

HPLC/UHPLC用カラム



Develosil® FlexFire WP C4

野村化学株式会社



Develosil® FlexFire WP C4

タンパク質、抗体などの高分子化合物の分析に！！

FlexFire WP C4は、タンパク質や抗体などの高分子化合物をターゲットにしたカラムです。あらゆる分析条件に対応できるよう、pH耐久性や温度耐久性を従来よりも大幅にアップグレードされ、これからのバイオ医薬品分析に大きく貢献します。

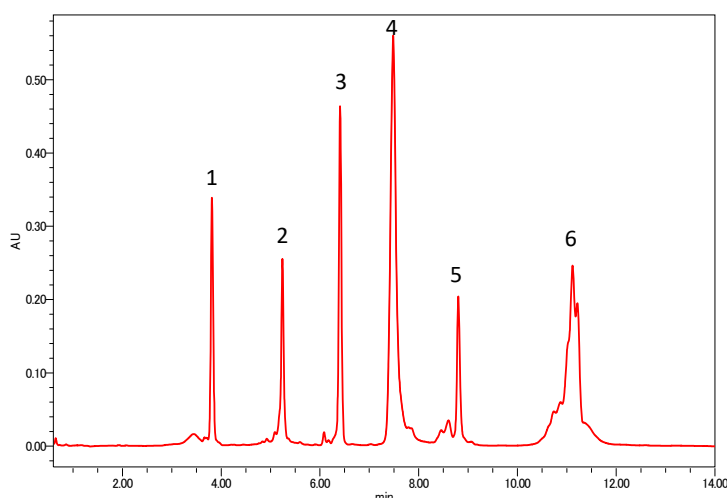
洗練されたシリカゲルを採用したFlexFire WP C4のスペック

	FlexFire WP C4
Particle size	2.6µm, 5µm
Chemistry	Butyl
Surface area	170m ² /g
Pore volume	1.4mL/g
Pore diameter	30nm
Carbon	5.0%
End-cap	あり
pH	pH1-10
Temperature	~80°C
Pressure range	2.6µm: 600bar (=60Mpa=8,702psi)
	5µm: 300bar (=30Mpa=4,351psi)

FlexFire WP C4は様々な性質をもったタンパク質を疎水性の差異に基づいて溶出し、一次構造の特性解析を主な目的とします。

また、タンパク質の他にインタクトmAbの分析にも適用することができます。インタクトmAbは高温条件を必要としますが、FlexFire WP C4は80°Cの耐久性を確保しているため、シャープなピークを溶出することができます。

■ 標準タンパク質の分析例



Conditions:

Column: Develosil FlexFire WP C4, 2.6µm (2.0x50mm)
 Mobile phase: A) Water + 0.1%TFA
 B) Acetonitrile + 0.1%TFA

Gradient:

Time	mL/min	%A	%B	Curve
0.00	0.3	80	20	
12.60	0.3	40	60	6
12.63	0.3	80	20	6

Temperature:

40°C

Detection:

UV220nm

Sample:

1. Ribonuclease A (0.15mg/mL) M.W.=13,683
2. Cytochrome C (0.20mg/mL) M.W.=11,702
3. Lysozyme (0.20mg/mL) M.W.=14,314
4. BSA (0.68mg/mL) M.W.=66,296
5. Myoglobin (0.20mg/mL) M.W.=11,199
6. Ovalbumin (1.84mg/mL) M.W.=42,699

Injection volume:

5.0µL

System:

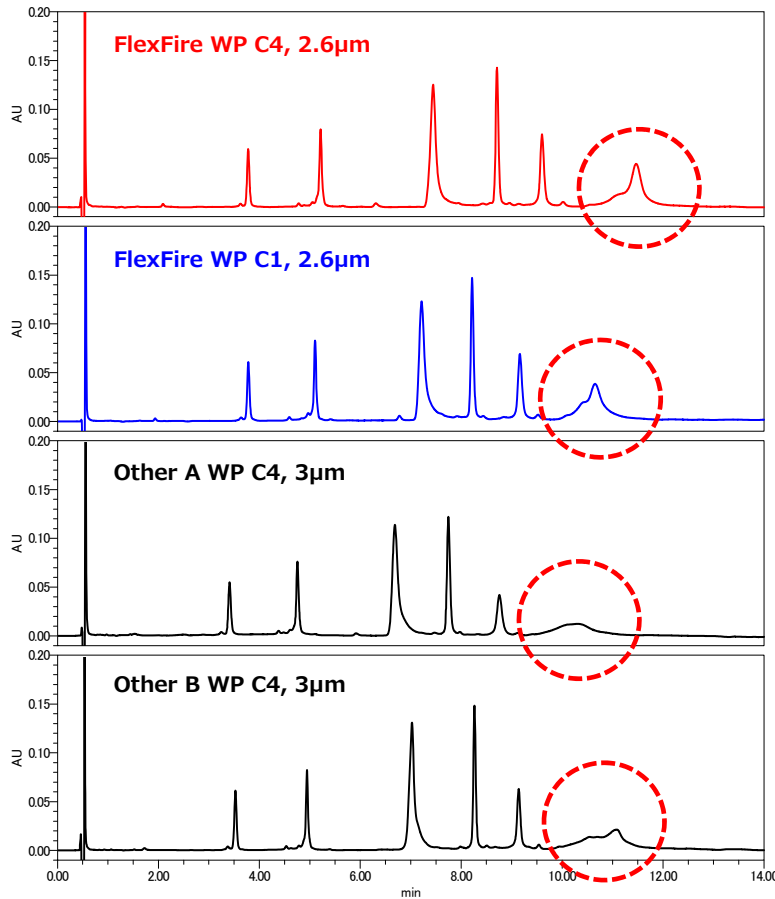
Waters ACQUITY UPLC H-Class Plus

Mixer:

100µL

※BSA, Ovalbuminは1次溶解液に0.1%HN₄OHを使用しています。

タンパク質の分離比較



Conditions:

Column: Develosil FlexFire WP C4, 2.6µm (2.0x50mm)
Develosil FlexFire WP C1, 2.6µm (2.0x50mm)
Other A WP C4, 3µm (2.0x50mm)
Other B WP C4, 3µm (2.0x50mm)

Mobile phase: A) Water + 0.1%TFA
B) Acetonitrile + 0.1%TFA

Gradient:

Time	mL/min	%A	%B	Curve
0.00	0.3	80	20	
12.60	0.3	40	60	6
12.63	0.3	80	20	6

Temperature:

40°C

Detection:

UV220nm

Sample:

- Ribonuclease A (0.15mg/mL) M.W.=13,683
- Cytochrome C (0.20mg/mL) M.W.=11,702
- Lysozyme (0.20mg/mL) M.W.=14,314
- BSA (0.68mg/mL) M.W.=66,296
- Myoglobin (0.20mg/mL) M.W.=11,199
- Ovalbumin (1.84mg/mL) M.W.=42,699

Injection volume:

5.0µL

System:

Waters ACQUITY UPLC H-Class Plus

Mixer:

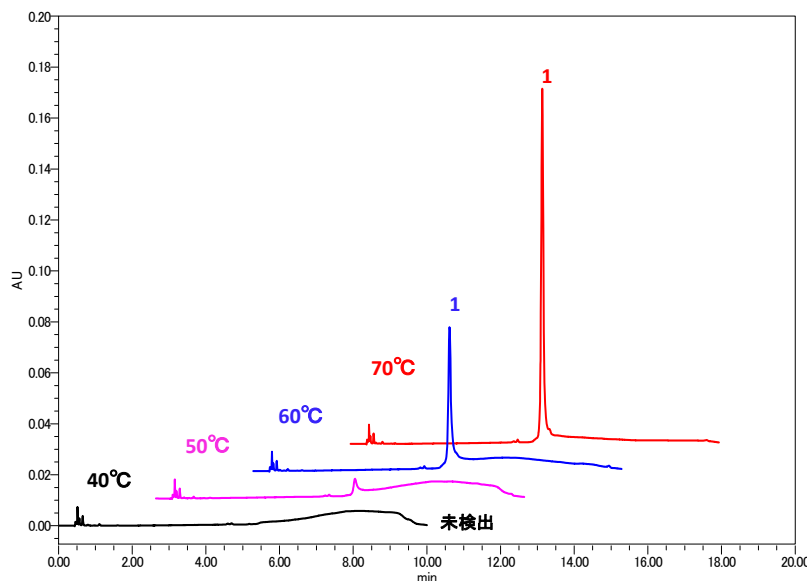
100µL

オボアルブミンに着目して、FlexFire WP C4と他社ラムを比較しました。

FlexFire WP C4, C1において、ピークトップが認識できますが、他社A,Bではブロードになっています。前項でしめしたように、二次的効果の影響を受けているものと考えられます。

※FlexFire WP C1も販売しております。詳しくはお問合せください。

インタクトmAbの分析 – 温度条件によるピーク検出–



Conditions:

Column: Develosil FlexFire WP C4, 2.6µm (2.0x50mm)

Mobile phase: A) Water + 0.1%TFA
B) Acetonitrile + 0.1%TFA

Gradient:

Time	mL/min	%A	%B	Curve
0.00	0.3	80	20	
8.40	0.3	40	60	6
8.42	0.3	80	20	6

Temperature:

40°C, 50°C, 60°C, 70°C

Detection:

UV280nm

Sample:

1. Intact Mouse IgG1 (5.0mg/mL)

Injection volume:

1.0µL

System:

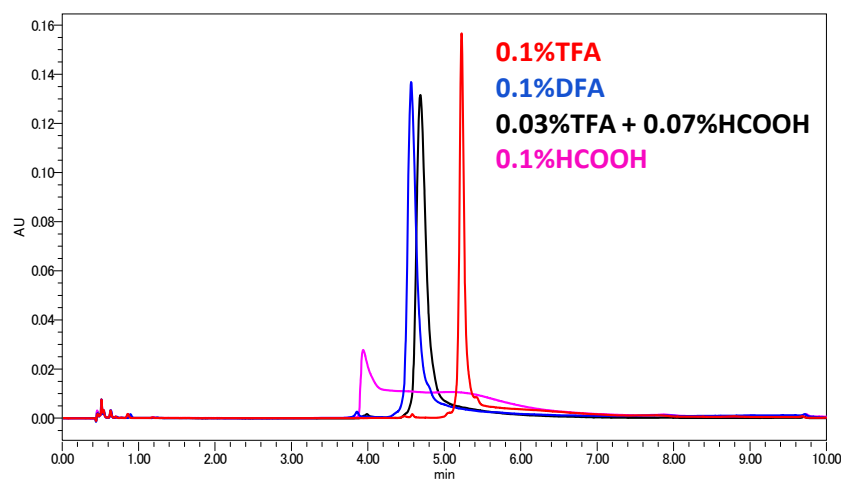
Waters ACQUITY UPLC H-Class

Mixer:

100µL

インタクトmAbの分析において、温度設定は重要なパラメーターとなります。40°Cにおいては未検出でしたが、温度を上げることによりピークが検出されるようになり、70°Cにおいて極めてシャープなピークを得ることができました。

インタクトmAbの分析 – 移動相の違いによるピーク検出 –



Conditions:
column: Develosil FlexFire WP C4, 2.6 μ m (2.0x50mm)
Mobile phase:
A) Water + 0.1%TFA
B) Acetonitrile + 0.1%TFA
A) Water + 0.1%DFA
B) Acetonitrile + 0.1%DFA
A) Water + 0.03%TFA+0.07%HCOOH
B) Acetonitrile + 0.03%TFA+0.07%HCOOH
A) Water + 0.1%HCOOH
B) Acetonitrile + 0.1%HCOOH

Gradient:

min	Flow	%A	%B	Curve
0.00	0.3	80	20	6
8.40	0.3	40	60	6
8.42	0.3	80	20	6

Temperature: 70 $^{\circ}$ C
Detection: UV280nm
Sample: Intact Mouse IgG1
Injection volume: 0.2 μ L
System: Waters ACQUITY UPLC H-Class Plus
Mixer: 100 μ L

LC/MS使用時におけるリスク削減のために、異なる移動相にてインタクトmAbの分析を行いました。ギ酸ではピークの形状を維持するのが困難ですが、わずかなTFAと大部分のギ酸では、0.1%DFAとほぼ変わらない結果を示しました。極めてわずかなイオンペア試薬を用いることでリスクを削減することが可能となり、検出の幅を広げることができます。

価格表

内径 (mm)	長さ (mm)	粒子径 (μ m)	ステンレスカラム		メタルフリーカラム			
			価格(円)	商品コード	価格(円)	商品コード		
2.0	35	2.6 μ m	70,000	310-L20035W	93,000	310-L20035MFW		
			70,000	310-L20050W	93,000	310-L20050MFW		
			72,000	310-L20075W	95,000	310-L20075MFW		
			75,000	310-L20100W	98,000	310-L20100MFW		
			80,000	310-L20150W	103,000	310-L20150MFW		
			85,000	310-L20250W	108,000	310-L20250MFW		
	50	5 μ m	65,000	310-520035W	88,000	310-520035MFW		
			65,000	310-520050W	88,000	310-520050MFW		
			67,000	310-520075W	90,000	310-520075MFW		
			72,000	310-520100W	95,000	310-520100MFW		
			75,000	310-520150W	98,000	310-520150MFW		
			80,000	310-520250W	103,000	310-520250MFW		
			75	2.6 μ m	70,000	310-L20075W	95,000	310-L20075MFW
					75,000	310-L20100W	98,000	310-L20100MFW
80,000	310-L20150W	103,000			310-L20150MFW			
85,000	310-L20250W	108,000			310-L20250MFW			
65,000	310-520075W	90,000			310-520075MFW			
72,000	310-520100W	95,000			310-520100MFW			

※価格に記載されている価格は2020年2月現在のものであり、予告なく変更される場合があります。あらかじめご了承ください。なお、表示価格に消費税は含まれておりません。

※製品の使用は改良のため、予告なしに変更になる場合がございます。あらかじめご了承ください。

■お問い合わせ/Contact us



野村化学株式会社
〒489-0004 愛知県瀬戸市日の出町15
Tel: 0561-48-1853 Fax: 0561-48-1434
e-mail: info@develosil.net

Nomura Chemical Co., Ltd.
15, Hinode-cho, Seto, 489-0004, Japan
Tel: +81-561-48-1853 Fax: +81-561-48-1434
e-mail: info@develosil.net

Develosil USA

Develosil USA
10060 Carroll Canyon Rd. Ste. 100 San Diego, CA 92131
Phone: 858-800-2433
Web: <https://develosil.us/>