

Issue 4, 2003 年春

Agilent in Pharmaceutical Analysis

4



情報と情報の架け橋

Agilent Synapsia Informatics Workbench

バリデーション

ChemiStation ソフトウェアがバリデーションの各ステップを先導します

Poroshell

タンパク質の効率的な迅速分析

ZORBAX の秘密

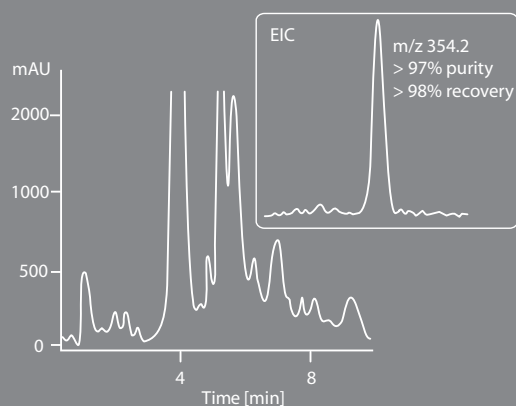
Agilent の ZORBAX Solvent Saver カラムは単に溶媒を節約するだけではありません



Agilent Technologies

HPLC ピュリフィケーションが変わる

ピュアな回収、ピュアな効率、ピュアな Agilent



- 時間、ピーク、または質量を基準に分取する「スマート」フラクションコレクション
- 分析用からセミ分取用まで対応する広い流量範囲
- 非専門家にも手軽に操作できます
- 比類なき頑健さのピュリフィケーションシステム

無料 e-セミナーに是非オンライン登録してください

www.agilent.com/chem/pharma4

高い純度で高い回収率の精製ランがあります。安心して終夜運転のできる頑健なシステムがあります。全てを採取しておかなくてもよい正確なフラクションコレクションがあります。それが Agilent 1100 シリーズ・ピュリフィケーションシステムの基準です。サンプルや時間を無駄にしません。ハードウェアからソフトウェア、さらにサービスに至るまで、Agilent 1100 シリーズ・ピュリフィケーションシステムは Agilent の提供する純正システムでお客様の貴重な試料を安心して精製できるように設計されています。



Agilent Technologies

dreams made real



Agilent in Pharmaceutical Analysis

目次

科学を支える基盤となるのはデータです。しかし、データは偉大な発見に導くこともあれば、単なるゴミに等しい場合もあります。何らかの結論に達するにはまずデータを解釈しなければなりません。「**Agilent** の製薬分析」の本号ではデータ管理を容易にして夢に一歩近づけてくれるソリューションを特集してお届けします。

限られたサンプルをハイスループット分析可能な HPLC ソリューション	2
Agilent 1100 シリーズキャピラリー LC システム	
MS データからさらに多くの情報を取り出します	5
Agilent が Millennium Pharmaceuticals 社 SpectrumMill ソフトウェアのライセンスを取得	
山のようなデータを簡単に処理します	6
Agilent ChemStation データブラウザソフトウェア	
メンテナンス – 簡単な方法	8
Agilent 1100 シリーズ HPLC メンテナンス & 修理 CD-ROM の新バージョン	
LC システムの明るい未来	10
Agilent の重水素ランプは感度を向上させるばかりでなく 寿命も長く、システムから最高の性能を引き出します。	

コスト効率の良いセキュリティ	22
比類ない性能を持つ修復機能が企業の薬物開発への 投資を保護します。	
マルチベンダー環境における規格準拠の実際	23
Agilent はさらに広い範囲で規格準拠サービスを提供します	

どこまでやれば十分でしょうか？	12
分析メソッドと操作手順バリデーションへの 実用的なアプローチ	
提携と統合	14
Agilent とパートナー企業がチームとなって ソリューションを提供します	
Agilent のソフトウェアバックアップソリューション	15
コンピューターのハードドライブを素早く簡単に バックアップします	

Poroshell LC/MS 分離カラムでタンパク質分析は ラストパートに入ります	16
高速・高効率タンパク質分析を実現する Poroshell 技術	
今や公然の秘密	18
Agilent の ZORBAX Solvent Saver と Solvent Saver Plus カラムがユニークな特長と LC/MS への優れた相性を提供します。	

チップベース電気泳動メソッドによる IgG4 半抗体分子の定量	24
Agilent 2100 バイオアナライザ用 Protein 200 Plus アッセイを用いたサイジングと定量	
スピードが大事なら	26
Agilent 2100 バイオアナライザと Protein 50 LabChip キットを用いた5~50 kDa のタンパク質迅速分析	
アポトーシス研究へのソリューション	28
アポトーシス細胞サンプル分析を相互に補完する 3 種類のアッセイを備えた Agilent 2100 バイオアナライザ	

ラボとラボの境界を取り払います	30
Agilent の Synapsia Informatics Workbench.	

限られたサンプルをハイスループット 分析可能な HPLC ソリューション

Agilent 1100 シリーズキャピラリー LC システム

新薬の探索と開発の分野ではその研究をスピードアップするため、新しい分析技術を採用して、限られた量のサンプルや極めて低い濃度のサンプルを高感度で分析しています。

キャピラリー LC を質量分析検出器および UV-ダイオードアレイ検出器と組み合わせる分析技術は、ペプチドやタンパク質を分析するバイオ関連研究に幅広く応用できます。さらに、キャピラリー LC は薬物とその代謝生成物の分析でも頻繁に用いられています。

モジュール化された 1100 シリーズキャピラリー LC システムは頑健で、セットアップの容易さを兼ね備えたソリューションを提供します。

アクティブな流量コントロール

これまでのキャピラリー HPLC システムでは、希望するスプリット比にセットしたパッシブなスプリッタにより流量をコントロールしようと試みてきました。この方法は、ポンプ性能の変化やグラジエント変化、あるいは分析中にシステム内に起こる物質の詰まり等々の原因により発生する背圧変動とは無関係に一定流量



を維持したいという要求から見ると信頼性に欠けることが知られています。高い品質のクロマトグラム分離と適切なキャラクタリゼーション、および予測どおりの保持時間が要求される分取のいずれの場合も流量が精密にコントロールされていることが必須です。パッシブなスプリッタではなく、アクティブな流量コントロールを使用するメソッドの必要理由がここにあります。

Agilent 1100 シリーズキャピラリー LC システムは電子式流量コントロール (EFC) された高圧キャピラリーポンプによりアクティブな方法で一定流量を維持します。専用センサーがカラム流路の流量をモニターし、変動が生じた場合は電磁比例バルブ (EMPV) に信号を送り、スプリット比を適正な値に修正することによって変動を補償します (図 1)。

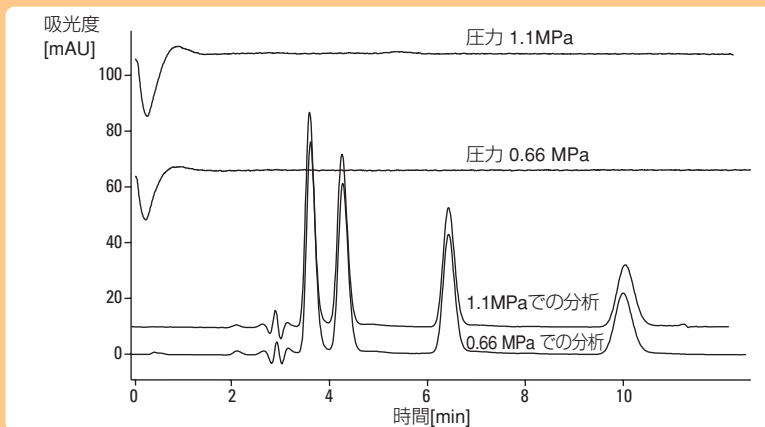


図 1
フタル酸エステル、ビフェニル、o-ターフェニルを異なる圧力値 (1.1MPa と 0.66 MPa) で分析しました。保持時間が非常に安定していることから、決め手となる流量安定性が圧力変動によっても損なわれないことが分ります。

キャピラリー LC を質量分析検出器および UV-ダイオードアレイ検出器と組み合わせて使用する分析技術は、ペプチドやタンパク質を分析するバイオ関連研究に幅広く応用できます。

コラム (p16)

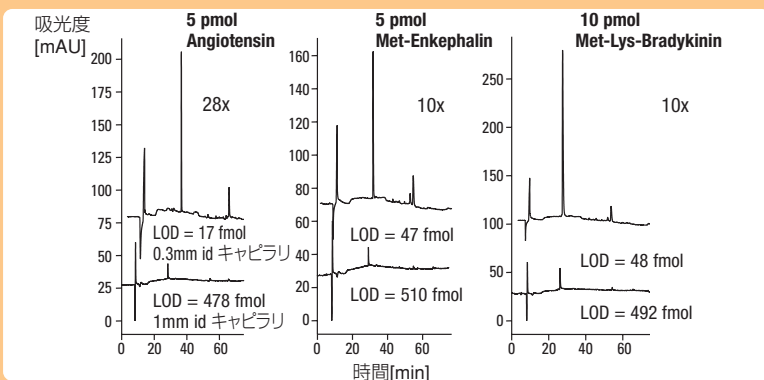


図 2
1-mm id カラムと 0.3-mm id キャピラリカラムを使用した 3 種類のペプチドの分析。
1-mm id カラムと比較して、キャピラリカラムは 10~28 倍優れた検出限界を示します。

高分離能キャピラリカラム

感度はカラムの径に反比例するため、カラムの内径が細くなるほど感度は高くなります。この効果は、物質量を一定に保ったまま系の容積（この場合はピーク容積）をスケールダウンすることで理解できます。



図 2 はその例であり、カラム内径を小さくすることが検出限界に及ぼす影響を示しています。

この例では 2 つの異なる内径のカラムに同じ量のサンプルを注入しました。比較の対象は内径 1.0mm のマイクロボアカラムと内径 0.3mm のキャピラリカラムです。

分析した 3 種類のペプチドについて、0.3-mm id キャピラリの方が 10~28 倍優れた検出感度を示しました。

広い流量範囲に対応する柔軟性

1100 シリーズキャピラリ LC システムはノーマルモードとキャピラリモードの両方で使用できます。ノーマルモードでは 100~200 $\mu\text{L}/\text{min}$ の流量を使用できます。このモードでは、電子式流量コントロールをキャピラリでバイパスしています。さらに、システム変更により、1100 シリーズキャピラリ LC システムは最高 2.5 mL/min もの流量にも対応が可能です。

キャピラリモードでは、2 つの異なる流量センサーを使用して 1~100 $\mu\text{L}/\text{min}$ の範囲のカラム流量を設定できます。

- 内径 800 μm 未満のカラムに 1~20 $\mu\text{L}/\text{min}$ の範囲の流量を流す場合は 20 μL センサーを使用します。
- 20~100 $\mu\text{L}/\text{min}$ の範囲の流量を流す場合は 100- μL センサーを使用します。100 $\mu\text{L}/\text{min}$ の流量を流せるタイプであれば内径 1 mm、2 mm のカラムも使用可能です。

さらに詳しい情報

1100 シリーズキャピラリ LC システムのカタログ (5988-1729 JAJ-P) と以下の 2 種類のアプリケーションノートをご希望のお客様は、オンライン

(<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JJP/support/support.htm>) でご用意いただくか、または添付の返信カードに記入してお送りください。

- Performance characteristics of the Agilent 1100 Series capillary LC system using diode-array
 - MS for detection and Sensitivity Improvement by On-line Sample Enrichment with Capillary LC/Ion Trap Mass Spectrometry
- order online at
www.agilent.com/chem/pharma4
or complete the attached reply card.

さらに詳細な資料をご希望のお客様は添付のカードに必要事項を記入のうえ返信いただくか、または弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) をご覧ください。

最適な感度

測定する化合物が非常に低濃度であったり微量なサンプルしか得られない場合には、検出器の感度が正確な測定を行うための最も重要なファクターになります。今日では UV-検出、四重極型MSと イオントラップ型MS 検出器を用いて化合物を低フェムト (femto) モルレベルまで定量が可能になりました。図 3a、3b に示すのは、Agilent 1100 シリーズ MSD イオントラップと Agilent 1100 シリーズダイオードアレイ検出器 (500-nL フローセル) を用いて 3 種類のペプチドを分析したときの検出限界です。

この実験には id 0.3mm のキャピラリカラムを使用しました。

Agilent がすべてを提供します

Agilent は 1100 シリーズキャピラリ LC システムを使用して、良い分析結果を得るために必要なあらゆる消耗品をお届けすることができます。

ZORBAX や Hypersilを充填したマイクロボアとキャピラリカラムが優れたピーク形状と高分離能をお約束します。

キャピラリ LC 用に最適化したフィッティングとキャピラリコネクタが一般的な流れを保証し、しかも頑丈です。必要な内径を持ち、PEEK コーティングされた熔融シリカキャピラリがこれを実現します。

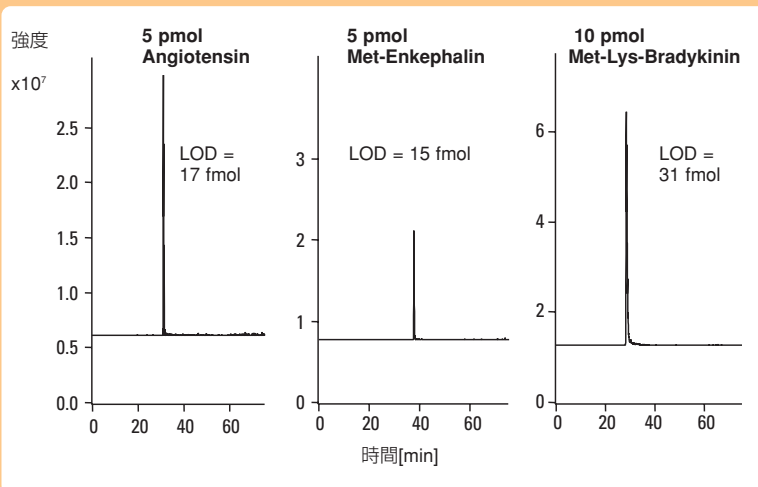


図 3a

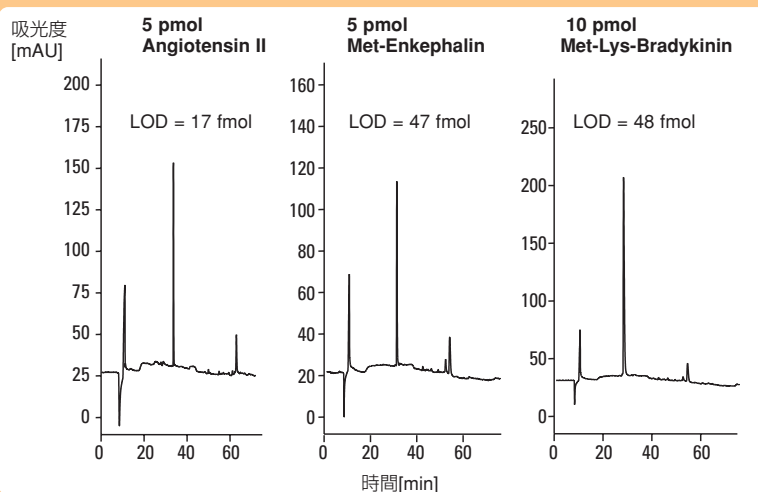


図 3b

UV-検出、四重極型MSとイオントラップ型MS検出器は低フェムト (femto) モルレベルの化合物を定量する能力を備えています。

MS データからさらに多くの情報を取り出します Agilent が SpectrumMill ソフトウェアのライセンスを取得

Agilent Technologies は最近、SpectrumMill プロテオミクスソフトウェアのライセンスを取得しました。このソフトウェアは疾病と新規医薬品探索についてのタンパク質研究に従事していた大手製薬会社の研究者により開発された強力なソフトウェアパッケージとしてよく知られています。Agilent は今後、SpectrumMill をベースとしたソフトウェアの開発と販売を予定しています。これらの製品群の最初の商品が 2003 年半ばに発売されます。



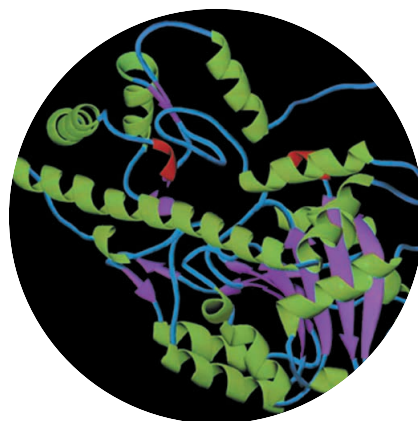
Agilent 社プロテオミクスプログラムマネージャ、
Dr. John Michnowicz

「SpectrumMill ソフトウェアは、Agilent の MS ベースプロテオミクスソリューションを使用されている科学者がサンプルから得られる情報量を大幅に増やしてくれます。」

Dr. John Michnowicz

SpectrumMill ソフトウェアは、複雑な質量スペクトルデータに含まれる膨大な情報を解析するための非常に高度なツールです。さらに、SpectrumMill のデータを Agilent が最近導入したソフトウェアプラットフォームである Synapsia Informatics Workbench に統合することができます。

SpectrumMill は高度なプロテオミクス研究に必須とされるデータ解析機能と膨大なサンプル量进行处理するデータ管理機能とを組み合わせたソフトウェアです。

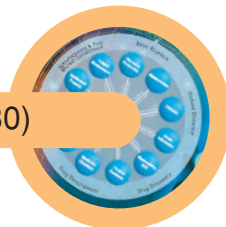


SpectrumMill ソフトウェアの特徴：

- MS と MS/MS データの両方に対応するスペクトル処理とタンパク質データベース検索機能。ペプチド質量のフィンガープリンティング、MS/MS 検索モード、正確な質量データのサポート機能を含みます。
- ICAT などの同位体ラベリングを使用する定量分析。
- デノボ（De novo）シーケンス。
- 構成を自由に編集できるマルチ実験サマリレポート。特異的発現比較などの複雑な研究を効率化します。
- 結果のバリデーションとステートトラッキングに役立つ広範なツールセット。各エレメントの要約をサポートする生の MS データとのリンクが可能です。
- ほとんどの主要メーカーの MS スペクトル解析をサポートします。

さらに、SpectrumMill はタンパク質データを生物学・生化学研究者にとってより意味のあるデータにする各種出力機能を備えています。

Synapsia (p30)



さらに詳細な資料をご希望のお客様は添付のカードに必要な事項を記入のうえ返信いただくか、または弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) をご覧ください。

山のようなデータを簡単に処理します

Agilent ChemStation データブラウザソフトウェア

多くの実験室では、信頼できる LC/MS データを迅速に取得することは問題の解決の半分でしかありません。取得した山のようなデータを見直すことも、同様に気の遠くなるような仕事です。これが特によく当てはまるのは、新規医薬品探索のために化学合成を行っているラボです。合成化学ラボは、その名が示すとおり多数のサンプルを創り出します。

Agilent 1100 シリーズ液体クロマトグラフと 1100 シリーズ LC/MSD 四重極型質量分析計は、毎日何百本ものサンプルを高い信頼性で精製、分取、さらに捕集と分析を行う能力でラボの大黒柱になっています。山のようなデータの処理を簡単な問題にしてしまう Agilent ChemStation データブラウザソフトウェアが新たに登場しました。新規医薬品探索ラボで役立

つ Agilent の Purify と Easy Access ソリューションを統合する目的で設計されたこのソフトウェアを使用することにより、化学者は従来にも増してクロマトグラムと質量スペクトルデータを迅速かつ簡単に見直すことが可能になります。

オフィスでデータ確認

ChemStation データブラウザは独立したアプリケーションソフトウェアであり、LC/MS 用 Agilent ChemStation やその他の ChemStation 用アドオンモジュールが同じ PC にインストールされている必要はありません。

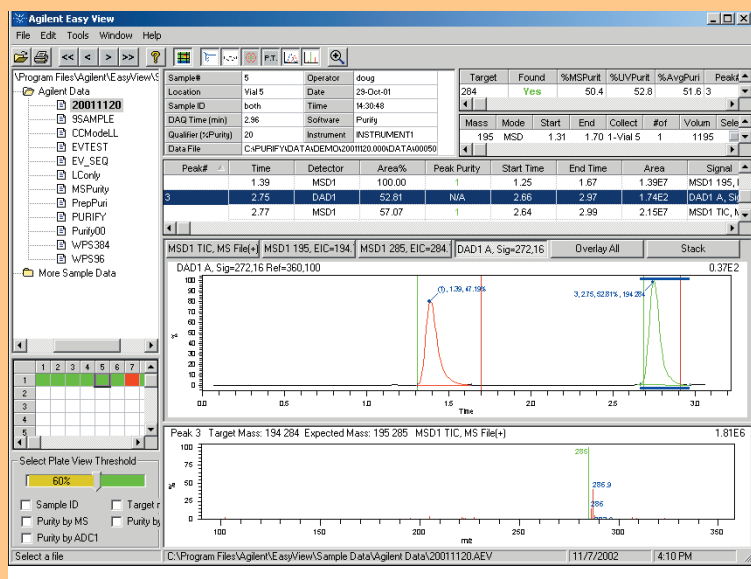
したがって、分析を実行するラボに戻らなくても、オフィスにいてデータを自由に見直すことができます。必要なのはデータを転送するための LAN (Local Area Network) などの接続だけです。

簡単なデータレビュー

このソフトウェアのすべての機能は迅速・簡単なデータの見直しを目的に設計されています。ChemStation データブラウザを利用して化学者は以下の機能を実行できます：

- 素早いデータ読み出し – 標準的なデータファイルならば僅か数秒です。
- お馴染みのファイルツリーインタフェースを使用して異なるデータファイルのサンプルやプレートを素早くナビゲートします。
- サンプル実行時の情報、Agilent 1100 シリーズ LC 検出器からのクロマトグラム、質量スペクトル、サンプル純度、ピーク純度 (MS、DAD 信号)、およびフラクション分取の結果を見直します。
- 複数のサンプルのサンプル情報、クロマトグラム、および質量スペクトルを同時に異なるウィンドウで比較します。
- ユーザー設定可能な全体のレポートまたは1 ページレポートを作成します。
- Agilent ばかりでなく、他のメーカーの機器で作成したデータも見直せます。

...ChemStation データブラウザソフトウェアは化学者がクロマトグラムや質量スペクトルをより素早く、簡単に見直すのに役立ちます。



Agilent ChemStation データブラウザソフトウェアを使用するとサンプルの実行情報、クロマトグラム、質量スペクトル、サンプル純度、ピーク純度、フラクションコレクションの結果の見直しが非常に簡単になります。

* LC/MSD、DAD、VWD、ELSD、CLND、および Agilent 35900 A/Dコンバータを使用して取得したサードパーティ検出器。

** データタイプと機能の互換性を確認する必要があります。

最も重要な情報を表示

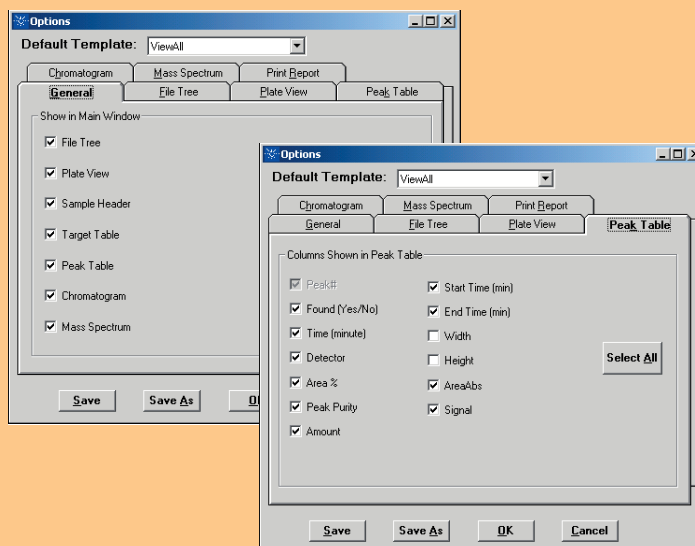
データの見直しを効率化するには、重要情報のみを表示させることが重要です。すべての化学者が同じ情報を必要とする訳ではありませんので、実際に必要な情報だけを表示するようにソフトウェアを設定できます。それぞれのタイプの情報はオブジェクトとして保存あるいは表示され、それぞれのオブジェクトの表示/非表示はテンプレートの設定で行えます。テンプレートはデフォルトとして提供されているものの中から選択でき、ユーザーが変更、新規作成してカスタマイズすることも可能です。また、テンプレートを恒久的に書き換えなくても、画面上で一時的にオブジェクトの表示/非表示、サイズなどを切替えることができます。

利用できるオブジェクトのタイプ：

- ファイルツリー：データファイルのナビゲーションと選択を行います。
- プレートビュー：プレート上のサンプル位置とサンプル有無情報、および各サンプルの平均のサンプル純度情報を示します（后者は該当する場合のみ）。
- サンプルヘッダー：オペレーター名、日付と時間、装置名、メソッドファイル名等を示します。
- ターゲットテーブル：ターゲットマスの検出/非検出、サンプル純度などの結果を示します。
- フラクションコレクションテーブル：コレクションされたターゲットマスやコレクションの開始/終了時間、コレクション位置などを示します。



すべての化学者が同じ情報を必要とする訳ではありません。実際に必要な情報だけを表示するようにソフトウェアを設定できます。



単純なダイアログボックスを利用して、どの情報を表示したいかを正確にコントロールすることができます。

- ピークテーブル：ピーク ID、目標ピークの検出/非検出、保持時間、ピーク純度、開始/終了時間などを示します。
- クロマトグラムチャート：選択されたサンプルの指定したシグナル（複数可）を表示します。重ね書きやスタック表示、ピークラベル変更などの操作を行えます。ピークは色分けされています。
- 質量スペクトルチャート：選択したピークの質量スペクトルを表示します。ユーザーはスペクトルの表示/非表示やラベルを変更することができます。個々のスペクトルはそれが目標質量に一致するかどうかに従って色分けされています。

リーズナブルな価格

3本セットからスタートする 低価格の ChemStation データブラウザソフトウェアは本数単位で販売され、通常のスタンドアロンデータ解析ソフトウェアと比較して半分の価格でありながらデータ処理のスループット向上に非常に大きな効果をもたらします。このようなメリットをもたらすソフトウェアですので、ChemStation データブラウザソフトウェアは大量のサンプル処理を必要とするラボにとっては欠かせないツールです。

簡単な操作！

ChemStation データブラウザソフトウェアの詳細がアプリケーションノート（5988-8490EN）に説明されています。弊社 Web サイト（www.agilent.com/chem/pharma4）からダウンロードしてください。

さらに詳細な資料をご希望のお客様は添付のカードに必要事項を記入のうえ返信いただくか、または弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) をご覧ください。

メンテナンスと最適化 – 簡単な方法

新型 Agilent 1100 シリーズ HPLC
メンテナンス – 修理 CD-ROM



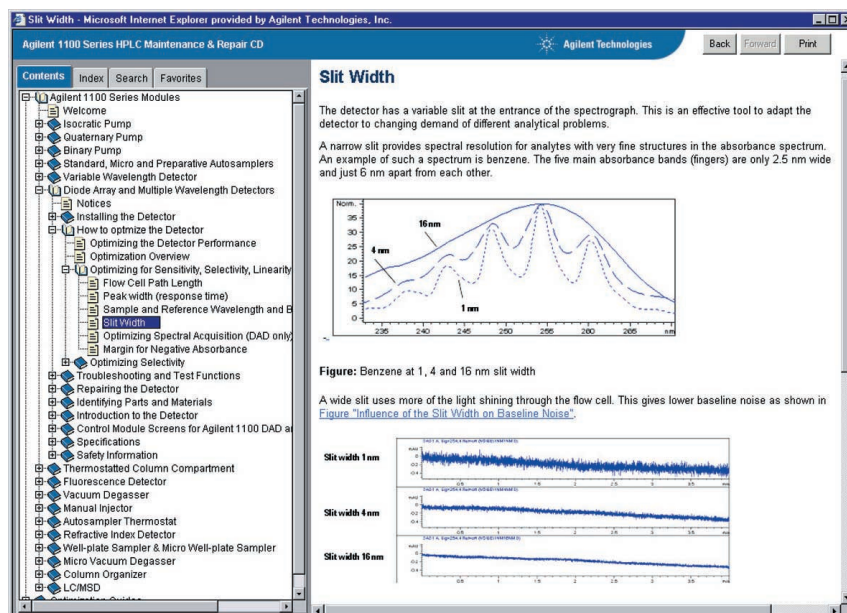
1100 シリーズ HPLC にはメンテナンスや修理の時間節約に役立つ補助機能を数多く備えています。装置自体が E-PAC 設計に則って前面からのアクセスが容易で診断機能が組み込まれていることに加え、メンテナンスと修理手順を分かりやすく説明したマルチメディア CD-ROM を業界の先頭を切って導入しました。

100 本以上のビデオクリップがメンテナンス/修理作業をステップを追って説明します。

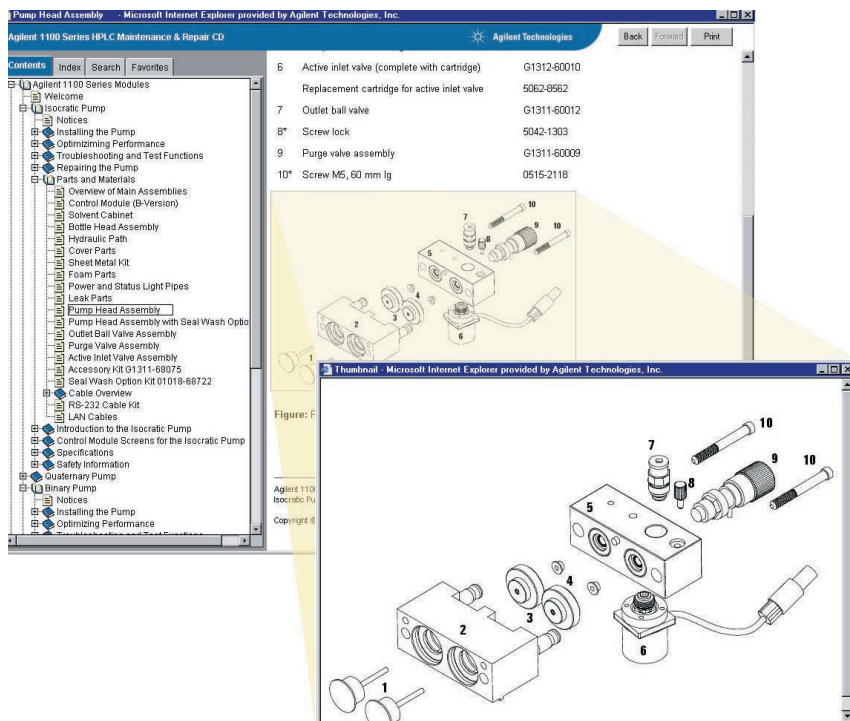
この CD-ROM は内容が完全に更新されて従来よりも更に多くの情報を提供できるようになりました。この CD-ROM は 1100 シリーズの殆どすべての標準モジュールに加えて LC/MSD についても説明しています。CD-ROM の内容：

- リファレンスマニュアル (複数)
- 100 本以上のビデオクリップ
- 最適化ガイド
- 全文検索機能
- プリントアウトルーチン

手順は非常に分かりやすく説明されていますから、1100 シリーズユーザーならば HPLC と LC/MSD システムの単純な修理はご自身で実施できます。Agilent ChemStation の次期リビジョンで搭載される診断モジュールと併用することにより、CD-ROM の診断セクションが提供するビデオ化された手順の説明とプリントアウトによって 1100 シリーズの殆どの一般的なメンテナンス作業の問題を解決できます。前面カバーの取り外しから個々の部品の識別に至るまで、メンテナンスに必要なステップを詳細に示しながら説明しています。CD-ROM のメンテナンスセクションはそれぞれ単独でもメンテナンス作業と部品番号を網羅したライブラリとして役立ちます。



カバーの取り外しから個々の部品の識別に至るまで、メンテナンスに必要なステップを詳細に示しながら説明しています。手順は非常に分かりやすく説明されていますから、1100 シリーズユーザーならば HPLC と LC/MSD システムの修理がいかに簡単に実行できるかをご覧になることができます。



離れた場所からメンテナンスしなければならない状況にも対応するため、印刷機能を備えています。複雑な図の細かな部分もズーム機能で拡大表示が可能です。

全文検索機能を利用すれば、エラーコードや部品までを含めて CD-ROM 全体を簡単に検索することができます。

トラブルシューティングセクションを参照することにより、ユーザーは ChemStation の診断モジュールを必要とせずに最も一般的な問題をオンラインで同定することができます。全文検索機能を利用すれば、CD-ROM 全体を（エラーコードや部品まで含めて）検索することができます。

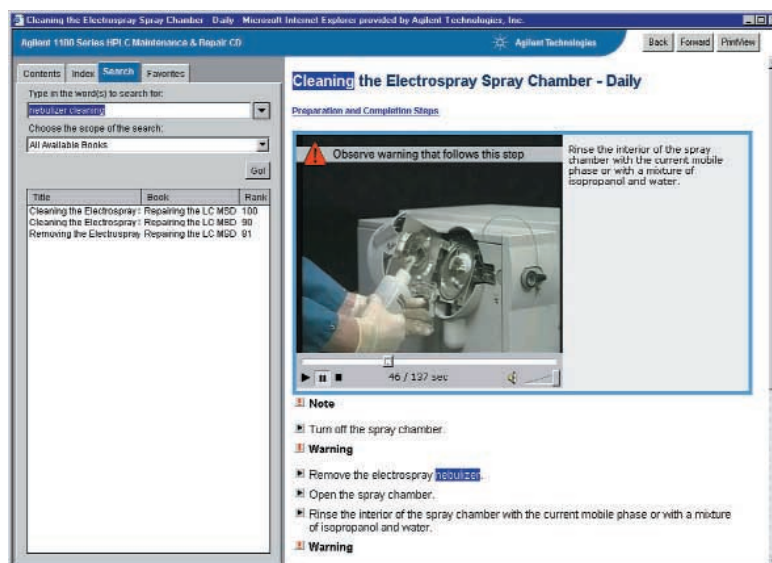
また、システム性能の最適化やシステムの機能と必要事項の理解に役立つシステムの最適化ガイドが用意されています。このセクションの内容

- システムを最適化して最高の性能を引き出す
- LC システムの最適化
- HPLC 用最新式ウェルプレートサンプラーの最適化

CD-ROM は非常に分り易く構成されていますから、用意に希望する項目へたどり着くことができます。CD-ROM は使いやすい HTML 形式で記述されており、Microsoft Windows NT/2000/XP から実行できます。CD-ROM が含むオーディオファイルには字幕も用意されていますから、サウンドカードを持たない PC でもご利用いただけます。

CD-ROM の入手法

1100 シリーズ HPLC のメンテナンス・修理 CD-ROM (01100-60007 有償) をご用命ください。弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) にお問合せください。



LC システムの明るい未来

Agilent の重水素ランプは感度を向上させるばかりでなく、寿命も長く、システムから最高の性能を引き出します。

従来からの 1050 と 1090 システムばかりでなく、Agilent 1100 シリーズ LC システム用としても多くのベンダーが検出器ランプを提供しています。しかし、これらのランプは純正品とは特性が異なりますからシステム全体の性能が大きく変えてしまうことがあります。

1050、1090 システム用ランプが改良され、寿命も長くなりました

1050 と 1090 LC システム用検出器ランプのカソードに一樣な厚膜コーティングを施すことにより寿命が長くなりました。

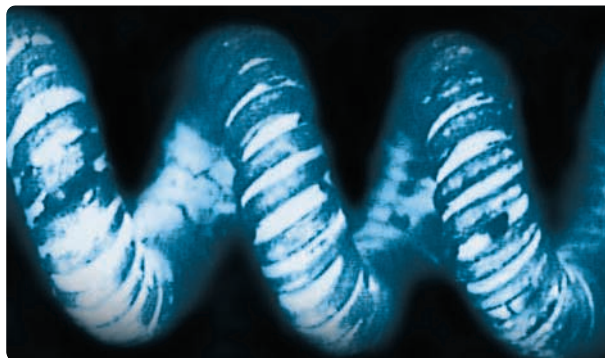
改良された Agilent 製ランプと他社ランプのカソードの比較を図 1 に示します。このユニークな独自プロセスは、特に発光の弱い部位を発生させることなしにカソード表面に一樣な高密度コーティングを作成します。これとは対照的に、X 社製カソードでは長さ方向に沿って暗く発光しない部位が見られます。このように暗い部分はカソードコーティングが途切れていることを表し、ランプの寿命を短くします。

1050、1090、1100 システムのランプ用に採用した新しいコーティングプロセスにより、ランプ寿命が最大 50% 長くなります。

1050、1090、1100 システムのランプ用に採用した新しいコーティングプロセスにより、ランプ寿命が最大 50% 長くなります。カソードコーティングの改良の結果、ランプ電圧のランプ間変動も小さくなり、ランプを交換してもより一樣な信号が得られるようになりました。



Agilent 製カソード



X 社製カソード

図 1 Agilent と X 社ランプのカソードコーティングの比較

1100 シリーズ DAD と MWD 用に改良されたランプは寿命が長く、システム感度を向上させます

Agilent 1100 シリーズ DAD（ダイオードアレイ検出器）と MWD（多波長検出器）用ランプのカソードにも同様な改良が実施されています。ここでも、この独自のコーティングプロセスがランプ寿命を最大 50% 延長しました。その上、ランプ技術の改良によって 1100 シリーズのクロマトグラフ感度も向上しました。

一般に市販されている重水素ランプのほとんどはアパーチャーが 1.0 mm で製造されています。Agilent の 1100 シリーズ用重水素ランプは光源輝度の向上とノイズの低減を目的としてそれよりもはるかに狭いアパーチャーで設計されており、かなりの S/N 比向上が実現されています。これらの改良が全体感度の向上に結びつくためには、アパーチャーが HPLC 検出システムの中で正しく光軸調整されていなければなりません。正しい光軸調整なしには、個々の部分の改良もその性能を発揮できません。

正しい光軸調整なしには、個々の部分の改良もその性能を発揮できません。

重水素ランプに明るくなります！

Agilent 重水素ランプを更に詳しく説明した冊子 (5980-2372E) が用意されています。

ご希望のお客様は弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) へ直接ご請求いただくか、または付属の返信フォームへ記入してご返送ください。

革新的な設計と組み立て工程の採用により、Agilent 1100 シリーズの DAD と MWD 長寿命重水素ランプは製造プロセスの過程で精密な光軸調整が行われます。ランプのガラスバルブをコンピュータ制御で精密に位置決めしてアルミニウム製の取付けリングに恒久的に固定することにより、精密な光軸調整済みの Agilent 1100 シリーズ検出器が製造されます。したがって、最終製品は性能が最適化されているばかりでなく、取付け/取り外しの作業も非常に簡単です。



Agilent 1100 シリーズの DAD と MWD 長寿命重水素ランプには製造プロセスの過程で精密な光軸調整が行われます。

表 1 競合他社ランプとの性能比較

ランプ	光軸調整許容差			下記波長における ASTM ノイズ (AMU)			
	x-方向	y-方向	z-方向	254 nm	750 nm	254 nm	750 nm
仕様	100%	100%	100%	<0.020	<0.020	<0.016	<0.016
メーカー C (DAD)	336	271	488	0.297	0.057	0.152	0.024
メーカー B (DAD)	121	304	300	0.140	0.145	0.073	0.023
メーカー A (MWD)	49	187	288	0.203	0.106	0.089	0.136
メーカー D (MWD)	23	53	313	0.398	0.099	0.202	0.110

DAD: Agilent 1100 ダイオードアレイ検出器

MWD: Agilent 1100 多波長検出器

表に示した非 Agilent 製ランプのすべてがノイズレベルと光軸仕様 (>100%) の両面で規定値を超えていました。

性能試験

それぞれ製造元の異なる 4 種類のランプについて、ASTM プロトコルに従って光軸合わせ許容度とノイズの試験を行いました。その結果をまとめて表 1 に示します。評価の対象となった 4 種類のランプの中には Agilent 1100 シ

リーズ検出器に対して正しく光軸調節できる製品はありませんでした：いずれの場合も調節許容差が 100% を超え、表に示した波長での S/N 比が Agilent 社仕様と比較して最大 20 倍に達するケースさえありました。

発注情報

部品番号	装置/検出器
79883-60002	重水素ランプ： 1090 シリーズ DAD 用
79883-60002	重水素ランプ： 1050 シリーズ DAD 用
79883-60002	重水素ランプ： 1050 シリーズ MWD 用
2140-0590	重水素ランプ： 1100 シリーズ DAD、 MWD 用
5181-1530	長寿命重水素ランプ： 1100 シリーズ DAD、 MWD 用

どこまでやれば十分なのでしょうか？

分析メソッドと操作手順バリデーションへの実用的なアプローチ

取得したデータの妥当性と信頼性を確かなものにするため、分析メソッドのバリデーションを行わなければなりません。

バリデーションと再バリデーションメソッドのバリデーションと再バリデーションはどの時点で行うのが良いのでしょうか？答えは必ずしも一定ではありません。以下の規則は、同一施設内でのバリデーションの正確性が保たれていることを保証するために作成されたものです。

- QA/QC の使用に移管する前。
- バリデーション済みの操作手順に変更が生じたとき。
- 変更の内容がメソッドの本来の適用範囲を超えるものであったとき。
- メソッドが時間と共に変化したことを QA/QC が報告したとき。
- 2通りのメソッドの類似性を頑健性試験で証明する必要が生じたとき。
- 標準メソッドをルーチン作業に適用する前に見直しが必要となったとき。

複数の機関が分析メソッドバリデーションのガイドラインを定義して公表しています。ISO/IEC には 9 種類のバリデーションパラメータについて記載があり、米国薬局方 (USP) と EURACHEM はメソッドが「本来の目的に適合」であるための具体的なガイドラインを公表しています。さらに、米国食品医薬品局 (FDA) もガイドラインを提案しています。

定義と呼称についても組織によって異なる場合があります。これも科学者がどのパラメータを使用すべきか悩む原因になっています。

この点に関してはハーモナイゼーション国際会議 (ICH) が解答を与えています。会議の合意資料が 8 種類のバリデーション特性を具体的に定義しています。この資料は、製薬業界の代表と米国、欧州および日本の規制官庁が分析メソッドのバリデーションに必要なパラメータを定義し、要求事項と方法論をまとめたものです。

この他にも資料が存在します。複数の実験室にまたがる研究により確認された標準メソッドが米国環境保護庁 (EPA) と米国公認分析化学者協会 (AOAC) および他の科学機関から入手が可能です。

何が正しい方法でしょう？

メソッドが有効であるか否かはサンプル、あるいは QA/QC プロセスで実際に分析される未知サンプルに類似した標準サンプルによって決定されます。その際、すべての調製ステップと生物マトリックスなどの共存物質は同じでなければなりません。サンプル調製と試験の実行はバリデーションプロトコルに出来るかぎりステップごとに沿って行います。このプロセスは直線的に進むものではなく、個々の条件やパラメータ、限界などを勘案した反復作業が必要になります。

完全なメソッドバリデーションで必要となるのは次のようなステップです：

1. バリデーションプロトコルの開発。
2. メソッドの応用、目的、適用範囲の定義。
3. 性能パラメータと判定基準の定義。
4. バリデーション実験の定義。
5. 装置が適切な性能特性を持つことの検証。
6. 材料（標準や試薬など）の適格性確認。
7. 予備バリデーション実験の実施。
8. 必要に応じてメソッドパラメータ/判定基準の調節。
9. 完全な内部（および外部）バリデーション実験の実施。
10. QA/QC でメソッドを実践するための SOP の開発。
11. 再バリデーションの判定基準定義。
12. システム適合性試験の形式と頻度の定義、または分析品質コントロール (AQC) の定義。
13. バリデーション実験とその結果をバリデーションレポートとして資料化。

メソッドバリデーション パック CD：無償です！

Ludwig Huber によるガイドラインの説明に耳を傾け、メソッドバリデーションパックソフトウェアのデモをご覧ください。ご希望のお客様は弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>)

に直接ご請求いただくか、または付属の返信フォームへ記入してご返送ください。

ステップ 1 ではメソッドをその使用目的に照らして適用範囲を明確に定義しなければなりません。

定義の内容には目的、注目する化合物、マトリックス、タイプ（定量/定性）、濃度範囲、検出・定量限界、予期される確度と精度、起こり得る干渉と対策、使用装置、（地理的な）場所、および最後に規制を満たすための要件などが含まれます。

バリデーション手続きを実行する過程で、特に注意を要する重要パラメータを洗い出さなければなりません。これらのパラメータは実行中のシステム適合性試験と分析品質コントロールのチェックに役立ちます。メソッドの所期の目的への適合性についてもやはり初期の実験を通して実証する必要があります。予備実験の結果、不十分な点が発見されてメソッドが不適切と判断された場合は分析手法や合格判定リミットの修正が必要となります。

公式ガイドラインは特定の実施順序を推奨していません。それは、適切な順序はメソッドそのものによって決まる

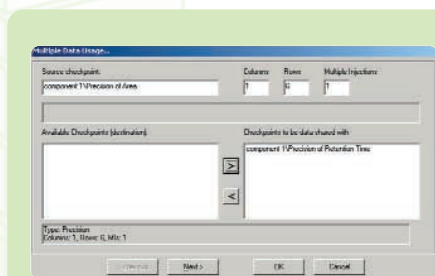
からです。良いアプローチの 1 つは、最も時間を消費する頑健性や精度試験をバリデーション手順の一番後ろの部分に持ってくることです。場合によっては複数の試験を組み合わせることも可能です。たとえば、全濃度範囲にわたってピーク面積を測定すれば精度と線形性のバリデーションを同時に実行できます。

パラメータ、合格限界、システム適合性試験や品質コントロールチェックの頻度はメソッドバリデーションの実行中に定義され、メソッドやシステムが統計限界を超えたことを示す基準が設定されます。これらの実験を最適化してメソッドと完全な分析システムが長期的に信頼できる結果をもたらすことであり、かつこれらの結果は少数のコントロール解析を用いて定義された目標に合致していなければなりません。

最後に、バリデーションの全ステップと結果を以下の項目を含む 1 つのバリデーションレポートとしてまとめなければなりません：

- メソッドの説明と適用範囲。
- 手法をまとめた標準操作手順。
- 化学薬品と試薬の全リスト。
- 測定するパラメータ。
- 適格性の証明された装置。
- 統計処理の手順と計算、代表グラフ例等。

このレポートは、相当する装置を使用する有能な技術者であれば再現できる程度に十分詳細に記述されている必要があります。



何項目かのチェックポイントに同じデータを使用して時間を節約することができます。

Agilent が提供するソリューション

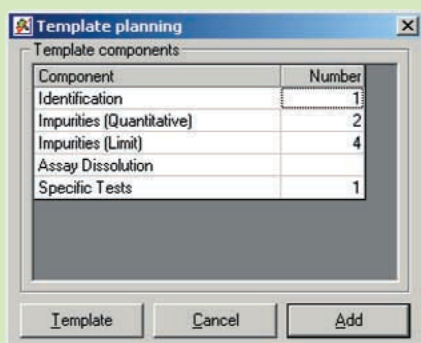
メソッドバリデーションパックは Agilent ChemStation のアドオンソフトウェアモジュールです。このソフトウェアモジュールは、メソッドバリデーションの計画から試験の実施、さらに最終レポートの提示までの全プロセスを自動化してラボの生産性を高めてくれます。

このソフトウェアは、分析メソッドのバリデーション用として発行されているガイドライン（たとえば、ICH は主要な化合物や不純物を対象として公表しています）に準拠したテンプレートを提供します。すべての結果は、グラフや SOP、結果のデータや統計量を含めた 1 つのバリデーションレポートとして資料化されます。

レポートには、グラフや SOP、結果のデータと統計量を含む全ての結果を載せます。

メソッドバリデーションパックはスタンドアローンとクライアントサーバー構成のどちらの ChemStation/ChemStation Plus にでもシームレスに組み込むことができます。さらに、FDA の電子記録と電子署名に関する決定（21 CFR Part 11*）を含む公式ガイドラインの要求事項もサポートしています。（注）メソッドバリデーションパックは2003年5月現在、日本国内での販売を行っていません。

*ChemStation Plus セキュリティパックが必要です。



ICH ガイドラインに従ったバリデーションテンプレートにより、素早く簡単にセットアップができます。

提携と統合

Agilent とパートナー企業がチームとなってソリューションを提供します

Cerity や ChemStation Plus を含む、すでに多くの実績を持つネットワークデータシステム (NDS) ポートフォリオに加えて、Agilent は最近 NuGenesis Technologies® Corp.、Scientific Software, Inc.、および Labtronics, Inc.とも提携関係を結びました。

これらの企業の協力により、生命科学分野で活動する分析ラボにデータの取得、管理、生/メタデータの長期保存などで完全な互換性のあるソリューションをお届けします。

規制への適合性ばかりでなく、薬効物質の探索や開発、製造プロセスでの生産性向上に寄与します。

電子署名と 100 レベルのパスワード保護、および完全な監査証跡が実装された LimsLink^{CDS} は 21 CFR Part 11 への対応に必要なレベルの安全性と可説明性を提供できるシステムです。

NuGenesis® is Scientific Data Management System (SDMS)

Agilent と NuGenesis Technologies は、NuGenesis Scientific Data Management System (SDMS) と Agilent ChemStation Plus NDS を統合した製品の開発と販売について正式な合意に達しました。

NuGenesis Technologies が開発した NuGenesis SDMS を使用すれば、生データやメタデータの生成や変更が起こると即時にその捕捉、カタログ化、保存までをラボの科学者でも簡単に実行できますから、作業フローの改善とコンプライアンスの維持を簡単にしてくれます。

両者の提携は、生データをその生成現場で直接収集する標準プラットフォーム構築へ向けての大きな一歩です。各種規制への準拠を必要とする生命科学企業が、特に米国食品医薬品局が電子記録と電子署名について下した裁定 (21 CFR Part 11) に関連して、そのニーズを統合する最初の例です。

Agilent と Scientific Software

今回の提携により、Scientific Software, Inc. の CyberLAB Knowledge Engineering System と Agilent の NDS システム (ChemStation Plus、製薬 QA/QC 用 Agilent Cerity NDS を含) を統合したシステムの開発と販売が可能になりました。

Scientific Software は Web ベースの知識工学システムである CyberLAB の開発者であり、このシステムは企業内全体のあらゆるタイプの情報の管理と、ナレッジに裏付けられた判断を可能にする電子ライブラリ構築を目的に設計されており、21 CFR Part 11 への準拠にも対応しています。

Agilent と Labtronics

Agilent と Labtronics Inc. との提携により、Labtronics の LimsLink^{CDS} と Agilent の ChemStation Plus NDS を統合したシステムの開発と販売が可能になりました。LimsLink^{CDS} は、Agilent ChemStation Plus NDS と他のラボ情報管理システム (LIMS) との間を接続する安全が確保された双方向インターフェイスを提供します。これにより、Agilent ChemStation Plus NDS ユーザーは安全かつ 21 CFR Part 11 にも準拠した方法で社内の LIMS との間でクロマトグラフデータを共有することが可能になります。

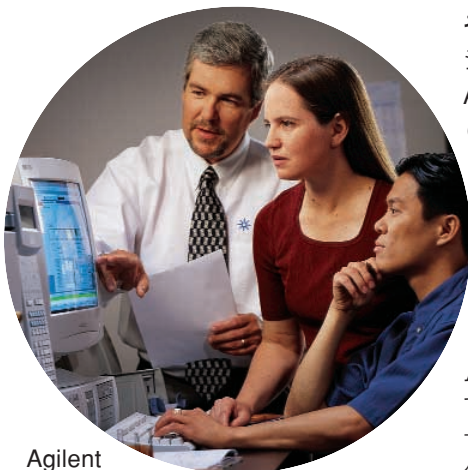
LimsLink^{CDS} は特にクロマトグラフデータシステム (CDS) と LIMS 間の 2 方向通信とデータ転送を目的として設計された死システムです。Agilent ChemStation Plus と組み合わせると、転送用に特別なファイルを作りだすことなくこの目的が達せられます。作業リストを LIMS から Agilent ChemStation 上で動作するソフトウェアに吸上げ、得られたサンプルの結果を ChemStation Plus のデータ編集モジュール (Agilent ChemStore) から取り出して直接 LIMS へ転送することができます。電子署名と 100 レベルのパスワード保護、および完全な監査証跡が実装された LimsLink^{CDS} は 21 CFR Part 11 への対応に必要なレベルの安全性と可説明性を提供できるシステムです。

より詳細は..

詳しい製品情報とパートナー企業へのリンクについては www.agilent.com/chem/pharma4 をご覧ください。

(注) 日本国内での各社との提携内容については、お問合せください。

Agilent のソフトウェアバックアップソリューション コンピューターのハードドライブを素早く簡単にバックアップします



Agilent

は 1 台の PC

だけでデータシステムをご使用のお役様にも完全なソリューションを提供しています。Agilent のソフトウェアバックアップソリューションはハードディスクの内容を高速かつ簡単にバックアップして PC のハードウェアやソフトウェアに障害が発生したときの厄介で時間のかかるシステム再構築作業から守ってくれます。このような障害には、例えばハードディスク故障やウィルスアタック、ユーザー側の重大な誤操作、互換性の無いソフトウェアのインストール、オペレーティングシステムの深刻なクラッシュなどが含まれます。

万一システムを修復する必要があるとき、必要なあらゆる情報が 1 個所にまとめて保管されています。

その解決方法は？

システムがインストールされると、Agilent のサービス担当者がシステムの完全なバックアップを始めて、着脱式メディア上にハードドライブの正確なミラーイメージを作成します。こうして、CD-R やフロッピーディスク上にシステムをオリジナルの設定に修復するのに必要なすべての情報（オペレーティングシステムアプリケーションやお客様のすべての設定を含みます）が保存されます。これにより、万一システムを修復する必要がある場合にお客様が必要とするあらゆる情報が 1 個所に保管されます。画面の指示に従って何回か簡単なコマンドを入力するだけで、システムを素早く復旧することができます。

ソリューションをトータルに提供

このバックアップソリューションは単なる修復ソフトではありません。Agilent は分析を経済的に実施して正確で再現性のある結果を取得し、ラボの生産性を最大限に高めるために必要なあらゆる工夫を盛り込んでいます。

以下のソリューションを提供：

- ネットワーク情報
- プリンター、その他の周辺機器設定
- ユーザー設定とオペレーティングシステムのレジストリ情報
- アプリケーションソフトウェアの設定
- オペレーティングシステムをカスタム化した内容
- 分析用ハードウェア設定
- ディレクトリ構造
- セキュリティ情報



Agilent の国家間コンプライアンスとバリデーションに関するエキスパートである Dr. Ludwig Huber がバリデーションとテクノロジー協会（IVT）から「年間最優秀講演者」に選ばれました。

IVT 会長 Glenn Melvin（右）と IVT 会議部門ディレクターである John Kirchner（左）と一緒に写真に収まっている Dr. Huber は、製薬業界や米国食品医薬品局（FDA）、産業界の専門委員会等を代表する 175 人もの講演者の中から選ばれてこの栄誉を受賞しました。IVT 会長 Glenn Melvin は最近の講演の中で、Dr. Huber が北米、欧州、日本で広いトピックスを扱った 14 回もの講演を行い、圧倒的な存在感を示したと称えました。

Melvin 会長は Dr. Huber の圧倒的成功を支えた多くの理由について述べています。周到に準備された参照資料、マルチメディアプレゼンテーションツールの活用、規制とガイドラインを実践するまでのステップを実際、かつ明快に説明したことなどを理由として挙げています。

Agilent はこの Dr. Huber の広範囲な専門知識と経験を活用して医薬品の開発・製造・QA/QC に従事する実験室のための規制準拠とバリデーションのためのソリューションを開発しています。

情報源

Agilent のソフトウェアバックアップソリューションを詳しく説明した冊子（5988-6126EN）が用意されています。

弊社Web サイト

（<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>）

直接ご請求いただくか、または付属の返信フォームへ記入してご返送ください。

Poroshell LC/MS 分離カラムでタンパク質分析はラストスパートに入ります

高速・高効率タンパク質分析を実現する Poroshell 技術

標準的には、HPLC によるタンパク質分離は低流量 ($\leq$ mL/min) で行われます。タンパク質はその分子が大型であるため比較的拡散が遅く、固定相内外への迅速なマス転送が妨げられる結果として速い流速を使うとピークが広がってしまいます。新しい HPLC カラム技術により、高い分解能を維持しながらより高速でタンパク質を分離できるようになりました。これを可能にするのが、固

いシリカの核をポアサイズ 300 Å の多孔質シリカ層で囲んだ Poroshell 充填剤です。内側の中実核がタンパク質の拡散距離を減らす効果を持つため、従来よりも高い流速の使用が可能になりました。タンパク質の拡散速度自体は変わりませんが、タンパク質の移動距離が減少したことにより高速分離と高い流量でも効率的なピーク分離が実現されました。

この新しい技術はさらに拡張されて、より広い範囲のアプリケーションと分離の可能性が開けてきました。

タンパク質分離用ナローボア Poroshell カラム

Poroshell 300 StableBond SB-C18 は最初は 2.1×75 mm、5 μ m のカラム構成で導入され、0.2~3 mL/min の流量を可能にしました。全多孔質カラムと比較して、Poroshell カラムはより高速で効率の良いタンパク質を分離します。2.1×75 mm カラムで標準的なグラジエント分離を行うと、流量 2 mL/min ならば僅かに 1 分、0.5 mL/min でも 4 分のグラジエント時間で分離できます。

性能を保ちながら分離時間を何分も削ることができることから、より高い感度と低い流速に対応する内径オプションを持つ新しいカラムの開発が推進されています。

新型マイクロボアカラムも迅速分析に対応します

現在、内径 1.0 mm のマイクロボア Poroshell カラムも提供可能です。このタイプのカラムは低流量で感度が増大しますから、溶媒の節約となるばかりでなく LC/MS との相性が優れています。マイクロボア Poroshell を使用して実現した非常に感度の高い LC/MS タンパク質分離の例を図 1 に示します。

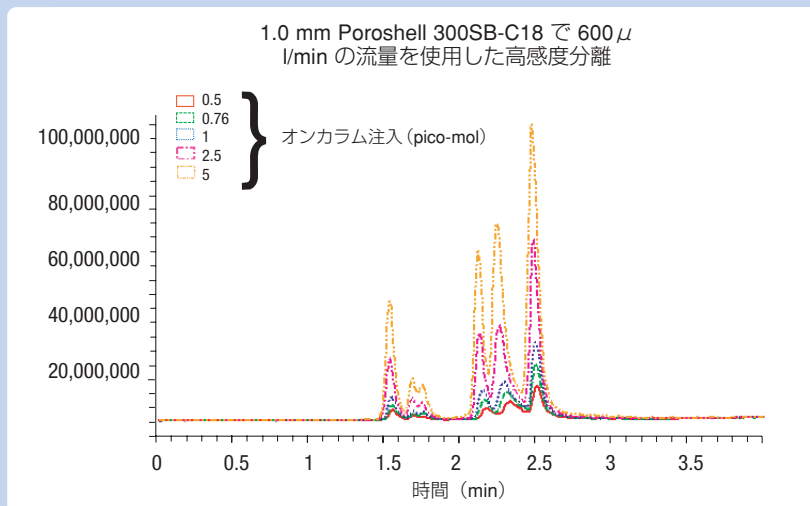


図 1

カラム: Poroshell 300SB-C18、1.0×75 mm、5 μ m

移動相: A=0.1% 酢酸水溶液

B: 0.1% 酢酸を溶解した ACN 溶液

グラジエント: 20%B - 100% B/ 5.5 min

流量: 600 μ L/min

温度: 80°C

Injection volume: 1 μ L

サンプル: インスリン、リゾチーム、チトクローム C、ミオグロビン、BSA、および炭酸脱水酵素

エレクトロスプレーイオン化 (ESI) モード: 陽イオン

Vcap: 6000V; 乾燥ガス: 12 L/min; 350°C; ネブライザ: 310Kpa (45 psi); フラグメン

ター電圧: 140 V;

スキャン: 600~2500 μ ; ステップサイズ: 0.15 μ ; ピーク幅 0.06 min

低分子量 (MW) 標準試料にはホルホリラーゼ B、BSA、オボアルブミン、炭酸脱水酵素、大豆トリプシン阻害剤、 α -ラクトアルブミン、およびショ糖が含まれています。タンパク質混合試料にはインスリン、リゾチーム、チトクローム C、ミオグロビン、BSA、および炭酸脱水酵素が含まれています。

Agilent 1100 シリーズ LC と Agilent 1100 シリーズ LC/MSD SL 四重極質量分析計を使用。

Poroshell 固定相の種類が増えたことにより、選択性の幅が広がり、分解能の向上を図ることができます

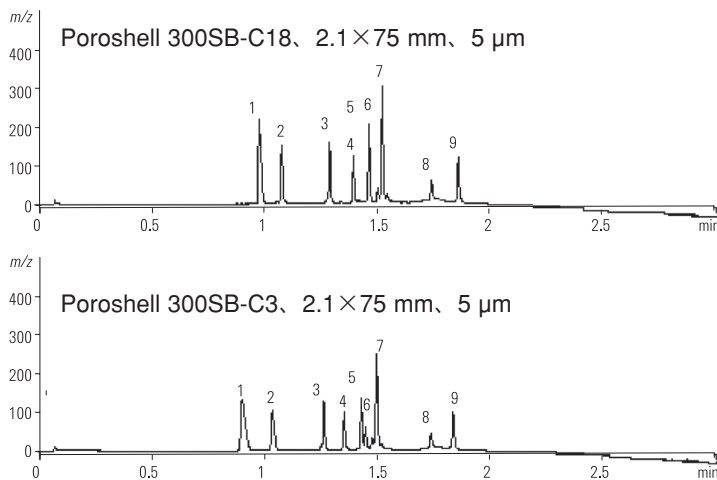


図 2
Poroshell 300SB-C3 はインスリンとチトクローム C を完全に分離しますが、300SB-C18 では分離できません。

条件： カラム - 上図参照

移動相： A 0.1% TFA/H₂O、B 0.07% TFA/MeCN;

グラジエント： 5-100% B (3.0 min)

温度： 70 °C;

流量： 0.5 mL/min;

検出器： UV 215 nm;

サンプル： 1. アンジオテンシン II 4. インスリン B 鎖 7. リゾチーム
2. ニューロテンシン 5. インスリン 8. ミオグロビン
3. RNA 分解酵素 6. チトクローム C 9. 炭酸脱水酵素

サンプル量は僅か数ピコモルですが、全イオンクロマトグラムではすべてのレベルで非常に優れた S/N 比が得られました (図 1)。流量 600 μ L/min で実施したこの分析の結果は、エレクトロスプレーイオン化 MS の優れた感度と相性の良さをよく示しています。

新型固定相

最初の Poroshell カラムは 300SB-C18 を固定相として導入され、高分解能と非常に優れた寿命、さらに TFA を含んだ移動相を低 pH や高温で使用できるという使い易さを提供しました。このカラムは大部分のタンパク質サンプルに優れた実績を示しましたが、勿論あらゆるサンプルに完全にフィットする訳ではありません。

現在では新しいカラム固定相が導入されて選択性のオプションが広がっています。

別な固定相を考えることにより、複雑なタンパク質サンプルを回収率の向上を図りながら分離する可能性が開けてきます。

タンパク質は固定相が異なると予想外の挙動を示すことがありますから、長鎖と短鎖アルキル相を含めて複数の固定相を選択できるようにしておく必要があります。このようなニーズに応えて、Agilent は現在 Poroshell 300SB-C8 と 300SB-C3 を提供しています。これらの固定相は同様に 300 StableBond 技術を基礎としています。Poroshell 300SB-C18 と 300SB-C3 でタンパク質を分離したときに現われる選択性の差を図 2 に示します。インスリンとチトクローム C は 300SB-C3 では分離できますが、300SB-C18 では分離できないことから異なる固定相オプションが必要であることが分ります。

さらに多くのオプション

300SB-C18 カラムに加えて 300SB-C8 と 300SB-C3 固定相が使用できるようになり、迅速分離できるタンパク質の数が増えるとともに、より複雑な混合試料にも対応できるようになりました。内径 1.0 mm の MicroBore カラムが加わったことにより LC/MS との相性が良くなり、これらのカラムの応用分野がさらに広がりました。

部品番号

説明

660750-906	Poroshell 300SB-C8、5 μ m、2.1×75 mm
660750-909	Poroshell 300SB-C3、5 μ m、2.1×75 mm
821075-920	Poroshell C18 2.1×12.5 mm ガードカートリッジ (4本/パック)
821075-918	Poroshell C8 2.1×12.5 mm ガードカートリッジ (4本/パック)
821075-924	Poroshell C3 2.1×12.5 mm ガードカートリッジ (4本/パック)
661750-902	Poroshell 300SB-C18、5 μ m、1×75 mm
661750-906	Poroshell 300SB-C8、5 μ m、1×75 mm
661750-909	Poroshell 300SB-C3、5 μ m、1×75 mm

ダウンロードしてください！

Poroshell カラムのアプリケーション資料 ("Using Poroshell 300SB-C18 for high sensitivity, high-throughput protein analysis on the Agilent LC/MSD" (5988-7031EN) をご希望のお客様は弊社 Web サイト (www.agilent.com/chem/pharma4) から直接ダウンロードしていただくか、または添付の返信フォームにご記入ください。

今や公然の秘密

Agilent の ZORBAX 3.0-mm id Solvent Saver と Solvent Saver Plus カラムがユニークな特長と LC/MS への優れた相性を提供します。

Agilent の Solvent Saver (5 μ m) と Solvent Saver Plus (3.5 μ m) カラムは溶媒とその廃棄に係わるコストを大幅に低減し、しかも既存 HPLC メソッドや新規メソッドにも柔軟に適合します。これらの 3.0 mm id カラムは多くのエレクトロスプレーや APCI、APPI LC/MS メソッドに適合する理想的な選択肢です。

表 1

Agilent ZORBAX Solvent Saver と Solvent Saver Plus カラムの利点

- 移動相使用量と廃液の量が 60% 減少します
- S/N 比が 2~3 倍向上します
- LC/MS への適合性 - ESI、APCI、APPI とのインターフェイスに理想的な幾何形状
- 時間とコストのかかるシステム変更や配管作業の必要がありません

表 2

3.0 mm カラムにグラジエント分離を適用¹

	Agilent 1100 LC 2 成分 (ミキサ付) ²	Agilent 1100 LC 2 成分 (ミキサ付) ²	Agilent 1100 LC 2 成分 (ミキサなし) ³	Agilent 1100 LC 4 成分 ⁴
カラム	4.6 × 150 mm 5- μ m 分析用	3.0 × 150 mm 5- μ m Solvent Saver	3.0 × 150 mm 5- μ m Solvent Saver	3.0 × 150 mm 5- μ m Solvent Saver
カラム容積 V_m (mL)	1.5	0.64	0.64	0.64
システム遅延容積 (μ L)	900	900	480	1100
グラジエント時間	30	30	30	30
注入量 (μ L)	10	4	4	4
流量 (mL/min)	1.0	0.42	0.42	0.42
グラジエントプログラム	時間 0 % B 5 時間 30 % B 95	時間 0 % B 5 時間 30 % B 95	時間 0 % B 5 時間 30 % B 95	時間 0 % B 5 時間 30 % B 95
システム 再平衡化時間	0.90 mL/1 mL/min または 0.9 min	0.90 mL/0.42 mL/min または 2.1 min	0.48 mL/0.42 mL/min または 1.1 min	1.1 mL/0.4 mL/min または 2.6 min
カラム平衡化時間 (カラム容積 × 10)	15 min	(0.64 mL × 10)/0.42 mL/min または 15 min	(0.64 mL × 10)/0.42 mL/min または 15 min	(0.64 mL × 10)/0.42 mL/min または 15 min
総ポスト時間	16 min	17 min	16 min	17.6 min
ディレイボリュウムの 調整	不可	900 μ L × 0.64 mL/1.5 mL または 382 μ L	480 μ L × 0.64 mL/1.5 mL または 204 μ L	1100 μ L × 0.64 mL/1.5 mL または 469 μ L
インジェクションディレイ	不可	(0.900 mL - 0.382 mL)/ 0.42 mL/min または 1.22 min	(0.480 mL - 0.204 mL)/ 0.42 mL/min または 0.65 min	1.1 mL - 0.47 mL/ 0.42 mL/min または 1.48 min
インジェクタプログラム	不可	吸引: 4 μ L リモートスタートパルス 待ち時間: 1.22 注入	吸引: 4 μ L リモートスタートパルス 待ち時間: 0.6 注入	吸引: 4 μ L リモートスタートパルス 待ち時間: 1.48 注入

¹ すべての配管に 0.17 mm id チューブの使用を仮定。

² 最高圧でのディレイボリュウム: 900 μ L、最小圧でのディレイボリュウム: 600 μ L。

³ 最高圧でのディレイボリュウム: 480 μ L、最小圧でのディレイボリュウム: 180 μ L。

⁴ 最高圧でのディレイボリュウム: 1100 μ L、最小圧でのディレイボリュウム: 800 μ L。

秘密はありません

研究者の中には専ら 4.6 mm id カラムを使用される方も多く、小口径カラムへの切換えを躊躇される方もおられます。しかし、Agilent の 3.0 mm id Solvent Saver カラムは明白なメリット（表 1 参照）を持つばかりでなく、大口径カラムと同様の分解能と選択性を提供することができます。

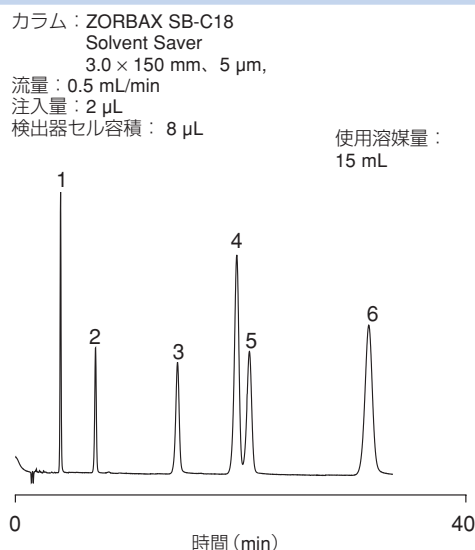
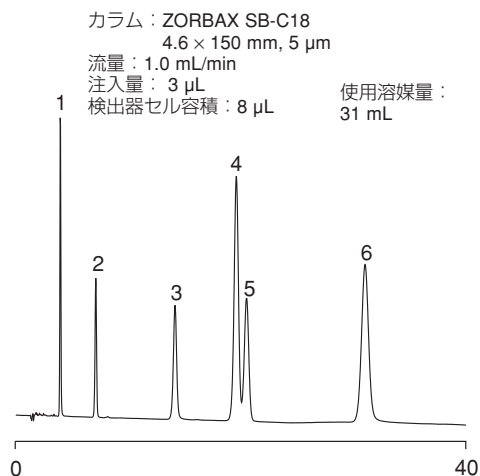
溶媒の節約と少ない廃液量

線速度を同じとすれば、3.0 mm カラムを使用したときの流量は 4.6 mm id カラムの 40% に過ぎません。したがって、Solvent Saver カラムを使用すると溶媒使用量が大幅に節約され、廃液処理に係わるコストもそれに見合っただけで少なくなります。溶媒と廃液処理に係わるコストはラボの消耗品予算の中でも最も高価な部類に属しますから、両者の節約は予算全体のコスト改善に大きく寄与します。



Solvent Saver カラムは溶媒使用量を大幅に削減し、廃液処理コストもそれに見合っただけで低下します

図 1 ZORBAX Solvent Saver カラムは4.6 mm カラムと同様の性能を発揮します。



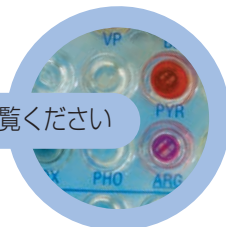
移動相：20% アセトニトリル 80% クエン酸塩/リン酸塩、pH 2.6*
温度：室温

サンプル：以下の抗菌剤

- | | |
|------------------|---------------------|
| 1) Sulfamerazine | 4) Sulfadimethoxine |
| 2) Furazolidone | 5) Sulfaminoxaline |
| 3) Oxolinic acid | 6) Nalidixic acid |

*200/87/713 ACN/0.2M Na₂HPO₄/0.1M クエン酸

特別サービス (p.21) をご覧ください



さらに詳細な資料をご希望のお客様は添付のカードに必要事項を記入のうえ返信いただくか、または弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) をご覧ください。

オーダーガイド

ZORBAX StableBond 3.0 mm Solvent Saver と Solvent Saver Plus カラム¹

長さ (mm)	粒径 (μm)	SB-C18	SB-C8 ²	SB-CN	SB-C3	SB-Phenyl	SB-Aq	300SB-C18	300SB-C8	300SB-C3
250	5.0	880975-302	880975-306	880975-305	880975-309	880975-312	880975-314			
150	5.0	883975-302	883975-306	883975-305	883975-309	883975-312	883975-314			
150	3.5	863954-302	863954-306	863954-305	863954-309	863954-312	863954-314	863974-302	863974-306	863974-309
100	3.5	*861954-302	861954-306	*861954-305	*861954-309	*861954-312	*861954-314		861973-306	

オーダーガイド

ZORBAX Eclipse、Bonus-RP、Extend-C18およびRx Solvent Saver Plus相

長さ (mm)	粒径 (μm)	XDB-C18	XDB-C8	XDB-Phenyl	Bonus-RP	Extend-C18	Rx-C18	Rx-C8
250	5.0	990967-302	990967-306	990967-312	880668-301	770450-302	880967-302	880975-306
150	5.0	993967-302	993967-306	993967-312	883668-301	773450-302	883967-302	883975-306
150	3.5	963954-302	963954-306	963954-312	863668-301	763954-302	863967-302	863954-306
100	3.5	*961967-302	*961967-306	*961967-312	*864668-301	*764953-302	*861967-302	861954-306
75	3.5	966954-302						
50	3.5					735954-302		

¹ 太文字で表示されているのは新しい部品番号です。アスタリスク (*) の付いた部品番号の供給開始は 2003 年 2 月 1 日以降になります。表にはない構成であっても、カスタムカラムをご注文頂くことにより可能になる場合があります。カスタムカラムについては、お問合せください。

² ZORBAX SB-C8 と Rx-C8 相は同一製品です。

S/N 比の改善

Solvent Saver カラムが持つもう一つの際立った特徴は、しばしば 2 から 3 倍もの S/N 比の改善が得られることです。

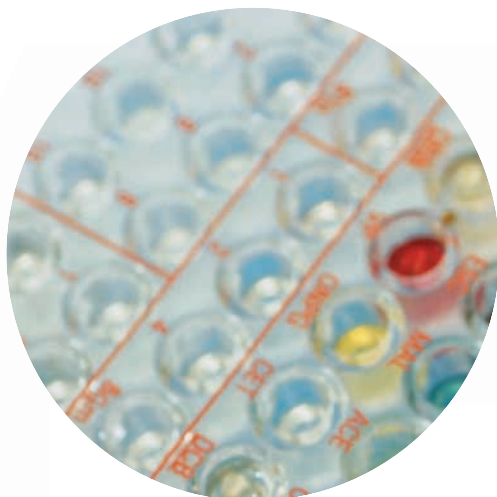
このようなメリットが得られるのは、同じ長さの 4.6 mm カラムに使用するのと同じ量のサンプルを 3.0 mm カラムに注入できる状況が発生したときです。通常、移動相の溶媒強度に対して相対的にサンプルの溶媒強度を減少させることができれば、この改善が容易になります。特に各種の環境試料や薬品不純物を対象とするような、S/N 比の改善が必須であるアプリケーションでは Solvent Saver カラムが良い選択肢です。

LC/MS への適用性

Solvent Saver カラムが持つ最も重要なメリットの一つは、今日の LC/MS インターフェイス（エレクトロスプレー、ACPI、APPI）に理想的とされる中程度の流量でこのカラムが最適な性能を発揮することです。この特性により、科学者がこれらのインターフェイスを目的に応じて切替える場合であっても、内径の異なるカラムへ変更する必要がありません。急速に発展し、応用分野も広がりつつある LC/MS アプリケーションでは、将来ますます Solvent Saver のようなカラムが必要とされ、その価値を発揮すると思われます。

適応性

殆どの Solvent Saver カラムは、業界の先端をゆく Agilent の 1100 シリーズ液体クロマトグラフや検出器に標準で付属する 0.17 mm id 配管やフローセル（DAD、13 μL；VWD、14 μL）にうまく適合する幾何形状に仕上げられています。100 mm、75 mm、および 50 mm の Solvent Saver Plus カラムは 0.12 mm id 配管と 1100 シリーズのセミニクロフローセル（4.5 μL、部品番号 G1315-60011）を使用したときに最高の効率でご利用いただけます。



Solvent Saver を用いたアイソクラティック分離

同じ長さの 4.6 mm カラムに置き換えて 3.0 mm Solvent Saver (Plus) カラムを使用する場合、ユーザーは流量を $(3.0/4.6)^2$ 倍、すなわち 0.42 倍に絞る必要があります。たとえば、4.6 × 150 mm のカラムに 5 μm 粒子を充填して 1.5 mL/min の流量で行っていたアイソクラティック分離を 3.0 × 150 mm カラムで置き換えるには、流量を $1.5 \times (3.0/4.6)^2 = 0.6$ mL/min に減少させます。カラムの長さや粒径は同じですから、分離効率（プレート数）と保持時間、および分解能は同じ値を保ちます。注入量についても、同じ長さの 4.6 mm カラムと比較して同じファクター（0.42）だけ減少させます。

資料を用意！

Agilent の ZORBAX Solvent Saver と Solvent Saver Plus カラムについて更に詳細な情報をご希望のお客様は弊社 Web サイト (www.agilent.com/chem/pharma4または、<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) をご覧いただくか、または添付の返信フォームにご記入ください。

Solvent Saver を用いたグラジエント分離

4.6 × 150 mm カラムのグラジエント分離に同じ 3.0 × 150 mm Solvent Saver (Plus) を適用しようとしたときにまず最初に必要となる調節項目はアイソクラティック分離で説明したのと同様に流量をファクター $(3.0/4.6)^2$ だけ減少させることです。

2 番目の重要な調節は LC システムの有効空容積をカラム容積の比率 $(V_{3\text{ mm}}/V_{4.6\text{ mm}})^*$ にあわせて減らすことです。たとえば、0.17 mm id 配管を使用する 2 成分 Agilent 1100 LC システムのドウエル容積（ミキサ付）は、流量と背圧に依存して約 600~900 μL の範囲の値になります。したがって、ユーザーが 4.6 mm カラムでの分析で最大 900 μL の空容積を仮定していたとすれば、3.0 mm カラム分離用に補正されたドウエル時間は（0.64

mL/1.50 mL）× 900 μL、すなわち 382 μL に減ります。これを実現するには、注入プログラムの注入時間を調節します（表 2、p.18 参照）。ミキサを持たない 2 成分 1100 LC システムと、4 成分 1100 LC システムについても類例の例を示します。他の装置や配管の長さや内径が異なる場合には、システムの高容積の測定と補正を行ってからこの調節を行います。

新型固定相が用意されています、2003 年には更に新しい製品が追加されます SB-C3、SB-Aq、Bonus-RP、Extend-C18、Rx-C18 を含む固定相を充填し、さらに多くの形状を備えた ZORBAX Solvent Saver と Solvent Saver Plus カラムが用意されています。3.0 × 100 mm、3.5 μm Solvent Saver Plus カラムも 2003 年 2 月から供給開始しました。（スペシャル価格は、7月末まで設定されています）。

さらに節約！

溶媒の節約ばかりでなく、期間限定の奉仕価格を利用して予算も節約できます。

発注ガイド（p.20）に太文字で示された新型 Solvent Saver または Solvent Saver Plus を 2003 年 2 月 1 日から 7 月末日までに期間を限定して、50%オフの特別導入価格で承ります。

最寄の Agilent 代理店が注文を承ります。

* カラム容積の概略の値は、4.6 mm カラムの場合は 0.1 mL/cm、3.0 mm カラムの場合は 0.042 mL/cm で計算できます。

さらに詳細な資料をご希望のお客様は添付のカードに必要事項を記入のうえ返信いただくか、または弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) をご覧ください。

コスト効率の良いセキュリティ

比類ない性能を持つ修復機能が企業の薬物開発への投資を保護します。

生産性の向上

ラボで使用される装置の生産性はその稼働率に左右されます。

装置の故障は修理できますが、失われた時間は取り返すことができないばかりでなく、修理によって大きなコストや不都合が発生します。メンテナンスのために費用と時間を無駄にするのはもう止めましょう。効率的な方法を選択して Agilent の分析装置のサービスと休止時間を管理しましょう。

Agilent とサービス契約を結んで頂くことにより、装置の稼働時間を最適化してラボの最も貴重な資産である時間を有効に活用することができます。生産性を高めるチャンスを失ってはいけません。

仕事をスムーズに

Agilent は産業分野に対応したサービスパッケージを提供しています。このパッケージを利用されると、Agilent 分析計の診断・メンテナンス、および修理の専門トレーニングを受けた高度な技術を持つ認定技術者がラボのニーズに合わせてきめ細かなサービスを行い、個々のラボに特化したサポートが最高の生産性を実現します。



...Agilent 分析計の保守、診断、修理のために高度のトレーニングを受けた認定技術者がサービスを提供します...

多様なサポートサービス！

ラボのニーズと予算に合わせて広範囲のサポートサービスを提供しています。詳しくは弊社 Web サイト (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP>) をご覧ください。

Agilent サポートサービスは次のようなメリットをもたらします：

- 休止時間の最小化 – 迅速対応のメンテナンスサービスが最大の稼働時間を実現します。
- サービスに係わる予算を、1 年またはそれ以上に渡って予測します。
- 操作方法と規格の規制に準拠しながら修理とサービスを行います。
- サービスの計画は Agilent にお任せください – ラボのスタッフは本来の仕事に専念できます。
- 困難な問題が発生しても、Agilent が世界中に張り巡らしているインフラと物流機構を利用して迅速に解決します。
- 実証された一貫性のあるサービスを世界 65 ヶ国で提供します。

マルチベンダー環境における 規格準拠の実際

Agilent はさらに広い範囲で規格準拠サービスを提供します



規制への準拠は成果を左右する重要事項です。タイプの異なる複数のベンダーの分析装置を混合使用しているラボでは、規格準拠を実現するために多くの努力が必要とされます。

このような環境では、プロトコルとドキュメントが異なるため複数のサービスベンダーの参画が必要となります。製薬産業では規格準拠ソリューションの標準化へ向けて、一貫性のある試験とプロトコル、およびドキュメント作成を実現しようとする動きが見られます。

手順を調和させることにより作業量が著しく減少しますから、単に生産性の向上に役立つばかりでなく、規制官庁による監査の場面でも実験室のバリデーションの正当性を実証するのが楽になります。Agilent が新たに提供するサービスは、マルチベンダー環境で規制準拠を実現させる作業を非常に簡単にしてくれます。

GLP と cGMP を成功させる バリデーション

規制の内容をよく理解し、それが分析ラボにどのような影響を与えるかを知るのが準拠戦略を立てる第一歩です。Dr. Ludwig Huber 著「Good laboratory practice and current good manufacturing practice」は GLP と cGMP の基本事項を解説し、分析の実践におよぼす影響を明確に述べたこの分野への包括的な入門書です。

さらにお知りになりたい方は..

引用された刊行物をご希望のお客様は
弊社 Web サイト
(<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) へオンライン
でご請求いただくか、または付属の返
信フォームへご記入ください。

また、ハードウェアとソフトウェアの適格性確認 (DQ、IQ、OQ、PQ、RQ を含む)、メソッドバリデーション、および FDA 21 CFR Part 11 対応の電子レコード保護を実践する方法をステップを追って明快に解説した冊子として「Five Steps to Successful and Cost Effective Validation」が用意されています。

マルチベンダー装置の適格性確認
Agilent はマルチベンダー環境での適格性確認に以下の機能を発揮する Multi-Vendor Compliance サービスを提供します：

- 1 つのまとめられた一貫性のあるアプローチで各ベンダーに対して中立な装置ハードウェア適格性確認
- 単一ベンダー製品向け適格性確認サービスの購入と実行計画を単純化
- ラボのコンプライアンスに対するアプローチを 1 つのドキュメント (Qualification Master Plan) が定義
- 同一タイプのすべてのシステム (たとえば LC システム) に共通のプロトコルと装置試験、ドキュメンテーションを適用
- アプリケーションの条件を考慮して定義可能な適格性試験パラメータ
- 標準規格に遡ってトレース可能なことが保証された装置と、専門のトレーニングを受けて認定された技術者が実施するサービス
- 北米、欧州全体をカバーするサービスネットワーク

Agilent のマルチベンダー、マルチ技術コンプライアンスソリューションは以下の分析法をカバーする多数の装置でご利用いただけます：

UV 分光光度計
液体クロマトグラフ (LC) ・ LC/MS
ガスクロマトグラフ (GC) ・ GC/MS
溶出試験
キャピラリー電気泳動
IR 分光光度計
偏光計
加熱マグネットスターラー
タイマー
流量計
温度計
湿度計
水槽
オープン
冷蔵庫
濃度計
窒素分析計
ビュレット
冷凍器
融点測定装置
引火点測定装置
オートクレーブ
加熱炉
安定化チャンバー
遠心分離
反射率計
Milli Q 水供給システム
滴定装置

Agilent のマルチベンダー
コンプライアンスソリューション
は LabMetrix Technologies との
協力により開発されました。
(注：2003年5月現在、日本国内での
マルチベンダーコンプライアンス
サービスの提供は、行っていない。)

チップベース電気泳動メソッドによる IgG₄ 半抗体分子の定量

Agilent 2100 バイオアナライザ用 Protein 200 Plus アッセイを用いたサイジングと定量

従来型ゲル電気泳動を超える技術の発展により、ラボオンチップ技術を使用する Agilent 2100 バイオアナライザから得られる結果を従来法と比較しようとする研究が現われてきています。

次に紹介する論文（WCBP 会議のポスターセッションに基づきます）は Protein 200 Plus アッセイのサイジングと定量の精度を実証しています。

IgG₄ 免疫グロブリンの一部は、長い鎖を相互に連結するジスルフィド結合が存在しない場合にかぎり、半抗体または半分子として分泌されます。

半分子は古典的な非還元 SDS-PAGE 法でも検出が可能です。それ以外の、例えば PAGE とゲル濾過 HPLC を利用する非変性法を IgG₄ 調製に適用して四量体 (H₂L₂) から半分子 (HL) を分離しようとしてもうまくゆきません。これは、自然条件下では共有結合以外の力によって半分子が四量体 (LH:HL) として保持されていることを示します。

この研究は非還元 SDS-PAGE 法と Agilent 2100 バイオアナライザ用の Protein 200 Plus アッセイによるサイジングと定量を比較しています。後者はミニチュアサイズのガラス上にマイクロ



ンサイズで作成されたチップを使用するタンパク質分析法です。この方法は原理的には従来からのキャピラリゲル電気泳動をチップ上に移し替えた方法です。分析装置上では電気泳動分離と染色、および脱色と検出が 1 つのステップとして統合されており、さらに自動データ解析機能も組み込まれています。

...自動化されてサンプルの取扱いが容易であり、結果が迅速に得られ、さらに電子データは滑らかに引き継がれて最終的にクロマトグラムのように表示されます。

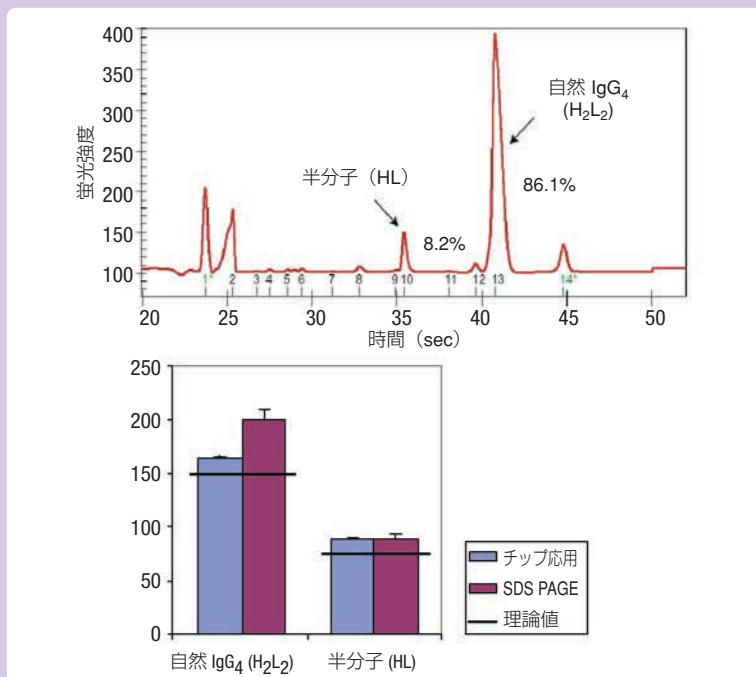


図 1
半分子の分析。上の図は Protein 200 Plus アッセイを使用して半分子含量を自動定量することにより得られた電気泳動図を示します。2 番目の図は自然 IgG₄ と半分子のサイジング精度と再現性について得られた結果を SDS-PAGE 法および理論分子量と比較したものです。

サイジング精度と再現性

検出されたピークが自然 IgG₄ と半分子に対応することの確認のために、異なる IgG₄ サンプルについてもピークの分子量が IgG₄ の主シーケンスから予測され、SDSPAGE で観測される重鎖と軽鎖の分子量との一致するか否かについて試験を行いました。自然 IgG₄ の結果では、チップ法 (163.1±3.1 kDa) を使用した方が SDS-PAGE (200±10 kDa) よりも優れた理論値 (148.8 kDa) との一致が得られました。半分子については、理論分子量 (74.5 kDa) と SDS-PAGE (88.5±4.4 kDa) の結果との比較により 88.3±1.9 kDa という値が得られました。



半分子の検出限界

半分子の検出限界 (LOD) は平均ノイズと比較して少なくとも 3 倍の信号強度を与える最小濃度と定義されます。

サンプルの全濃度を 50 µg/mL とすると、半分子ピークをバックグラウンドから明瞭に、かつ安定して識別することができました。この濃度には約 4.4 µg/mL の半分子が含まれていません (50 µg/mL の 8.8%)。2000 µg/mL の IgG₄ サンプル中に 4.4 µg/mL の半分子が存在するとすれば、LOD は 0.2% ということになります。

リニアダイナミックレンジ

蛍光信号強度 (相対濃度を知らせます) とサンプルの実際の濃度との間に線形関係が存在するサンプル濃度範囲を確認することは重要です。実際のサンプル濃度の測定には A₂₈₀ に基づく標準手順を用いました。この結果、自然 IgG₄ と半分子についてそれぞれ 2000 と 4000 µg/mL までの濃度範囲でリニア応答が得られました。

自然分子については、2000 µg/mL を超える領域で飽和する傾向を示します。

半分子の定量限界

定量限界 (LOD) は、リニア応答範囲内で ±20% 以内の精度で定量が可能な最小サンプル濃度と定義されます。

250~2000 µg/mL の濃度範囲のサンプルを評価した結果、半分子の相対的平均存在量として 8.8±1.0% という値が得られました。濃度 2000 µg/mL では 8.9±0.9% という値でした。250 µg/mL 未満の領域では、半分子濃度を ±20%以内の精度で定量することはできませんでした。したがって、半分子の LOQ は 250 µg/mL の 8.8%、すなわち 22 µg/mL ということになります。この値を 2000 µg/mL のサンプルに適用すると、LOQ は 1.1% になります。

結論

Agilent 2100 バイオアナライザを利用したチップ法によれば、IgG₄ 試料中の半分子含量を古典的な非還元 SDS-PAGE 法に相当する精度と確度で決定することができます。

しかも、この方法は自動化によりサンプルの取扱いが容易であり、結果が迅速に得られ、さらに電子データは滑らかに引き継がれて最終的にクロマトグラムのような形式で表示されます。

ポスター提供: E. Vasilyeva, H. Fajardo, P. Bove, F. Brown, M. Kretschmer (BIOGEN Inc.)

実際にポスターを見るには..

弊社 Web サイト

(www.agilent.com/chem/pharma4) からポスターのコピーをダウンロードしてください。

スピードが大事なら

Agilent 2100 バイオアナライザと Protein 50 LabChip
キットを用いた5～ 50 kDa のタンパク質迅速分析



はじめに

近年、組換えタンパク質の利用が急増しています。HIS や FLAG、または GST などのタンパク親和性タグと組み合わせることによって組換えタンパク質を発現させる技術は、親和性タグが異なるタンパク質に対して特定の相互作用を持つことを利用して同じタンパク質精製技術を使用することを可能にしました。この事実はさらに、加速が進む製薬分野での研究に呼応して高いスループットでタンパク質の発現と精製を可能にしています。通常これらのタンパク質は、スクリーニング実験を高いスループットで実施して構造/機能解析やタンパク質/タンパク-タンパク間/薬物結合の研究を行うためのタンパク質配列の開発/製造に必要とされます。タンパク質の組換え技術は研究や診断ツールとして使用されるタンパク質の生産やタンパク質治療にもますます広く使用されています。

このような発展に伴い、従来法である変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) やキャピラリゲル電気泳動 (CGE) では実現できない、より標準化され自動化されたタンパク質の迅速分析へのニーズが高まっています。

Agilent 2100 バイオアナライザ

ラボオンチップ、すなわちマイクロ流体素子技術の発展によって全く別な方法が可能となり、学界や産業界で活発な研究が行われています。マイクロ流体素子はミクロンレベルで組み込まれた全く可動部を持たないチャンネルを動的にコントロールすることを可能にしました。その目的はマニュアル実験では数ステップを要する操作を途切れない一つのプロセスに統合することです。最初の市販マイクロ流体素子システムである Agilent 2100 バイオアナライザは Caliper Technologies との協力により開発されました。このシステムは複数の実験手続き (サンプルの取扱い、分離、染色、脱色、検出、さら

にデータ解析) を統合してタンパク質の自動・迅速分離を可能にしました。個々のアプリケーションの要求に合わせてカスタマイズした多数の最適化アッセイが提供されています。

このような解析に 2100 バイオアナライザを使用すれば、僅か 45 分以内に重要な結果が得られます...

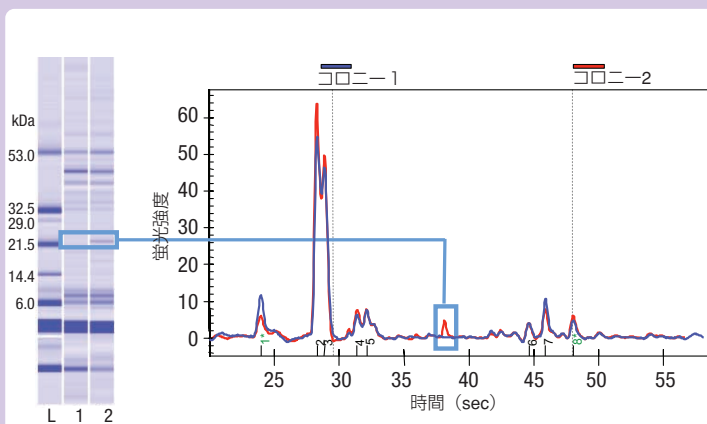


図1 組換えタンパク質を発現させるためのクローン選択

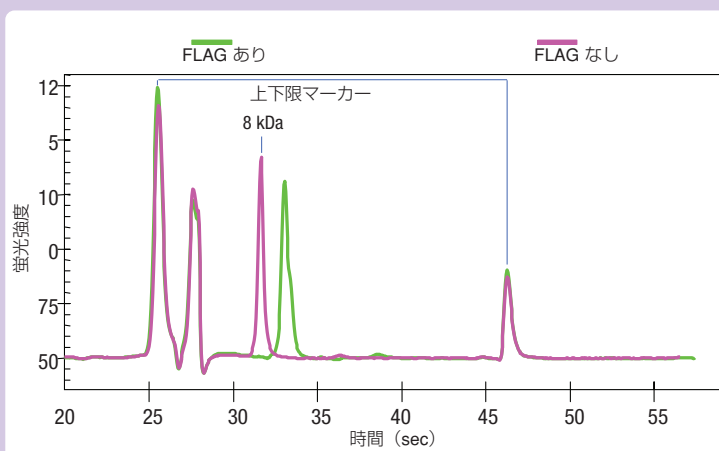


図2 親和性タグ除去の分析

Protein 50 アッセイ

2100 バイオアナライザ用の新しいアッセイである Protein 50 は実績のある Protein 200 Plus アッセイを補完し、特に小型の組換えタンパク質を対象とした製品です。Protein 200 Plus LabChip アッセイがサイズとして 14 to 200 kDa のタンパク質を分析するのに対して、Protein 50 アッセイは 5 to 50 kDa をターゲットとしています。SDS-PAGE や CGE 分析と比較すると、Protein 200 Plus と the Protein 50 の両者は共に時間の節約に寄与し、信頼がおけ、さらに再現性のあるデータをデジタル形式で提供します。

タンパク質発現のためのクローン選択

Protein 50 アッセイは簡単かつ迅速なクローン選択を可能にするツールです。異なるクローンからの細胞培養サンプル (4 μ) を 22 kDa タンパク質発現用に分析しました。この分析 (図 1) から、コロニー2 からはタンパク質が発現するのに対して、コロニー1 からの発現は見られないことが分りました。



親和性タグ除去の分析

Protein 50 アッセイは、アフィニティクロマトグラフによる精製後、さらに構造解析や機能研究、あるいはタンパク質/タンパク質結合解析などの実験を継続する前に完全に親和性タグをさせます。図 2 は、親和性タグが存在しない大腸菌内で発現した 8 kDa 組換えタンパク質の分析例を示します。タグの除去はサイズがシフトすることによって検出されます。

Protein 50 アッセイは Agilent 2100 バイオアナライザのポートフォリオへの重要な追加であり、タンパク質研究を簡単かつ迅速に、さらに自動化するのに寄与します。

試してください！

新しい Protein 50 LabChip は、広くご利用頂いている Protein 200 Plus キットをサイズ 5~50 kDa の範囲までひろげて補完するためのキットです。

特別導入価格として Protein 50 LabChip キット 1つを価格 **50%** オフで提供しています。

この特別価格は 2003 年 3 月 31 日まで有効です。

さらに！

さらに詳しい情報を載せたアプリケーションノート "Fast analysis of proteins between 5-50 kDa using the Agilent 2100 bioanalyzer and Protein 50 assay" (5988-8322EN) が用意されています。

弊社 Web サイト

(www.agilent.com/chem/pharma4) からダウンロードしてください。

アポトーシス研究へのソリューション

アポトーシス細胞サンプル分析を相互に補完する 3 種類のアッセイを備えた Agilent 2100 バイオアナライザ

製薬産業に現在適用されているゲノムの原理に則して考えると、薬効作用の個々のターゲットに関する一般的な生物学的知識の不足がますます明らかとなってきています。10 年前であれば、1つのターゲットに関して数百もの文献を見つけることができましたが、今日ではこの数が平均 8 にまで落ちてきています。同じように、薬物ターゲットの挙動を細胞レベルの文脈で知ることが「良いターゲット」を選別して臨床試験に入れるようにするために非常に重要です。ターゲット内でどのような信号経路が関与しているのか、補助因子は何か、ターゲットの活動はそれによってどのような影響をうけるのか？ な

どの質問への解答が必要なのです。薬物ターゲットの生物学に関する良い見通しを得ることは薬物開発の次のステップへ進むために欠かせない要素ですから、ターゲットの発現と機能性を細胞レベルで研究することの重要性はますます大きくなってきています。細胞解析と、疾病モデルあるいは HTS スクリーニングアッセイ開発のための培養細胞の利用の有効性は製薬分野の価値連鎖全体の中で広く認められています。

フロー細胞検出機能を持つ Agilent 2100 バイオアナライザは製薬産業における細胞解析を強力にサポートする新しいツールです。この装置の主



たる特徴は、操作が簡単で細胞や試薬の消費量が小さいこと、および自動化されたことによる分析の迅速さです。もう一つの特徴は、DNA や RNA、タンパク質のような分子の分析にも対応できるマルチプラットフォーム装置であることです。

細胞解析のためのラボオンチップ

ターゲットに応じたアプリケーション細胞を培養し、フロー血球計算法や蛍光顕微鏡などと同じ方法で蛍光染料による染色を行います。チップ上でうまく流れるようにするため、染色前の細胞を特別な緩衝液に再び懸濁します。1つの細胞サンプルに必要な細胞数は僅か 20,000 であり、LabChip を使用すれば 30 分間で最高 6 つのサンプルを処理することができます。細胞懸濁液と緩衝液はマイクロ流体素子の中を真空吸引によって流れてゆきます。

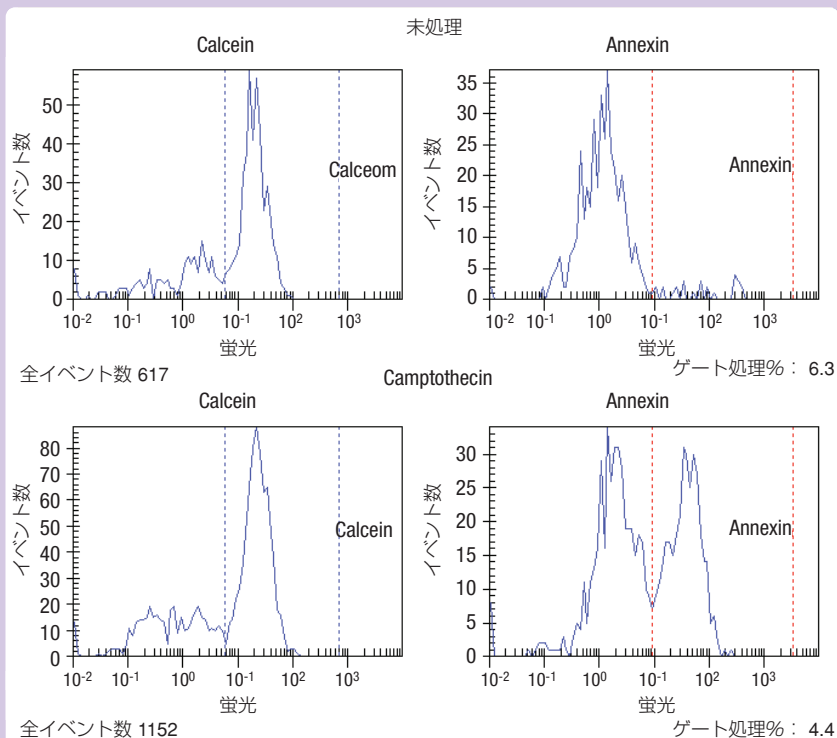


図1. ヒト白血病細胞株を使用したアポトーシス実験の結果。

ミニ CD で体験してください！

2100 バイオアナライザを用いて、細胞蛍光分析を拡張した細胞アッセイを実施する利点を対話的に説明した CD-ROM を用意しています。

弊社 Web サイト

(<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) へオンラインでご請求いただくか、または付属の返信フォームへ記入してください。

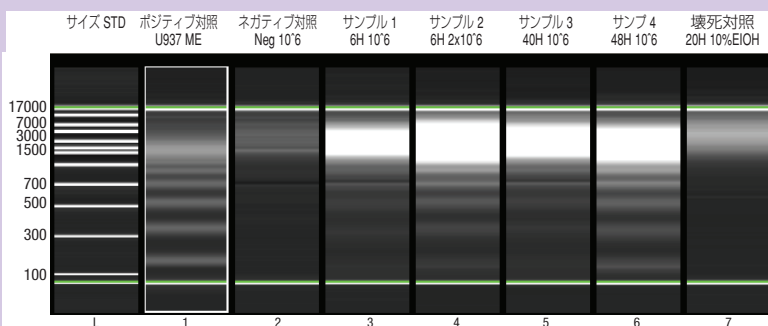


図 2
2100 バイオアナライザを使用して細胞抽出物の DNA 分析をしたときに得られるゲル状イメージ

各サンプルごとの細胞は流体力学的に一点に集められ、細胞は 1 の筋に沿って作られた検出スポットへと強制的に移動させられます。細胞は 1 個単位で 2 系統の検出チャンネルによって蛍光検出されます（チャンネルの一方が青色領域の光で励起し、他方が赤色領域で検出します）。すべてのサンプルは一緒に移動するにつれ、サンプルあたり 500~1000 個の細胞の蛍光強度が 2 種類に波長で分析されます。直感的な認識力を持つソフトウェアが細胞サンプルの部分母集団の中で最初の色に対してある程度の感度を持つものを検出します。この部分母集団が第 2 の波長での測定の基準として使用されます。この結果、第 1 および第 2 の波長で高い蛍光強度を持つ細胞部分集合が選択されます。細胞を 2 種類の蛍光パラメータで解析を行う方式を採用したことにより、2100 バイオアナライザで可能な細胞アッセイアプリケーションは非常に幅が広がります。可能なアプリケーションには例えば、細胞タンパクの発現検出、トランスフェクション効率のモニタリング、細胞培養の表現型分類、あるいは細胞のアポトーシスパラメータ測定などが含まれます。

細胞計数アッセイとアポトーシス

細胞が死滅するようにプログラムされている現象は製薬産業分野でますます重要な研究対象となってきています。アポトーシスは生理学的プロセスであり、健康な組織では絶妙なバランスが成立しています。

アポトーシスを研究する方法は幾つか知られていますが、細胞レベルでこれを実施する手法としては Annexin-V アッセイが一般的です。Annexin-V タンパクはアポトーシス特性を持つ細胞の表面に露出した特定の脂質と結合し、健康な細胞とは結合しません。分析の対象となる細胞サンプルを生きた染料である Calcein で対比染色することにより、アポトーシス細胞の割合を簡便な方法で得ることができます。

図 1 に、健康な細胞サンプルから得られた結果（上、未処理）およびアポトーシス細胞サンプルの結果（下、camptothecin でアポトーシスを誘起）を示します。後者の細胞サンプルはトポイソメラーゼ阻害剤（camptothecin）と 6 時間処理することによりアポトーシスを誘起したものです。ヒストグラムから分るとおり、Annexin-Cy5 ポジティブな細胞の数はアポトーシスサンプルでは全生細胞の 44% であるのに対して、ネガティブな対照サンプルでは非常に低いレベルのアポトーシスしか示しません。これらの実験では、Annexin 染色の新しい高速プロトコルを使用しています。このプロトコルはすべての染色ステップを 30 分で実行できるように組み合わせてあります。これにより、1 サンプルあたり 16 分を節約できるばかりでなく、通常の染色プロトコルと比較してピペット操作の回数も大幅に減少します。

アポトーシスにおける DNA ラダリング (Laddering)

細胞サンプルにおけるアポトーシスを確認するため、研究者は通常複数の補完的なアッセイを組み合わせる必要があります。

DNA ラダリング (Laddering) はクロモゾーム DNA がアポトーシスプロセスの後期にサイズが 180~200 程度のヌクレオゾーム区間にフラグメント化するときに出現し、間違いなくアポトーシスと結び付けられる現象です。

多目的に対応する分析計である Agilent 2100 バイオアナライザは DNA ラダリング分析にも使用できます。

DNA 12000 LabChip キットを使用して得られた結果を図 2 に示します。細胞サンプルから DNA を抽出し、各 1 μ l を DNA チップで分析しました。

アポトーシスを示すサンプルとネガティブな対照や壊死細胞サンプルとは、ヌクレオゾーム DNA フラグメントの出現により明確に区別することができます。図 1 に示した細胞サンプルからの DNA 抽出物を分析した結果 (Sample 2) も図に示されています。

要約

拡張機能としてフロー細胞数解析機能を備えた Agilent 2100 バイオアナライザは製薬市場における細胞分析のための新しい、重要なツールです。ここで示した例を含む非常に広い範囲のアプリケーションにおいて、この装置は 1 つのプラットフォームだけでアポトーシス研究者に Annexin-V と caspase-3 アッセイを利用するアポトーシス DNA ラダリングを提供してくれます。

ラボとラボの境界を取り払います

Agilent の Synapsia Informatics Workbench.

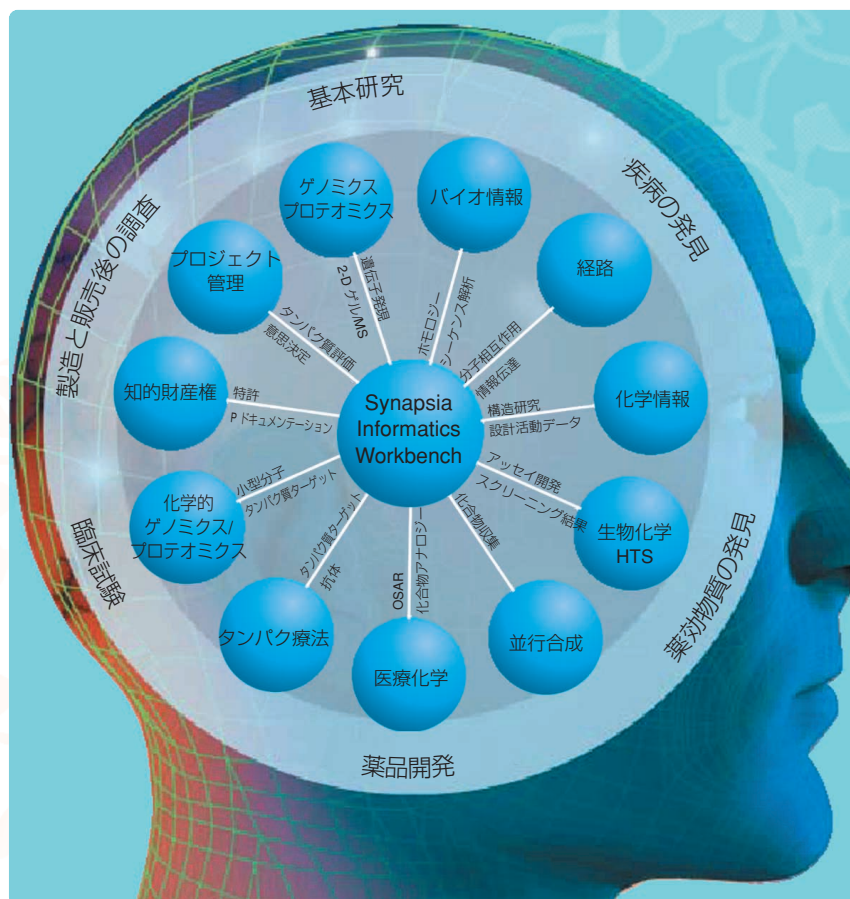
今日のラボは、薬効物質探索のプロセスで遭遇する様々な情報にアクセスし、管理し、解釈し、さらに発見された項目を共有して効率的に応用するという困難な課題に直面しています。この困難な課題に対応するため、Agilent Technologies はネットワーク化された環境でのナレッジ先導型探索実現のためのソフトウェアフレームワークとして Synapsia Informatics Workbench を作成しました。

Synapsia はラボの研究者全体にわたる集合的な理解を合成し、内外の情報源から得られる実験と解析両面での情報を活かして研究への洞察力を醸成します。研究チーム内外の基礎となるデータと知識を統合する能力は発見プロセスに関与する人達を力づけ、適切なタイミングで正しい情報を提供することにより、しっかりした知識に裏付けられたより優れた判断を可能にします。

ビジュアル化ツール理解するにはまず見る事が重要です

Synapsia が提供する先進のビジュアル化ツールは作成や変更が簡単であり、巨大なデータセットを構成する個々の項目間の関係やパターン、トレンド、関連の理解を容易にして科学者が 1 つのユーザーインターフェイスだけを利用して異質なデータを視角化して管理することを可能にします。

Synapsia の表示機能は静的ビジュアル化に止まらず、ユーザーに次のような多面的な視野を与えてくれます：
Bioanalyzer Data、Heat Map、Bar Chart、Image Annotating、Sequence などの各種ビューア、さらにユーザーが独自に設定可能なビューア。



ナレッジベースを中央に集約することにより、研究によって得られた知見を包括的、総合的に概観することが可能になります。

これらのビューアは次の機能を提供します：

- ビジュアル表示を活用したデータの検討・解析**
 散布図、線チャート、熱マップなどのビューアが対象となるデータに多面的な視野を与えてくれます。
- 動的にリンクされたビューワ**
 選択したパラメータと閾値で相互にリンクされた何種類かのチャートタイプを同時に起動することができ、同じデータをリアルタイムで多面的に表示することができます。
- 対話的なデータ操作**
 データに対するズーム、回転、フィルタリング、視野の変更等の操作を完全に対話的に実行することができます。
- グラフィカルに操作できる閾値設定、フィルタリングツール**
 スライダーなどの視覚的なツールでフィルター操作をコントロールしてパラメータ範囲を設定することにより、その場でデータのサブセットを作り出すことができます。

・ワークフローの自動化

データセットの視覚化や操作、フィルタリングはスクリプトで記述されますから何回でも実行できます。

・プロジェクト評価

プロジェクトの重要な節目ごとにデータを編成することができます。希望するテンプレートに関するプロジェクトチームの合意に基づいてコレクションコンテナやストーリーノードを作成することができます。

Synapsia のカスタマイズを可能にするオプションモジュール

オプションモジュールを利用すれば、特定のアプリケーション環境に合わせて Synapsia の機能を拡張することができます。Synapsia ユーザーが Workbench からオプションモジュールヘデータを伝送して更に解析を進め、モジュール内で得られた解析結果を選択して Synapsia のデータセットを生成します。

・Chemfocus モジュール

化合物に関連したプロジェクトモデルを構築し、その過程で化合物データを更に解析したい Workbench ユーザー向けモジュールです。このモジュールは化合物データを視覚化解析/フィルタリングし、Synapsia インターフェイスを利用して化合物を中心とするモデルを作成します。

・統計モジュール

Synapsia Workbench が提供する高度で強力なアルゴリズムを装備したモジュールであり、階層と K-平均クラスタリング、キー基準クラスタリング、意思決定ツリー解析を行い、結果をテーブル形式に要約します。大量のデータに各種のアルゴリズムを適用して簡単にデータセットを生成することができます。これらのデータセットは Synapsia Workbench のコレクションコンテナに追加が可能です。

パートナーの選択は慎重を要します

Synapsia Informatics Workbench を IBM が提供する DiscoveryLink 技術と組み合わせることにより、研究者は各種タイプの多様な情報源にアクセスして生物学や化学データの様々な問い合わせを行うことができます。対象となるファイルのタイプと形式にはテキスト、画像、数値データ、リレーショナルデータベースなどが含まれます。

DiscoveryLink を利用することにより、研究者はリレーショナルデータベース (Oracle、Sybase システム) を始め公共バイオ情報科学、ゲノムデータベースなどの広範な情報源を検索することができます。

また、Synapsia Informatics Workbench には分子構造を 3 次元で視覚化して表示する Accelrys の Viewer ActiveX Control が組み込まれています。

Viewer ActiveX Control は Synapsia に統合されていますから、科学者はこれを利用して分子情報を明快に、一貫性のある方法で視覚化して製薬価値連鎖の中で共有することができます。

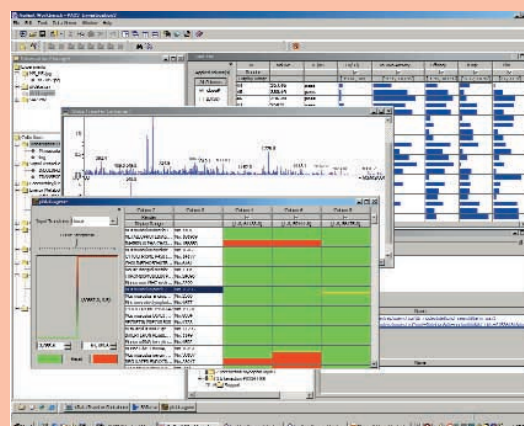


図 1
質の異なるデータを Workbench ヘインポートして視覚化する何種類ものツールが用意されています。図に示すのは、解析済みマイクロアレイデータを Heat Map ビューアを使用してインポートし、保存した例です。インポートされた SAR (Structure Activity Relationship) データが Bar Graph ビューアで視覚化されています。スペクトリ画像をインポートしてイメージビューワで表示し、注釈を追加しています。

Spotfire の主力製品である解析アプリケーション環境 DecisionSite も Synapsia Informatics Workbench に完全に統合されています。Workbench の統合環境を使用すれば、様々なソースへアクセスしてそれらのデータを融合し、直感的な操作を特徴とする Spotfire Experience 視覚化環境を利用して動的かつ対話的にデータを操作することができます。DecisionSite は、その強力な視覚化機能を利用して Workbench データをさらに発展的に解析する機能を提供します。この機能は Workbench の Information Manager 内に自動的に新しいコレクションを作成してくれます。こうして、DecisionSite が解析したデータも Workbench データベースに格納されて共有されます。

DecisionSite のデータをもとに新規作成されたコレクションについても、ユーザーが自由形式のテキストや URL リンク、あるいは添付ファイル (タイムスタンプ、ユーザー情報付) を含む注釈を付けることができます。

情報のギャップを埋めましょう！

更に詳しくは、Synapsia を解説した冊子 (5988-7532EN) をオンライン (<http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>) でご請求いただくか、または添付の返信フォームにご記入ください。

Agilent の e-セミナー Agilent 社地域代理店：

Agilent が提供する e-セミナーは研究者が自分の机に座って参加できる全く新しい形式のオンラインセミナーであり、知識を増やしてラボの技術向上に役立つ特定の主題を60～90分にまとめてお届けします。Agilent e-セミナーは科学者が最新の技術的発展や分析メソッド、トラブルシューティングやシステムの最適化技術を身に付けるのに役立ち、しかも時間を無駄にしません。

使いやすいインターネット会議システムを使用するこのセミナーでは、参加した研究者が講演者と対話することも可能です。e-セミナーは非常に適切で役立つ情報を伝えてくれます。

e-セミナーならば事務所は勿論、自宅や出張先からでも参加できます。必要な条件は電話とインターネット接続が同時に可能であること、そして MS Explorer や Netscape Navigator などのインターネットブラウザを使用できることです。

Agilent の Web サイト

(www.agilent.com/chem/pharma4) に入り、是非 e-セミナーのトピックスと時間にブックマークを付けておきましょう。

(注：e-セミナーは、Webと電話を用います。海外への接続の場合、国際電話料金がかかります。)

国名	代表者	電話	Fax
Australia	Sue Broughton	1800 802 402	(612) 9805 6301
Brunei	(673) 224 3888	(673) 244 3388	
China	Liu Yan Ping	(8610) 6564 7513	(8610) 6566 9223
Hong Kong	May Li	(852) 3197 7341	(852) 2506 9275
India	Ambika Kapur	(9111) 682 6067	(9111) 682 6068
Indonesia (PT Berca)	Agnes Angde	(6221) 351 8826	(6221) 351 8832
Japan	Nishiyama, Sachiko	(81426) 60 9910	(81426) 60 8676
Korea (Agilent)	Eun-Ju Kim	(8231) 230 2653	(8231) 230 2633
Malaysia	Annisaz Azizool	(603) 7712 6231	(603) 7727 1239
New Zealand	Peter Hermans	(649) 479 1068	(649) 479 1450
Pakistan	Waqar Bokhari	(9251) 227 3557	(9251) 227 2743
Philippines (Edward Keller)	Josefino B Garcia	(632) 864 1600	(632) 864 1698
Singapore	Ang Bi Lay	(65) 6215 4460	(65) 6822 8217
Sri Lanka (Techno)	Sujeewa	(941) 854 848	(941) 854 846
Taiwan	Yu Ling	(8862) 2734 5686	(8862) 8773 9003
Thailand	Kimkarn Sangwanich	662) 637 6355	(662) 632 4334
Vietnam (Tramat)	Phung Ngoc Phuc	(844) 828 1631	(844) 825 1746



一歩ずつ着実に

何時か、タンパク質マーカが
パーキンソン氏病をつきとめる日がきます

Agilent の生命科学

ゲノミクス

プロテオミクス

薬効物質の発見

開発

QA/QC

www.agilent.com/chem/pharma4

パーキンソン氏病と診断されてから、人生の最も簡単な活動さえ難しくなってきました。しかし、Agilent Technologies の助けを得て、科学者達はそれを変えられると信じています。タンパク質マーカーの同定を通して、科学者達は従来よりも早くパーキンソン氏病を診断して治療に取り組めるようになりました。Agilent が提供するソリューションにより、低濃度でしかも極端に量の少ないサンプルからでもタンパク質を検出することが可能になりました。これらの革命的な発見に支えられて、パーキンソン氏病やガン、その他の慢性病の治療法が開発され、さらに治療も可能になることでしょう。

科学者達はさらに感度の高いツールを求めています。Agilent Technologies は科学の進展に役立つソリューションをこれからも提供し続けます。



Agilent Technologies

dreams made real

ここにすべての情報が集まります

Agilent in Pharmaceutical Analysis の本号に関連した情報を弊社 Web サイト (www.agilent.com/chem/pharma4) でご覧ください。

(お近くの代理店または、Webサイトの <http://www.chem.agilent.com/cag/country/JP/support/support.htm>にてお問合せください)

資料を
その場で
ダウンロード

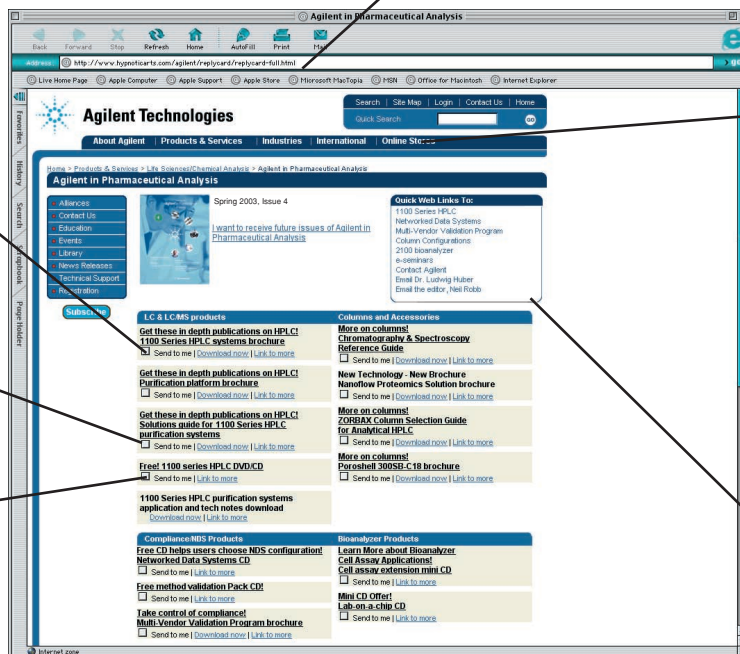
他の情報源に
簡単にジャンプ

CD,DVD、
冊子類を
仕事場へ
配送

アクセスが簡単な
オンライン発注

Agilent の化学/生命科学オンラインストアはカラムや用品、修理部品、装置、アクセサリ、ソフトウェアなどの幅広い品目をお届けします。製品情報を辿り、在庫の有無と価格を確認されてから見積もりを作成してください。クレジットカードで即時購入頂くか、または発注書を送信して下さい。現在の処理状況も確認できます。
(注：2003年5月現在、日本国内でのオンライン発注は実施しておりません)

編集者への
質問



Agilent Technologies Singapore
Life Sciences and Chemical Analysis
Asia Pacific Field Support Centre
1 Yishun Avenue 7
Singapore 768923

www.agilent.co.jp/chem/yan

お問い合わせは下記へお願いします：

• Australia 1800 802 402 • Brunei 673-224 3888 • China 86-10 6564 7513 • Hong Kong 852-3197 7341 • India 91-11 682 6067 • Indonesia (PT Berca) 62-21 351 8826 • Japan 81-426 60 9910
• Korea (Agilent) 8231-230 2653 • Malaysia 603-7712 6231 • New Zealand 649-479 1068 • Pakistan 9251-227 3557 • Philippines (Edward Keller) 632-864 1600 • Singapore 65-6215 4460
• Sri Lanka (Techno) 941-854 848 • Taiwan 8862-2734 5686 • Thailand 662-637 6355 • Vietnam (Tramat) 844-828 1631

本冊子に記載の情報、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。

© Agilent Technologies, Inc. 2003
All Rights Reserved

Printed in Japan February 15, 2003
5988-8553JAJP

横河アナリティカルシステムズ株式会社 本社/〒192-0033 東京都八王子市高倉町9-1

●カスタムコンタクトセンター ☎ 0120-477-111

- 1) システム、製品および部品に関するご相談窓口
- 2) 製品の操作、アプリケーションの問合せおよび故障時の連絡窓口