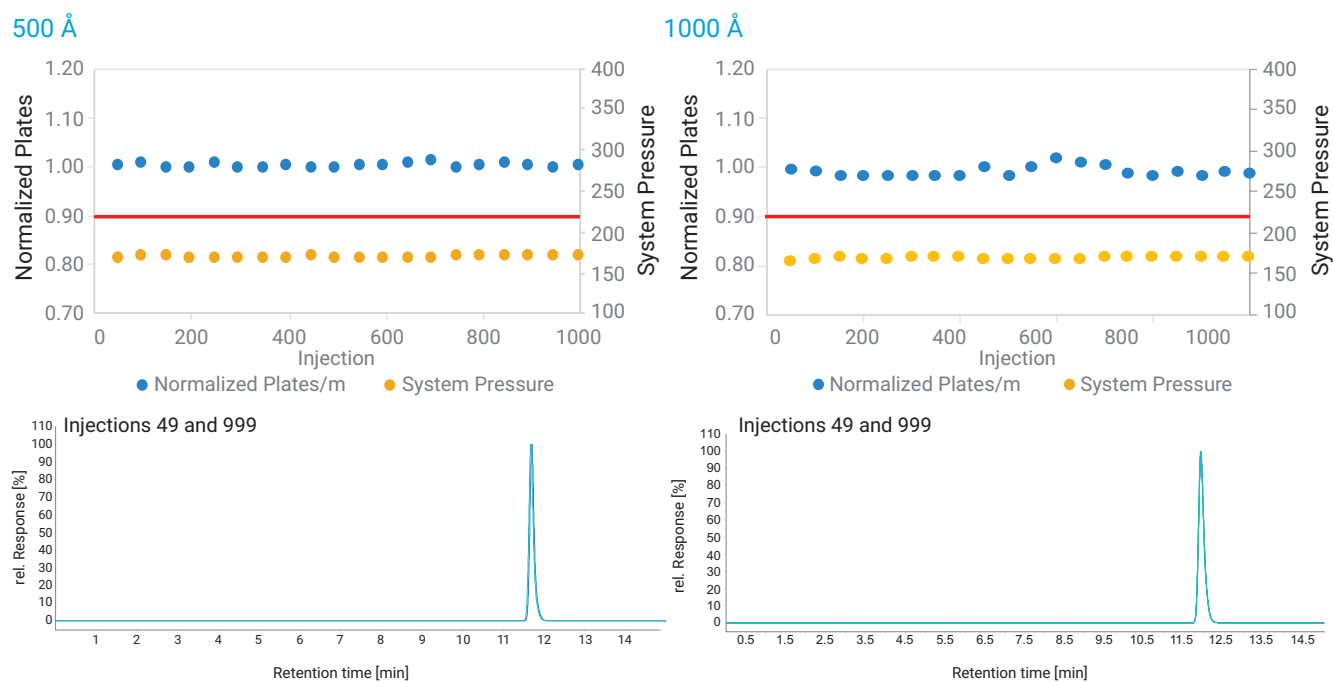


図 5. Agilent AdvanceBio SEC カラムは、二次的反応を最小限に抑制するための安定した親水性コーティングが施されており、機械的に堅牢です。1000 回の注入後も、カラム性能は維持されています。赤線は、効率が 10 % 低下するレベルを示しています。

AdvanceBio SEC カラムと さまざまな検出手法の組み合わせ

従来の SEC 分析では、一般的に UV 検出が使用されていますが、AAV や VLP のような新しい分析困難な超大型生物製剤では、通常、より高い感度の蛍光検出、または光散乱検出から得られた分子量やサイズといった追加情報が必要になります。

光散乱は特に、バックグラウンドノイズの影響を受けやすいため、多くのカラムでは、十分にろ過処理された移動相に加え、大規模なフラッシュが必要になります。ただし、AdvanceBio SEC カラムは、使用する移動相により標準的なカラムコンディショニングを行った後でも、十分に低いバックグラウンドレベルを示しています。このため、光散乱検出に最適であり、蛍光や質量分析などの他の検出手法にも適しています (図 6)。

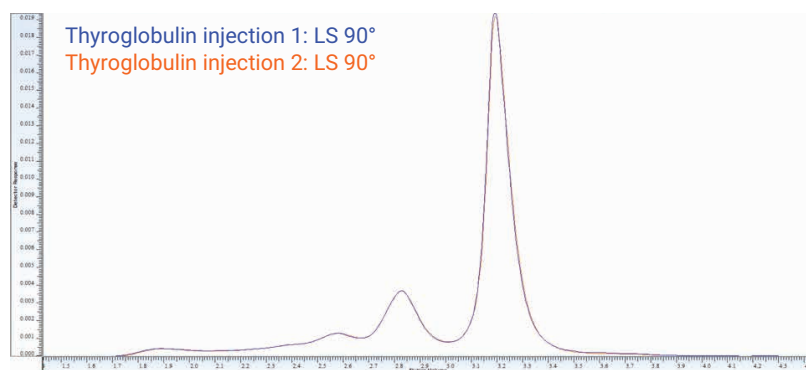


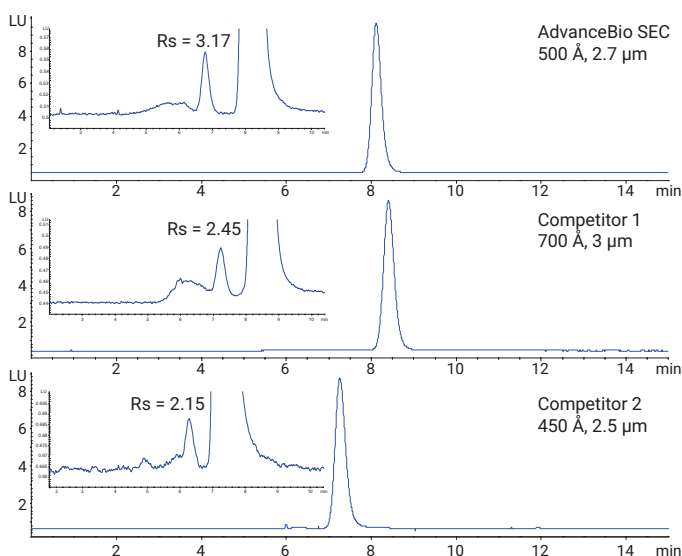
図 6. Agilent AdvanceBio SEC カラムは、適切にろ過処理された移動相を使用することにより、バックグラウンドシグナルが低くなり、光散乱などの検出手法に対応できるようになります。これは、多角度光散乱検出機能を備えた Agilent 1260 Infinity II バイオイナート LC において、4.6 x 300 mm AdvanceBio SEC 500 Å カラムでサイログロブリンを 2 回繰り返し注入した場合に、バックグラウンドノイズが低くなることを示しています。

データ解析の堅牢性と結果の信頼性を 大幅に向上

AdvanceBio SEC カラムは、他社カラムと比較して優れた分離能とテーリングを示しています (図 7)。この優れた分離能により、堅牢なデータ解析を実行することができ、信頼性の高い結果が得られます。

HPLC 条件	
カラム	AdvanceBio SEC 500 Å, 2.7 µm, 4.6 x 300 mm (p/n PL1580-5325) AdvanceBio SEC 1000 Å, 2.7 µm, 4.6 x 300 mm (p/n PL1580-5302) 他社 1 700 Å, 3 µm, 4.6 x 300 mm 他社 2 450 Å, 2.5 µm, 4.6 x 300 mm 他社 2 1000 Å, 3 µm, 4.6 x 300 mm
移動相	50 mM リン酸ナトリウム + 400 mM NaCl, pH 7.2
流量	0.35 mL/min
検出	蛍光, λ_{ex} 280 nm, λ_{em} 348 nm
HPLC システム	Agilent 1260 Infinity II Bio LC システムとバイナリ高速ポンプ

A) AAV-9



B) HPV-16

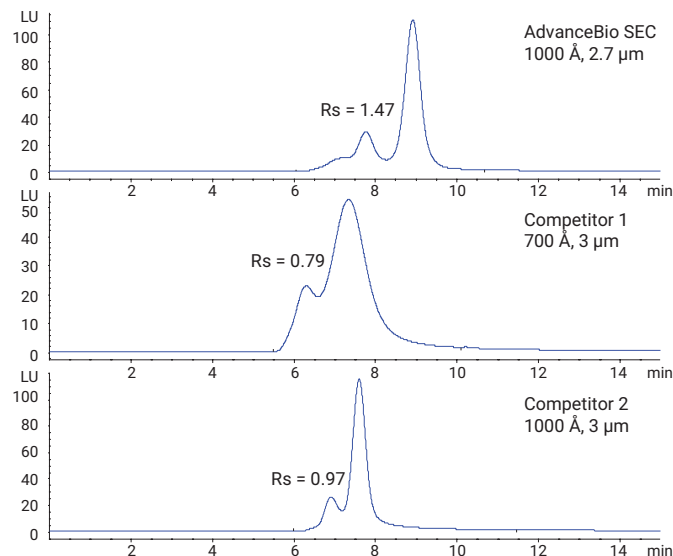


図 7. Agilent AdvanceBio SEC カラムは、他社カラムと比較して分離能とテーリングが向上しています。

アプリケーションに適した SEC カラムの選択

多くの場合、SEC カラムを選択する際に最も重要になるのは、正しいポアサイズを選択することです。分析対象物の分子サイズに応じて適切なポアサイズを決定する際に一般的に使用されるのは分子量ですが、最終的に重要になるのは流体力学半径（溶液中のサンプルのサイズ）です。しかし、オリゴヌクレオチドは、同じ分子量のタンパク質よりもはるかに細長いため、より大きいポアサイズが必要になります。

AdvanceBio SEC 2.7 μm カラムは、AdvanceBio SEC ポートフォリオの機能拡張製品です。今回、新たに 500 Å および 1000 Å のポアサイズが追加になったことで、サンプルに最適な AdvanceBio SEC カラムの選択肢が広がりました。図 8 に示した推奨カラムは、サンプルに最適な AdvanceBio SEC カラムを選択する際に役に立ちます。

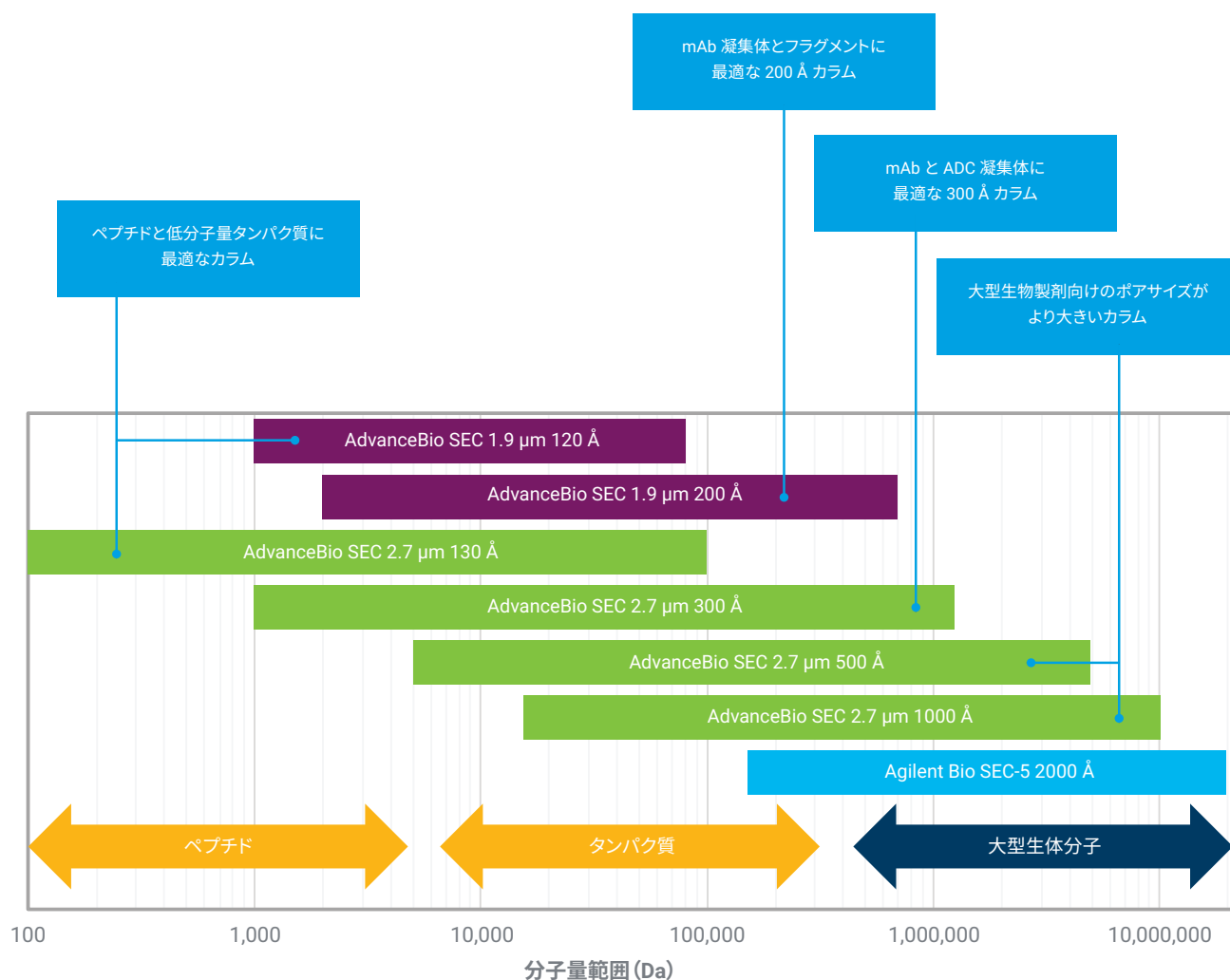


図 8. アプリケーション別の Agilent AdvanceBio SEC 推奨カラム

製品情報

説明	部品番号
AdvanceBio SEC 500 Å、2.7 µm、7.8 × 300 mm	PL1180-5325
AdvanceBio SEC 500 Å、2.7 µm、7.8 × 50 mm、ガードカラム	PL1180-1325
AdvanceBio SEC 500 Å、2.7 µm、4.6 × 300 mm	PL1580-5325
AdvanceBio SEC 500 Å、2.7 µm、4.6 × 150 mm	PL1580-3325
AdvanceBio SEC 500 Å、2.7 µm、4.6 × 50 mm、ガードカラム	PL1580-1325
AdvanceBio SEC 1000 Å、2.7 µm、7.8 × 300 mm	PL1180-5302
AdvanceBio SEC 1000 Å、2.7 µm、7.8 × 50 mm、ガードカラム	PL1180-1302
AdvanceBio SEC 1000 Å、2.7 µm、4.6 × 300 mm	PL1580-5302
AdvanceBio SEC 1000 Å、2.7 µm、4.6 × 150 mm	PL1580-3302
AdvanceBio SEC 1000 Å、2.7 µm、4.6 × 50 mm、ガードカラム	PL1580-1302

その他のポアサイズの AdvanceBio SEC カラムについては、[ホームページ](#)をご覧ください。



ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

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。

DE30745542

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2024
Printed in Japan, June 10, 2024
5994-7542JAJP

