

分离纯化报告

样品信息			
样品名称	YK-TEST(siRNA)-DS ,AS,SS	项目编号	20230920-904
样品性状	无色透明液体	样品重量	0.5mL
收样日期	2023/09/22	测试期间	2023/09/~2023/10/16

目标物信息

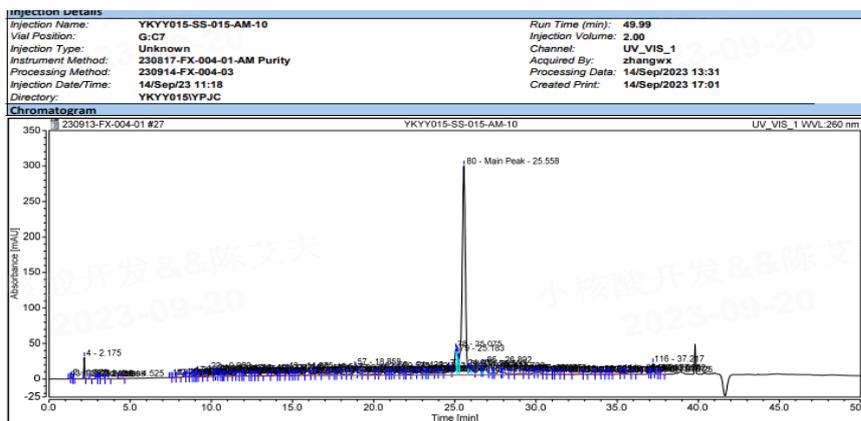


图 1 客户分析谱图

目标物保留时间	25.558min	面积归一化含量 (260nm, %)	50.81
---------	-----------	-----------------------	-------

实验要求

分离主峰的纯度 95%以上，而且能分开 SS 和 AS 链和 siRNA 双链。

1.出 LC-MS，分开单双链；2.时间不能超过 20min

试剂信息

试剂名称	级别	供应商
三乙胺	AR	西亚试剂
乙酸	AR	阿拉丁
乙腈	HPLC	月旭
水	二级	月旭

仪器信息

仪器名称	仪器型号	仪器厂家
高效液相色谱仪	赛默飞 Vanquish Horizon	赛默飞
半制备型高效液相色谱仪	月旭 WelPrep2000	月旭

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:上海市松江区明南路 85 号启迪漕河泾（中山）科技园·紫荆园 10 号楼

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号

Add:江苏省南京市六合区天圣路 22 号 F 栋 4 楼

Tel:400-810-6969



1. 试验过程

1.1. 方法开发

流动相配置：

2mol/L TEAA:量取 56.1mL 三乙胺和 20mL 乙腈至 500mL 烧杯中，用纯水定容至 200mL，加冰乙酸调节 pH 至 8.0。

流动相 A：量取 950mL 纯水和 50mL 2mol/L TEAA 至 1000mL 烧杯中，混匀，加冰乙酸调节 pH 至 5.0，过滤转移至 1000mL 试剂瓶中，超声脱气后待用。

流动相 B：纯乙腈过滤转移至 500ml 试剂瓶。

样品配置：

AS 样品溶液：吸取 20 μ l 样品用纯水稀释至 1mL

SS 样品溶液：吸取 20 μ l 样品用纯水稀释至 1mL

DS 样品溶液：吸取 20 μ l 样品用纯水稀释至 1mL

DS 对照品溶液：吸取 20 μ l 样品用纯水稀释至 1mL

按照以下色谱分析方法进行分析：

仪器	赛默飞 Vanquish Horizon		
色谱柱	Ultimate Alk-C18 (4.6 \times 250mm,5 μ m)		
流动相 A	TEAA (pH5.0)		
流动相 B	色谱级乙腈		
流速	1mL/min		
进样量	10 μ l		
柱温	/		
检测波长	260nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	80	20
	20	70	30
	20.01	80	20
	27	80	20

分析图谱如图 2, 3, 4, 5 所示：



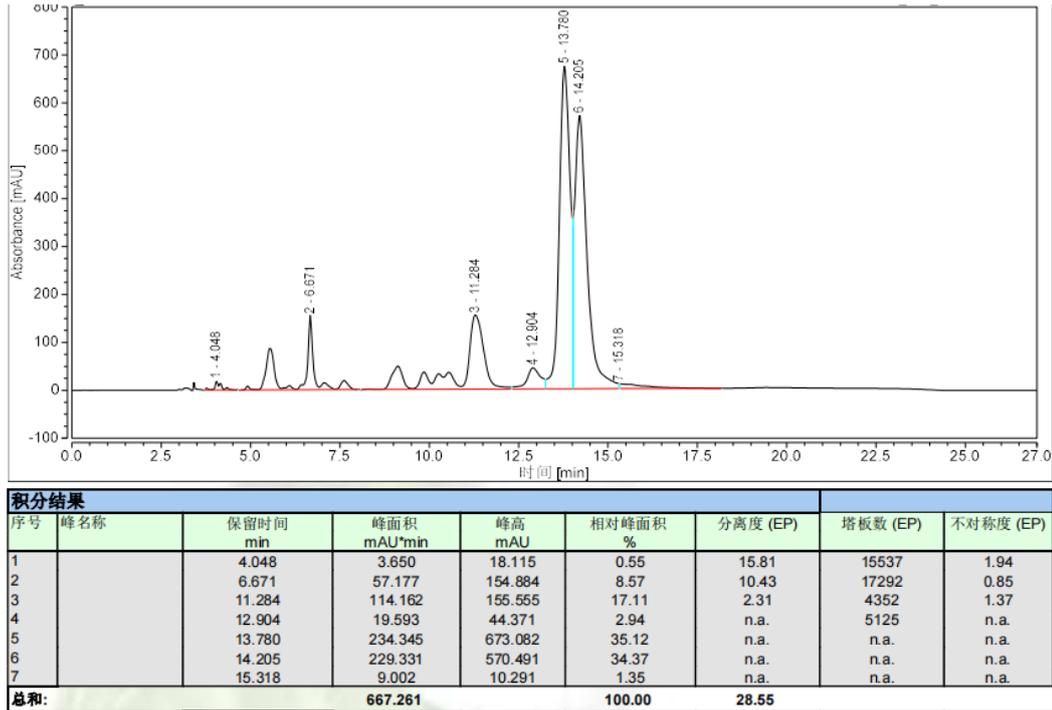


图 2 AS 方法开发图谱

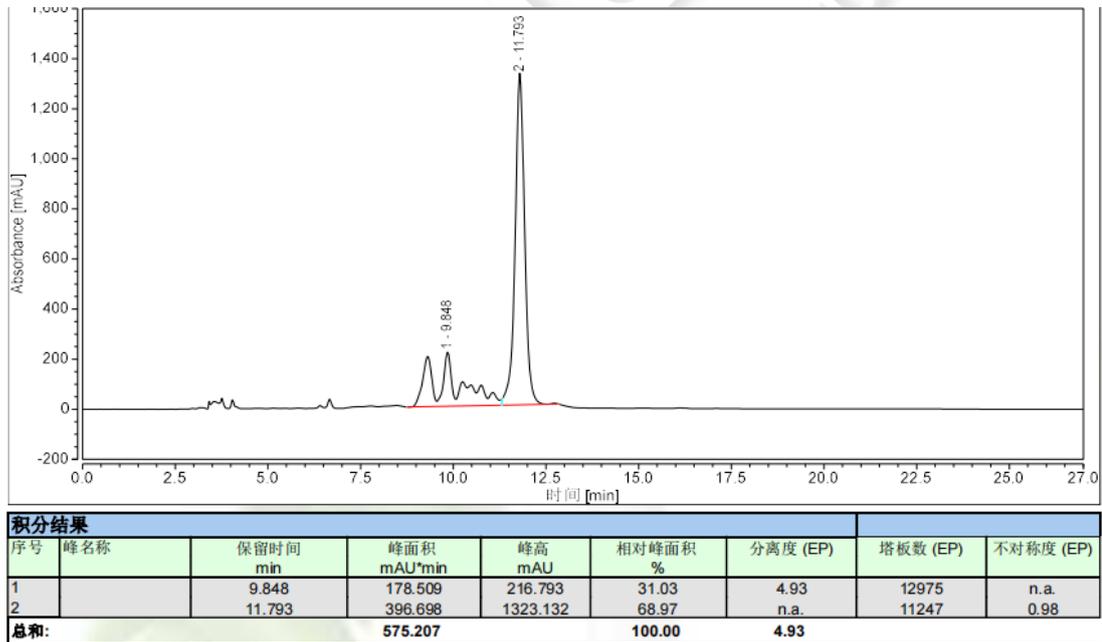


图 3 SS 方法开发图谱



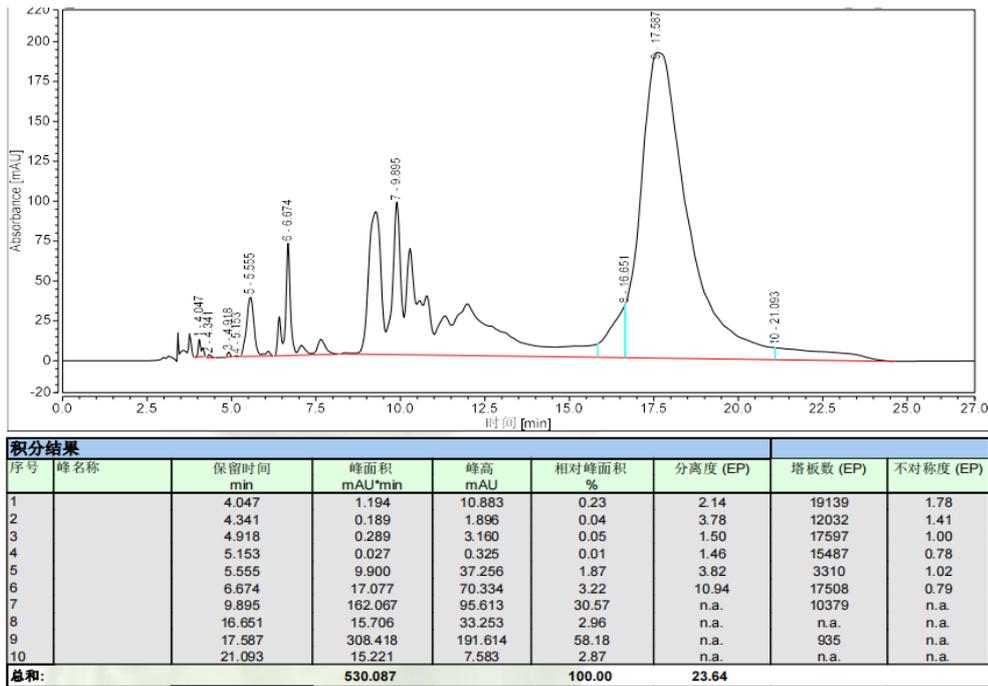


图 4 DS 方法开发图谱

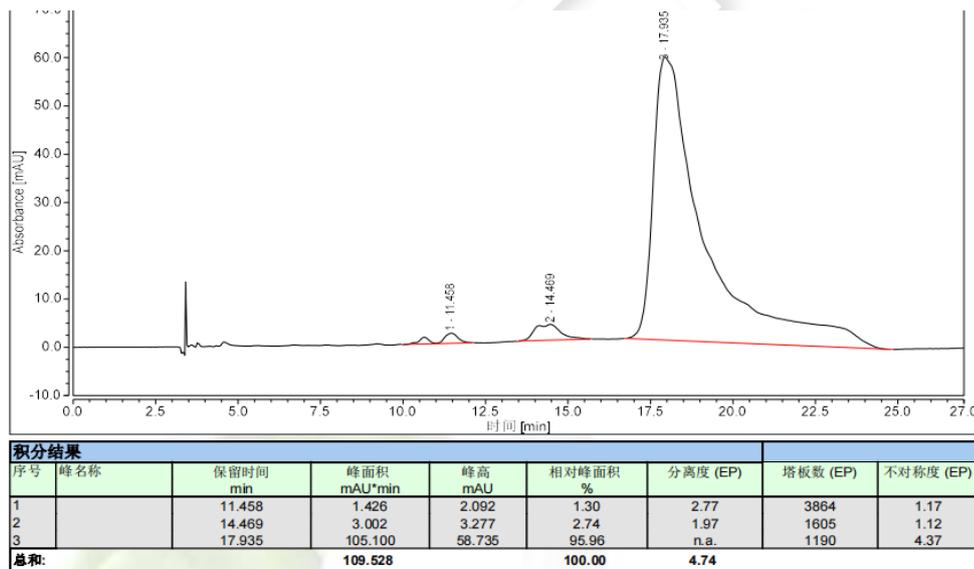


图 5 DS 对照品方法开发图谱

结论：通过与图 1 进行比较，可以确定三个目标物相互分离。

1.2. 分离纯化过程

1.2.1. 样品制备

样品配置：

AS 样品溶液：吸取 70μl 样品用纯水稀释至 1mL

SS 样品溶液：吸取 70μl 样品用纯水稀释至 1mL



DS 样品溶液：吸取 70 μ l 样品用纯水稀释至 0.5mL

仪器	月旭 WelPrep2000		
色谱柱	Ultimate Alk-C18 (10 \times 250mm,5 μ m)		
流动相 A	TEAA (pH5.0)		
流动相 B	制备级乙腈		
流速	5mL/min		
进样量	200 μ l		
柱温	/		
检测波长	260nm		
梯度洗脱程序	时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
	0	80	20
	20	70	30
	20.01	80	20
	27	80	20

制备图谱如下图 6, 7, 8 所示:

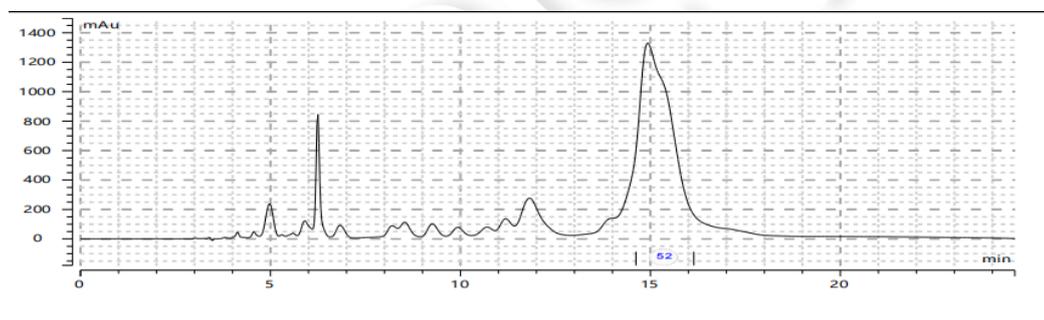


图 6 AS 样品制备图

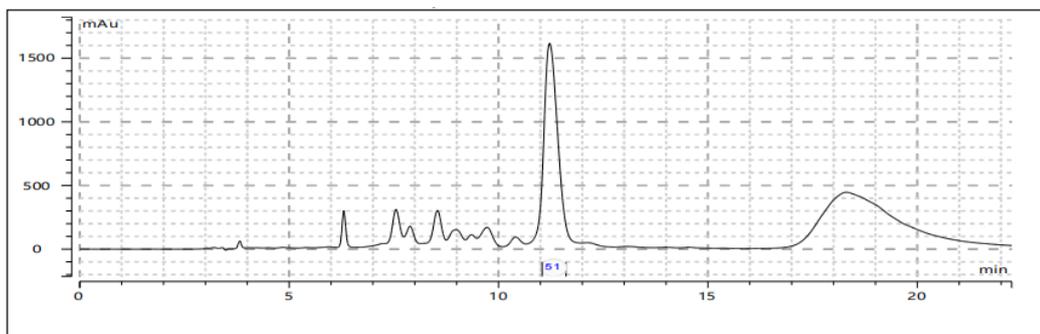


图 7 SS 样品制备图



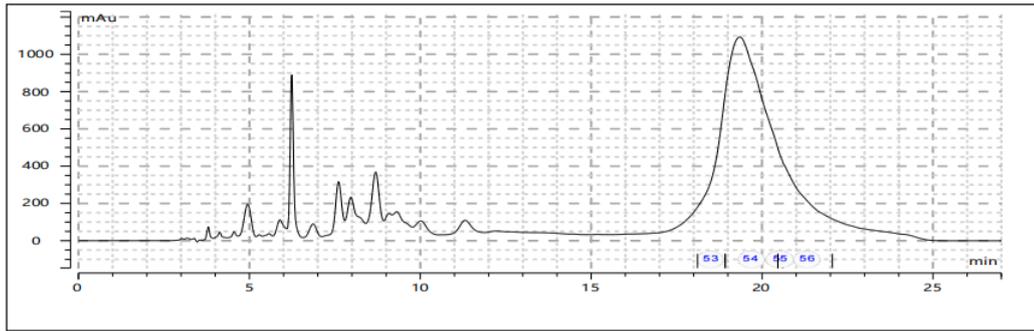


图 8 DS 样品制备图

1.2.2. 馏分分析

将 1.2.1 中收集到的馏分冻干后用纯水复溶并进行液相色谱分析，具体分析条件同“步骤 1.1”一致。分析图谱如图 9，10，11，12 所示：

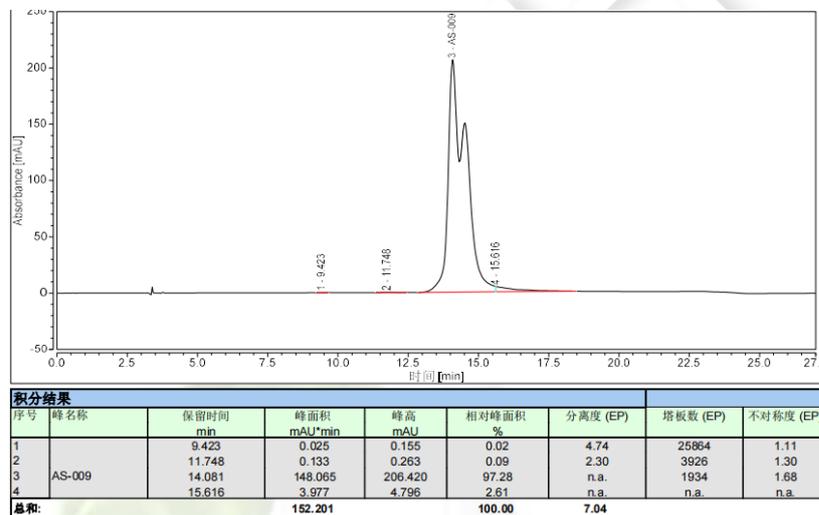


图 9 AS 制备液分析图谱

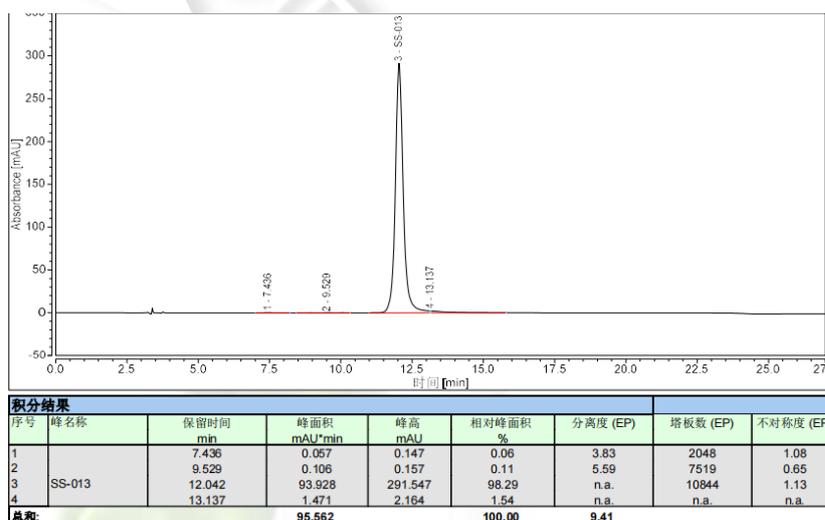


图 10 SS 制备液分析图谱



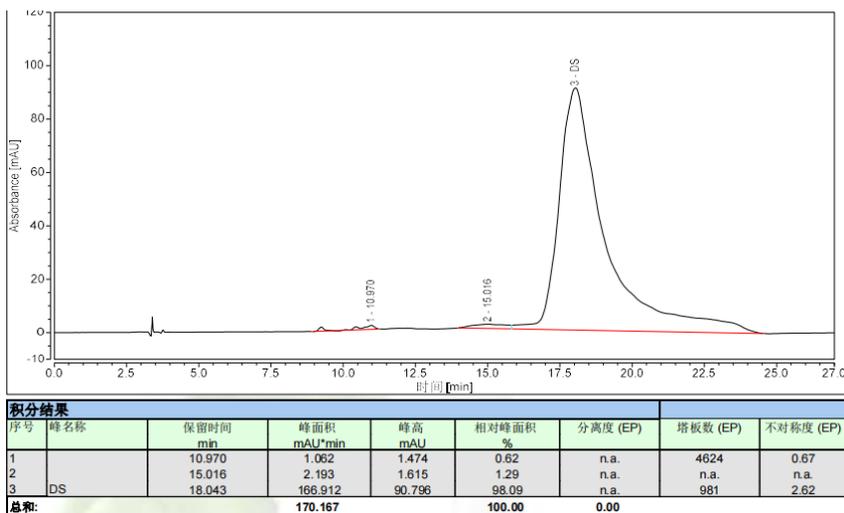


图 11 DS 制备液分析图谱

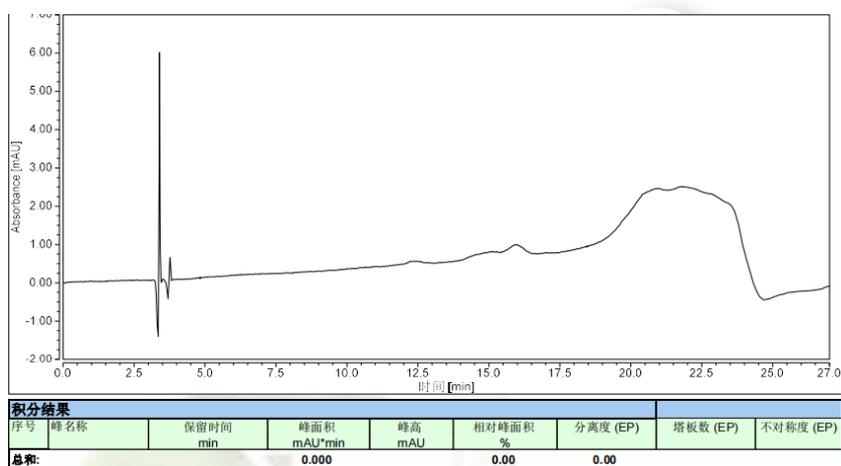


图 12 空白分析图谱（纯水）

结论：由图可见制备液仅有所需目标物，AS 纯度 97.28%，DS 纯度 98.29%，SS 纯度 98.09%，均大于 95%，检测结果合格。

2. 结论

使用月旭 Ultimate Alk-C18, 10×250mm,5μm 在此色谱条件下进行制备，紫外纯度均大于 95%，制备结果满足客户要求，邮寄客户进行 LC-MS 检测结果合格。

报告人：Queena

审核人：Jim

日期：2023/10/19

