

Captiva EMR-Lipid 96 ウェルプレートを用いた生体サンプルのタンパク処理

著者

Limian Zhao and Megan Juck
Agilent Technologies, Inc.

概要

タンパク変性沈殿処理 (PPT) は、LC/MS/MS 分析用の生体サンプルの前処理によく用いられる手法の 1 つです。生体サンプルにタンパク変性沈殿処理を適用することによって、マトリックスからタンパク質を効率的に取り除くことができます。このアプリケーションノートでは、生体サンプルの PPT で重要なステップ、考慮点、注意点について説明します。Captiva EMR-Lipid 96 ウェルプレートを用いるウェル内 PPT を中心に、適切な変性溶媒、比率、添加物、生体サンプルマトリックス、プレート上の生体サンプルの分注および変性溶媒の添加順序、内部標準 (IS) の添加、プレート内のサンプルの混合などについても取り上げます。最後に、遠心分離を用いる従来の PPT と、Captiva EMR-Lipid によるクリーンアップを後処理で行う PPT との比較について、時間、メソッド性能、機器への影響なども含めて詳細に解説します。

はじめに

タンパク質変性沈殿処理 (PPT) は、LC/MS/MS 分析用の生体サンプル前処理に広く用いられています¹。効率的なタンパク質除去を達成するには、生体サンプルと、3～5 倍量の水混和性の溶媒 (アセトニトリル (ACN)、メタノール (MeOH)、または混合物など) を混合します。有機溶媒を添加すると、タンパク質の水和層が破壊され、タンパク質分子間の斥力が弱まり、タンパク質の溶解度が大きく低下するため、タンパク質が沈殿します。その後、沈殿物を遠心分離またはろ過によって取り除き、上澄みを分析に使用します。タンパク質との結合またはその結合による成分の安定性のために、ターゲット化合物の一部損失の可能性があるので、PPT 手法は高速でシンプルかつコスト効率の良いサンプル前処理を可能にするものであり、ハイスループットでのサンプル分析に適しています。

Captiva EMR-Lipid 96 ウェルプレートでは、ウェル内 PPT を行うことができ、後続のろ過処理により効率的に沈殿物を除去できます。さらに、EMR-Lipid の充填剤はサンプルろ過中にマトリックス内の脂質と相互作用を起こす可能性があるため、よりクリーンな溶離液が生成され、同時にタンパク質と脂質が取り除かれます。このアプリケーションノートでは、Captiva EMR-Lipid 96 ウェルプレートを用いたこの重要なサンプル前処理手法の不可欠なステップについて、重点的に解説します。

変性溶媒と比率

タンパク質変性用の水混和性の有機溶媒には通常、ACN、MeOH、または混合物を用います¹。過去の研究で ACN と MeOH を用いた PPT の詳細な比較を行なっています²。PPT に ACN を用いると、大きく凝結した黄色沈殿物が生成されることがよくありますが、MeOH では通常、より微細に凝結した白色沈殿物が生成されます (図 1)。上澄みの透明度は通常、PPT の効率性を良好に示すものであり、上澄みが濁っている場合は、未沈殿のタンパク質が残存していることを示します。図 1A は、最低限の変性比率として、MeOH の場合には 3:1、ACN の場合には 2:1 を用いることで、透明な上澄みが得られることを示

しています。図 1B は、比率 3:1 で ACN を用いた場合、10 °C で 24 時間のサンプル保管後でも、透明な上澄みが得られることを示しています。これらの結果が明白に示すことは、ACN は MeOH よりも効率的なタンパク質処理を可能にし、効率的なタンパク質除去を行うには最小変性比率として 3:1 が必要であるということです。しかし、これを超える変性比率では、サンプルがさらに希釈されてしまいます。そのため、効率的なタンパク質除去を達成し、サンプルの合理的な希釈を維持するために、通常は変性比率 3:1 ～ 5:1 が推奨され

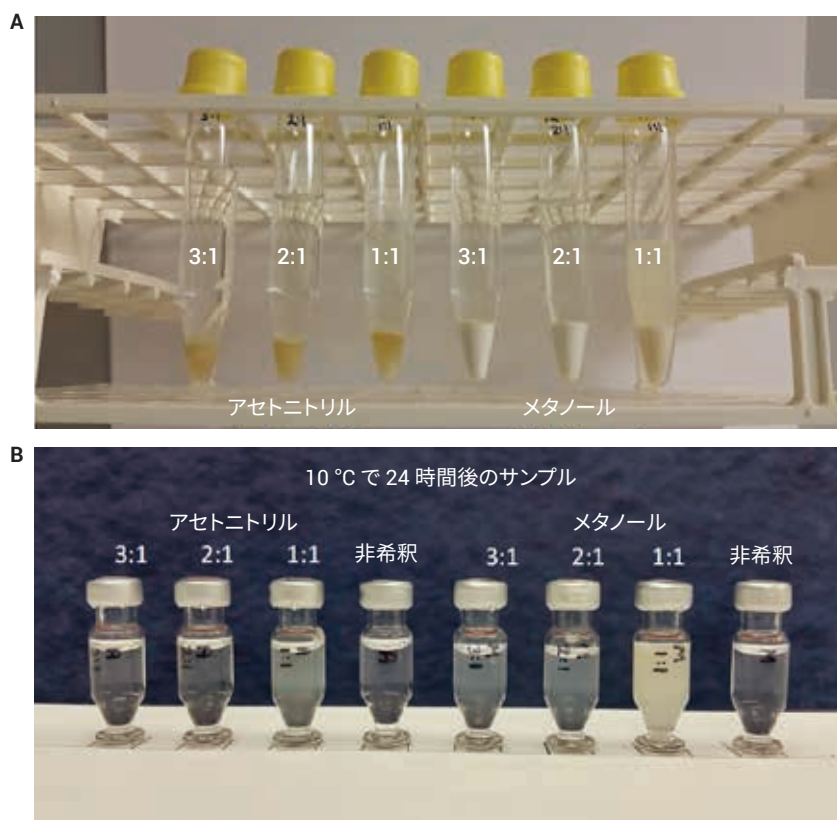


図 1. PPT での ACN と MeOH の比較。A) 混合と遠心分離の後の上澄みの外観、B) 10 °C で 24 時間後の上澄みの外観。データ提供: Russ Grant²

ます。

変性溶媒についてのもう 1 つの考慮点は、ターゲット化合物の溶媒抽出です。ACN と MeOH は異なる化合物に対して異なる抽出能力を提供することができます。ターゲット化合物の溶媒への溶出可能性を調節する必要があります。場合、低比率の MeOH (通常 5 ~ 15 %) を添加することができます。しかし、変性溶媒にそのような少量の MeOH が添加されている場合でも、タンパク質の沈殿物が視覚的に異なる場合があることを理解することは重要です (図 2A および 2B)。変性溶媒と混合される MeOH 量が多ければ多いほど、沈殿物はより微細になるため、沈殿物除去のためのろ過に必要な圧力が高まる可能性があります。MeOH は ACN ほどタンパク質処理の効率が良くないため、MeOH の量が多すぎると PPT の効率に悪影響を及ぼすおそれがあります。したがって、変性溶媒中の MeOH が 15 % を超えないようにすることが推奨されます。

変性溶媒として ACN を用いる (あるいは主に ACN を用いる) ことの第 3 の考慮点は、ろ過によるタンパク質沈殿物の除去の容易さです。ACN を用いる PPT では、より大きな微粒子のタンパク処理になるため、ろ過フリット/ろ過膜が詰まることなく、沈殿物のろ過がはるかに容易になります。MeOH を用いる PPT では、より微細な沈殿物が生じ、微細な沈殿物はろ過フリット/ろ過膜を容易に詰まらせる傾向があることから、より高いろ過

圧が必要になります。

タンパク質との結合を軽減するためには、通常はギ酸 (FA) あるいは水酸化アンモニウム (NH_4OH) などの添加物を変性溶媒に添加します。最もよく用いられる添加物は 1 % FA です。しかし、全血 PPT の場合、酸の添加には注意が必要です。酸がより多くのヘモグロビン色素を抽出するため、PPT 後の上澄みが茶色/赤色になる可能性があるた

めです。

図 2C および 2D に、中性の変性溶媒、酸性化された溶媒 (1 % FA による)、塩基性溶媒 (1 % NH_4OH による) を用いた PPT 後の上澄みの外観を示します。酸性化された PPT での上澄みの色は暗褐色/赤色です。したがって、全血 PPT の場合は酸性化された変性溶媒の使用は慎重に検討するか、避ける必要があります。

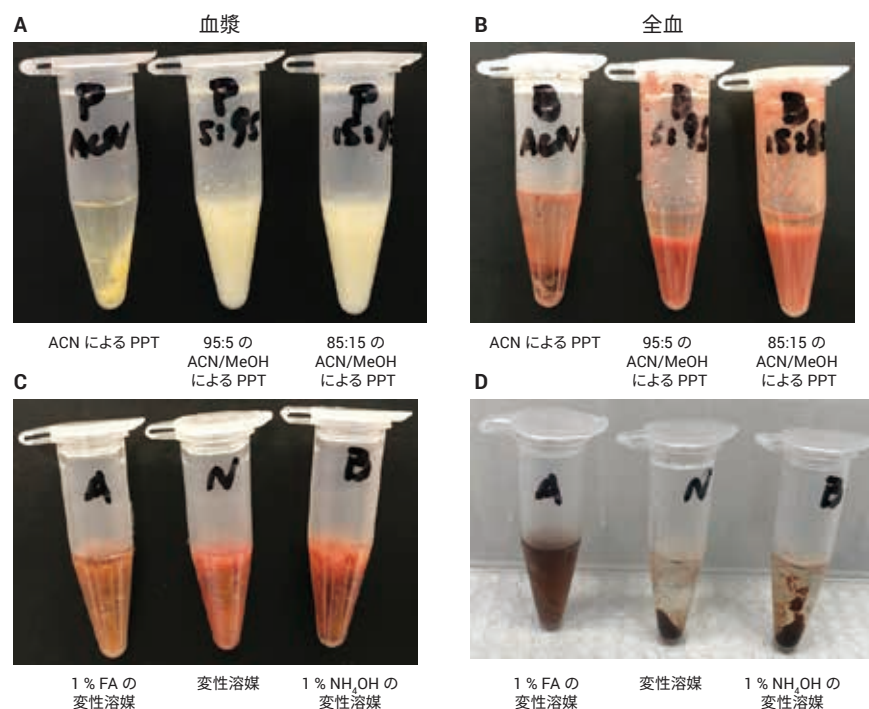


図 2. 血漿 (A) および全血 (B) PPT 用の異なる変性溶媒を用いて形成されたタンパク質沈殿物の外観、および沈殿物の遠心分離前 (C) と分離後 (D) に異なる添加物による変性溶媒を用いて形成されたタンパク質沈殿物の外観

生体サンプル

生体サンプルには全血、血漿、血清、尿その他の体液が含まれます。全血、血漿、血清は、高濃度タンパク質を含む主要な血液マトリックスです。そのため、LC/MS/MS 分析前にこれらのタンパク質を効率的に取り除くことがきわめて重要です。

- 全血には抗凝固剤が含まれており、液体部分と血球に分離されません。
- 血清は抗凝固剤のない、血球から分離された透明な液体部分であるため、フィブリノーゲンは含まれません。
- 血漿は血球から分離された液体部分で、フィブリノーゲンを含みます。

容量が同じ場合、マトリックス中のタンパク質濃度は、全血 > 血漿 > 血清の順であり、これは PPT で生成されたタンパク質沈殿物によって示されます (図 3)。

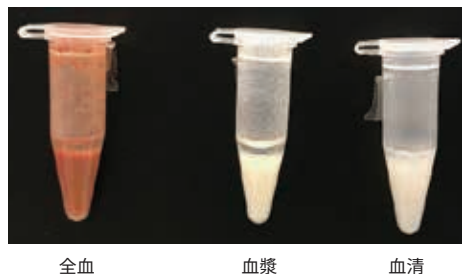
尿やその他の体液は通常、低濃度タンパク質マトリックスとみなされます。PPT はこれらのマトリックスに広く用いられていますが、血液マトリックスと比較して、効率的にタンパク質除去を行うことはそれほど大きな課題ではありません。その結果、それらの生体サンプルマトリックスに用いられる変性溶媒および変性比率にはさらに柔軟性があります。これらのサンプルマトリックスの前処理に用いる PPT を希釈注入と呼びます。

Captiva EMR-Lipid プレートでのウェル内 PPT

PPT はハイスループットバッチ処理を実行するように自動化することができるため、96 ウェルプレートフォーマットは広く採用されています。ろ過主体の沈殿物除去の場合は、ウェル内 PPT によってワークフローを簡素化できます。ただし、ろ過では沈殿物による詰まりを防止することが重要です。Agilent Captiva EMR-Lipid 充填剤によって、タンパク処理後に生体サンプルからリン脂質やその他の脂質をきわめて選択的かつ効率的に除去することができます。本製品は多層ろ過メカニズムで設計されているため、タンパク質沈殿物を詰まりなく効率的にろ過することができ、ウェル内 PPT での使用やワークフローの簡素化が可能になります。

血液マトリックス (特に全血) は粘性の高い液体です。以前は、EMR-Lipid プレート内の変性溶媒に血清や血漿サンプルを添加することが推奨されていました^{3, 4}。しかし、これを全血サンプルに適用すると、問題が発生します。粘性が高い全血は即座に底部に沈む傾向があるため、サンプルの混合均一化の効率が低下します。未沈殿の全血のわずかな部分が EMR-Lipid カートリッジを通過する可能性があるため、サンプルごとの差異が大きくなります。効率的に混合することで、十分なタンパク処理を行うことができます⁵。しかし、96 ウェルプレート内の全血サンプルの場合は、サンプルをピペットで混合しようとする、沈殿物の大量形成、沈殿物によるチップ詰まりのリスク、ウェル間のクロスコンタミネーションのために困難が伴います。

A 遠心分離前のタンパク質沈殿物



B 遠心分離後のタンパク質沈殿物

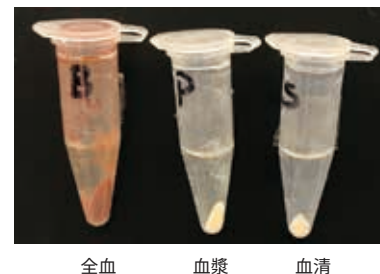


図 3. 異なる血液マトリックス (全血、血漿、血清) の遠心分離前後のタンパク質の沈殿物の形成

こうした問題を解決するために、サンプル溶媒と変性溶媒の添加順序を逆にしました。すなわち、変性溶媒を全血サンプルに添加しました。図 4 で、2 つの異なる添加順序間のサンプル混合均一化とタンパク質沈殿物形成を比較します。同量の変性溶媒と全血サンプルを、変性溶媒の全血への添加 (左)、および全血の変性溶媒への添加 (右) により混合しました。変性溶媒を全血サンプルに添加することで、サンプル混合の均一化が良好になるため、タンパク処理効率が高まります。この修正された添加順序を用いて、変性溶媒の添加後に 5 分間そのままサンプルを静置することにより、タンパク処理を達成可能です。したがって、ピペット混合は必要なく、省略することができます。

最初サンプルを用いて次に変性溶媒方法を用いることで達成される良好な混合均一性は、ウェルごとのサンプル溶出の一貫性を高め、未沈殿の血液がカートリッジを通過するのを防ぐため、溶出がより円滑でより容易になります。ワークフローの観点から言えば、サンプルを Captiva EMR-Lipid プレートに直接添加することで、変性溶媒の添加前に、Captiva EMR-Lipid プレートに内部標準 (IS) を添加し、混合することができます。サンプル前処理ステップすべてが Captiva EMR-Lipid プレート内で行えるため、サンプルを移送する必要がありません。これにより、時間とコストが節約でき、サンプルのクロスコンタミネーションのリスクが軽減されます。図 4 の底部に比較

用に示された 2 つの異なるプロトコルは、簡素化された手順の利点を明らかに示しています。この添加順序は、ウェル内 PPT に続いて Captiva EMR-Lipid クリーンアップを用いるすべての 96 ウェルプレートプロトコルに推奨されます。

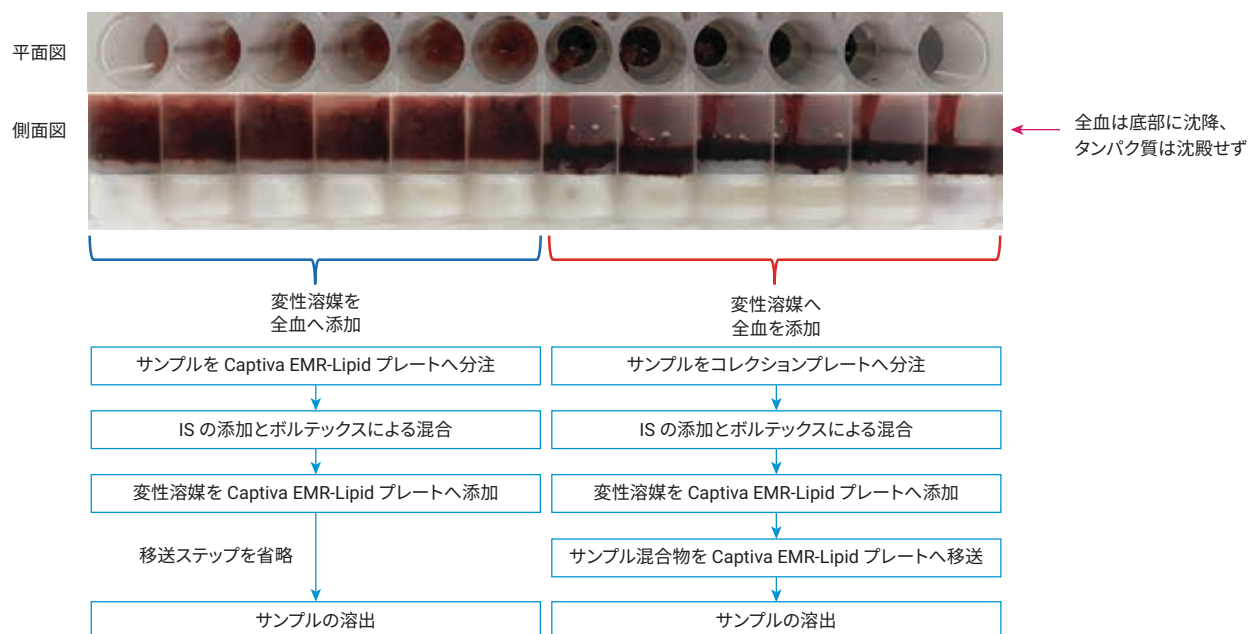


図 4. 変性溶媒の全血への添加と、全血の変性溶媒への添加の影響を示す、ヒトの全血のウェル内タンパク質沈殿

サンプル分注、IS、変性溶媒の添加

生体サンプルは粘性があるため、サンプルの分注は困難な可能性があります。ピペット操作は、目的のサンプル量を正確に移送するために用いられる手法です。ピペット操作の標準的な使用上の注意に加えて、生体サンプルを分注する場合に、チップをウェル壁に向かって傾けるのではなく(図 5B)、ウェルの底部に垂直に挿入する(図 5A)ことが重要です。これにより、サンプルのウェル壁への付着を防止できます。そうでないと、ウェル壁のサンプル残留物が効率的に沈殿しないことがあります。

IS の使用は信頼性の高い定量において重要です。IS スパイク溶液は、変性溶媒ではなくサンプルマトリックスに直接添加することが重要です。そうすることで、IS 化合物がサンプルマトリックスとの平衡に達し、マトリックス中の成分の挙動を追跡することができます。IS スパイク溶液の添加は通常、サンプルの分注後の第 2 ステップです。一般に、IS 溶液には、化合物を溶解しやすくしておくための有機成分が一部含まれているものの、IS 溶液の前処理用の有機溶媒量は最小限に抑える必要があります。IS スパイク溶液の濃度を調節して、IS スパイク溶液量の 5 ~ 10 % (総サンプル量に対する比率) のみを添加するようにします。上記の注意点はすべて、IS 添加による部分的な PPT を可能な限り抑えるためのものです。リピーターピペットは一般的に、IS スパイク溶液の複数サンプルへの添加を簡素化するた

めに用いられます。添加される IS スパイク溶液量は通常、少量 (10 ~ 20 μL) のため、IS スパイク溶液を容器壁ではなくサンプルに添加することが重要です。汚染防止のために、リピーターチップをサンプルや容器壁に触れさせないでください。ボルテックスで十分に混合するのは、マトリックスに IS を添加し、平衡を保つために必要なことです。

変性溶媒の添加は通常、大容量であり、同一溶媒/溶液を複数サンプルに添加するため、リピーターピペットがよく用いられます。添加量が多いため、チップをウェルの上面からおよそ 60° 傾けて (図 5C) 溶媒を添加することが重要です。チップを垂直にして溶媒を添加しないようにしてください (図 5D)。垂直にすると、溶媒が外にはねて、クロスコンタミネーションを引き起こす可能性があります。

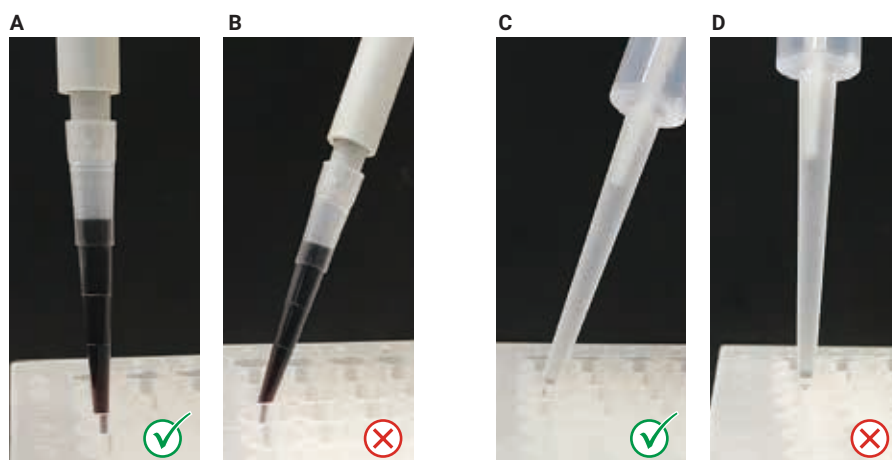


図 5. 生体サンプル分注 (A と B) および変性溶媒の添加 (C と D)

サンプルの混合

変性溶媒がウェル内の生体サンプルに添加されると、著しいタンパク変性が発生します。しかし、PPT を完了して目的の PPT 効率を得るためには、攪拌による混合 (ボルテックスする/ピペットによる混合)、あるいは静置による混合 (5 分間待つ) のいずれかを用いることが推奨されます。96 ウェルプレート主体の PPT の場合は、全容量が 500 μL 未満であれば、ボルテックスによってサンプルを混合することができます。ボルテックス前に、Captiva EMR-Lipid プレートにプレートカバーで慎重に覆ってください。高速で攪拌すると、サンプルのクロスコンタミネーションが発生する可能性があるため、ボルテックスの速度は慎重に設定する必要があります。ボルテックス中の液体混合ラインをプレートカバーに接触させないようにすること、また、混合後のプレートカバー上にサンプルの残留物が認められないようにすることが重要です (図 6A)。サンプルの飛び跳ねや、それによるクロスコンタミネーションを防止しながら、効率的に混合するには、マルチチューブ Vortexer を用いて 1,350 rpm で攪拌するのが最善です。

サンプル量が 500 μL を超える場合は、サンプルを 5 分間の静置によって混合することが推奨されます。変性溶媒をサンプルに添加することが既に効率的な混合であるため、サンプルを 5 分間静置させることで効率的な PPT を実現できます (図 6B)。攪拌による PPT が必要な場合、大口径のボアチップを用いてピペットで混合することが強く推奨されます (図 6C)。大口径のボアチップを使うことで、混合中にチップ内での沈殿物の凝固を防ぐことができます。

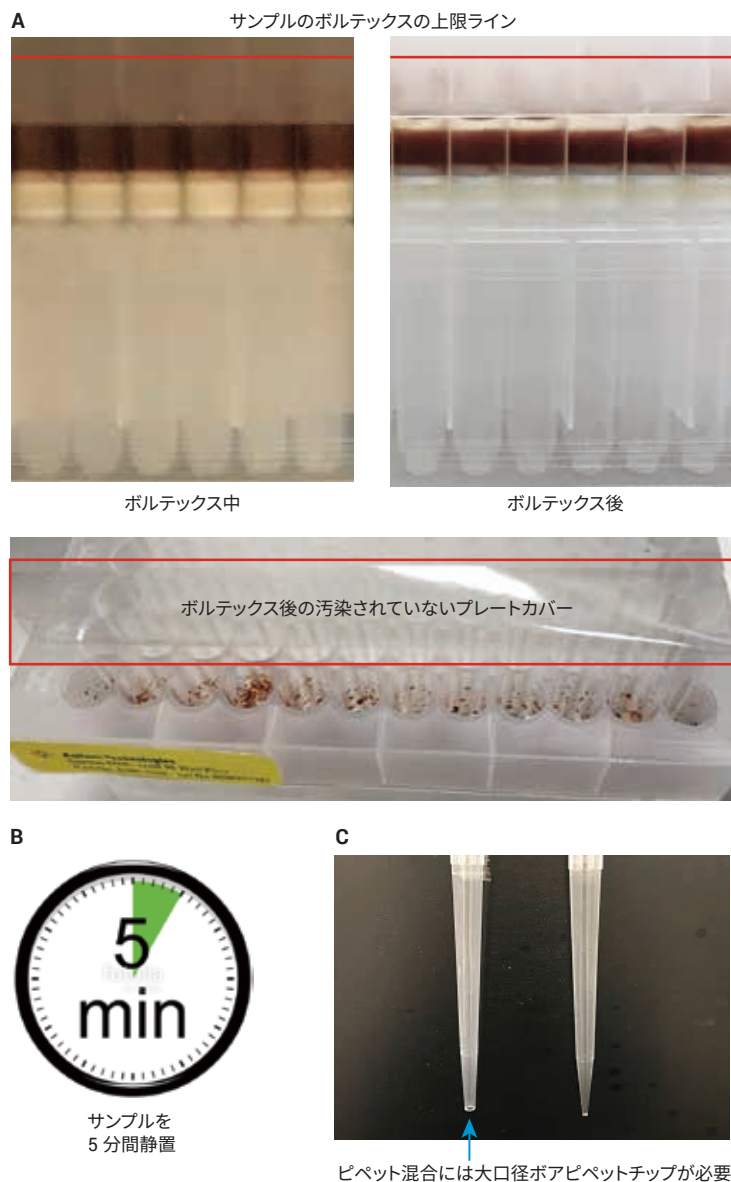


図 6. PPT の実施。サンプル容量が 500 μL 以下の場合のボルテックスを用いた混合、または総容量が 500 μL を超える場合のピペットを用いた攪拌による混合、および 5 分間のサンプルの静置による混合

サンプルの溶出

ウェル内 PPT の後、サンプルは Captiva EMR-Lipid プレートから溶出しますが、そこではタンパク質の沈殿物はろ過によって取り除かれ、脂質は EMR-Lipid 充填剤でトラップされます。Captiva EMR-Lipid プレートの特別な設計により、目詰まりなく円滑にろ過することができます。効果的な脂質除去のためのサンプルマトリックスと EMR-Lipid 充填剤との間の十分な相互作用を確保するために、溶出は 3 ～ 5 秒あたり 1 液滴の速度でゆっくり滑らかに行います。溶出は次の 3 種の方法で行うことができます。

- 遠心分離
- 陽圧溶出
- 真空溶出

遠心分離を用いる場合、5 ～ 10 分間の低速遠心分離 (600 ～ 700 rpm) で溶出が可能です。溶出後、約 1 分間という短時間の高速遠心分離 (3,000 rpm) がカートリッジのドレインに必要です。陽圧マニホールドを用いる場合、約 5 ～ 10 分間の低圧 (2 ～ 5 psi) を適用することで溶出が可能で、その後、短時間の高圧 (6 ～ 9 psi) を適用してカートリッジをドレインします。真空マニホールドを用いる場合、約 5 ～ 10 分間の低真空 (2 ～ 5 インチ Hg) を適用することで溶出が可能で、その後、短時間の高真空 (8 ～ 105 インチ Hg) を適用してカートリッジをドレインします。

完全に溶出させるために、通常は二次的溶出が行われます。二次的溶出では通常、80:20 の ACN/水を用い、容量は総サンプルロード量のおよそ 20 ～ 40 % とし、液体がウェルに目視できない場合は一次溶出後に添加します。二次的溶出の場合にも同じ溶出条件を用います。

図 7 に 96 ウェル Captiva EMR-Lipid プレート上のウェル内 PPT + Captiva EMR-Lipid クリーナップの典型的なワークフローを示します。

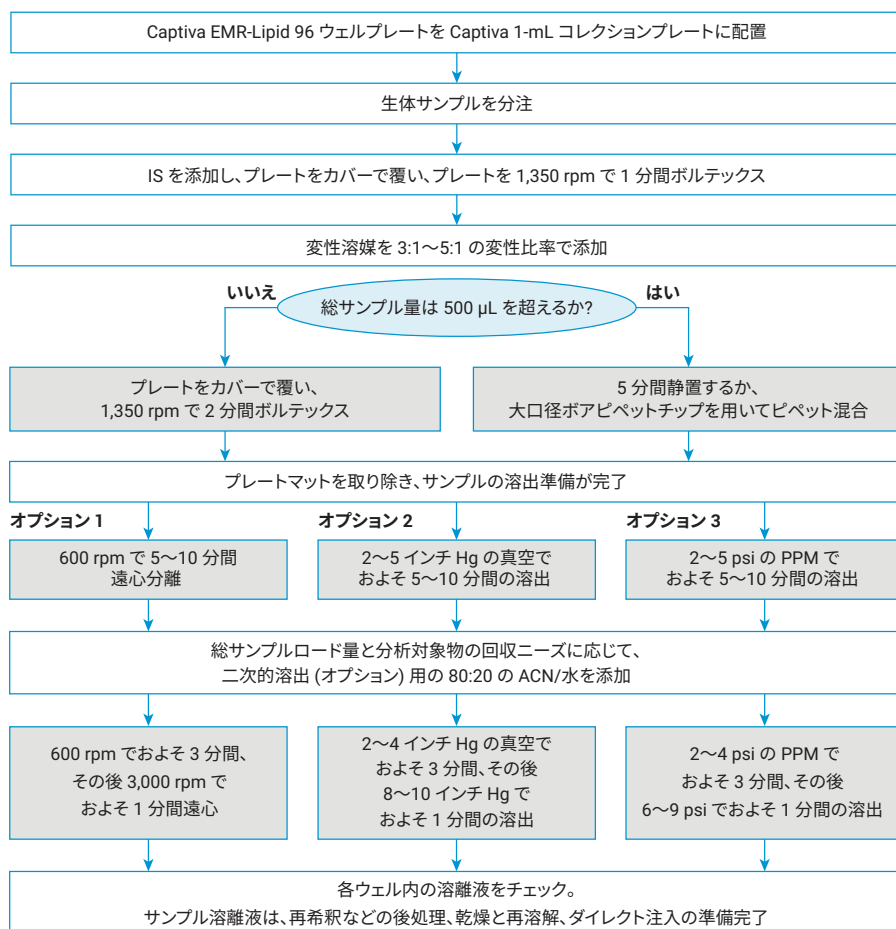


図 7. ウェル内 PPT + Captiva EMR-Lipid 96 ウェルプレートクリーンアップの典型的なワークフロー

従来の PPT 対 PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップ

従来の PPT は 96 ウェルコレクションプレートまたは個別バイアル内で実施することができます。沈殿物除去のための遠心分離後、上澄みは後続処理用の別のプレートあるいはバイアル一式に移されます。Captiva EMR-Lipid による脂質クリーンアップが行われる場合は、Captiva EMR-Lipid プレート内で PPT が実施された後、タンパク質沈殿物と脂質の除去のための適切な溶出が続けて行われます。表 1 に、従来の PPT と PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップとの比較を示します。

従来の PPT と比較して、PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップの 1 つめの利点はワークフローの簡素化と自動化です。移送の 1 ステップを省略することで、およそ 30 % の時間を節約することができます。このワークフローによって生産性を高め、さらにサンプル損失やクロスコンタミネーションのリスクを軽減できます。脂質除去は PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップのもう 1 つの重要な利点です。Captiva EMR-Lipid クリーンアップにより、生体マトリックス内のリン脂質の 99 % 超を除去することができます^{3~6}。Captiva EMR-Lipid クリーンアップによるこの補足的な脂質除去によって、マトリックスによるイオン抑制が大きく低減し、メソッドの信頼性とデータ品質が向上します。PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップがもたらす第 3 の利点は、特にハイスループットラボにおいて、大幅にクリーンなサンプルを分析できるという機器への影響です。こ

れにより、メンテナンスを削減でき、機器のダウンタイムを防ぎ、ラボの生産性やスループットをさらに高めることができます。

従来の PPT によって前処理されたサンプルを分析する場合、マトリックス (脂質) 夾雑物が注入口、LC カラム、MS ソースなどの検出流路に蓄積する可能性があります。検出システムの効率的な清浄またはフラッシングを適時に行わないと、夾雑物が蓄積してサンプルの分析が失敗し、機器のダウンタイムが生じます。検出流路上のマトリックス夾雑物の汚染と蓄積を低減するための従来のアプローチでは、実際のサンプルの後に、長い LC グラジエント、多くのニードル洗浄、または多くのブランクサンプル注入などを伴います。これらの対応が有効な場合でも、分析時間は増加し、1 日の分析スループットは制限されます。

表 1. 遠心分離主体のプレート上の従来型 PPT (96 ウェルプレート) と、ろ過主体の PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップ (96 ウェルプレート) との比較。
この比較は 96 ウェルプレート上の 96 サンプルを用いたものであり、ラボの機器はすべて準備され、試薬はすべて事前調整され、熟練技能者 1 名により実施されました。

従来の PPT (96 ウェルプレート) (遠心分離)			PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップ (96 ウェルプレート) (ろ過)			
ステップ	所要時間 (分)	必要な消耗品	ステップ	所要時間(分)	必要な消耗品	
プレートラベリングおよびサンプル分注	30	96 チップ (サイズ小) 1 コレクションプレート	プレートラベリングおよびサンプル分注	30	96 チップ (サイズ小) 1 コレクションプレート 1 EMR-Lipid プレート	
IS 添加	5	1 リピーターチップ	IS 添加	5	1 リピーターチップ	
サンプルの混合	2	プレートカバー	サンプルの混合	2	プレートカバー	
変性溶媒の添加	5	1 リピーターチップ	変性溶媒の添加	5	1 リピーターチップ	
サンプルの混合	5	プレートカバー	サンプルの混合または静置	5	プレートカバーのみ混合に必要	
遠心分離	10		溶出	10		
上澄み移送、コレクションプレートラベリング	30	96 チップ (サイズ中) 1 コレクションプレート	サンプルの後処理	条件により異なる	1 プレートマット	
サンプルの後処理	条件により異なる	1 プレートマット				
総 SPP 所要時間	87 分間の後処理		総 SPP 所要時間	57 分間の後処理 (およそ 30 % の時間節約)		
機器の分析時間および溶媒の使用	100 %		機器の分析時間および溶媒の使用	<90 % (時間および溶媒使用の 10 % 以上の節約)		
マトリックス除去	タンパク質のみ		マトリックス除去	タンパク質および脂質		

図 8A に、PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップ (上部) と PPT のみ (下部) を用いて前処理した全血マトリックスブランクのクロマトグラムの例を示します。左上隅の黒いプロファイルはターゲット化合物のクロマトグラムを示します。ターゲット化合物はすべて 6 分間で溶出されました。クリーンなサンプルであれば、LC グラジエントは 6 分で止めることができますが、クリーンでないサンプルの場合には、マトリックスジャンクを完全に溶出するために溶媒による再洗浄が必要で、分析時間が 12 分になります。図 8B に別の試験結果を示します。ここでは、同じ短時間の LC グラジエント (6 分間の実施) が両ケースで用いられた後、システムキャリーオーバーをモニタリングするために試薬のブランク注入が行われています。PPT のみで前処理されたサンプルの場合、マトリックスのリン脂質は短時間のグラ

ジエントでは完全にフラッシングされず、重大なシステム汚染が発生したため、検出システムを完全に清浄するために最大 10 の試薬ブランクが必要となっています。これらのブランクがないと、マトリックスサンプルがさらに注入されるため、マトリックス夾雑物が検出システム内に蓄積することになります。サイクル時間を短くしてシーケンスを終了させる場合がありますが、大量の有機溶液で定期的に完全にフラッシングするように機器を設定する必要があります。検出システムのマトリックスによる汚染を低減するためには、これらのソリューションのいずれについても、機器を使う時間が延び、使用する溶媒の量が増加することになります。

PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップによって前処理されたクリーンなサンプルを注入すれば、システム内でのサンプルマトリックスによる汚染と蓄積は著しく低減されます。これにより、LC グラジエントの時間が短縮し(すなわち注入口の洗浄回数が減り)、システムのクリーンアップ頻度も低下するため、時間と溶媒を節約できます。こうした利点によって、サンプル検査のスループット向上の可能性が高まります。機器の使用時間と溶媒使用は控えめに見積もっても 10 % 節約することができ、ハイスループットラボにとっての重要な意義となります。

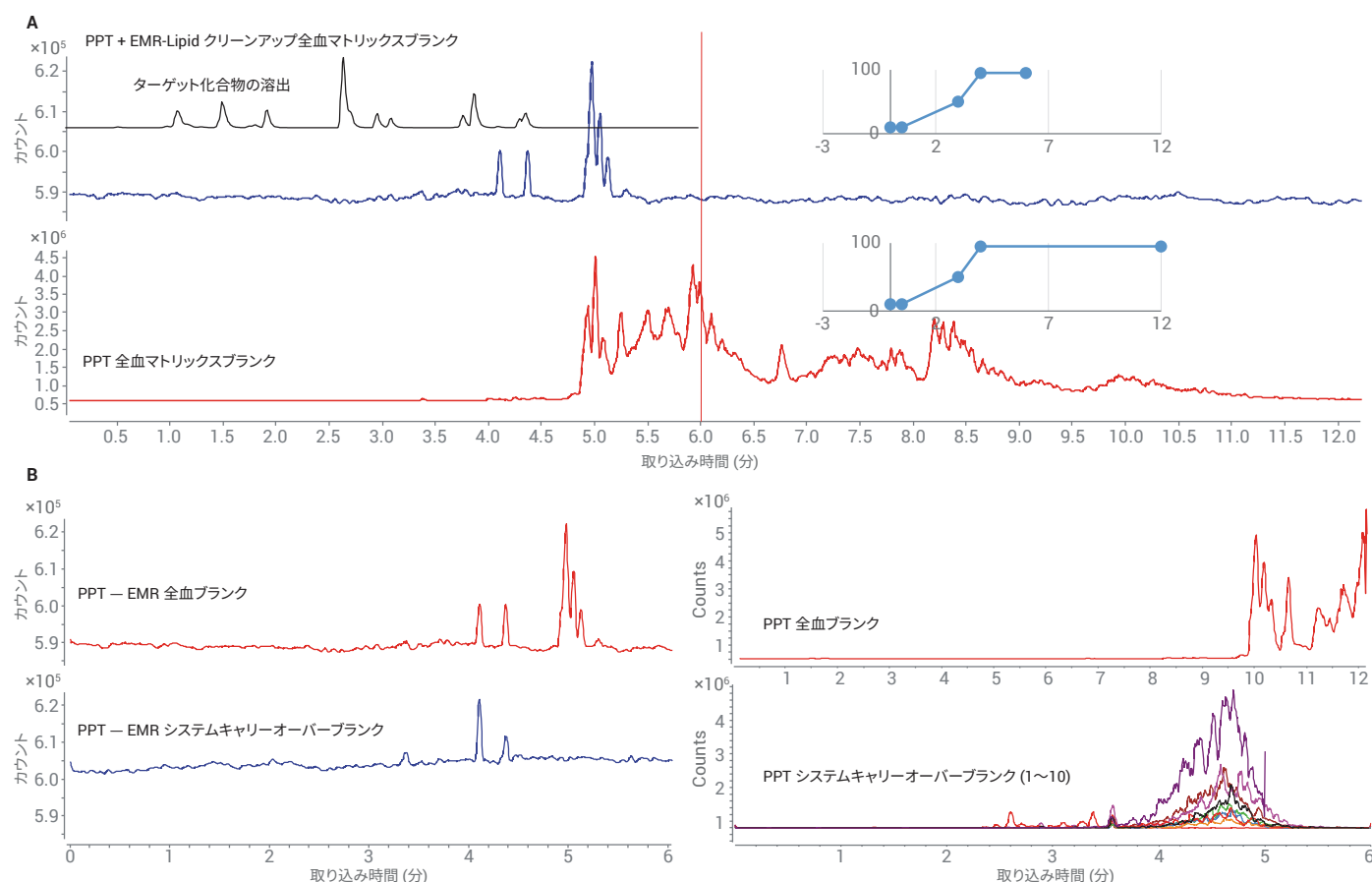


図 8. よりクリーンなサンプルでは、個別のサンプルサイクル時間 (A) を短縮し、システムの汚染 (B) を低減し、サンプル分析スループットを増加させることができます。

結論

PPT はそのシンプルさと広い適用可能性により、LC/MS/MS 分析用の生体サンプルの前処理に広く用いられています。96 ウェルプレートフォーマットを用いるバッチ処理は、サンプル前処理の生産性を向上させるため、広く用いられています。ウェル内 PPT + Captiva EMR-Lipid クリーンアップには従来の PPT に比べ多くの利点があります。例えば、ワークフローの簡素化、タンパク質と脂質の除去、優れたメソッド信頼性、高品質データ、検出機器への影響の低減などです。変性溶媒タイプ、比率、分析要求事項に基づいた添加物を適切に用いることが重要です。適正な溶媒とサンプルの添加順序 (サンプル、IS、変性溶媒) は、効率的な混合均一性を達成し、サンプルバイパスを防止するための重要な要因です。96 ウェルプレートを用いたバッチ処理は通常、従来の個別サンプルハンドリングと比較して、クロスコンタミネーションのリスクを伴うため、適切なピペット操作と混合がきわめて重要です。

参考文献

1. Polson; et al., Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect in liquid chromatography-tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. B **2003**, 785(2), 263–275.
2. Grant, R. Solutions Based Extraction Techniques, Presentation on Sample Preparation ASMS Fall Workshop, **2016**.
3. Zhao, L.; Lucas, D. Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-8006EN, **2017**.
4. Lucas, D.; Zhao, L. Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-7956EN, **2017**.
5. Stevens, J.; Zhao, L. Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-8635EN, **2017**.
6. Zhao, L.; Lucas, D. Agilent Technologies Application Note, publication number, 5991-8007EN, **2017**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2018
Printed in Japan, April 5, 2018
5991-9222JAJP