

# 高速フラッシュクロマトグラフィー 精製による高純度ペプチドの実現





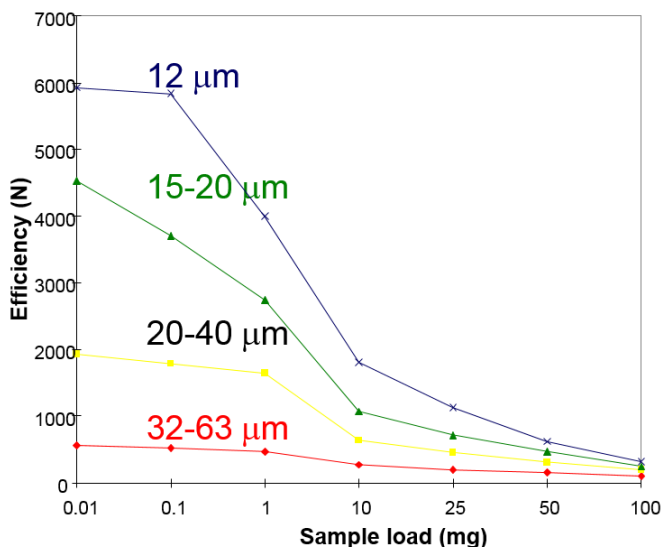


図2. 様々な粒径の吸着剤を使用した場合の試料負荷に対する分離効率（理論段数）です。理論段数は小さな吸着剤粒子では非常に高く、サンプルピーク間の分離能が高いことを示唆していますが、サンプル負荷が大きくなると理論段数は劇的に低下します。重要なことは、理論段数は吸着剤粒子径に関係なく、高いサンプル負荷でほぼ同等であることです。

従来の逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)に代わる方法として、ペプチド分野では高性能フラッシュクロマトグラフィー(HPFC)が注目されています。逆相 HPFC は、より大きな吸着剤粒子（約 5~10 μm に対して約 20 μm）を使用しているため、粗サンプルを大幅にロードすることができ、精製時間を大幅に短縮することができます。ピーク間分解能は低下しますが、HPFC は高純度のペプチドを得ることができるのがすでに実証されています。特に分離が困難なペプチドや、極めて高い純度（99%以上）が必要な場合、分離能が低下しても高純度のペプチドを得るために実施可能ないくつかのユニークなアプローチを以下に説明します。

### ペプチドの物理化学的特性を利用する

アミノ酸側鎖の多様性は、ペプチドに特定の標的に対する親和性、活性、さらには選択性を付与します。しかし、この多様性は、注意深く管理されなければ、精製作業を著しく複雑にしまいます。ペプチドを精製する際、ペプチドに含まれる酸性または塩基性アミノ酸側鎖の平衡プロトン化状態により、ピークのブロードニングや、極端な場合にはピークの完全な分裂が観察されることがあります。このため、移動相溶媒には、ペプチドサンプルを単一のプロトン化状態に導く pH 調整剤が含まれています。

ほとんどのペプチド精製は、低濃度のトリフルオロ酢酸 (TFA) またはギ酸 (FA) を添加した移動相で行われ、移動相の pH は 2~2.5 となりますが、別の移動相添加剤を使用することも可能となっています。例えば、ジスルフィド結合を介して環状化した酸化型（環状）と還元型（直鎖状）の 9 アミノ酸のペプチドであるオキシトシンを含むペプチド混合物を例に示します。酸性化した移動相を用いた「標準」条件では、この混合物を分析用 HPLC で分離できるはずですが、固定相の粒子が大きいため分離能が失われ、HPFC での精製は全くうまくいきませんでした（図 3）。

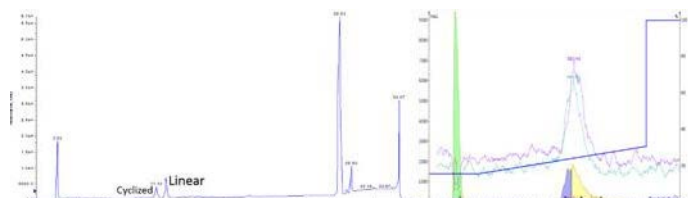


図3. 標準的な酸性化移動相溶媒を用いた、直鎖型と環状型のオキシトシンを含むサンプルの分析 HPLC クロマトグラム（左）は、2つの成分が単純に分離されていることを示唆しています。酸性化した移動相溶媒と最適化したリニアグラジエントを用いた HPFC による精製はうまくいきませんでした（右）。

よく調べてみると、Cys 側鎖のチオールがプロトン化される酸性条件下では、直鎖状と環状のオキシトシンの見かけ上の疎水性の差が小さく、分離が悪くなっていることがわかります。分離能を向上させるためには、溶液中の 2 つの化合物のどちらかに対する固定相の選択性を変化させる必要があります。移動相の含有量、特に添加剤を変えることは、固定相の選択性を変える簡単かつ効果的な戦略になります。

この場合、2 つの還元型 Cys チオールの存在は、クロマトグラフィー的に利用できる要素を提供することになります。側鎖のチオール基の pKa は約 8.34 であり、pH を上げると脱プロトン化され、直鎖状ペプチドの正電荷とクロマトグラフィー挙動を劇的に変化させます（図 4）。

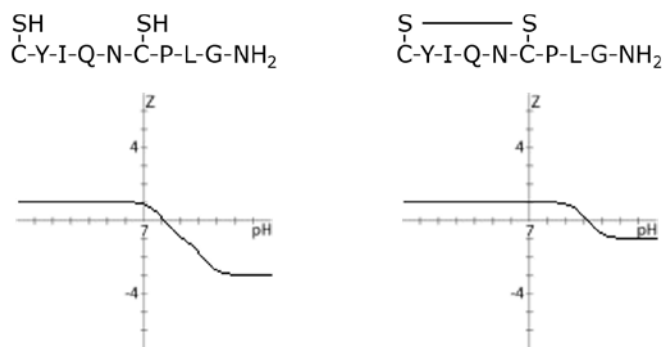


図4. 直鎖状オキシトシン（左）と環状オキシトシン（右）の pH を変化させたときの正電荷です。酸性条件下（pH 2-2.5）では、化合物は同じ正電荷を帯びており、大きな吸着剤粒子では分離が非常に困難です。しかし、塩基性条件下（pH ~10）では、直鎖ペプチド（Z = -2）は環状ペプチド（Z = -1）と比較して正電荷に見られ、固定相への選択性が変化して分離が改善されることがわかりました。

移動相溶媒を 0.1%の水酸化アンモニウムで修飾し、最終的な pH を約 10 にすると、これまで分離できなかった直鎖状と環状のペプチド成分が、10 以上のカラムボリュームで分離されるようになりました (図 5)。

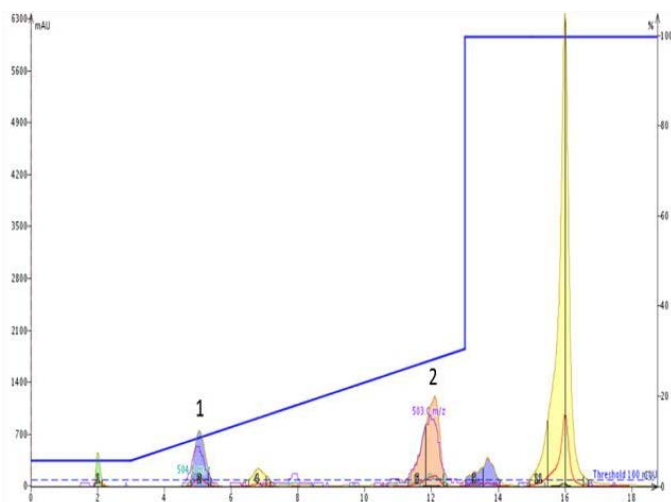


図 5. 0.1%水酸化アンモニウムで修飾した移動相を用い、溶液を pH = 10 にして、直鎖オキシトシン (ピーク 2) と環状オキシトシン (ピーク 1) を分離した際の HPFC クロマトグラムです。塩基性条件下では、正電荷対 pH プロットで予測されるように、2つのペプチドは 10 以上のカラムボリュームで分離されます。

興味深いことに、直鎖状の脱プロトン化ペプチドは、環状化ペプチドよりも C18 固定相に保持されることがわかった。これは、Cysチオラトアニオンと移動相に存在するアンモニウムカチオンの対イオンとの間のイオンペアリング相互作用によるものと思われる。

オキシトシンのケースはかなり極端ですが、同じ戦略をもった長いペプチドにも適用して同様の結果を得ることができます。例えば、37アミノ酸のペプチドである GLP-1 を酸性化した移動相溶媒を用いた HPFC で精製すると、約 8 カラムボリュームでペプチドが溶出し、フラクションを合わせた後の最終純度は 64% になります (図 6 上段、オレンジの枠)。

しかし、同じペプチドを塩基性移動相溶媒で精製すると、5 カラムボリューム以内で溶出し、ピークを合わせると最終純度 85% 以上になります (図 6 下段、オレンジ色の枠)。

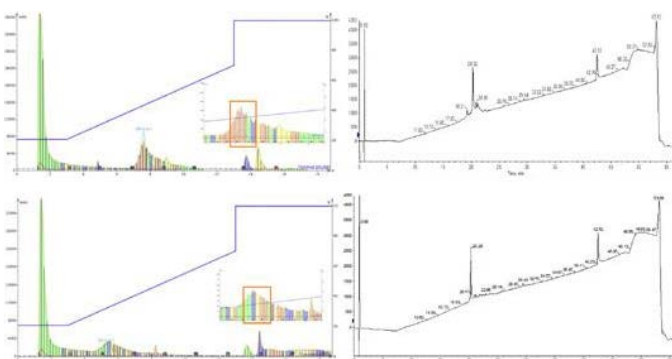


図 6. HPFC による粗純度約 26% の GLP-1 (1-37) の精製。移動相溶媒を酸性条件 (上段) または塩基性条件 (下段) に変更しました。同等のサンプル負荷で、同じリニアグラジェントを使用した場合、塩基性で修飾した移動相の方がより高い純度が達成されます。

GLP-1 のように長さのあるペプチドの場合、移動相修飾剤で固定相の選択性を変えて精製をうまく行うには、等電点 (pI) が最も重要な要素になります。GLP-1 (pI=5.35) の場合、酸性修飾剤で pH を 2 に調整すると完全にプロトン化したペプチドが得られ、塩基性修飾剤で pH を 10 にすると脱プロトン化したペプチドが得られます (図 7)。

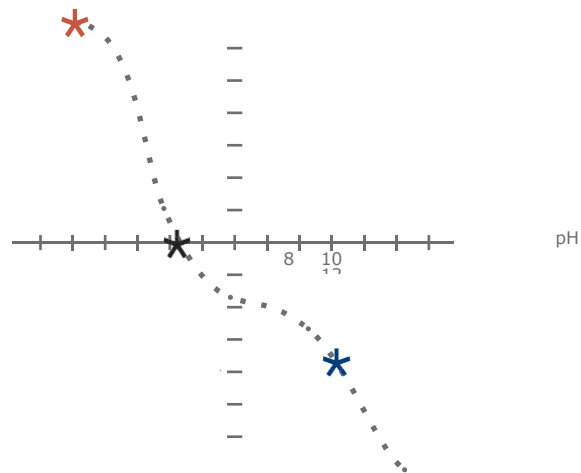


図 7. pH を変化させたときの GLP-1 (1-37) の正の電荷です。pH2 (赤いアスタリスク)、pH10 (青いアスタリスク) およびゼロ電荷 (黒いアスタリスク) での正電荷をハイライトしています。

ペプチドの pI が移動相の pH から 2pH 単位未満しか離れていない場合、上述のようにイオン化可能な各側鎖のプロトン化 / 脱プロトン化状態の平衡分布が生じ、精製が思うように簡略化できないどころか、精製がより困難になってしまいます。

**注**

この技術の有用性を検討する前に、HPFC カートリッジで応用されている化学結合について理解することが非常に重要です。ほとんどの HPLC カラムと同様に、化学結合はすべての pH 範囲に対して安定である (またはそうでない) 場合があります。安定な範囲外の pH にさらされた場合、固定相の完全性が損なわれる危険性があります。実際、シリカ結合アルキル鎖の遊離が起これ、ローディング容量の減少、ピーク間分離能の低下、精製された最終ペプチドサンプルが遊離アルキル鎖で汚染される可能性 (UV で検出不可) などがあります。Biotage® SNAP Bio と Sfär Bio カートリッジは、品質保証の一環として、アルキル鎖の安定性について高 pH および低 pH でテストされています。使用後のカートリッジを高濃度の未変性有機溶媒 (アセトニトリルまたはメタノール) で適切に保管すれば、上記のように移動相の pH の極大値を切り替えても、固定相の完全性が損なわれることはありません。

## 同時に複数の固定相を利用する

移動相の添加剤組成を変える代わりに、ショットガンプロテオミクス実験に用いられる戦略と同様に、精製のために第2の固定相を含めることも可能となっています。ショットガンプロテオミクスでは、タンパク質サンプル（時には全細胞溶解液のような複雑なもの）をタンパク質分解し、多数のペプチド断片を得て、その後、多次元クロマトグラフィーと質量分析を直接組み合わせて、個々のペプチドやタンパク質の同定を行う方法になります。MUDPitはYatesらによって開発された戦略で、固定相の選択性を変えるために強陽イオン交換と逆相の両方の固相を組み込んでいます。これにより、質量分析計に入る「サンプルミックス」の複雑さが軽減され、同定プロセスが簡素化することができます。

残念ながら、Isolera™精製システムに対応した、真に交わる2つの固定相を入手することはできませんが、機能が大きく異なる逆相の固定相 C4とC18ベースの吸着剤があります - そして幸いにも、カートリッジは出口と入口のルアーフィッティングを介して接続できます (図8)。

アルキル鎖の長さは、2つの原理で固定相の選択性に影響を与えます。1) アルキル鎖が長いほど、精製時にサンプルに与える見かけ上の疎水性は大きくなり、2) アルキルが短いほど、極性シリカ固定相の影響を大きく受けることができる。C18はペプチド精製において最も一般的な固定相の一つであるが、C4も特に疎水性ペプチドに使用されることがあります。



図8. 全く新しいカラムを構築するのではなく、2つのBiotage® SNAPカートリッジをアウトレットとインレットルアーフィッティングを介して接続することができます。SNAPカートリッジを2本、アウトレットとインレットルアーフィッティングを介して接続することができます。

両親媒性18アミノ酸ペプチドである18Aを精製すると、固定相の選択性の違いが明らかになります。Biotage® SNAP Bio C18カートリッジを使用して粗18Aのアリコートを経験したところ、十分な精製結果が得られました (図9)。

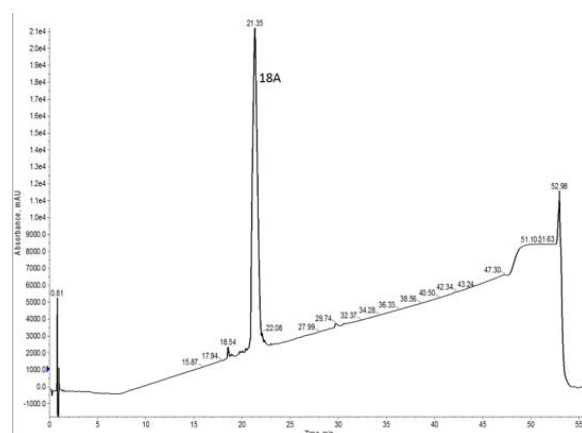
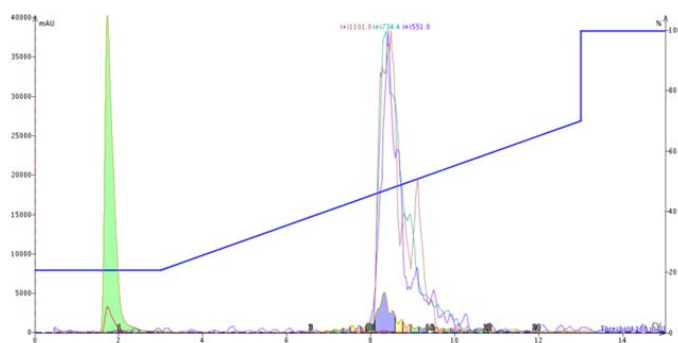


図9. C18 SNAP Bio カートリッジを用いた粗18Aの精製 (上) です。主なピーク (紫) を濃縮すると、分析用HPLCで純度95%以上のペプチドが得られました (下)。

分析用HPLCに残った不純物は、目的の18Aペプチドよりも早く溶出し、この不純物が目的の18Aペプチドよりも親水性であることを示しています。粗 18A の相当量を Biotage® SNAP Bio C4 カートリッジで C18 による精製とまったく同じグラジエントで精製した場合も、図 10 のように高い純度で精製できました。

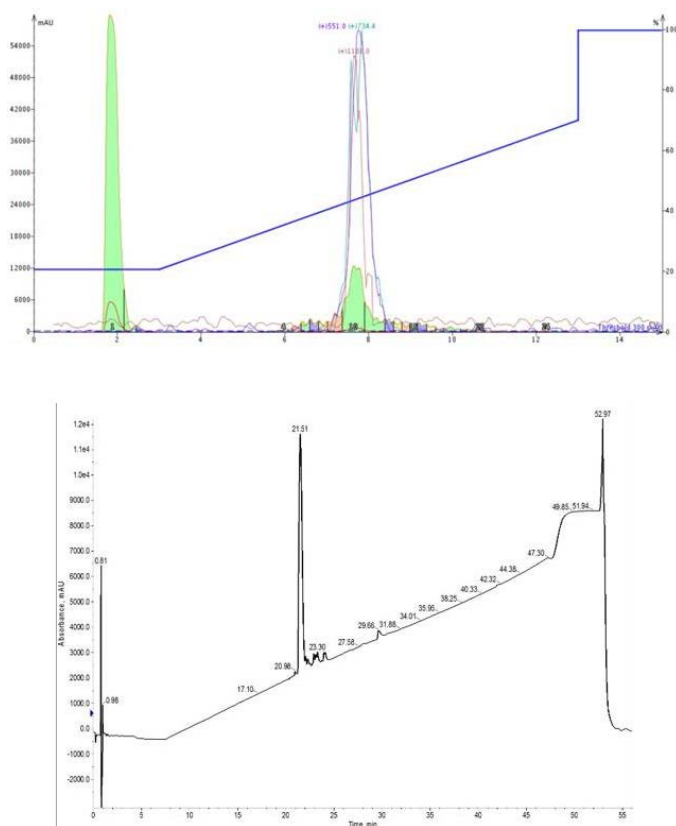


図10. C4官能基化SNAP Bioカートリッジを用いた粗18Aの精製（上）です。主なピーク（緑）を濃縮すると、分析用HPLCで90%以上の純度のペプチド >90%以上の純度のペプチドを得ました（下）。

この場合、分析用HPLCに残存する不純物は、目的の18Aペプチドよりも遅れて溶出し、ペプチド生成物と比較すると疎水性が大きいことがわかりました。

個々の精製クロマトグラムを詳しく調べると、これらの違いがさらに浮き彫りになります（図11）。

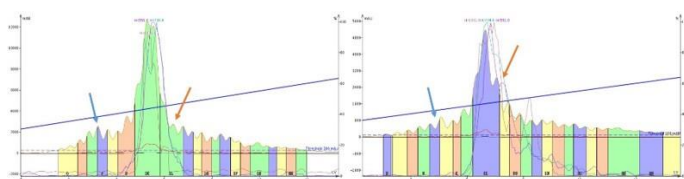


図11. C4（左）またはC18（右）固定相を使用して精製した場合の粗18Aの精製効率の比較です。C4による精製では早期に溶出する（親水性の）不純物が観察されるが、C18による精製では観察されず、固定相の選択性の違いが浮き彫りになっています。

まず、最も明らかな違いは、生成物ピークの保持の変化です。予想通り、18AはC4官能基を有する固定相の方がC18官能基を有する固定相よりも約1カラムボリューム分保持されにくくなりました。18Aの溶出が早いにもかかわらず、SNAP Bio C18で精製したときに18Aと共溶出する親水性の不純物は、SNAP Bio C4固定相で明確に分離されました（青い矢印）。しかし、疎水性が高く、溶出が遅い不純物は、SNAP Bio C18でより明確に分離されます（オレンジ色の矢印）。

どちらのカートリッジも単体では良好な性能を発揮しますが、選択性の違いにより最終的な純度を向上させることができます。問題は、どの順番でカートリッジを接続すれば、最良の精製結果が得られるかです。そこで、ルーアフィッティングのカートリッジインレットとアウトレットを使用してカートリッジをインライン接続し、同等のアリコート、上記と同じグラジエントを使用して、SNAP Bio C18カートリッジまたはSNAP Bio C4カートリッジを最初に使用した新しい「デュアルカートリッジ」で精製しました。

18Aのような両親媒性ペプチドの場合、カートリッジの順序は最終的な純度に大きな影響を与えます。このペプチドをC4-C18カートリッジ構成で精製した場合、C4官能基化吸着剤で分離された先行不純物は、C18を介した精製を彷彿とさせ、また分離度が低いことがわかりました。しかし、重要なことは、後続の疎水性不純物は、C18官能基化吸着剤単独の場合よりもわずかに大きく分離されたことです（図12）。

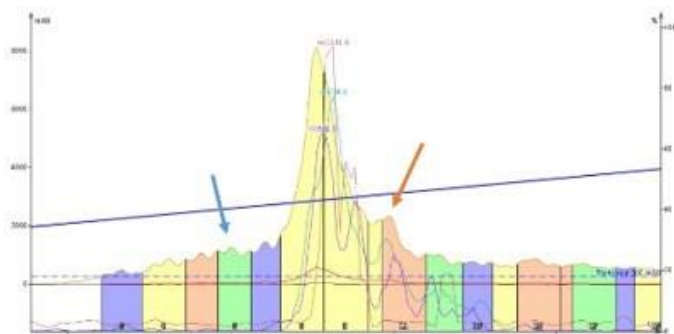


図12. C4-C18を直列に接続した2つのカートリッジを使用した18Aの混合固定相精製を示します。C4単独精製で観察された早期溶出不純物はもはや観察されず（青色の矢印）、選択性の向上はC18単独精製で観察された分離能の低下を克服するには十分でないことが示唆されます。重要なのは、疎水性不純物の分離が維持されていることです（オレンジ矢印）。

このことから、C4カートリッジの選択性は、試料が最初に遭遇するC18固定相による親水性不純物の選択性の低さを克服するには不十分であることが示唆されます。しかし、カートリッジの順番を逆にし、C18-C4構成にすると、親水性不純物の分離能はC4含有カートリッジだけの場合を思わせるような分離能に回復します。上記のパターンとは逆に、疎水性不純物もやはり分離されます（図13）。

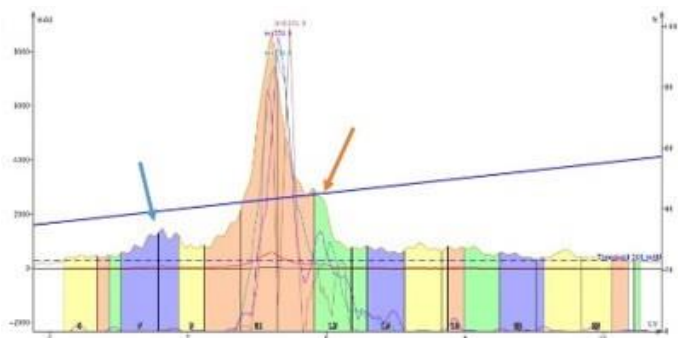


図13. C18-C4を直列に接続した2つのカートリッジを使用した18Aの混合固定相精製を示します。親水性不純物の分離が回復しています（青色の矢印）。興味深いことに、疎水性不純物の分離も維持されています（オレンジ矢印）。これは、カートリッジの順序に関係なく、C18固定相による疎水性不純物の保持が効率的な分離に十分なことを示唆しています。

選択性の違いとカートリッジの向きを適切に組み合わせることで、大きなメディア粒子径と低圧システムにもかかわらず、98%以上の最終純度を持つ18Aを得ることができました。

## リニアグラジエントに代わるステップグラジエント

精製中に分離能を変えるための最も一般的な方法は、精製方法にかかわらず、グラジエントの傾きを変えることです。多くの場合、グラジエントの変更には、リニアグラジエントの勾配を減少させ、精製中に強溶媒（この場合はアセトニトリル）の各特定濃度で実施する時間を増加させることとなります。この戦略はRP-HPLCメソッドではかなり有効ですが、RP-HPFCに適用した場合はうまくいきません（図14）。

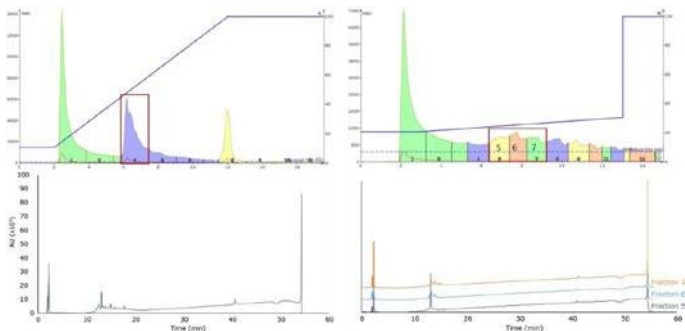


図14. 精製効率は、グラジエントのデザインによっても左右されます。精製に急すぎるリニアグラジエントを使用すると、効率が悪くなることが多いです（左のパネル）。しかし、グラジエントの傾斜を下げると、ピークの幅が広がり、目的のペプチドのピークを正しく識別できなくなり、精製からの総ペプチドの回収率が悪くなることが多いです（右のパネル）。

急勾配のグラジエントはシャープなピークが得られるが、分離能や精製効率が悪く、浅いグラジエントはピークが大きく広がり、サンプルの回収率が低下し、生成ピークの同定が困難になるという絶妙なバランスがあるようです。では、HPFCで精製する場合、何から始めればよいのでしょうか。

配列の長さ、アミノ酸の種類、粗純度の異なる数百種類のペプチドを精製した結果、私は以下のような基本的な予備グラジエントのフレームワークに落ち着きました。

1. 粗ペプチドの分析用HPLCを実行します。これには2つの目的がある。
  - a. 粗生成物中に目的のペプチドが実際に存在するかどうかを知ることができます
  - b. また、目的のペプチドが溶出するアセトニトリル濃度を知ることができます
2. 溶出濃度より15%以上低いアセトニトリルからスタートし、10カラムボリュームにわたって40~50%のアセトニトリル（総変化量）を流すグラジエントを構築します

例えば、粗ACP(65-74)は約25%アセトニトリルから溶出するので、私がRP-HPFCでこのペプチドを精製する際に用いるグラジエントは、10カラムボリュームで10%から50%になるように設定しています。このグラジエントは、標準的なHPLCグラジエントよりもやや急ですが、HPFC粒子の分離能とうまくバランスが取れているようで、一般にかなり純度の高いペプチドが得られます。

しかし、このようなグラジエントでは1回の精製で十分な純度が得られない場合があることもあります。

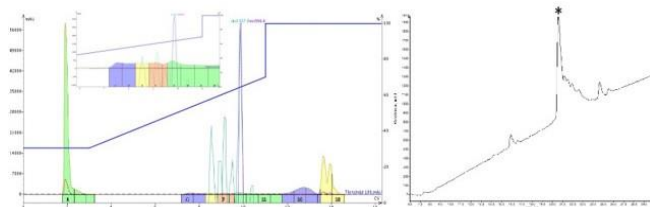


図15. 分析用HPLCの評価データから構築したリニアグラジエントを用いた33残基のカチオン性ペプチドの精製です。この最適化されていないグラジエントを使用した場合、最終的な純度はわずか60%にとどまりました。

そこで、最初のグラジエントの傾きを小さくするのではなく、リニアグラジエントから得られた選択性の情報を使って、ステップグラジエントを構築することにしました。ステップグラジエントは、順相クロマトグラフィーにおいて精製時間や総溶媒消費量を減らすための戦略としてよく使われます。

ペプチド精製のためにステップグラジエントをプログラムすることを決定したとき、すぐにいくつかの疑問が生じます。

- » 初期のアセトニトリル濃度はどの程度にすればよいか。
- » 親水性の不純物を溶出させ、ペプチドを溶出させないアセトニトリル濃度は。
- » ペプチドを溶出し、疎水性不純物を溶出しないアセトニトリル濃度は。
- » アセトニトリル濃縮の各ステップは、完全に溶出させるためにどれくらいの時間保持する必要があるか。

幸いなことに、Isolera™またはIsolera™Dalton2000は、リニアグラジエントの結果と一緒に最適化機能を使用して、これらの質問に対する答えを提供します（図16）。

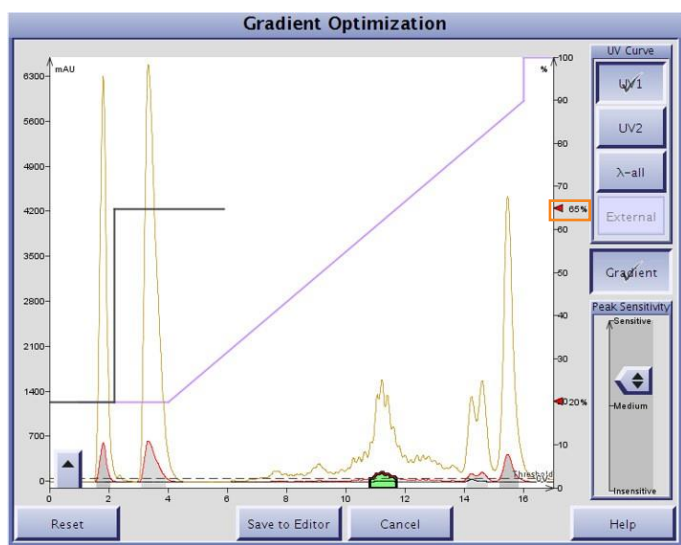


図 16. Isolera™ Dalton 2000 ソフトウェアの Optimize 機能では、ユーザーが目的のピーク（製品または不純物）を選択すると、選択したピークの精製に最適なステップグラジエントが自動的に作成されるようになっています。

Optimize ウィンドウでは、目的のピークを選択できます。それは目的の生成物であれ、隣接する不純物ピークの1つであれ、リニアグラジエントに定義された波長のいずれかを使用し、感度を増減してソフトウェアに溶出アセトリル濃度を入力できます（図16、オレンジのボックス）。ステップグラジエント情報は、次の精製のためにメソッド構築に直接インポートすることができます。

目的のペプチドのピークを選択し、ソフトウェアが提案するように1段階精製をプログラムすると、最終的な純度はリニアグラジエントよりも向上します（図17）。

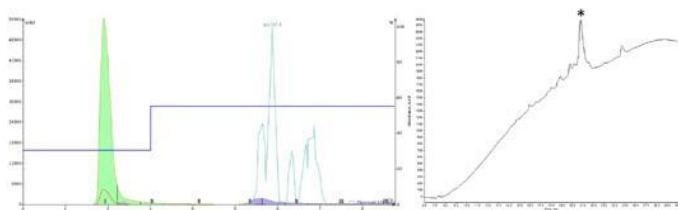


図 17. 33残基のカチオン性ペプチドを、Isolera™ Dalton 2000 Optimizeソフトウェア機能の指示に従い、シングルステップを含むステップグラジエントを用いて精製したものです。線形グラジエント精製と比較して粗純度は増加しましたが、親水性不純物が目的のペプチド生成物と共溶出するようになりました。

しかし、得られた純度では、実験を進めるには不十分でした。このようなグラジエントでは、目的物と早期に溶出する親水性の不純物との分離が破綻してしまうことは明らかです。

最初のステップグラジエントを利用することで、目的のペプチドを保持したまま、早期に溶出する親水性の不純物を溶出させることができます。最適化機能では、リファレンスグラジエントから任意の溶出部分を選択し、どの濃度の強溶媒を最初のステップグラジエントに使用する情報を提供してくれます。グラジエントデザインと強溶媒濃度の微妙な違いは、最適化プロセスを進めることで明らかになります。

ペプチドが溶出し始める目的物ピークのセグメントを選択することによって導かれるように、目的のペプチドが数パーセントだけ溶出するように強溶媒濃度を変更すると、最終純度を大幅に上げることができます（図18）。

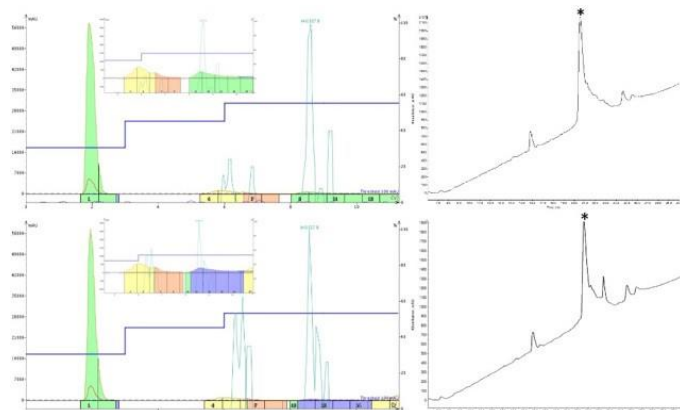


図 18. グラジエント内のステップ数を増加させることによる純度の向上。目的のペプチド溶出濃度である 55% MeCN の前に 45% MeCN の初期ステップを組み込むことで、33 残基ペプチドの最終純度が 60%（リニアグラジエント）から 70%（右上パネル）に改善されました。最後のペプチド溶出ステップの濃度を 53% MeCN に下げると、最終純度はさらに 74%に向上しました（右下パネル）。

特に疎水性の遅い溶出不純物をターゲットとした第3ステップを組み込むことで、最大の改善結果が得られました（図19）。

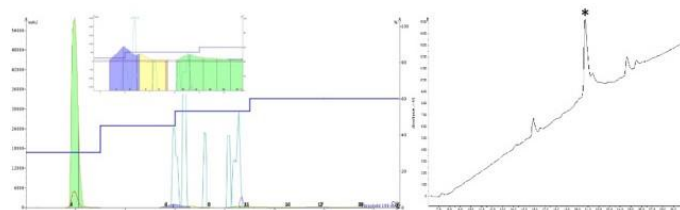


図 19. 最終的な純度は、溶出ステップを追加して3ステップとし、リニアグラジエントと同等の精製時間（約22分）で89%を達成しました。重要なことは、目的のペプチドが溶出した後に最終ステップを加えることで、明確なピークが維持され、疎水性不純物と目的のペプチドが共溶出することを防ぐことができたことです。



ステップを追加することで、目的のペプチドの溶出が少しシャープになり、全体の回収率が上がり、疎水性不純物が共溶出し始めるカートリッジからの長く遅い溶出を防ぐことができます。最終的に、グラジエントを最適化されたりニアグラジエントから最適化されたステップグラジエントに切り替えることで、最終的なサンプル純度を約60%(リニアグラジエント)から約89%(ステップグラジエント)まで大幅に増加させることができました。この最終純度は、実験に十分な純度に近づいています。このプロセスでは、最適なステップグラジエントを特定するために4回の精製が必要でしたが、各精製の所要時間は合計20分以下であり、ペプチドのワークフロー効率を向上させることができました。

Optimize機能は、もともと低分子の順相精製に使用するために設計されました。したがって、ペプチド精製の逆相グラジエントをプログラムする際には、いくつかの点に注意する必要があります。まず第一に、各ステップの長さです。カートリッジが溶媒と完全に平衡化し、目的の化合物が完全に溶出するためには、最低でも3カラムボリュームが必要であると私は考えています。Isoleraは、ペプチドがカラムに保持されないような開始条件を使用する傾向があることに注意することが重要です。リニアグラジエントと同様に、溶出に必要なアセトニトリル濃度より5~20%低い濃度で初期条件を設定することをお勧めします。

## 結論

ペプチドを様々な用途に使用する研究への関心は高まる一方で、しかし、ペプチドの精製はボトルネックとなり、研究の進捗に支障をきたしています。高性能フラッシュクロマトグラフィー(HPFC)を使用すれば、精製時間を短縮することができ、ペプチドを用いた研究をより効率的に進めることができます。より大きな粒子径は高いローディング容量を可能にしますが、分離能に妥協が生じます。ここでは、複雑な粗ペプチドの最終的な純度を高くし、最小限の労力で、ロード量の増加とそれに伴う精製時間の短縮を最大限に活用できるようにする戦略を紹介しました。

## 参考文献

- <sup>1</sup> Tsomaia, N. *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 94, 459-470.
- <sup>2</sup> Brown, K. C. *Curr. Op. Chem. Biol.* 2000, 4, 16-21.
- <sup>3</sup> Koren, E. and Torchilin, V. P. *Trends in Mol. Med.* 2012, 18, 385-393.
- <sup>4</sup> Branco, M. C. and Schneider, J. P. *Acta BioMat.* 2009, 5, 817-831.
- <sup>5</sup> Coin, I.; Beyermann, M.; Bienert, M. *Nat. Prot.* 2007, 2, 3247-3256.
- <sup>6</sup> Behrendt, R.; White, P.; Offer, J. J. *Pep. Sci.* 2016, 22, 4-27.
- <sup>7</sup> Paradis-Bas, M.; Tulla-Puche, J.; Albericio, F. *Chem. Soc. Rev.* 2016, 45, 631-654.
- <sup>8</sup> Washburn, M. P.; Wolters, D.; Yates, III, J. R. *Nat. Biotech.* 2001, 19, 242-247.
- <sup>9</sup> Wolters, D. A.; Washburn, M. P.; Yates, III, J. R. *Anal. Chem.* 2001, 73, 5683-5690.



# 効果的な化学 プロセスを実現する 総合パートナー

Biotage 社は、ライフサイエンス分野の研究作業を容易にする機器やアクセサリーを世界中に提供しています。業界に関する深い知識、学術機関との連携、社内の研究開発チームにより、お客様の課題に最適なソリューションをお届けします。当社は、お客様の個々のニーズに応えられる柔軟性と能力に誇りを持っています。分析化学、有機化学、プロセス化学、生体分子化学において強力な基盤を持つ当社は、市場で最も幅広いソリューションを提供することができます。

## EUROPE

Main Office: +46 18 565900  
Fax: +46 18 591922  
Order Tel: +46 18 565710  
Order Fax: +46 18 565705  
order@biotage.com  
Support Tel: +46 18 56 59 11  
Support Fax: +46 18 56 57 11  
eu-1-pointsupport@biotage.com

## NORTH & LATIN AMERICA

Main Office: +1 704 654 4900  
Toll Free: +1 800 446 4752  
Fax: +1 704 654 4917  
Order Tel: +1 800 446 4752  
Order Fax: +1 704 654 4917  
ordermailbox@biotage.com  
Support Tel: +1 800 446 4752  
us-1-pointsupport@biotage.com

## JAPAN

Tel: +81 3 5627 3123  
Fax: +81 3 5627 3121  
jp\_order@biotage.com  
jp-1-pointsupport@biotage.com

## CHINA

Tel: +86 21 68162810  
Fax: +86 21 68162829  
cn\_order@biotage.com  
cn-1-pointsupport@biotage.com

## KOREA

Tel: +82 31 706 8500  
Fax: +82 31 706 8510  
korea\_info@biotage.com  
kr-1-pointsupport@biotage.com

## INDIA

Tel: +91 11 45653772  
india@biotage.com

Distributors in other regions are listed on [www.biotage.com](http://www.biotage.com)

文献番号: PPS510.JP\_221206Mkt

© 2022 Biotage. 無断複写・転載を禁じます。Biotage社の書面による許可なく、資料を複製、出版することはできません。本書に記載されている情報は、予告なく変更されるもので、Biotage社による確約を示すものではありません。誤記、脱字等の責任は負いかねます。Biotage ABが所有する全商標のリストは、[www.biotage.com/legal](http://www.biotage.com/legal)から確認することができます。本書に記載されているその他の製品および会社名は、各所有者の商標または登録商標または役務商標である可能性があります。これらは、説明および所有者の利益のためにのみ使用されるもので、権利を侵害する意図はありません。

