

1290 Infinity II Bio LC による リン酸化合物の分析



BIO

Authors

林 慶子
澤田 浩和
アジレント・テクノロジー株式会社

要旨

ATP はアデノシンに 3 つのリン酸基が付加した化合物です。ステンレス製部品と相互作用してピークが消失したりテーリングしたりすることから、一般的なシステムではリン酸緩衝液や Deactivator を使用してシステムへの吸着を低減するなどの工夫が必要です。

1290 Infinity II Bio LC は不活性な材質を使用した HPLC です。本アプリケーションノートでは ATP をはじめとするリン酸化合物を対象に、LC/MS にも適用可能な揮発性移動相を用いて測定を行い、パフォーマンスの確認をしました。

システム

表 1. 装置構成

サンブラ	G7137A 1290 Infinity II Bio Multisampler
ポンプ	G7132A 1290 Infinity II Bio Highspeed pump
カラム恒温槽	G7116A 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat
検出器	G7117B 1290 Infinity II Diode Array DetectorLSS セル (Aperture オフ)

リン酸不動態化処理などを実施せず測定を行いました。

試料調製

ATP (ナカライテスク, 01072-11)、ADP (東京化成, A0626) アデノシン (ナカライテスク, 01994-54) は超純水に溶解し希釈して試料としました。PP 製バイアルで分析に供しました。

分析条件

表 2. HPLC 条件

カラム	L-column2 ODS、2.0 x 100 mm、3 μm CERI、カタログ #711170
カラム温度	25 °C
移動相 A	20 mM ギ酸アンモニウム水溶液
移動相 B	メタノール
グラジエント	2%B (0 min) → 50%B (2.5 min) Post time : 3 min
流速	0.25 mL/min
注入量	2 μL
検出	260/4 nm、reference 360/100 nm
ニードル洗浄	フラッシュポート：水

結果

図 1 にクロマトグラムを示しました。1-500 mg/L の範囲で ADP および ATP で良好な直線性が得られました (図 2)。再現性についても良好でした (図 3)。図 4 に 500 mg/L 注入後のブランクランの結果を示しました。

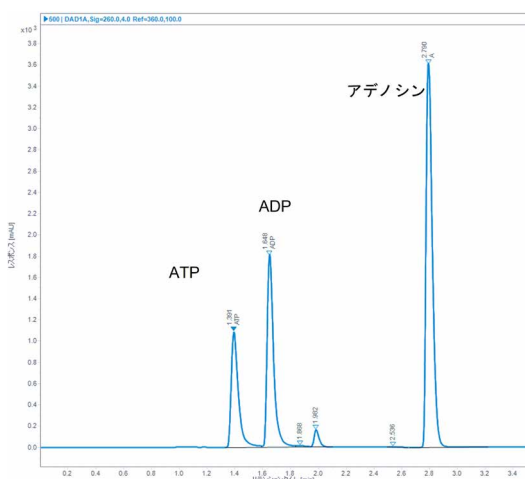


図 1. 500 mg/L のクロマトグラム

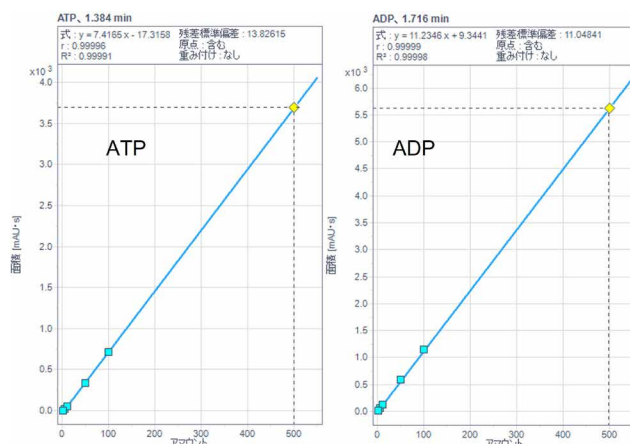


図 2. ATP (右) ADP (左) の 1 から 500 mg/L の検量線

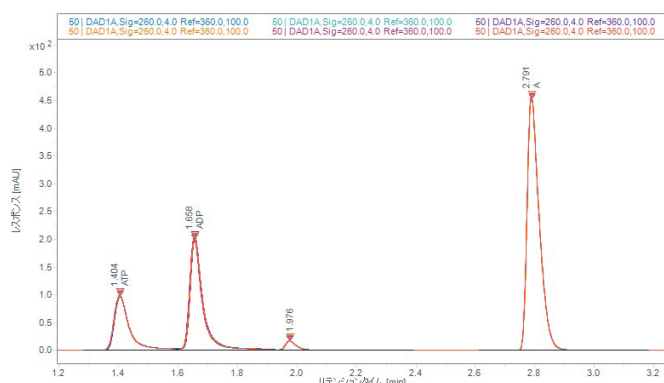


図 3. 500 mg/L の 6 回連続注入クロマトグラム重ね書き

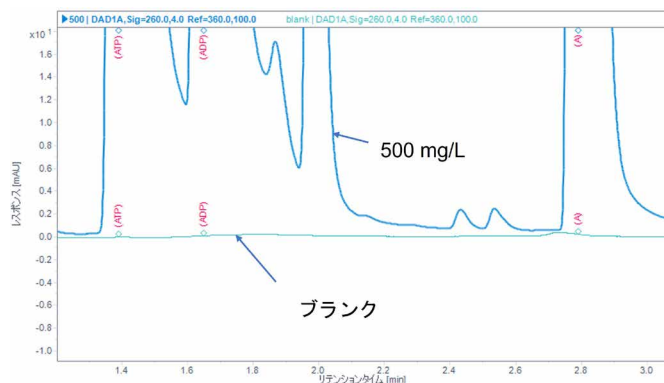


図 4. 500 mg/L のクロマトグラムおよび直後のブランク

まとめ

ステンレス部品などと相互作用しやすいリン酸化合物の例として ATP を測定しました。リン酸緩衝液を使用しないギ酸アンモニウムでピークを観測しました。直線性や再現性は良好で、キャリアオーバーも観測されませんでした。ステンレスとの相互作用が疑われる試料において BioLC が有用であることが示されました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

DE44403.8905671296

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2021
Printed in Japan, July 27, 2021
5994-4472JAJP

