

应用纪要

## 使用Waters PREMIER色谱柱改善寡核苷酸的峰回收率和峰形

---

Kenneth D. Berthelette, Steve Shiner, Matthew A. Lauber

Waters Corporation



这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

---

## 摘要

与基于常规色谱柱硬件的竞争厂商色谱柱相比，使用XBridge PREMIER BEH C<sub>18</sub>寡核苷酸分析专用柱在寡核苷酸分离中提供了更高的峰面积和更清晰的峰形。采用竞争厂商色谱柱分离五种分析物时，观察到平均峰面积损失40%。

## 优势

- 提升分析物回收率
- 改善峰形
- 具有开箱即用的性能

---

## 简介

色谱柱硬件引起的吸附损失（通常称为非特异性吸附）是许多工作流程中的常见问题之一，对大分子应用而言非常棘手，例如寡核苷酸分离，其分析物上的多种残基可能与各种表面发生相互作用。在液相色谱系统和色谱柱硬件中，不锈钢及其他金属表面的吸附问题尤其突出，因为它们会引起离子的次级相互作用并可能发生金属螯合。从而导致峰面积减小，峰形畸变，在某些极端情况下甚至导致样品峰完全损失。现有解决方法包括使用钝化剂（如亚甲基二膦酸），或者用相似的分析物占据金属表面的活性位点以使系统饱和。但这些技术非常耗时，且通常会前后不一致或只能临时解决问题。

---

## 结果与讨论

Waters PREMIER色谱柱采用了基于高性能表面(HPS)技术的硬件，可大幅减少寡核苷酸与色谱柱硬件之间的不良相互作用。为证明这一点，本研究使用标准液相色谱仪器和两根单独的色谱柱来分析寡核苷酸的简单混合物。测试的第一根色谱柱是全多孔XBridge PREMIER BEH C<sub>18</sub>, 130 Å, 2.5 μm寡核苷酸分析专用柱，另一根是由不锈钢硬件制成的表面多孔2.7 μm竞争厂商C<sub>18</sub>色谱柱。两种固定相均具有pH适应性，专用于离子对RPLC条件。考察的分析物为Waters MassPREP OST标准品（部件号：[186004135](https://www.waters.com/nextgen/in/en/shop/standards--reagents/186004135-massprep-) <

<https://www.waters.com/nextgen/in/en/shop/standards--reagents/186004135-massprep->

[oligonucleotide-standard.html](#)> ) 中包含的5种寡聚脱氧胸苷链 (15、20、25、30 和 35 nt) 。将含有25 mM乙酸己基铵(pH 7.0)作为离子对试剂的流动相与乙腈一起用作洗脱液，柱温为60 °C。

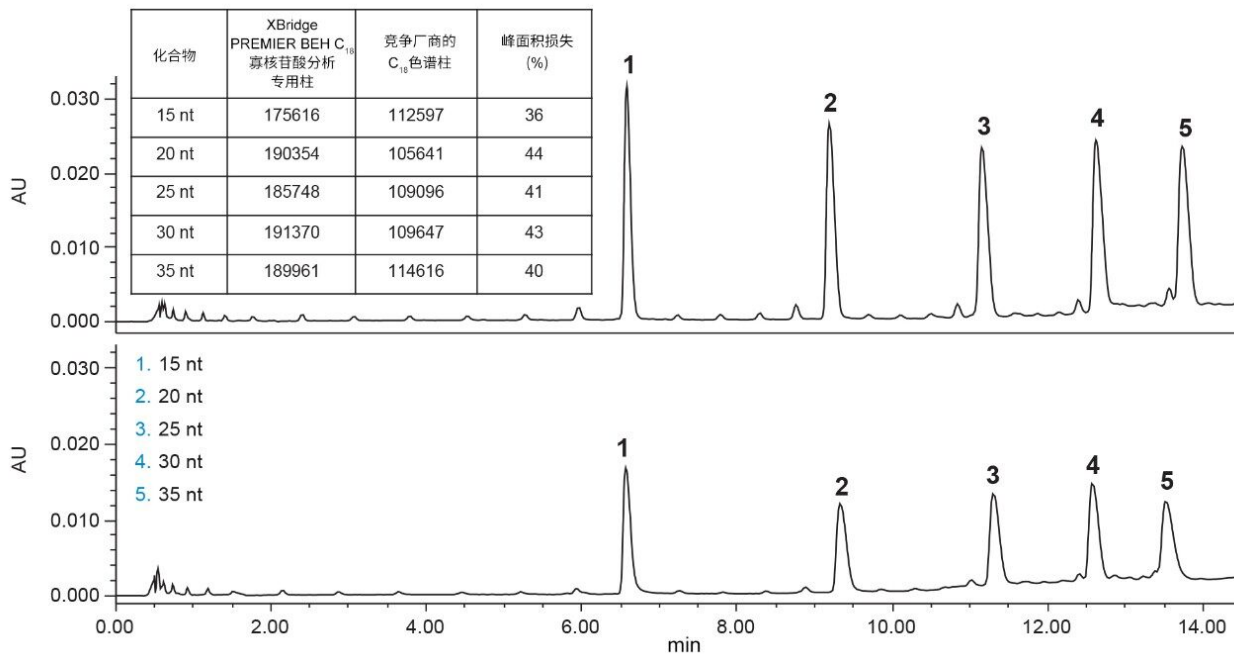


图1.五种寡核苷酸在XBridge PREMIER BEH C<sub>18</sub>寡核苷酸分析专用柱 (上图) 和竞争厂商C<sub>18</sub>色谱柱 (下图) 上的分离结果。峰面积和峰面积损失百分比(%)列于表中。在色谱柱上采用包含25 mM乙酸己基铵(pH 7.0)的乙腈梯度。柱温设置为60 °C, 在260 nm下进行UV检测。方法详细信息参见*MassPREP OST Standard Care and Use manual* (《MassPREP OST标准品维护和使用手册》) <sup>1</sup>。

如图所示, 所有五种寡核苷酸在竞争厂商色谱柱上得到的峰面积均有所下降。平均而言, 采用竞争厂商色谱柱得到的峰面积比XBridge PREMIER BEH C<sub>18</sub>寡核苷酸分析专用柱得到的峰面积低40%。此外, 大多数寡核苷酸在竞争厂商色谱柱上表现出更严重的峰拖尾现象。其中35 nt尤其值得关注, 它在竞争厂商色谱柱上与杂质发生共流出, 但在PREMIER色谱柱上得到分离。PREMIER色谱柱采用HPS色谱柱硬件, 解决了不良次级相互作用的问题。该分离未使用PREMIER系统, 仅采用PREMIER色谱柱仍然获得了显著的性能提升。将PREMIER色谱柱与PREMIER系统配合使用时, 可能会获得更高的性能和稳定性。

## 结论

Waters PREMIER色谱柱可以减少分析物与色谱柱硬件表面之间的吸附作用。虽然各种应用中都会发生棘手的

次级相互作用，但寡核苷酸的分离是分离科学中非常重要且密切相关的领域。寡核苷酸的结构常导致其对金属表面非常敏感，因此在实现优异的回收率（峰面积）和获得良好的峰形上面临巨大挑战。本研究对XBridge PREMIER BEH C<sub>18</sub>寡核苷酸分析专用柱与基于常规不锈钢硬件的竞争厂商色谱柱进行了比较。与竞争厂商色谱柱相比，PREMIER色谱柱获得了更高的峰面积和更清晰的峰形。改用PREMIER色谱柱后，将获得更出色的分离效果和更准确的结果。如果在PREMIER液相色谱系统上使用PREMIER色谱柱，可能会获得更多益处。

---

## 参考资料

1. Waters MassPREP OST Standard Care and Use Manual, [715001677EN](https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715001677EN) <<https://www.waters.com/webassets/cms/support/docs/715001677.pdf>> .

---

## 特色产品

ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/10138533>>

ACQUITY UPLC PDA检测器 <<https://www.waters.com/514225>>

Empower色谱数据系统 <<https://www.waters.com/10190669>>

PREMIER色谱柱 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135074078>>

720007200ZH, 2021年3月