

平成 23 年度 分析・解析技術分野 分野別研修実施報告

総合技術センター

分析・解析技術分野* 計測・制御技術分野**

佐々木 由香(Yuka Sasaki)*

中村 真紀(Maki Nakamura)*

友成 さゆり(Sayuri Tomonari)*

藤永 悦子(Etsuko Fujinaga)*

河内 哲史(Satoshi Kawachi)*

上田 昭子(Shoko Ueta)*

堀内 加奈(Kana Horiuchi)*

桑原 知彦(Tomohiko Kuwabara)*

岡山 恵美子(Emiko Okayama)*

飯田 仁(Hitoshi Iida)**

津村 恵子(Keiko Tsumura)**

1. はじめに

高速液体クロマトグラフィーは、各種試料の精製や試料分析において欠かすことのできない手法である。先日納入された JST 事業関連機器をはじめ各学科においても、HPLC 本体や HPLC が付属している分析機器も数多く導入されている。

今回の研修では、逆相カラムを利用した生理活性物質の分離を行った。同時に、HPLC の原理や取扱い方法を理解することを目的とした。さらに、HPLC の原理や取扱い方法を理解することにより、JST 事業関連機器を含め本学に導入されている HPLC を利用した機器の、分析技術やメンテナンス技術の向上を目指した。

そして、実際に器具や機器の操作等を行うことにより、より理解を深めることができると考え、3 班に分けて実施することとした。

2. 概要

日程：

1 班：9 月 16 日（金） 9：15～12：00

2 班：9 月 20 日（火） 9：15～12：00

3 班：9 月 20 日（火） 13：15～16：00

場所：産学官連携プラザ 2F 生物応用技術開発室

使用機器：島津 Prominence

3. 実施内容

1) 試薬及び試料

分離用バッファー

A：0.1%ギ酸 in MilliQ 水

B：0.1%ギ酸 in 95%アセトニトリル

保存溶液

30%イソプロピルアルコール（装置用）

50%アセトニトリル（カラム用）

試料

No.1：トリペレナミン塩酸塩（5nmol）、
ジフェンヒドรามミン塩酸塩
（5nmol）の混合物

No.2：アンギオテンシン I（2.5nmol）、
メチオニンエンケファリン
（2.5nmol）の混合物

2) カラム

GeminiNX (Phenomenex 製)を利用した。

3) 実施手順

以下の手順で実習を行った。

- ① 分離用バッファー及び保存溶液の調製
上記の溶液を調製した。

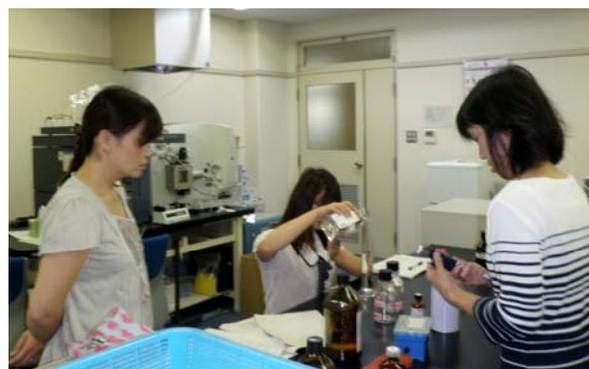


図 1 試薬調製の様子

- ② ポンプ、オートサンプラーのパージ

分離用バッファーを装置にセットし、パージ作業を行った。

- ③ 分析試料の調製

今回は試料をあらかじめ調製しておいた。研修中には、注意点や手順等を説明した。

- ④ 装置の立ち上げ、流路系洗浄
装置内の流路を分離用バッファで洗浄した。
- ⑤ カラムの接続、洗浄、平衡化
カラムを接続し、カラムを分離用バッファBで洗浄した後、分離用バッファAで平衡化した。



図2 カラム接続の様子

- ⑥ 分析用メソッドの作成
- ⑦ 試料分析、データ解析
⑥で作成したメソッドに従い、試料の分析を行った。解析ソフトを利用して、分析結果を解析した。
- ⑧ カラム及び流路系の洗浄、装置の立ち下げ

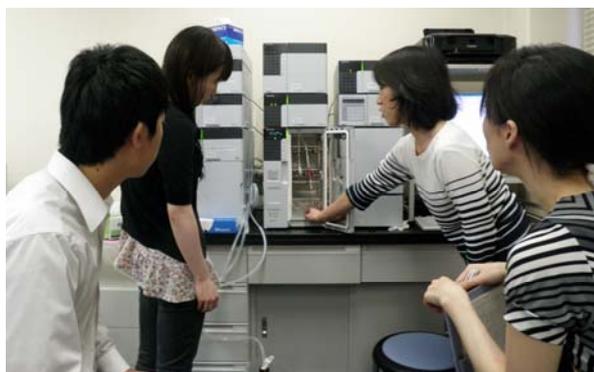


図3 分析操作の様子

4. まとめ

参加者の感想を以下のとおりまとめた。
 <河内哲史>

HPLCに関してはまったくの初心者だったが、試料調製における注意点やカラムの基礎知識について学ぶことができた。私は燃焼イオンクロマトグラフ分析システムを管理しており、原理など共通している部分があったため、参考になった。また、研修時間も普段の

業務に支障がなく最適であり、有効に勉強することが出来た。

<岡山恵美子>

操作は思ったほど複雑でなく、少人数に分けて行っていただいたので、質問もしやすく、わかりやすかった。

装置のカラムや検出器が高性能になるにしたがって、移動相の調整もデリケートになることも分かった。

<飯田仁>

今まではLCは、使っているところや、使用方法に関する対応しかしたことが無かった。今回、実際に分離・検出を体験して、事前準備が大変であることを実感した。

今回は研修ということで既知の試料を既知のプロトコルにて分析を行ったが、未知の試料の場合、分析用溶媒の種類や混合比率や測定時間など、多くのパラメータが関係するためプロトコルを決定する事前準備が大変であることが理解できた。

新規導入機器とのことで、メーカー取説によらないオリジナルな取説&トラブルシューティングがあれば、利用者にとって良いのではと思えた。

<中村真紀>

今回の分野別研修では、実際に標品を分離するところまで経験でき、非常に有意義だった。3人の少人数で行い直接操作する機会が多かったため、機器の操作が覚えやすかった。

メーカーの説明会では購入した製品について一通りの説明がなされるが、付属のソフトの使用法や使用時の細かなノウハウはあまり説明されない。本研修ではHPLCの機器だけでなく分析に至るまでの過程全てを知識として再確認できた。

<友成さゆり>

丁寧なご指導、ありがとうございました。HPLCに関しては、これまで漠然とした理解でしかありませんでした。が、今回基本的な説明を学べ、また実際に操作も行うことができましたので、少しでも理解が深まったと思います。

しかし、どんなカラムを選択すればよいかなど機器を使いこなすという観点からは、やはり機器の稼働率を上げ、測定経験を積んで

いかないとなかなか難しいとも感じました。

<堀内加奈>

今回の分野別研修で実際に HPLC を使うことで、HPLC の基本的な仕組みと、使い方が分かりました。人数や時間の関係上、大変だとは思いますが、検量線として定量測定や水溶液中の物質の同定もやってみたかったです。

<藤永悦子>

今回は、HPLC そのものというより、自分の管理する LCMS の UPLC 部の理解を深め、今後の測定条件の検討などに活かせればという気持ちで参加させて頂きました。経験に基づき、グラジエント条件の検討の仕方などを伺って参考になりました。少人数だったので、操作が見えないというようなこともなく分かりやすかったです。実際に、自分の扱っている装置に応用する段階で疑問等が出てきたら、是非ご相談に乗って頂きたいと思います。

<上田昭子>

これまであまり HPLC を使用したことがなかったので不安もありましたが、基本的な測定方法やデータ処理の仕方を学ぶことができ、非常に有意義な研修でした。習熟度や使用頻度に合わせて、3 グループに分けていただいた点が良かったと感じました。気軽に質問でき、実際に手を動かして操作させていただいたので、理解し易かったです。

また、私は同じ JST 事業関連で導入された LC-MS において UPLC を使用しているので、グラジエント条件や標準物質について相談に乗っていただき、大変勉強になりました。

<桑原知彦>

有機化学系の装置はほとんど経験がなかったため、専門用語をたくさん耳に入れることができ、今後のためにも非常に勉強になりました。ピーク強度が何を意味するのかなど、わからない点はありましたが、測定の流れなどはある程度理解することができました。また、現在メンテナンスを行っている燃焼イオンクロマトグラフィーとも類似する仕組みがあり、大変勉強になりました。

<佐々木由香>

HPLC を利用した分野別研修を企画・実施するに当たり、どのような点に重点をおいて

実施したらよいか、かなり迷った。今回は、特定の機器の操作というよりは、「HPLC を利用した分析における基本操作の習得」に重点をおいた。そのうえで、できるだけ装置に触れることができるように配慮した。至らない点多々あったと思うが、参加していただいた方々のご協力のもと、無事終了することができた。参加していただいた方の今後の業務に少しでも役に立てれば幸いである。