

LC/MS用脱塩チューブ“ソルナックチューブ”を用いた トリエチルアミン除去による核酸塩基の測定例

極性が高い核酸及び核酸塩基を逆相分配クロマトグラフィーにより分析する際、イオン種を溶離液中に添加することでイオン結合により中性のイオン対を形成して保持を向上させることがあります。核酸分析の場合は、イオン対形成用の塩基性移動相としてトリエチルアミン (TEA)、酸性移動相として1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール (HFIP) を用いることが一般的です。しかし、TEAは塩基性度が高すぎるために、正イオンで検出する場合、イオン化抑制を起こすと考えられます。今回は、試料として核酸塩基のアデニル酸 (AMP)、アデノシン二リン酸 (ADP)、アデノシン三リン酸 (ATP) を使用して、ソルナックチューブで溶離液中のTEAを除去して正イオン測定を行いました。

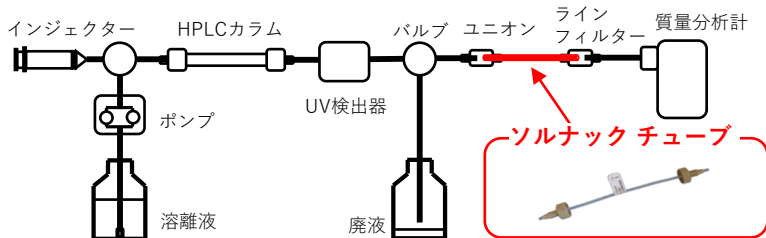
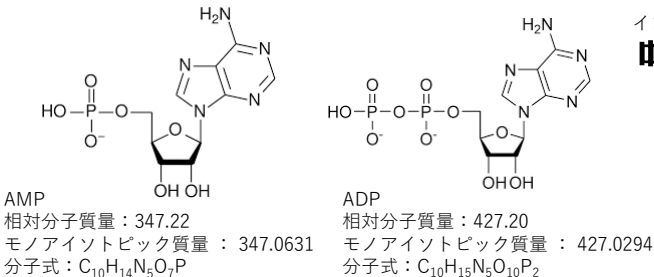


図1 装置概略図

【LC条件】

装置：Waters UPLC H-Class
 カラム：Waters BEH C18 (1.7 μm, 2.1 mm i.d. × 50 mm)
 溶離液：A: 0.1%-TEA/超純水, B: CH₃CN
 A/B=100/0 ⇒ 80/20 (2'⇒5')
 流量：0.3 ml/min
 試料：AMP, ADP, ATP 各50 μM溶液
 注入量：10 μL

【MS条件】

装置：Waters SYNAPT
 イオン化法：ESI Pos.
 ニードル電圧：4 kV
 コーン電圧：50 V
 脱溶媒温度：450 °C
 測定範囲：m/z 50~1200

ソルナックチューブ：OOAN10050

【LC/MS分析結果】

TEA溶離液によるLC/MSにおいて、核酸塩基 (AMP, ADP, ATP) を測定したマススペクトルを図2に示します。ソルナックチューブを用いない場合 (TEAをイオン源に導入した場合) と比較して、EIC強度は4~8倍高い値を示しました。また、ソルナックチューブを用いない場合は、プロトン付加イオン[M+H]⁺に加えてトリエチルアンモニウム付加イオン[M+TEA+H]⁺が検出され複雑なスペクトルであったのに対して、ソルナックチューブを用いることで、トリエチルアンモニウム付加イオンが検出されずにプロトン付加イオンだけが検出されました。

ソルナックチューブOOANを用いることで、TEA共存による核酸塩基のイオン化抑制を低減させると共に、余分な付加イオンのない解析し易いマススペクトルが得られました。核酸分析への応用も期待できます。

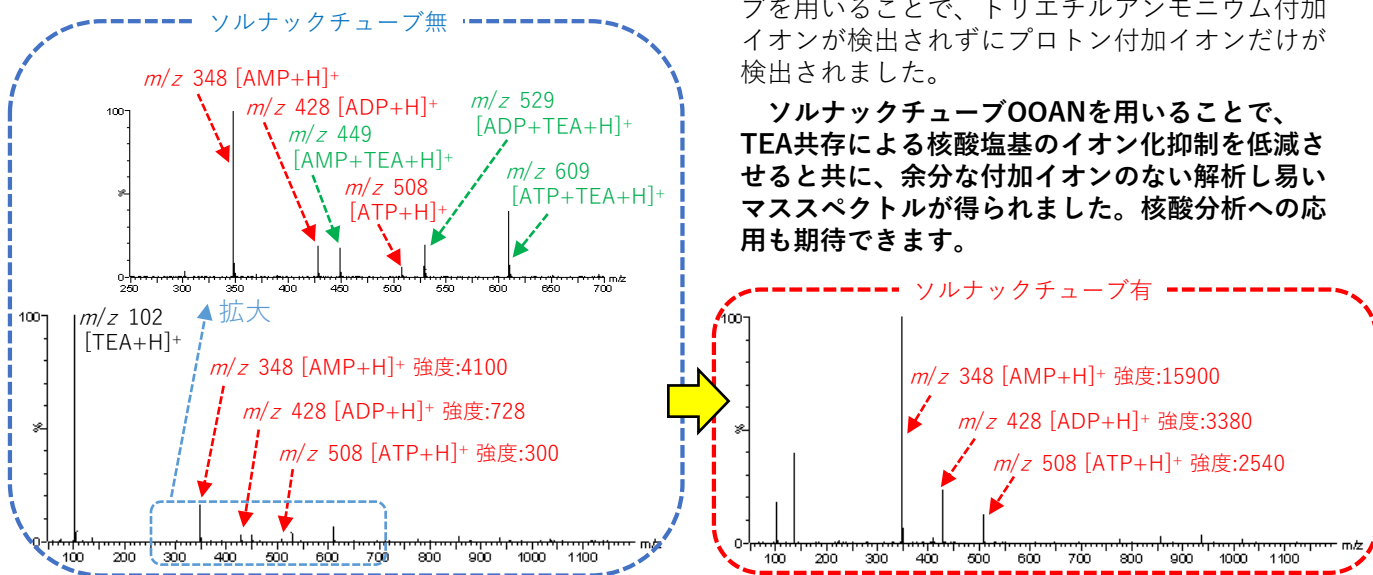


図2 TEA溶離液での核酸塩基のマススペクトル

製造元 エムエス・ソリューションズ株式会社
 〒187-0035 東京都小平市小川西町 2-18-13
 E-mail : info@ms-solutions.jp
 TEL : 042-308-5725 FAX : 042-332-5725

販売元 アルテア技研株式会社
 〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3-23-3
 E-mail : sales@altair.co.jp
 TEL : 045-473-6211 FAX : 045-473-2884

