



Handbook of HiPep Columns for Proteins & Peptides

ペプチド・タンパク質のための分析・分取用カラム

カタログと技術解説



高効率分析・精製用逆相カラム HiPep-Cadenza C18

弊社創業者はペプチド・タンパク質ならびにその誘導体の研究を1973年以来続けて参りました。その間、HPLCがバイオ研究分野に登場し、他に先駆けてこれを駆使し、分離・分析・精製に多大の労力をかけて参りました。特に弊社では分子量500から1万を中心とした合成ペプチド誘導体および臓器由来ペプチドの単離精製に力を入れており、主にC18逆相シリカのカラムを各種使用しております。2002年にハイペップ研究所を設立後、逆相カラムの充填剤を各種検討した結果、ペプチドの分離・分析・精製に適した充填剤を見いだしました。

弊社のカラムはいずれも他社製品と比較して、理論段数、分解能、残存シラノール、耐酸性、低非特異吸着という点で優れた性能を有しています。カラム設計では、特にペプチド関連物質の高効率分離に重点を置きました。

我々が目標としているカラムの性能は以下の通りです。

- ★分離能・再現性・耐久性が高い
- ★セミプレパラティブへの容易な移行が可能
- ★精製における優れた回収率

通常の生物、生理、薬理研究における実験には、セミプレパラティブスケールの精製量で十分です。ちなみに20 id X 150 mmのカラムでは、一回のインジェクション量は粗ペプチド10 mg程度です。精製回収量は粗ペプチドの純度にもよりますが、固相合成粗ペプチドでは30～50%が期待できます。これらの観点から試行を繰り返し、新規充填剤を決定致しました。ペプチドならびにその誘導体の分離・分析・精製のために、以下のカラムを販売致します。

また、近年タンパク質製剤の品質管理の重要性が増してきたため、製剤タンパク質を酵素分解してLCMSによりオーセンティックサンプルと比較したり、場合によってはMS/MS等により断片ペプチドの配列解析が行われております。お客様のご要望により、品質管理LCMS用のカラムも販売致しております。



数多くの試作充填剤を特別に合成したペプチド類を用いてテスト分離を実施

HiPep-Cadenza C18逆相カラム一覧

P/N	目的・用途	内径 X 長さ (mm)	通常の流速
HC18-375	ハイスループット分析用	3.0 id X 75	0.3 mL/min
HC18-4675	高速分析用	4.6 id X 75	0.5 mL/min
HC18-2150	品質管理LCMS用	2.0 id X 150	0.15～0.2 mL/min
HC18-3150	分析用溶媒節約型	3.0 id X 150	0.5 mL/min
HC18-46150	標準分析用	4.6 id X 150	1.0 mL/min
HC18-20150	セミプレパラティブ用	20 id X 150	10～20 mL/min
HC18-10250	臓器抽出物分離用	10 id X 250	2～3 mL/min
HC18-20250	プレパラティブ用	20 id X 250	10～20 mL/min
HC18-28250	プレパラティブ用	28 id X 250	20～40 mL/min

表以外のサイズは
お問い合わせください

HiPep-Cadenza C18逆相カラム取扱上の留意点

- ① カラムへの過度の衝撃はカラム性能を低下させる恐れがございますのでご注意ください。
- ② カラムラベルにはFLOWのマークがございます。溶離液の流れの方向に合わせて接続して下さい。配管接続時にスパナを使用する場合は、エンドフィッティング先端部の六角部分にスパナをかけて下さい。決してカラムパイプ部分の切れ込みにスパナをかけないで下さい。カラムが破損する恐れがございます。
- ③ 溶離液および試料のろ過： 試料溶液はあらかじめ遠心分離で不溶物を除去し、0.45 μmや0.2 μmなどのメンブランフィルターでろ過してから使用して下さい。浮遊物や析出物がある場合は、カラムの目詰まりによる圧力上昇の原因となります。
- ④ 常用最大圧力は約20 MPaです。溶媒の粘度を考慮して最大圧力を超えないように流量を設定して下さい。
- ⑤ カラムの温度範囲は15～65 ℃が適当です。ピーク形状や保持・分離特性などを考慮してカラム温度を設定して下さい。
- ⑥ 一般的なシリカカラムの使用pH範囲はpH 2～7です。分析の目的に応じてpHを設定して下さい。

アルカリ側で長期間使用する場合、有機溶媒濃度やpH調整剤の組成、温度、あるいは溶質の構造などの分析条件によってカラム寿命が変動する場合がございます。また、使用後に長期間カラムを保存する場合は、必ずカラム保存溶媒に置換して保管して下さい。長期間アルカリ性や酸性状態におくことはカラム寿命を低下させる原因となります。

- ⑦ カラムの洗浄は通常有機溶媒濃度を上げてカラム内の吸着成分を溶出させます。

分析終了後のカラムは、約60%アセトニトリル水溶液、または約70%メタノール水溶液に置換して密栓し、室温で保管して下さい。



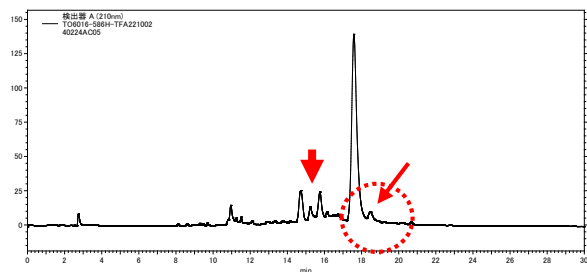
HiPep-Cadenza C18逆相カラムの分析性能の比較

HiPep-Cadenza C18逆相カラムの分析性能を示すため、他社製のC18逆相カラムと比較しました。

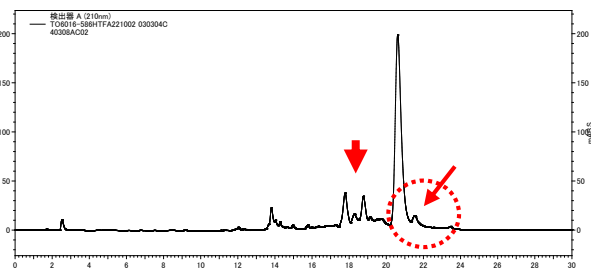
下記にHiPep-Cadenza C18逆相カラムの標準分析用（4.6 id X 150 mm）、分析用溶媒節約型（3.0 id X 150 mm）、他社製のC18逆相カラム（4.6 id X 150 mm）の同一サンプルの分析結果を示しました。

試料サンプル： 固相合成ペプチド（Arg 4個、Lys 9 個入り直鎖ペプチド、分子量 約3200）

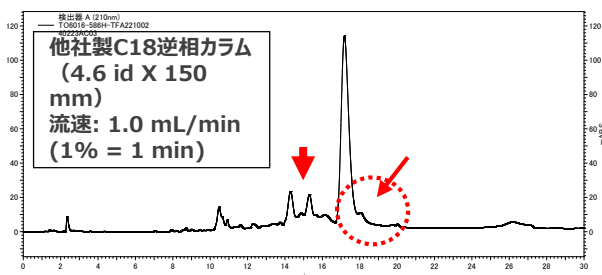
分析条件： 溶媒：A=0.01N HCl、B=0.01N HCl in 90% Acetonitrile グラジエント：A/B=95/15-65/35 in 30min、検出：UV 210 nm



HiPep-Cadenza C18 標準分析用カラム (4.6 id X 150 mm)
流速: 1.0 mL/min (1% = 1 min)



HiPep-Cadenza C18 溶媒節約型カラム (3.0 id X 150 mm)
流速: 0.5 mL/min (1% = 1 min)



**他社製C18逆相カラム
(4.6 id X 150 mm)**
流速: 1.0 mL/min
(1% = 1 min)

分析結果から、HiPep-Cadenza C18逆相カラムでは標準分析用、分析用溶媒節約型共に矢印に示されているピークがはっきりと出ており、明確に分離されています。しかし、他社製のC18逆相カラムではピークがブロードになっており、ほとんど分離できておりません。このことからHiPep-Cadenza C18逆相カラムは分離能に優れていることがわかります。

天然物等の分離・分析・精製を行う場合、目的とする物質がメインピークとして溶出されることはほとんどありません。よって、小さなピークでも明確に分離できることが重要になってきます。HiPep-Cadenza C18逆相カラムは小さなピークも明確に分離できるので、天然物等の分離・分析・精製に最適です。

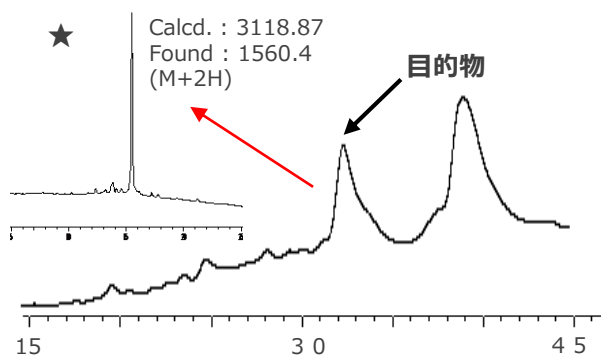
高性能ペプチド・タンパク質分離・分析用カラム HiPep-Intrada

タンパク質変性疾患の生理的・生物学的研究などを行う際に、サンプルであるペプチド・タンパク質の凝集性、難溶性等の性質から、分離・分析・精製が困難である場合があります。これらの問題を解決するため、ペプチド・タンパク質などを高効率に分離・分析・精製を行うHiPep-Intradaカラムを開発致しました。

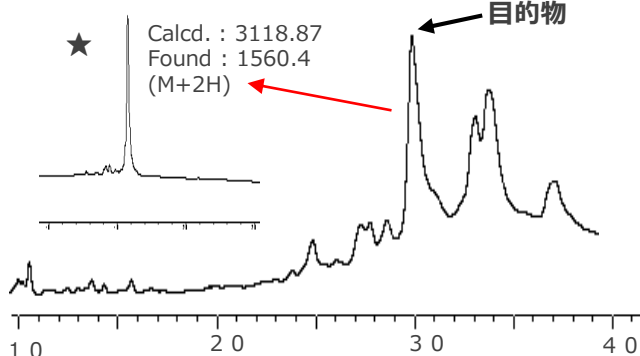
従来のHiPep-Cadenza C18カラムに比べて、**構造をとるペプチド・タンパク質などを高効率に分離・分析・精製することが可能です。**同一サンプルをHiPep-Cadenza C18カラムとHiPep-Intradaカラムを用いて精製し、精製したサンプルの分析結果を下図に示しました。この結果から、HiPep-Cadenza C18カラムではブロードであったピークが、HiPep-Intradaカラムではよりシャープに分離していることがわかります。

HiPep-Intradaカラムと従来のHiPep-Cadenza C18カラムの分離性能の比較

**従来のHiPep-Cadenza C18カラム
(20 id x 150 mm) による精製**



**HiPep-Intradaカラム
(20 id x 250 mm) による精製 (60 °C)**



★ 精製サンプル検定条件: HiPep-Intradaカラム (3.0 id x 150 mm)、流速: 0.3 mL/min、UV: 210nm、

溶媒: A= 0.1% TFA, B= 0.1% TFA in 90% Acetonitrile、Gradient: A/B= 55/45-25/75% in 30 min at 60 °C

*近年タンパク質製剤の品質管理の重要性が増してきたため、製剤タンパク質を酵素分解してLCMSによりオーセンティックサンプルと比較したり、MS/MS等により断片ペプチドの配列解析が行われております。



HiPep-Intradaカラム一覧

P/N	目的・用途	内径 X 長さ (mm)	通常の流速
HiWR-2150	品質管理LCMS用*	2.0 id X 150	0.15~0.2 mL/min
HiWR-3150	分析用溶媒節約型	3.0 id X 150	0.5~0.75 mL/min
HiWR-46150	標準分析用	4.6 id X 150	0.75~1.25 mL/min
HiWR-10150	セミプレパラティブ用	10 id X 150	2~3 mL/min
HiWR-10250	臓器抽出物分離用	10 id X 250	2~3 mL/min
HiWR-20250	プレパラティブ用	20 id X 250	10~20 mL/min
HiWR-28250	プレパラティブ用	28 id X 250	20~40 mL/min

HiPep-Intradaカラムの取扱上の留意点

当該カラムは分離性能を優先して設計したため、HiPep-Cadenza C18カラムや他社製の一般の逆相カラムに比べると寿命が比較的短くなっております。特に、酸・アルカリへの耐性は従来の逆相カラムと比較して高くありません。よって、使用する際は以下の点にご注意下さい。

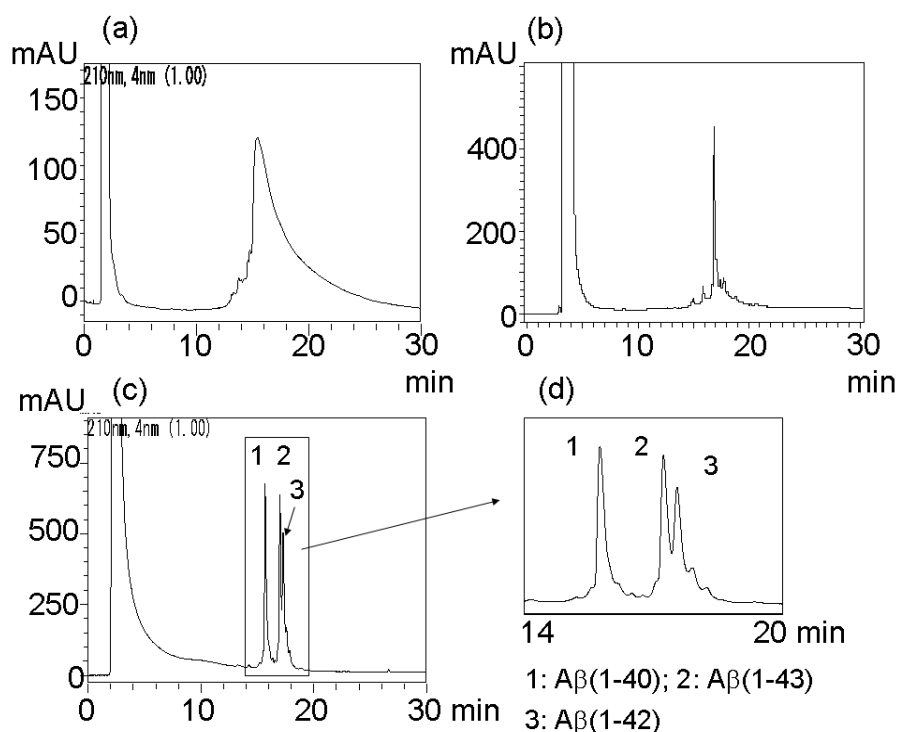
- ① Gradientを100%水や0%有機溶媒で開始しないで下さい。
- ② 溶出の終点あるいは、洗浄過程で100%有機溶媒を使用しないで下さい。
- ③ カラムの保管は30%メタノール水に0.1%の酢酸を添加して下さい。
100%水や70%メタノール水での保管は避けて下さい。
- ④ 当該カラムは同一ペプチドでもその構造が違う場合は識別し、分離する場合がございます。また、サンプル内の異性体や夾雑物同士の相互作用の影響を受け、その溶出パターンが変化する場合もございます。そのため、サンプルを溶解するための溶媒の選択が重要になっております。

HiPep-Intrada を用いた難ペプチド (βAmyloid ペプチドおよびプリオン関連ペプチド) の分析

タンパク質変性疾患の生理的・生物学的研究に用いるため、βAmyloid (Aβ) ペプチドやプリオン由来ペプチドが必要です。それらのサンプルを使用するためには純度を確認する必要がありますが、その凝集性、難溶性等の性質から、分離・分析・精製が難しい化合物として知られています。今回、新規のHiPep-Intradaカラムを用いることにより、従来のC18逆相カラムでは困難だった分離・分析・精製を高効率で行えるようになりました (下記文献)。

Hirata, A., Miyajima, M., and Nokihara, K. Separation of peptides having structures and derivatives of mimosine, a non-proteinogenic amino acid, by a novel reverse-phase HPLC column packed with wide-pore silica, J. Liquid Chromatography & Related Technologies, 36, 2960-2967, 2013.

HiPep-Cadenza C18カラムとHiPep-IntradaカラムによるAβペプチドの分析結果



構造をもつペプチドを一般的なC18カラム (HiPep-Cadenza C18) で分析すると、ピークがブロードになり、解析が非常に困難です。それに対し、HiPep-Intradaカラムはその性能によりシャープなピークとして表れ、純度の確認が可能です。

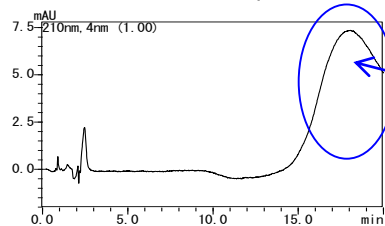
- (a) HiPep-Cadenza C18
(b) HiPep-Intrada
(c) HiPep-Intradaを利用したAβ混合物の分析例
(d) (c)の拡大図 (HPLC検定条件は60℃)



HiPep-Intrada カラム

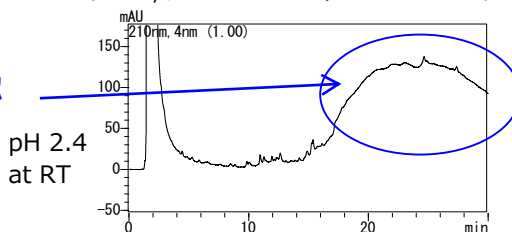
蛋白質や構造ペプチドに適した逆相カラム

コンベンショナルなODSカラム (3.0 id x 150 mm) との比較例：固相合成βアミロイド (1-43；分子量 4615.10) クリーページ後の粗ペプチドの検定



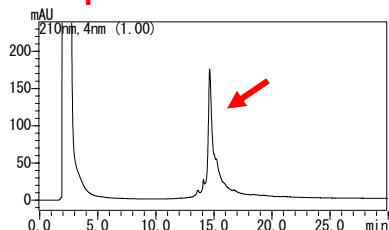
MSにより
目的物を確認

pH 9.0
at RT

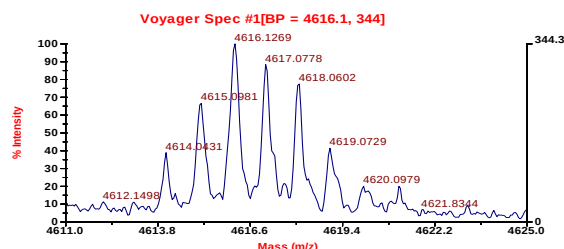


pH 2.4
at RT

HiPep-Intrada 3.0 id x 150 mmを用いた分析



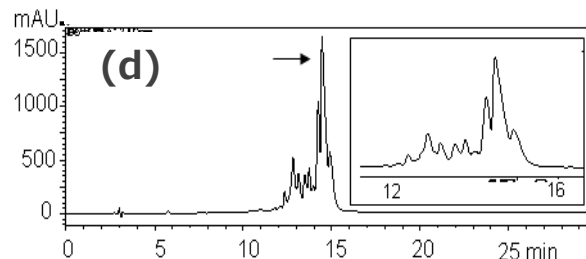
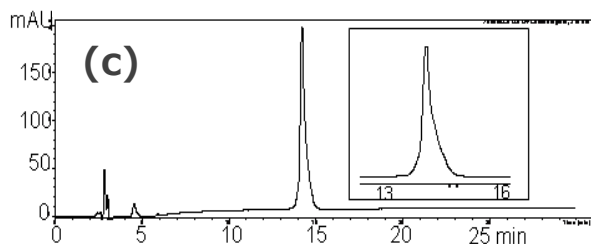
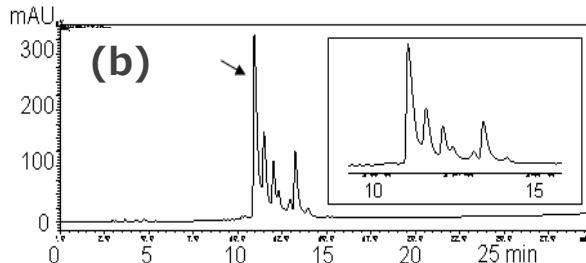
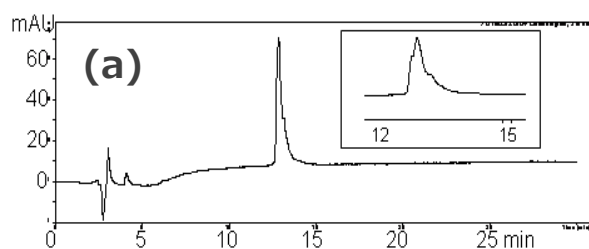
MALDI-TOF
MS Range: 4611-
4625
at 60°C



プリオンタンパク質 (PrP) フラグメントペプチドの分析結果

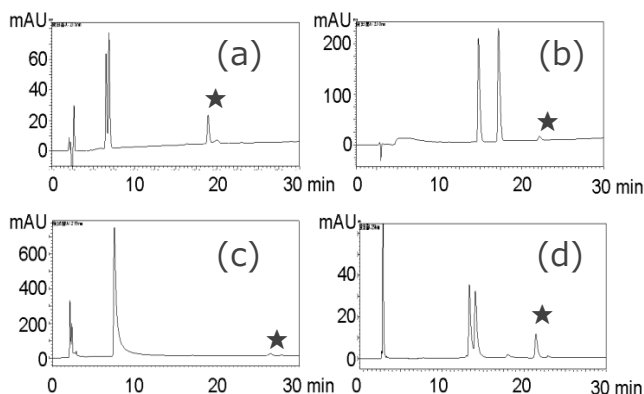
分析サンプル：上段 (a), (b); PrP(106-126), 下段 (c), (d); PrP[(169-176)+180-195]

↑ 左列 (a), (c); HiPep-Cadenza C18 (室温), 右列 (b), (d); HiPep-Intrada (60°C)



PrPペプチドをHiPep-Cadenza C18カラムで分析すると、ブロードなシングルピークとして検出されますが、HiPep-Intradaでは複数のピークが検出されています。(HiPep-Cadenza C18カラムを用いたLCMS分析では、シングルピーク中に複数のMSシグナルが検出されています。) このことから、HiPep-Cadenza C18カラムでは分離しきれなかったピークをHiPep-Intradaカラムでは分離できることが示されています。

HiPep-Intrada を用いた非天然アミノ酸キラル分析



アミノ酸の光学異性体を区別する方法としてジアステレオマーに誘導体化する方法があります。GITC修飾アミノ酸の分析に一般的なC18カラムを用いた場合、分離能が低い、または分離できない場合があります。そのような場合でも、HiPep-Intrada カラムを使用すればピークの分離が可能です。

分析サンプル：
上段 (a), (b); GITC-D,L-Ala
下段 (c), (d); GITC-D,L-Mimosine

使用カラム：
左列 (a), (c); 一般的なC18カラム (室温)
右列 (b), (d); HiPep-Intrada (室温)

★は原料試薬GITC

(株) ハイペップ研究所 〒602-8158 京都市上京区下立売通千本東入中務町486-46

TEL: 075-813-2101, FAX: 075-801-0280, E-mail: info@hipep.jp, URL: http://www.hipep.jp/





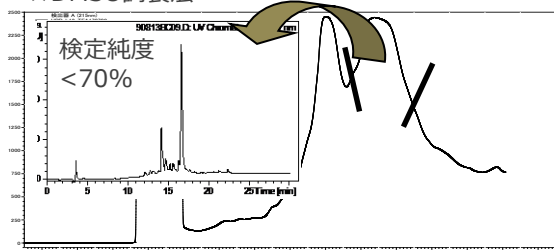
難溶性ペプチドの精製時におけるサンプル調製法

特定の三次元構造をとり、集合体を形成するペプチドは一般的に難溶性ペプチドです。難溶性ペプチドは精製時にピークがブロードになり、精製品の純度が低くなる場合があります。難溶性ペプチドの精製効率を向上させるため、サンプル調製法を検討しました。各難溶性ペプチドの精製時におけるLCのデータと精製品の分析結果を以下に示しました。結果から、難精製のサンプルでもサンプル調整法により精製効率（精製率、精製品の純度）が大きく改善されることがわかります。

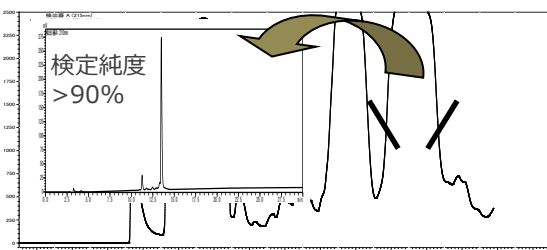
精製条件：使用カラム：HiPep-Intrada (20 id x 150 mm) を60 °Cで使用, 溶媒: A; 0.1% TFA in H₂O, B; 0.1% TFA in 90% Acetonitrile, 流速: 9.9 mL/min, 検出: UV at 210 nm

例 1. ペプチドA

☆DMSO調製法

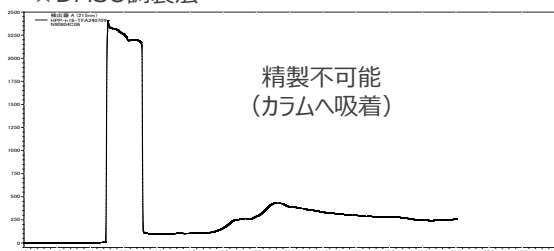


☆ノナフルオリド吉草酸調製法

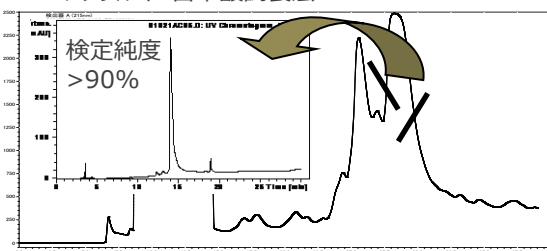


例 2. ペプチドB

☆DMSO調製法

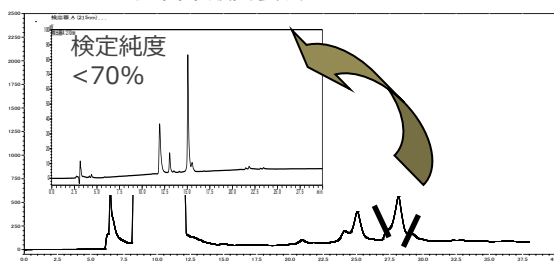


☆ノナフルオリド吉草酸調製法

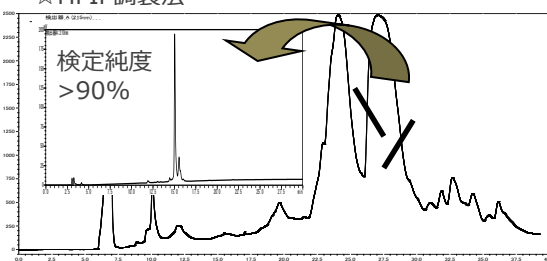


例 3. ペプチドC (DMSO調製法ではピークが検出されなかった)

☆ノナフルオリド吉草酸調製法



☆HFIP調製法



ペプチドの大量精製用逆相シリカゲル充填剤Daisogel® SPの評価

近年ペプチド医薬の需要が高まっており、ペプチドの医薬製造では高純度なペプチドの安定供給が非常に重要になっております。高純度ペプチドを得るためには、高性能な精製用カラムが必要不可欠です。そこで、大量精製を目的とする高分離能、高回収率の充填剤Daisogel® SPの開発を行い、その性能評価を行いました。本充填剤は、平均細孔径が100 Åと120 Åの2種類がございます。どちらも平均粒子径が10 μmのシリカゲル上にODS基が表面修飾された化学結合型多孔性球状シリカゲルです。

当該充填剤の分離能の評価を行いました。一般的にペプチド固相合成において生じやすい副生成物が混在するモデルペプチドを用い、開発したODS充填剤Daisogel® SPを充填した大量精製用カラムを用いて分離能を検討しました。リファレンスとしてハイペップ研究所が誇る高分解能ペプチド検定用分析カラムHiPep-Cadenzaを使用しました。その結果、新開発の精製用充填剤は十分な分離能を有することが示されました。

また、精製のための評価で重要な要素である回収率の評価を行いました。評価を行うため、ペプチド誘導体として最近FDAの許認可が出されたTaspogluclide (GLP-1アナログ)を選択し、開発した充填剤を充填した精製用ミニカラム (id 20 mm) を用いて粗Taspogluclideを精製しました。精製品を再度、同カラムで処理し、回収率を計算しました。さらに、現在よく使用される他社製のODSカラムと比較しました。その結果、Daisogel® SPはその分離能だけでなく、65%以上という高い回収率を示しました。また、本ペプチド誘導体では100 Åの平均細孔径を持つDaisogel® SPの方が若干優れた回収率を示しました。

国際学会発表 2010年EPS Nokihara, K., et al., Peptides, Proceedings of the 31st European Peptide Symposium, Lebl, M., Meldal, M., and Jensen, K. J., Hoeg-Jensen, T. (Editors), pp136-137, 2010.

**β-アミロイドペプチドの高効率固相合成と新規開発カラムによる検定ならびに精製**宮里 苗子、平田 晃義、川上 博哉、川平 昇、大山 貴史、軒原 清史
(株)ハイペップ研究所 (〒602-8158 京都市上京区中務町 486-46)

β-アミロイド (Aβ) ペプチド(1-43) はHPLC分析難であることが知られている。さらに、その構造や低い溶解性から、従来のODSカラムを使用した精製は困難である。本稿では、反応溶媒やカップリング試薬、脱保護試薬など、Aβペプチド合成のために改良した固相合成プロセスについて報告する。また、Aβペプチドなどの構造を形成するペプチドを精製するために開発した、新規のワイドポア逆相カラムHiPep-Intradaについても併せて報告する (索引語: Aβペプチド、難シーケンス、固相合成、ワイドポアHPLC カラム)。

背景 アルツハイマー病(AD)は痴呆症の中で最も一般的な疾病である。高齢人口の増加により発症人数も増加し [1]、重大な社会問題になっている。タンパク質の構造変化によって発症するADは進行性の神経変性疾患であり、その病理学的特長としてアミロイドプラークが徐々に脳内に蓄積する [2]。それらは最終的に39-43アミノ酸残基のペプチドである [3]。したがって、Aβペプチドは、AD発生の分子生物学的解明に不可欠なペプチドである。しかしながら、特に43残基のアミノ酸からなるAβ (1-43)は、その疎水性配列や低い溶解性から、合成難であり、かつ従来のODSカラムでの分析、精製が困難である。現在Aβ (1-43)においてZorbax® カラムによるHPLC分析が報告されているが、その分析条件は80℃、または、移動相としてアルカリ性 (NH₄OH使用) 溶媒が用いられており、カラム精製を行うのに適していない。我々は改良Aβペプチド合成法によってAβ関連ペプチドを合成し、構造をとるペプチドやタンパク質の分離に適した、ワイドポア逆相カラムによってAβ関連ペプチドは効率良く分析、精製することが可能となった。

結果と考察 合成Aβ関連ペプチドはAβ (1-43); Mwt 4615.21、Aβ (1-42); Mwt 4514.10、Aβ (17-42); Mwt 2577.08、Aβ (21-42); mwt 2070.44、Aβ (1-40); mwt 4329.86、Aβ (17-40); mwt 2392.85、Aβ (1-20); mwt 2461.68の7種である。全てのペプチドは自動ペプチド合成機PSSM-8 (島津製作所) を使用し、TentaGel® Resinにて、Fmoc固相合成法によって合成した。脱Fmoc 処置は2% ピリジンと 2% DBU 入りのDMFを使用した。カップリングはPyBOP / HOBt / NMMにより過剰のアシル成分 (10当量) を活性化し、室温にて反応を行った [4]。合成進捗状況を確認するため、合成途中で1 ピースクレーベージを行った [5]。最終クレーベージはTFA / H₂O / Anisole / EDT / EMS / Phenol = 82/5/5/3/2/3 (v/v %) カクテルを使用し、室温で90分間反応を行った。得られた粗ペプチドは、HiPep-Cadenza ODSカラム (3.0 id × 150 mm) とイオントラップ型 LC-MS によって分析を行った。Aβ (21-42)、Aβ (1-40)、Aβ (17-40)、Aβ (1-20)は室温で良い溶出パターンが得られた (図 1) が、Aβ (1-43)、Aβ (1-42)、Aβ (17-42)はHiPep-Cadenza ODSカラムによる分析は困難であった。これらはHPLCにおいて目的物を含むピークがブロードに広がり、分離が悪かった (図 2e)。NMRによる解析から、Aβ (1-40)ペプチドのC末端はフレキシブルであるが、Aβ (1-42)ペプチドのC末端領域は構造をとることが報告されているが [6] これに起因する現象であると推定された。

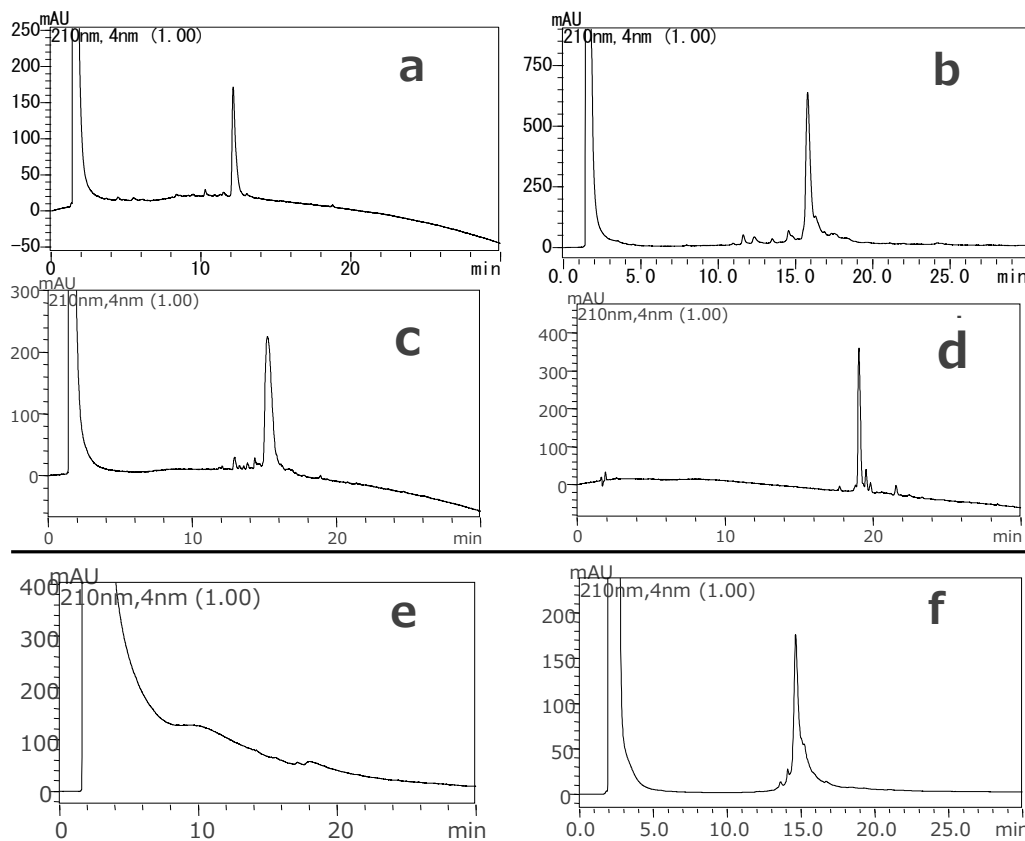


図 1. HiPep-Cadenza ODSカラムによるAβ関連粗ペプチドの分析結果 (流速: 0.5 mL/min, 検出: 210 nm, グラジエント: A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA, 90% アセトニトリル)
(a) Aβ (21-42); 2070.9 [M+H]⁺, (b) Aβ (1-40); 2165.4 [M+2H]²⁺, (c) Aβ (17-40); 2393.1 [M+H]⁺, (d) Aβ (1-20) 2461.7 [M+H]⁺.

図 2. Aβ (1-43) 粗ペプチドのHiPep-Cadenza ODSカラム(e)とHiPep-Intradaカラム(f)による分析結果 (流速: 0.5 mL/min, 検出: 210 nm, グラジエント: A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA, 90% アセトニトリル)
(e) 18-30 分に目的分子量2308.3 [M+2H]²⁺を検出。カラム温度: 室温。
(f)メインピークに目的分子量2308.3 [M+2H]²⁺を検出。カラム温度: 60℃。

Aβペプチドなどの構造をとるペプチドの分析と精製に適した、ワイドポア逆相シリカを使用したカラムを開発した。この新規カラム (HiPep-Intrada: ハイペップ研究所)は、Zorbax® カラムよりも低温で高い分離能を示し (図 2 f)、Aβ (1-43)、Aβ (1-42)、Aβ (17-42) においても優れた分離能を示した (図 3)。精製 Aβ (1-43) をさらに細かく分離し、それぞれMALDI-TOF-MSで解析を行った。各フラクションは同一パターンで目的分子量を示し、この物質が単一物質であることを確認した (図 4)。図 5 は、合成プリオンペプチドhPrP(90-142) の分析結果である。共に同一分子量を示す配座異性体ピークが、HiPep-Cadenzaでは分離が不十分であるが (図 5a)、HiPep-Intrada では容易に分離できた (図 5b)。図 6 はAβペプチドのCD測定による二次構造解析結果である。Aβ (1-40) はランダム構造、Aβ (1-42)、Aβ (1-43)はβ-シート構造が確認された。これらの結果から、Aβ (1-42)、Aβ (1-43)のような二次構造を構成するペプチドが合成難、分析難であることが示唆された。難合成ペプチドとして知られている Aβペプチドを、pseudoproline や HATU など高価な試薬を使用せず効率的に合成した。また、新規カラムHiPep-Intrada は、ワイドポア逆相シリカを充填剤として使用しており (分析用 3 mm・セミプレパタイプ分取用 5 mm)、構造をとるペプチドの分析、分離に有用である。これら合成ペプチドは PepTenChip® ペプチドアレイの認識素子として使用している。

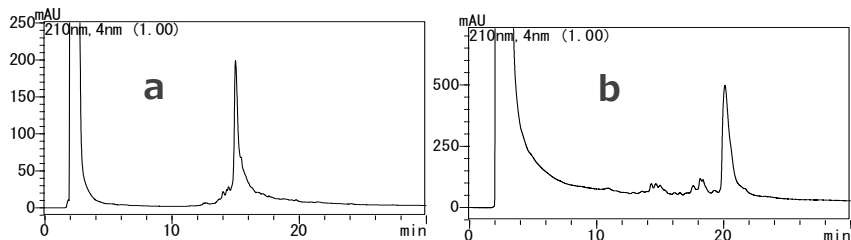
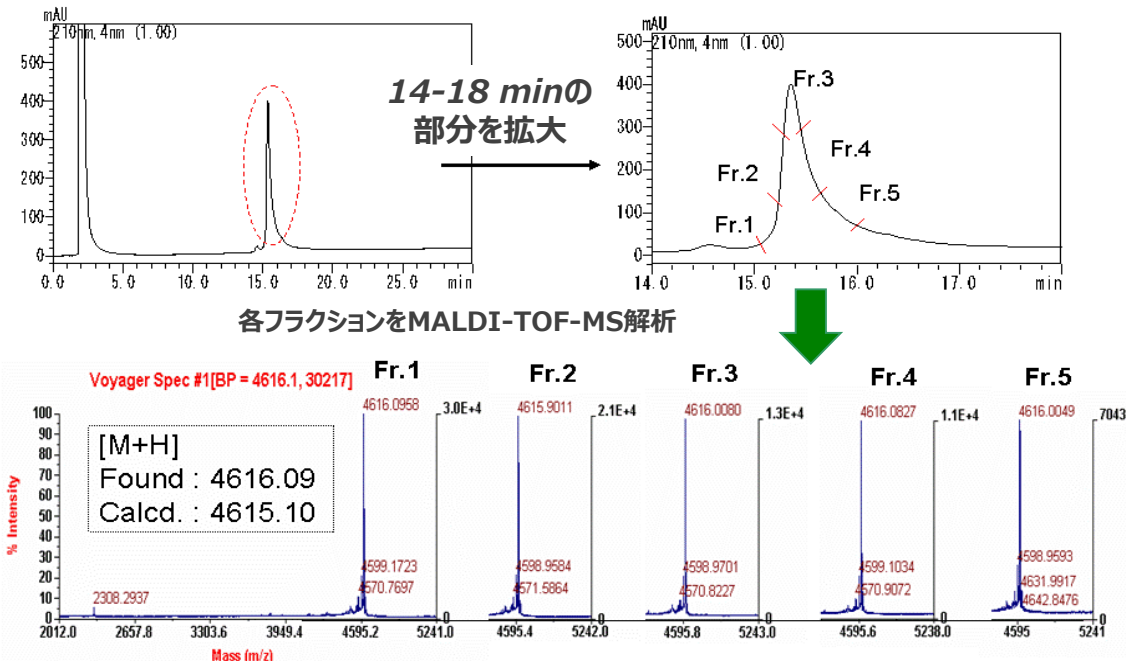


図 3. HiPep-Intradaカラムによる Aβ (1-42)および Aβ (17-42)の分析結果 (イオンラップ型 LC-MSを使用, 流速: 0.5 mL/min, 検出: 210 nm, グラジエント: A = 0.1% TFA, B = 0.1% TFA, 90% アセトニトリル, カラム温度: 60℃). (a) Aβ (1-42); 2257.3 [M+2H]²⁺, (b) Aβ (17-42); 2576.9 [M+H]⁺.

図 4. HiPep-Intradaカラムによる Aβ (1-43)の精製データ (上図) と、各フラクションのMALDI-TOF-MS解析結果 (下図)



全てのフラクションは TOF-MS スペクトルが同値であった= 同一物質であると確認

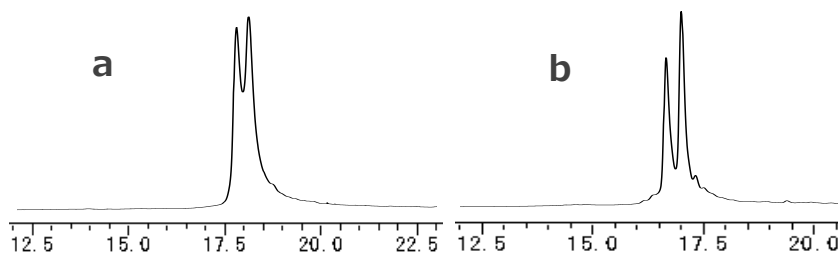


図 5. 合成 hPrP(90-142) 分析結果の比較.
(a) 従来の ODS カラム (HiPep-Cadenza).
(b) HiPep-Intrada カラム.

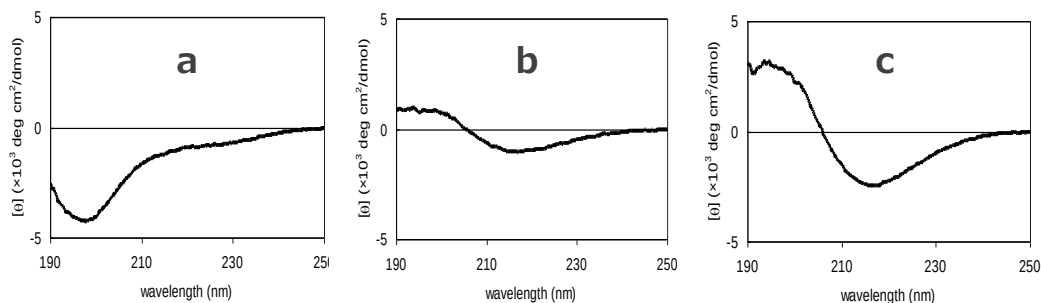


図 6. CD測定による Aβペプチドの二次構造解析結果.
(a) Aβ(1-40),
(b) Aβ(1-42),
(c) Aβ(1-43),
各ペプチド 0.1 mM
を 10 mM リン酸ナトリウムバッファー (pH 7.0) に溶解し測定に使用

謝辞 本研究の一部は、沖縄県研究開発型ベンチャー技術開発助成事業と生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業 (生物系特定産業技術研究支援センター、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構) の支援により実施した。

参考文献

1. Newnan, M., Musgrave, I., and Lardeli, M. (2007) *Biochimica et Biophysica Acta*, 1772, 285-297.
2. Rudolph, E. Tanzi. and Lars Bertram. (2005) *Cell*, **120**, 545-555.
3. Glenner, G. G. and Wong, C. W. (1984) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **122**, 1131-1135.
4. Nokihara, K., Yasuhara, T., Nakata, Y., Lerner, E. A. and Wray, V. (2007) *Int. J. Peptide Res. Therapeutics*, **13**, 377-386.
5. Nokihara, K., Yamaguchi, M., Ando, E., Kuriki, T., and Yokomizo, Y. (1996) *In Peptide Chemistry 1995*, Nishi, N. (ed) Protein Research Foundation Osaka, 65-68.
6. Lim, K. H., Collver, H. H., Le, Y. T. H., Nagchowdhuri, P. and Kenny, J. M. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **353**, 443-449.