

第193回液体クロマトグラフィー研究懇談会例会

日時: 2006年 4月28日(金) 13時~17時40分

会場: [東京理科大学薬学部校舎 薬学部1442教室\(14号館4階\)](#) [アクセス](#)
[千葉県野田市山崎2641、電話:04-7121-1501、交通:東武野田線「運河」駅下車]
薬学部校舎へは、理工学部校舎を通り抜ける必要があります(徒歩7-8分)。
最寄り駅からのアクセスは[Yahoo路線](#)でお調べ下さい。

講演主題: キャピラリーLCことはじめ

講演

- 講演主題概説 (13:00~13:05)
(ライオン(株))小池 茂行
- キャピラリーLCの理論と特徴<【[講演概要](#)】> (13:05~13:40)
(岐阜大学工学部)竹内 豊英
- キャピラリーLCの試料導入&検出<【[講演概要](#)】> (13:40~14:10)
(首都大学東京工学研究科)中釜 達朗
- nanoLC-MS/MSを用いたプロテオーム解析<【[講演概要](#)】> (14:10~14:40)
(慶應義塾大学先端生命科学研究所)石濱 泰
- キャピラリーLCシステムのタンパク同定への応用<【[講演概要](#)】> (14:40~15:00)
((株)日立ハイテクノロジーズ)甲田 公良
- モノリス型キャピラリーカラムの特徴とその可能性<【[講演概要](#)】> (15:10~15:30)
(メルク(株))清 晴世
- キャピラリーLC用カラム・ProteCol と PEEKSi<【[講演概要](#)】> (15:30~15:50)
(エス・ジー・イージャパン(株))中島 信行
- 微量送液ポンプ・ミュートン(μ -ton)の性能と応用<【[講演概要](#)】> (15:50~16:10)
((株)センシュー科学)安野 和義
- トレーサー方式に基づいた液体微小流量計<【[講演概要](#)】> (16:10~16:30)
(ACE(株))三平 博
- ナノインジェクター・マイクロ流量計による試料全量注入システム検討<【[講演概要](#)】> (16:30~16:50)
((株)ケムコ)谷川哲也
- 光ガイドパイプを用いたキャピラリーHPLC用UV/Vis検出器<【[講演概要](#)】>

(16:50~17:10)

(ジーエルサイエンス(株))古野 正浩

12. HPLC用蛍光検出器に使用する微小容量セルの紹介<【[講演概要](#)】> (17:10~17:30)

(日本分光(株))坊之下雅夫

13. 総括:キャピラリーLCへの期待と展望 (17:30~17:40)

(東京理科大学薬学部)中村 洋

参加費(含講演資料集代)

LC研究懇談会会員:1,000円、会員外:3,000円、学生:500円(当日受付にてお支払い下さい)。

カタログ展示

1小間:5,000円(場所スペースは運営委員に一任させていただきます)

懇親会

講演終了後、講師を囲んで情報交換会を開催します(薬学部食堂を予定)。会費:1,000円。

申込方法

参加希望者は、別紙の参加申込書([ここをクリックして](#)現れるページをプリントアウトしてご使用下さい)にご記入のうえ、FAXにより又は郵便によりお申し込み下さい(定員をオーバーした場合のみご連絡します。)

申込先

郵便番号141 東京都品川区西五反田1-26-2 五反田サンハイツ304号
(社)日本分析化学会 液体クロマトグラフィー研究懇談会
[電話:03-3490-3351、FAX:03-3490-3572]

第193回液体クロマトグラフィー研究懇談会例会 講演概要

キャピラリーLCの理論と特徴 (岐阜大学工学部) 竹内 豊英

本講演では、キャピラリーLCにおいて分離カラムの内径の減少および移動相流量の低減によりもたらされる利点や制限について紹介する。また、内径の小さな分離カラムを使用する際にはとくに連結部等での試料成分の拡散について注意をしなければならないが、講演では試料注入部、連結部、検出部などのカラム外における試料成分の拡散を分散で表現し、理論段数に与える影響を見積もった結果などを紹介する。

キャピラリーLCの試料導入&検出 (首都大学東京都市環境学部) 中釜 達朗

キャピラリーLCにおいて高い分離能を実現するには「試料溶液をいかに狭いゾーンでカラムまで運ぶか」が重要となる。また、キャピラリーLCでは極微量の試料を検出する必要があり、当然ながら高感度な検出系も必須となる。本発表では試料導入法(オンライン濃縮法を含む)あるいは検出法について、演者らが経験した事例を交えながら最近の報告例を紹介する。時間があれば他分野でキャピラリーLCの試料導入法や検出法として応用できそうな技術例も紹介したい。

NanoLC-MS/MSを用いたプロテオーム解析 (慶應義塾大学先端生命科学研究所) 石濱 泰

プロテオーム解析において分析対象となる消化ペプチド試料は、その種類の多さや濃度のダイナミックレンジの広さにおいて、分離科学者にとっては最もチャレンジングな対象の一つである。本講演では、タンデム質量分析計とオンラインもしくはオフラインで接続した多次元ナノLCシステムや前処理システムについて紹介する。更に超高精度質量分析計を用いた翻訳後修飾ペプチドの分析例を中心に応用例を紹介したい。

キャピラリーLCシステムのタンパク質同定への応用 (株)日立ハイテクノロジーズ) 甲田 公良

LCのキャピラリー化は微量試料測定時の高感度検出においては絶大な効果が得られ、LC-MS/MSにおけるプロテオームの主な解析ツールとして普及してきた。初期のキャピラリーLCはスプリッターを用いてナノフロー領域(\sim nl/min)を達成し、酵素消化したペプチドフラグメントの配列解析には十分な性能を有していた。しかし、このシステムは圧力負荷などで保持時間が変動してしまう欠点を有していた。近年では、測定対象が血清・尿など複雑化してきており、キャピラリーLCにはより高分離や保持時間の安定性が要求されるようになってきた。我々はバルブ&ループ法によりナノフロー領域でも安定したグラジエントが行えるキャピラリーLCシステムを開発してきた。今回は高い保持時間の安定性を利用したタンパク質同定の応用について報告する。

モノリス型キャピラリーカラムの特徴とその可能性 (メルク(株)) 清 晴世

モノリス型カラムとは、粒子状充填剤の代わりにゾル-ゲル法によって形成される2重構造(マクロポア構造/メソポア構造)を持つシリカ連続体を分離担体としたカラムです。その特徴としては、低背圧を生かした高流速での分析が可能であるばかりでなく、流速に対する分離能の低下が緩やかであるため、高速域での高分解能分析が可能です。また、物理的に堅牢である事やその空隙率の高さから、汚れに強いという特徴も挙げられます。

モノリス型キャピラリーカラムにおいては、キャピラリー内でゾル-ゲル反応や化学修飾を行う為、粒子充填タイプでは考えられない様な長いカラムの作成や、内径50 μ m以下の細いキャピラリーカ

ラムの作成も可能です。

当日は弊社製品CapRodのアプリケーション例と実験的に行った内径 $30\mu\text{m}$ のモノリス型キャピラリーカラムでのデータを併せて紹介致します。

キャピラリーLC用カラムProteColとPEEKsilの紹介 (エス・ジー・イー・ジャパン(株)) 中島 信行

キャピラリーLCにおける配管などの接続には、デッドボリュームの問題だけでなく、いくつかの解決しなければならない問題があります。通常のHPLCで用いられる配管に比べ、キャピラリーLCでは内径が数 $10\mu\text{m}$ と小さい配管を使用します。そのためデッドボリュームを抑えるために開発された配管同士を面で接続するタイプのユニオンでは、特にトラブルが生じやすくなります。これは、通常の配管では接続する配管断面の穴同士が精確に向かい合わせになりにくいことに起因しています。具体的な現象としては送液における抵抗の増加や、流路の閉塞といった問題をおこしやすくなります。キャピラリーLC用配管であるPEEKsilは、その配管断面とその穴の真円性および、穴の中心性の仕様を厳しくすることでこの問題を回避します。また、このPEEKsilにゲルを充填したキャピラリーLC用カラムProteColについても紹介いたします。

微量送液ポンプ・ミュートン($\mu\text{-ton}$)の性能と応用 (株)センシュー科学 安野 和義

ミュートンは弊社で開発したシリンジ型微量送液ポンプです。

$10\text{nl}\sim 100\mu\text{l}/\text{min}$ 制御送液可能です。高圧用では 20MPa の耐圧で高圧マイクロLCなどに十分な性能を特有しています。低圧用では、マイクロチップ送液などに応用できるパワフルな送液システムを構築できるようになっております。

トレーサー方式に基づいた液体微小流量計 (株)エー・シー・イー 三平 博

$\mu\text{-LC}$ においては、数 μL /分程度の試料溶液を高精度で送液する必要があります。

本発表では、数マイクロLの溶液の正確な流量測定器及びその技術を紹介する。本技術は一般にはトレーサー方式と呼ばれており、試料溶液中になんらかの目印(気泡・熱等)を入れ、その目印の移動速度を測定することにより、高精度で流量の測定をする方式である。この方式を用い、数 μL から数十 μL /分の微小流量の測定法の原理・構成・性能等の紹介を行う。

ナノインジェクター・マイクロ流量計による試料全量注入システム検討

(株)ケムコ 谷川 哲也

キャピラリーLCへの試料注入法は、バルブと濃縮カラムを用いて行われることが多い。しかし極性の高い試料は濃縮が困難であり、バルブやカラムへの吸着などで試料が確実にシステムに導入されているのか判断しがたいこともある。弊社開発のナノインジェクター(注入容量 20nL)は、微量容量試料を全てカラムに導入可能であり、以下の特長を持つ。すなわち①ローター部分の試料溶液保持室(チャンバー)は機械的ワークではなく、微小内径の樹脂管を挿入し固定化することで形成、②マイクロカラムをインジェクター本体に直結可能、③通液部分は全て樹脂製とし、生体試料分析にも対応可能である。ここでは弊社ナノインジェクターの基本的特長とアプリケーションを紹介し、併せて煩雑なキャリブレーションが不要であ

り、グラジェント溶出にも対応可能な流量計(ピコフローモニター)についても発表する。

光ガイドパイプを用いたHPLC用UV/Vis検出器 (ジーエルサイエンス(株)) 居迫 正和

キャピラリーLCは2次元ゲル電気泳動と比べ、ダイナミックレンジ、検出限界、ハンドリングなどの点において優位性を示しており、昨今のプロテオーム解析に適した有用な分析方法として現在広く用いられている。しかし、従来のキャピラリーLCにおけるUV/Vis検出器は、オンカラム型検出が一般的に用いられているため光路長が短く、感度が低減する欠点を有している。また、カラムから検出器までの配管のボリュームにおける影響や、MSに接続する際の検出器からMSまでの配管のボリュームにおける影響が懸念された。

本講演では、高い検知感度を実現でき、フローセル部を装置本体から離れた場所に設置可能にすることで、配管の最短接続を可能とするUV/VIS検出器の開発を目的とし、フローセルの長光路化と、光ガイドパイプにより入射光を取り入れた、光ガイドパイプ型UV/VIS検出器の開発を行った。さらに、本検出器はフローセル部を交換させることによりキャピラリーLCから分取までの幅広い領域をカバーでき、プロテオーム解析にて優位性を示せる検出器であるため紹介したい。

HPLC用蛍光検出器に使用する微小容量セルの紹介 (日本分光(株)) 坊之下 雅夫

HPLC分析において、高感度かつ選択的な検出が期待できる蛍光検出器は、蛍光物質や蛍光誘導体化物の測定に利用されている。そのため、分離の場として、内径の小さなカラムなどを使用するマイクロLC、キャピラリーLC、キャピラリー電気泳動でも蛍光検出器を利用したいという要望が数多くある。

これらの分離分析装置で蛍光検出器を使用するためには、セル内などでのカラム外におけるピークの拡がりをできるだけ少なくする必要がある。しかしながら、一方では、小容量化を行ったセルでは、検出感度の低下という問題が発生し、この両立は、大変難しい技術となる。

本講演では、マイクロLCなどで使用している蛍光検出器の微小容量セルについて、現在の状況を紹介する。