For more information, please contact Biotage

バイオタージ・ジャパン株式会社

E-mail: Japan_info@biotage.com

本 社:〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4, 6F TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121

西日本: 〒532-0003 大阪市淀川区宮原5-1-28, 4F TEL 06-6397-8180 FAX 06-6397-8170

URL: http://www.biotage.co.jp/

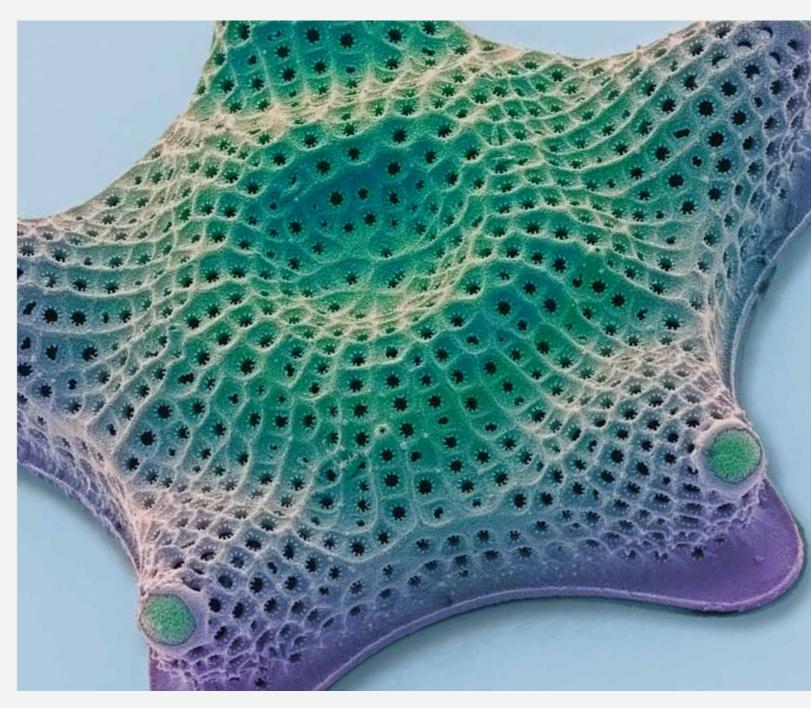
© 2012-2018 Biotage. All rights reserved. All brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies. The information contained in this document is subject to change without notice.

Part Number: SLEUG_200101g



生体サンプル前処理用 改良型珪藻土カラム&プレート

ISOLUTE® SLE+ User Guide





ISOLUTE® SLE+ ユーザーガイド

Method Development Strategies

CONTENTS

ページ

3 生体サンプル前処理用 改良型珪藻土 ISOLUTE® SLE+

4 保持液抽出法によるサンプル前処理

- » 抽出メカニズム
- » 夾雑成分の除去
- » リン脂質除去
- » タンパク質除去
- » 自動化による生産性の向上
- 7 ISOLUTE® SLE+による前処理プロセス
 - » 加圧/バキュームについて
 - » ボリュームガイドライン
 - » 内部標準の添加について
 - » スケーラビリティ
- 8 メソッド開発の戦略
 - » サンプルの希釈
 - » 中性(非イオン性)化合物の抽出
 - » 塩基性化合物の抽出
 - » 酸性化合物の抽出
 - » 効率的なメソッド開発の提案
 - » 特殊なケースへの対応
 - » ヒントとコツ&トラブルシューティング
- 18 アプリケーションリスト
- 20 サンプル前処理装置&アクセサリ
- 21 製品フォーマット
- 22 注文情報



略語一點

DCM=ジクロロメタン IPA=イソプロパノール MTBE=メチル tert- ブチルエーテル

表紙のイメージについて:

Coloured Scanning Electron Micrograph (SEM) of a Triceratium sp. Diatom.

珪藻土は生体鉱物が化石化した、シリカを多く含む天然由来の物質です。珪藻土の特性は様々な工業プロセスに利用されてきました。 カラムに充填すればガスクロマトグラフィーにおける分離カラムに利用でき、また、サンプル前処理にも利用できます。

©2020 Biotage

Trademark Acknowledgement

The following trademarks are owned by Biotage AB: Advancer, Advancer 350, Advancer Kilobatch, AFFINILUTE, Biotage, Biotage ZIP, Endeavor, EVOLUTE, EVOLUTE EXPRESS, ExploraSep, Extrahera, Firefly design, FLASH-, FlashMaster, FlashVac, Flash 75, Flash 150, Flash 400, Horizon, HPFC, HP-SIL, HP-Sphere, Initiator, Initiator Peptide Workstation, Initiator+, Initiator+ Alstra, Initiator+ Robot 60, Initiator+ SP Wave, Isolera Dalton, Isolera Spektra Four, Isolera Dalton, Is

Other product and company names mentioned herein may be trademarks or registered trademarks and/or service marks of their respective owners, and are used only for explanation and to the owners' bene without intent to infringe.

生体サンプル前処理用 改良型珪藻土カラム&プレート

ISOLUTE® SLE+

Supported Liquid Extraction Products



このユーザーガイドは、ISOLUTE® SLE+によるサンプル前処理メソッドの開発法を説明しています。メソッド最適化や、より多種類のターゲットを抽出するためのヒントやコツも記載しています。

ISOLUTE® SLE+は生体サンプルの分析前処理のために特別に改良された珪藻土です。シンプルなLoad-Wait-Eluteプロセスで、生体サンプルから幅広い化合物を抽出できます。

フォーマットは96ウェルプレート及びシリンジカラムで提供しており、処理するサンプル量(10 μL*-10 mL)に応じて選択できます。

※ 詳細は16,17ページの「ヒントとコツ&トラブルシューティング」をご参照ください。

保持液抽出法によるサンプル前処理

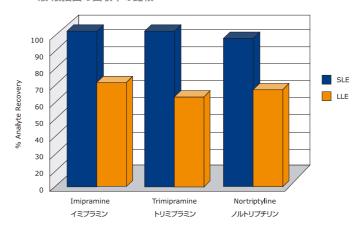
Sample Preparation Using Supported Liquid Extraction: SLE

保持液抽出(Supported Liquid Extraction:SLE)は、液-液抽出 (LLE)と同様に、水と混ざらない有機溶媒によりターゲット化合物を 抽出する前処理手法です。保持液抽出法では、水相と有機溶媒相を 一つの容器に入れて振り混ぜる代わりに、水相を不活性な珪藻土に 保持させ、一方で有機溶媒相は(水相を保持した)珪藻土を通過して 流れていきます。保持液抽出法では、エマルジョン生成に代表される 液-液抽出の問題を緩和することができます。その結果、ターゲット 化合物の回収率や再現性が高まる傾向があります。(図1)

サンプル前処理において、液-液抽出法の原理(水相と水と混ざらない有機溶媒相の間で起こるターゲット化合物の分離)は良く知られています。従来、ターゲット化合物は水系サンプルに水と混ざらない適切な有機溶媒を加えることで抽出されます。2種類の互いに混ざりあわない液相を分液ろう斗などを用い、振るなどして良く混ぜるとターゲット化合物は有機溶媒相に分配されて分離されます。振り混ぜることで抽出効率が向上しますが、これは振ることにより抽出面積が大きくなり、分配が起こりやすくなるためです。

液-液抽出法では、タンパク質やリン脂質は通常用いられる有機溶媒にとけないため、溶媒中から除去することができ、生体サンプルをクリーンに抽出することができます。同じメリットが保持液抽出にも該当します。タンパク質沈澱など他の処理工程を行うことなく、タンパク質やリン脂質を珪藻土により良好に除去することができます。

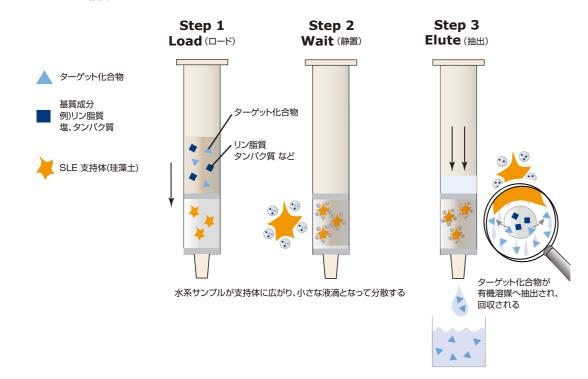
図1. 血漿からの三環系抗うつ薬抽出におけるISOLUTE® SLE+と 液-液抽出の回収率の比較



また迅速でシンプルなLoad-wait-elute処理による保持液抽出法は、希釈だけで行なえるため、基本的にタンパク質沈澱法に比べてよりクリーンに抽出することができます。

高いターゲット回収率と、エマルジョン回避、そしてタンパク質、 リン脂質、塩などマトリックス由来の妨害物質の除去を同時に行う ことで、従来の液-液抽出法に比べて優れた定量下限値を得ること ができます。

図2. ISOLUTE® SLE+抽出のメカニズム



抽出メカニズム

ISOLUTE® SLE+は、生体サンプルの前処理を目的に従来の珪藻土を 改良したものです。液-液抽出が可能になるよう水相を保持しますが、 水系サンプルと化学的に相互作用することはありません。

水系サンプルを珪藻土に加えると、サンプルは珪藻土全体に広がり、珪藻 土の細孔のネットワークによって適切に保持され、固定化されます。(**図2**)

水と混ざらない有機溶媒を加えると、有機溶媒は珪藻土に保持された水相の上を通過していくことになり、そこでターゲット化合物の分配が起こります。水相と有機溶媒相の接触面積は大きく、また珪藻土上でターゲット化合物は移動していくフレッシュな有機溶媒に接触することができるため、効率の良い抽出ができます。これは液-液抽出を複数回繰り返すときの原理に似ています。

夾雑成分の除去

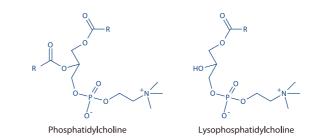
優れたタンパク質&リン脂質除去性能

保持液抽出は、とてもシンプルなテクニックですが、希釈直打ち法 (dilute and shoot)や除タンパク法より極めてクリーンなサンプル 前処理が可能です。保持液抽出は、ほとんどの場合さらに選択性の 高い固相抽出法と同程度のクリーンさで抽出することができます。 保持液抽出法では、ターゲット化合物は水と混ざらない有機溶媒相に 分配されます。塩やタンパク質、ペプチド、そしてリン脂質(血液由来のマトリックスに存在する)などの内因性物質はLC-MS/MS分析においてマトリックス効果を引き起こすものですが、これらは水と混ざらない有機溶媒では抽出されません。ゆえに、これらの妨害物質は珪藻土に保持された水相に残り、抽出液から除去されます。抽出したサンプルにはマトリックス成分が少なく、高い回収率でターゲットを回収できるので、イオンサプレッションを抑制し、より定量性に優れた分析を行うことができます。

リン脂質除去

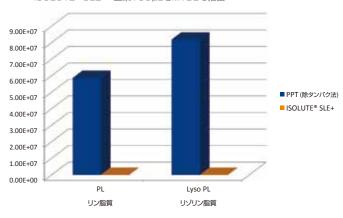
リン脂質は、血漿や血清など血液由来の生体サンプルに含まれるマトリックス成分です。LC-MS/MS分析ではリン脂質がターゲット化合物と共溶出することが多いため、著しいイオンサプレッションを起こし問題となります。そのため、分析サンプルからリン脂質を除去することは、信頼性の高い定量分析を行うために必須となります。

図3. リン脂質の構造



希釈直打ち法のような除タンパク法など簡単な前処理法では、分析サンプル中のリン脂質濃度を十分に下げることができず、分析感度と抽出のクリーンさに問題を残します。図4は除タンパク法(PPT)とISOLUTE® SLE+でそれぞれ処理したサンプル中のリン脂質(PL)とリゾリン脂質(Lyso PL)の残存量を比較しています。

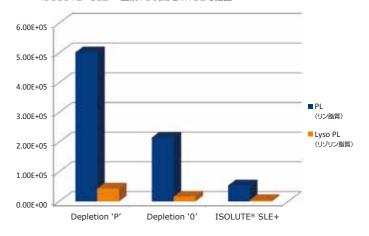
図4. 様々な前処理法での残存タンパク質量及びリゾリン脂質量の比較 PPT: 除タンパク法, 血漿100μLにアセトニトリル300μLを添加して処理 ISOLUTE® SLE+: 血漿100μLをMTBEで抽出



リン脂質除去製品は、サンプルからリン脂質を除去するためにデザインされています。図5は、一般的に使用されているリン脂質除去製品とISOLUTE® SLE+でそれぞれ処理したサンプル中のリン脂質(PL)とリゾリン脂質(Lyso PL)の残存量を比較しています。

図5. 一般的リン脂質除去製品とISOLUTE® SLE+による残存タンパク質量及びリゾリン脂質量の比較

リン脂質除去用製品(depletion): 血漿100µLを製品規定の方法で処理ISOLUTE® SLE+: 血漿100µLをMTBEで抽出



ISOLUTE® SLE+を使用した保持液抽出では、経験的にMTBEなどの有機溶媒によって幅広いターゲット化合物を抽出できることが分かっています。ですが、これらの有機溶媒で上手く抽出できないターゲット化合物については、極性修飾剤(polar modifier)5%(v/v)を加えることで、サンプルのクリーンさを損なうことなく抽出の改善が期待できます。図6は、ISOLUTE® SLE+プレートによるリン脂質除去を様々なサンプル希釈バッファーと抽出溶媒を組み合わせて比較した結果です。リゾリン脂質についても、似た結果が得られています。それぞれ、除タンパク法で処理したサンプルのリン脂質量を基準(100%)として比較しています。

図6. 異なる抽出条件におけるリン脂質除去の比較

ISOLUTE® SLE+を使用し、様々なサンプル希釈バッファーと抽出溶媒の組み合わせで ヒト血漿100uLを前処理した際の、残存リン脂質量の比較

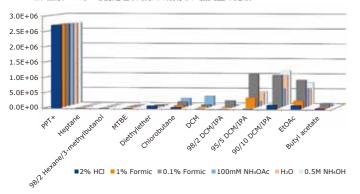
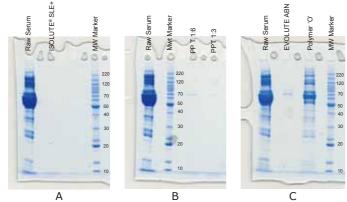


図4. 図5及び図**6**においては、ESI-LC-MS/MS、ボジティブモードによりリン脂質をモニタリングした。 最も多く認められたリン脂質はMRMモードにおいて184プロダクトイオンで定量された。(フルスキャン、 SIR及びブレカーサーイオンスキャンデータにより確認)

タンパク質除去

ISOLUTE® SLE+のタンパク質除去能を示すために、血漿を ISOLUTE® SLE+、除タンパク法、及び固相抽出法で前処理して比較 しました。ゲル電気泳動を行ったところ、ISOLUTE® SLE+ではタン パク質が完全に除去できていることが確認できました。

図7. ISOLUTE® SLE+、除タンパク法、固相抽出においての タンパク質除去比較



A ISOLUTE® SLE+:

ラット血清を水で希釈し(1:1, v/v)、ISOLUTE® SLE+にロードした後、MTBEで抽出した。回収液全量をエバポレートし、ゲル電気泳動を行った。

B 除タンパク(PPT):

ラット血清にアセトニトリル(1:3及び1:6, v/v)を加えて除蛋白を行った。

C 固相抽出:

ラット血清100 μLを固相抽出法にて、各メーカーの 示すジェネリックメソッドに従って処理した。

ゲル電気泳動条件:

NuPAGE Novex 12% Bis-Trisミニゲル、 MOPS SDSランニングバッファーを使用。 200 V、120 mA·12.5 V、65分間。

自動化による生産性の向上

ISOLUTE® SLE+は、バキュームあるいは加圧マニホールドで簡単に処理できますが、さらにハイスループット自動化装置でも良好に処理できます。ISOLUTE® SLE+の処理は、リキッドハンドリング(サンプルや溶媒の分注)とバキュームあるいは加圧による送液のみで行うことができ、ボルテックスや遠心、急速冷凍や溶媒の継ぎ足しなど、従来の液・液抽出で行っていた他のマニュアル操作は必要ありません。シンプルなload-wait-eluteメソッドにより、ISOLUTE® SLE+は従来の液・液抽出(表1)や固相抽出と比較して半分の時間で前処理が完了します。

ISOLUTE® SLE+に使用されている珪藻土は大変優れたローディング特性、抽出特性を持っています。

保持液抽出のユニークなメカニズムにより、サンプルは全て 珪藻土に吸収されるため廃液を回収する必要がなく、そのため 回収用プレートを最初からセットしておくことができます。

ターゲット抽出のための有機溶媒のみが、詰まることなくカラム/ ウェルを通過し、回収されます。

少量のサンプルについては96ウェルプレートフォーマットに加えて、400μL用及び1mL処理用のカラムフォーマットがあり、多くの自動化装置で処理することができます。

表1: ISOLUTE® SLE+ と LLE(液-液抽出)の処理時間比較

抽出法	96ウェルプレートの処理時間
ISOLUTE® SLE+	12.5 min
LLE(液-液抽出)	22.5 min
* Quadra-96™ リキッドハンドラーを用いてISOL 当量の液-液抽出(LLE)とを比較	UTE® SLE+を利用した場合と

ISOLUTE® SLE+ による前処理プロセス

Processing ISOLUTE® SLE+ Products

ボリュームガイドライン

アプライしたサンプルがカラムを通り廃液される固相抽出法と異なり、ISOLUTE® SLE+では加えたサンプル全量が珪藻土に吸収されます。 ゆえに、それぞれのカラム/ウェルの大きさに適したサンプル量で処理することが大変重要です。

注意:「サンプル量」は生体サンプルそのものと希釈に使用したバッファーの総量を指します。たとえば、200 μLの血漿をバッファーにより1:1の比率で希釈した場合、400μL処理用のカラムまたはウェル(プレート)が必要です。表2に、ISOLUTE® SLE+各フォーマットについてサンプルロード量と抽出溶媒量のガイドラインをまとめています。

ISOLUTE® SLE+処理プロセス

1 サンプルの希釈:

希釈や内部標準添加など必要な処理を行う。

2 適切なサイズの回収容器(試験管、回収用ウェルプレートなど) がセットされていることを確認する。

3 サンプルロード:

カラムまたはウェルにサンプルを入れる。

4 2-5秒程度、軽くバキューム(-0.2 bar)または加圧(3 psi)し サンプルが珪藻土に吸収されることを確認する。

5 5分静置:

サンプルが完全に珪藻土に吸収されるまで待つ。

6 水と混ざらない有機溶媒で抽出:

抽出溶媒を添加し、自然落下で5分静置。

7 軽くバキューム(-0.2 bar)または加圧(10 psi)して抽出を 完了する。(長くても10-30秒程度)

8 適宜、エバポレートと再溶解を行う。

表2: ISOLUTE® SLE+の最大ロード量と抽出溶媒量ガイドライン

製品	カラムボリューム	最大ロード量	抽出溶媒量 (参考値)
200μL96ウェルプレート	_	200 μL	1x1 mL
400μL96ウェルプレート	_	400 μL	2x900 μL
1mL48ウェルプレート	_	1 mL	5x1 mL
200μLアレイ カラム/プレー		200 μL	2x600 μL
400μLアレイ カラム/プレー		400 μL	2x750 μL
400μLカラム	3 mL	400 μL	2x900 μL
1mLカラム	6 mL	1 mL	2x2.5 mL
2mLカラム	15 mL	2 mL	2x5 mL
5mLカラム	25 mL	5 mL	2x8 mL
10mLカラム	70 mL	10 mL	2x20 mL
表2の地出物展品はメンルド開発(の初期検討時での値を示し	ています 性にターゲッ	ルトルー物が可溶性

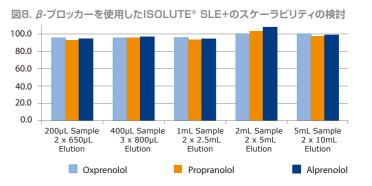
表2の抽出溶媒量はメソッド開発の初期検討時での値を示しています。特にターゲット化合物が可溶性の場合、メソッドを最適化していけば溶媒量を減らせる可能性があります。

内部標準の添加について

内部標準(IS)を使用する場合は、サンプル(検体、試料)に最初に添加し、その後、バッファー等で希釈してください。内部標準試薬が有機溶媒に溶解されている場合には、添加容量ができるだけ小さくなるように調整してください(例:200 μLサンプル中にIS試薬10 μL)。最適なパフォーマンスを得るため、サンプル量が多い場合にもIS試薬やできるだけ少ない容量で添加し、"solvent bridge effect"による水溶性マトリックスの抽出溶媒への移行/混入が最小限になるよう注意してください。

スケーラビリティ

ISOLUTE® SLE+で開発したメソッドは簡単にスケールアップやスケールダウンができます(図8)。



複数のβ-ブロッカーを用いて、ISOLUTE® SLE+のスケーラビリティを検討した。サンプルマトリックスには血漿を用い、血漿量200 μL、400 μL、1 mL、2 mL、及び5 mLをそれぞれ0.5 Mアンモニア水で1:1(v/v)に希釈した。適切なサイズ、フォーマットのISOLUTE® SLE+製品を用いて前処理を行った結果、回収率は安定して80%を上回り、ISOLUTE® SLE+では容易にスケールアップ、スケールダウンが可能と示唆された。

加圧/バキュームについて

ISOLUTE® SLE+は、処理工程の大部分を重力落下で行うことができますが、サンプルロードの最初と、溶媒回収の最後に軽く加圧あるいはバキュームが必要です。マニュアル処理、自動処理、加圧、バキュームのいずれでも使用できます。

メソッド開発の戦略

Method Development Strategies

保持液抽出法は、水相から水と混ざらない有機溶媒へのターゲット化 合物の分配に基づいた前処理法です。ターゲット化合物の分配に関 与する要素は次の2つです。

- » ターゲット化合物の官能基(pK。とLogD)
- » ターゲット化合物の抽出溶媒への溶解性

保持液抽出によく用いられる有機溶媒はMTBE、酢酸エチル、ジクロロ メタン、ヘキサンあるいは混合溶媒です。

水と混ざらない溶媒であれば、他の有機溶媒も使用できます。

適切な有機溶媒の選択は、ターゲット化合物の極性(LogPまたは LogD)や溶解性によって異なります。

このセクションに記載した戦略のいくつかを用いることで、抽出できる 化合物の幅が広がります。

液-液抽出の条件が分かっている場合には、それに似た抽出条件 (溶媒やpH条件)を出発点としてISOLUTE® SLE+のメソッド開発を 行うことができます。

サンプルの希釈

保持液抽出法においてターゲット化合物の有機溶媒側への分配を 促進するため、酸あるいは塩基の電荷は可能な限り抑制するべき です。これは、極性の高い化合物においては特に重要です。水系 サンプルのpHを変更することで保持液抽出の抽出効率を最適化 できます(2pH単位ルールの項を参照してください)。

酸性化合物については、適切なバッファーを用いてサンプルを酸性にし、 サンプルをISOLUTE® SLE+にロードする前にターゲット化合物の 電荷を抑制しておく(non-ionized)ことで有機溶媒への溶解性が 高まります。逆に、塩基性化合物については、サンプルに少量の塩基性 修飾剤(basic modifier)を添加することで回収率が高まることが 期待できます。

pHコントロールは、ロードした状態では有機溶媒に少ししか溶解しない 極性化合物の抽出の際に最も重要です。

2pH単位ルール

分子の官能基のpK。は、その官能基が溶液中で50%チャージ され、残りの50%のチャージがないときのpHと定義されて います。pHが1変化すると、このチャージ状態の割合は10倍 ずつ変化します。したがって、pK。より2pH単位離れた条件で 抽出を行うことは、官能基の95.5%が望ましいイオン化状態 になるということが言えます。

例 弱酸性化合物(pK。4.0)の酸解離率に対するpHの影響

рH	%遊離酸 (uncharged)	%解離 (charged)
2.0	95.5	0.5
3.0	95	5.0
ACID pK ₈ =4.0	50	50
5.0	5.0	95
6.0	0.5	99.5

従って、pK。4.0の弱酸性化合物の有機溶媒への溶解度を 最も高めるには、pH 2.0より低く調整します。(pHをpKaより 2pH単位下に調整します。)

例 弱塩基性化合物の共役酸(pKa 9.0)における解離率に 対するpHの影響

рН	%遊離酸 (uncharged)	%解離 (charged)
11.0	95.5	0.5
10.0	95	5.0
ACID pK _a =9.0	50	50
8.0	5.0	95
7.0	0.5	99.5

従って、pK。9.0の弱塩基性化合物の有機溶媒への溶解度を 最も高めるには、pH 11.0より高く調整します。(pHをpK。より 2pH単位上に調整します。)

注意)

ISOLUTE® SLE+の使用において、サンプル(試料)のpH コントロールは確かに重要な要素ですが、十分な回収率を 得るためには2pH単位ルールに基づいた理論上最適なpH 条件が常に必要というものではありません。

LC-MS/MS分析のための推奨バッファー

このセクションでは、中性化合物、酸性化合物、および塩基性化合物を抽出するためのメソッド開発戦略の概要を説明しています。また、 メソッド開発におけるスクリーニングアプローチについても記載しています(12ページ)。

なお、LC-MS/MS分析の前処理では、できるだけMSを傷めない揮発性バッファーを用いることを推奨します。

推奨	非推奨*
水酸化物(Hydroxide)	リン酸塩(phosphate)
酢酸塩(Acetate)	炭酸塩(carbonate)
ギ酸塩(Formate)	その他の不揮発性バッファー

*不揮発性バッファーを使用する場合には、分析に不都合な影響が 出ないようにするため、サンプルロード量を通常の3/4程度まで 少なくすることを検討してください。これは特に水が混入しやすい 有機溶媒(酢酸エチルなど)を使用する場合に重要です。

中性(非イオン性)化合物の抽出

pK。値を持たない中性化合物を処理する場合は、pHコントロールはあまり重要ではなく、抽出溶媒の選択が最も重要な要素となります。 ターゲット化合物が容易に溶解する水に混ざらない有機溶媒を選択します。

- » 非極性化合物の抽出には、ヘプタンやヘキサン、ジクロロメタンなどの非極性溶媒が適しています。
- »極性が比較的高い化合物を抽出するには、MTBEや酢酸エチルで検討してください。
- » これらの溶媒で抽出されない化合物に対しては、溶媒にイソプロパノールなどの極性修飾剤の添加(5%, v/v)を試みてください。 抽出効率を高め、ターゲット化合物の回収率向上が期待できます。

一方で、極性(水と混ざる)修飾剤の添加量が多くなると、リン脂質などの夾雑成分を共溶出しやすくなるので、注意してください。

中性(非イオン性)化合物の代表的な抽出メソッド

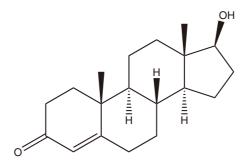
使用製品:ISOLUTE® SLE+ 200µL用96ウェルプレート(#820-0200-P01)

サンプルの希釈	血漿をH₂Oで希釈する(1:1, v/v)
サンプルロード	希釈した血漿サンプル(200 μ L)を ウェルにロードし、2-5秒程度軽く バキューム(-0.2 bar)、または加圧 する
静置	5分間静置 サンプルを完全に珪藻土に吸収させる
抽出	抽出溶媒を添加する(1 mL) 自然落下で5分間静置する 最後に軽く(長くても10-30秒程度) バキューム(-0.2 bar)して抽出を 完了させる
エバポレーション・再溶解	エバポレートして乾燥させ、適切な 分析移動相で再溶解する

例:ヒト血漿からの内因性ステロイドの抽出

この例では、ターゲット化合物(内因性ステロイド)が酸性官能基、塩基性官能基 のどちらも持っていないので、希釈によるpHコントロールは不要です。

図9. テストステロンの構造



Note:

タンパク結合している中性化合物は、pH調整によって回収率が高まる可能性が あります。詳細は「ヒントとコツ&トラブルシューティング」16,17ページを ご参照ください。

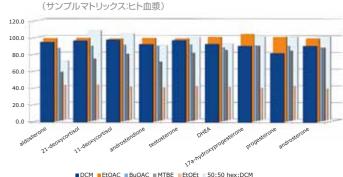
内因性ステロイドのLogP

ターゲット	LogP
Aldosterone	0.71
21-deoxycortisol	2.07
Androstenedione	2.72
11-deoxycortisol	2.74
17-hydroxyprogesterone	3.04
Testosterone	3.18
DHEA	3.3
Progesterone	3.83
Androsterone	3.93

結果

ISOLUTE® SLE+ 200uL用96ウェルプレートを使用してヒト血漿からの 内因性ステロイドを抽出した際の回収率は、下図のとおりでした。中性化合物の 抽出においては、抽出溶媒の選択が最も重要な検討要素で、回収率に影響を

図10. 様々な抽出溶媒を使用した内因性ステロイドの回収率



塩基性化合物の抽出

ターゲット化合物を容易に溶解する、有機溶媒(水と混ざらない溶媒)を抽出溶媒として選択する必要があります。

塩基性化合物は、pHの高い状態で化合物を脱プロトン化することで、有機溶媒への溶解度が高まり、回収率の向上が期待できます。 たとえば、0.5 Mアンモニア水でサンプルを希釈することで(通常は1:1, v/v)、多くの生体サンプルをpH 10以上に調整できます。第4級アンモニウム基などの強塩基性化合物については、イオンペア試薬の使用を検討してください(14ページ参照)。

極性化合物の抽出では、pHコントロールが最も重要な検討ポイントです。

- » 非極性化合物の抽出には、ヘプタンやヘキサン、ジクロロメタンなどの非極性溶媒が適しています。
- »極性が比較的高い化合物を抽出するには、MTBEや酢酸エチルを検討してください。
- » これらの溶媒で抽出されない化合物に対しては、溶媒にイソプロパノールなどの極性溶媒の添加(5%, v/v)を試みてください。抽出 効率を高め、ターゲット化合物の回収率向上が期待できます。

一方で、極性(水と混ざる)修飾剤の添加量が多くなると、リン脂質などの夾雑成分を共溶出しやすくなるので、注意してください。

塩基性化合物の代表的な抽出

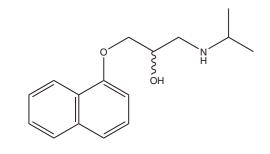
使用製品:ISOLUTE® SLE+ 200µL用96ウェルプレート(#820-0200-P01)

サンプルの希釈	血漿サンプルを0.5 M アンモニア水 (約pH 10.4)で希釈する(1:1, v/v)
サンプルロード	希釈した血漿サンプル(200 μ L)を ウェルにロードし、2-5秒程度軽く バキューム(-0.2 bar)、または加圧 する
静置	5分間静置 サンプルを完全に珪藻土に吸収させる
抽出	抽出溶媒を添加する(1 mL) 自然落下で5分間静置する 最後に軽く(長くても10-30秒程度) バキューム(-0.2 bar)して抽出を 完了させる
エバポレーション・再溶解	エバポレートして乾燥させ、適切な 分析移動相で再溶解する

例:ヒト血漿からのβ-ブロッカーの抽出

この例では、血漿サンプルを $0.5\,\mathrm{M}$ のアンモニア水を使って、 pH を塩基側に調整 lst 。

図11. プロプラノロールの構造



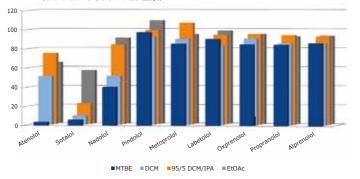
一部のβ-ブロッカーのpKaとLogP

ターゲット	pKa	LogP
Atenolol	9.5	0.57
Sotalol*	8.3/9.2	0.85
Nadolol	9.67	1.23
Pindolol	8.8	2.17
Propranolol	9.45	3.17

結果

ISOLUTE® SLE+ 200 μ L用96ウェルプレートを使用してヒト血漿からの β -ブロッカーを抽出した際の回収率は、下図のとおりでした。

図12. 様々な抽出溶媒を使用したβ-ブロッカーの回収率 (サンブルマトリックス:ヒト血漿)



Note:

*Sotalolは両性化合物のため、より回収率高めるにはさらにメソッドの最適化が必要になります。詳細は「ヒントとコツ&トラブルシューティング」16,17ページをで参照ください。

酸性化合物の抽出

ターゲット化合物を容易に溶解する、有機溶媒(水と混ざらない溶媒)を抽出溶媒として選択する必要があります。

酸性化合物については、サンプルのpHを下げてターゲットのイオン化を抑制し、ターゲットが分子型で存在するよう調整することで良好な回収率が期待できます。サンプル希釈は1%(v/v)ギ酸などの酸性バッファーを用いて検討してください。

極性化合物の抽出では、pHコントロールが最も重要な検討ポイントです。

- » 非極性化合物の抽出には、ヘプタンやヘキサン、ジクロロメタンなどの非極性溶媒が適しています。
- » 極性が比較的高い化合物を抽出するには、MTBEや酢酸エチルを検討してください。
- » これらの溶媒で抽出されない化合物に対しては、溶媒にイソプロパノールなどの極性修飾剤の添加(5%, v/v)を試みてください。 抽出効率を高め、ターゲット化合物の回収率向上が期待できます。

一方で、極性(水と混ざる)修飾剤の添加量が多くなると、リン脂質などの夾雑成分を共溶出しやすくなるので、注意してください。

酸性化合物の代表的な抽出

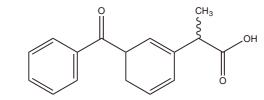
使用製品:ISOLUTE® SLE+ 200µL用96ウェルプレート(#820-0200-P01)

サンプルの希釈	血漿を1%ギ酸(約pH 3.4)で希釈 する(1:1, v/v)
サンプルロード	希釈した血漿サンプル(200 μL)を ウェルにロードし、2-5秒程度軽く バキューム(-0.2 bar)、または加圧 する
静置	5分間静置 サンプルを完全に珪藻土に吸収させる
抽出	抽出溶媒を添加する(1 mL) 自然落下で5分間静置する 最後に軽く(長くても10-30秒程度) バキューム(-0.2 bar)して抽出を 完了させる
エバポレーション・再溶解	エバポレートして乾燥させ、適切な 分析移動相で再溶解する

例:ヒト血漿からののNSAIDsの抽出

この例では、血漿サンプルを1%ギ酸を使って、pHを酸性側に調整します。

図13. ケトプロフェンの構造



一部の非ステロイド系抗炎症薬のpKaとLogP

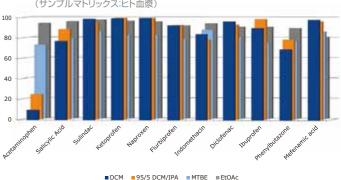
ターゲット	pKa	LogP
Aldosterone	9.7	0.46
Salicylic acid	2.97	2.21
Naproxen	4.2	2.8
Metfenamic acid	4.2	5.1

結果

ISOLUTE® SLE+ 200μL用96ウェルプレートを使用してヒト血漿からの NSAIDsを抽出した際の回収率は、下図のとおりでした。

ターゲット化合物が高極性の場合、抽出溶媒に高極性溶媒を用いると回収率を より高めることができます。

図14. 様々な抽出溶媒を使用したNSAIDsの回収率

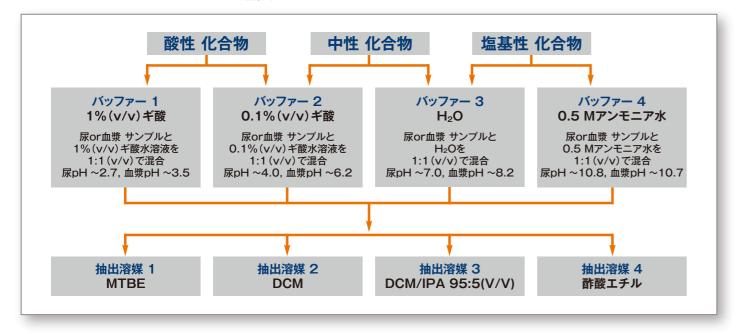


■DCM ■95/5 DCM/IPA ■MTBE ■EtOAc

効率的なメソッド開発の提案

バイオタージはこのセクションで紹介している原理をもとに、ターゲットのシンプルなスクリーニング方法を開発しています。シンプルな2pH法と 4溶媒を組み合わせることで短期間でメソッド開発が行うことができます。

ISOLUTE® SLE+ メソッド選択ガイド



チャートの使い方

12 © Biotage 2020

- » このチャートは、96ウェルプレート及びシリンジカラムのISOLUTE® SLE+全製品に適用できます。サンプルのロード量と溶媒量については、7ページを参照してください。
- » ターゲット化合物が酸性か中性か、あるいは塩基性かによって推奨されるpH条件が異なります。最も良い 結果を得るために、できるだけターゲット化合物が分子型で存在する条件に調整してください。
- »酸性化合物を抽出する場合には、pHを十分に低くしてください。
- » 塩基性化合物を抽出する場合には、pHを十分に高くしてください。
- » 中性で、pKa値を持たない化合物は、あまり強くpH条件に依存せず抽出できます。タンパク結合していることが明らかな場合には、サンプル希釈の際に酸あるいは塩基を添加し、タンパク結合を開裂させてください。同時に、夾雑成分を十分に除去ができるかどうかを確認してください。
- » ターゲットは、ISOLUTE® SLE+のウェルプレート/カラムを通過するフレッシュな抽出溶媒へと速やかに移動し、 平衡化されます。従来の液-液抽出に比べて、効率良く処理できます。
- » 低極性の化合物については、希釈バッファーでのpH調整が不要な場合もあります。 ターゲット化合物の極性が高い場合に、pHコントロールは重要となります。
- » これら4つの抽出溶媒は、溶媒の物性や極性を考慮して、幅広いターゲットを抽出できるように選択しています。

特殊なケースへの対応

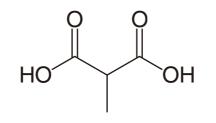
ターゲットの化合物によっては、標準の抽出条件が適切ではない場合があります。これはターゲット化合物の溶解度が低いことが原因でよく起こります。例えば、分子量の小さい高極性の酸や酸性官能基と塩基性官能基をあわせ持った化合物などは、通常のpHコントロールでは分子型にならないため、高度なメソッド最適化が必要です。このセクションでは、バイオタージR&Dが開発した、通常の抽出条件では対応が難しい化合物へのアプローチ方法を説明します。

例1: 分子量の小さい高極性の酸を抽出するためのpH コントロール

分子量の小さな高極性の酸は、水と混ざらない有機溶媒への溶解度が低いため、標準の抽出条件で十分に回収することは困難です。このような化合物を保持液抽出法で回収するには、極端なpHコントロールによってターゲットを中和し、抽出溶媒への溶解度を高める必要があります。

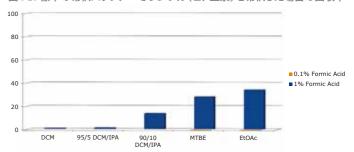
メチルマロン酸は分子が小さく、極めて極性が高い水溶性の酸です。 通常の抽出条件で処理した場合、回収率は40%未満です。(図16参照)

図15. メチルマロン酸の構造と物性



化合物	pKa	LogP
メチルマロン酸	3.07	0.17

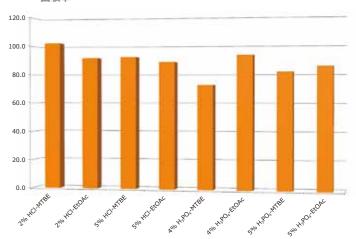
図16. 標準の希釈バッファーでサンプル(ヒト血漿)を希釈した場合の回収率



バイオタージR&Dは、メチルマロン酸の回収率を高めるために、さらに pHコントロールを検討しました。標準の抽出条件で、ある程度の ターゲットを回収できたMTBEと酢酸エチルを抽出溶媒とし、酸性 範囲でのサンプル希釈を検討しました。

サンプル希釈バッファー	サンプルpH
HCI(2%)で希釈(1:1, v/v)	1.71
HCI(5%)で希釈(1:1, v/v)	0.89
H₃PO₄(4%)で希釈(1:1, v/v)	1.71
H ₃ PO ₄ (5%)で希釈(1:1, v/v)	1.55

図17. 強酸性条件でサンプル(ヒト血漿)を希釈した場合のメチルマロン酸 回収率



血漿の希釈条件を変更することで、メチルマロン酸を十分に回収することができました。しかし一方で、不揮発性の強酸を用いたことで、特に水と混ざりやすい抽出溶媒(酢酸エチル)を使用した場合にイオンサプレッションの増加が認められました。したがって、この影響を最小限にするため、抽出溶媒には水への溶解性の低い有機溶媒(MTBEなど)の使用が推奨されます。

別の対策としては、サンプルロード量を減らす、あるいは1サイズ大きなISOLUTE® SLE+を使用することを検討してください。詳しくは「ヒントとコツ&トラブルシューティング」16,17ページを参照してください。

13

ください。

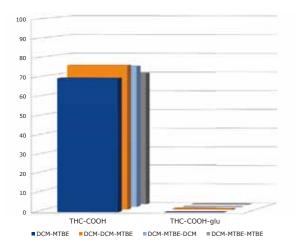
ISOLUTE® SLE+ User Guide

例2: イオンペア試薬の使用

イオンペア試薬の使用は、とても便利なアプローチです。とくに、極端なpH条件において加水分解や他の分解作用を受けやすい、化合物やマトリックスを処理する際にとても有効です。このアプローチは、酸性、中性、塩基性化合物の一斉抽出にも応用できます。

ここでは尿中の11-ノルー9ーカルボキシーデルタ9ーテトラヒドロカンナビノール(THC-COOH)と、そのグルクロン酸抱合体(THC-COOH-glu)を例に挙げて解説します。親化合物のTHC-COOHは通常の酸性条件で良好に抽出されますが、代謝物のTHC-COOH-gluは水溶性が極めて高く、ほとんど回収されません。(図18)

図18. 1%ギ酸でサンプル(尿)を希釈した場合のTHC-COOHと代謝物 (THC-COOH-glu)の回収率の比較 各種抽出溶媒を使用して検討。



中性イオンペア試薬はカルボキシル基とイオンペアを形成し、化合物の 水と混ざらない溶媒への溶解性を高めます。

尿中THC-COOHとTHC-COOH-gluの抽出メソッド

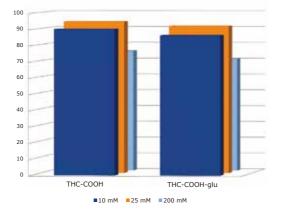
使用製品:ISOLUTE® SLE+ 200uL用96ウェルプレート(#820-0200-P01)

サンプルの希釈1	
サンプルロード	希釈した尿サンプル(200 μ L)を ウェルにロードし軽くバキューム、 または加圧する
静置	5分間静置 サンプルを完全に珪藻土に吸収させる
抽出	抽出溶媒 1 mLを加え、5分間静置 した後、軽くバキューム(または加圧) して抽出を完了する
エバポレーション・再溶解2	40 ℃の環境で溶媒を留去し、適切な 分析移動相で再溶解する

^{1.} ジブチルアンモニウムアセタートは、pHに依存したグルクロン酸抱合体の分解を起こさず、カルボキシル基とイオンペアを形成することができます。
2. イオンペア試薬が分析のクロマトグラムに影響を与えないよう、40 ℃のガスを吹き付けて溶媒を留去してください。

イオンペア試薬の使用により、グルクロン酸抱合体を分解させることなく、親化合物(THC-COOH)と代謝物(THC-COOH-glu)を良好に回収することができます。 濃度25 mMのジブチルアンモニウムアセタートが最も良好な回収率を示しました。 (図19)







例3: タンパク結合率が高い化合物

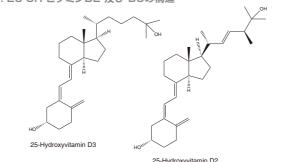
タンパク質は、ISOLUTE® SLE+による前処理で通常使用される 抽出溶媒に溶解しないため、タンパク質に強く結合した化合物は溶媒で 抽出されず、低回収率となってしまいます。このような化合物の回収 率を高めるには、ISOLUTE® SLE+ヘサンプルをロードする前に、 タンパク質と化合物の結合を切り離す必要があります。

タンパク質と化合物の結合を解除する方法として、次のようなアプローチがあります。

- »トリクロロ酢酸などによるpH調整
- » 硫酸亜鉛(ZnSO₄)溶液添加(水溶液あるいは水/有機溶媒混合 の溶液として)
- » 水溶性有機溶媒の添加

ここではヒト血清中の25-OH ビタミンD2及びD3を例に挙げて解説します。これらの化合物はタンパク質との親和性が高く、ISOLUTE® SLE+の通常の処理条件では約65%の回収率しか得られませんでした。

図20. 25-OH ビタミンD2 及び D3の構造



25-OH ビタミンD2/D3のLogP

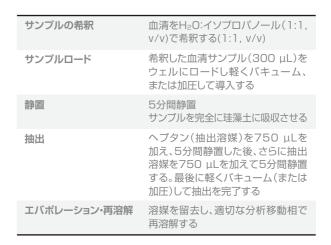
ターゲット	LogP
25-OH Vitamin D2	~7.0
25-OH Vitamin D3	~7.0

最適化の結果、血清サンプルをH₂O/イソプロパノール混合液(1:1, v/v)で希釈(1:1, v/v)し、最終的な濃度として25%(v/v)になったものをロードしました。有機溶媒の割合が多いためサンプルのタンパク質沈殿を起こさずに、25-OH ビタミンDとの結合を開裂させることができます。

サンプル中の有機溶媒濃度を高めると、'solvent bridge'効果による、抽出溶媒への水溶性夾雑成分の混入が懸念されます。この問題は、サンプルロード量を減らすことで改善することができます。バイオタージR&Dでは、400μL処理用ISOLUTE® SLE+96ウェルプレートのウェルに、希釈したサンプルを300 μLロードしました。規定量より少ないサンプルをロードすると、珪藻土の水溶性成分保持キャパシティに余裕ができることになり、結果として夾雑成分の破過を防ぎます。また同時に、フローの特性も保つことができます。

最適化された血清からの25-OH ビタミンD抽出メソッド

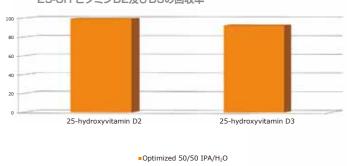
使用製品:ISOLUTE® SLE+ 400µL用96ウェルプレート(#820-0400-P01)



結果

以上の通り抽出メソッドを最適化した結果、夾雑成分除去能を保ったまま、良好な回収率を実現できました。

図21. タンパク結合解除を目的として最適化したメソッドによる疎水性化合物 25-OH ビタミンD2及びD3の回収率



ヒントとコツ&トラブルシューティング

ituation	, r	Solution
通液速度が遅い。詰まる		1.サンプルの粘性が高い場合は、サンプルの希釈倍率を上げてください。 2.加圧または減圧が過剰な可能性があります。加圧または減圧 を弱くするか、自然落下を検討してください。
できるだけ大量の生体サンブルを処理したい。		標準のサンプル希釈比率は1:1(v/v)ですが、珪藻土のキャパシティを超えることなくサンプル量(処理する生体サンプル量)を増やしたい場合には、高濃度のバッファーあるいはpH調整試薬を用いて希釈比率を下げることとを推奨します。
できるだけ大量の生体サンプルを処理したい。ステロイドやアミドなどの中性化合物でも、希釈によるpHコントロールが必要ですか?		中性化合物は、しばしば生理的pHで良好に抽出できます。このようなターゲットについては、生体サンプルを希釈せずにロードできます。(内部標準は必要に応じて添加してください。また、サンフルの粘性が高い場合には適宜希釈してください。)
少量(<150 μL)の生体サンプルを処理したい。		希釈倍率を上げてください。信頼性の高いサンプルフローを得るため、カラムあるいはウェルのトップフリットが完全に覆われる程度のサンプルロード量が必要です。ウェルプレートフォーマットでは150 μL程度が必要です。例えば、10 μLの生体サンプルでも、150 μL程度の適切なバッファーで希釈してください。
血清/血漿を処理する場合の、疎水性化合物のタンパク結合を 開裂させる方法は?		水:イソプロパノール(1:1(v/v))によるサンプル希釈をお試しください。詳細は15ページをご参照ください。
ターゲット化合物の生体サンプル中濃度が低いので、より クリーンな前処理を行いたい。		規定量の3/4程度を目安に、少ないサンプルロード量で検討してください。たとえば、400µL処理用のカラム/ウェルに300-350µLのサンプルをロードしてください。
極性が高い抽出溶媒で、クリーンな前処理を行いたい。		規定量の3/4程度を目安に、少ないサンプルロード量で検討してください。たとえば、400µL処理用のカラム/ウェルに300-350µLのサンプルをロードしてください。
低濃度の化合物抽出において、脂質除去を十分に行いたい。		ヘキサン洗浄を検討してください。サンプルをロードした後、 ヘキサンを通液して非極性脂質を溶出させ、廃棄します。その後、 回収用プレート(または試験管等)をセットして、適切な抽出溶頻 でターゲットを抽出してください。
全血サンプルを、赤血球の破過を起こさないよう、クリーンに 前処理したい。		規定量の3/4程度を目安に、少ないサンプルロード量で検討してください。たとえば、400µL処理用のカラム/ウェルに300-350µLのサンプルをロードしてください。
全血サンプル前処理のコツを教えてください。		» タンパク凝固が起こらないように注意してください。 » 高濃度の硫酸亜鉛(ZnSO4)を使用しないでください。 » 希釈バッファー添加後、十分にボルテックス混和してください。

Situation	Solution
赤血球が含まれるサンプルで、ターゲットの回収率を上げたい。	赤血球を溶解(溶血)させるため、サンプル希釈後に遠心処理を してください。
酢酸エチルなど極性が比較的高い抽出溶媒を使用する場合に、 リン脂質除去を確実に行いたい。	少ないサンプルロード量で検討してください。たとえば、400μL 処理用のカラム/ウェルに300 μLのサンプルをロードし、望ましい レベルの夾雑成分除去と回収率が得られる抽出溶媒量を検討してください。
両性ターゲット(amphoteric)を抽出したいのですが。	ターゲットの等電点に該当するpHでのサンプルロードをご検討ください。このアプローチは、ターゲットの極性とpK。値に大きく依存しているので、ご注意ください。
強酸性化合物(e.gSO3 ⁻ , -PO4 ⁻)や強塩基性化合物を抽出 したい。	イオンペア試薬による希釈を検討してください。詳細は14ペー ジをご参照ください。
極めて親水性の高い化合物を抽出したい。	塩飽和溶液でのサンプル希釈を検討してください。この方法は、 回収サンプルのクリーンさを下げる(夾雑成分が混入する)可能 性があるのでご注意ください。
酸性化合物と塩基性化合物を同時に抽出したい。(I)	次の方法をお試しください。 1.サンプルを酸性条件下でロードする(~pH 5)このとき、規定のサンプルロード量の1/2量でロードしてください 2. 抽出溶媒で1度抽出して回収 3. アンモニア水10 山を添加し、5分静置 4. 抽出溶媒で2度目の抽出を行う
酸性化合物と塩基性化合物を同時に抽出したい。(II)	1.アンモニア水(1-2%)でpHを調整したサンプルをロード 2.抽出溶媒にトリフルオロ酢酸(TFA, ~1%, v/v)を添加 3.抽出後は40 ℃以上でエバポレートし、TFAを完全に除去 または、イオンペア試薬の使用を検討してください。イオンペア 試薬に関する詳細は14ページを参照してください。
極性、溶解特性の異なる複数の化合物を一度の前処理で抽出したい。	複数の抽出溶媒による連続抽出や、混合溶媒による抽出を検討 してください。
水相の破過を防ぎたい。	サンプルロード量が規定量を超えないようにし(7ページ参照)、必要な場合にはロード量を減らしてください。サンプルに極性修飾剤が添加されている場合には、極性修飾剤の添加量を減らして検討してください。極性修飾剤の添加量を減らすことで回収率に影響が出る場合には、サンプルロード量を減らすことを検討してください。

アプリケーションリスト

創薬/クリニカル: 創薬(薬物動態研究、安全性研究)、臨床試験、品質管理

Application Number	サンプルマトリックス	ターゲット化合物	分析手法
787	尿、血清 血漿、全血	ニコチン、コチニン 3-OH コチニン ノルニコチン ノルコチニン アナバシン	LC-MS/MS
778	唾液	コルチゾル	LC-MS/MS
777	尿	コルチゾル	LC-MS/MS
764	尿	医療用麻薬(鎮痛薬)	LC-MS/MS
762	血清 (女性サンプル)	テストステロン アンドロステンジオン	LC-MS/MS
761	ヒト血清	ビタミンD2, D3 (低濃度)	LC-MS/MS
758	全血	シロリムス タクロリムス エベロリムス シクロスポリンA	LC-MS/MS
747	ISOLUTE® SLE+をPF	RESSURE+で処理する方法	
738	血漿	メチルマロン酸	LC-MS/MS
735	血漿	ビタミンD代謝物	LC-MS/MS
734	血漿	ワーファリン	LC-MS/MS
722	血漿	タモキシフェン タモキシフェン代謝物	LC-MS/MS
721	尿	タモキシフェン タモキシフェン代謝物	LC-MS/MS
603	血漿	非ステロイド系抗炎症剤	HPLC
602	血漿	コルチコステロイド	HPLC
601	血漿	三環系抗うつ剤	LC-MS/MS

2013年8日現在のリストです

アプリケーションノートは、バイオタージ・ジャパンのホームページから、どなたでもご自由にダウンロードできます。http://www.biotage.co.jp/apn_analytical バイオタージでは、「今、求められている分析アプリケーション」の開発に継続的に取り組んでいます。最新のアプリケーション情報はバイオタージ・ジャパンのホームページにてご確認ください。

法医学/科学搜查: 法医学、科学搜查

Application Number	サンプルマトリックス	ターゲット化合物	分析手法
792	尿	違法ドラッグ	LC-MS/MS
791	口腔液	合成カンナビノイド (SPICE)	LC-MS/MS
790	全血(溶血した血液)	違法ドラッグ	LC-MS/MS
788	口腔液	違法ドラッグ	LC-MS/MS
776	尿	バスソルト (置換カチノン類)	GC-MS
775	ヒト尿	アンフェタミン D5-アンフェタミン メタンフェタミン MDA、MDMA MDEA	GC-MS
774	尿、血漿、全血	合成カンナビノイド(SPICE)	LC-MS/MS
772	尿	コカイン及び コカイン代謝物	LC-MS/MS
771	加水分解尿	コカイン及び コカイン代謝物	LC-MS/MS
770	尿	アヘン類	GC-MS
769	尿(非加水分解)	濫用ドラッグ	LC-MS/MS
768	加水分解尿	濫用ドラッグ	LC-MS/MS
760	尿	三環系抗うつ剤	LC-MS/MS
756	ヒト尿	ベンゾジアゼピン類	GC-MS
752	ヒト尿	バルビツール酸系 催眠薬	GC-MS
751	尿	ベンゾジアゼピン類	LC-MS/MS
747	ISOLUTE® SLE+をP	- RESSURE+で処理する方法	
746	尿	アンフェタミン	LC-MS/MS
742	尿	アンフェタミン	LC-MS/MS
741	尿	アヘン類	LC-MS/MS
740	ヒト血漿	テストステロン その他ステロイド ホルモン	LC-MS/MS
723	血漿	THC (テトラヒドロ カンナビノール) THC代謝物	LC-MS/MS
720	尿	THC-COOH (テトラヒドロ カンナビノール)	LC-MS/MS
10446	全血血漿尿	ベンゾジアゼピン類	LC-MS/MS

Biotage®サンプル前処理用装置&アクセサリ

加圧式サンプル処理マニホールド



PRESSURE+は、96ウェル、48ウェルプレートまたは1mL、3mL および6mLサイズのSPEカラムを処理できる、加圧式サンプル処理マニホールドです。従来のバキュームマニホールドと異なり、個々に独立したユニークな加圧機構を採用しているため、サンプルの粘性を問わず均一なフローを提供します。簡単に使用できるので、日々のワークフローに速やかに導入できます。

PRESSURE+96

96ウェル、48ウェルプレート処理用の加圧マニホールドです。固定ウェルプレートと、アレイウェルプレートを処理できます。

PRESSURE+ 48

1mL、3mLおよび6mLサイズのSPEカラムに対応する、加圧式サンプル処理マニホールドです。48本まで同時処理でき、使用するポートを選択できるポートセレクターにより、ガスの使用量を最小限にすることができるため経済的です。カラムにロードしたサンプルや溶媒がニードルを介することなく回収チューブに回収されるため、コンタミネーションのリスクが最小限で、使用後の清掃等も簡単です。なお、一般的な試験管を回収チューブとして使用できます。

窒素吹き付け濃縮装置



SPE Dry 96

ウェル間のコンタミネーションを起こすことなく水性溶媒および 有機溶媒を迅速に乾燥するために、回収プレートの上下に加温ガスを 吹き付けます。24ウェルプレート、384ウェルプレートにも対応可能 です(384ウェルプレート対応仕様はオプション)。揮発性の酸あるいは 塩基を用いるアプリケーション向けに、テフロン(PTFE)コートニードル (オプション)もご用意しています。



TurboVap® LV

TurboVap®は、独自のガスボルテックスシアリング技術により、複数のサンプルのエバポレーションを同時にかつ高速に行う窒素吹付式の濃縮装置です。

TurboVap® LV は1.5mLバイアルからφ30×165mmまでの試験 管用にデザインされており、試験管の大きさに応じて最大48サンプルまたは24サンプルまで、同時に濃縮することができます。 耐酸性に優れたPTFEコーティングマニホールド仕様もあります。

製品フォーマット

96ウェル、48ウェルプレートフォーマット

生体試料など少量のサンプルをハイスループットで処理する96ウェル、48ウェルプレートフォーマットです。バイオタージでは、一般的な固定ウェルタイプとモジュール式アレイタイプの2種類を提供しています。



固定ウェルプレート (96、48ウェル)

サンプル数が多いアッセイに理想的です。 バイオタージで提供するプレートは、一般的 に使用されるすべてのリキッドハンドリング システムと互換性があります。

バキュームマニホールドや加圧マニホールド による処理も、もちろん可能です。



モジュール式アレイプレート (96ウェルのみ)

メソッド開発、充填剤スクリーニング、そしてさまざまなサンプル数のアッセイにお使いいただけます。ウェルを必要な数だけベースプレートにセットして使用できるため、コストを抑え、固定ウェルプレートの一部のみが使用済みとなる問題を解決します。1mLまたは2mLタイプからお選びいただけるモジュラーアレイプレートのフォーマットは、多くのリキッドハンドリングシステムと互換性があり、バキュームマニホールドによる処理も可能です。また、アレイウェルはPTFEアダプターを用いてカラム処理用のバキュームマニホールドでもお使いいただけます。

カラムフォーマット

従来より用いられているシリンジバレル型 フォーマットです。



カラムに充填できる充填剤の容量は、微量サンプル向けの10mgから大容量アプリケーション向けの10g程度までです。一般的なバキュームマニホールドや加圧マニホールドで処理できます。

カラムアダプターを使用して空のリザーバーを 連結したり、大容量抽出キットを用いること で、カラム自体の容量による制限を受けず、 大容量のサンプルをロードできます。

注文情報 Ordering Information

ISOLUTE® SLE+ ウェルプレート&カラム

タイプ	製品番号	製品	サンプル処理量	数量	定価(税別)
Fixed プレート	820-0200-P01	ISOLUTE® SLE+ 200μL plate(96ウェル)	200μL	1プレート	¥28,000
Fixed プレート	820-0400-P01	ISOLUTE® SLE+ 400μL plate(96ウェル)	400μL	1プレート	¥36,700
Fixed プレート	820-1000-Q01	ISOLUTE® SLE+ 1mL plate(48ウェル)	1mL	1プレート	¥21,600
アレイウェル	820-0200-T	ISOLUTE® SLE+ 200μL Array wells	200µL	100本	¥30,000
アレイウェル	820-0400-T	ISOLUTE® SLE+ 400μL Array wells	400μL	100本	¥32,900
カラム	820-0055-B	ISOLUTE® SLE+ 400μL Sample Vol	400μL	50本	¥15,100
タブレスカラム	820-0055-BG	$ISOLUTE^{\circledast} \; SLE+ \; 400 \mu L \; Sample \; Vol(Tabless)$	400μL	50本	¥15,100
カラム	820-0140-C	ISOLUTE® SLE+ 1mL Sample Vol	1mL	30本	¥12,400
タブレスカラム	820-0140-CG	ISOLUTE® SLE+ 1 mL Sample Vol (Tabless)	1mL	30本	¥12,400
カラム	820-0290-D	ISOLUTE® SLE+ 2mL Sample Vol	2mL	20本	¥13,100
カラム	820-0690-E	ISOLUTE® SLE+ 5mL Sample Vol	5mL	20本	¥25,600
カラム	820-1420-F	ISOLUTE® SLE+ 10mL Sample Vol	10mL	16本	¥36,700

ジャンボパック

タイプ	製品番号	製品	サンプル処理量	数量	定価(税別)
カラム	820-0055-B-500	ISOLUTE® SLE+ 400μL Sample Vol	400μL	500本	¥136,000
タブレスカラム	820-0055-BG-500	ISOLUTE® SLE+ 400μL Sample Vol(Tabless)	400μL	500本	¥136,000
カラム	820-0140-C-1000	ISOLUTE® SLE+ 1mL Sample Vol	1 mL	1000本	¥372,000
タブレスカラム	820-0140-CG-1000	ISOLUTE® SLE+ 1mL Sample Vol(Tabless)	1 mL	1000本	¥372,000
カラム	820-0290-D-1000	ISOLUTE® SLE+ 2mL Sample Vol	2mL	1000本	¥592,000

アレイウェル用アクセサリ

製品番号	製品	数量(個)	定価(税別)
120-1000-P01	ISOLUTE® アレイベースプレート (アレイウェルをプレートフォーマットに組み立てるベースです)	1	¥7,900
120-1200	ISOLUTE® ベースプレート8連シールストリップ (使用しないウェルポジションを塞ぐプラグです)	50	¥6,700
120-1201	ルアーアダプター (あらゆる真空マニホールドにフィットします)	25	¥8,100
120-1202	ウェル取り外しツール	1	¥6,700

ディープウェル回収プレート

製品番号	製品	数量(個)	定価(税別)
121-5202	回収プレート(1mL用、96ウェル) 角ウェル	50	¥32,600
121-5203	回収プレート(2mL用、96ウェル) 角ウェル	50	¥33,400
121-5210	回収プレート(5mL用、48ウェル) 角ウェル	20	¥45,300
121-5213	回収プレート(2mL用、96ウェル) 丸ウェル	50	¥41,400

固定ウェルプレートシーリングアクセサリ

製品番号	製品	数量(個)	定価(税別)
121-5204	貫通可能シーリングキャップ (固定ウェルプレート及び回収プレートのウェルの口を密閉します)	50	¥22,100
121-5205	ルアーキャップマット (固定ウェルプレートの排液孔を密閉します)	25	¥20,400

サンプル前処理用装置&アクセサリ

製品番号	製品	数量	定価(税別)
Pressure+ 96 and 48			
PPM-96	PRESSURE + 96 Positive Pressure Manifold	1	¥510,000
PPM-48	PRESSURE + 48 Positive Pressure Manifold	1	¥510,000
SPE Dry 96			
SD-9600-DHS-NA	SPE Dry-96 Dual Heat Source (DHS)	1	¥1,575,000
SD-9600-DHS-T-NA	SPE Dry-96, DHS, with TEFLON coated needles (Top Head Only)	1	¥1,691,000
414355SP	Biotage® ACT Plate Adapter	1	¥124,000
SPE Dry 96 Dual			
SD2-9600-DHS-NA	SPE Dry-2x96 Dual Heat Source (DHS)	1	¥1,974,000
SD2-9600-DHS-T-NA	SPE Dry-2x96 DHS, with TEFLON coated needles (Top Head Only)	1	¥2,478,000
TurboVap® LV			
415000	TurboVap LV	1	¥1,400,000
414964	TurboVap LV Multi Rack (48 positions, 10-20mm Tubes)	1	¥150,000