YMC

01

カラム選択のてびき

カラム一覧（HPLC、SFC） ---------- 10-11
USP一覧 ---------- 12
カラム選択のてびき（バイオクロマトグラフィー） ---------- 13
各分離モードの特長 ---------- 14
ペプチド、タンパク質、抗体の逆相分析 ---------- 14-15
ペプチド、タンパク質、抗体の分離例 ---------- 16-17
核酸の分離例 ---------- 18
カラム選択のてびき（低分子有機化合物） ---------- 19
逆相カラム選択ガイド ---------- 20
主要市販逆相カラムの分離選択性比較 ---------- 20
アプリケーション ---------- 21-23

カラム一覧（HPLC、SFC）

製品名			USP Class No.	細孔径 (nm)	粒子径 (μm)	C%	シラノール処理	使用pH範囲	掲載ページ 分析カラム	掲載ページ 分取カラム
逆相系	YMC-Triart	C18	L1	12	1.9, 3, 5	20	あり	1-12	54-57	158, 159
		C18 ExRS	L1	8		25			58, 59	
		C8	L7	12		17			60, 61	
		Phenyl	L11	12		17		1-10	62, 63	
		PFP	L43	12		15	なし	1-8	64, 65	
		Bio C18	L1	30		–	あり	1-12	66-69	
		Bio C4	L26	30		–		1-10		
	Meteoric Core	C18	L1	8	2.7	7	あり	1.5-10	84-87	–
		C18 BIO	L1	16		5				
		C8	L7	8		5		1.5-9		
	Pro シリーズ	*Pro* C18	L1	12	2, 3, 5, 10	16	あり	2-8	93-95	160
		Hydrosphere C18	L1	12	2, 3, 5	12			96, 97	
		Pro C18 RS	L1	8	3, 5	22		1-10	98, 99	
		Pro C8	L7	12	3, 5	10		2-7.5	100, 101	
		Pro C4	L26	12	3, 5	7				
	YMC-Pack	ODS-A	L1	12	3, 5, 10, 15	17	あり	2-7.5	102, 103	161
				20	3, 5, 10	12				
				30	3, 5, 10	7				
		ODS-AM	L1	12	3, 5	17			104, 105	163
		ODS-AQ	L1	12	3, 5, 10, 15	14			106, 107	162
				20	5, 10	10				
		ODS-AL	L1	12	5	17	なし		108, 109	163
		C_8	L7	12	3, 5, 10, 15	10	あり		110, 111	164
				20	5, 10	7				
				30	5, 10	4				
		C_4	L26	12	3, 5, 10	7			112, 113	165
				20	5, 10	5				
				30	5, 10, 15	3				
		TMS	L13	12	3, 5, 10	4			114, 115	166
		Ph	L11	12	3, 5, 10	9			116, 117	166
		CN	L10	12	3, 5, 10	7			118, 119	167
				30	5	3				
		PROTEIN-RP	L26	20	5	4	–	1.5-7.5	120, 121	167
	YMCbasic		L7	20	3, 5	7	あり	2-7.5	122	–
	YMC Carotenoid		L62	–	3, 5	–	–	2-7.5	123	167
	J'sphere ODS	ODS-H80	L1	8	4	22	あり	1-9	124, 125	163
		ODS-M80				14		2-7.5		
		ODS-L80				9				
	YMC-Pack PolymerC18		–	–	6	–	–	2-13	126, 127	–

製品名			USP Class No.	細孔径 (nm)	粒子径 (μm)	C%	シラノール処理	使用pH範囲	掲載ページ 分析カラム	掲載ページ 分取カラム
順相系	YMC-Triart	Diol-HILIC	L20	12	1.9, 3, 5	–	なし	2-10	70, 71	–
順相系	YMC-Triart	SIL	L3	12	3, 5	–	–	2-8	72	–
順相系	YMC-Pack	SIL	L3	12	3, 5, 10, 15, 20	–	–	2-7.5	132, 133	168
順相系	YMC-Pack	SIL-06	L3	6	5, 10	–	–	2-7.5	132, 133	168
順相系	YMC-Pack	Diol-NP	L20	6	5	–	–	2-7.5	136, 137	169
順相系	YMC-Pack	Diol-NP	L20	12	5	–	–	2-7.5	136, 137	169
順相系	YMC-Pack	CN	L10	12	3, 5, 10	–	–	2-7.5	134, 135	167
順相系	YMC-Pack	CN	L10	30	5	–	–	2-7.5	134, 135	167
順相系	YMC-Pack	Polyamine Ⅱ	L111	12	5	–	–	2-7.5	138, 139	169
順相系	YMC-Pack	NH_2	L8	12	5	–	–	2-7.5	140	169
順相系	YMC-Pack	PA-G	–	12	5	–	–	4-7.5	140	–
イオン交換	BioPro IEX	QF	–	non-porous	3, 5	–	–	2-12	26-28	–
イオン交換	BioPro IEX	SF	–	non-porous	3, 5	–	–	2-12	26-28	–
イオン交換	BioPro IEX	QA	–	porous	5	–	–	2-12	26-28	–
イオン交換	BioPro IEX	SP	–	porous	5	–	–	2-12	26-28	–
サイズ排除 シリカ基材(GFC)	YMC-SEC MAB		L20 L59	25	3	–	–	5-7.5	34, 35	–
サイズ排除 シリカ基材(GFC)	YMC-Pack	Diol-60	L20 L33 L59	6	3, 5	–	–	5-7.5	36-38	171
サイズ排除 シリカ基材(GFC)	YMC-Pack	Diol-120	L20 L33 L59	12	3, 5	–	–	5-7.5	36-38	171
サイズ排除 シリカ基材(GFC)	YMC-Pack	Diol-200	L20 L33 L59	20	2, 3, 5	–	–	5-7.5	36-38	171
サイズ排除 シリカ基材(GFC)	YMC-Pack	Diol-300	L20 L33 L59	30	2, 3, 5	–	–	5-7.5	36-38	171
サイズ排除 ポリマー基材(GPC)	YMC-GPC		–	5	10	–	–	–	–	39, 40
サイズ排除 ポリマー基材(GPC)	YMC-GPC		–	10	10	–	–	–	–	39, 40
サイズ排除 ポリマー基材(GPC)	YMC-GPC		–	50	10	–	–	–	–	39, 40
疎水	BioPro HIC HT		–	non-porous	2.3	–	–	2-12	42, 43	–
疎水	BioPro HIC BF		–	non-porous	4	–	–	2-12	44	–
キラル分離	CHIRAL ART	Amylose-SA	L99	–	3, 5	–	–	2-9	74-81	170
キラル分離	CHIRAL ART	Cellulose-SB	–	–	3, 5	–	–	2-9	74-81	170
キラル分離	CHIRAL ART	Cellulose-SC	L119	–	3, 5	–	–	2-9	74-81	170
キラル分離	CHIRAL ART	Cellulose-SJ	–	–	3, 5	–	–	2-9	74-81	170
キラル分離	CHIRAL ART	Cellulose-SZ	–	–	3, 5	–	–	2-9	74-81	170
キラル分離	CHIRAL ART	Amylose-C Neo Amylose-C	L51	–	3, 5	–	–	–	74-81	170
キラル分離	CHIRAL ART	Cellulose-C	L40	–	3, 5	–	–	–	74-81	170
脂肪酸分析用	YMC-Pack FA&ラベル化試薬		–	–	–	–	–	–	146-149	–
脂肪酸分析用	YMC-Pack CA&ラベル化試薬		–	–	–	–	–	–	146-149	–
SFC キラル分離	Alcyon SFC CSP	Amylose-SA	–	–	3, 5	–	–	–	174-178	174-178
SFC キラル分離	Alcyon SFC CSP	Cellulose-SB	–	–	3, 5	–	–	–	174-178	174-178
SFC キラル分離	Alcyon SFC CSP	Cellulose-SC	–	–	3, 5	–	–	–	174-178	174-178
SFC キラル分離	Alcyon SFC CSP	Cellulose-SJ	–	–	3, 5	–	–	–	174-178	174-178
SFC キラル分離	Alcyon SFC CSP	Cellulose-SZ	–	–	3, 5	–	–	–	174-178	174-178
SFC キラル分離	Alcyon SFC CSP	Amylose-C Neo Amylose-C	–	–	3, 5	–	–	–	174-178	174-178
SFC キラル分離	Alcyon SFC CSP	Cellulose-C	–	–	3, 5	–	–	–	174-178	174-178
SFC アキラル分離	Alcyon SFC	Triart C18	–	12	5	20	あり	–	174-178	174-178
SFC アキラル分離	Alcyon SFC	Triart Diol	–	12	5	12	なし	–	174-178	174-178
SFC アキラル分離	Alcyon SFC	Triart PFP	–	12	5	15	なし	–	174-178	174-178
SFC アキラル分離	Alcyon SFC	CN	–	12	5	–	あり	–	174-178	174-178
SFC アキラル分離	Alcyon SFC	SIL	–	12	5	–	–	–	174-178	174-178

USP 一覧

USP Class No.	USP Description	官能基	YMC製品	掲載ページ
L1	Octadecyl silane chemically bonded to porous or non-porous silica or ceramic micro-particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic rod.	C18	YMC-Triart C18	54-57
			YMC-Triart C18 ExRS	58, 59
			YMC-Triart Bio C18	66-69
			Meteoric Core C18	84-87
			Meteoric Core C18 BIO	
			YMC-UltraHT *Pro* C18	93-95
			YMC-Pack *Pro* C18	
			YMC-UltraHT Hydrosphere C18	96, 97
			Hydrosphere C18	
			YMC-Pack *Pro* C18 RS	98, 99
			YMC-Pack ODS-A	102, 103
			YMC-Pack ODS-AM	104, 105
			YMC-Pack ODS-AQ	106, 107
			YMC-Pack ODS-AL	108, 109
			J'sphere ODS-H80	124, 125
			J'sphere ODS-M80	
			J'sphere ODS-L80	
L3	Porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod.	SIL	YMC-Pack SIL	132, 133
			YMC-Pack SIL-06	
			YMC-Triart SIL	72
L7	Octylsilane chemically bonded to totally or superficially porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod.	C8	YMC-Triart C8	60, 61
			Meteoric Core C8	84-87
			YMC-Pack *Pro* C8	100, 101
			YMC-Pack C_8	110, 111
			YMCbasic	122
L8	An essentially monomolecular layer of aminopropylsilane chemically bonded to totally porous silica gel support, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod.	NH2	YMC-Pack NH_2	140
L10	Nitrile groups chemically bonded to porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod.	CN	YMC-Pack CN	118, 119
L11	Phenyl groups chemically bonded to porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod.	Phenyl	YMC-Triart Phenyl	62, 63
			YMC-Pack Ph	116, 117
L13	Trimethylsilane chemically bonded to porous silica particles, 3 to 10 μm in diameter.	C1	YMC-Pack TMS	114, 115
L20	Dihydroxypropane groups chemically bonded to porous silica or hybrid particles, 1.5 to 10 μm in diameter, or a monolithic silica rod.	Diol	YMC-Triart Diol-HILIC	70, 71
			YMC-Pack Diol-NP	136, 137
			YMC-SEC MAB	34, 35
			YMC-Pack Diol	36-38
L26	Butyl silane chemically bonded to totally porous or superficially porous silica particles, 1.5 to 10 μm in diameter.	C4	YMC-Triart Bio C4	66-69
			YMC-Pack *Pro* C4	100, 101
			YMC-Pack C_4	112, 113
			YMC-Pack PROTEIN-RP	120, 121
L27	Porous silica particles, 30 to 50 μm in diameter.	SIL	YMC-Pack SIL-HG	168
L33	Packing having the capacity to separate dextrans by molecular size over a range of 4,000 to 500,000 Da. It is spherical, silica-based, and processed to provide pH stability.	Diol	YMC-Pack Diol	36-38
L40	Cellulose tris-3,5-dimethylphenylcarbamate coated porous silica particles, 3 to 20 μm in diameter.	セルロース誘導体 (Cellulose tris-3,5-dimethylphenylcarbamate)	CHIRAL ART Cellulose-C	74-81
L43	Pentafluorophenyl groups chemically bonded to silica particles by a propyl spacer, 1.5 to 10 μm in diameter.	PFP	YMC-Triart PFP	64, 65
L51	Amylose tris-3,5-dimethylphenylcarbamate-coated, porous, spherical, silica partilces, 3 to 10 μm in diameter.	アミロース誘導体 (Amylose tris-3,5-dimethylphenylcarbamate)	CHIRAL ART Amylose-C Neo CHIRAL ART Amylose-C	74-81
L59	Packing for the size-exclusion separations of proteins (separation by molecular weight) over the range of 5 to 7,000 kDa. The packing is spherical 1.5 to 10 μm, silica or hybrid packing with a hydrophilic coating.	Diol	YMC-SEC MAB	34, 35
			YMC-Pack Diol	36-38
L62	C30 silane bonded phase on a fully porous spherical silica, 3 to 15 μm in diameter.	C30	YMC Carotenoid	123
L99	Amylose tris-(3,5-dimethylphenylcarbamate), immobilized on porous, spherical, silica partilces, 3 to 5 μm in diameter.	アミロース誘導体 (Amylose tris-3,5-dimethylphenylcarbamate)	CHIRAL ART Amylose-SA	74-81
L111	Polyamine chemically bonded to porous spherical silica particles, 5 μm in diameter.	Polyamine	YMC-Pack Polyamine Ⅱ	138, 139
L119	Cellulose tris-(3,5-dichlorophenylcarbamate), immobilized on porous, spherical, silica particles, 3 to 5 μm in diameter.	セルロース誘導体 (Cellulose tris-3,5-dichlorophenylcarbamate)	CHIRAL ART Cellulose-SC	74-81

カラム選択のてびき（バイオクロマトグラフィー）

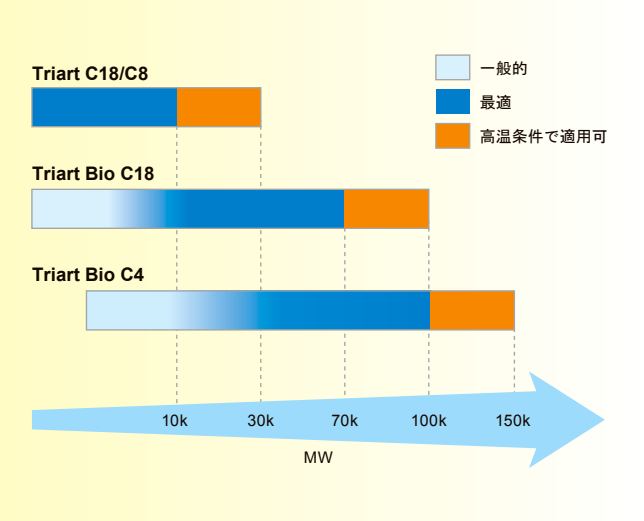
タンパク質 ペプチド	イオン交換		BioPro IEXカラム	チャージバリアントの分離に	p.26-28
	サイズ排除		YMC-SEC MAB	抗体や凝集体の分析に	p.34, 35
			YMC-Pack Diol	分子サイズによる分離に	p.36-38
	疎水		BioPro HIC HT BioPro HIC BF	抗体薬物複合体の薬物結合数の分析に	p.42, 43
	逆相		YMC-Triart C18/C8	分子量3万程度まで適応	p.54-57, 60, 61
			YMC-Triart Bio C18/C4	分子量15万程度までの分離に適したワイドポアカラム	p.66-69
	HILIC		YMC-Triart Diol-HILIC	逆相では保持されにくい高極性化合物の分析に	p.70, 71
核酸	イオン交換	オリゴヌクレオチド 核酸	BioPro IEX カラム	高分離分析に	p.26-28
	サイズ排除	オリゴヌクレオチド 核酸	YMC-Pack Diol	分子サイズによる分離に	p.36-38
	疎水	オリゴヌクレオチド 核酸	BioPro HIC HT BioPro HIC BF	イオン交換などで分離できない場合に	p.42, 43
	逆相	核酸塩基 ヌクレオシド ヌクレオチド	YMC-Triart C18 Hydrosphere C18	水100%移動相で使用可能	p.54-57 p.96, 97
		オリゴヌクレオチド	YMC-Triart C18/C8 YMC-Triart Bio C18/C4	高分離分析に LC-MSに有効	p.54-57, 60, 61 p.66-69
	HILIC	核酸塩基 ヌクレオシド ヌクレオチド	YMC-Triart Diol-HILIC YMC-Pack Polyamine Ⅱ	高極性化合物の分析に	p.70, 71 p.138, 139
糖類	サイズ排除		YMC-Pack Diol	糖類の分析や分子量測定に	p.36-38
	逆相		YMC-Triart C18 Hydrosphere C18	水100%移動相で使用可能	p.54-57 p.96, 97
	HILIC		YMC-Triart Diol-HILIC YMC-Pack Polyamine Ⅱ	高極性化合物の分析に	p.70, 71 p.138, 139

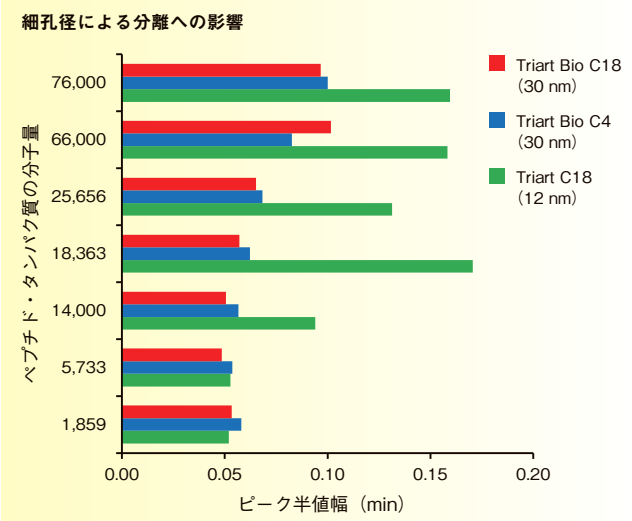
各分離モードの特長

	イオン交換 BioPro IEXカラム	サイズ排除 YMC-SEC MAB YMC-Pack Diol	疎 水 BioPro HIC HT BioPro HIC BF	逆 相 YMC-Triart
分離の原理	電荷	分子サイズ	疎水性	疎水性
適用分子量	数百万まで	約100万まで	数百万まで	約15万まで
分　離　能	+++	++	+++	+++
ス ピ ー ド	++ ～ +++	+	+++	+++
試料負荷量	+++	++	+++	++
試料安定性	+++	+++	+++	+ ～ ++
用　途	チャージバリアント分析	凝集体分析 フラグメント分析	抗体薬物複合体の 薬物結合数分析	ペプチドマッピング LC-MS 構造解析

ペプチド、タンパク質、抗体の逆相分析

分子量を指標としたTriartカラム選択の目安

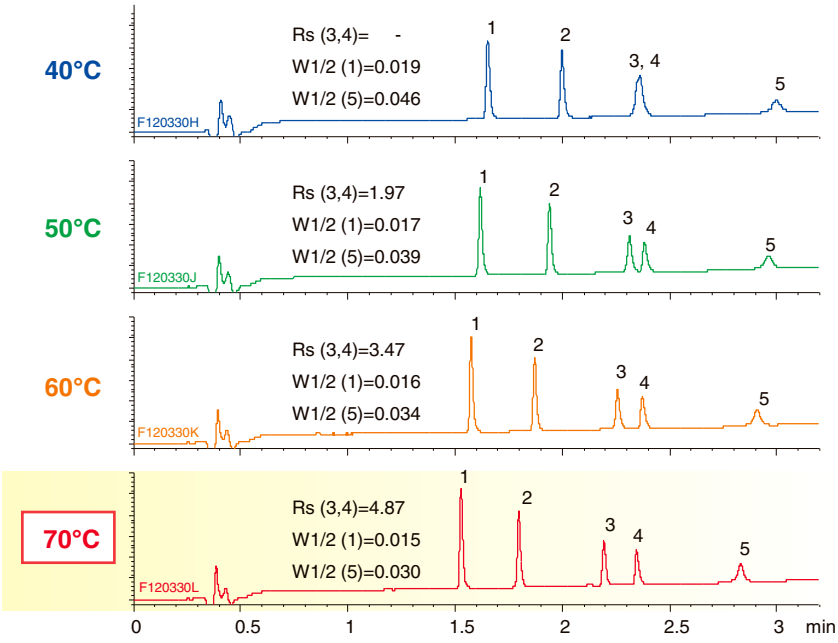




逆相カラムの選定は、上図を参考にして、分離対象物質の分子量や疎水性を目安に行います。右のグラフでは、分子量1,859から76,000までのペプチド、タンパク質について、細孔径30 nmのTriart Bio C18とTriart Bio C4、細孔径12 nmのTriart C18でピークの半値幅を比較しています。ペプチドなどの分子量が1万程度までの物質の分離には、細孔径が12 nmのTriart C18やTriart C8が有効です。分子量が1万以上のタンパク質では、分子が十分に拡散できる細孔径30 nmのワイドポアカラムが適しています。Triart Bio C4は細孔径が30 nmで、高温条件との組み合わせで分子量15万程度の抗体の分析にも適用できます。また、分子量のほか、分離対象物の疎水性も考慮してC18、C8、C4などから最適なカラムを選定します。

Column	: 150×3.0 mmI.D.
Eluent	: A) water/TFA (100/0.1) B) acetonitrile/TFA (100/0.1) 10-95%B (0-15 min)
Flow rate	: 0.4 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: UV at 220 nm
Injection	: 4 μL (0.1-0.5 mg/mL)
Sample	: γ-Endorphin (MW 1,859), Insulin (MW 5,733), Lysozyme (MW 14,000), β-Lactoglobulin (MW 18,363), α-Chymotrypsinogen A (MW 25,656), BSA (MW 66,000), Conalbumin (MW 76,000)

カラム温度の効果

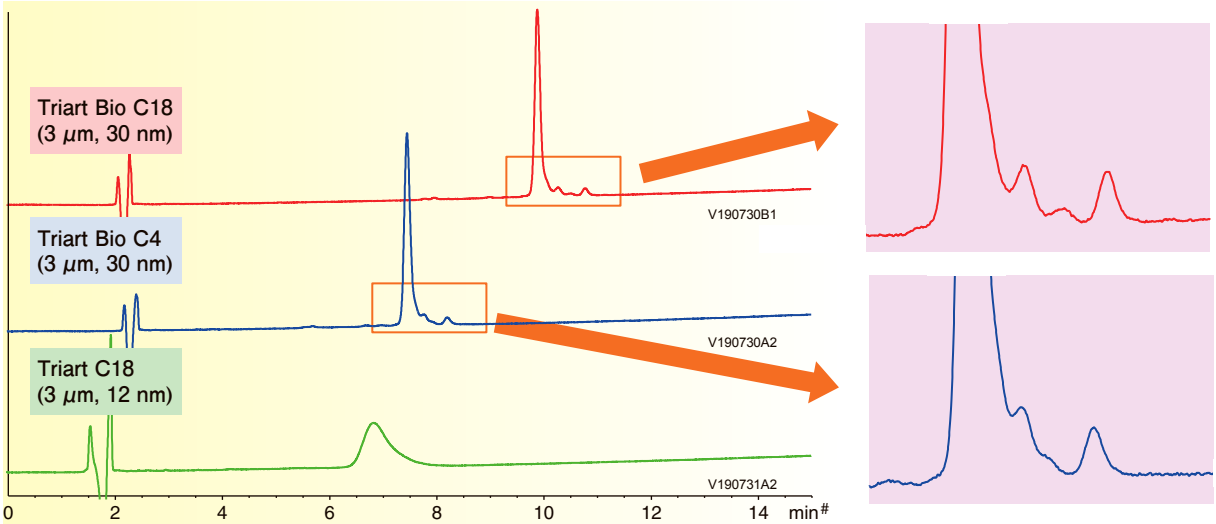


1. Oxytocin (MW 1,007)
2. Leu-Enkephalin (MW 556)
3. β-Endorphin (MW 3,465)
4. Insulin (MW 5,733)
5. β-Lactoglobulin A (MW 18,400)

Column : YMC-Triart C18 (1.9 μm, 12 nm) 50×2.0 mmI.D.
Eluent : A) water/TFA (100/0.1)
B) acetonitrile/TFA (100/0.1)
10-80%B (0-5 min)
Flow rate : 0.4 mL/min
Detection : UV at 220 nm

高温条件では、分離選択性の変化やピークがシャープになることで、分離度が向上しています。高温条件でのピーク形状改善の効果は、タンパク質の分子量が大きいほど顕著となります。

ヒト成長ホルモン（MW 22,000）の分離例



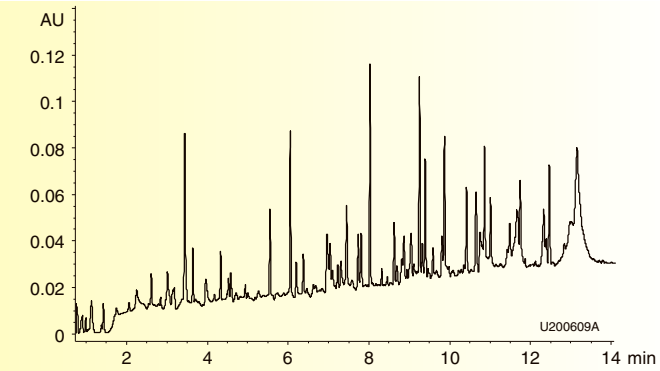
Column : 150×3.0 mmI.D.
Eluent : A) water/TFA (100/0.1)
B) acetonitrile/TFA (100/0.08)
50-70%B (0-15 min)
Flow rate : 0.425 mL/min
Temperature : 40°C
Detection : UV at 220 nm
Injection : 8 μL
Sample : Human growth hormone (0.1 mg/mL)

分子量22,000のペプチドであるヒト成長ホルモンを、細孔径30 nmのTriart Bio C18とTriart Bio C4、細孔径12 nmのTriart C18で分析しています。タンパク質など分子量の大きい化合物では、分子が十分に拡散できるワイドポアカラムが有効です。また、この分離例では、官能基（充填剤のリガンド）が長いTriart Bio C18の方がTriart Bio C4よりも近接ピークの分離が良好です。

ペプチド、タンパク質、抗体の分離例

ペプチドマッピング

逆相 **YMC-Triart C18 1.9 μm, 100×2.0 mmI.D.**

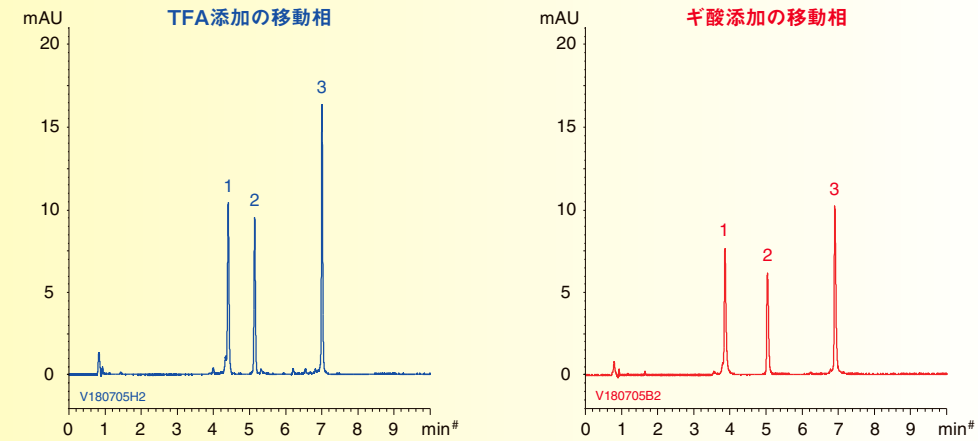


Eluent	: A) water/TFA (100/0.1) B) acetonitrile/TFA (100/0.1) 2%B (0-0.67 min), 2-45%B (0.67-14 min), 45-100%B (14-16 min)
Flow rate	: 0.6 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: UV at 215 nm
Injection	: 10 μL
Sample	: Tryptic digest of monoclonal antibody

Triart 1.9 μmカラムは極めて高い分解能を有しており、また、流速を上げても分離能が低下しないため、ペプチドマッピングなど構成成分が複雑で分離が難しい試料の分析においても高速分析が可能です。

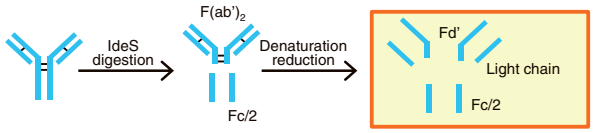
抗体フラグメントの分離

逆相 **YMC-Triart Bio C4 1.9 μm, 150×2.1 mmI.D.**



1. Fc/2
2. Light chain
3. Fd'

【Sample】

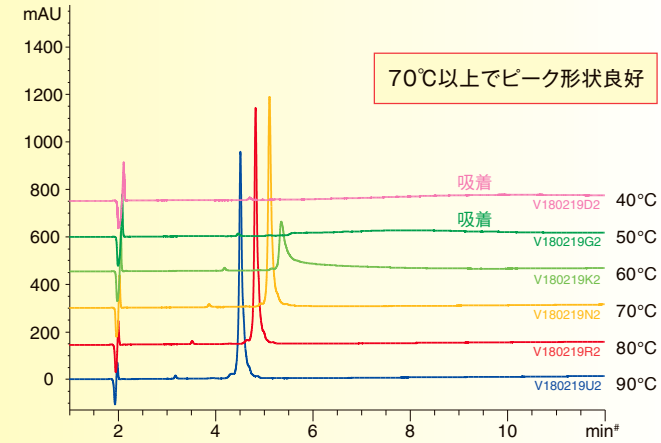


抗体の消化断片をTFAもしくはギ酸を添加した移動相でそれぞれ分析しています。Triartではギ酸を添加した移動相条件でも良好なピーク形状を示すため、LC-MSでの高感度分析に有効です。

Eluent	: A) water/TFA (100/0.1)
<TFA>	B) acetonitrile/TFA (100/0.1) 25-50%B (0-10 min), 90%B (10-12.5 min)
Eluent	: A) water/formic acid (100/0.1)
<Formic acid>	B) acetonitrile/formic acid (100/0.1) 20-45%B (0-10 min), 90%B (10-12.5 min)
Flow rate	: 0.4 mL/min
Temperature	: 80°C
Detection	: UV at 280 nm
Injection	: 4 μL (0.25 mg/mL)

モノクローナル抗体の分離

逆相 **YMC-Triart Bio C4 3 μm, 150×3.0 mmI.D.**

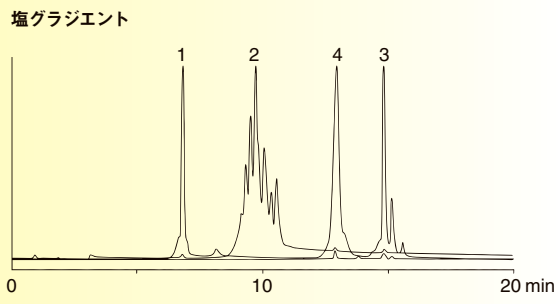


Eluent	: A) water/TFA (100/0.1) B) acetonitrile/TFA (100/0.1) 30-60%B (0-15 min), 90%B (15-30 min)
Flow rate	: 0.4 mL/min
Detection	: UV at 220 nm
Injection	: 4 μL
Sample	: Humanized monoclonal IgG1

Triart Bio C4を用い、インタクトモノクローナル抗体を40℃から90℃までの各温度で分析しています。50℃まではピークが溶出していないのに対し、70℃以上では良好なピーク形状が得られています。このように逆相での抗体分析は高温条件が用いられますが、耐久性に優れたTriart Bio C4は90℃でも安定した分析が可能です。

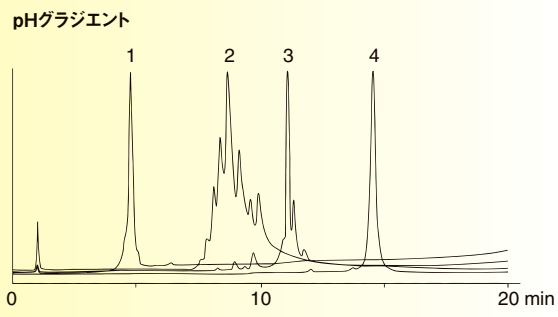
抗体のチャージバリアント分析

イオン交換 **BioPro IEX SF 5 μm, 100×4.6 mmI.D.**



1. Natalizumab (ヒト化 IgG4, pI=7.3)
2. Cetuximab (キメラ IgG1, pI=7.9)
3. Adalimumab (完全ヒト IgG1, pI=8.4)
4. Denosumab (完全ヒト IgG2, pI=8.8)

Eluent	: A) 10 mM MES-NaOH (pH 5.7) B) 10 mM MES-NaOH (pH 5.7) containing 1 M NaCl 0-20%B (0-20 min)
Flow rate	: 0.6 mL/min



Eluent	: A) CX-1 pH Gradient Buffer A* (pH 5.6) B) CX-1 pH Gradient Buffer B* (pH 10.2) 0-100%B (0-20 min)
Flow rate	: 0.6 mL/min

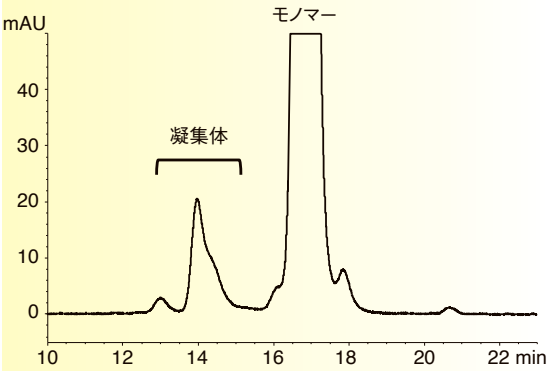
*Purchased from Thermo Fisher Scientific Inc.

J. Pharm. Biomed. Anal., 2015, 111, 169-176.

塩グラジエントモードおよびpHグラジエントモードでモノクローナル抗体を分析しています。非特異的吸着が極めて小さいBioPro IEX SFでは、どちらのモードにおいてもシャープなピークが得られ、チャージバリアントやアイソフォームなどの分離に有効です。

モノクローナル抗体の凝集体分析

サイズ排除 **YMC-SEC MAB 3 μm, 300×4.6 mmI.D.**

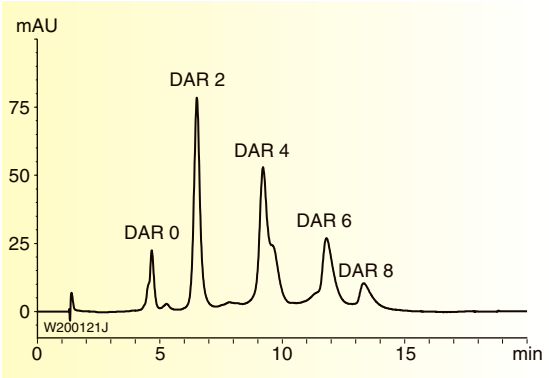


Eluent	: 0.1 M KH_2PO_4-K_2HPO_4 (pH 7.0) containing 0.2 M NaCl
Flow rate	: 0.165 mL/min
Temperature	: 25°C
Detection	: UV at 280 nm
Injection	: 10 μL
Sample	: Humanized monoclonal antibody (5 mg/mL)

ヒト化モノクローナル抗体をYMC-SEC MABを用いて分析しました。ピーク形状も良好で、メインピークとその前の凝集体と想定されるピークも十分に分離できています。

抗体薬物複合体（ADC）の薬物結合数（DAR）の測定

疎水 **BioPro HIC HT 2.3 μm, 100×4.6 mmI.D.**



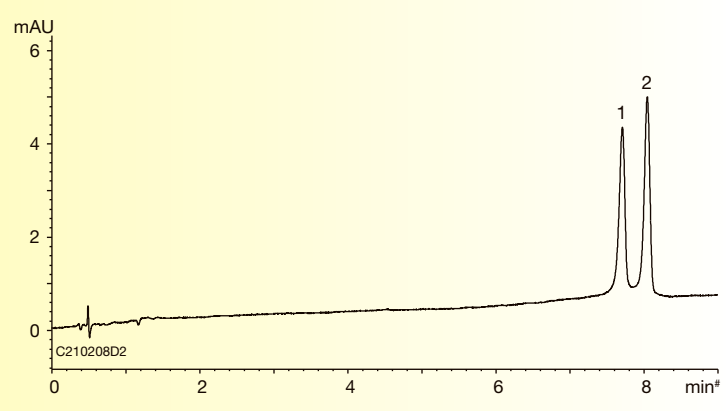
Eluent	: A) 20 mM NaH_2PO_4-Na_2HPO_4 (pH 7.0) containing 1.0 M $(NH_4)_2SO_4$ B) 20 mM NaH_2PO_4-Na_2HPO_4 (pH 7.0)/2-propanol (90/10) 0-100%B (0-15 min), 100%B (15-20 min)
Flow rate	: 0.5 mL/min
Temperature	: 25°C
Detection	: UV at 280 nm
Injection	: 10 μL
Sample	: Brentuximab vedotin (2.5 mg/mL)

疎水クロマトグラフィー用カラムBioPro HIC HTは、ADCの分離に優れ、DARの測定に有用です。

核酸の分離例

ホスホロチオエート型オリゴ核酸の分離

逆相 **YMC-Triart Bio C18 1.9 μm, 50×2.1 mmI.D.**



1. 5'-U^C^A^U^C^A^C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^A^A^U-3'
   (RNA 20mer All PS)
2. 5'-G^U^C^A^U^C^A^C^A^C^U^G^A^A^U^A^C^C^A^A^U-3'
   (RNA 21mer All PS)

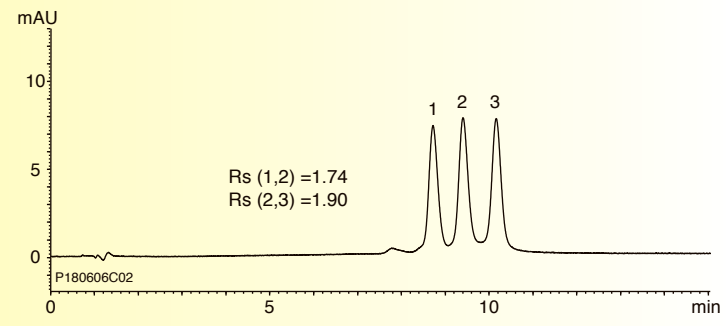
^=Phosphorothioated

Eluent	: A) 15 mM triethylamine-400 mM HFIP*
	B) methanol
	8-17%B (0-9 min)
Flow rate	: 0.42 mL/min
Temperature	: 65°C
Detection	: UV at 260 nm
Injection	: 1 μL (each 1.0 nmol/mL)

*1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol

Triart Bio C18は、ホスホロチオエート型（S化）オリゴ核酸の分離において良好なピーク形状を示し、鎖長1塩基違いも良好に分離できています。

イオン交換 **BioPro IEX QF 5 μm, 100×4.6 mmI.D.**



BioPro IEXカラムでは、S化オリゴ核酸のPO型不純物の分離において、良好な結果が得られています。

Single-stranded DNA (15mer)

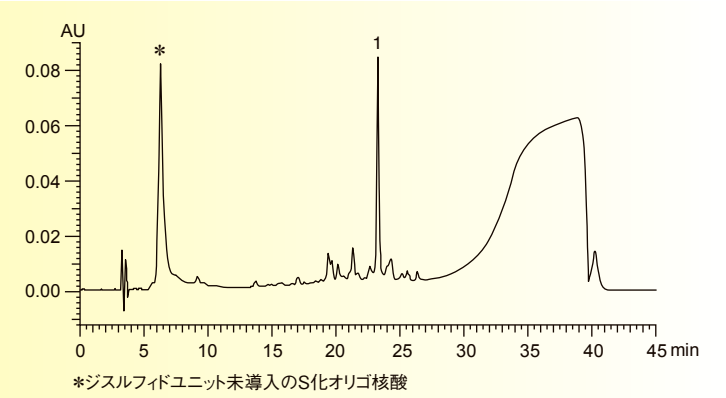
1. 5'-T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^TTT-3'
   (DNA 15mer 12PS, 2PO)
2. 5'-T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^TT-3'
   (DNA 15mer 13PS, 1PO)
3. 5'-T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^T^T-3'
   (DNA 15mer All PS)

^=Phosphorothioated

Eluent	: A) 10 mM NaOH
	B) 10 mM NaOH containing 1.0 M $NaClO_4$
	40-70%B (0-15 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Temperature	: 25°C
Detection	: UV at 260 nm
Injection	: 6 μL (each 3.3 nmol/mL)

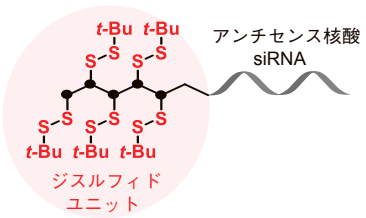
化学修飾型オリゴ核酸（ジスルフィド核酸）の分離

逆相 **YMC-Triart Bio C4 5 μm, 250×4.6 mmI.D.**



高疎水性のジスルフィドユニットを導入したS化オリゴ核酸の分離において、Triart Bio C4で良好なピーク形状が得られたクロマトグラムを示しています。C18カラムでは疎水性相互作用が強く溶出できないような修飾型オリゴ核酸の分離には、固定相のアルキル鎖が短いC4カラムTriart Bio C4が有効です。

1. ジスルフィド核酸



Eluent	: A) 50 mM TEAA* (pH 7.0)/acetonitrile (95/5)
	B) acetonitrile
	5-95%B (0-30 min), 95%B (30-35 min),
	95-5%B (35-35.1 min), 5%B (35.1-45 min)
Flow rate	: 1 mL/min
Temperature	: 50°C
Detection	: UV at 260 nm
Sample	: crude reaction mixture

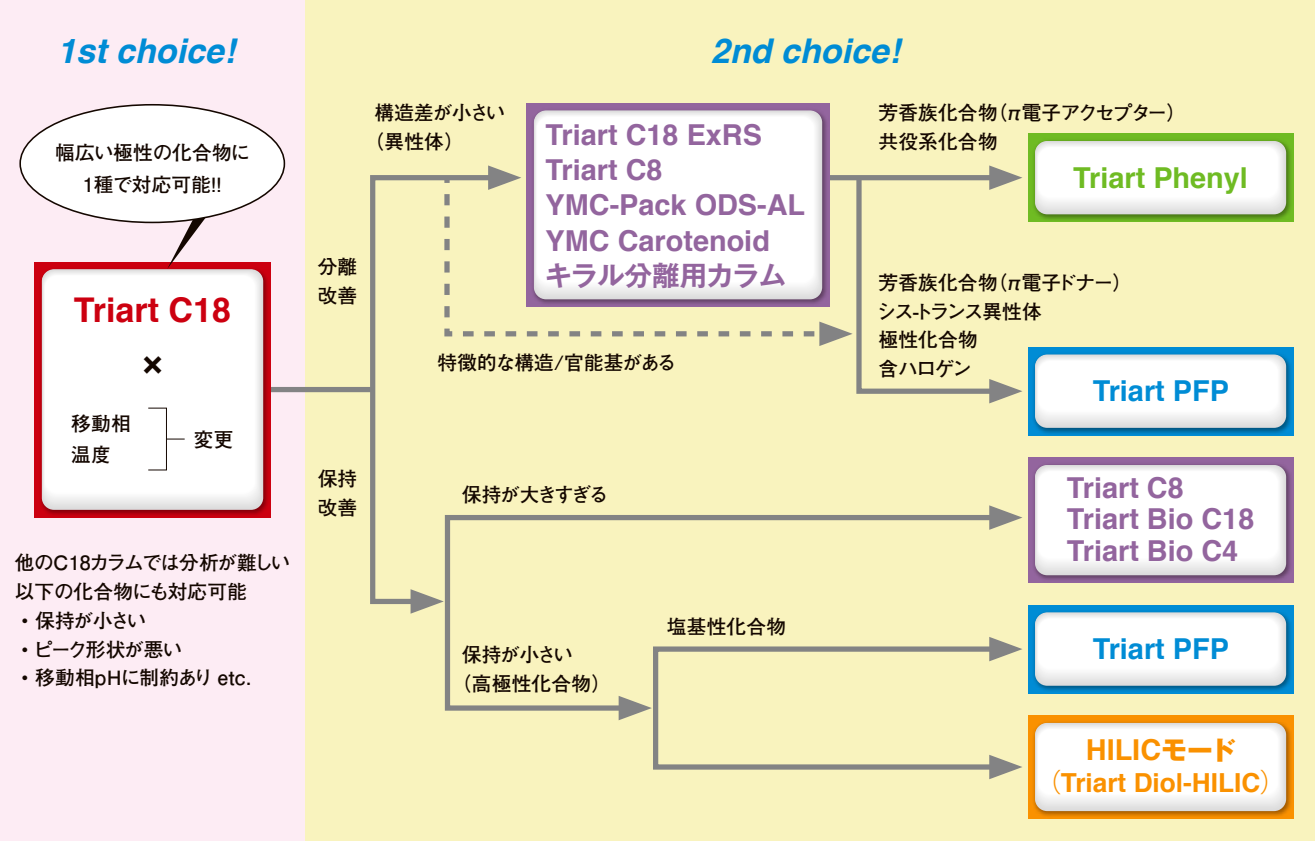
*triethylammonium acetate

Courtesy of Saki Kawaguchi, Chemistry Department, Nagoya University, Japan

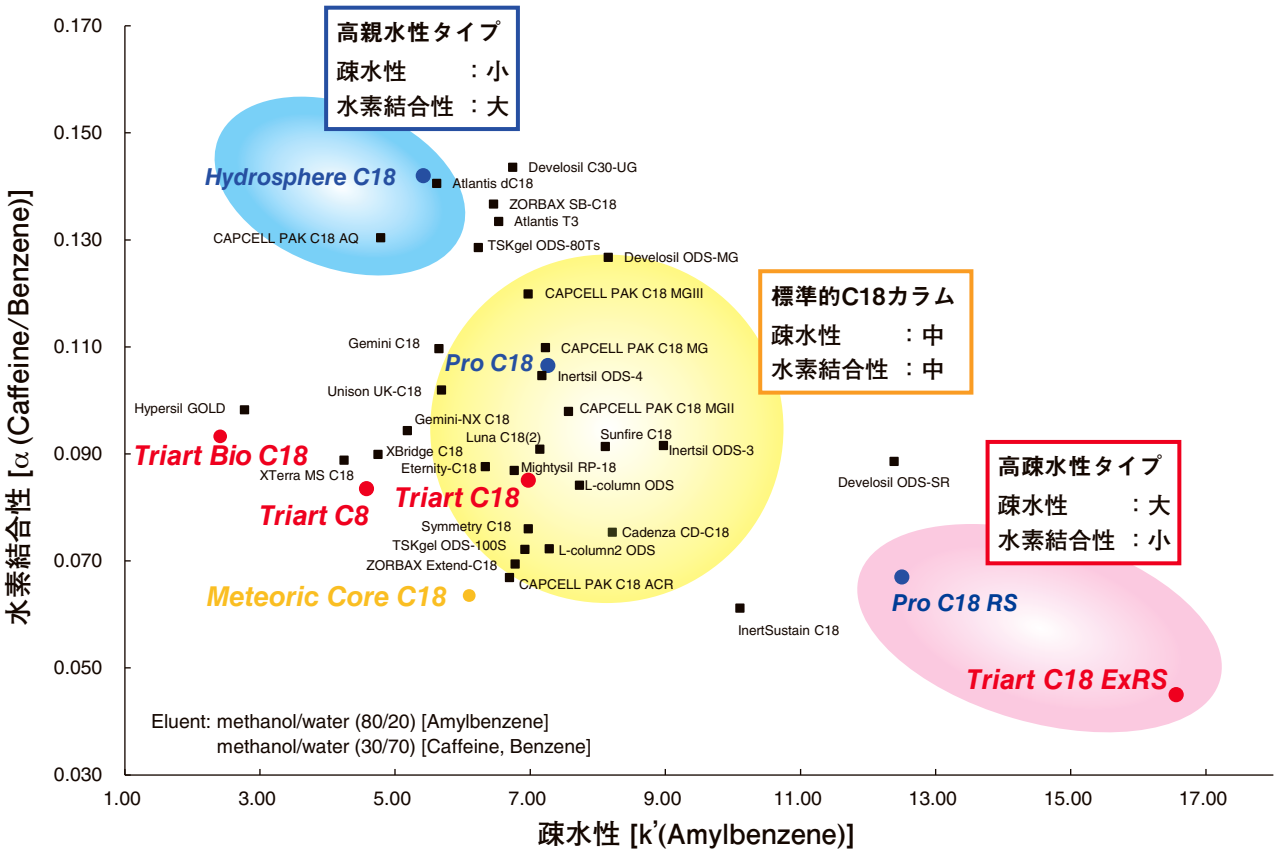
カラム選択のてびき（低分子有機化合物）

医薬・農薬 代謝物 食品添加物 天然物 その他	逆相		YMC-Triart C18	逆相分析のファーストチョイス	p.54-57
			YMC-Triart C18 ExRS, C8, Phenyl, PFP, Bio C18	Triart C18とは異なる選択性	p.58-69
	順相		YMC-Pack SIL, SIL-06	順相カラムの標準	p.132, 133
			YMC-Pack Diol-NP	シリカゲルとは異なる分離を示す順相カラム	p.136, 137
	HILIC		YMC-Triart Diol-HILIC	逆相では保持されにくい高極性化合物の分析に	p.70, 71
ビタミン	逆相	水溶性ビタミン	YMC-Triart C18	水100%移動相で使用可能 （イオンペア試薬や緩衝液を用いて保持可能）	p.54-57
		脂溶性ビタミン	YMC-Triart C18	ファーストチョイスのC18	p.54-57
			YMC-Pack ODS-AL	ノンエンドキャップのC18　構造の近い化合物同士の分離に	p.108, 109
			YMC Carotenoid (C30)	C18とは異なる分離選択性	p.123
	HILIC	水溶性ビタミン	YMC-Pack Polyamine Ⅱ, NH_2	ビタミンCなどの分離に（HILICモードとして）	p.138-140
			YMC-Triart Diol-HILIC	多成分一斉分析に有効	p.70, 71
	順相	脂溶性ビタミン	YMC-Pack SIL, SIL-06	トコフェロールなどの分離に	p.132, 133
			YMC-Pack Polyamine Ⅱ		p.138, 139
有機酸 脂肪酸	逆相	有機酸	YMC-Triart C18	水100%移動相で使用可能	p.54-57
		ラベル化体	YMC-Pack FA	簡便なラベル化法による高感度分析が可能	p.146-149
			YMC-Pack CA		
	順相		YMC-Pack SIL, SIL-06	順相カラムの標準	p.132, 133
リン脂質	逆相		YMC-Triart C18	分子種分離に	p.54-57
	順相		YMC-Pack SIL, SIL-06	クラス種分離に	p.132, 133
			YMC-Pack Diol-NP		p.136, 137
アミノ酸	HILIC	フリーアミノ酸	YMC-Triart Diol-HILIC	HILICモードでアミノ酸20種の一斉分析も可能	p.70, 71
	逆相	フリーアミノ酸	YMC-Triart C18	水100%移動相で使用可能	p.54-57
			Hydrosphere C18	疎水性の高いアミノ酸に有効	p.96, 97
		ラベル化体	YMC-Triart C18	ファーストチョイスのC18	p.54-57
構造異性体	逆相		YMC-Triart C18 ExRS	高官能基密度型で平面認識能に優れたC18	p.58, 59
			YMC Carotenoid (C30)	カロテノイドの分離に有効	p.123
			YMC-Triart C8	Triart C18とは異なる分離　構造異性体の分離にも有効	p.60, 61
			YMC-Triart PFP	極性化合物、異性体の分離に有効	p.64, 65
			CHIRAL ART	構造異性体の分離にも有効	p.74-81
	順相		YMC-Pack SIL, SIL-06	順相カラムの標準	p.132, 133
			CHIRAL ART	構造異性体の分離にも有効	p.74-81
光学異性体			CHIRAL ART	光学異性体の分離に	p.74-81

逆相カラム選択ガイド



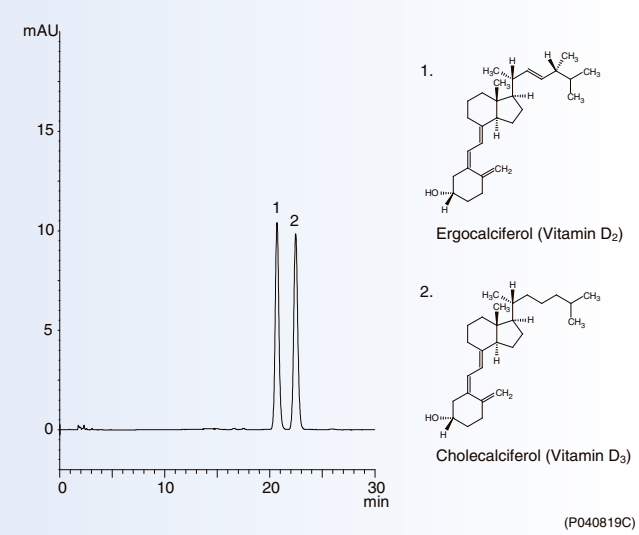
主要市販逆相カラムの分離選択性比較



Application

逆相 ビタミンD

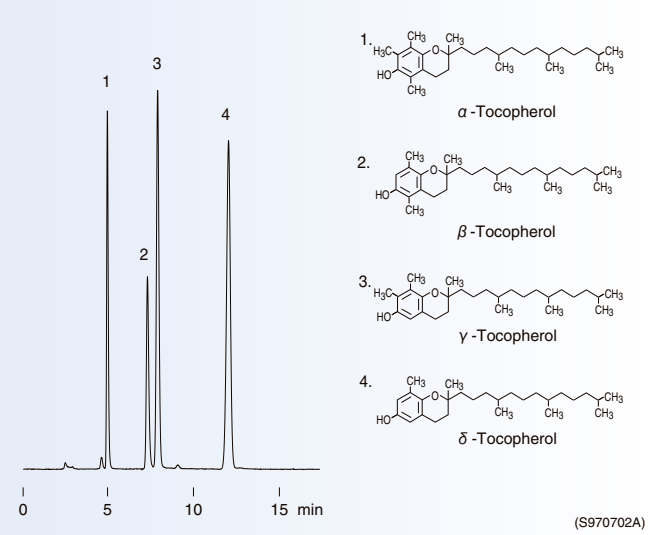
構造の近い化合物同士の分離



Column	: YMC-Pack ODS-AL (5 μm, 12 nm) 150×4.6 mmI.D.
Eluent	: acetonitrile/water (95/5)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: UV at 265 nm
Injection	: 10 μL (0.01 mg/mL)

順相 ビタミンE（トコフェロール）

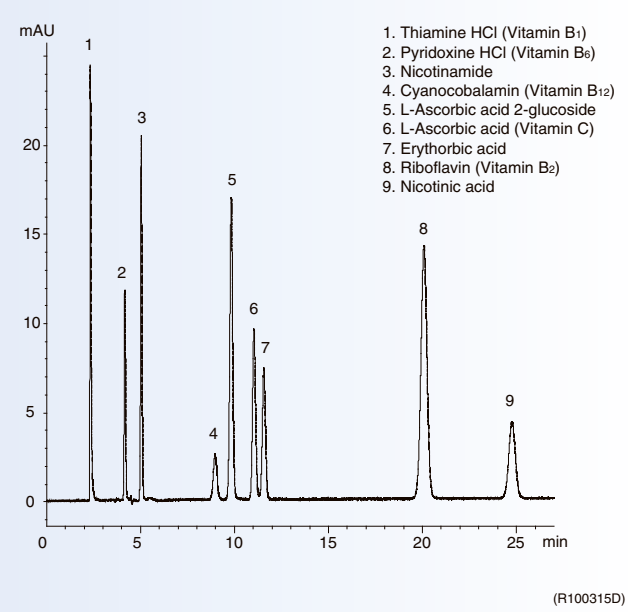
トコフェロール同族体の分離



Column	: YMC-Pack SIL (5 μm, 12 nm) 250×4.6 mmI.D.
Eluent	: *n*-hexane/2-propanol/acetic acid (1000/6/5)
Flow rate	: 1.4 mL/min
Temperature	: 35°C
Detection	: FLS at Ex 298 nm, Em 325 nm
Injection	: 20 μL (5-20 μg/mL)

逆相 水溶性ビタミン

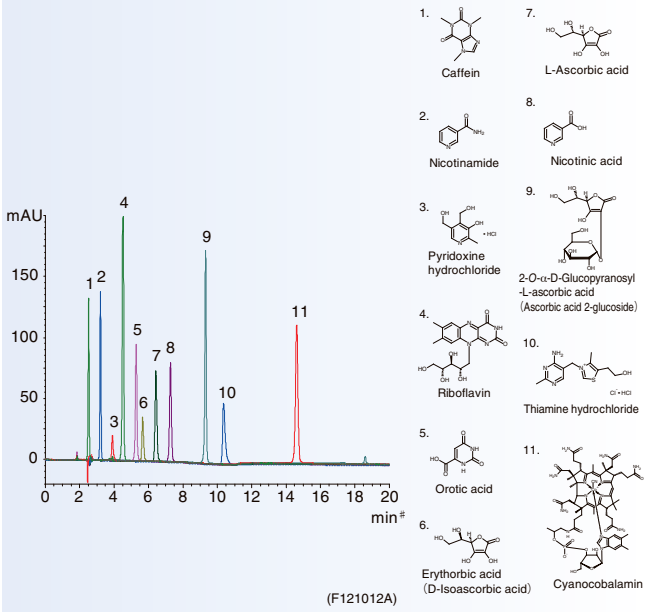
イオンペア試薬を用いて、水比率の高い移動相で分離



Column	: YMC-Triart C18 (5 μm, 12 nm) 250×4.6 mmI.D.
Eluent	: phosphate buffer*/acetonitrile (90/10)
	**Dissolve 1.4 g KH_2PO_4 in 800 mL water → add 26 mL 10% TBA·OH → adjust pH 5.2 by 20% H_3PO_4 → add water to make 1000 mL*
Flow rate	: 0.8 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: UV at 260 nm
Injection	: 10 μL (5 μg/mL)

HILIC 水溶性ビタミン

HILICモードで分離



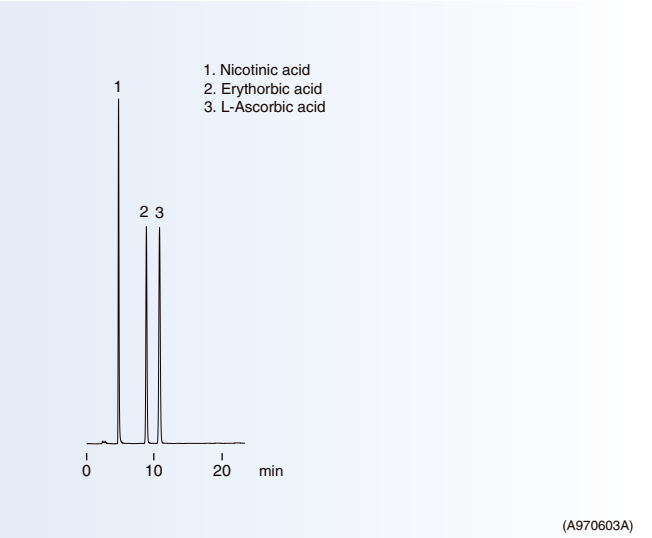
Column	: YMC-Triart Diol-HILIC (5 μm, 12 nm) 150×3.0 mmI.D.
Eluent	: A) acetonitrile/water (90/10) containing 10 mM $HCOOH$-$HCOONH_4$ (pH 3.6)* B) acetonitrile/water (50/50) containing 10 mM $HCOOH$-$HCOONH_4$ (pH 3.6)* 0-75%B (0-20 min)
Flow rate	: 0.425 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: UV at 254 nm
Injection	: 4 μL (50 μg/mL)

*pH value of 200 mM buffer solution

Application

HILIC ビタミンC（アスコルビン酸）

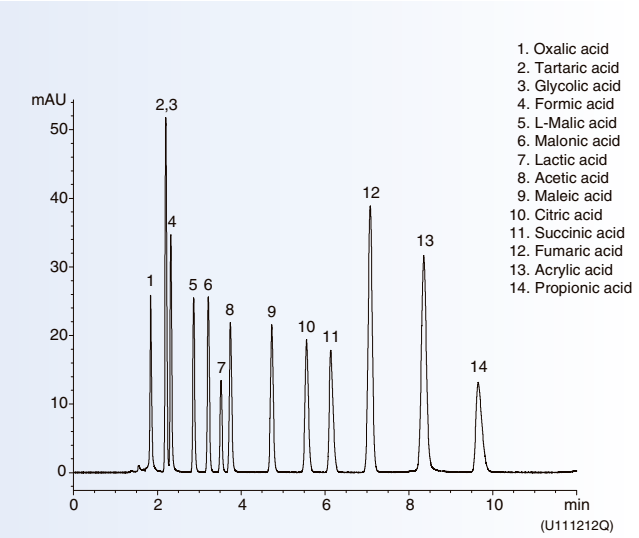
HILICモードで分離



Column	: YMC-Pack Polyamine II 250×4.6 mmI.D.
Eluent	: acetonitrile/50 mM $NH_4H_2PO_4$ (70/30)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Temperature	: 30°C
Detection	: UV at 250 nm
Injection	: 10 μL (0.05-0.1 mg/mL)

逆相 有機酸

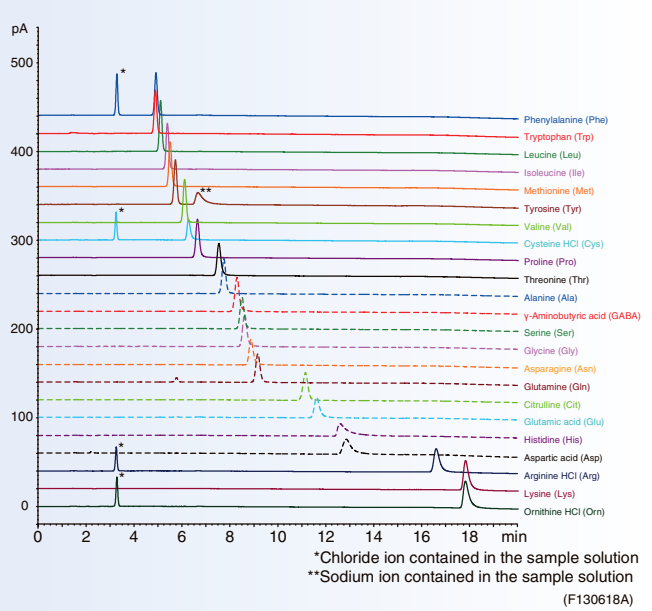
水100%移動相で分離



Column	: YMC-Triart C18 (3 μm, 12 nm) 150×3.0 mmI.D.
Eluent	: 20 mM phosphoric acid
Flow rate	: 0.425 mL/min
Temperature	: 37°C
Detection	: UV at 220 nm
Injection	: 2 μL (0.005-1.5 mg/mL)

HILIC アミノ酸

HILICモードでアミノ酸の一斉分析も可能

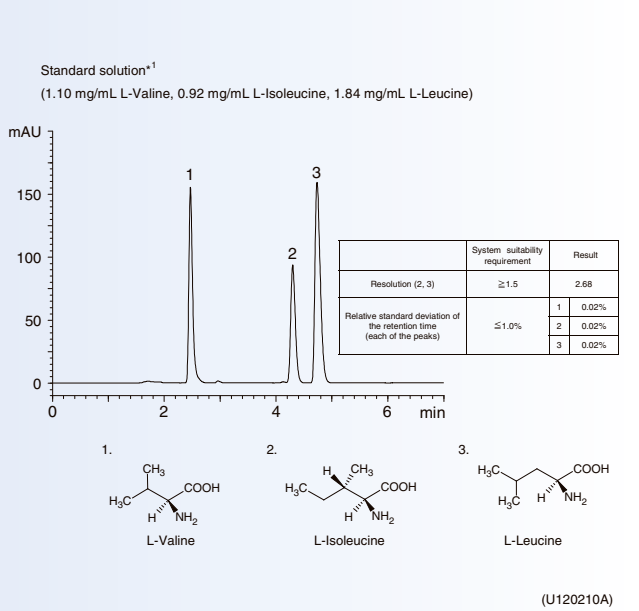


Column	: YMC-Triart Diol-HILIC (5 μm, 12 nm) 150×4.6 mmI.D.
Eluent	: A) 100 mM HCOOH-$HCOONH_4$ (pH 3.6) B) acetonitrile 83-80%B (0-12 min), 80-68%B (12-20 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: Corona® CAD® (Charged Aerosol Detector)
Injection	: 10 μL (0.1 mg/mL)

Corona and CAD are trademarks of Thermo Fisher Scientific.

逆相 アミノ酸

水比率の高い移動相で、疎水性のアミノ酸を分離（JP条件）



	System suitability requirement		Result
Resolution (2, 3)	≧1.5		2.68
Relative standard deviation of the retention time (each of the peaks)	≦1.0%	1	0.02%
		2	0.02%
		3	0.02%

Column	: YMC-Triart C18 (3 μm, 12 nm) 150×4.6 mmI.D.
Eluent	: phosphate buffer (pH 2.8)*2/acetonitrile (97/3) *2 Dissolve 31.2 g of $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ in 1000 mL of water and adjust pH 2.8 with H_3PO_4
Flow rate	: 0.9 mL/min (adjust the flow rate so that the retention time of L-Valine is about 2.5 min)
Temperature	: 40°C
Detection	: UV at 210 nm
Injection	: 20 μL

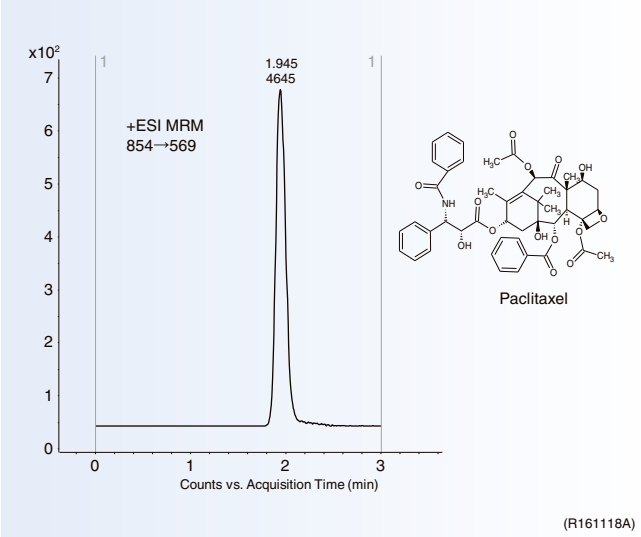
(The Japanese Pharmacopoeia 17th; Identification)

*1 Standard solution was prepared from L-Valine, L-Isoleucine and L-Leucine supplied as a reagent for laboratory use.

Application

逆相 医薬品

医薬品のLC-MS分析

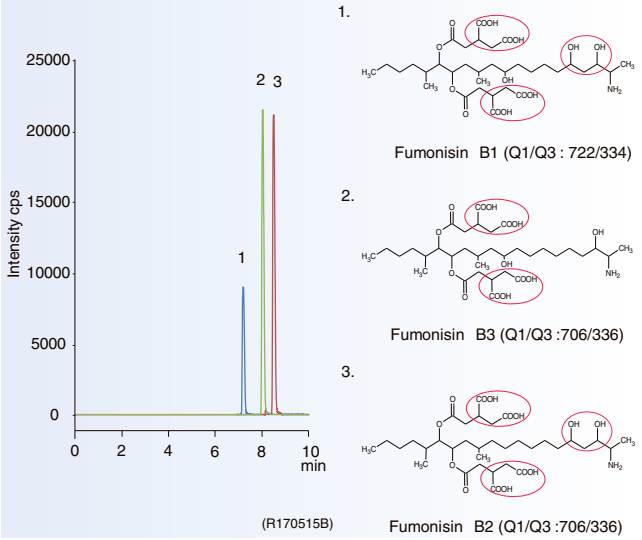


Courtesy of Gyeong Sang National University

Column	: YMC-Triart C18 (3 μm, 12 nm) 50×2.0 mmI.D.
Eluent	: acetonitrile/0.1% formic acid (45/55)
Flow rate	: 0.3 mL/min
Temperature	: 30°C
Detection	: ESI positive
Injection	: 2 μL (1 μg/mL)

逆相 金属配位性化合物

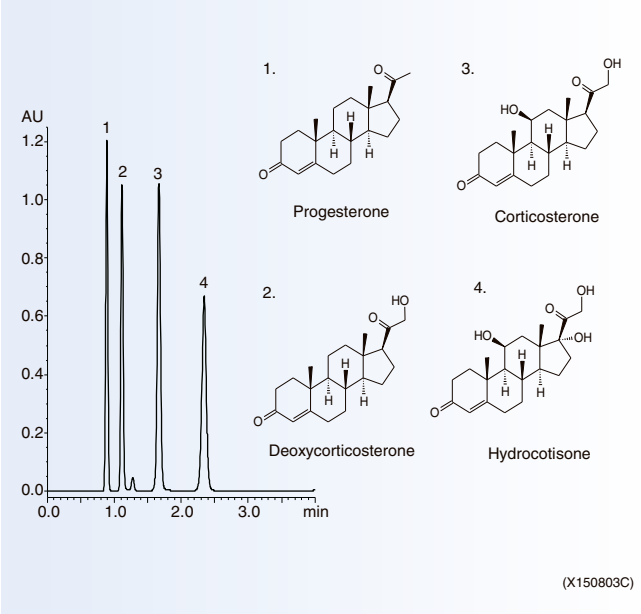
メタルフリーカラムによるフモニシンのLC-MS/MS分析



Column	: YMC-Triart C18 [メタルフリーカラム] (3 μm, 12 nm) 150×2.1 mmI.D.
Eluent	: A) water/formic acid (100/0.1) B) acetonitrile 25-50%B (0-5 min), 50%B (5-8 min), 50-90%B (8-10 min)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: ESI positive, Scheduled MRM
Injection	: 5 μL (0.1 μg/mL)
System	: LC) Shimadzu Prominence UFLC MS) AB Sciex 3200 QTRAP

SFC ステロイド

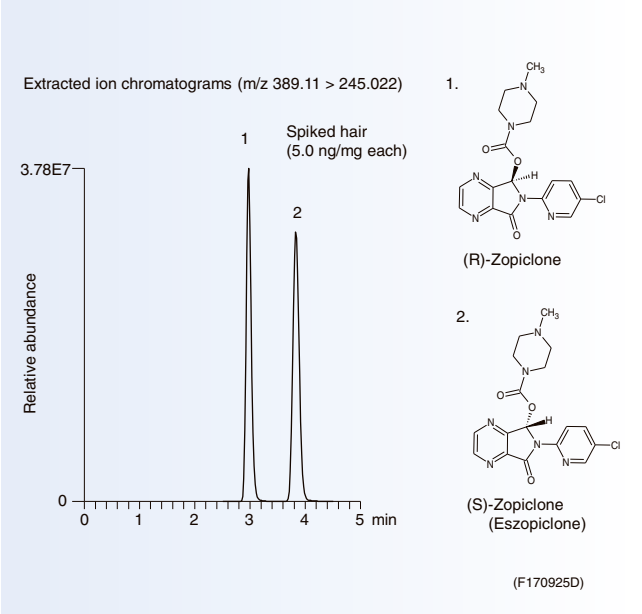
SFCによるステロイドの分離



Column	: Alcyon SFC Triart Diol (5 μm, 12 nm) 150×4.6 mmI.D.
Eluent	: CO_2/methanol (80/20)
Flow rate	: 3.0 mL/min
Temperature	: 40°C
Detection	: UV at 254 nm
Back pressure	: 13.8 MPa (2000 psi)
Injection	: 5 μL (0.8 mg/mL)

キラル キラル化合物

ヒト毛髪中ゾピクロンのLC-HRMS分析



Courtesy of H. Miyaguchi, National Research Institute of Police Science.

Column	: CHIRAL ART Cellulose-SC (3 μm) 150×2.0 mmI.D.
Eluent	: 10 mM ammonium bicarbonate (pH 8.0 with aqueous ammonia) /acetonitrile (25/75)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Temperature	: 25°C
Detection	: ESI positive
Injection	: 10 μL (Hair sample extracted by micropulverized extraction)
System	: LC) Ultimate™ 3000 liquid chromatograph (Thermo Fisher Scientific) HRMS) Q Exactive™ mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific)

Reference
H. Miyaguchi, K. Kuwayama, Enantioselective determination of (*R*)-zopiclone and (*S*)-zopiclone (eszopiclone) in human hair by micropulverized extraction and chiral liquid chromatography/high resolution mass spectrometry, *J.Chromatogr*. A 1519 (2017) 55-63.