

## ■以UHPLC对BSA消化物进行的高分离分析（2根色谱柱串联）

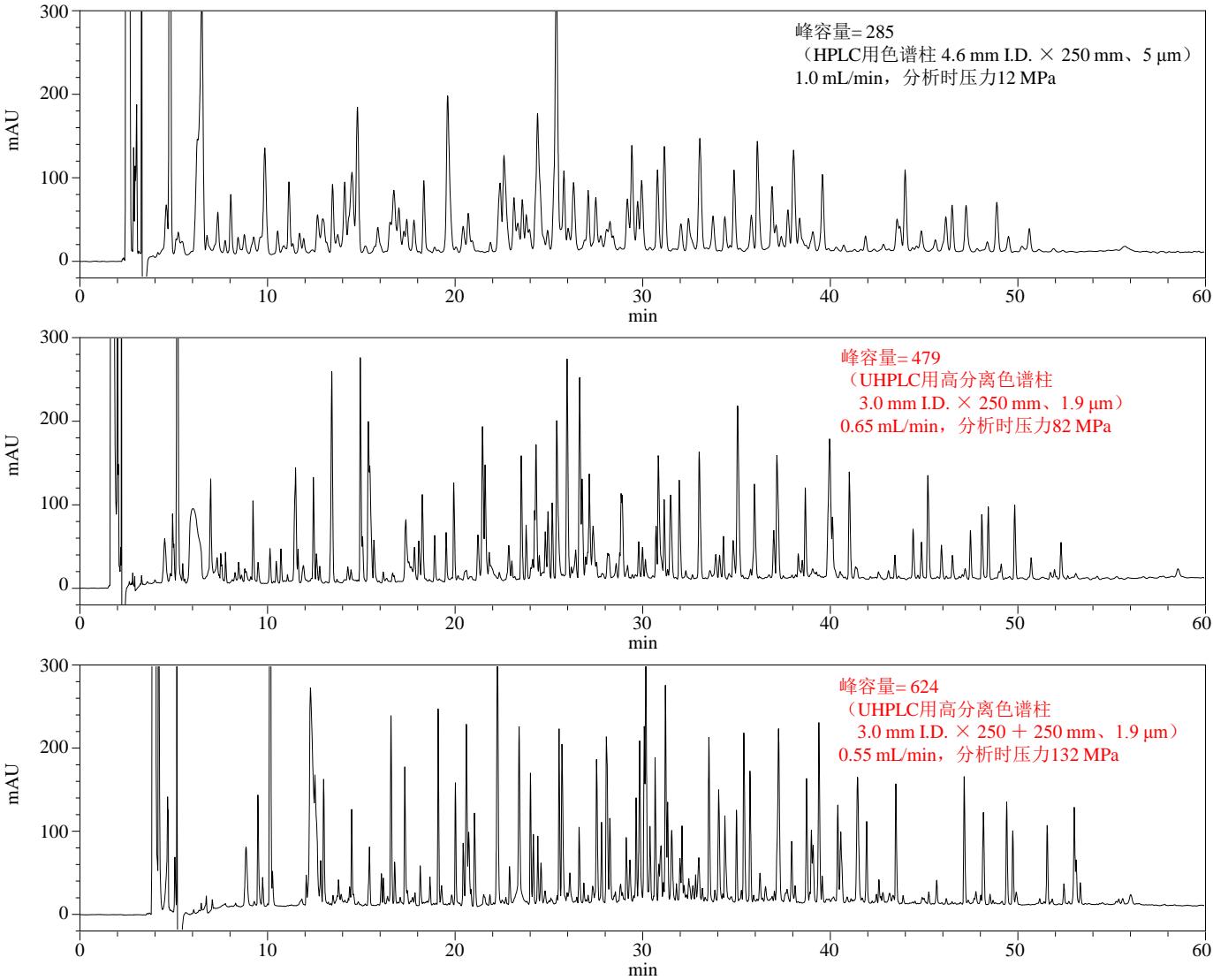
AS/LC-032

肽图法是一种将蛋白质以酶进行消化，将产生的肽片段以HPLC等进行分离，通过比较其色谱特征，以确认构成氨基酸的变化的分析方法。最近也应用于生物药品的质量评价。由于将出现多个肽峰，所以高分离性能非常重要。

在Application Sheet (AS/LC-031) 中，对使用日立超高速液相色谱仪ChromasterUltra Rs和UHPLC用高分离色谱柱

LaChromUltra II C18 (3.0 mm I.D. × 250 mm、1.9 μm) 测定得到的高速高分离分析结果进行了介绍。此次，为了获得更佳的分离性能，使用2根色谱柱进行了串联，在此对测定例予以介绍。同样使用BSA消化物作为模型样品。

## ■BSA (牛血清白蛋白) 消化物的测定例



使用2根UHPLC用高分离色谱柱串联进行了测定，与使用HPLC用色谱柱相比，得到了约2.2倍的峰容量。在此也发挥了140 MPa高耐压系统、高耐压色谱柱的优势。

## &lt;HPLC用色谱柱测定条件&gt;

色谱柱 : LaChrom II C18 (5 μm) 4.6 mm I.D. × 250 mm  
 流动相 : A) 0.05 % TFA / H<sub>2</sub>O (v/v)  
           B) 0.05 % TFA / CH<sub>3</sub>CN (v/v)  
           5 % B (0 min) → 45 % B (60 min)  
 流速 : 1.0 mL/min  
 柱温 : 40 °C  
 检测波长 : UV 214 nm (DAD)  
 进样量 : 10 μL

## &lt;UHPLC用高分离色谱柱测定条件&gt;

色谱柱 : LaChromUltra II C18 (1.9 μm) 3.0 mm I.D. × 250 mm  
           LaChromUltra II C18 (1.9 μm) 3.0 mm I.D. × 250 + 250 mm  
 流动相 : A) 0.05 % TFA / H<sub>2</sub>O (v/v)  
           B) 0.05 % TFA / CH<sub>3</sub>CN (v/v)  
           5 % B (0 min) → 45 % B (60 min)  
 流速 : 0.65 mL/min, 0.55 mL/min  
 柱温 : 40 °C  
 检测波长 : UV 214 nm (DAD)  
 进样量 : 5 μL

主要仪器配置: ChromasterUltra Rs DAD系统  
 (6170二元泵、6270自动进样器、6310柱温箱、6430二极管阵列检测器、组织器)

注意: 本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。