

HPLC用カラム



FlexFire Standard Series
FlexFire WP Standard Series

野村化学株式会社



FlexFire Standard Series

新たなスタンダードでUHPLCへのメソッド移管をスムーズに!!

粒子径5 μ m, 内径4.6 Φ カラムはHPLC分析におけるスタンダードと言っても過言ではありません。UHPLCが普及する中、この4.6 Φ で構築されたメソッドはUHPLCメソッド移管へのファーストステップとなります。

これまでFlexFireシリーズは内径2.0 Φ のみで構成されてきましたが、より研究・開発⇔品質管理をスムーズに実行するために粒子径5 μ m, 内径4.6 Φ をラインナップしました。

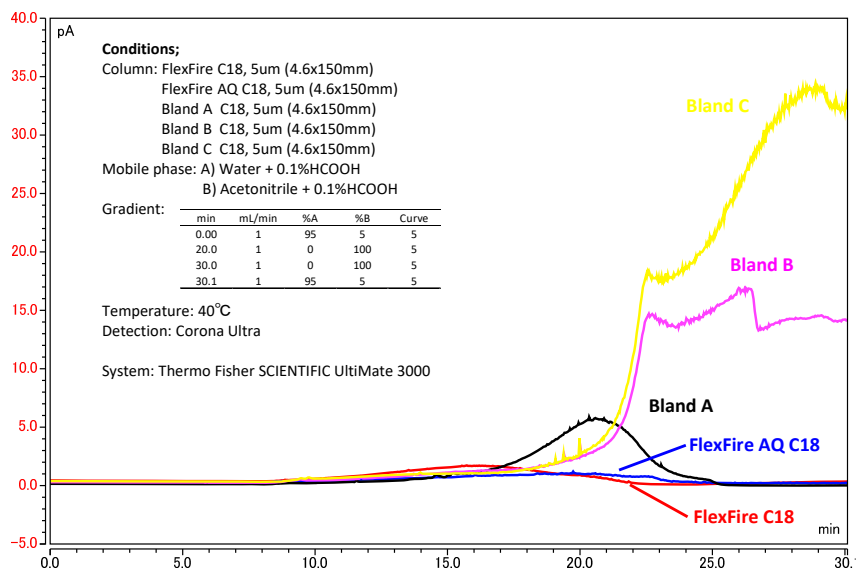
FlexFire Standardシリーズ スペックシート

	FlexFire C18	FlexFire AQ C18	FlexFire C8	FlexFire C1	FlexFire C30	FlexFire HILIC
Particle size	5 μ m	5 μ m	5 μ m	5 μ m	5 μ m	5 μ m
Chemistry	Octadecyl	Octadecyl	Octyl	Trimethyl	Triacetyl	—
Surface area	340m ² /g	340m ² /g	340m ² /g	340m ² /g	340m ² /g	340m ² /g
Pore volume	1.0mL/g	1.0mL/g	1.0mL/g	1.0mL/g	1.0mL/g	1.0mL/g
Pore diameter	11nm	11nm	11nm	11nm	11nm	11nm
Carbon	22%	8.5%	12%	5.5%	11%	—
End-cap	○	○	○	○	○	—
pH	pH1-10	pH1-9	pH1-10	pH1-9	pH1-10	pH1-5
Temperature	~80°C	~80°C	~80°C	~80°C	~80°C	~60°C
Max pressure	5 μ m: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5 μ m: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5 μ m: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5 μ m: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5 μ m: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5 μ m: 300bar (=30Mpa=4,351psi)

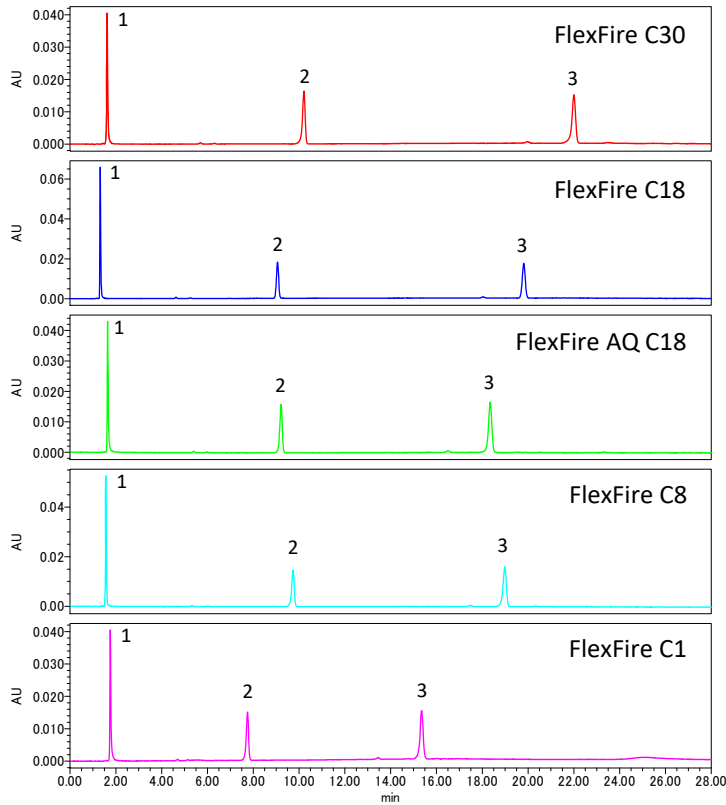
FlexFireシリーズは低ブリードなカラム！！

高感度な検出器ほどカラムブリードはS/Nや定量分析の結果に大きな影響を与えます。また、この影響はリガンドの結合密度が低い、エンドキャッピング処理が弱いほど顕著に現れます。

具体的には「AQ」と呼ばれる水系100%から使用できるカラムにはブリードを引き起こす可能性が高い傾向にありますが、FlexFireシリーズではこのブリードを抑制することができます。



医薬品の分析 UHPLCメソッド移管



Conditions;
Column

FlexFire C30, 5um (4.6x150mm)
FlexFire C18, 5um (4.6x150mm)
FlexFire AQ C18, 5um (4.6x150mm)
FlexFire C8, 5um (4.6x150mm)
FlexFire C1, 5um (4.6x150mm)

Mobile phase:

A) 25mM HCOONH₄ B) Acetonitrile

Gradient:

min	mL/min	%A	%B	Curve
0.00	1.0	50	50	
22.54	1.0	5	95	6
42.29	1.0	5	95	6
42.61	1.0	50	50	6

Temperature:

40°C

Detection:

UV254nm

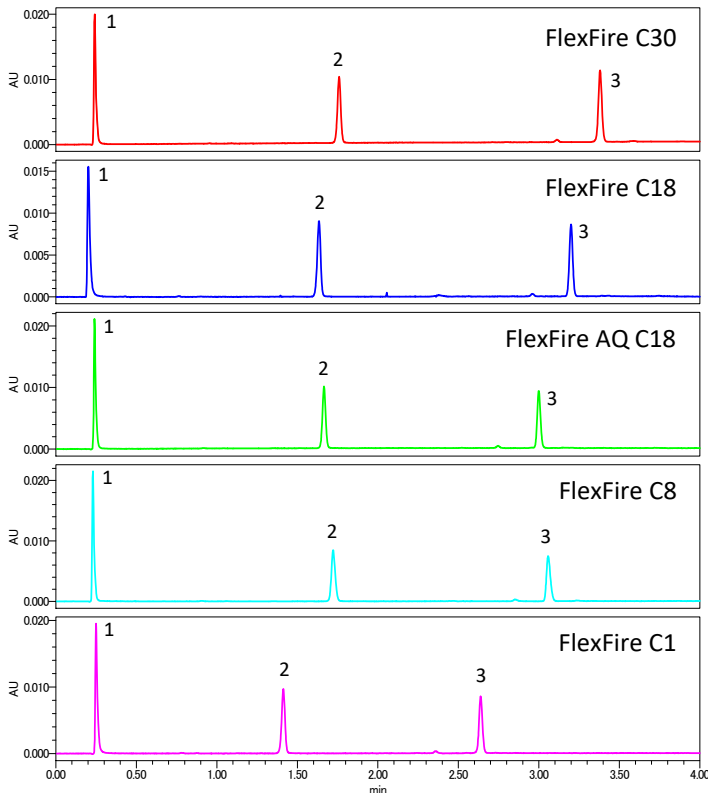
Sample:

1.Favipilavir (1.01mg/mL)
2.Nelfinavir Mesylate Hydrate (1.04mg/mL)
3.Ivermectin (1.07mg/mL)

Injection volume: 2.0uL

System:

Waters alliance



Conditions;
Column:

FlexFire C30, 1.6um (2.0x50mm)
FlexFire C18, 1.6um (2.0x50mm)
FlexFire AQ C18, 1.6um (2.0x50mm)
FlexFire C8, 1.6um (2.0x50mm)
FlexFire C1, 1.6um (2.0x50mm)

Mobile phase:

A) 25mM HCOONH₄ B) Acetonitrile

Gradient:

min	mL/min	%A	%B	Curve
0.00	0.5	50	50	
2.84	0.5	5	95	6
5.33	0.5	5	95	6
5.37	0.5	50	50	6

Temperature:

40°C

Detection:

UV254nm

Sample:

Favipilavir (0.1mg/mL)
Nelfinavir Mesylate Hydrate (0.1mg/mL)
Ivermectin (0.1mg/mL)

Injection volume: 0.2uL

System:

Waters ACQUITY UPLC H-Class Plus

Mixer:

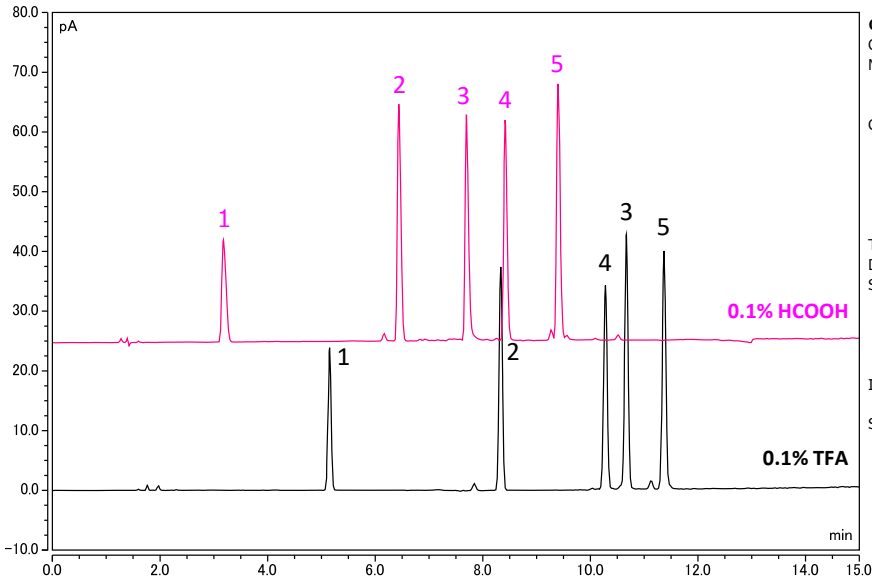
100uL

FlexFire Standardシリーズの追加は品質管理⇔研究・開発を迅速に遂行します。

本データはUHPLCからメソッド変換ソフトを用いてHPLCメソッドを構築しているため、

分析を含めた全体の時間を大幅に短縮することができます。

ペプチドの分析



Conditions;

Column: FlexFire C18, 5um (4.6x150mm)
 Mobile phase: A) Water + 0.1%TFA B) Acetonitrile + 0.1%TFA
 A) Water + 0.1%HCOOH B) Acetonitrile + 0.1%HCOOH

Gradient:

min	mL/min	%A	%B	Curve
0.0	1.0	95	5	5
15.0	1.0	50	50	5
25.0	1.0	50	50	5
25.1	1.0	95	5	5

Temperature: 40°C

Detection: CAD

Sample:

1. Gly-Tyr
2. Val-Tyr-Val
3. Angiotensin II
4. Met-Enk
5. Leu-Enk

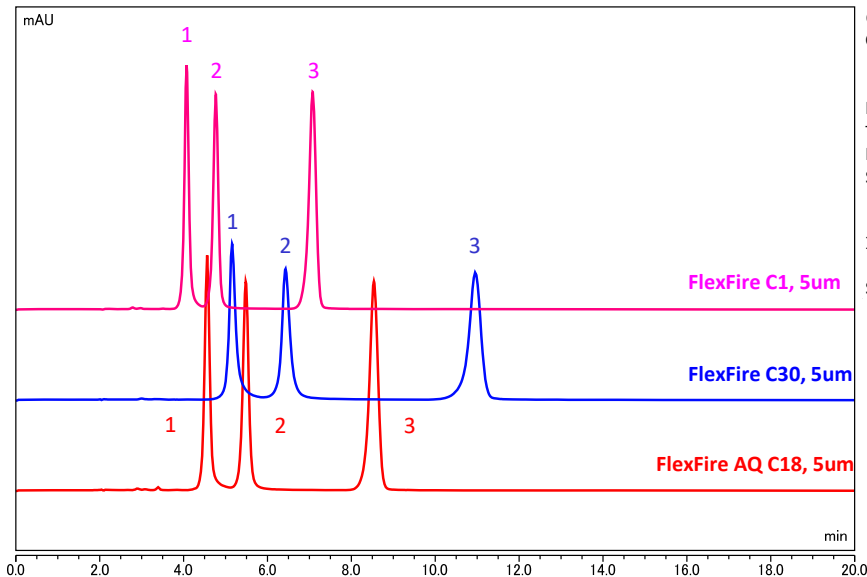
Injection volume: 2.0µL

System:

ThermoFisher SCIENTIFIC UltiMate 3000

従来よりイオンペア試薬で分析してきた条件をギ酸に置き換えて分析できる可能性があります。特に、LC/MSではTFAの使用が制限されることがあるため、ギ酸をファーストメソッドに選択することで感度低減のリスクを回避することができます。

核酸の分析



Conditions;

Column: FlexFire AQ C18, 5um (4.6x150mm)
 FlexFire C30, 5um (4.6x150mm)
 FlexFire C1, 5um (4.6x150mm)

Mobile phase: 25mM HCOONH₄ + Inactivating agent (0.1%)

Temperature: 40°C

Detection: UV260nm

Sample:

1. ATP
2. ADP
3. AMP

Injection volume: 5.0µL

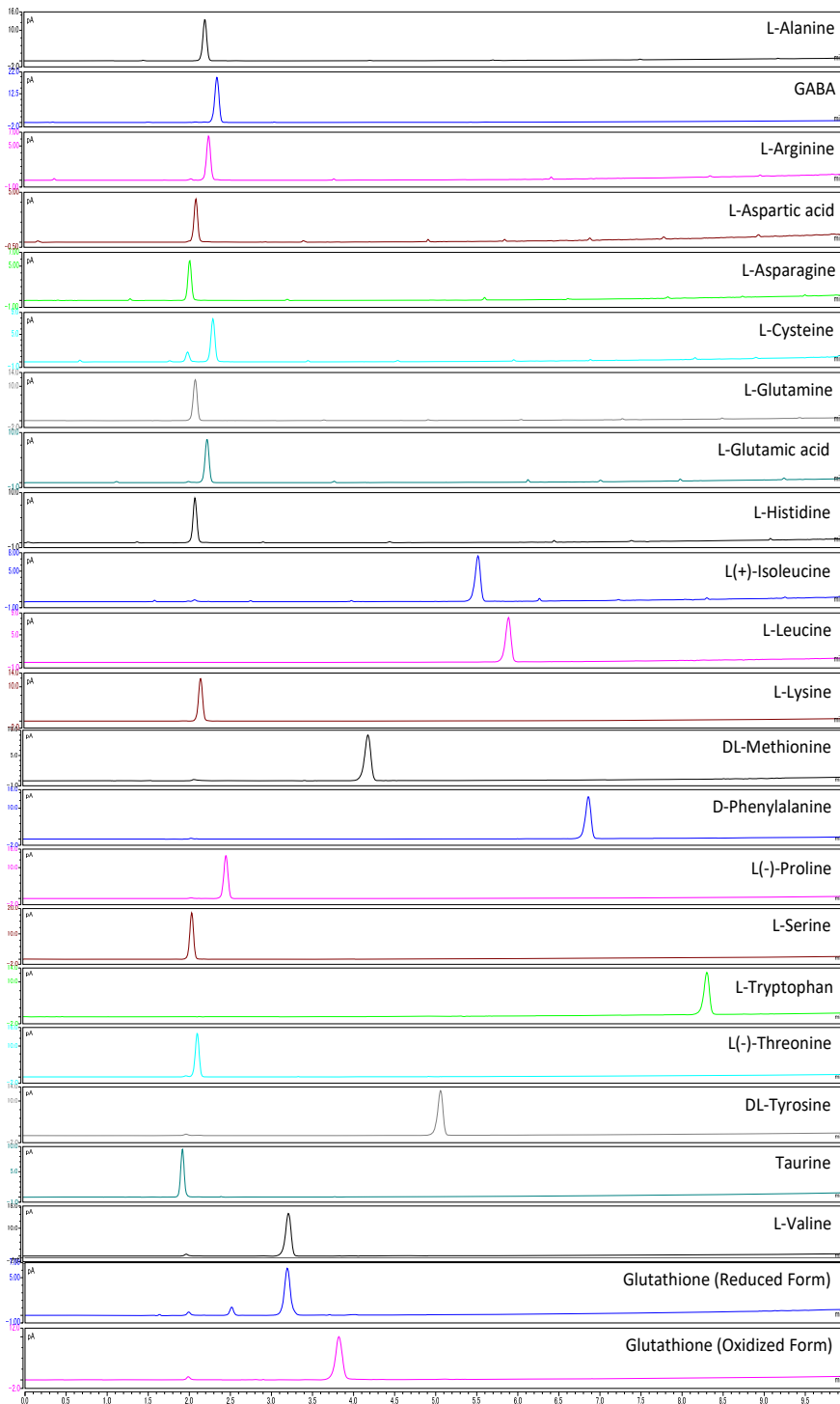
System:

ThermoFisher SCIENTIFIC UltiMate 3000

AMPなどのリン酸基を持つ化合物はリン酸バッファーを使用する傾向にありますが、近年、これらの化合物はカラムハードおよび充填剤に含まれる金属に吸着することが分かりました。そのため、メタルフリー化をすることでこれらの化合物はギ酸緩衝液の使用が可能となります。

本データでは市販されている不活性剤を移動相に添加しています。これにより流路内での吸着を低減させることができ、メタルフリーカラムと同等の結果を得ることができます。

アミノ酸の分析



Conditions;

Column: FlexFire AQ C18, 5µm 4.6x150mm

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

Gradient:

min	%A	%B	Curve
0.0	95	5	5
30.0	5	95	5
30.1	95	5	5

Flow rate: 1.0mL/min

Temperature: 40°C

Injection volume: 0.2µL (L(+)-Isoleucine, L-Leucine: 0.1µL)

Detection: CAD

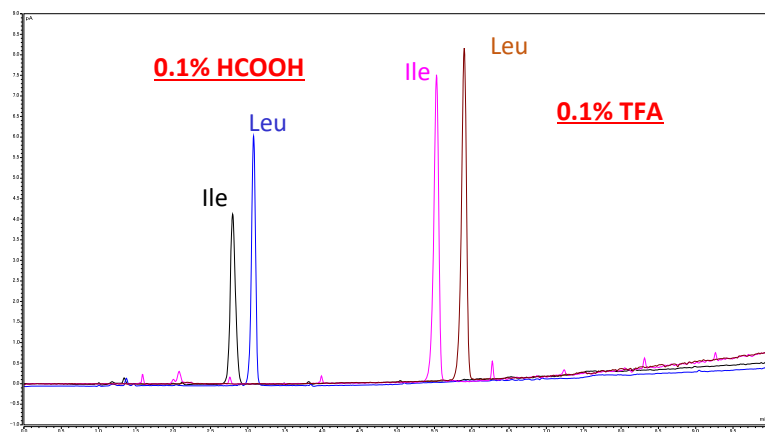
Sample:

- L-Alanine (1.04mg/mL)
- GABA (1.06mg/mL)
- L-Arginine (1.02mg/mL)
- L-Aspartic acid (1.00mg/mL)
- L-Asparagine (0.98mg/mL)
- L-Cysteine (1.02mg/mL)
- L-Glutamine (1.00mg/mL)
- L-Glutamic acid (1.10mg/mL)
- L-Histidine (1.00mg/mL)
- L(+)-Isoleucine (1.00mg/mL)
- L-Leucine (0.98mg/mL)
- L-Lysine (1.06mg/mL)
- DL-Methionine (1.02mg/mL)
- D-Phenylalanine (0.98mg/mL)
- L(-)-Proline (1.06mg/mL)
- L-Serine (1.00mg/mL)
- L-Tryptophan (1.02mg/mL)
- L(-)-Threonine (1.00mg/mL)
- DL-Tyrosine (0.98mg/mL)
- Taurine (1.02mg/mL)
- L-Valine (1.00mg/mL)
- Glutathione (Reduced Form) (1.02mg/mL)
- Glutathione (Oxidized Form) (1.02mg/mL)

System: ThermoFisher SCIENTIFIC UltiMate 3000

アミノ酸はUV検出器にて検出するのが難しいため、誘導体化などを行うなどの工夫が必要になります。しかし、誘導体化を実施するには測定までに大きな時間を必要としますが、本レポートではCAD検出器を用いることで誘導体化を必要とせず、ダイレクト注入での検出を可能としています。

また、本レポートでは0.1%TFAを使用していますが、0.1%ギ酸であっても分析が可能で、アミノ酸分析において指標とされるロイシン、イソロイシンの分離も良好です。



ロイシン、イソロイシンの分離比較

Conditions;

Column: FlexFire AQ C18, 5µm 4.6x150mm

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

Gradient:

min	%A	%B	Curve
0.0	95	5	5
30.0	5	95	5
30.1	95	5	5

Flow rate: 1.0mL/min

Temperature: 40°C

Detection: CAD

Sample: L(+)-Isoleucine (1.00mg/mL)
L-Leucine (0.98mg/mL)

Injection volume: 0.1µL

System: ThermoFisher SCIENTIFIC UltiMate3000

FlexFire Standard Series 価格表

カテゴリー	商品名	商品コード	価格 (円)
HPLC	FlexFire C18, 5um 4.6x35mm	301-546035W	63,000
HPLC	FlexFire C18, 5um 4.6x50mm	301-546050W	63,000
HPLC	FlexFire C18, 5um 4.6x75mm	301-546075W	65,000
HPLC	FlexFire C18, 5um 4.6x100mm	301-546100W	68,000
HPLC	FlexFire C18, 5um 4.6x150mm	301-546150W	73,000
HPLC	FlexFire C18, 5um 4.6x250mm	301-546250W	78,000
HPLC	FlexFire C30, 5um 4.6x35mm	302-546035W	66,000
HPLC	FlexFire C30, 5um 4.6x50mm	302-546050W	66,000
HPLC	FlexFire C30, 5um 4.6x75mm	302-546075W	68,000
HPLC	FlexFire C30, 5um 4.6x100mm	302-546100W	71,000
HPLC	FlexFire C30, 5um 4.6x150mm	302-546150W	76,000
HPLC	FlexFire C30, 5um 4.6x250mm	302-546250W	81,000
HPLC	FlexFire C8, 5um 4.6x35mm	303-546035W	63,000
HPLC	FlexFire C8, 5um 4.6x50mm	303-546050W	63,000
HPLC	FlexFire C8, 5um 4.6x75mm	303-546075W	65,000
HPLC	FlexFire C8, 5um 4.6x100mm	303-546100W	68,000
HPLC	FlexFire C8, 5um 4.6x150mm	303-546150W	73,000
HPLC	FlexFire C8, 5um 4.6x250mm	303-546250W	78,000
HPLC	FlexFire C1, 5um 4.6x35mm	304-546035W	60,000
HPLC	FlexFire C1, 5um 4.6x50mm	304-546050W	60,000
HPLC	FlexFire C1, 5um 4.6x75mm	304-546075W	62,000
HPLC	FlexFire C1, 5um 4.6x100mm	304-546100W	65,000
HPLC	FlexFire C1, 5um 4.6x150mm	304-546150W	70,000
HPLC	FlexFire C1, 5um 4.6x250mm	304-546250W	75,000
HPLC	FlexFire HILIC, 5um 4.6x35mm	305-546035W	55,000
HPLC	FlexFire HILIC, 5um 4.6x50mm	305-546050W	55,000
HPLC	FlexFire HILIC, 5um 4.6x75mm	305-546075W	57,000
HPLC	FlexFire HILIC, 5um 4.6x100mm	305-546100W	60,000
HPLC	FlexFire HILIC, 5um 4.6x150mm	305-546150W	65,000
HPLC	FlexFire HILIC, 5um 4.6x250mm	305-546250W	70,000
HPLC	FlexFire AQ C18, 5um 4.6x35mm	306-546035W	63,000
HPLC	FlexFire AQ C18, 5um 4.6x50mm	306-546050W	63,000
HPLC	FlexFire AQ C18, 5um 4.6x75mm	306-546075W	65,000
HPLC	FlexFire AQ C18, 5um 4.6x100mm	306-546100W	68,000
HPLC	FlexFire AQ C18, 5um 4.6x150mm	306-546150W	73,000
HPLC	FlexFire AQ C18, 5um 4.6x250mm	306-546250W	78,000

FlexFire Standard Series ガードカラム価格表

カテゴリー	商品名	商品コード	価格 (円)
ガードカラム	FlexFire C18, 5um 4.6x10mm	301-546010W	14,000
ガードカラム	FlexFire C30, 5um 4.6x10mm	302-546010W	14,000
ガードカラム	FlexFire C8, 5um 4.6x10mm	303-546010W	14,000
ガードカラム	FlexFire C1, 5um 4.6x10mm	304-546010W	14,000
ガードカラム	FlexFire HILIC, 5um 4.6x10mm	305-546010W	14,000
ガードカラム	FlexFire AQ C18, 5um 4.6x10mm	306-546010W	14,000
ガードフィルター	Develosil ガードフィルター (フィルター 1ヶ付き)	GF28126	16,000
交換フィルター	ガードフィルター用交換フィルター (3枚入り)	GF28155	10,000

分析カラムを保護するために

FlexFire分析カラムをより長く使用するためにガードカラムもしくはガードフィルターの使用を推奨いたします。弊社が販売しているガードカラムをご紹介します。

種類	ホルダー	カプラー	ろ過部分
充填タイプ	不要	必要	各種充填剤
フィルタータイプ	必要	不要	焼結フィルター

※カートリッジタイプは2020年1月をもって生産終了しました。



充填タイプ

カラムサイズ:4.0x10mmの使い捨てタイプのガードカラムです。

分析カラムと同じ充填剤を選択することができます。分析カラムとの接続にはカプラーが必要になります。

内径4.0mm～6.0mmの分析カラムに使用できます。



フィルタータイプ

カラム直結型のためデッドボリュームを抑えることができます。フィルター交換タイプのため経済的です。

内径1.0mm～6.0mmの分析カラムに使用できます。



※詳細はホームページ (<https://www.develosil.net/products/accessory.html>)、カタログをご覧ください。



FlexFire WP Standard Series

バイオ医薬品分析に向けた新たなワイドポアカラム

UHPLC用として開発された、FlexFire WP UHPLCシリーズに4.6Φ内径、5μm粒子径のWP Standardシリーズを追加しました。このシリーズは近年大幅に普及しているバイオ医薬品分析をターゲットに開発しました。

従来品のワイドポアカラムよりも高感度・低吸着化に成功し、インタクトからサブユニットまで幅広い高分子化合物に適用させることができます。

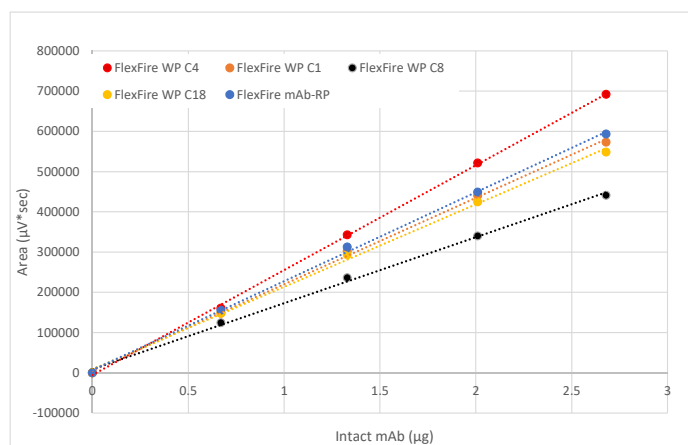
FlexFire WP Standardシリーズ スペックシート

	FlexFire WP C4	FlexFire WP C18	FlexFire WP C8	FlexFire WP C1
Particle size	5μm	5μm	5μm	5μm
Chemistry	Butyl	Octadecyl	Octyl	Trimethyl
Surface area	170m ² /g	170m ² /g	170m ² /g	170m ² /g
Pore volume	1.4mL/g	1.4mL/g	1.4mL/g	1.4mL/g
Pore diameter	30nm	30nm	30nm	30nm
Carbon	5%	15%	7%	3%
End-cap	○	○	○	○
pH	pH1-10	pH1-10	pH1-10	pH1-10
Temperature	~80℃	~80℃	~80℃	~80℃
Pressure range	5μm: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5μm: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5μm: 300bar (=30Mpa=4,351psi)	5μm: 300bar (=30Mpa=4,351psi)

mAbの回収率

従来のカラムでは、アルキル鎖の長い充填剤は回収率が低くなる傾向にありましたが、FlexFire WPシリーズでは全ての充填剤において高回収率を得ることができます。

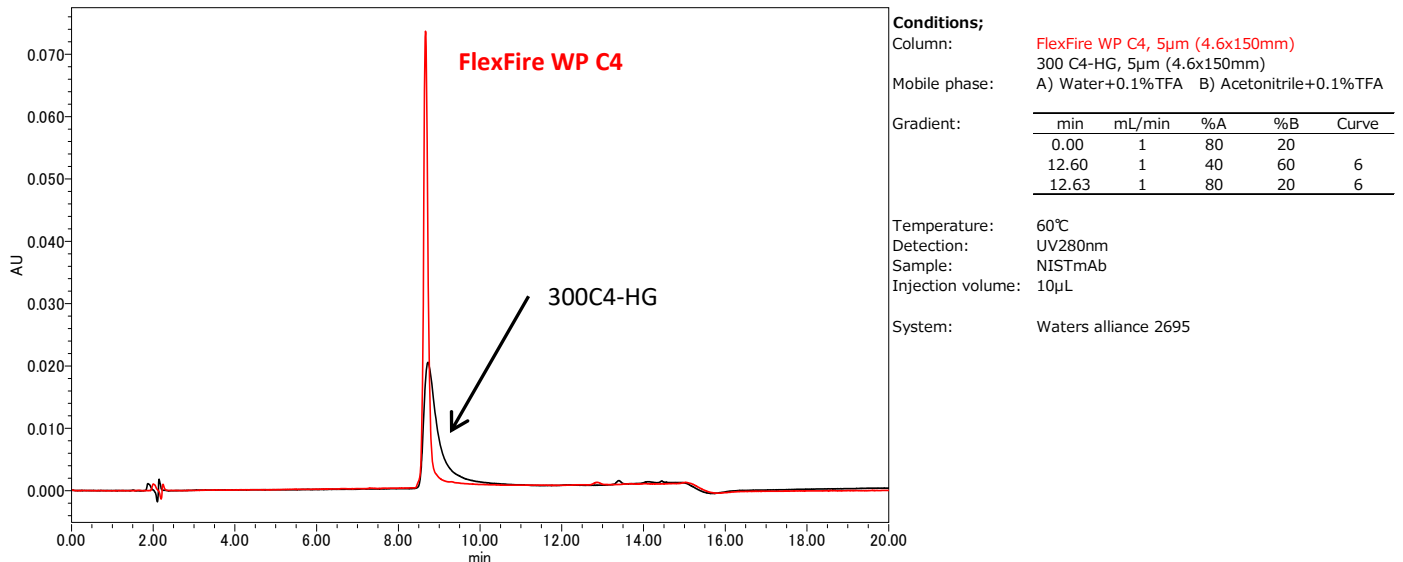
Column	R ²	Recovery (%)
FlexFire WP C1	0.99886	104
FlexFire WP C4	0.99961	103
FlexFire WP C8	0.99795	89.8
FlexFire WP C18	0.99823	98.1
FlexFire mAb-RP	0.99886	101



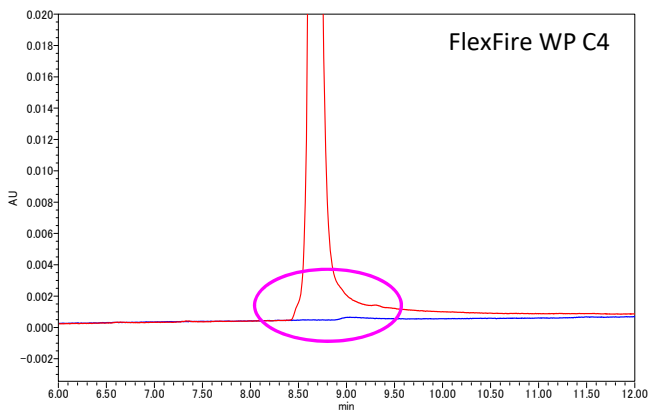
感度向上、低吸着化

FlexFireシリーズは従来のシリカゲルに比べて、強度向上や低不純物化に徹したシリカゲルを採用しています。また、洗練された粒子を最密に充填することで、これまでにないパフォーマンスを発揮します。

インタクトmAbの分析



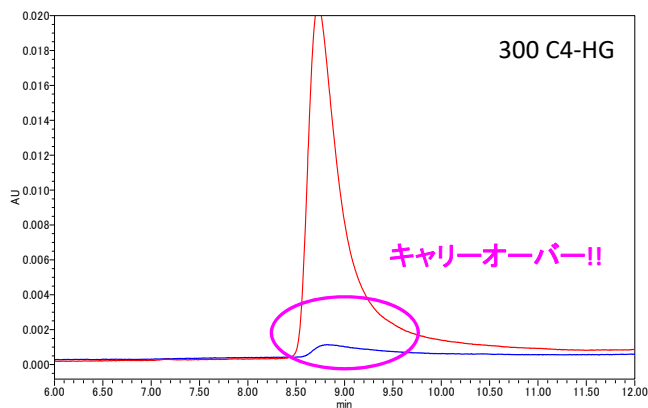
キャリーオーバー



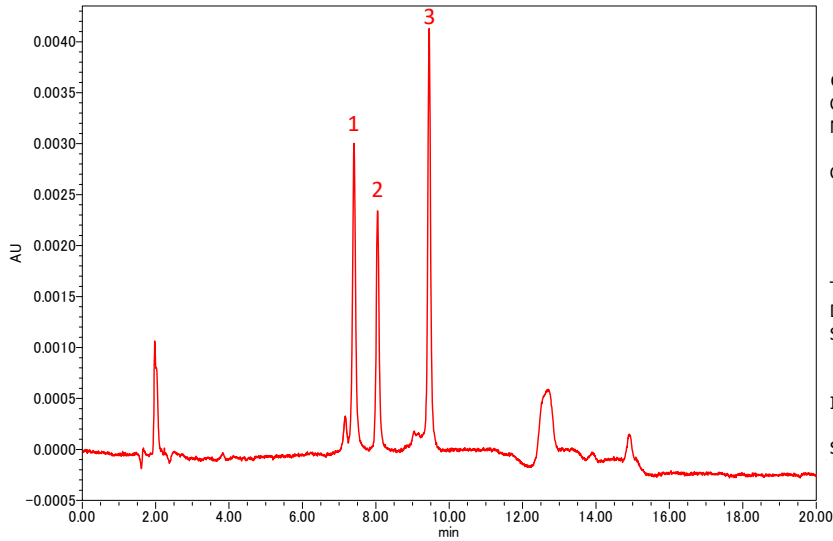
キャリーオーバーは、オートサンプラーのシリンジに吸着されたものが次回の分析に反映されてしまうことから、定量分析には大きな影響を与えます。その対策には洗浄溶媒、洗浄回数などが重要視されます。

また、これに加えて近年ではカラムにも吸着を起こす要因があり、これを解決するためにメタルフリーカラムを使用するケースが増えてきました。

しかし、ここでは充填剤の違いによってもキャリーオーバーの有無があることが確認できます。このようにシステムやカラムのハードウェアだけでなく、充填剤自体にも残存する金属および不純物が少ないということが重要となります。



アプリケーション



mAbサブユニットの分析

Conditions;

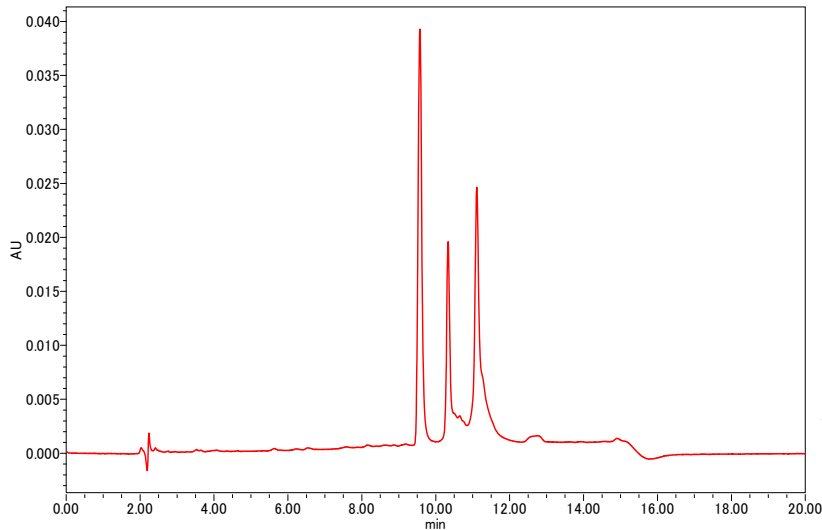
Column: FlexFire WP C4, 5 μ m (4.6x150mm)
 Mobile phase: A) Water+0.1%TFA B) Acetonitrile+0.1%TFA

Gradient:	min	mL/min	%A	%B	Curve
	0.00	1	80	20	
	12.60	1	40	60	6
	12.63	1	80	20	6

Temperature: 60°C
 Detection: UV280nm
 Sample: 1.Fc/2
 2.LC
 3.Fd'

Injection volume: 10 μ L

System: Waters alliance 2695



ヘモグロビンの分析

Conditions;

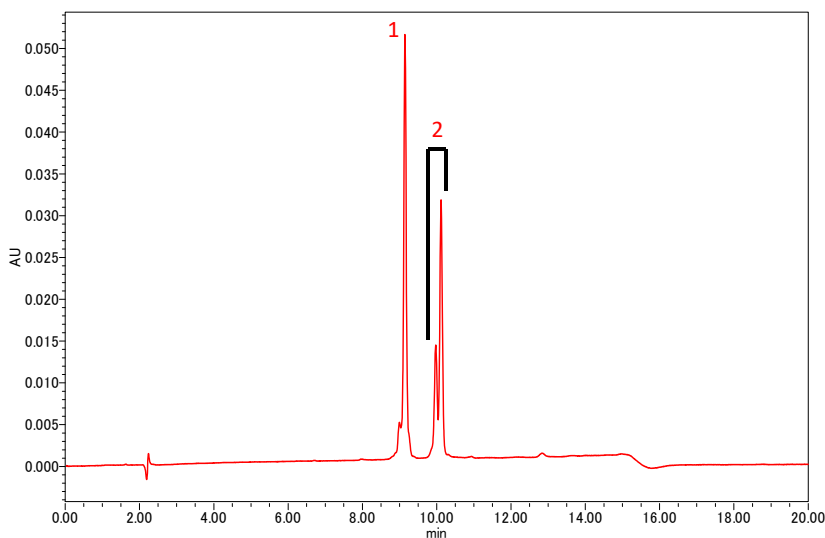
Column: FlexFire WP C4, 5 μ m (4.6x150mm)
 Mobile phase: A) Water+0.1%TFA B) Acetonitrile+0.1%TFA

Gradient:	min	mL/min	%A	%B	Curve
	0.00	1	80	20	
	12.60	1	40	60	6
	12.63	1	80	20	6

Temperature: 60°C
 Detection: UV280nm
 Sample: Hemoglobin

Injection volume: 10 μ L

System: Waters alliance 2695



ラクトアルブミンの分析

Conditions;

Column: FlexFire WP C4, 5 μ m (4.6x150mm)
 Mobile phase: A) Water+0.1%TFA B) Acetonitrile+0.1%TFA

Gradient:	min	mL/min	%A	%B	Curve
	0.00	1	80	20	
	12.60	1	40	60	6
	12.63	1	80	20	6

Temperature: 60°C
 Detection: UV280nm
 Sample: 1. α -Lactalbumin (0.25mg/mL)
 2. β -Lactoglobulin (0.58mg/mL)

Injection volume: 10 μ L

System: Waters alliance 2695

FlexFire Standard WP Series 価格表

カテゴリー	商品名	商品コード	価格 (円)
HPLC	FlexFire WP C18, 5um 4.6x35mm	308-546035W	70,000
HPLC	FlexFire WP C18, 5um 4.6x50mm	308-546050W	70,000
HPLC	FlexFire WP C18, 5um 4.6x75mm	308-546075W	72,000
HPLC	FlexFire WP C18, 5um 4.6x100mm	308-546100W	77,000
HPLC	FlexFire WP C18, 5um 4.6x150mm	308-546150W	80,000
HPLC	FlexFire WP C18, 5um 4.6x250mm	308-546250W	85,000
HPLC	FlexFire WP C8, 5um 4.6x35mm	309-546035W	70,000
HPLC	FlexFire WP C8, 5um 4.6x50mm	309-546050W	70,000
HPLC	FlexFire WP C8, 5um 4.6x75mm	309-546075W	72,000
HPLC	FlexFire WP C8, 5um 4.6x100mm	309-546100W	77,000
HPLC	FlexFire WP C8, 5um 4.6x150mm	309-546150W	80,000
HPLC	FlexFire WP C8, 5um 4.6x250mm	309-546250W	85,000
HPLC	FlexFire WP C4, 5um 4.6x35mm	310-546035W	70,000
HPLC	FlexFire WP C4, 5um 4.6x50mm	310-546050W	70,000
HPLC	FlexFire WP C4, 5um 4.6x75mm	310-546075W	72,000
HPLC	FlexFire WP C4, 5um 4.6x100mm	310-546100W	77,000
HPLC	FlexFire WP C4, 5um 4.6x150mm	310-546150W	80,000
HPLC	FlexFire WP C4, 5um 4.6x250mm	310-546250W	85,000
HPLC	FlexFire WP C1, 5um 4.6x35mm	311-546035W	70,000
HPLC	FlexFire WP C1, 5um 4.6x50mm	311-546050W	70,000
HPLC	FlexFire WP C1, 5um 4.6x75mm	311-546075W	72,000
HPLC	FlexFire WP C1, 5um 4.6x100mm	311-546100W	77,000
HPLC	FlexFire WP C1, 5um 4.6x150mm	311-546150W	80,000
HPLC	FlexFire WP C1, 5um 4.6x250mm	311-546250W	85,000

FlexFire Standard WP Series ガードカラム価格表

カテゴリー	商品名	商品コード	価格 (円)
ガードカラム	FlexFire WP C18, 5um 4.6x10mm	308-546010W	17,000
ガードカラム	FlexFire WP C8, 5um 4.6x10mm	309-546010W	17,000
ガードカラム	FlexFire WP C4, 5um 4.6x10mm	310-546010W	17,000
ガードカラム	FlexFire WP C1, 5um 4.6x10mm	311-546010W	17,000
ガードフィルター	Develosil ガードフィルター (フィルター 1ヶ付き)	GF28126	16,000
交換フィルター	ガードフィルター用交換フィルター (3枚入り)	GF28155	10,000

価格表に記載されている価格は2021年2月現在の小売価格であり、予告なく変更される場合がございます。

なお、表示価格には消費税は含まれておりません。

FlexFireは野村化学株式会社の登録商標です。カタログ中には®およびTMマークの表示はありません。

■ 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/>