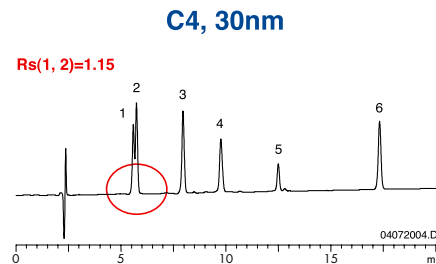
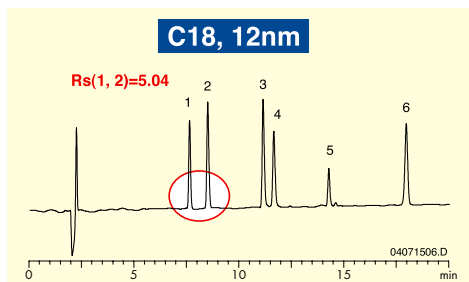


## 分析条件設定のために ポアサイズおよび官能基が異なるカラムによる分離度の改善 S050715A

分析条件を最適化するには溶離液条件の変更も有効ですが、使用するカラムの種類も分離の可否を大きく左右します。分子量が大きいタンパク質・ペプチドの分離には一般的にはワイドポアカラムが使用されますが、より良好な分離を得るためには分離対象の分子量や性質に応じて最適な官能基や細孔径を選択することが肝要です。

### ペプチド (MW 574-3465) の分離



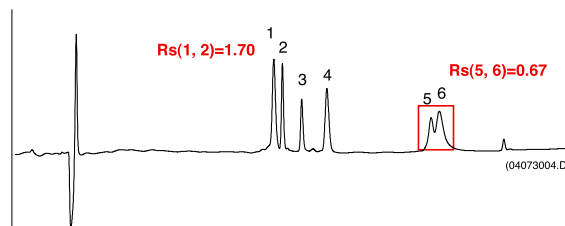
- |                            |                                  |
|----------------------------|----------------------------------|
| 1. Oxytocin (MW 1007)      | 4. Neurotensin (MW 1673)         |
| 2. Met-Enkephalin (MW 574) | 5. $\gamma$ -Endorphin (MW 1859) |
| 3. Leu-Enkephalin (MW 556) | 6. $\beta$ -Endorphin (MW 3465)  |

Column : 150 X 4.6 mm I.D.  
Eluent : A) water / TFA (100/0.1), B) acetonitrile / TFA (100/0.1)  
20-40%B (0-20 min)  
Flow rate : 1.0 mL/min  
Temperature : 37°C  
Detection : UV at 220 nm

分子量約5000以下のペプチドの分離には分離選択性が大きいC18,12nmのカラムが適しています。

### ペプチドおよび タンパク質 (MW 4300-17000) の分離

C18, 12nm

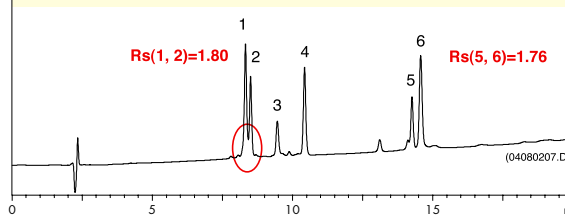


- |                                       |
|---------------------------------------|
| 1. Cytochrome c (MW 12400)            |
| 2. Insulin (MW 5700)                  |
| 3. Amyloid $\beta$ -protein (MW 4300) |
| 4. Lysozyme (MW 14400)                |
| 5. $\alpha$ -Lactalbumin (MW 14200)   |
| 6. Myoglobin (MW 17000)               |

C8, 20nm



C4, 30nm

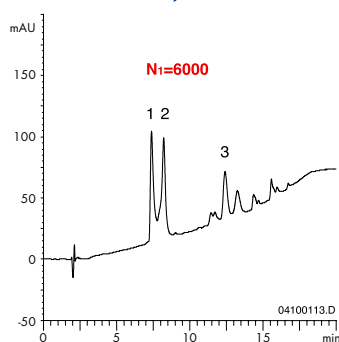


Column : 150 X 4.6 mm I.D.  
Eluent : A) water / TFA (100/0.1)  
B) acetonitrile / TFA (100/0.1)  
25-60%B (0-20 min)  
Flow rate : 1.0 mL/min  
Temperature : 37°C  
Detection : UV at 220 nm

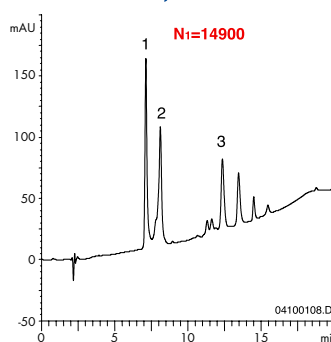
分子量約5000から20000までのタンパク質・ペプチドについては、C18,12nmやC4,30nmのカラムよりも、C8,20nmの方が良好な分離が得られます。

### タンパク質 (MW 66000-96000) の分離

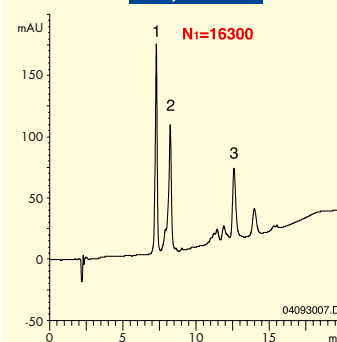
C18, 30nm



C8, 30nm



C4, 30nm



- |                          |
|--------------------------|
| 1. BSA (MW 66000)        |
| 2. Conalbumin (MW 77000) |
| 3. Lipoxidase (MW 96000) |

Column : 150 X 4.6 mm I.D.  
Eluent : A) water / TFA (100/0.1), B) acetonitrile / 2-propanol / TFA (50/50/0.1)  
30-75%B (0-15 min), 75%B (15-20 min)  
Flow rate : 1.0 mL/min  
Temperature : 37°C  
Detection : UV at 210 nm

分子量約20000以上のタンパク質の分離には細孔径30nmのカラムのなかでも疎水性が小さいC4カラムが適しています。