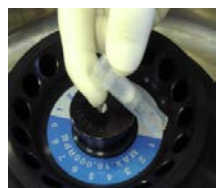


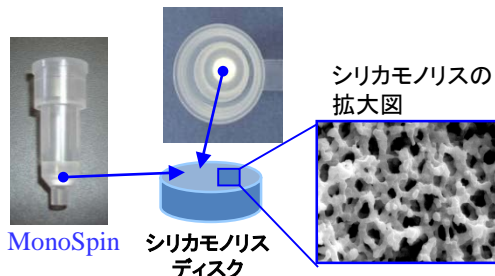
分子量が大きいペプチドやタンパク質は、構造によっては固定相の狭い部位まで入り込みづらいため、均等に分配がおこらず、固相へ吸着させることが困難です。今回は、シリカモノリスを担体としたMonoSpin C18(S型)とその大容量タイプであるMonoSpin C18(L型)を用いて、ペプチド・タンパク質の負荷量について検討しました。ペプチドとして分子量約5,800のインスリンを、タンパク質として分子量約66,000であるBSAを使用し、それぞれ検討しました。(Y.Yui, S.Ota)

MonoSpin とは？

MonoSpin シリーズは、均一な連続孔を持つシリカモノリスを用いたスピナカムです。空隙率の高いシリカモノリスを担体として用いているので、遠心操作だけで通液させることができます。そのため、短時間の簡便な操作で試料の精製・濃縮を行うことができます。また、ベッドボリュームが小さく液切れも良いので、試料量が少ない場合にも適しています。



操作は遠心法です。



シリカモノリスの
拡大図

MonoSpin シリカモノリス
ディスク

形状

MonoSpinシリーズは、最大800 μ Lまでのサンプルに最適なS型と、それよりも大きな1~8 mLのサンプルに最適なL型を用意しています。



S型

- ディスクサイズ: ϕ 4.2 \times 1.5 mm
- サンプル容量: 800 μ L まで
- 溶出液量: 50 ~ 800 μ L
- 使用時遠心力: 2,000 ~ 10,000 \times g

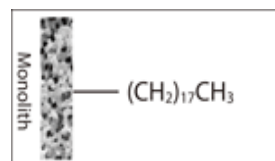


L型

- ディスクサイズ: ϕ 9 \times 3 mm
- サンプル容量: 8 mL まで
- 溶出液量: 0.5 ~ 8 mL
- 使用時遠心力: 1,000 \times g

MonoSpin C18について

シリカモノリスにオクタデシル基を結合し、逆相分配相互作用をもつスピナカムです。生体試料中薬剤の抽出や、ペプチドサンプルの脱塩・濃縮に最適です。



負荷量の検討方法

試料調製(S型)

試料をアプライする容量は一定とし、試料濃度を段階的にあげていきました。得られた溶出液をHPLCで分析し、その面積値より回収率を算出しました。この回収率の推移より最大負荷量を推定しました。

- ①インスリンを0.1%TFA水溶液で0.1、0.5、1.0、2.0、2.5、4.0、5.0 mg/mLに調製しました。
- ②BSAを0.1%TFA 水溶液で0.05、0.075、0.10、0.25、0.50mg/mLに調製しました。

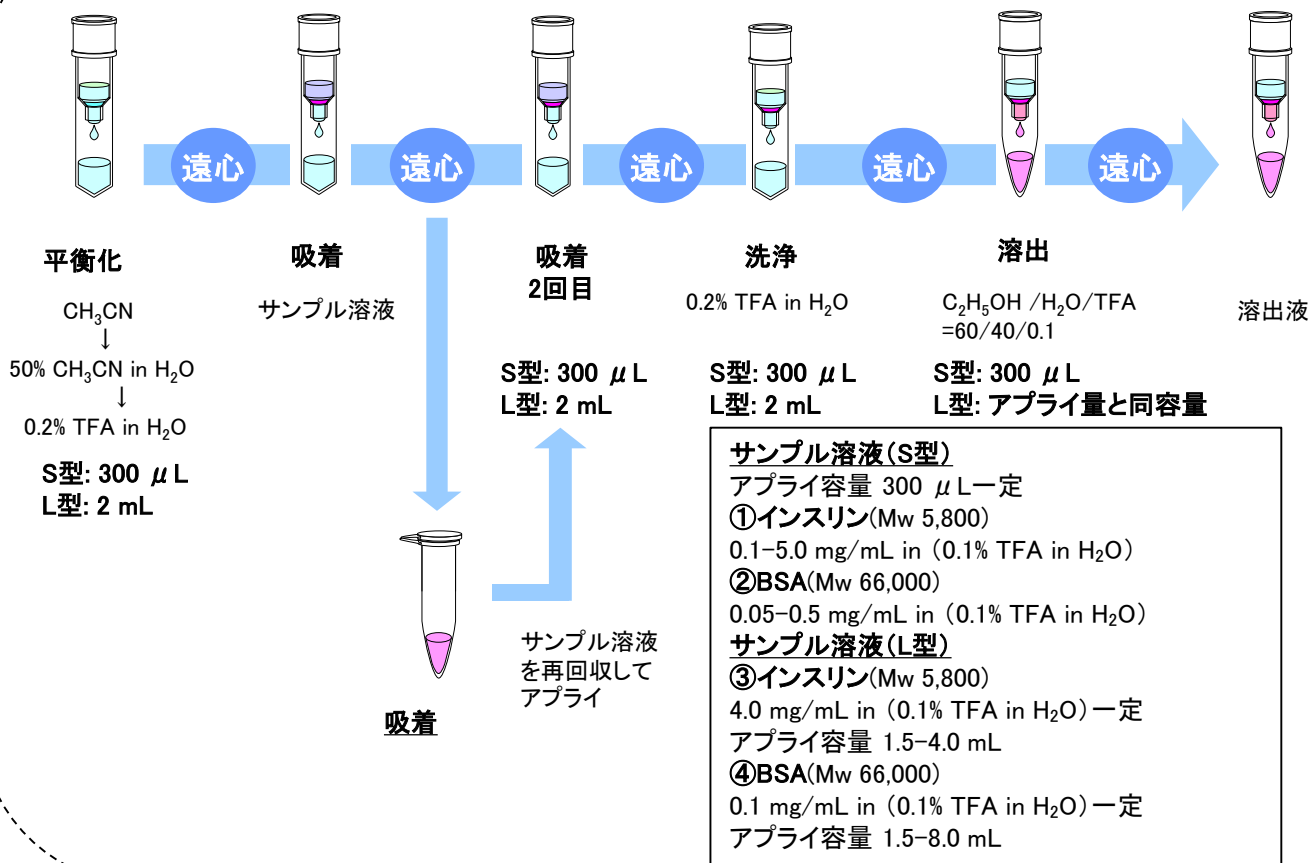
試料調製(L型)

試料濃度は一定とし、試料をアプライする容量を段階的にあげていきました。得られた溶出液をHPLCで分析し、その面積値より回収率を算出しました。この回収率の推移より最大負荷量を推定しました。試料濃度は、S型で算出された最大負荷量時の濃度で行いました。

- ③インスリン 4.0 mg/mLを1.5、2.0、3.0、4.0 mLアプライしました。
- ④BSA 0.1mg/mLを1.5、3.0、5.0、8.0 mLアプライしました。

精製手順

S型は 2000xg 30sec.、L型は 1000xg 1 min.にて遠心操作を行いました。



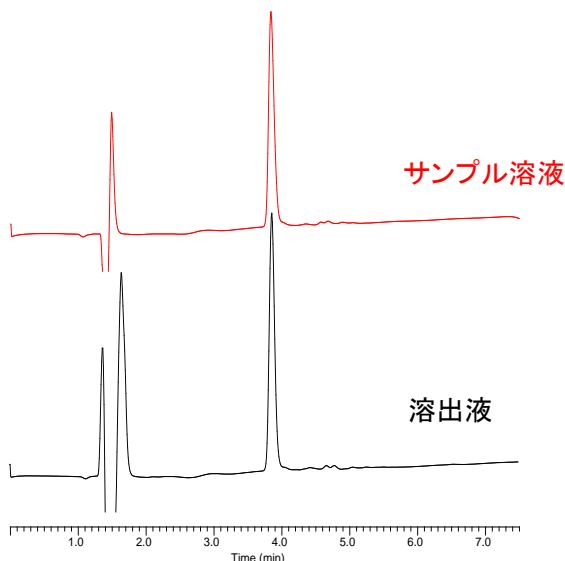
HPLCによる確認

サンプル溶液とMonoSpin精製後の溶出液をHPLCにて分析し、その面積値から回収率を算出しました。

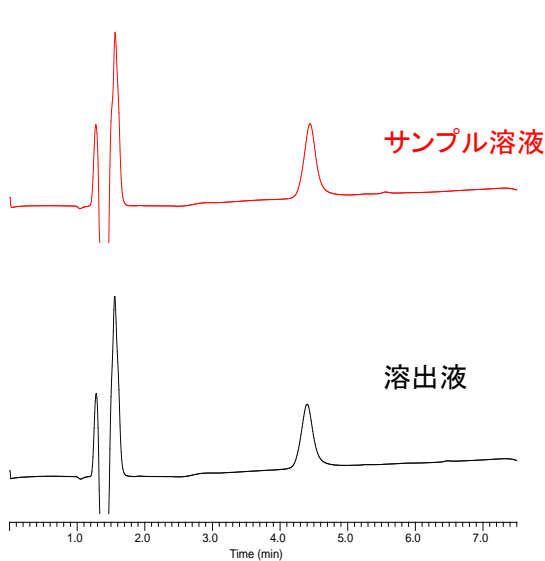
Conditions

Column: InertSustainBio C18 (1.9 μm , 100 \times 2.1mmI.D.)
 Eluent: A) 0.1 % TFA in H_2O
 B) 0.1 % TFA in CH_3CN
 A/B=62/38 – 5 min - 50/50 - 0.1 min - 62/38 – 3 min hold, v/v
 Flow rate: 0.2 mL/min
 Col.Temp: 40 $^\circ\text{C}$
 Detection: UV 220 nm
 Injection Vol: 2 μL

①インスリン 0.1 mg/mL



②BSA 0.1 mg/mL



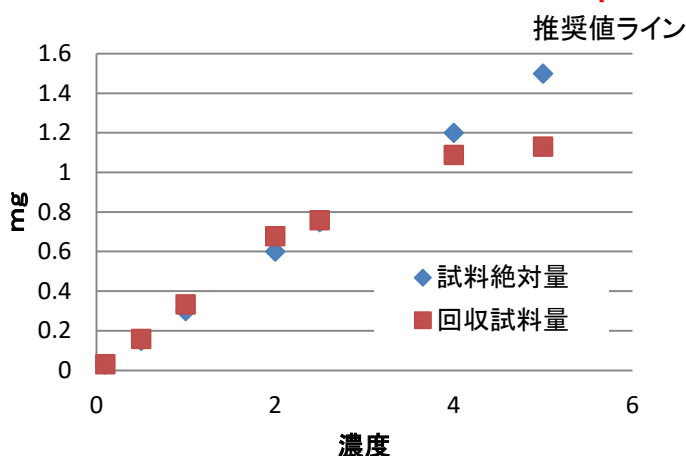
回収率と負荷量

回収率からそれぞれの試料の負荷量を算出し、最大負荷量の推奨値を設定しました。

MonoSpin C18(S型)

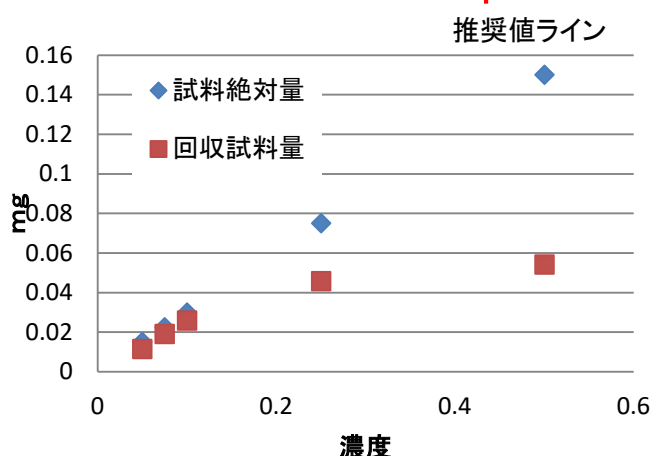
①インスリン(N=3)

試料濃度 (mg/mL)	0.10	0.50	1.0	2.0	2.5	4.0	5.0
回収率(%)	105.9	105.8	111.5	113.2	101.2	90.7	75.4
試料絶対量 (mg)	0.030	0.15	0.30	0.60	0.75	1.2	1.5
回収試料量 (mg)	0.032	0.16	0.33	0.68	0.76	1.1	1.1



②BSA(N=3)

試料濃度 (mg/mL)	0.05	0.075	0.10	0.25	0.50
回収率(%)	76.7	84.8	86.1	61.1	36.2
試料絶対量 (mg)	0.015	0.023	0.030	0.075	0.15
回収試料量 (mg)	0.012	0.019	0.026	0.046	0.054



ある濃度を超えると、回収できる試料量がほぼ一定になりました。その際の試料量を算出し、**MonoSpin C18(S型)の最大負荷量はインスリンは1.2mg(回収率90.7%)、BSAは0.03mg(回収率86.1%)としました。**

MonoSpin C18(L型)

③インスリン(N=3)

アプライ量 (mL)	1.5	2	3	4
回収率%	103.6	89.1	66.9	53.4
試料絶対量 (mg)	6	8	12	16
回収試料量 (mg)	6.2	7.1	8.0	8.6

推奨値ライン

④BSA(N=3)

アプライ量 (mL)	1.5	3	5	8
回収率%	69.4	68.8	54.3	37.1
試料絶対量 (mg)	0.15	0.3	0.5	0.8
回収試料量 (mg)	0.10	0.21	0.27	0.30

推奨値ライン

MonoSpin C18(L型)の試料の最大負荷量はインスリンは8mg(回収率89.1%)、BSAは0.3mg(回収率68.8%)としました。

分子量が小さい方が固定相の狭い部分(スルーポア、メソポア)へ入りやすいため、インスリンとBSAでは負荷量に大きな差が生じたと考えられます。

MonoSpinC18の物性と仕様

品名	官能基	S型		L型		表面積 (m ² /g)
		スルーポア (μm)	メソポア (nm)	スルーポア (μm)	メソポア (nm)	
MonoSpin C18	オクタデシル基	5	10	10	10	350

種類	MonoSpin S型*1	MonoSpin L型
ディスクサイズ	Φ4.2×1.5 mm	Φ9×3 mm
サンプル溶液量	800 μLまで	8 mLまで
溶出液量	50~800 μL	0.5 ~ 8 mL
使用時遠心力	2,000~10,000 × g	1,000 × g

*1: MonoSpin ProA,
MonoSpin ProG は仕様異なります。

使用製品



MonoSpin® S型

品名	入数	Cat.No.	価格
MonoSpin C18	50本	5010-21700	22,000
	100本	5010-21701	39,000

MonoSpin® L型

品名	入数	Cat.No.	価格
MonoSpin C18	30本	7510-11320	22,000

MonoSpin® (S型)トライアルキット、カスタムキット

初期メソッド調整用に、各種パッケージ化したトライアルキットとカスタムキットです。
MonoSpin Trypsin, MonoSpin ProA, MonoSpin ProG は対象外です。

品名	構成内容	Cat.No.	価格
MonoSpin トライアルキット 1	C18, TiO, SCX, SAX 各10本	5010-21740	18,000
MonoSpin トライアルキット 2	C18, Amide, CBA, NH ₂ 各10本	5010-21741	18,000
MonoSpin トライアルキット 3	SCX, SAX, CBA, NH ₂ 各10本	5010-21742	18,000
MonoSpin カスタムキット 20	お好みの2種*組み合わせ 各10本	5010-01001	10,000



ジールサイエンス株式会社

〒163-1130 東京都新宿区西新宿 6-22-1 新宿スクエアタワー 30F
TEL.03-5323-6611 FAX.03-5323-6622

※各試験法は、変更される場合がありますので、分析の前に確認されることをお勧めします。

データに起因し、直接的または間接的に生じたいかなる損害に対しましては、

カスタマーサポートセンターでは、ノウハウのご提供と分析に関するフォローを行なっております。
お困りの際には、カスタマーサポートセンターまでお気軽にお問い合わせください。

カスタマーサポートセンター (土・日・祝除く 9:00-17:00)

☎ 04-2934-1100 ✉ info@glsc.co.jp



【アプリケーションの検索はこちら】

アプリケーション検索はこちらから ... https://www.glsc.co.jp/technique/app/app_search.html