

超微量分子量分布測定装置

Refeyn シリーズ

数分間の操作でタンパク質の分子量分布が計測できます

超低濃度での検出能力

- ▶ SEC のマイナーフラクション(数 mAU 程度)の濃度でも検出できる高感度
- ▶ 微量のコンストラクション評価に最適
- ▶ 分子形状に依存しない解析結果

超シンプルなオペレーション

- ▶ 完全溶液系のバッチ式
- ▶ 完全非接触
- ▶ サンプル投入から結果算出まで 2 分間

豊富なアプリケーション

- ▶ タンパク質など高分子の複合体形成評価
- ▶ アデノ随伴ウイルス(AAV)の Full/Empty 比率
- ▶ プラスミド DNA、Aptomer など核酸化合物の分布
- ▶ 相互作用解析(抗原-抗体反応など) など多数



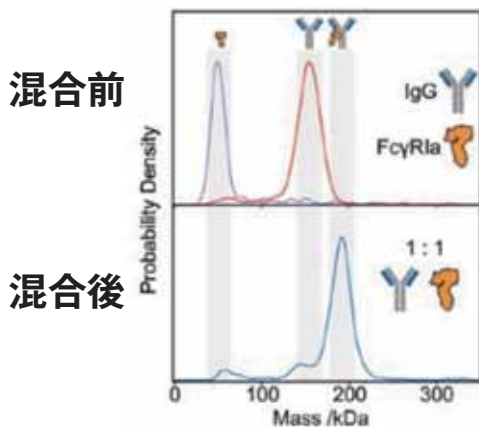
マイクロピペットでガラスプレートに置くだけ



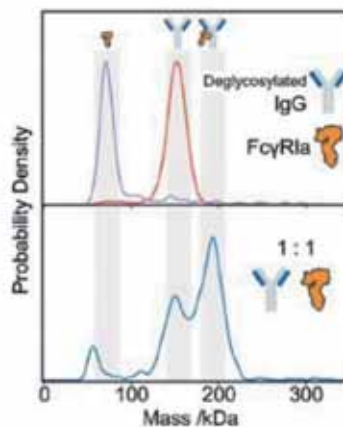
アプリケーション例：相互作用解析

A：通常抗体

B：糖鎖切断後



$K_D = 26 \text{ pM}$



$K_D = 1.1 \text{ nM}$

$$A + B \leftrightarrow AB$$

$$K_d = \frac{[A]_{\text{unbound}} \cdot [B]_{\text{unbound}}}{[AB]}$$

$$[A]_{\text{total}} = [A]_{\text{unbound}} + [A]_{\text{bound}}$$

$$f_{\text{conversion}} = \frac{[A]_{\text{total}}}{\text{counts } A_{\text{unbound}} + \text{counts } A_{\text{bound}}}$$

$$[AB] = [A]_{\text{bound}} = \text{counts } (A_{\text{bound}}) \cdot f_{\text{conversion}}$$

$$[A]_{\text{unbound}} = \text{counts } (A_{\text{unbound}}) \cdot f_{\text{conversion}}$$

$$[B]_{\text{unbound}} = [B]_{\text{total}} - [A]_{\text{bound}}$$

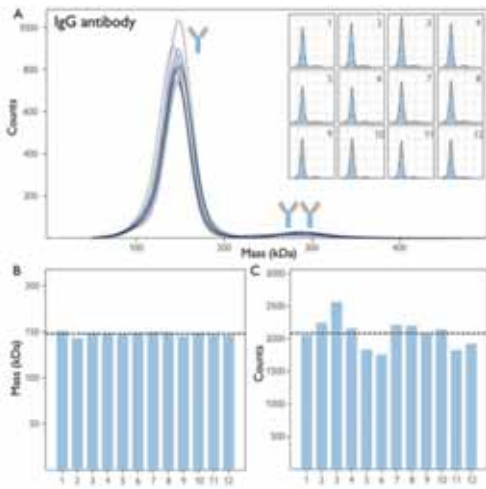
複合体および単離体の個数比(モル比)が定量的に算出できるため、
解離定数(K_D)の算出が可能

その他 MP 法を用いたアプリケーション

測定再現性試験

同一サンプル (IgG) の Reproducibility (N=12)

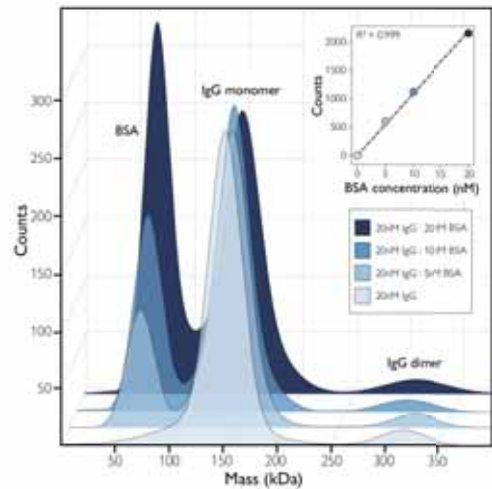
A: 12 回の測定結果重ね合わせおよび個別グラフ (右上)、
B: モノマーフラクションの平均分子量比較、C: 12 回の検出分子数比較



定量性確認試験

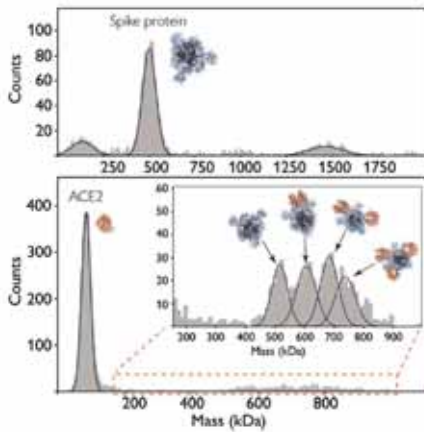
20 nM IgG 存在下における、BSA のタイトレーション結果

- 0, 5, 10, 20 nM になるように滴定し、検出分子数を評価
- IgG の検出数および分布はほとんど変化せず、BSA フラクシオンの検出個数が濃度依存的に変化していることが示唆



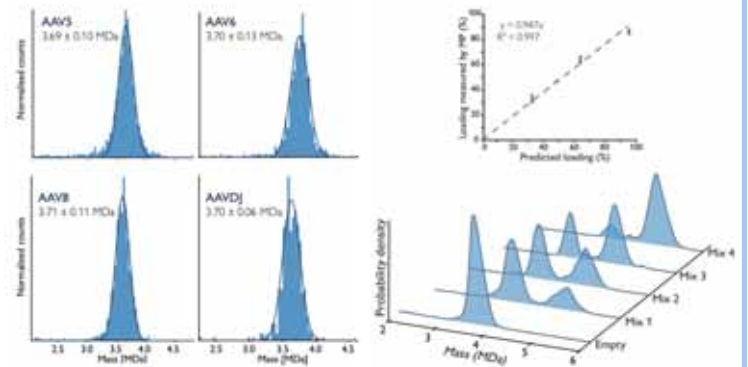
微量試料の複合体解析

新型コロナウイルス (SARS-CoV2) 表面にあるスパイク蛋白質の
分子量分布 (上) と、ACE2 との相互作用による複合体分布 (下)



AAV の Full/Empty のタイトレーション

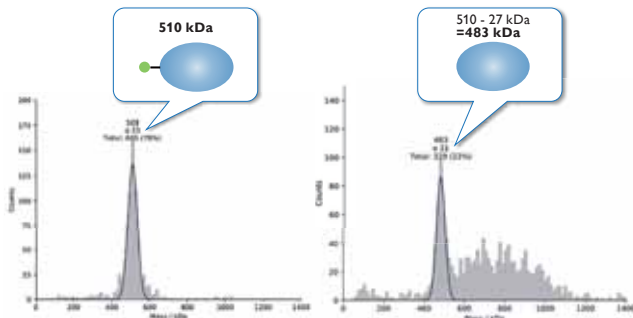
様々なタイプの AAV の 計測と、Full/Empty の混合比率測定による直線性



CryoEM スタンドの純度評価

MP 法による cryoEM スタンド試料 (510 kDa) の
分子量分布 (左)、および 27 kDa tag 配列切断後の
分子量分布 (右)

切断後は会合体が多く検出されており、ちょうど切断した大きさだけ小さく
なったピークが観察されている



SEC フラクシオンの分子量分布測定

Lipoxygenase (94 kDa) の SEC によるフラクション解析

メインフラクション (青) は単量体がメインであるのに対し、ピーク前半の肩 (緑) は 2 量体を
多く含み、ピーク後半の肩 (オレンジ) はフラグメントを多く含んでいることがわかる

