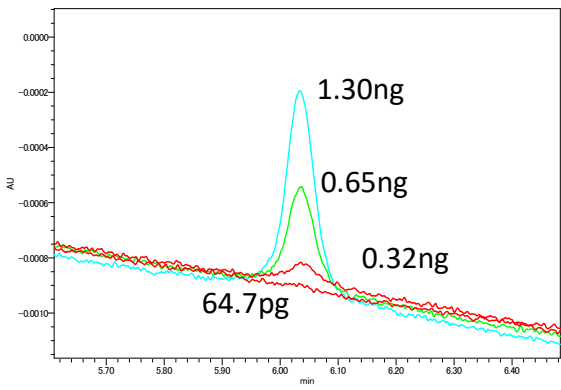
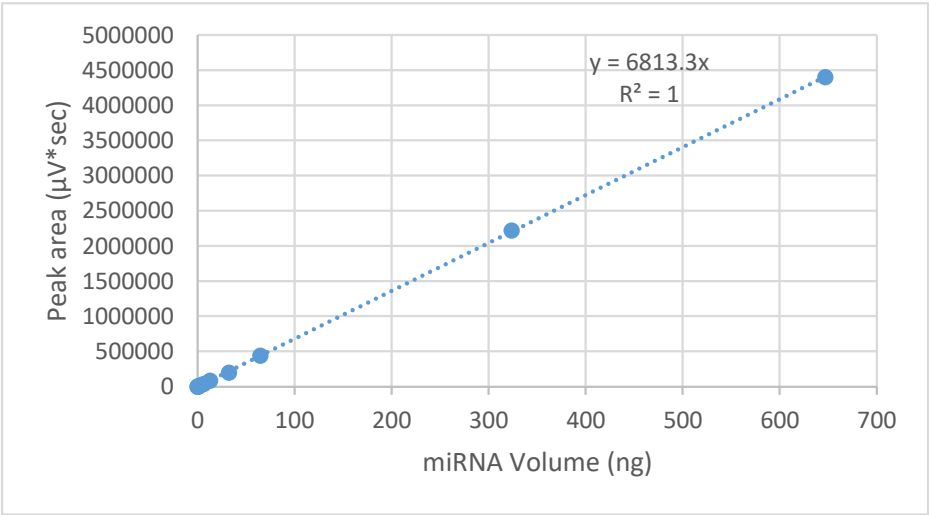


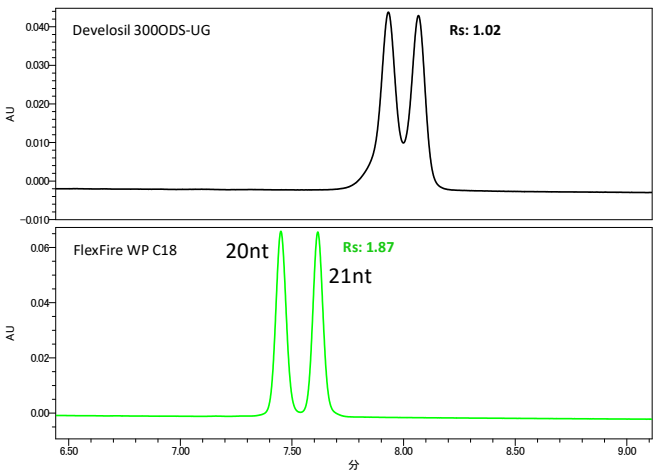
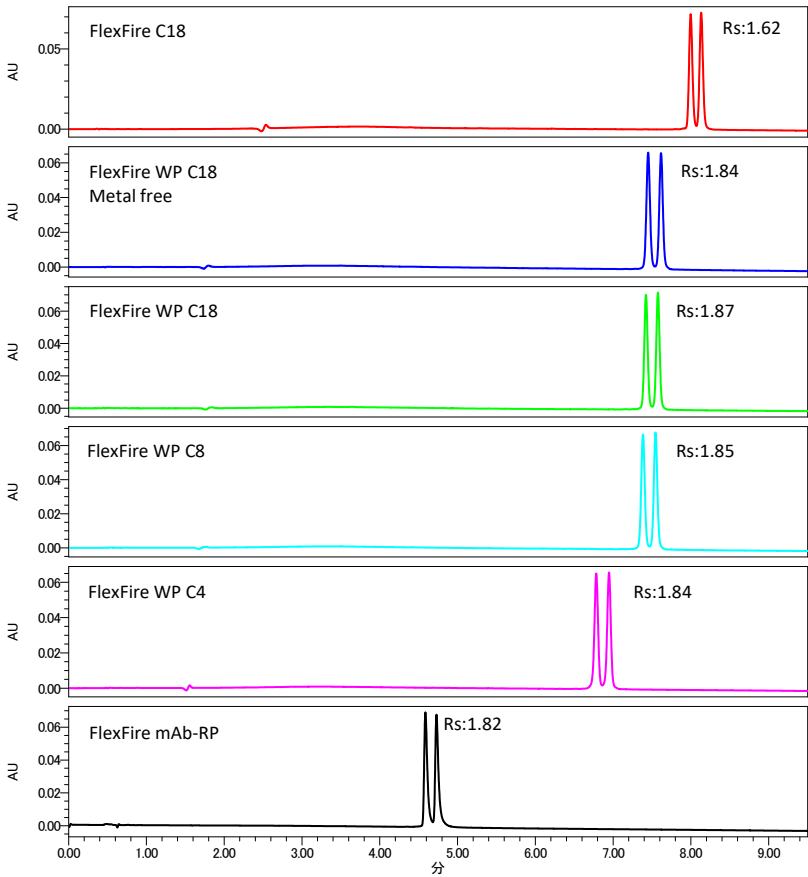
3. 40mer miRNAの検量線



FlexFire WP C18による40mer miRNAの検量線

UV検出器における検量線は、miRNA量の0.32-650ngの領域において良好な直線を得ることができました。LC/MSにおいてはさらに低濃度領域までの検量線が作成できるものと思われます。

4. 1塩基違いmiRNAの分析



Conditions:

Column:

Mobile phase:

Gradient:

Detection:

Sample:

Injection volume:

System:

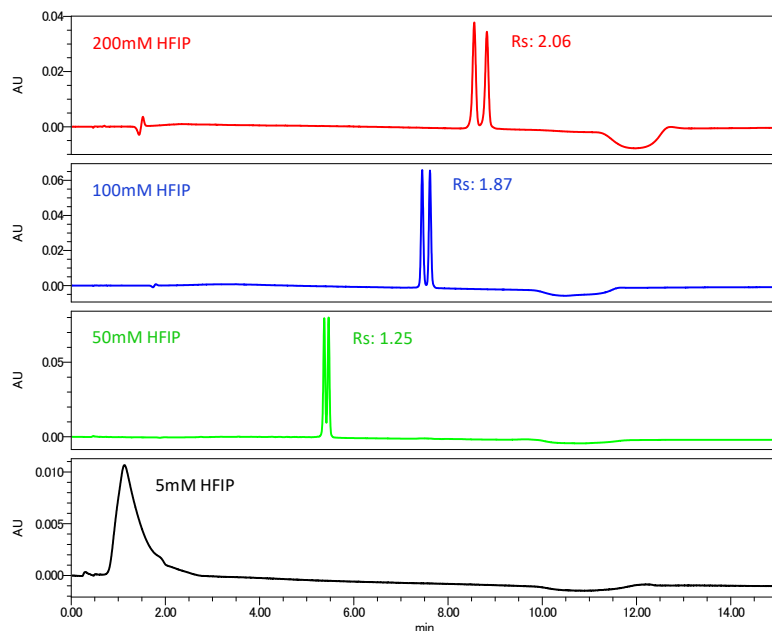
Mixer:

FlexFire C18, 2.6 μm (2.0x50mm)
FlexFire WP C18, 2.6 μm (2.0x50mm): Metal free
FlexFire WP C18, 2.6 μm (2.0x50mm): Stainless
FlexFire WP C8, 2.6 μm (2.0x50mm)
FlexFire WP C4, 2.6 μm (2.0x50mm)
FlexFire mAb-RP, 2.6 μm (2.0x50mm)
A) 100mM HFIP + 10mM TEA
B) A)/Methanol=50/50
UV260nm
20nt (61.4 $\mu\text{g/mL}$)
21nt (63.9 $\mu\text{g/mL}$)
2.0 μL
Waters ACQUITY UPLC H-Class PLUS
100 μL

ワイドポアカラムを使用することで分離度が向上し、FlexFire WP C8にいたってはFlexFire WP C18相当の保持を得ています。従来品と比べても飛躍的に性能が向上していることが分かります。



5. HFIP濃度の影響



Conditions;

Column: FlexFire WP C18, 2.6 μ m (2.0x50mm)
Mobile phase: A) 200mM HFIP+20mM TEA
A) 100mM HFIP+10mM TEA
A) 50mM HFIP+5mM TEA
A) 10mM HFIP+1mM TEA
B) Mobil phase A) / MeOH=50/50

min	mL/min	%A	%B	Curve
0.00	0.3	93	7	
8.60	0.3	73	27	6
8.61	0.3	93	7	6

Temperature: 60°C
Sample: 1. 5'-GUACGCGGAUACUUCGAdTdT-3' (20nt)
2. 5'-CGUACGCGGAUACUUCGAdTdT-3' (21nt)
Injection volume: 1.0 μ L
System: Waters ACQUITY UPLC H-CLASS Plus
Mixer: 100 μ L

HFIP濃度と保持・分離の挙動

HFIP:イオンペア（塩基）を10:1で固定し、HFIP濃度を変化させました。HFIP濃度が5mMの時はピークを形成することができずフロントに溶出していますが、50mMの時にはシャープなピークとして検出されています。しかし、分離の面では20ntと21ntがやや重なる傾向にあります。単一成分の分析であれば、低濃度のHFIPでも十分に検出が可能であることが分かります。

さらに濃度を上げていくと、100mMの時には保持・分離も良好です。200mMでは分離度は大きくなりますが、保持は飽和に近づいていきます。本レポートでは、保持・分離の他に、カラムの耐久性を考慮してHFIP濃度100mMを最適としました。

6. おわりに

核酸オリゴマー分析のカラム選定には、

- ・ワイドポアカラム
- ・シリカゲル基材が低不純物である

ことが重要なポイントになります。また、核酸オリゴマーを分析する移動相条件はHFIP以外にもTEAA（トリエチルアミンアセテート）や添加するイオンペアの組み合わせで結果も変わります。特に、LC/MSでの溶媒選択は感度や残留に大きく影響しますので、カラム・システム・溶媒を総合的に判断して検討する必要があります。

FlexFireは野村化学の登録商標です。

本レポート中に掲載している会社名および製品名は、該当する会社の商標、登録商標になります。

本カタログ中におけるデータ等を無断で複製および転写することを禁止しています。

■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

10060 Carroll Canyon Rd. Ste. 100 San Diego, CA 92131

Phone: 858-800-2433

Web: <https://develosil.us/>

