

高速高分離分析の応用 (その40)

“Nexera”による核酸塩基, ヌクレオシド, ヌクレオチドの分析

High Speed with High Resolution Analysis (Part 40)

Analysis of Nucleobases, Nucleosides, and Nucleotides by “Nexera”

核酸は、塩基・糖・りん酸からなるヌクレオチドがりん酸エステル結合で連なった生体高分子であり、生体内で遺伝情報を担う成分として重要です。この他、核酸関連化合物である核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチドも生体内で様々な働きを持ちます。

ここでは、超高速LCシステム“Nexera”および高速高分離用カラム“Shim-pack XR-ODSⅢ”および“Phenomenex Kinetex C18”を用いた核酸関連化合物の超高速分析ならびに高分離分析例をご紹介します。

K. Tanaka

■核酸塩基, ヌクレオシドの分析

Analysis of Nucleobases and Nucleosides

核酸塩基5成分(アデニン, グアニン, ウラシル, チミン, シトシン)とヌクレオシド5成分(アデノシン, グアノシン, ウリジン, チミジン, シチジン)について、10成分混合標準液(各成分濃度10 mg/L)を調製し、カラムに粒子径 1.7 μmの“Phenomenex Kinetex C18”(100 mm L.×2.1 mm I.D.)を用いて分析を行いました。なお、“Phenomenex Kinetex C18”(粒子径1.7 μm)は、1.25 μmのソリッドコアに0.23 μmの多孔性膜を結合させたCore-shellカラムです。

Fig. 1に混合標準液1 μLを注入したクロマトグラムを、Table 1にその分析条件を示します。

本分析条件により、コンベンショナル分析で30分程度要していた分析時間を1/10(3分)に短縮することができました。なお、本分析におけるシステム負荷圧は約75 MPaでした。

Table 1 分析条件

Analytical Conditions

Column	: Kinetex 1.7 μm C18 100 Å (100 mm L. × 2.1 mm I.D., 1.7 μm)
Mobile Phase	: 200 mmol/L Sodium perchlorate, 100 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH=2.1) aq.
Flow Rate	: 0.7 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 1 μL
Detection	: SPD-20AV at 260 nm
Flow Cell	: Semi-micro Cell

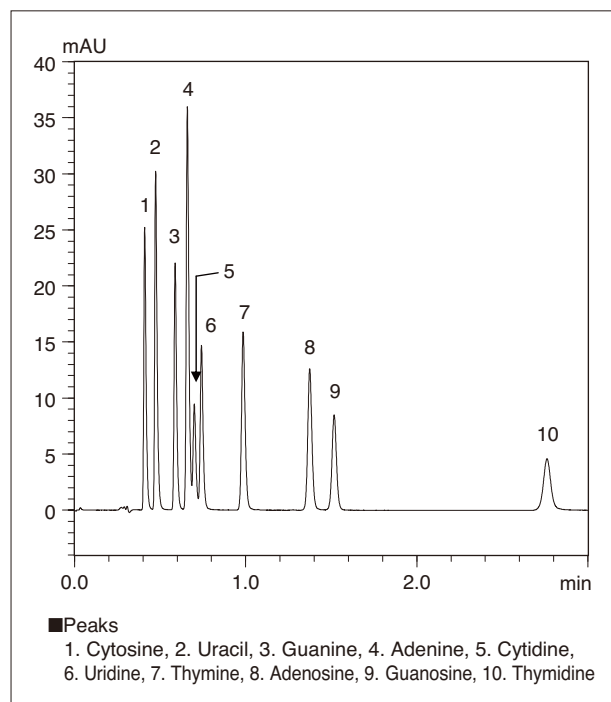


Fig. 1 核酸塩基およびヌクレオシドのクロマトグラム (各10 mg/L)
Chromatogram of a Standard Mixture of Nucleobases and Nucleosides (10 mg/L each)

注)本資料掲載データのように、水溶液100%またはそれに近い組成の移動相を使用する場合、一旦送液停止後再開した際、保持時間が減少することがあります。この現象を防ぐため、分析終了時は送液停止前に有機溶媒を含む移動相(例:水/アセトニトリル=1/1)で置換しておくことをお勧めします。また、分析中に保持時間が徐々に小さくなる場合にも、同様の移動相で洗浄してください。

■ATP関連物質の分析

Analysis of ATP-related Compounds

ATP関連物質6成分（ヒポキサンチン、イノシン、IMP、AMP、ADP、ATP）*について、混合標準液（各成分濃度約10 mg/L）を調製し、カラムに粒子径1.6 μmの“Shim-pack XR-ODSⅢ”（50 mm L.×2.0 mm I.D.）を用いて分析を行いました。

Fig. 2に混合標準液1 μLを注入したクロマトグラムを、Table 2にその分析条件を示します。

本分析条件により、コンベンショナル分析で25分程度要していた分析時間を1/10(2.5分)に短縮することができました。なお、本分析におけるシステム負荷圧は約83 MPaでした。

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack XR-ODSⅢ (50 mm L. × 2.0 mm I.D., 1.6 μm)
Mobile Phase	: 100 mmol/L Phosphoric acid, 150 mmol/L Triethylamine aq. / Acetonitrile =100/1 (v/v)
Flow Rate	: 0.9 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 1 μL
Detection	: SPD-20AV at 260 nm
Flow Cell	: Semi-micro Cell

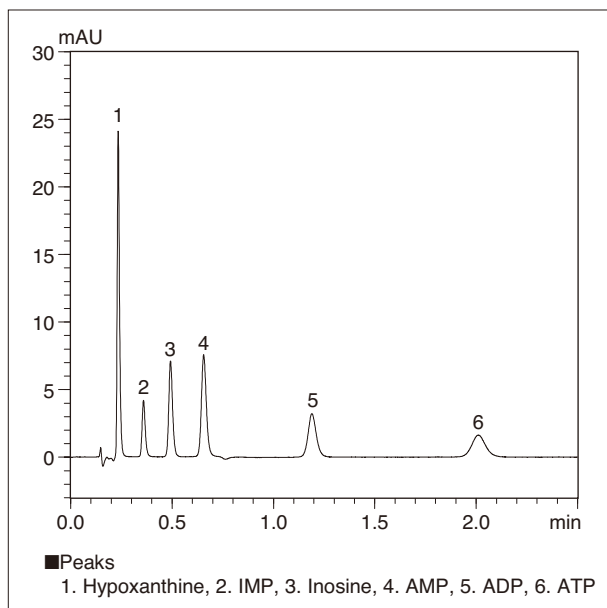


Fig. 2 ATP関連物質のクロマトグラム
Chromatogram of a Standard Mixture of ATP-related Compounds

■ヌクレオチドの分析

Analysis of Nucleotides

ヌクレオチド18成分（AMP、ADP、ATP、GMP、GDP、GTP、UMP、UDP、UTP、TMP、TDP、TTP、CMP、CDP、CTP、IMP、IDP、ITP）*について、混合標準液（各成分濃度約50 mg/L）を調製し、長さ200 mmの高分離用“Shim-pack XR-ODSⅢ”（200 mm L.×2.0 mm I.D., 粒子径2.2 μm）を用いて分析を行いました。

Fig. 3に混合標準液1 μLを注入したクロマトグラムを、Table 3にその分析条件を示します。

本分析条件により、これら18成分の高速高分離分析が可能となりました。なお、本分析におけるシステム負荷圧は約78 MPaでした。

Table 3 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack XR-ODSⅢ (200 mm L. × 2.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile Phase	: A: 100 mmol/L Phosphoric acid, 150 mmol/L Triethylamine aq. B: Mobile Phase A / Acetonitrile =90/10 (v/v) A/B=98/2 (v/v)
Flow Rate	: 0.6 mL/min
Column Temp.	: 50 °C
Injection Volume	: 1 μL
Detection	: SPD-20AV at 260 nm
Flow Cell	: Semi-micro Cell

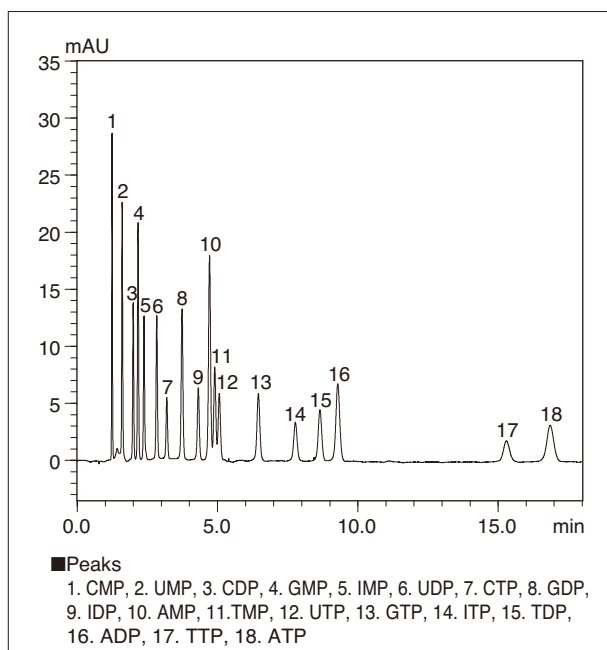


Fig. 3 ヌクレオチドのクロマトグラム
Chromatogram of a Standard Mixture of Nucleotides

* AMP : Adenosine 5' -monophosphate, ADP : Adenosine 5' -diphosphate, ATP : Adenosine 5' -triphosphate, GMP : Guanosine 5' -monophosphate, GDP : Guanosine 5' -diphosphate, GTP : Guanosine 5' -triphosphate, UMP : Uridine 5' -monophosphate, UDP : Uridine 5' -diphosphate, UTP : Uridine 5' -triphosphate, TMP : Thymidine 5' -monophosphate, TDP : Thymidine 5' -diphosphate, TTP : Thymidine 5' -triphosphate, CMP : Cytidine 5' -monophosphate, CDP : Cytidine 5' -diphosphate, CTP : Cytidine 5' -triphosphate, IMP : Inosine 5' -monophosphate, IDP : Inosine 5' -diphosphate, ITP : Inosine 5' -triphosphate

初版発行：2011年4月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津コールセンター

☎0120-131691
TEL:075-813-1691

*本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。