



ODS(C18)以外のカラムを用いた バイオアナリシス

DG2022-55

Bioanalysis Using Columns Other than ODS

氏名 (Name)	所属 (Company)	備考
八木 遼太郎 Ryotaro Yagi	東レ株式会社 <i>Toray Industries, Inc.</i>	リーダー※
野口 美里 Misato Noguchi	EAファーマ株式会社 <i>EA Pharma Co., Ltd.</i>	
水落 正慶 Masayoshi Mizuochi	シミックファーマサイエンス株式会社 <i>CMIC Pharma Science Co., Ltd.</i>	
宮脇 史織 Shiori Miyawaki	株式会社新日本科学 <i>Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.</i>	
新井 浩司 Kouji Arai	株式会社 L S I メディエンス <i>LSI Medience Corporation</i>	オブザーバー

※本ポスターに関するご質問はメールでryotaro.yagi.u8@mail.torayにお願いします。



活動実績

2022 6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	2023 1月	2月	3月
TC 6/30	TC 7/19	TC 8/9 8/30	第1回 アンケート 9/16- 30	TC 10/27	TC 11/11 第2回 アンケート 11/24- 12/8	TC 12/22	TC 1/11 1/26	TC 2/16	JBF シンポ 3/1-3
		推進 委員会 8/24		推進 委員会 10/1		推進 委員会 12/2		推進 委員会 2/15	

- Teamsによる電話会議（TC）を合計10回実施した。
- DG推進委員会により定期進捗報告を行った。
- データファイルはBOXを利用し、メールでコミュニケーションをとった。

背景及び目的

背景

- 近年、医薬品のモダリティが多様化し、低分子だけでなく、中分子から高分子にまで対応した分析法構築が求められている。
- バイオアナリシスにおけるLC-MS (/MS) 分析では、理論段数の高さや化合物の応用範囲の広さなどからODS (C18) カラムが汎用されており、それ以外のカラムについては情報が少ない状況であった。

DG2022-55で議論

- バイオアナリシスにおけるODS (C18) 以外のカラムを用いた分析法に焦点を当て、カラム選択時のガイドになるものの作成を目指して議論を行った。

DG2022-55の目的

- LC-MS (/MS) を用いた分析で、各種カラムの利用・認知状況やカラム選択において重視する点、対象となる化合物種、分析法構築において苦労した点、課題の解決方法などについて、2回のアンケート調査を実施。

※国内で活動している製薬企業・CROの中から、JBFの諸活動への協力を賛同いただいた方々 (DGサポーター、272名) に対してアンケート送付

※本アンケートでは、回答者の情報 (所属企業名など) と回答内容が紐づけ出来ない形で集計を実施。

- 本発表では、アンケート結果、議論内容を紹介し、DGからの提案を共有する。



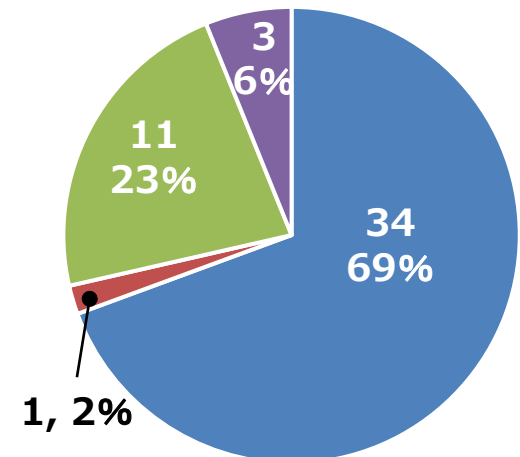
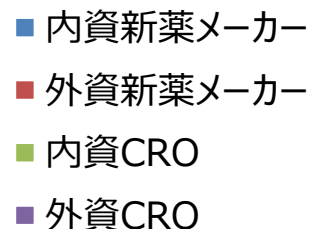
アンケート調査

アンケート実施状況

<1回目>

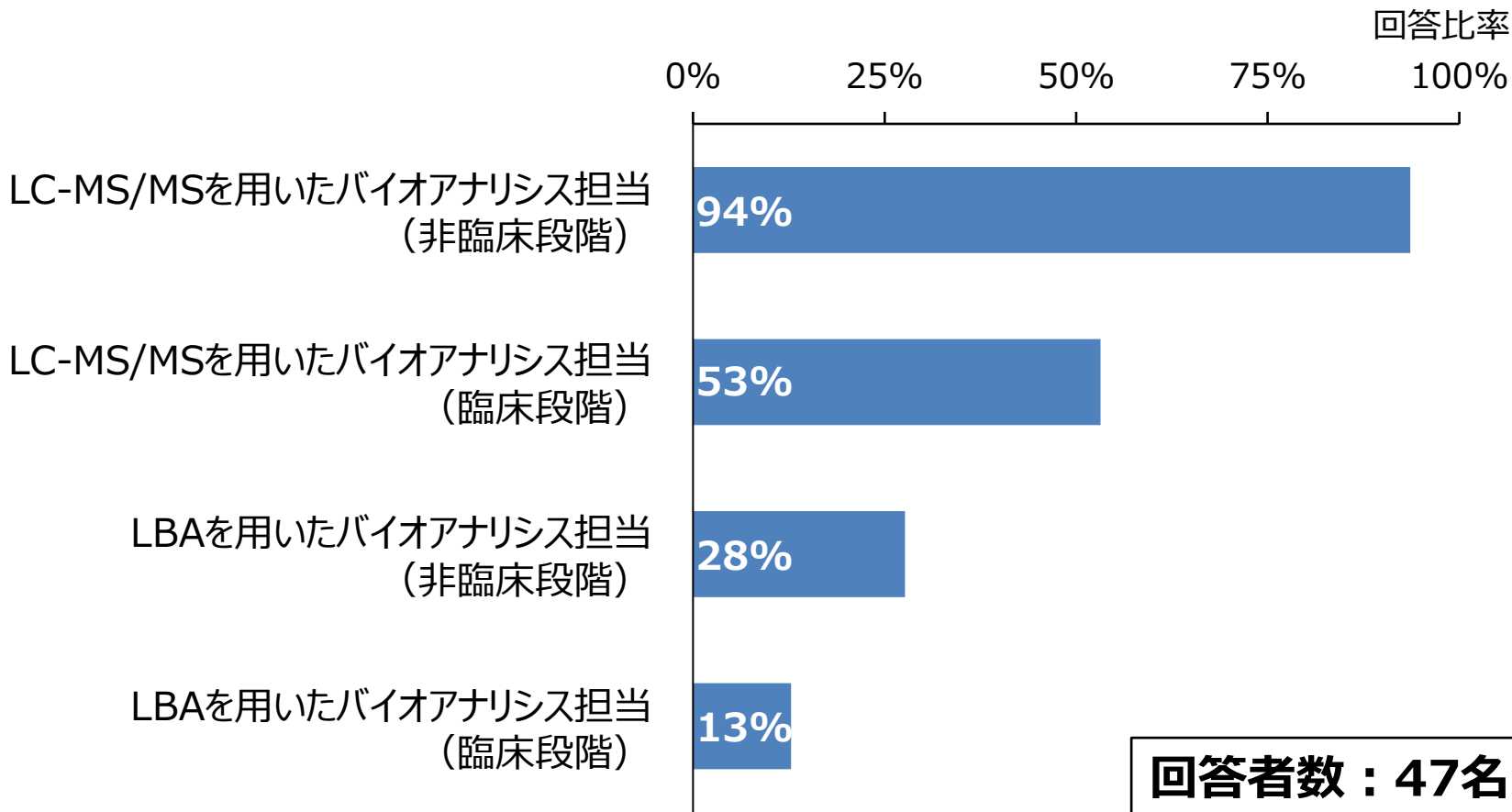
- 時期：2022年9月16日～30日
- 方法：SurveyMonkeyによるWeb上の収集
- 配信先：DGサポーター
- 回答数：49名

所属先を確認したアンケートQ1より、製薬メーカー35名、CRO14名からの回答が得られた。



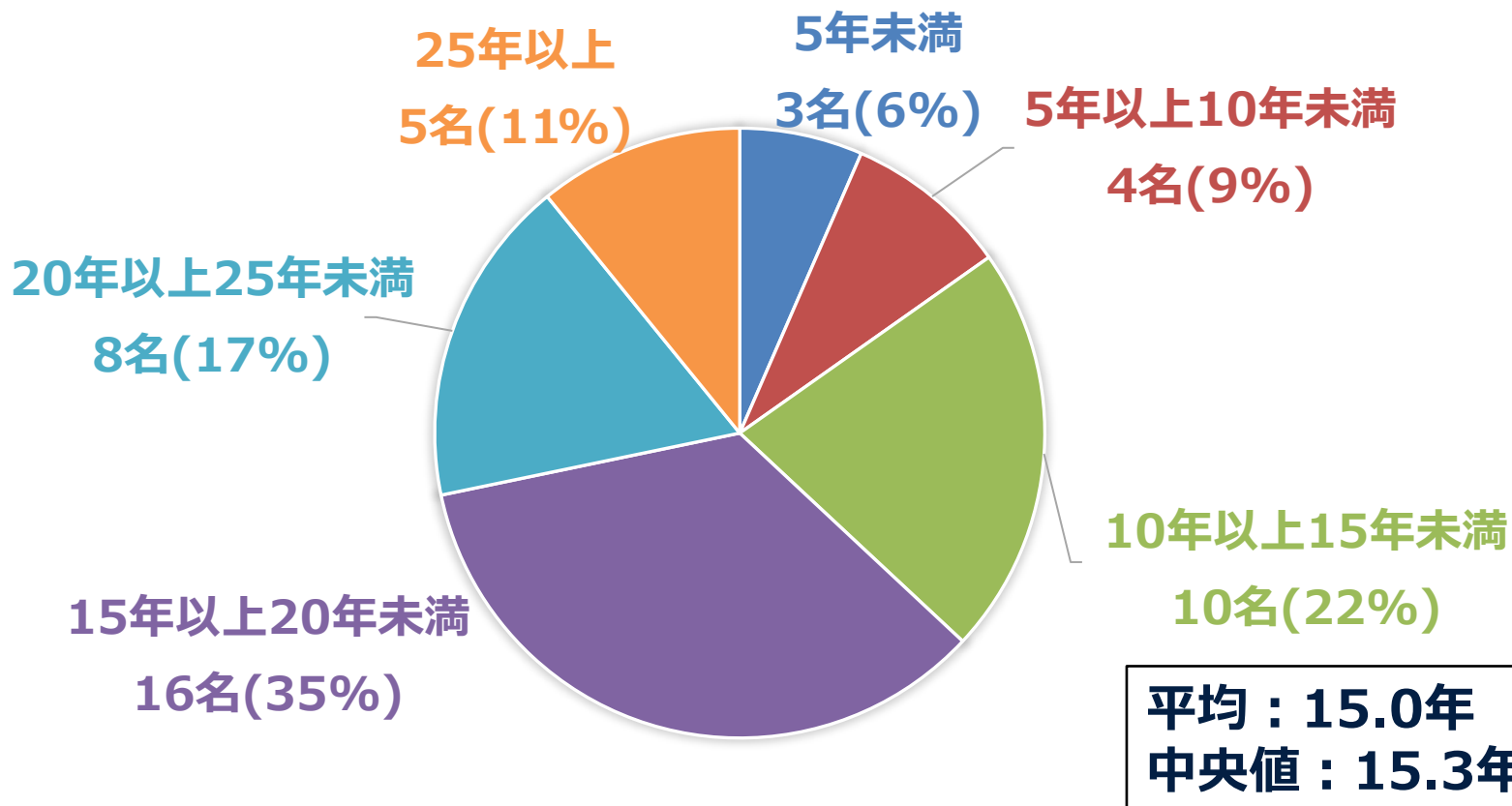


1-1. 担当されている業務についてお知らせください。



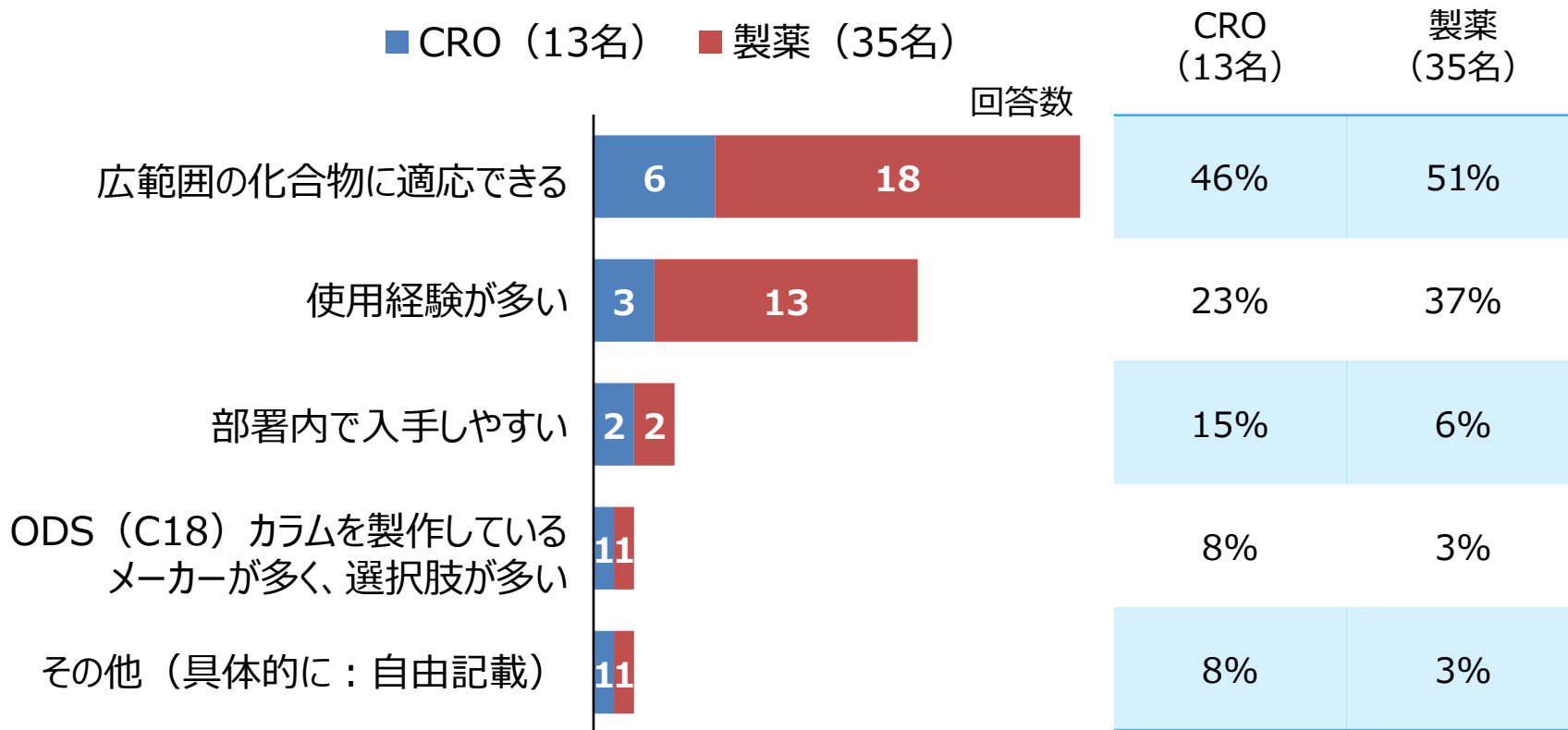
<http://bioanalysisforum.jp/>

1-2. これまでのLC-MS/MS分析歴について お知らせください。



分析歴は、**15年以上20年未満の中堅・ベテラン層が最多**で、**10年未満の若年層が少ない**傾向であった。

1-3. ODS (C18) カラムを選択する1番の理由について 選択してください。



ODSカラムの選択理由は、**広範囲の化合物に適応できる**が**最多**で、業種の違いによる選択理由の差異は見られなかった。

1-3. ODS (C18) カラムを選択する1番の理由について 選択してください。

「その他」で上げられた回答

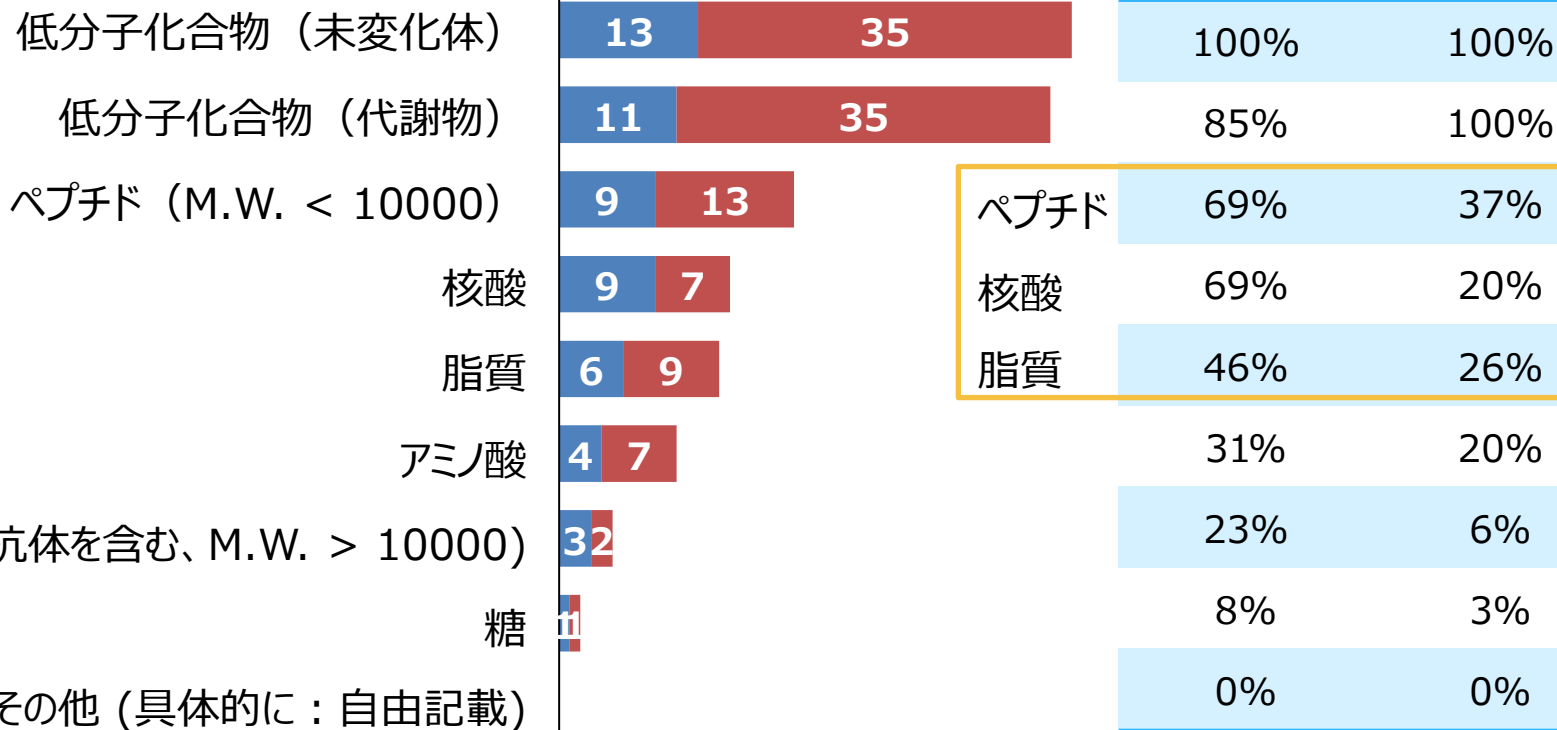
- 再現性が良い。
- 逆相モードでの理論段数が高く、安定した品質でコントロールされた製品が入手できる。

1-4. ODS (C18) カラムを使用した場合の測定対象についてお知らせください。

■ CRO (13名) ■ 製薬 (35名)

回答数

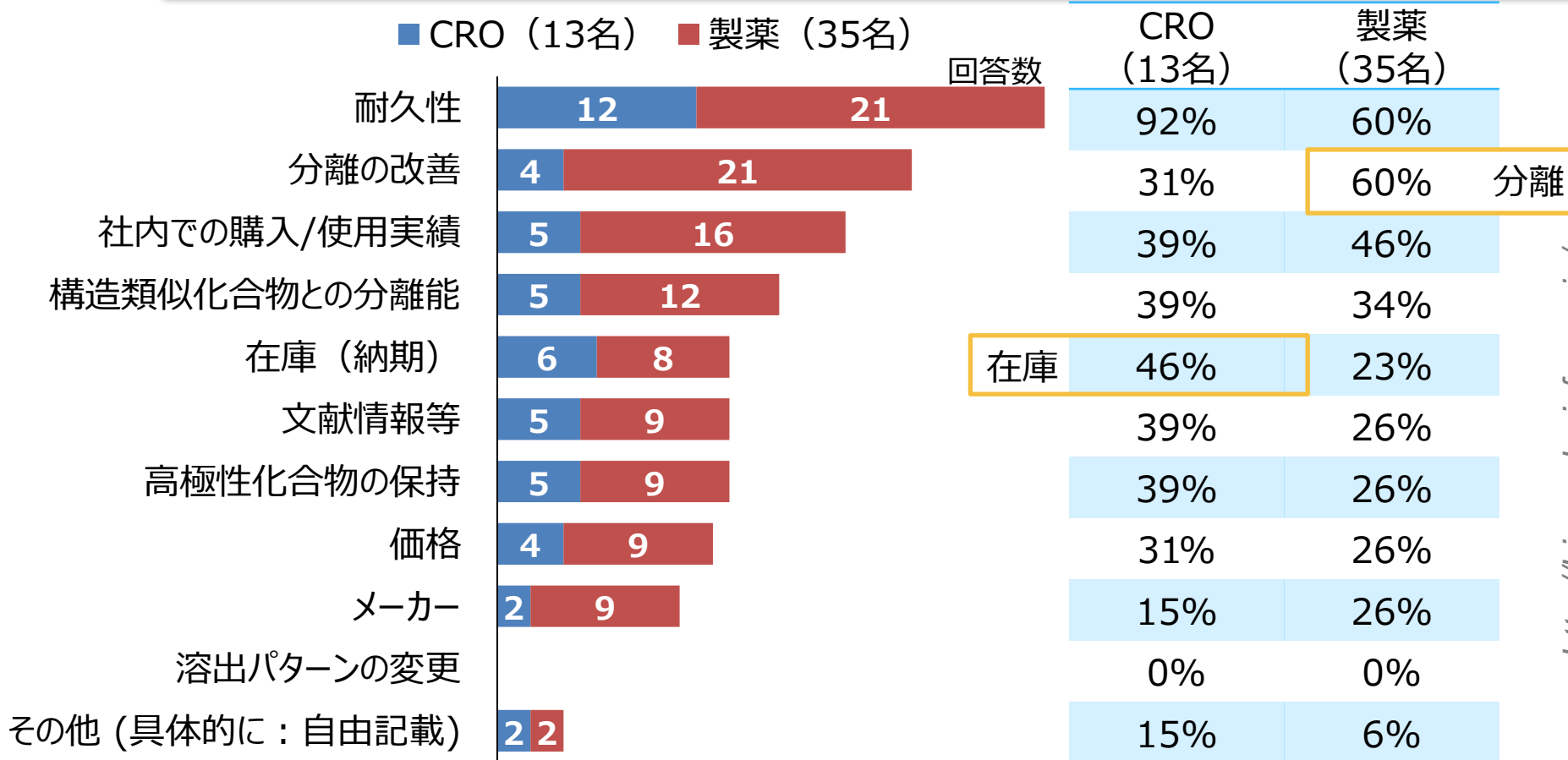
CRO (13名) 製薬 (35名)



<http://bioanalysisforum.jp/>

- 全てについてCROと製薬から回答が得られたため、分析対象については差がないことが分かった。
- 中分子や脂質などの比較的新しい分析対象についてCROの方が回答率が高い。

1-5. ODS (C18) カラムを選択する際に重視する点 についてお知らせください。



- CROでは『在庫』を、製薬では『分離』を優先する回答が多く、業種間の差が見られた。

CROではデータ納期にシビアなことが、製薬では可能な限り未知の物質の影響を減らすために分離を優先していることがうかがえた。

1-5. ODS (C18) カラムを選択する際に重視する点 についてお知らせください。

「その他」で上げられた回答

<CRO>

- 疎水性相互作用以外の反応が制御されているカラム（無いという意味ではない）。これが不十分だとロット間差や再現性に影響する。逆相モードでの理論段数が高く、安定した品質でコントロールされた製品が入手できる。
- 再現性。

<製薬>

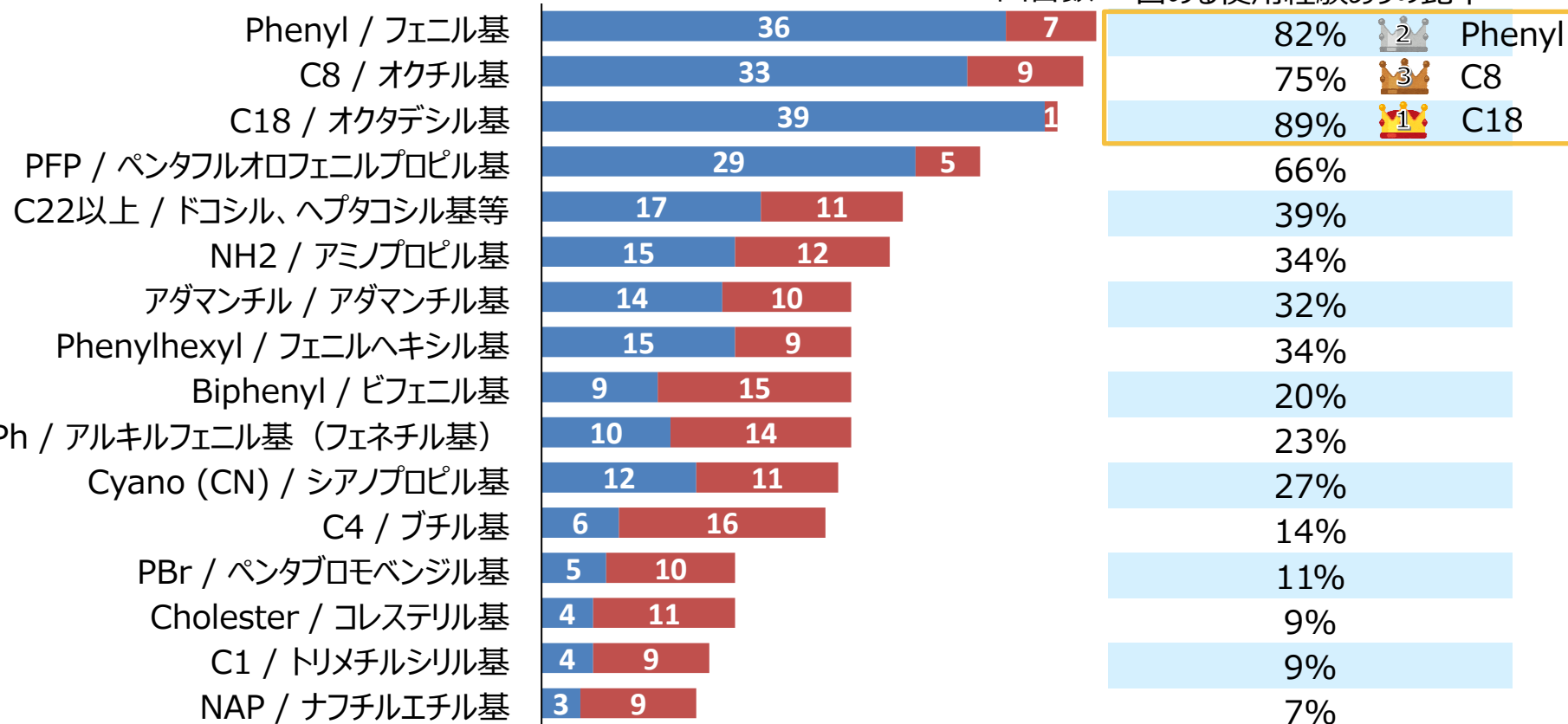
- ピークのシャープさ（テーリングしない）。
- 広範囲な分析に対応できること、低吸着性。

1-6. カラムの使用経験・認知状況について お知らせください。（逆相モード）

■ 使用経験あり ■ 見聞きあり

回答数

回答者数（44名）に
占める使用経験ありの比率

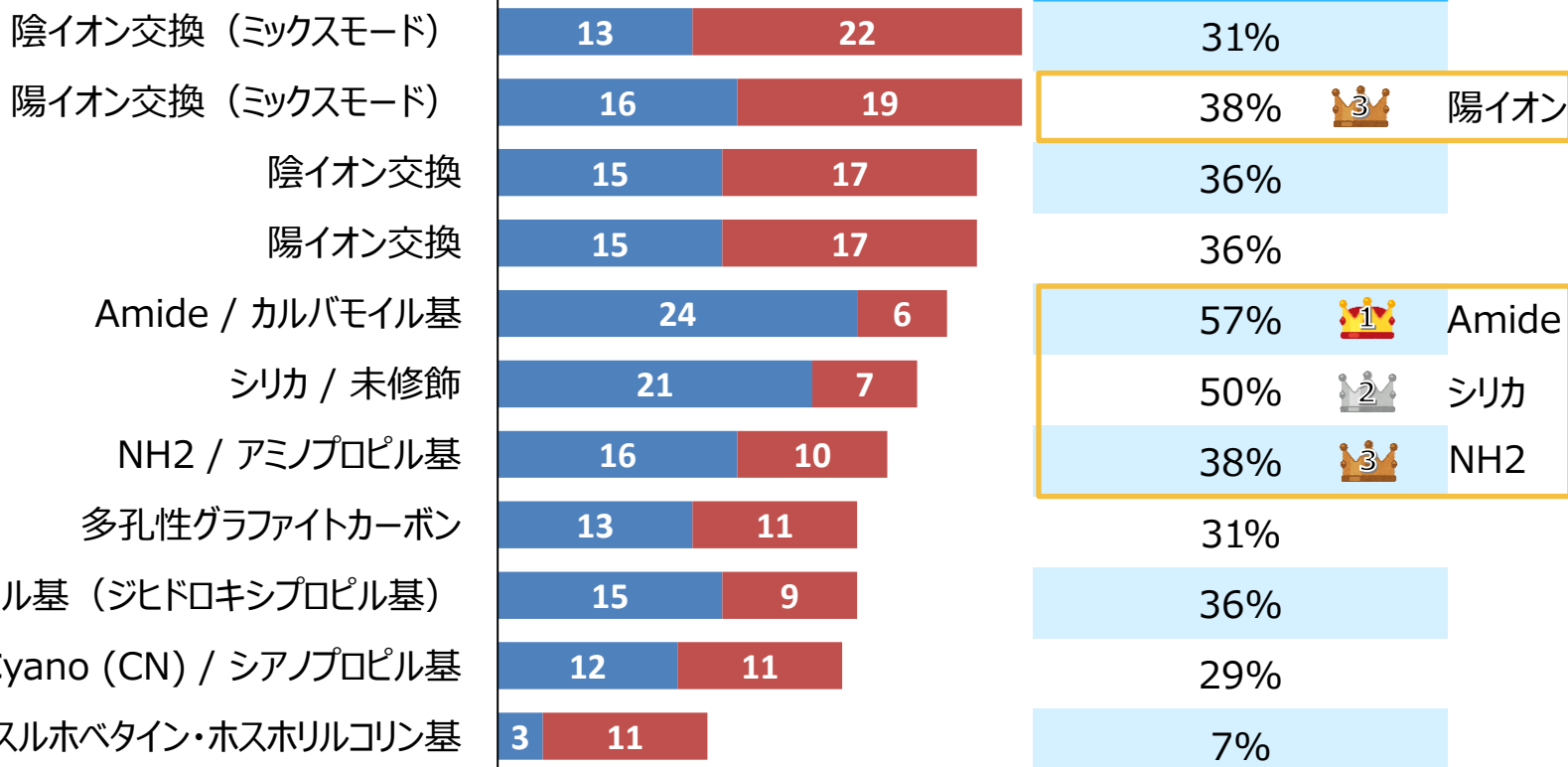


カラムの認知度では『Phenyl/フェニル基』カラムが1位であったが、
使用経験では『C18/オクタデシル基』カラムが上回り1位であった。

1-7. カラムの使用経験・認知状況について お知らせください。（HILICモード、イオン交換、その他）

■ 使用経験あり ■ 見聞きあり

回答者数（42名）に
占める使用経験ありの比率



カラムの認知度では『陰イオン交換（ミックスモード）』カラムが1位であったが、
使用経験では『Amide/カルバモイル基』カラムが上回り1位であった。

1-8. カラムの使用頻度についてお知らせください。 (逆相モード)

上位から順に5ポイント、4ポイントと振って集計を行った。

カラム	1位	2位	3位	4位	5位	ポイント計
C18 / オクタデシル基	34	0	0	0	1	171
C8 / オクチル基	0	12	12	5	0	94
Phenyl / フェニル基	3	10	6	3	2	81
PFP / ペンタフルオロフェニルプロピル基	2	10	4	2	2	68
アダマンチル / アダマンチル基	0	1	5	3	0	25
C22以上 / ドコシル、ヘプタコシル基等	0	1	0	3	2	12
Phenylhexyl / フェニルヘキシル基	0	1	2	1	0	12
NH2 / アミノプロピル基	0	0	1	1	3	8
C4 / ブチル基	0	1	0	0	2	6
Cyano (CN) / シアノプロピル基	0	0	1	1	1	6
PBr / ペンタブロモベンジル基	0	0	1	0	0	3
Biphenyl / ビフェニル基	0	0	0	1	0	2
C1 / トリメチルシリル基	0	0	0	0	0	0
Ph / アルキルフェニル基 (フェネチル基)	0	0	0	0	0	0
NAP / ナフチルエチル基	0	0	0	0	0	0
Cholester / コレステリル基	0	0	0	0	0	0
使用頻度の高いカラムなし	0	0	1	1	2	—

C18カラムが最も使用頻度が高く、次いでC8カラム、フェニルカラムで高かった。

1-9. カラムの使用頻度についてお知らせください。 (HILICモード、イオン交換、その他)

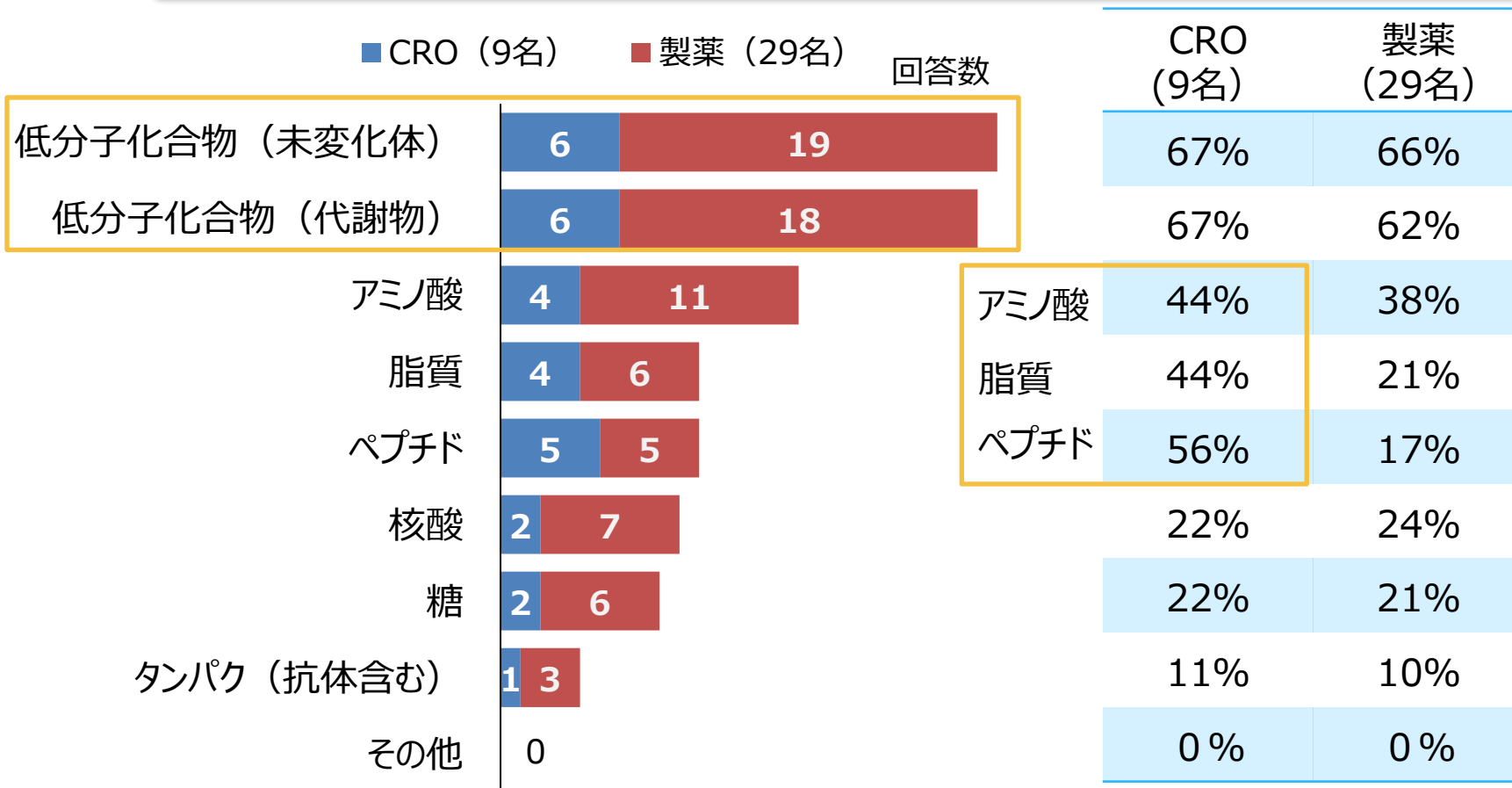
上位から順に5ポイント、4ポイントと振って集計を行った。

カラム	1位	2位	3位	4位	5位	ポイント計
Amide / カルバモイル基	7	4	4	1	1	66
シリカ / 未修飾	9	3	1	1	2	64
NH ₂ / アミノプロピル基	4	1	1	2	0	31
ジオール / ジオール基 (ジヒドロキシプロピル基)	0	6	2	0	0	30
陽イオン交換 (ミックスモード)	3	1	2	2	1	30
陰イオン交換 (ミックスモード)	0	3	2	4	0	26
多孔性グラファイトカーボン	2	1	2	2	2	26
Cyano (CN) / シアノプロピル基	0	1	3	0	0	13
陽イオン交換	0	1	1	1	2	11
陰イオン交換	0	0	2	1	1	9
ベタイン / スルホベタイン・ホスホリルコリン基	1	0	0	0	0	5
使用頻度の高いカラムなし	11	2	0	0	2	—

※その他 : Zwitter ion (ベタインと同じ)

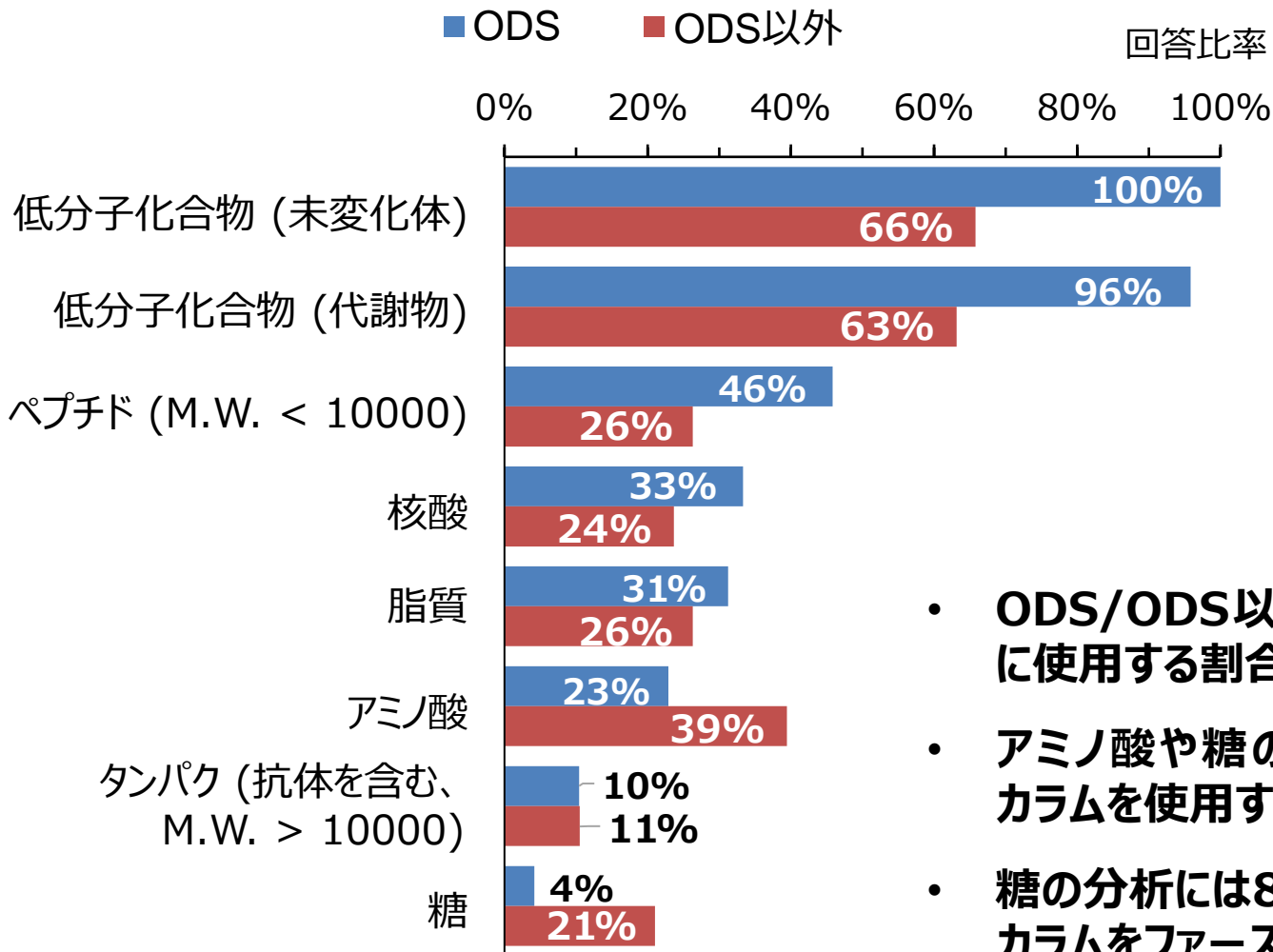
シリカやAmideカラムの使用頻度が高かった一方、ODS以外は使用経験のない方も一定数いることが見受けられた。

1-10. ODS以外のカラムを使用した場合の測定対象についてお知らせください。



- CRO、製薬共に低分子化合物（未変化体、代謝物）が上位であった。
- CROではアミノ酸、脂質、ペプチドを測定対象とした使用も4~5割であった。
- 核酸、糖、タンパクを測定対象とした場合はCRO、製薬共に1~2割と低い傾向。

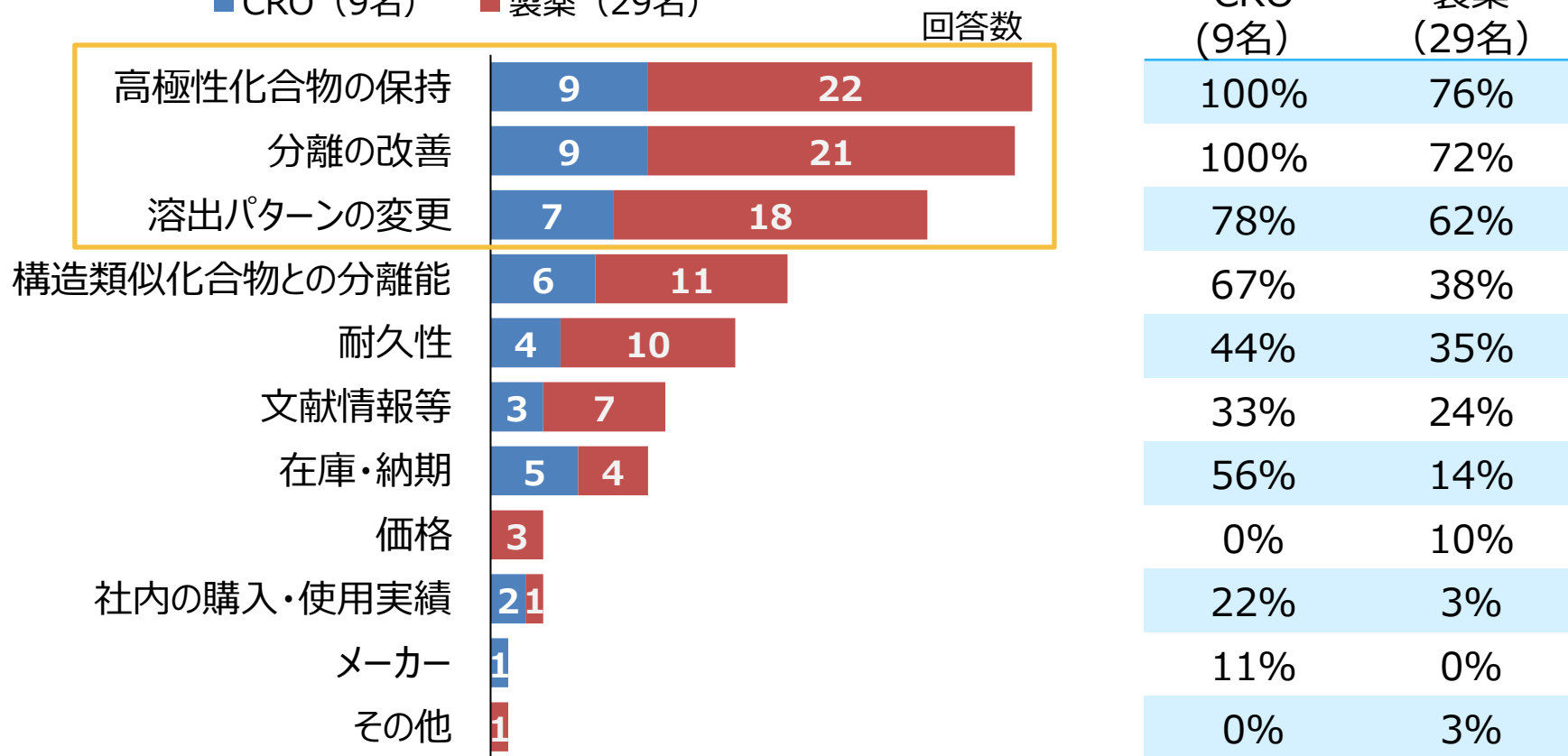
～カラム種別比較～ 測定対象についてお知らせください。



- ODS/ODS以外ともに低分子の分析に使用する割合が最も高かった。
- アミノ酸や糖の分析にはODS以外のカラムを使用する割合が高かった。
- 糖の分析には8人中7人がODS以外のカラムをファーストチョイスに用いていた。

1-11. ODS (C18) 以外のカラム選択時に重視する点 についてお知らせください。

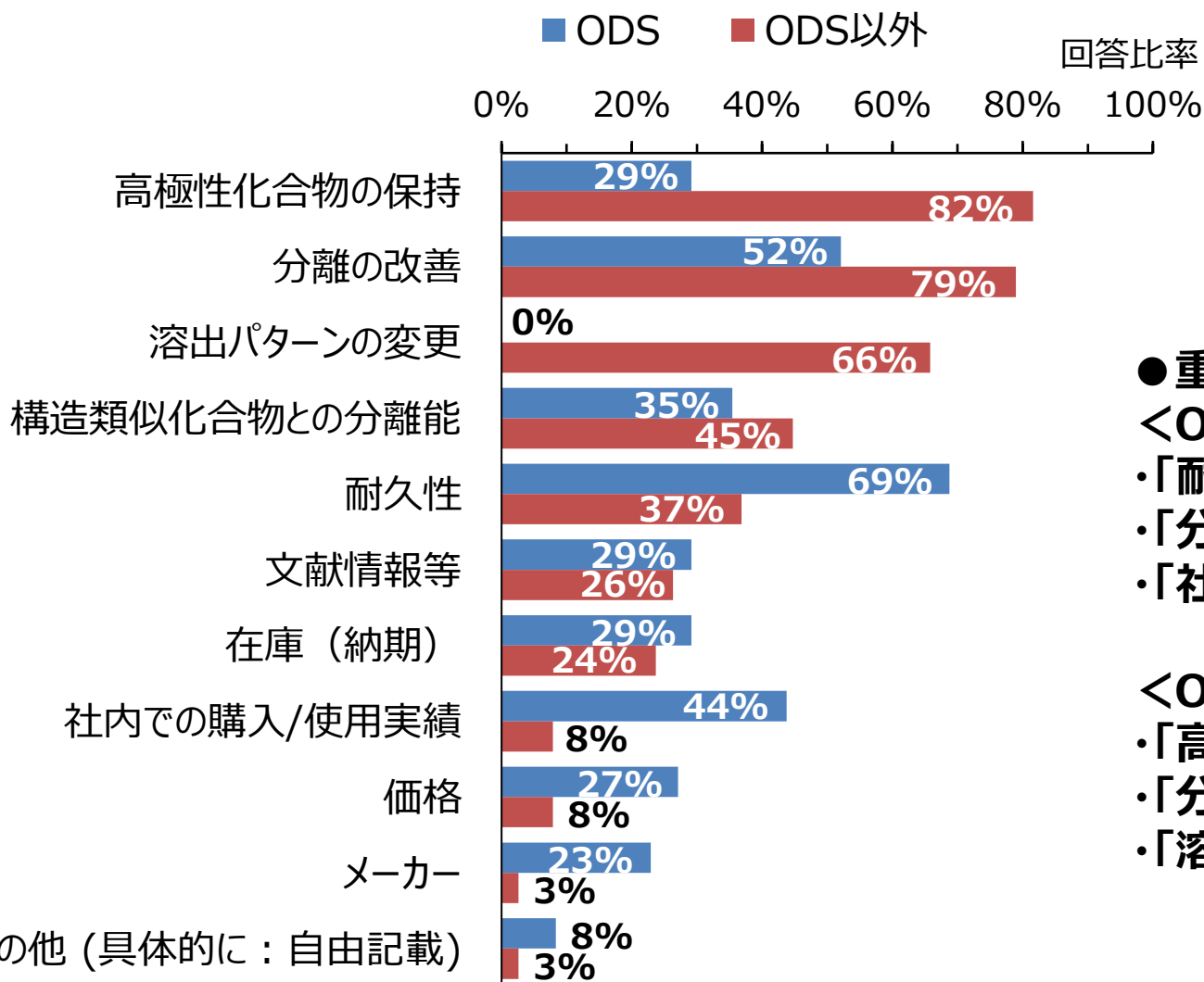
■ CRO (9名) ■ 製薬 (29名)



高極性化合物の保持、分離の改善、溶出パターンが上位であり、
次いで、構造類似化合物との分離やカラムの耐久性が重視されていた。

～カラム種別比較～

カラム選択時に重視する点についてお知らせください。



● 重視するポイント

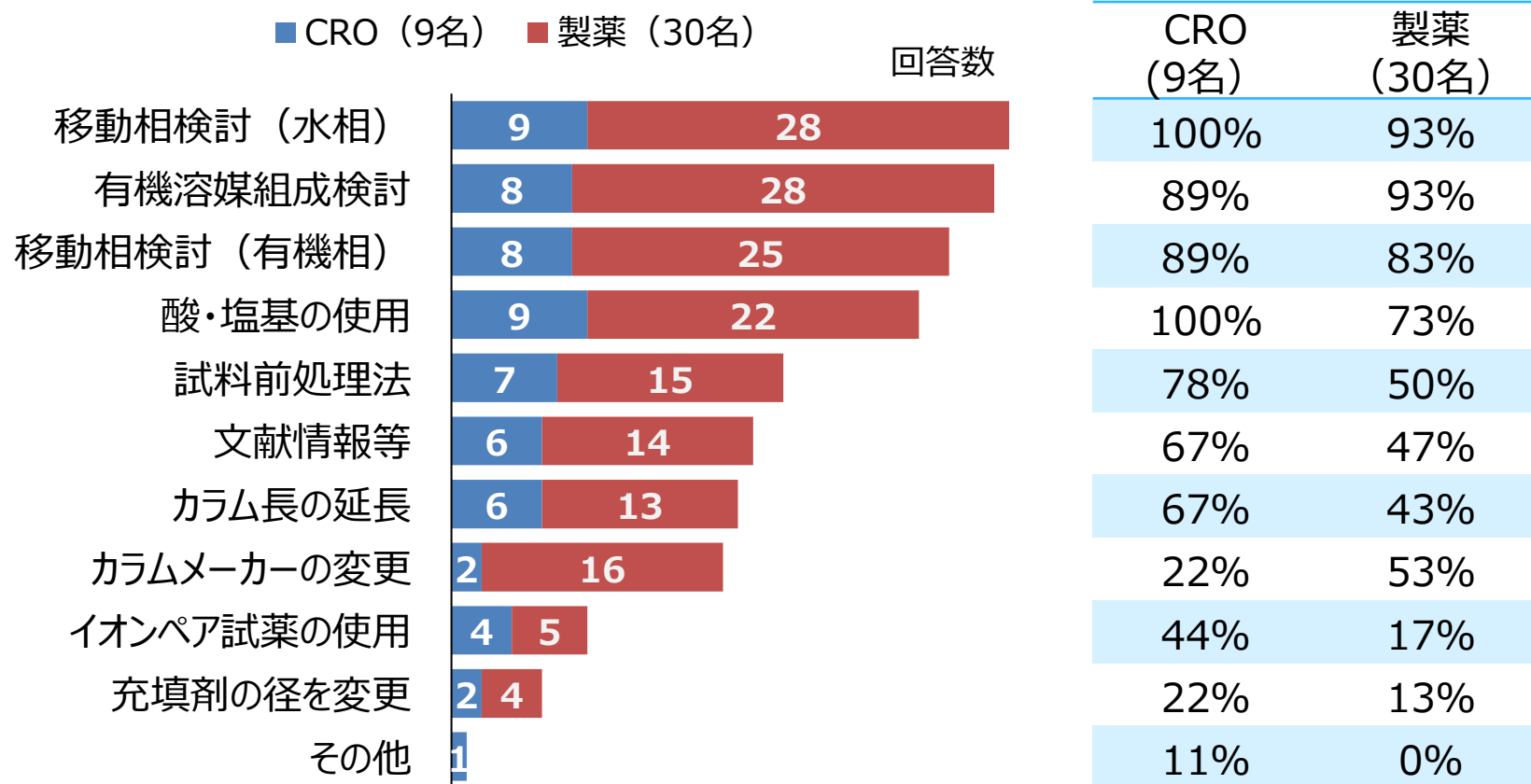
<ODS>

- ・「耐久性」
- ・「分離の改善」
- ・「社内での購入/使用実績」

<ODS以外>

- ・「高極性化合物の保持」
- ・「分離の改善」
- ・「溶出パターンの変更」

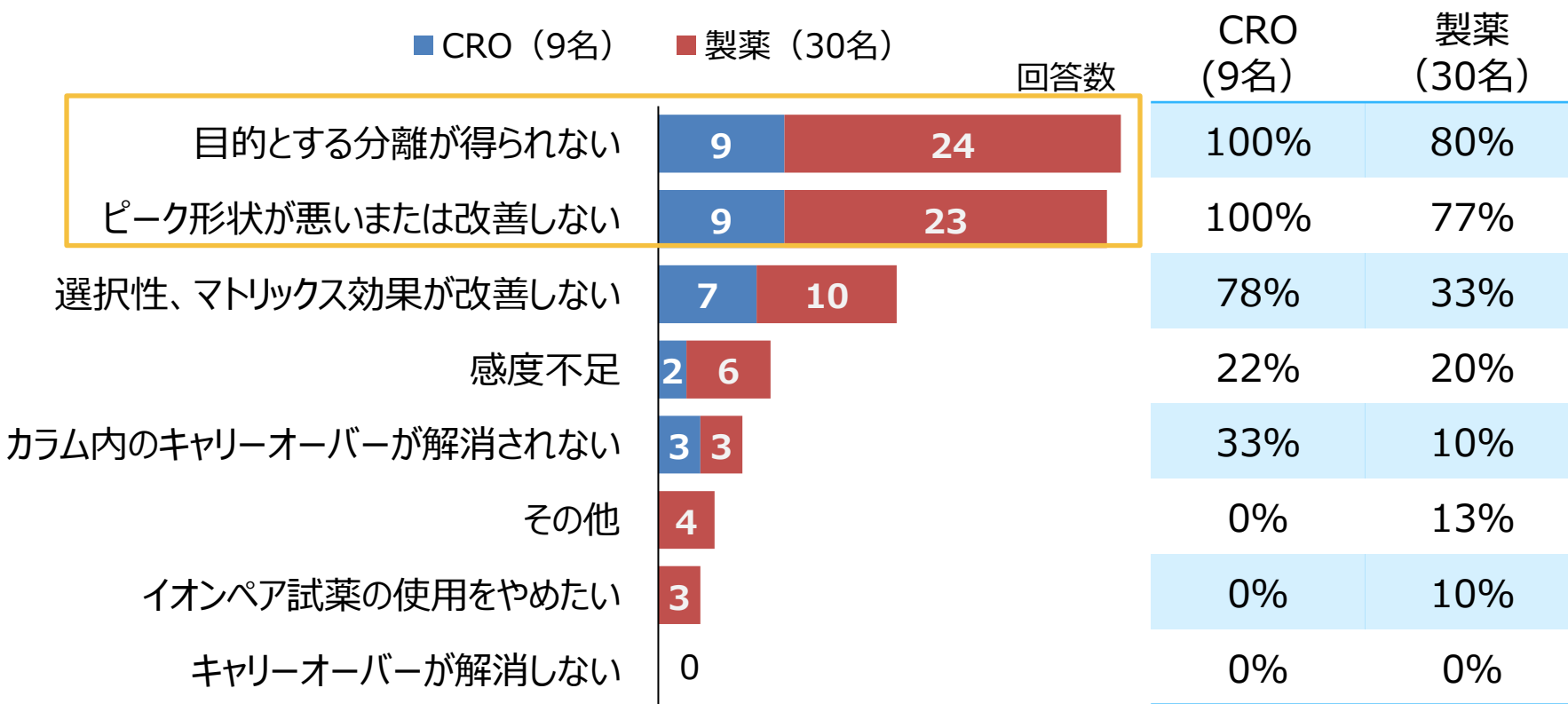
1-13. ODS (C18) カラムを断念するまでに実施する検討項目について教えてください。



検討項目の優先順位はCRO、製薬共に同傾向を示した。

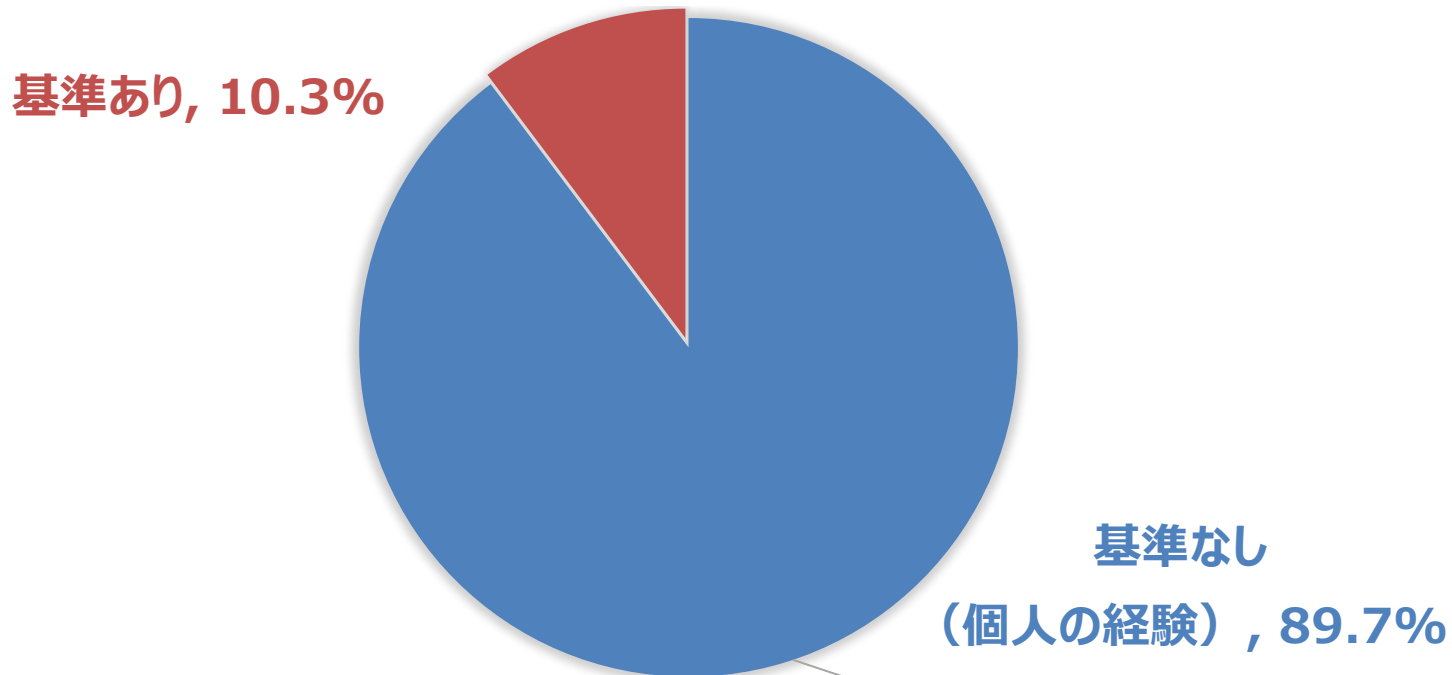
- ① 移動相の塩や有機溶媒の種類、組成の検討
- ② 試料の前処理方法の検討
- ③ カラムの長さ、径、メーカー、イオンペア試薬の必要性

1-14. ODS (C18) カラムでの検討を諦めた理由・事象を教えてください。



ODS (C18) カラムを諦めた理由の約8割は、目的とする分離やピーク形状の改善が認められない場合であった。

1-15. ODS (C18) 以外のカラムを選択する判断基準をお知らせください。



回答者数 : 39名

ODS(C18)以外のカラムを選択する「判断基準あり」の回答は、約1割

カラム選択には、測定対象やマトリックスなど多くの要素が関係するため、個人の経験によるものが大きい事がうかがえる結果であった。

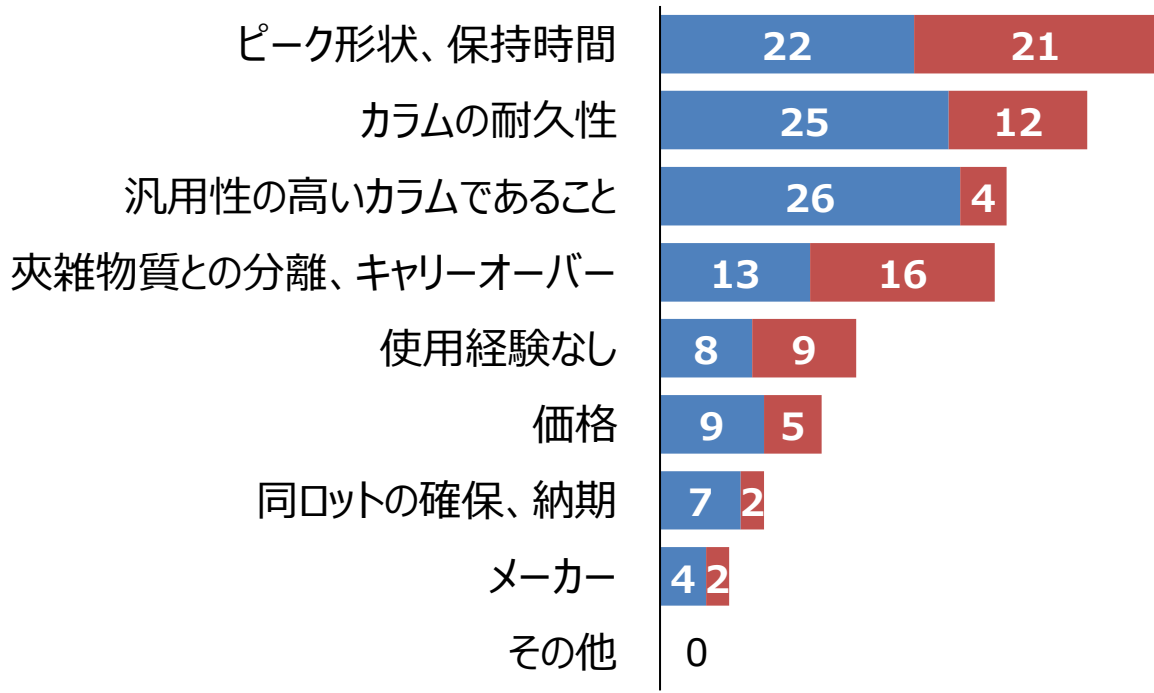


1-16. 探索ステージ

測定法構築時にカラム選択で重視する点は何ですか？

回答者数 (39名)

■ ODS (C18) ■ ODS (C18) 以外



ODSの上位3項目

- ① 汎用性
- ② 耐久性
- ③ ピーク形状、保持時間

ODS以外の上位3項目

- ① ピーク形状、保持時間
- ② 分離、キャリアオーバー
- ③ 耐久性

探索ステージでは、汎用性や耐久性が重視される傾向があった。
 ODS (C18) 以外のカラムでは、ODS (C18) で重視された汎用性よりもカラム性能が重視されていた。

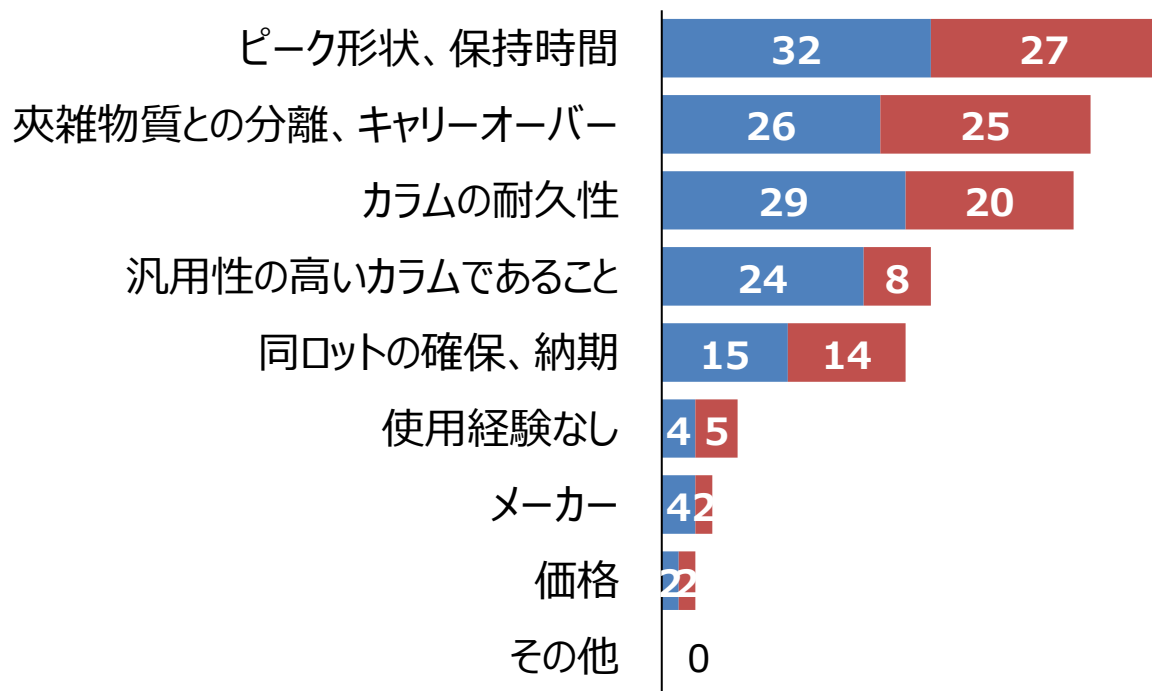
http://bioanalysisforum.jp/

1-17. 開発ステージ

測定法構築時にカラム選択で重視する点は何ですか？

回答者数 (39名)

■ ODS (C18) ■ ODS (C18) 以外



ODSの上位3項目

- ① ピーク形状、保持時間
- ② 耐久性
- ③ 分離、キャリーオーバー

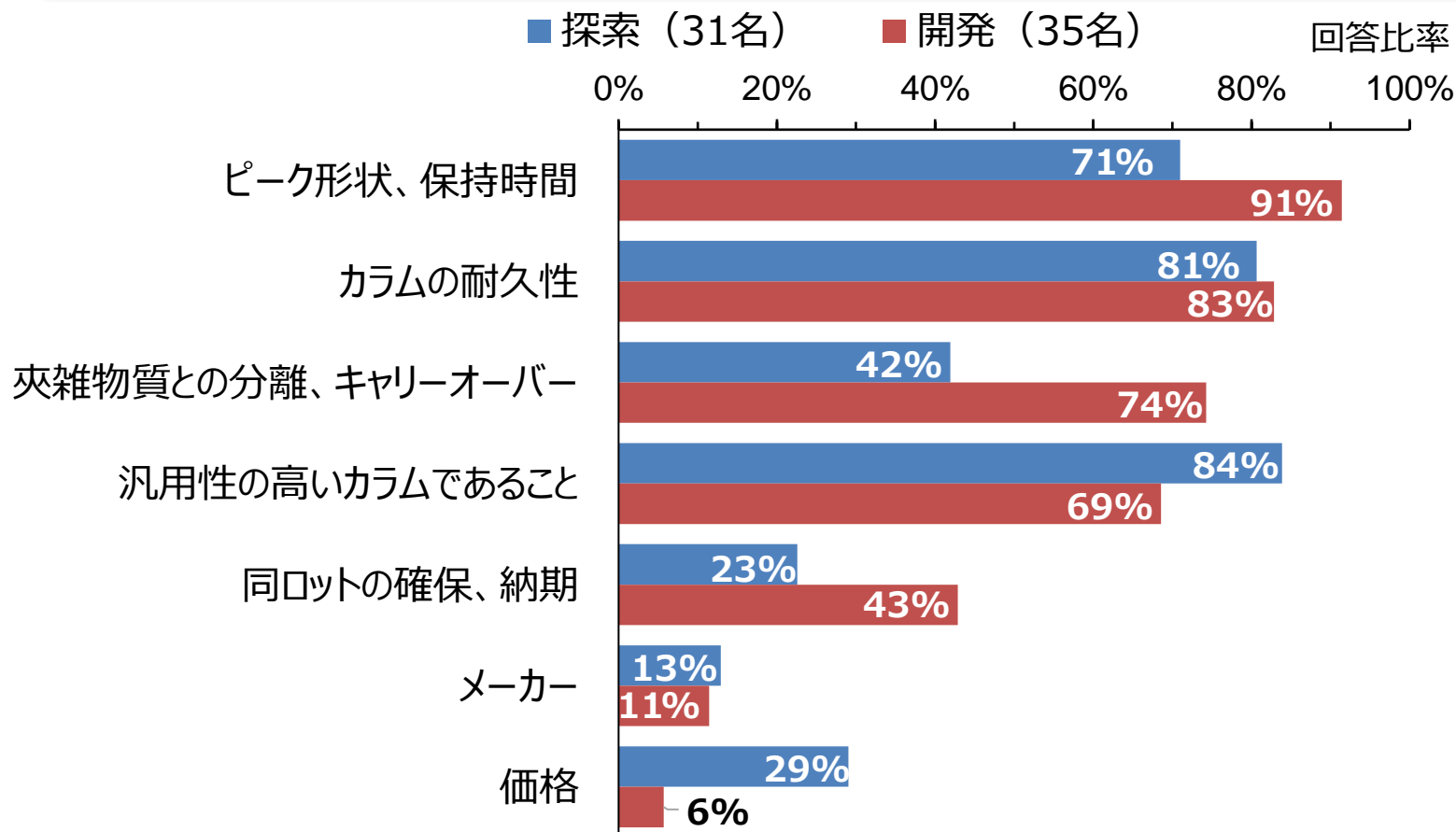
ODS以外の上位3項目

- ① ピーク形状、保持時間
- ② 分離、キャリーオーバー
- ③ 耐久性

汎用性、耐久性、カラム性能が重視される傾向は探索ステージと同様であったが、開発ステージではロットの確保や納期を重視している傾向が多かった。

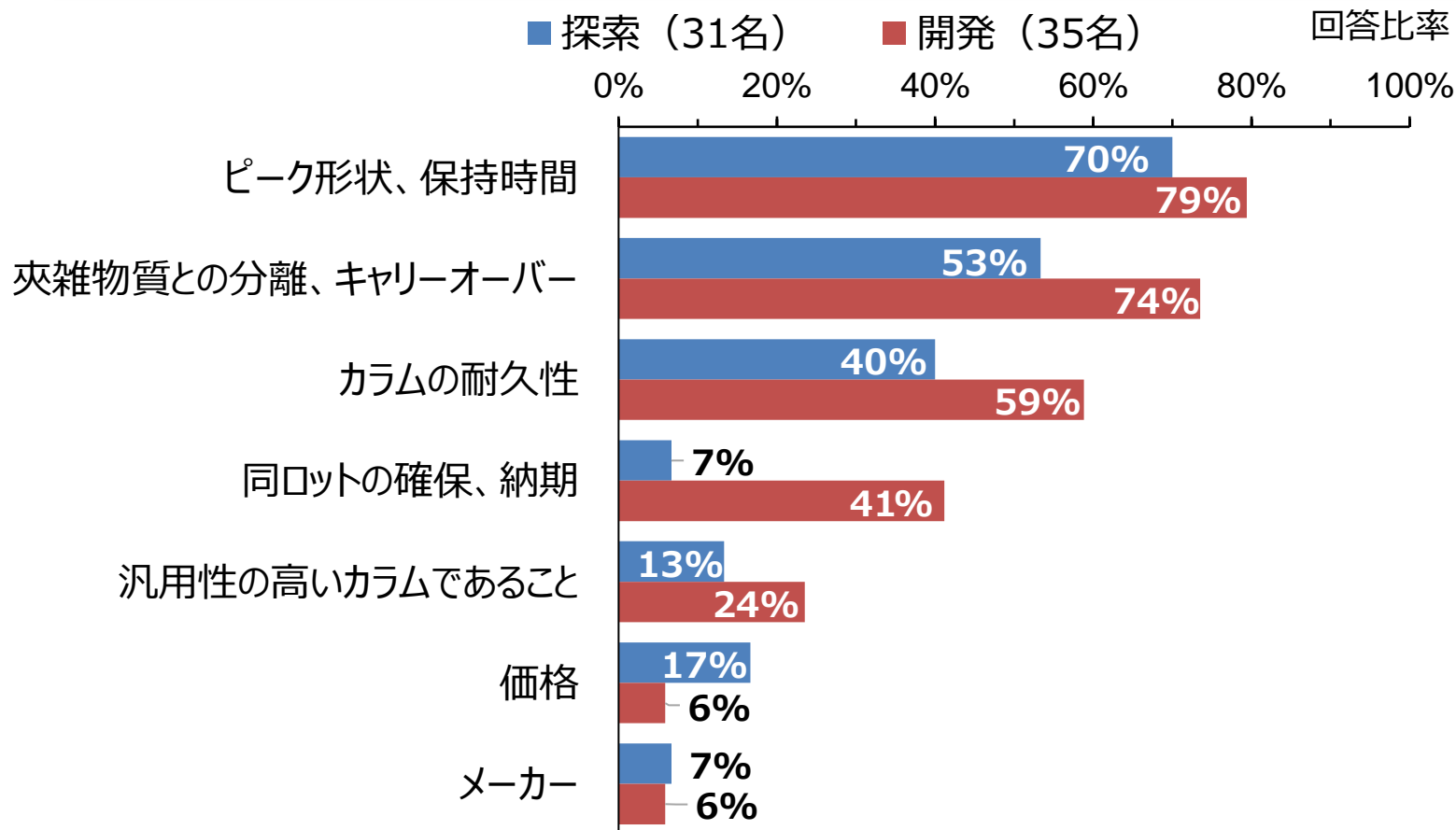
～ステージ別比較（ODS）～

測定法構築時にカラム選択で重視する点は何ですか？



- 「夾雑物質との分離、キャリアオーバー」、「同ロットの確保、納期」は、探索ステージより開発ステージでよりケアする人の割合が多い。
- 「価格」は、開発ステージより探索ステージで重視する人が多い。

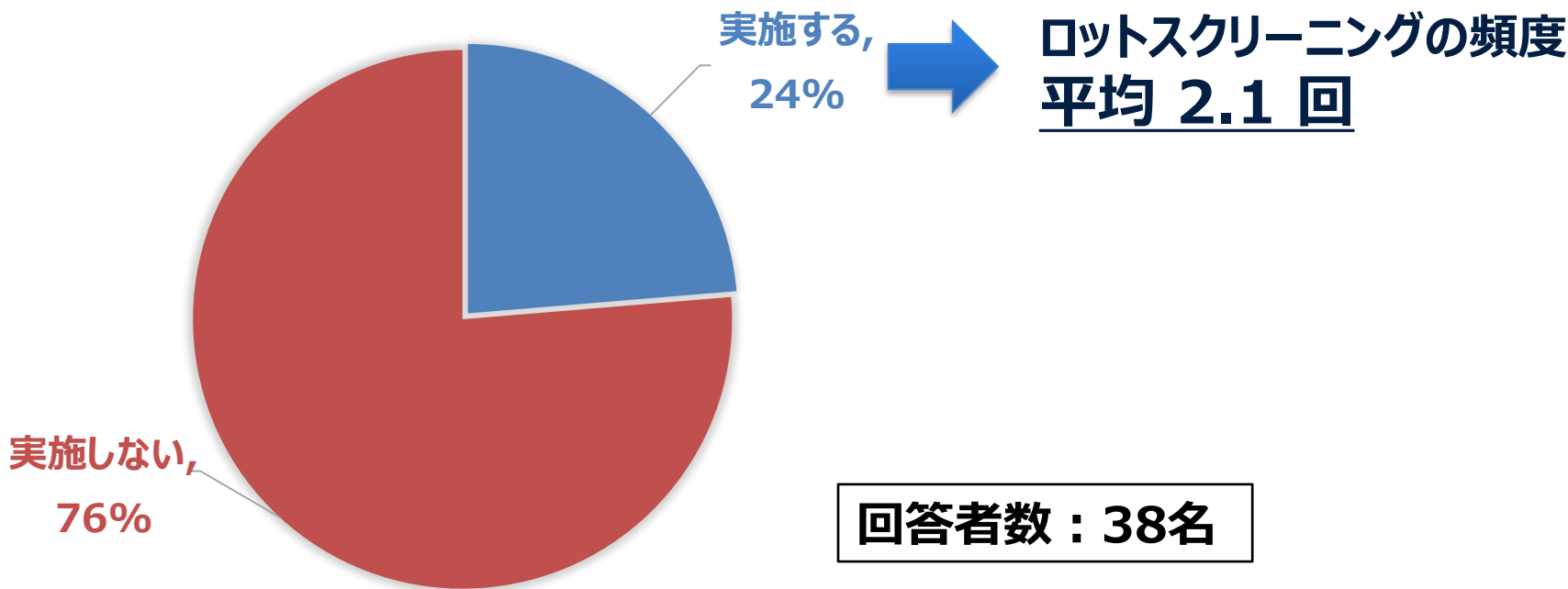
～ステージ別比較（ODS以外）～ 測定法構築時にカラム選択で重視する点は何ですか？



「ロットの確保、納期」探索ステージより開発ステージでよりケアする人の割合が多い。

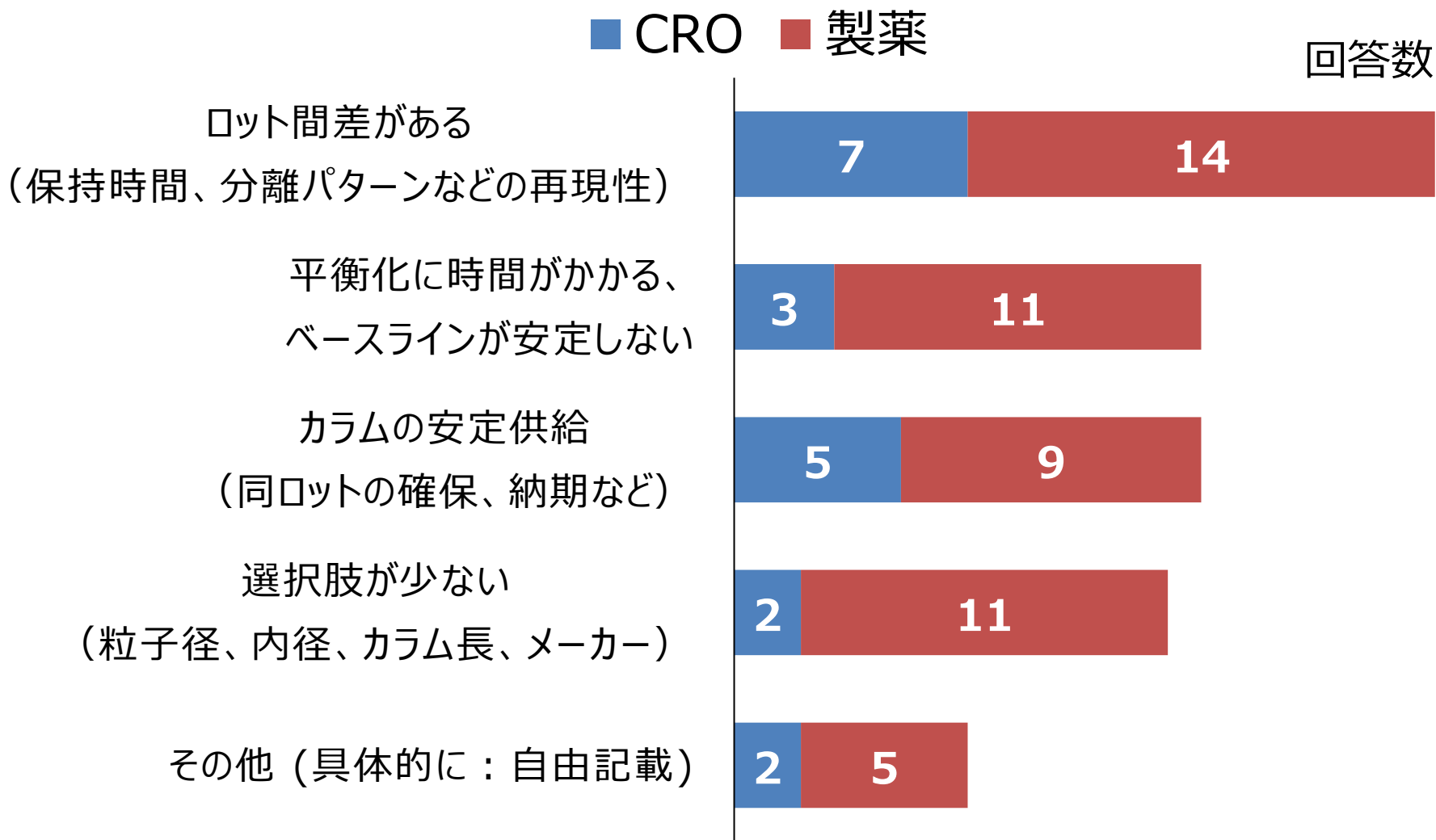
1-18. ODS (C18) 以外のカラム ロットスクリーニングとその頻度について

ロットスクリーニング実施の有無



ODS (C18) 以外のカラムにおいて、ロットスクリーニングの実施は3割弱であった。

1-19. ODS (C18) 以外のカラムを用いて測定法構築を行った際、困った事、問題解決に時間がかかった事がありますか？

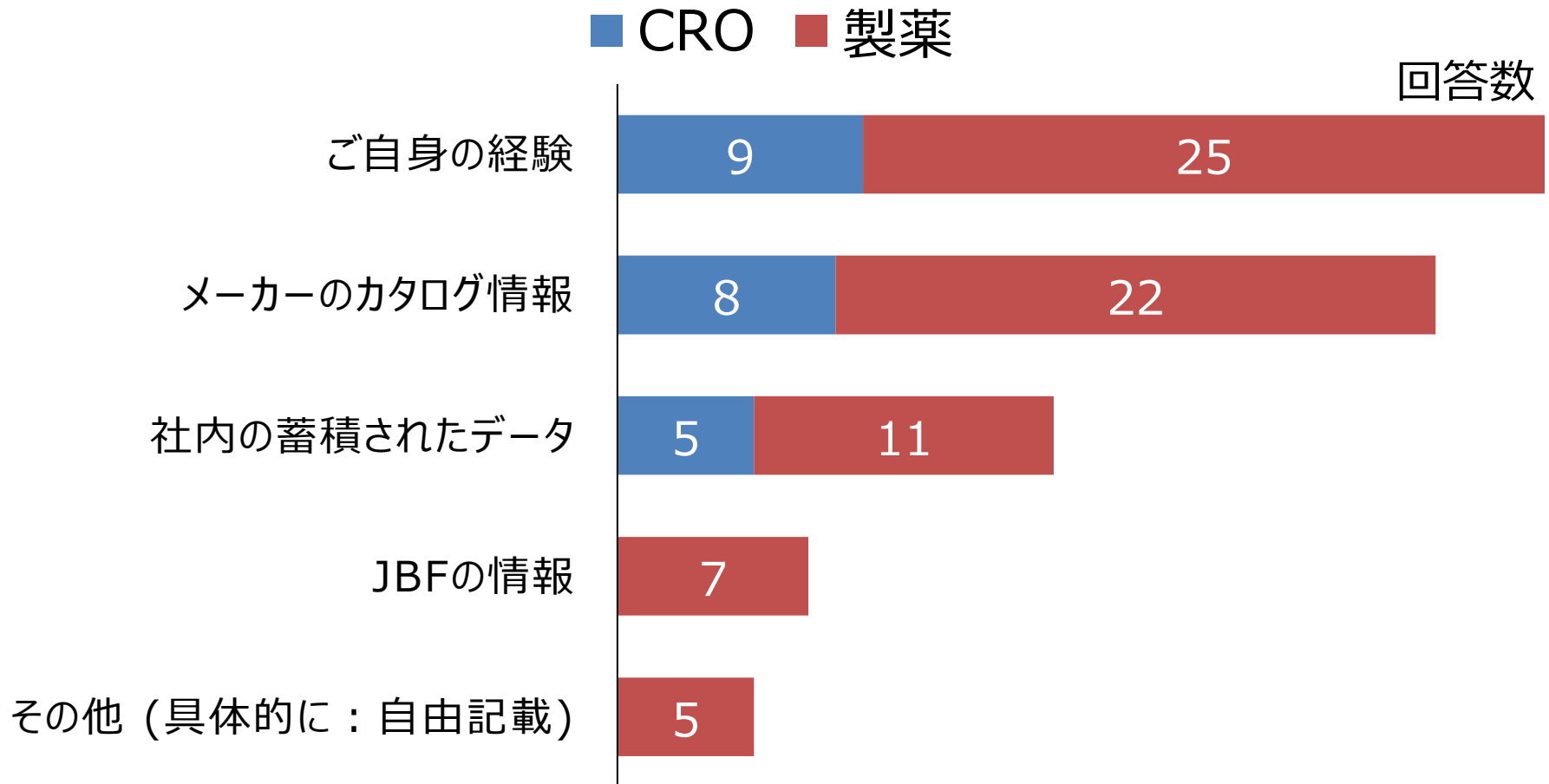


1-19. ODS (C18) 以外のカラムを用いて測定法構築を行った際、困った事、問題解決に時間がかかった事がありますか？

「その他」で上げられた回答

- ピークの再現性不良、カラムの耐久性への影響、自在な分離の調製が難しいケースが多い。
- 検討のパラメータが良く理解できていないことがある。メタノール、アセトニトリル、塩の種類や濃度についての役割や作用機序がC18と異なる場合は難しい。
- 海外メーカーのカラムで、ロット間差で全く使用できないものがあつた。緊急を要する試験のみ使用可能なロットで乗り切つたが、それ以降は代替となるカラムを検討した。
- 分離条件の設定が難しい。
- 文献や公開情報の分析条件と結果が再現できない。
- 複数化合物の分離の良しあしがロットによって異なつた。
- 耐久性が良くない、ピーク形状が良くない。

1-20. カラム選択にあたり参考にする情報は何か？



その他の回答では文献情報やカラムメーカーの営業からの情報が挙げられていた。

1-21. カラム選択にあたり、あれば便利な情報や役に立つと考える事がありましたら教えてください。

- バイオアナリシスでの耐久性情報や分離情報（アプリケーションデータは、ほぼReference分離のみや標準溶液の多数注入の結果のみ）生体試料共存下でのデータがあれば貴重。あとは、真のキャリーオーバー情報。
- 生体試料の測定アプリケーションが少ないので、より充実したデータがあれば助かる。
- 啓蒙書や実務に即した研修資格。（HPLCはLC-MSの普及により入門の敷居は低くなりましたが、使えた様な気になって、勘違いしている人が増えている気がします。）
- 業界内で推奨のファーストチョイスのカラム（メーカー、商品）。メーカーがテーリングが無いと言っているにもかかわらずテーリングすることが多い。C18カラムもメーカーや種類が多く、選ぶのが大変。ユーザーの評判がよいカラムや測定対象成分に対してゴールドスタンダードなカラムが紹介されているとよい。
- 高極性、強塩基、強酸化合物などの分析について、どのようなカラム（具体的な製品名）を各製薬企業やCROが使っているか、に関する情報。入手、公開が難しいとは思いますが。
- ODS以外の実施例が少ないため、もっとあるとよい。
- 難しいとは思いますが、カラム選択ガイドがあればぜひ利用したい。
- 各メーカーのカラムの温度、耐圧、既存薬での保持情報が載っているデータベース。
- カラムを使ってみないとわからない事もあり、各社のカラムのお試しやカラムレンタルが気軽にできるシステムがあると便利だと思っています。
- 使用実績。

小括（１） 1回目のアンケートより

- ODS（C18）、ODS（C18）以外のカラムについて
ODS（C18）カラムは広範囲の化合物に使用されており、カラムの第1選択であった。
また、高極性化合物には、ODS（C18）以外のカラムの使用が多かった。

	ODS（C18）	ODS以外
選択理由	広範囲の化合物に対応可能	回答者数の9割が「カラム選択の判断基準なし」と回答
測定対象	①低分子（未変化体） ②低分子（代謝物） ③ペプチド（M.W.<1000）	①低分子（未変化体） ②低分子（代謝物） ③アミノ酸
カラム選択時に重視する点	①耐久性 ②分離改善 ③使用実績	①高極性化合物の保持 ②分離の改善 ③溶出パターンの変更
ODS（C18）を断念するまでの検討項目	①移動相 ②試料の前処理方法 ③カラムの長さ、径、メーカー	
ODS（C18）を諦めた理由・事象	①目的とする分離が得られない ②ピーク形状が改善しない ③選択性が改善しない	

Summary (1) from First Survey

- Regarding ODS (C18) columns and those other than ODS

The ODS (C18) column has been used for a wide range of compounds and was the column of first choice. In addition, columns other than ODS (C18) were often used for highly polar compounds.

	ODS (C18)	Other than ODS
Reasons for selection	Compatible with a wide range of compounds	90% of respondents answered that there are no judgment criteria for column selection
Targets for measurement	① Low molecular weight compound (unchanged) ② Low molecular weight compound (metabolite) ③ Peptide (M.W.<1000)	① Low molecular weight compound (unchanged) ② Low molecular weight compound (metabolite) ③ Amino acid
Column selection considerations	① Durability ② Separation improvement ③ Usage record	① Retention of highly polar compounds ② Improved separation ③ Change in elution pattern
Considerations before moving from ODS (C18) columns	① Mobile phase ② Sample pretreatment method ③ Column length, diameter, manufacturer	
Reasons to not use ODS (C18) column	① Desired separation is not obtained ② No improvement in peak shape ③ No improvement in selectivity	

小括（２） 1回目のアンケートより

- カラムの使用頻度
圧倒的にODS（C18）カラムの使用頻度が高かった。
HILICモードのシリカやamideカラムの使用頻度が高かった一方、
ODS以外は使用経験が無いという回答も一定数見受けられた。

	逆相モード	HILICモード、イオン交換
使用頻度 () 内：集計ポイント	①C18/オクタデシル基(171) ②C8/オクチル基(94) ③Phenyl/フェニル基(81)	①Amide/カルバモイル基(66) ②シリカ/未修飾(64) ③NH ₂ /アミノプロピル基(31)

- 探索及び開発ステージにおける比較
ベスト3は共通していたが、開発ステージでは「ロットの確保、納期」が4番目に多い回答であった。

	ODS（C18）	ODS以外
カラム選択時 探索ステージで重視する点	①汎用性 ②耐久性 ③ピーク形状、保持時間	①ピーク形状、保持時間 ②分離、キャリーオーバー ③耐久性
カラム選択時 開発ステージで重視する点	①ピーク形状、保持時間 ②耐久性 ③分離、キャリーオーバー	①ピーク形状、保持時間 ②分離、キャリーオーバー ③耐久性

Summary (2) from First Survey

- Column usage frequency

ODS (C18) columns were used most frequently. While HILIC-mode silica and amide columns were frequently used, some respondents said that they had no experience using anything other than ODS.

	Reversed-phase	HILIC, ion exchange
Frequency of use (tally points)	① C18/octadecyl (171) ② C8/octyl (94) ③ Phenyl (81)	① Amide/carbamoyl (66) ② Silica/unqualified (64) ③ NH ₂ /aminopropyl (31)

- Comparison of exploration and development stages

The top 3 responses were common, but in the development stage, the 4th most common response was "securing lot, delivery date".

	ODS (C18)	Other than ODS
Column selection points to focus on in the exploration stage	① Versatility ② Durability ③ Peak shape and retention time	① Peak shape and retention time ② Separation, carryover ③ Durability
Column selection points to focus on during the development stage	① Peak shape and retention time ② Durability ③ Separation, carryover	① Peak shape and retention time ② Separation, carryover ③ Durability

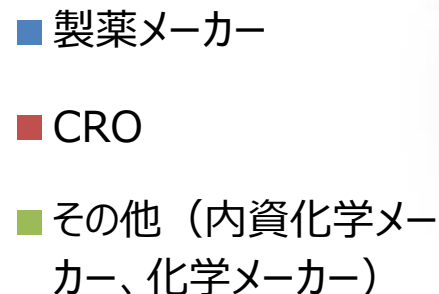
アンケート実施状況

1回目のアンケート結果を基に、さらなる疑問点に対してよりフォーカスした内容で2回目のアンケートを実施した。

<2回目>

- 時期：2022年11月25日～12月5日
- 方法：クエスタント（Questant）によるWeb上の収集
- 配信先：DGサポーター
(配信時にはメール連絡と合わせて、サポーターの関係部署へのアンケート協力を求めた)
- 回答数：25名

所属先を確認したアンケートQ1より、製薬メーカー14名、CRO9名、その他2名からの回答が得られた。自由回答が多い、難しいアンケートであったが25名の協力が得られた。



2-1. 下記カラムを用いてこれまでに測定したことがある対象物質について教えてください。

1回目アンケートの結果として、逆相モードで使用頻度の低いカラムとして下記の5つが挙げられた。これらのカラムを用いてこれまでに測定したことがある対象物質についてアンケートを実施した。

カラムの種類	回答者数	回答 1	回答 2	回答 3
C1/トリメチルシリル基	5	蛋白結合率の高い化合物	—	—
C4/ブチル基	6	長鎖脂肪酸	高分子化合物 (タンパク、ペプチドなど)	核酸
NAP/ナフチルエチル基	5	ベンゼン環、複素環、 共役平面のある化合物	—	—
Cholester/コレステリル基	5	低分子化合物の 代謝物との同時分析 (セカンドチョイスとして)	—	—
PBr/ペンタブロモベンジル基	6	カテコールアミン	低分子化合物の代謝物との同時 分析 (セカンドチョイスとして) : PFPとあまり変わらない	—

企業秘密との兼ね合いにより回答しにくいところ、いくつかの回答がいただけた。
測定対象物質の構造や特性を理解した使用が求められることが分かった。

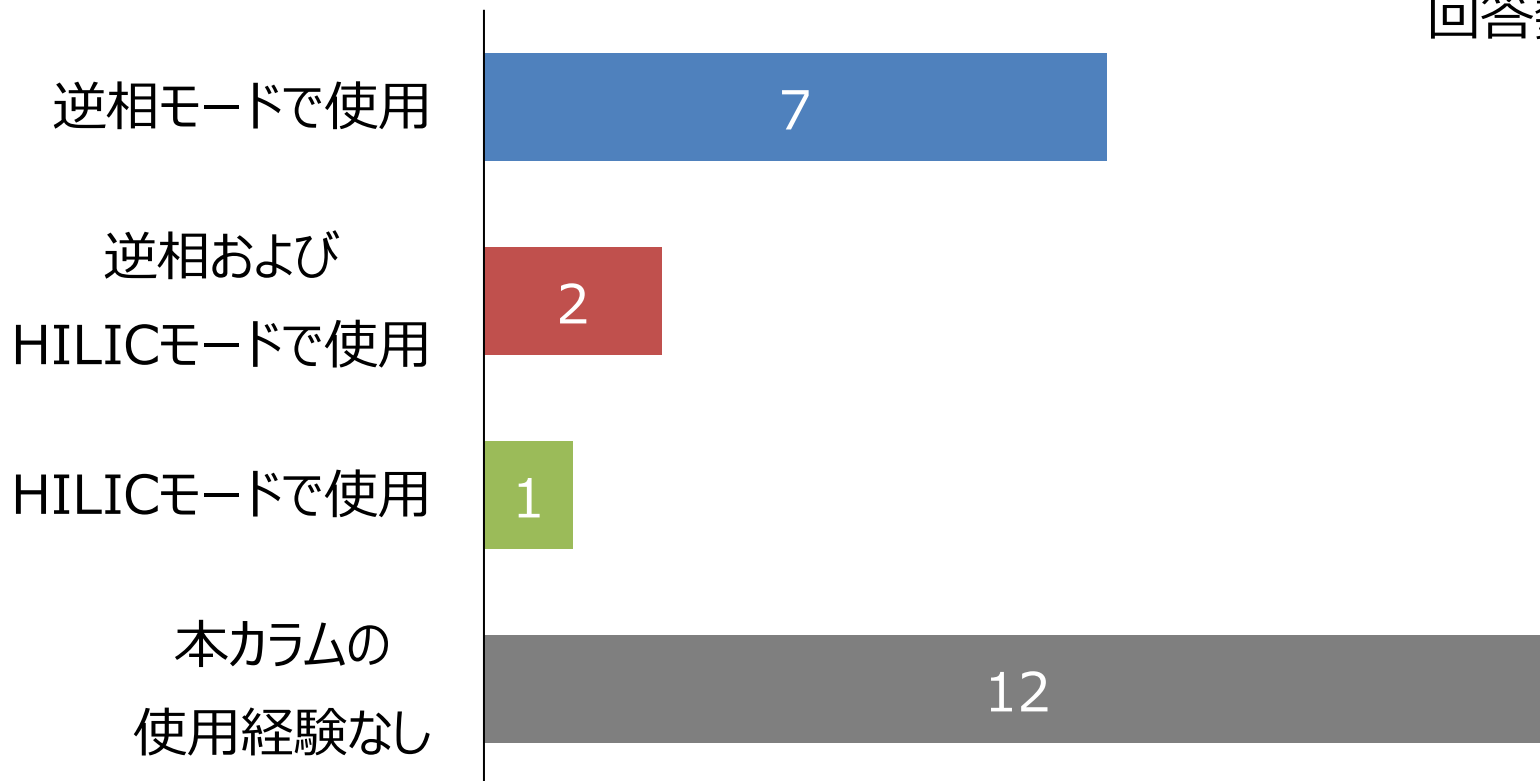
2-2. PFP（ペンタフルオロフェニルプロピル基）カラムを使用した際の測定対象物質を具体的に教えてください。

No.	測定対象の具体例
1	親水性化合物
2	有機ポリマー、分子量の大きな有機化合物の異性体の分離
3	ビオチン
4	低分子化合物の代謝物との同時分析（セカンドチョイスとして）フェニルやベンゼン環との π - π スタッキングを期待して等のうたい文句はあるが、実質は、Fのローンペアのマイナス電子との電気的相互作用による保持時間の適度な維持が主目的での採用。
5	高極性でアミノ酸に類似した構造
6	多環構造を含む塩基性化合物
7	経験ありますが回答できません。
8	強塩基でCLogPがマイナスの化合物

ODS以外のカラムでは比較的メジャーなカラムであるPFPについては多くの経験や意見をいただいた。基本的には高極性化合物や π - π スタッキングを狙った用途が多いが、それ以外にも高分子などへの応用も見られそれぞれがknow-howを持っていることがうかがえた。

2-3. PFP（ペンタフルオロフェニルプロピル基）カラムの使用モードについてお伺いします。

回答数



回答数に対して約5割の方が使用経験を持っていることから、ODS以外のカラムの中では使用頻度が高いことが分かった。

HILICモード（順相モードか意見が分かれる）と逆相モードの両方で使いこなしているユーザーがいることがとても興味深い。

2-4. 1回目アンケートより選ばれた使用頻度の高いカラムについて使用する（検討する）順に上位1～5位を選択してください。

上位から順に5ポイント、4ポイントと振って集計を行った。

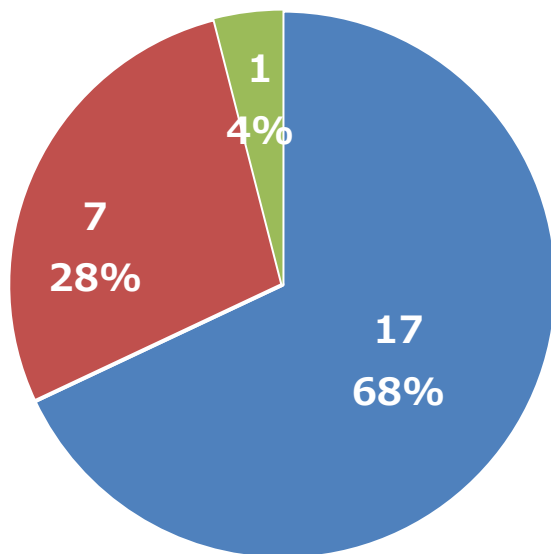
カラム	1位	2位	3位	4位	5位	ポイント計
C18/オクタデシル基	24	0	0	0	0	120
Phenyl/フェニル基	0	6	5	1	2	43
C8/オクチル基	0	6	3	0	2	35
PFP/ペンタフルオロフェニル基	0	3	2	4	2	28
Amide/カルバモイル基（HILICモード）	0	1	4	4	1	25
シリカ/未修飾（HILICモード）	1	2	2	1	1	22
アダマンチル/アダマンチル基	0	3	2	1	1	21
陽イオン交換（ミックスモード）	0	2	1	2	1	16
ジオール/ジオール基（ジヒドロキシプロピル基） （HILICモード）	0	0	1	4	1	12
NH ₂ /アミノプロピル基（HILICモード）	0	0	1	2	1	8
未回答	0	2	4	6	13	—

C18、Phenyl、C8の逆相カラム以降はほぼ横並びの使用頻度であることが分かった。また、2位以降から順位選択されていることからODS（C18）のみを使用するユーザーがいることもうかがえた。

2-5. 普段、よく使うカラムの長さ、粒子径、内径 についてお聞かせください。

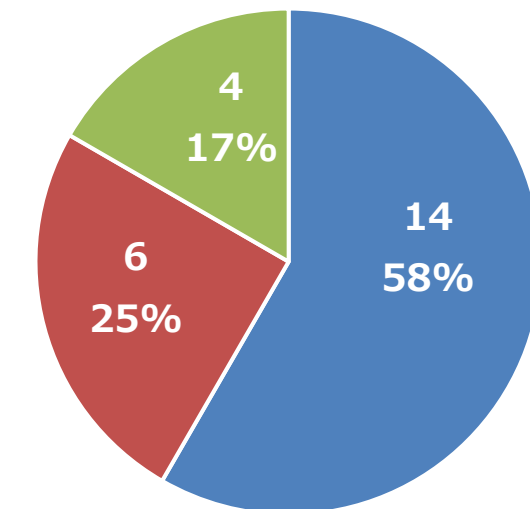
長さ

■ 5 cm ■ 10 cm ■ 15 cm



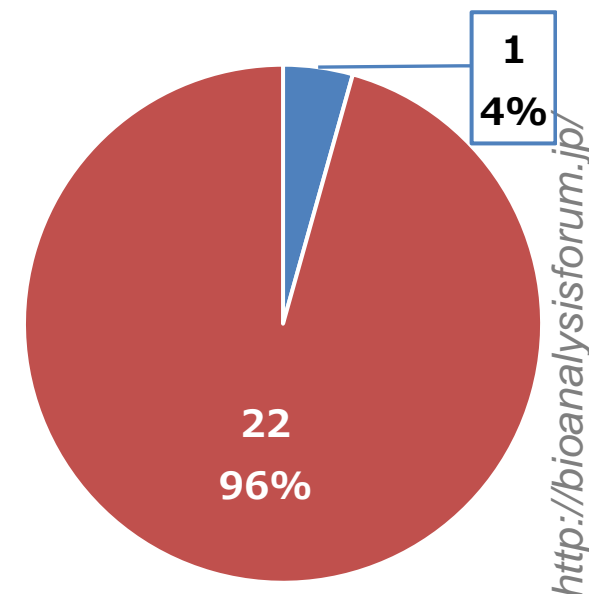
粒子径

■ sub 2 μm ■ 約 3 μm
■ 約 5 μm



内径

■ 約 1 mm ■ 約 2 mm



上段の数字は回答数を示す

バイオアナリシスの分野においては、内径2 mm、粒子径2 μm 以下のカラムが多用されることが分かった。また、長さは基本Run Time重視で5 cmがファーストチョイスとして使用されている。

2-6. ODS (C18) 以外のカラムを使用して上手くいかなかった分析系はどのように解決しましたか？ (1/3)

使用したカラム種	課題となったこと	解決方法
PFP	高極性のためC18に保持しない	PFPのカラムにすることで保持が改善
	ロット間差が大きい	都度LC最適化、場合によっては再購入
	代謝物の分離でISなどが未変化体側にしかない場合、あまり離れず保持時間を維持したいが、逆相ではかなり差がある場合のチョイス	適度な保持時間を維持しつつ、逆相モードで分離系も決定できる利点はある。ただし、ロット間差や保持時間が安定しない等の欠点はある（複雑な系での保持時間のため、使用時間やなじませ時間等で微妙にずれる）
アダマンチル (ADME) カラム	測定対象物質の十分な保持、分離が得られなかった	カラム長の延長で対応した
		イオンペア試薬を使用した

2-6. ODS (C18) 以外のカラムを使用して上手くいかなかった分析系はどのように解決しましたか？ (2/3)

使用したカラム種	課題となったこと	解決方法
HILIC	ピーク形状不良、キャリーオーバー	酢酸アンモニウムやギ酸アンモニウムなどの最適な塩濃度を検討
	保持時間が安定しない	移動相のpHとグラジエント勾配の検討
Amide	グラジエントモードでのピーク再現性の不良	アイソクラティックモードで実施
HILIC (ミックスモード)	耐久性、再現性	1バッチ毎に使い捨てにした
HILIC Amide もしくはAmino カラム	高極性物質 (糖や核酸、糖脂質など) の保持・分離	HILICモードでの分離による解消。ただし、実質は難しい。HILICモードは選択の幅が狭く、上手くいく可能性が低い上に、そこまで保持できるわけでは無い。C18の次に何をと迫られれば、HILICや他の官能基のチョイスが次に来る。

2-6. ODS (C18) 以外のカラムを使用して上手くいかなかった分析系はどのように解決しましたか？ (3/3)

使用したカラム種	課題となったこと	解決方法
イオン交換カラム +a	塩基性や極性が強く測定できなかった場合	液性 (pHなど) を変える、もしくはイオン交換カラムで分析した。
ミックスモード カラム	極性低分子	HILICでも他の官能基でも無理なため、ミックスモードでのみ可能となった。ただし、ピーク形状の維持に塩濃度が必要なため、質量分析系への影響は大きく、バルブでのセレクションなどの工夫は必要。
PFPなど	構造類似体を分離できなかった場合	PFPなどで分析した。
-	高極性で測定できなかった場合	HILICモードで分析した。

ODS (C18) でうまくいかなかった場合はそれ以外のカラムも選択されるが、検討方法にこれといった正攻法があるわけではなくトライ&エラーが要求されることが考えられた。

2-7. ODS (C18) での検討を断念し、ODS以外の逆相系のカラムを選択する理由についてお聞かせください。

回答数20、無回答5

大まかな内容	件数
ODSでは保持が弱い、もしくは保持が強すぎる時	10
類縁物質や夾雑成分との分離が上手くいかない時	8
マトリックス効果を解消するため	2
ピーク形状を改善するため	2
代謝物との同時測定や極性化合物の分析のため	1
LC-MSでの分析条件で、有機溶媒の含有率を30%以上にしたい時	1

- ODSで保持が弱かったり、強かったりした時と分離が不十分な時にODS以外の逆相系を使う回答が多かった。
- 保持が強すぎる場合に保持の弱い逆相系を使う理由として、ランタイムを短くしたいからという意見と有機溶媒リッチでないとスプレーが安定しないためという意見があった。

2-8. ODS (C18) での検討を断念し、ODS以外の逆相系のカラムを選択する理由についてお聞かせください。(1/2)

- ODSカラムでの保持が困難な場合。
- 分析対象物質が親水性化合物で特徴的な官能基があるとき。
- 保持や分離が上手く行かない場合。
- 保持が強すぎる、分離不良、保持が弱い。
- ピーク形状、分離を改善するために、結合相の変更を行い、最適化を行います。
- 市販の血漿を用いてODSカラムにてバリデーションを実施し、良好な結果であったが患者血漿を分析した結果、強いイオンサプレッションが観測された。前処理を変更する時間的余裕がなかったためPFPカラムを変更することで解決できた。
- 極性化合物（代謝物）との同時測定、極性化合物の測定（糖や核酸など）の分析に必要なから。
- 保持力が強すぎてなかなか溶出されない。最適な溶出条件だと有機溶媒が多すぎてスプレーが安定しない（LC-MS）。配管や接合部への吸着に対して溶解度の高い移動相が選べない。

2-8. ODS (C18) での検討を断念し、ODS以外の逆相系のカラムを選択する理由についてお聞かせください。(2/2)

- 高極性化合物の保持させるため。
- ピークの分離が不十分な時、保持が不十分な時等。
- 分離が出来ない。
- C18では保持しないまたは溶出しない場合。
- C18では保持が強く分析時間が長くなる場合。
- LC-MSでの分析条件で、有機溶媒の含有率を30%以上で確保できないときに保持を強くする目的で使用する。
- 類縁物質や夾雑成分との分離が不十分だったため。
- 分離がうまくいかないため。
- マトリックス効果解消のため。
- 高極性分子を分析する際にC18では保持されなかったため。
- 分離不良。
- C18でうまく保持できない。

2-9. ODS (C18) での検討を断念し、HILICやイオン交換系のカラムを選択する理由について教えてください。

回答数17、無回答8

大まかな内容	件数
ODSカラムでは保持できない高極性化合物を測定するため	10
水溶性が高い代謝物と物性が異なる化合物を同時定量したい時	1
分離が良くないとき	3
有機溶媒比率を上げて、感度を稼ぎたい時	2
前処理法とのモードを変更したい時	1

- 基本的には高極性化合物への対応として使用が検討されている。
- 逆相系の選択と比較して、感度を上げるためにHILICを使うという意見や前処理で逆相系固相抽出を使うため、モードを変えたいという意見が傾向として異なった。

高極性で保持できない化合物への適応がメインなのだと感じた。どの程度まで逆相系での検討を頑張っているのか（割とすぐにHILIC系を使うのか）が気になった。

2-10. ODS (C18) での検討を断念し、HILICやイオン交換系のカラムを選択する理由について教えてください。(1/2)

- ODSカラムでの保持が困難な場合。
- 分析対象物質が親水性化合物でかつpKa情報があるとき。
- ODSカラムでは保持できないような高極性化合物の場合。
- 高極性化合物でODSに保持しない、もしくは保持が弱く移動相の有機溶媒濃度が上げられず、感度が不足している場合に選択する。
- 親水性が高すぎて逆相に向かない（保持しない）。
- イオン交換系カラムは使用しておりませんが、HILICを選択する理由は、逆相カラムにて保持されなかったり、保持が弱い極性化合物の分析を目的としています。
- 極性化合物の測定（糖や核酸など）の分析に必要なから。
- 分子量が低い場合や、水溶性が高い化合物で、保持時間が短い時・グルクロン酸抱合体等含め水溶性が高い代謝物と物性が異なる化合物等を同時定量したい場合。

2-10. ODS (C18) での検討を断念し、HILICやイオン交換系のカラムを選択する理由について教えてください。(2/2)

- HILICが流行りだったころ、新規性につられて試してみた。
高極性、極低分子でODSではほとんど保持が見込めなかった。
- 有機溶媒リッチでの保持が出来ない。
- C18やPFPでも保持しない場合。
- C18では十分な保持が得られない極性化合物を分析する場合。
- LC-MSでの検出感度を上げるため。
- ODSで保持しない場合。
- 分離がうまくいかないため。前処理法とのモードを変えたいため。
(固相抽出であればイオン交換カラムを利用するなど)
- 妨害ピークとの分離度を上げるため。
- 分離不良。

2-11. グラファイトカーボンカラムを使用して生体試料分析がうまくいったご経験がありましたら、概要をお聞かせください。

回答数6件、うち経験なし2件

- 1 炭素1原子しか含まない低分子化合物の分析において、逆相系カラムでは保持が困難であったが、グラファイトカーボンカラムの利用で分離分析が出来たことがあった。
- 2 ODSで分析できるものは、基本的にグラファイトカーボンでも分析できる。（ただし、理論段数は低い印象）
- 3 ヌクレオチド分析ではある程度意味があった（いくつか論文がある）。何でも吸着するので使っているうちにカラム状態が変わり再現性に難があった印象。
- 4 Uracilのみ完璧な形での成功はある。それ以外は何割かは確実に出てこなくなるか、全く出てこなくなる。保持が強すぎてコントロールが極端に難しい。Uracilほど保持しない化合物であれば、ピーク形状も良好で適度な保持時間で溶出可能。

- 一定の割合で需要があることが分かった。ただし、使用は難しいまたは局面が限られ、広く使用されているカラムでは無い印象であった。
- 限定的な使用用途の意見が多い一方、「ODSで分析できるものは、基本的にグラファイトカーボンでも分析できる」と真逆なコメントもあった。

2-12. 普段、参考にされるWebページや本があればお聞かせください。

- JBFのホームページや学会の発表資料
- 各カラムメーカーのホームページやカタログ、アプリケーション検索（島津、Waters、GLサイエンス、OSAKA SODAなど）、個々のカラム情報記載のページ
- <https://www.waters.com/nextgen/jp/ja/education/primers.html>
（Waters, LC-MS 分析法およびツールのハウツーガイド）
- https://www.gls.co.jp/technique/technique_data/lc/usage_of_hplc/
（GLサイエンス, HPLCの上手な使い方）
- <https://www.nacalai.co.jp/cosmosil/data/csmosrchttop.cfm>
（ナカライテスク, COSMOSIL アプリケーション問い合わせ）
- <http://chromanik.co.jp/tech.html> （クロマニクテクノロジーズ, 技術情報）
- <https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
（島津製作所, 会員制ナビゲーションサイト）
- 論文で、分析対象物がそれに近い構造の化合物の分析実績は必ず調査する
- マニアックな論文をPubMedのキーワード検索で探す
- アプリケーションデータや参考となる論文
- 虎の巻シリーズや中村洋先生の著作
- アジレントのLCハンドブック

多数の方がメーカーのホームページを参考にされている。

分析に携わる人が誰でも読む教科書は無いのだろうか。

2-13. カラム購入後、カタログやアプリケーション情報からはわからなかった事象が起きた経験はありますか？（1/3）

カラム購入後、カタログやアプリケーション情報からはわからなかった事象		対応方法
1	耐久性 (持続性、耐酸性、耐アルカリ性など)	カラムの耐久性は使ってみないと分からない。最近のカラムは（昔に比べると）丈夫になった印象。
2	カラムの耐久性。それと、分析とは直接関係ないが、珍しいカラムだと納期が極端に遅い場合など。	カラムを切り替える。
3	だんだんテーリングが大きくなる	違うカラムに切り替える。判断の参考とするため、予め噂を集めておく、メーカー営業の話から予めカラムケミストリーや表面処理を深読みしておく。
4	カタログやアプリケーションには標準溶液の情報が掲載されているので、生体試料の情報を事前に得る事は難しい。	社内のノウハウで対応する。
5	各メーカーアミノカラム。耐久性をうたうカラムが多い中、ほぼ耐久性は無い。	測定本数の制限

2-13. カラム購入後、カタログやアプリケーション情報からはわからなかった事象が起きた経験はありますか？（2/3）

カラム購入後、カタログやアプリケーション情報からはわからなかった事象	対応方法
<p>6 ハイブリッドタイプのエチレン架橋のC18カラム：カラムが詰まりやすい（アルカリ性より使用することにより他の見えないタンパクなどがはがれやすくなり、結果的に詰まりやすくなっているかもしれません）</p>	<p>（アルカリ性よりで使用するにより他の見えないタンパクなどがはがれやすくなり、結果的に詰まりやすくなっているかもしれません） わかって使うしかない。</p>
<p>7 水系100%で使用できると謳われていたカラムを酢酸アンモニウム溶液100%の状態を送液を止めていたら、大きく劣化が進んだ。</p>	<p>カラムを変更しました。</p>
<p>8 HILICとか特殊な官能基のカラムでは、再現性と耐久性には細心の注意が必要。ただし、そもそも、目的物質の溶出時間を特定するのに時間がかかる場合もあった。サンプルを溶かす溶媒によっても溶出位置やピーク形状に影響が表れるカラムも意外と多い。</p>	<p>個人の知識、ノウハウで対応。メーカーにも相談。カラムを作った人がカラムの性能や限界は一番よく知っている。</p>

2-13. カラム購入後、カタログやアプリケーション情報からはわからなかった事象が起きた経験はありますか？（3/3）

カラム購入後、カタログやアプリケーション情報からはわからなかった事象	対応方法
9 ピークライナーカラム：吸着が無いと聞いた文句だが、吸着はある（恐らくどうにもならないフリット等の吸着が原因）	特殊なコーティングや表面加工されたカラム等へ切り替え
10 使用し始めてからしばらくすると生じるゴーストピーク	カラム内のフィルター吸着からの溶出であったことから、グラディエントモードにより洗浄工程を増やす
11 耐温度	取りあえず使用してみた。
12 カラムのロット間差（対象化合物の保持時間が大きく異なる）	—

- ・ピークライナーカラムへの意見は同じ見解。経験的にピークカラムは脂溶性物質が吸着しやすいと感じている。
- ・耐温度はどこかに書いてあるイメージであった。書いてないのも一定数存在するのだろうか。

2-14. カラムメーカーのアプリケーションデータに追加して欲しい情報がありましたらお聞かせください。

大まかな内容	件数
生体試料の測定データ	5
UV検出ではなく、LC/MSでの測定を前提とした分析結果	4
測定試料の組成、調製方法	2
再現性	1
他社製品との比較データ	1
ロット間差	1
カーボンコンテンツ	1
化合物の吸着性（おそらく、キャリーオーバー）	1

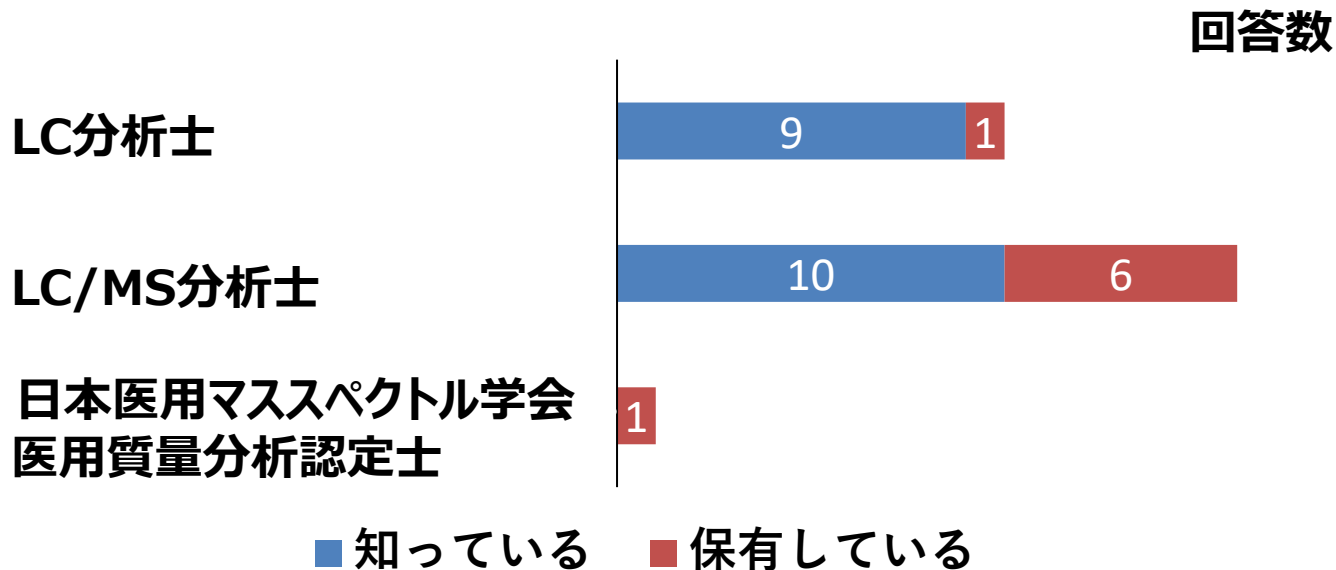
生体試料の分析結果やリン酸塩などの不揮発性移動相を使わない分析結果がほしいという意見が多かった。

バイオアナリシスの分野はまだまだシェアが小さいことを感じた。

2-14. カラムメーカーのアプリケーションデータに追加して欲しい情報がありましたらお聞かせください。

- 他社製品との（正直な）比較データ。 （全回答一覧）
- 化合物の吸着性。（次分析への持ち越しの有無）
- 血清／血漿中の測定データ。LC/MSの測定データ。
- 目安が良いので定量下限、生体試料の場合のクロマトグラム
- マトリックス中での試料の測定結果（バイオアナリシスデータ）、質量分析計でのデータ、C（カーボンコンテンツ：エチレン架橋のカラム等では参考にならないが、保持時間の目安となる重要な指標となる）。
- 生体マトリックスにスパイクされた試料の分析結果が情報としてほしい。
- ピークの再現性（朝、夜、1週間後）、カラムロット間差。
- LC-MS測定では使用できないような移動相を用いたアプリケーションを多く目にするので、LC-MS測定前提の移動相を用いたアプリケーションも記載して欲しい。
- UV検出による結果が多く移動相にリン酸塩が使用されているため、LC/MSを想定した移動相での分析結果。
- 試料や試薬溶液の詳細な調製方法。
- 測定試料の組成。
- マトリックスを含む試料の測定結果。

2-15. LCやLC/MSに関する資格をご存知またはお持ち でしょうか。



LC/MS分析士保有者段数（6名中）

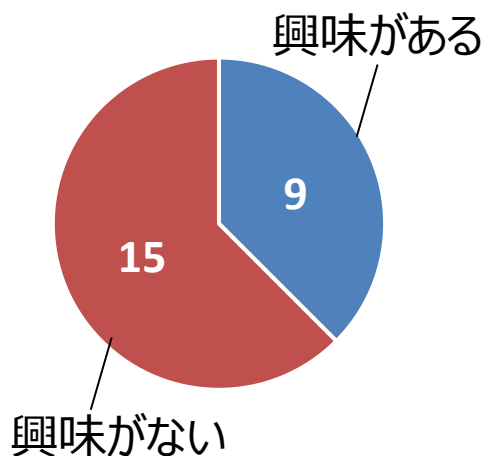
初段：3名

3段：2名

不明：1名

日本分析化学会のLC/MS、LC分析士の認知度は比較高いことが分かった。

2-16. バイオアナリシスに携わる方とのコラムに関する情報交換に興味はありますか？



話し合いたいテーマ

- HILICコラムについて、コンディショニングや洗浄方法、耐久性、メーカーによる違い等
- HILICコラムで本当に使えるものはどれか
- 非常に興味はあるが、メーカー主催などでは有用な情報は少ない
- LC条件の出し方、MS条件の出し方の手順（個人のこだわり、注意点など）
- 最近のトレンドがどうなっているのか聞いてみたい
- コラムの粒子の組成によって何が違うのか知りたい
- コラムの洗浄方法・保存方法について

- 以前、Zoomミーティングに参加した際は発言する方が限られてしまったので、開催方法は工夫が必要。
- コラムを使う際に推奨されている方法はあるが、実際に使っている人がどうしているのかを聞きたいという方が多かった。
- 「興味がない」と回答した人の中には、交換できる情報がないと考えている場合もあるのではないかと。

小括（3）2回目のアンケートより

- 使用頻度の高いカラムについて
ODS、phenyl、C8の逆相カラムの使用が多かったが、ODSのみを使用しているユーザーの存在も伺える結果であった。
その他、PFP（逆相）、amide（HILIC）、シリカ（HILIC）、アダマンチル（逆相）の使用状況は横並びであった。
- 使用頻度の低いカラムについて（C1、C4、NAP、Cholester、PBr）
測定対象物質の構造や特性を理解し、カラムを選択していた。
- PFPカラムについて
ODS以外のカラムの中では使用頻度が高いカラム。
逆相モード、HILICモードの両方で使いこなしている回答あり。
測定対象としては、高極性化合物や π - π スタッキングを狙った用途が多かった。
また、高分子化合物にも使用されており、各企業がノウハウを持っている事がうかがえた。
- グラファイトカーボンカラムについて
ヌクレオチドやウラシルの測定事例、
保持が強く、コントロールが難しかったというコメントをいただいた。

Summary (3) from Second Survey

- Frequently used columns
ODS, phenyl, and C8 reversed-phase columns were often used, but the results suggest that there are users who use only ODS.
The use of PFP (reversed phase), amide (HILIC), silica (HILIC), and adamantyl (reversed phase) was evenly distributed among respondents.
- Infrequently used columns (C1, C4, NAP, Cholester, PBr)
Users selected columns based on their understanding of the structure and properties of the substances to be measured.
- PFP columns
Most frequently used columns other than ODS.
A few respondents had mastered both reversed-phase and HILIC mode.
There are cases specifically aimed at measuring high polarity compounds or those that implement π - π stacking between those and the column utilizing PFP column characteristics.
They are also used for large molecule compounds, which infers that each company may have its own in house skill set.
- Graphite carbon columns
We received comments that the retention of nucleotides and uracil was strong and control was difficult.

 JBF まとめ (1)

- 各種カラムの利用・認知状況は、ODS (C18) カラムが第1位であった。
- 測定対象の構造や特性からODS以外のカラムを第 1 選択とする場合もあるが、やはり、低分子化合物の第 1 選択カラムはODS (C18) カラムであった。
- ODS (C18) の他に、phenyl、C8カラムの使用をはじめ、PFP、amide (HILIC) 、シリカ (HILIC) 、アダマンチル等、多様なカラムを使用している実態があり、分析法構築過程でカラム選択を検討している事がうかがえた。
- 各種カラムを用いた検討事項、判断タイミングなど、各企業の方針、分析担当者の苦勞や分析に対する拘りが設問の自由記載コメントからうかがえ、大変興味深かった。
- カラム購入にあたり利用するカタログやアプリケーション情報に追加して欲しい情報では、生体試料に関する情報、LC-MS測定を前提とした情報が求めるコメントが多かった。
- 高極性化合物 (糖、水溶性ビタミンなど) や親油性化合物 (コレステロール) を測定する際は、ODS以外のカラムが選択肢として挙げられる。



Conclusion (1)

- Among the various columns, the ODS (C18) column was the most commonly used and recognized.
- Columns other than ODS may be the first choice depending on the structure and properties of the compounds to be measured, but the first choice column for low-molecular-weight compounds was the ODS (C18) column.
- We deduced that in addition to ODS (C18), various columns such as phenyl, C8, PFP, amide (HILIC), silica (HILIC), and adamantyl, etc. are used in the process of developing analytical methods.
- It was very interesting to see from the free-form comments in the questions about the matters to be considered using various columns, the timing of decisions, the policies of each company, the difficulties of the analysts, and their commitment to analysis.
- Many comments indicated the desire for more information to be included in product catalogs or regarding the application of their products in relation to biological specimen types and LC-MS measurement when looking to purchase columns.
- Columns other than ODS are an option when measuring highly polar compounds (sugars, water-soluble vitamins, etc.) and lipophilic compounds (cholesterol).

まとめ（２）カラムの種類と代表的な測定対象

カラムの種類	特徴	代表的な測定対象
C1 / トリメチルシリル基	<ul style="list-style-type: none"> タンパク結合率の高い化合物。 ODSカラムとは異なる分離選択性を示し、ODSカラムで溶出しにくい脂溶性化合物の分析に適している。逆に親水性化合物を水系溶離液で分離するときなどにODSとの使い分けで有効な場面もある。 	<ul style="list-style-type: none"> ジステアロイルホスファチジルコリン（脂質二重膜成分） リポオキシトシン-1 エトドラク製剤（非ステロイド性鎮痛・抗炎症剤） チザニジン（筋緊張緩和剤） トリメタジジン（血管拡張薬） ステアリン酸、イソステアリン酸 水溶性ビタミン（PABA, Vitamin H, Vitamin B2, Vitamin B12）の分離
C4 / ブチル基	<ul style="list-style-type: none"> 短いアルキル鎖（C4/ブチル基）を結合させた充填剤は疎水性相互作用が弱いいため、疎水性の高い化合物の分析に適している。 	<ul style="list-style-type: none"> Vitamine K1, K2 モノクローナル抗体（アレムツズマブ alemtuzumab） 抗体の逆相分析 核酸医薬における高疎水性オリゴ核酸の分離
C8 / オクチル基	<ul style="list-style-type: none"> 基本的にC18と同じ溶出挙動のまま保持が弱いので、保持が強すぎる物質の分析時間を短縮するために使用。立体選択性がC18カラムより低いため、あえてピークを分離したくない場合にも使用できる。 	<ul style="list-style-type: none"> ロサルタンカリウムとヒドロクロロチアジド配合剤の分析例
C18 / オクタデシル基	<ul style="list-style-type: none"> 低分子から高分子まで幅広く活用され、逆相分析の第一選択。各社、エンドキャッピング、耐酸性、耐アルカリ性、炭素含有率、水系100%で使用可能など複数種類を取り揃えている。 	<ul style="list-style-type: none"> 低分子 ペプチド、アミノ酸（誘導體化） 有機酸、脂肪酸、芳香族カルボン酸、核酸など

まとめ（２）カラムの種類と代表的な測定対象

カラムの種類	特徴	代表的な測定対象
C22以上 / ドコシル、 ヘプタコシル基等	<ul style="list-style-type: none"> ●C30（トリアコンチル基） • トリアコンチル基の優れた構造認識能は同族体分析に最適。 ●C27（ヘプタコシル基） • 水系100%移動相にて安定した測定が可能であり、高極性化合物の保持・分離が良好。 ●C22（ドコシル基） • 水比率の高い移動相で、C18よりさらに高分離・高保持能が得られる。 	<ul style="list-style-type: none"> ●C30(トリアコンチル基)：同族体分析 • カテロイド (α, β) • 脂溶性ビタミン (K, A, D, E etc.) • ビタミンE (α, β, γ, δ) ●C27（ヘプタコシル基） • 核酸塩基（シトシン、ウラシル、チアミン、アデニン） ●C22（ドコシル基） • カテコールアミン（Norepinephrine(NE), Epinephrine(EP), DHBA, Dopamine(DA)) • 直鎖カルボン酸（Oxalic acid, Tartaric acid etc.）
Ph / アルキルフェニル基 （フェネチル基）	<ul style="list-style-type: none"> • フェニル固定相は各社によって結合様式が異なるが、共通する構造はフェニル基が結合している事と官能基が有するn電子の相互作用が溶質との間に働く事。 	<ul style="list-style-type: none"> • エストロゲン（エストリオール、エストラジオール、エチニルエストラジオール、ジエチルstilbestロール、ジエネストロール） • 0-, m-, p-toluidineの異性体分離データ
Phenyl / フェニル基	<ul style="list-style-type: none"> • シリカゲルに直接フェニル基を結合させたダイレクトフェニル基結合タイプのため、ODSカラムの分離と大きく異なり分離改善が期待できる。アルキルフェニル基結合カラムに比べて芳香族化合物の電子状態の差をより大きく認識する特性を有している。 	<ul style="list-style-type: none"> • 芳香族化合物 • 甘味料（サッカリン, アセスルファムカリウム） • カテキン類

まとめ（２）カラムの種類と代表的な測定対象

カラムの種類	特徴	代表的な測定対象
Biphenyl / ビフェニル基	<ul style="list-style-type: none"> π-π相互作用を期待したい、かつ通常のフェニルカラムと分離を変えたい時に選択。 アルキル鎖固定相と異なる選択性、芳香族化合物の保持向上、LC/MS(/MS)分析の感度および選択性向上に最適。 ビフェニル基の二つのベンゼン環は約45度ねじれており、ビフェニル基は単独のフェニル基とは異なる分離挙動を示す。 	<ul style="list-style-type: none"> ステロイド、テトラサイクリン、不飽和結合を含む化合物
Phenylhexyl / フェニルヘキシル基	<ul style="list-style-type: none"> フェニル基結合カラムは、π電子相互作用が働くため C18 カラムとは異なる分離パターンが得られる。C18 カラムで分離が不十分な時に選択するカラムとして有効。芳香族化合物に対し特に選択性をもっている。旧来のフェニル基に比べ、より安定で再現性が優れる。 	<ul style="list-style-type: none"> Butylbenzene, 0-Terphenyl, Amylbenzene, Triphenylene 14種の有機酸分離法 (Lactic acid, Succinic acid, Glutaric acid, Quinic acid, Isocitric acid, Citric acid, Fumaric acid, Maleic acid, Ascorbic acid, Adipic acid, Shikimic acid, Trans-aconitic acid, Cis-aconitic acid, Tartaric acid, Malic acid) クロロベンゼン (クロロベンゼン、1,2-ジクロロベンゼン、1,4-ジクロロベンゼン、1,2,3-トリクロロベンゼン、1,3,5-トリクロロベンゼン、1,2,3,4-テトラクロロベンゼン) Acidic compounds (p-Hydroxybenzoic acid, Sorbic acid, Benzoic acid, Salicylic acid, p-Toluic acid)
NAP / ナフチルエチル基	<ul style="list-style-type: none"> ナフチルエチル基結合型。フェニルカラムよりも強いπ-π相互作用によってC18型カラムで分離できない構造類似化合物の分離に威力を発揮する。 	<ul style="list-style-type: none"> ビタミンEの同族体、副腎皮質ホルモン (prednisone, cortisone, prednisolone, hydrocortisone) シスプラチンのmono-chloro体、水和錯体、OH-ダイマーの分離

まとめ（２）カラムの種類と代表的な測定対象

カラムの種類	特徴	代表的な測定対象
PFP / ペンタフルオロフェニルプロピル基	<ul style="list-style-type: none"> 疎水性相互作用、双極子-双極子相互作用、π電子相互作用など様々な相互作用が働くため、ODSカラムやフェニルカラムとは異なる独特の分離挙動を示し、立体構造の認識性能に優れている。 	<ul style="list-style-type: none"> フッ素化合物に対して特異的な保持を示す カテコールアミン・セロトニン類 平面芳香族化合物、位置異性体、ハロゲン化合物、極性化合物分析に対する選択性 キサンチン類
アダマンチル / アダマンチル基	<ul style="list-style-type: none"> アダマンチル基を導入したカラムであり、大きな表面極性により高極性化合物を大きく保持する。 	<ul style="list-style-type: none"> トリプトファン代謝物（キヌレニン経路）の一斉分析 核酸関連化合物の分析例（ATP、AMPなど） Cpd118（FBPase inhibitor, 2型糖尿病, イヌPKプロファイル） isoniazid (INH), rifampicin (RIF), ethambutol (EMB), and pyrazinamide (PZA), rifabutin (RFB), rifapentine (RFP), and other first-line anti-TB drugs as well as four second-line anti-tuberculosis drugs, including protionamide (PTO), ethionamide (ETH), thiosemicarbazone (THS), and clofazimine (CFZ)
Cholester / コレステリル基	<ul style="list-style-type: none"> コレステロール基が逆相系でODSカラムと同等の疎水性を提供し、特異的な立体構造により疎水性化合物に対して強力な立体選択性を示す。他のODSカラムで用いられるのと同じ分析条件で独自の分離パターンを示す。 	<ul style="list-style-type: none"> 天然物, 構造類似化合物 ポリフェノール、カテキン、脂溶性ビタミン、フラボン

まとめ（２）カラムの種類と代表的な測定対象

カラムの種類	特徴	代表的な測定対象
PBr / ペンタブロモベンジル基	<ul style="list-style-type: none"> 親水性化合物を逆相クロマトグラフィーで分離。 	<ul style="list-style-type: none"> 親水性化合物 ヌクレオチド、ペプチド、カテコールアミン、オリゴ糖など
シリカ / 未修飾 (HILIC)	<ul style="list-style-type: none"> 高有機移動相 (>80% アセトニトリル) と組み合わせて使用することで、高極性分析種を保持。HILIC の分離メカニズムにより、従来のクロマトグラフィー逆相アプローチに対して直交する分析種の選択性が得られる。 	<ul style="list-style-type: none"> 栄養素 (Nicotinamide, Nicotinic acid, Thiamine) の分離 カテコールアミン (NE, EP, DA) の分離 神経伝達物質物質 (Acetylcholine, Choline)
Amide / カルバモイル基 (HILIC)	<ul style="list-style-type: none"> カルバモイル基を化学修飾させており、高極性化合物全般で大きな保持を示す HILICカラム。 アミド基 (カルバモイル基) 結合型のため、HILICカラム中でも保持が強いタイプ。 	<ul style="list-style-type: none"> メラミン類 (シアヌル酸、メラミン) アスコルビン酸 グライコミクスにおける糖鎖 (2-AB化N型糖鎖 (ヒト IgG))
ジオール / ジオール基 (ジヒドロキシプロピル基) (HILIC)	<ul style="list-style-type: none"> アルキル鎖の炭素上に隣接して2個、水酸基を導入した固定相が一般的に使用される (ジオール)。ジオール基の高い極性によりHILICモードで分析が可能である。各メーカーにより、ジオールの根元のスペーサーの鎖長は異なる。中性であるため、特異的な吸着が少なく水100%で洗浄することができるタイプも多い。未修飾シリカゲルタイプのHILICカラムに比べて耐久性が高い。 	<ul style="list-style-type: none"> 核酸塩基・ヌクレオシド (HILICカラムの選択性比較) 水溶性ビタミン10成分の分離

まとめ（２）カラムの種類と代表的な測定対象

カラムの種類	特徴	代表的な測定対象
Cyano (CN) / シアノプロピル基 (逆相 & HILIC)	<ul style="list-style-type: none"> • 多くは試料が極性の高い低分子化合物の場合は順相モードで、極性の低い試料の場合は逆相モードで用いられている。 • シアノ基の三重結合により、フェニルカラム等と同様にπ電子相互作用が働く。 	<ul style="list-style-type: none"> • ステロイド、第四級アンモニウム塩、アルコール、アルデヒド
NH ₂ / アミノプロピル基 (順相 & HILIC)	<ul style="list-style-type: none"> • 幅広い極性、構造部位、pKaに渡る極性分析物の分離を可能にする。 	<ul style="list-style-type: none"> • 6種ヌクレオチド (AMP, UMP, ADP, UDP, ATP, UTP) の分離 • 糖/セルロース系加水分解物 (Xylose, Fructose, Mannose, Glucose, Sucrose, Cellobiose, Melezitose, Raffinose, Maltotriose, Maltopentaose, Maltohexaose, Maltoheptaose) の一斉分析 • モノアミン神経伝達物質 (DA, 5-HT, EP, NE) • 単糖類および二糖類 (Arabinose and Xylose; Fructose, Mannose, Galactose and Glucose; Sucrose, Lactose and Maltose) の分離 • 糖アルコール類 (Glycerol, meso-erythritol, Xylitol, Sorbitol, Mannitol, myo-inositol, Maltitol, Lactitol, Palatinitol) • ペプチドホルモン (オキシトシン、Oxytocin)

まとめ（２）カラムの種類と代表的な測定対象

カラムの種類	特徴	代表的な測定対象
ベタイン / スルホベ タイン・ホスホリルコ リン基 (HILIC)	<p>スルホベタイン型の両生イオン官能基の導入</p> <ul style="list-style-type: none"> 正（第4級アンモニウム）負（スルホン酸）の基が1：1で存在するため、表面電荷がゼロ。相殺された静電力により、検体との2次静電相互作用が弱まるため、移動相 pH の最適化を行う必要あり。 <p>ホスホリルコリン基導入</p> <ul style="list-style-type: none"> 親水性相互作用により逆相モードとは逆の順序でサンプルが保持され、極性化合物の保持能に優れている。 	<ul style="list-style-type: none"> スルホベタイン型：エドロホニウム、ネオスチグミン、ピリドスチグミン ホスホリルコリン基：Naphthalene, Thymine, Adenine, Cytosine
多孔性グラファイト カーボン	<ul style="list-style-type: none"> 卓越した高極性化合物の保持力、構造的に関連性のある物質の分離、pH 0 ~ 14 で優れた安定性。 高温用途に最適。 	<ul style="list-style-type: none"> ビタミンD類 アミノ酸等の高極性化合物 糖ペプチドやリン酸化ペプチド