



オリゴヌクレオチドの イオン交換モードでの分析における Agilent Bio SAX カラムの優位性

<要旨>

非多孔質の強カチオン交換カラムである Agilent Bio SAX カラムを用い、オリゴヌクレオチドの分析を行いました。その結果、従来の強カチオン交換カラムと比較し、優れた結果を得ることができました。

Key Words:オリゴヌクレオチド、核酸医薬、Sub2 μm 、イオン交換



1.はじめに

オリゴヌクレオチドの HPLC 分析では、逆相、イオン交換やサイズ排除などの分離モードが用いられます。これらの分離モードのうち、逆相分析ではコアシェルや Sub 2 μm カラムを用いた高速高分離化が進んでいますが、イオン交換分析では、従来から 5~10 μm のポリマー系粒子の全多孔性強カチオン交換カラムを使うのが主流です。

そこで、このアプリケーションでは、Sub 2 μm の Agilent Bio SAX イオン交換カラムを使ったオリゴヌクレオチド分析について紹介します。まず、Agilent Bio SAX カラムの特長について紹介し、次に、このカラムと従来品のイオン交換カラムとのデータ比較を基に、Agilent Bio SAX カラムが高効率の優れたイオン交換カラムであることを示します。

2. Agilent Bio SAX カラムの特長

Agilent Bio SAX カラムは、非多孔質のポリスチレン/ジビニルベンゼン重合体の粒子に、イオン交換基として4級アンモニウム基を結合した充填剤を充填しています。粒子径は、10、5、3、1.7 μm の4種類があります。これらの内、1.7 μm のカラムは、イオン交換カラムでありながら Sub 2 μm の充填剤ということで、

一般的なイオン交換カラムと比較し、高効率な分離を実現することができます。なお、充填剤の表面には親水性のポリマー被膜を施すことにより、試料との疎水性相互作用など、二次的な相互作用を防ぐ工夫がされています。

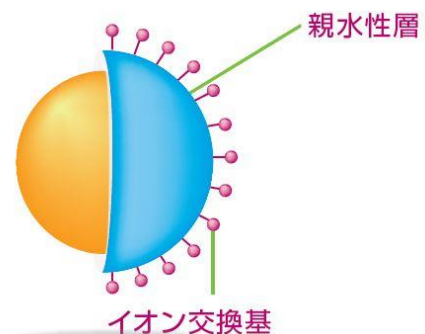


Fig.1 Agilent Bio SAX カラム 充填剤

3.分析条件

カラム(従来品) : A社 SAX 4.6 x 50 mm, 5 μm

カラム: Agilent Bio SAX, 4.6 x 50 mm, 1.7 μm

(部品番号 5190-2461)

移動相A : 20 mM トリス塩酸(pH9)

移動相B : 1 M NaClを含む移動相A

グラジエント : 0-2(min)/50-70(B%)

流速 : Bio SAX 0.9 mL/min, 従来品 0.8 mL/min

カラム温度: 40 $^{\circ}\text{C}$



サンプル:Agilent Oligonucleotide Resolution 標準
(部品番号 5190-9028)に水 1 mL を加え溶解したもの
注入量: 5 μ L
検出: 260 nm

HPLC 装置:
Agilent Infinity LC 1260 シリーズ

4.結果

従来品でのクロマトグラムを Fig.2 に、Agilent Bio SAX カラムでのクロマトグラムを Fig.3 に、それぞれ示します。

各ピークのピーク形状は従来品よりも Agilent Bio SAX カラムが良好でした。また、塩基数ひとつ違い(ピーク 3、ピーク 4)の分離を比較したところ、従来品の分離度 1.76 に対し、Agilent Bio SAX は 3.74 でした。

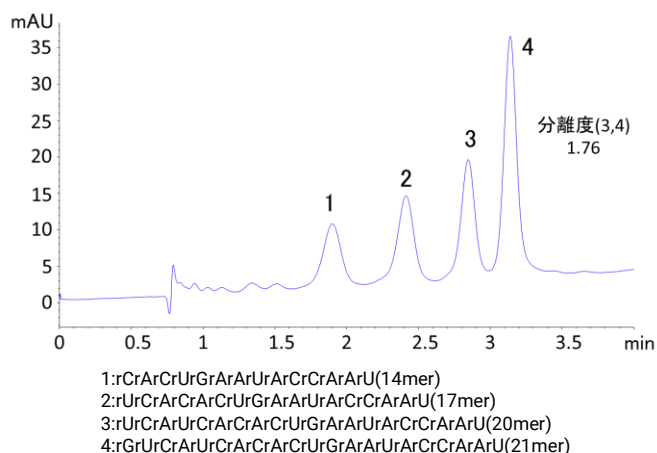


Fig.2 従来品でのクロマトグラム

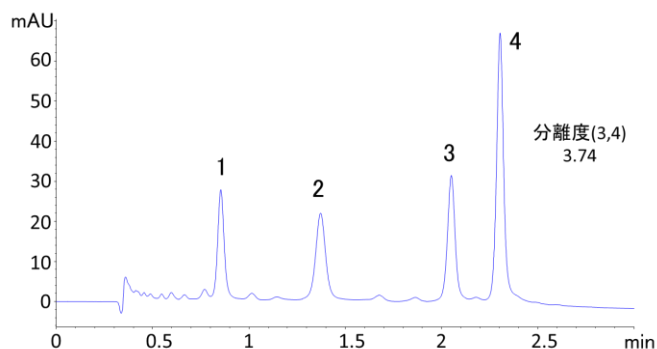


Fig.3 Agilent Bio SAX でのクロマトグラム

なお、今回の分析での Agilent Bio SAX カラムのカラム圧は 400 bar に達しません。これは、このカラムが、Agilent1200 シリーズをはじめ、多くの HPLC システムに適用可能であることを示しています。

5.結論

従来品のポリマー系全多孔性強カチオン交換カラムと Agilent Bio SAX カラムのデータを比較し、Sub2 μ m の Agilent Bio SAX カラムは、従来品よりも優れた効率のイオン交換カラムであることが示されました。

【LC-201711MA-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。
また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1
www.agilent.com/chem/jp