

## ペプチド –カラム温度による分離改善– Peptides

カラム温度が高くなると、分析対象物質と充填剤との吸脱着速度が速くなります。特に分子量が1000以上のオリゴヌクレオチドやペプチドなどの生体高分子は顕著で、温度が高くなるとピークがシャープになり、分離が改善します。

ここでは、温度を変えて混合ペプチドのクロマトグラムを比較しました。

Key words : ペプチド カラム温度  
Column : USP category: L1

### [ Analytical conditions ]

Column : L-column3 C18 (ODS, 2  $\mu$ m, 12 nm); 2.1 mm I.D.  $\times$  50 mm L.; Cat. No. 813140  
Eluent : A: CH<sub>3</sub>CN; B: 0.1% HCOOH in H<sub>2</sub>O  
A/B, 5/95-50/50 (0-5 min)  
Flow rate : 0.4 mL/min  
Temperature : 20°C, 30°C, 40 °C, 50°C, 60°C  
Detection : UV 220 nm  
Injection volume : 5  $\mu$ L  
Sample : MRMplus Retention Time Marker (FMR-002) (Funakoshi Co., Ltd.)

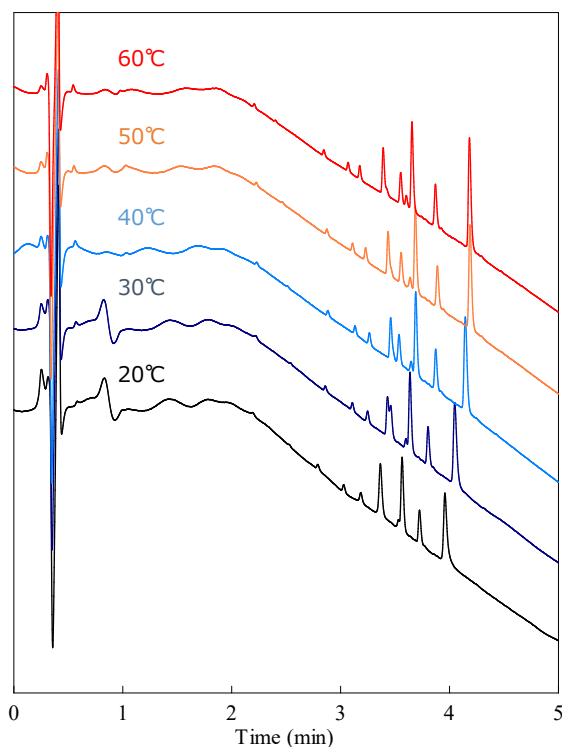


Fig.1 混合ペプチド

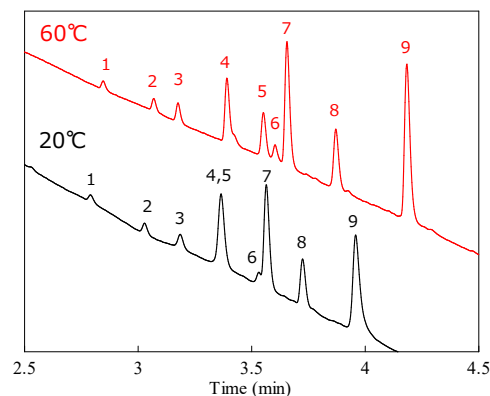


Fig.2 混合ペプチド(拡大)

Table peak No.9の保持時間と理論段数

温度 (°C)	保持時間 (min)	理論段数
60	4.18	155100
50	4.19	131100
40	4.15	109800
30	4.05	87500
20	3.96	86500

温度が高くなると、各ペプチドのピークがシャープになりました。

20°Cではブロードだったピークが、60°Cではピーク形状が改善し、peak No.4とpeak No.5、peak No.6とpeak No.7が分離できました(Fig.2)。また、peak No.9の理論段数は2倍に向上しました。