

## Oligonucleotides 분석을 위한 HPLC와 UPLC 컬럼



치료 목적으로 사용되는 Oligonucleotides는 보통 15~30개의 Nucleotide로 되어있는데, Aptamer(애포타머)는 40~60개의 Nucleotide로 되어있다. 짧은 Nucleotide는 액체크로마토그래피로 쉽게 분리가 되지만, 길이가 긴 것을 분리하기는 꽤 어려운 편이다. Ion-pair-reserved-phase(IP-RP)가 Oligonucleotide를 분리하는데 사용되어 왔다. IP-RP LC는 pH7 이하의 100mM Trithylammonium Acetate(TEAA)의 이동상을 사용하며, 8.6-15mM Triethylamine(TEA)와 100~400mM Hexafluoroisopropanol(HFIP)가 들어 있는 이동상을 사용하기도 한다. 분리는 대부분 C<sub>18</sub> 컬럼을 60°C에서 사용하여 수행하며, 비교적 높은 온도로 사용하기 때문에 Oligonucleotide의 이차 구조가 머무름에 영향을 주지 않도록 하는 것이 중요하다. Waters Oligonucleotide Separation Technology(OST) 컬럼은 Oligonucleotide에 대해 뛰어난 분리능과 오랜 수명을 제공한다.

### LC conditions (Figure 1)

Instrument	Waters Alliance 2695 HPLC System with 2996 PDA Detector
Column	Waters XBridge BEH OST C <sub>18</sub> ,
Column Temp.	60°C
Mobile Phase	A: 10% Methanol, 90% aqueous, 14.3mM Triethylamine(TEA), 385mM Hexafluoroisopropanol(HFIP), pH 7.9
	B: 25% Methanol, 75% aqueous, 14.3mM Triethylamine(TEA), 385mM Hexafluoroisopropanol(HFIP), pH 7.9
Gradient	0 to 100% B in 30min
Detection	UV 260nm

결과

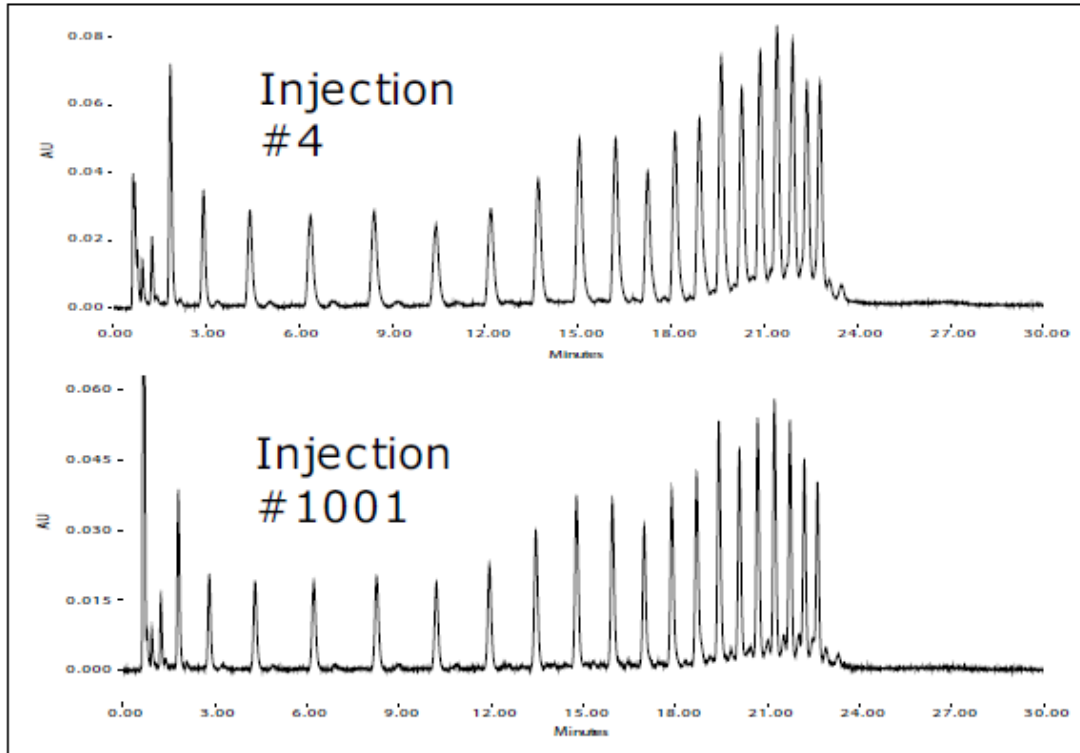


Figure 1. BEH OST Column longevity exceeds 1000 injections. Separation of 5 to 25nt oligodeoxythymidine ladder.

BEH OST 컬럼은 1,000회 주입 이상의 컬럼 수명을 갖는다.

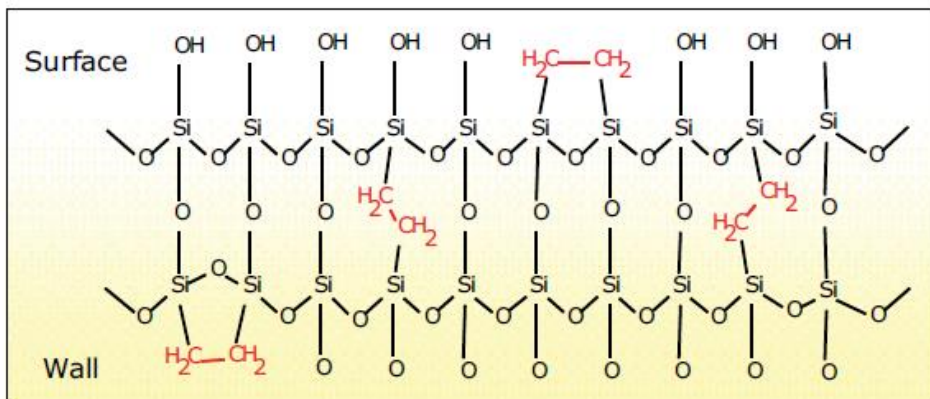


Figure 2. Schematic structure of BEH sorbent. Hydrolytic stability is achieved by bridging ethyl groups. For oligonucleotide analysis, the surface of sorbent is alkylated by C18 functional groups.

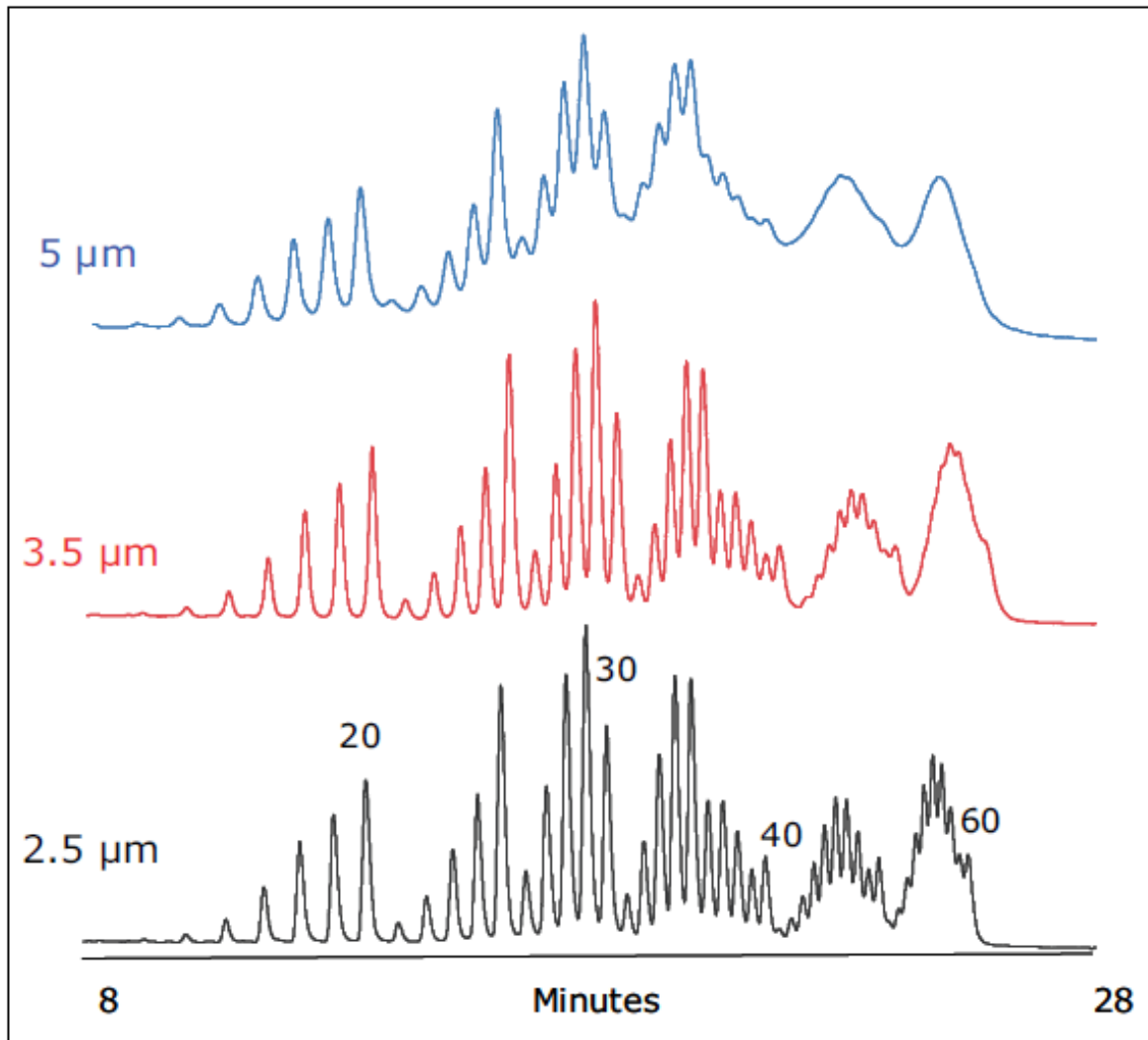


Figure 3. Impact of sorbent particle size on oligonucleotide ladder separation.

Improved resolution of 15 to 60nt oligodeoxythymidine ladder is observed for columns packed with smaller particles.

컬럼 충전 입자의 크기가 작을수록 15~60 Oligodeoxythyamidine에 대한 분리능이 우수해짐

문서 번호

720002376EN

영인에스티 담당자

영인에스티 분석기술사업부 (02-6190-9841)