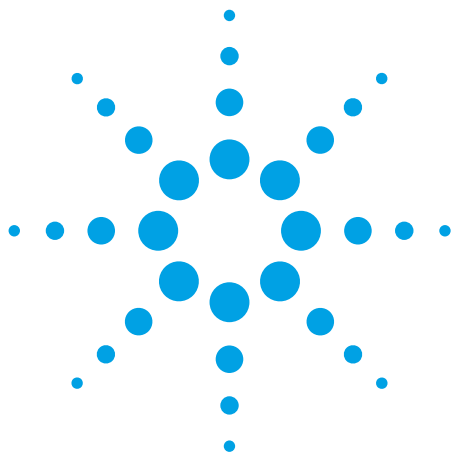




METABOLOMICS GENOMICS INFORMATICS PROTEOMICS
 O N C H N S C O H P C N S H C O P H S N C P O N H S O N P H S C O
 H S N P O C H N C O S H P N O H C P N O S C P H C N P O C N H O S

적혈구의 포괄적 대사체학 연구를 위한 대사체 추출 극대화

저자

Theodore Sana and Steve Fischer
 Agilent Technologies, Inc.,
 Santa Clara, CA, USA

개요

대사체학(Metabolomics)은 비슷한 생물학적 시료 세트에서 발견되는 대사체에 대한 비교 분석입니다. 생물학적 시스템에서 대사체는 필수적인 역할을 담당하기 때문에, 대사체학은 바이오마커를 찾아 식별하거나, 알려진 생물학적 경로 및 예상하지 못한 생물학적 경로 모두에서 의약품 또는 질병의 영향을 깊이 이해하는 데 유용하게 사용할 수 있습니다.

성공적인 대사체 연구를 위해서는 효과적인 대사체 추출이 필요합니다. 비표적 대사체학에서의 추출법은 광범위한 세포 및 생체액 내 대사체를 포획해야 함과 동시에 분석 대상이 아닌 단백질과 같은 성분을 배제해야 합니다. 대사체의 물리 화학적 다양성과 수백 배 이상으로 차이가 날 수 있는 대사체 존재비 때문에 추출은 더욱 까다로워 집니다.

대사체 추출에는 대개 2상(biphasic) 액체-액체 추출(LLE)을 사용합니다. 그렇지만 유기 용매 및 수용성 용매의 속성, 부피, 용매 비율 및 수용성 용매의 pH는 반드시 신중하게 고려해야 합니다. 이러한 파라미터들은 추출되는 대사체의 전체 수 및 실험 재현성에 큰 영향을 미칠 수 있기 때문입니다.

이 응용 자료에서는 적혈구의 대사체에 대한 액체-액체 추출법을 설명합니다. 본 자료는 2상 분리를 촉진하기 위한 수용성 용매/유기 용매 비율 조정의 중요성을 입증합니다. 또한, 추출 대사체 수에 수상의 pH가 미치는 영향을 설명하고, 가능한 한 많은 수의 대사체를 얻기 위해서는 다중 pH에서 추출이 이루어져야 함을 보여줍니다.



백그라운드

추출은 대사체와 같은 화합물을 다른 화합물(대개의 경우 원치 않는)로부터 선택적으로 분리하는 과정입니다. 가장 일반적인 추출법 중 하나인 액체-액체 추출은 용매의 용해도 차이와 용매가 서로 섞이지 않는 성질을 이용합니다. 하나의 용액에 이것과는 섞임성이 없으면서 화합물을 더 잘 용해할 수 있는 용매를 첨가하면, 화합물은 원래의 액상에서 (첨가한) 다른 액상으로 이동합니다.

극성 수용액은 chloroform과 같이 흔히 휘발성의, 무반응성이며, 물과 섞이지 않고, 물보다 밀도가 높은 비극성 유기 용매와 함께 짝을 이루어 액체-액체 추출을 위한 2상 시스템을 형성합니다(그림 1). 이를 통해 극성 및 비극성 대사체를 분리하여 이후의 크로마토그래피 분리 및 분석을 수행할 수 있습니다. 전통적으로 "Folch"¹ 법 및 그것의 변형법인 "Bligh & Dyer"² 법을 조직에서 그리고 이후의 극성이 더 높은 대사체에서 지질을 추출하는 데 사용해왔습니다.

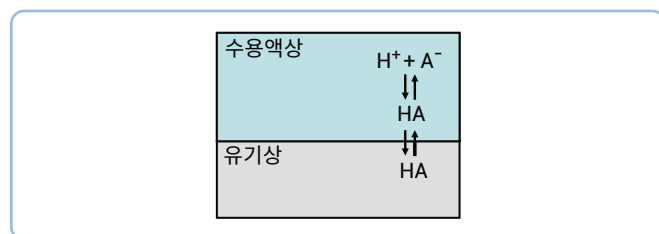


그림 1. 화합물을 2 개의 서로 섞이지 않는 액체로 구성된 용액에 첨가하면 해당 화합물은 2개 액체에 대한 상대적인 용해도에 따라 2 개의 층 사이에 분포할 것입니다.

Methanol, ethanol 및 isopropanol과 같은 알코올류는 물과 잘 섞이기 때문에 추출 과정에서 극성이 더 낮은 대사체의 용해도를 높이기 위한 수상 보조 용매로 사용할 수 있습니다.

일반적으로 대사체의 액체-액체 추출은 중성 pH에서 이루어 집니다. 하지만, 대사체의 산-염기 화학적 성질의 차이를 활용하고 수용성 추출 용매의 pH를 변경함으로써 복잡한 생체액 또는 세포에서 대사체 종류의 추출을 크게 향상시킬 수 있습니다.

예를 들어, 산 작용기(예: carboxylic acid)를 함유한 대부분의 화합물은 물에 전혀 용해되지 않거나 오직 약간의 용해성을 나타냅니다. 2% ammonium hydroxide(NH₄OH, pH = 9)와 같은 묽은 염기를 첨가하면 물에 더 높은 용해도를 갖는 carboxylate 음이온을 생성합니다(그림 2). 묽은 ammonium hydroxide/methanol 및 chloroform 구성의 알칼리 용액을 세포에 추가하면 그렇지 않았을 경우 중성 pH에서 chloroform에 용해되었을 유기산을 염기성 극성 상으로 대신 추출할 수 있습니다.

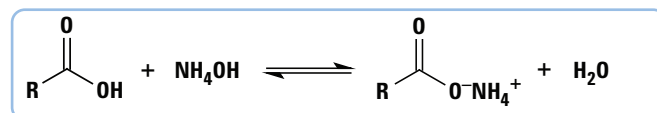


그림 2. 2% ammonium hydroxide(NH₄OH, pH = 9)와 같은 묽은 염기를 양성자 첨가된 carboxylic acid에 추가하면 수용성 용해도가 더 높은 carboxylate 음이온이 생성됩니다. R기는 COOH 작용기에 부착되는 임의의 원자 그룹입니다.

이와 마찬가지로 염기성 작용기를 포함한 화합물은 약산의 존재하에서 물에 잘 녹는 염을 생성하므로 물에 더 잘 녹게 됩니다(그림 3). 묽은 formic acid(HCOOH)와 같은 묽은 산을 수상에 추가하면 유기 염기성 작용기를 포함한 화합물의 추출을 향상시킬 수 있습니다. Formic acid는 물과 잘 섞이고, 수상의 보조용매로 사용할 수 있는 극성 유기 용매 와도 잘 섞이기 때문에 이러한 응용에 매우 적합합니다.

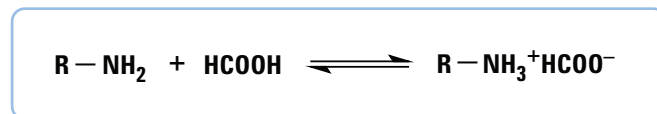


그림 3. 1% formic acid(HCOOH, pH = 2)를 양성자 첨가된 amine에 추가하면 수용성 용해도가 더 높은 carboxylate 음이온이 생성됩니다. R기는 NH₂ 작용기에 부착되는 임의의 원자 그룹입니다.

Formic acid 및 ammonium hydroxide는 휘발성 물질로서 후속 LC/MS 응용 분석과 호환되기 때문에 수상의 pH 조절을 위한 좋은 선택입니다.

실험

첫 번째 실험은 2상 분리를 촉진하고 적혈구 중 대사체의 액체-액체 추출에 대한 기타 요구사항을 충족하는 수용성 용매 및 유기 용매의 부피와 비율을 결정하도록 설계하였습니다. 두 번째 실험에서는 첫 번째 실험에서 확인된 수용성 용매/유기 용매 비율을 실제 적혈구 시료에서 테스트하여 그 값의 유효성과 실용성을 검증하였습니다. 세 번째 실험에서는 실제 적혈구로부터의 대사체 추출과 LC/MS 분석을 통해 수상의 pH 변화가 추출 대사체의 수와 종류에 어떻게 영향을 미치는지를 확인하였습니다.

상분리 최적화

최적의 상분리를 가능하게 할 유기 용매에 대한 수용성 용매의 비율을 찾기 위해 첫 번째 실험을 수행하였습니다. 동일한 부피(0.75mL)의 80:20 methanol/water를 1.7mL의 마이크로 원심분리기 튜브 6개에 넣었습니다. 이 methanol/water 비율을 사용한 것은 더 낮은 비율의 경우 추출 과정에서 용액이 동결될 위험이 있기 때문이었습니다. Chloroform의 양을 0.1mL에서 0.6mL까지 0.1mL 단위로 늘려 각 튜브에 추가하였습니다(그림 4).

Sudan I를 추가하여 chloroform 상을 육안으로 확인할 수 있도록 하고 극성 및 비극성 상 사이의 섞임 정도를 표시하였습니다(Sudan I은 비극성 용매에 우선적으로 용해되고 chloroform을 밝은 노란색/주황색으로 변화시키는 지용성 다이아조염료입니다³). 이 시점에서 이중층으로의 상분리가 나타난 튜브는 없었습니다. 추가적인 0.20mL의 물을 각 튜브에 첨가하여 상분리를 유도하고, 각 튜브를 원심분리하여 상분리가 더 명확하게 구별되도록 하였습니다.

가장 낮은 chloroform 부피(0.1mL 및 0.2mL)에서는 원심 분리 후에도 분명한 상분리가 일어나지 않았습니다. 분리가 나타난 튜브는 chloroform 상을 회수하여 측정하였습니다. Chloroform의 양이 0.4mL 이상인 경우는 모두 유사한 회수율을 보였습니다. Chloroform과 methanol 사이의 부분적인 섞임성 때문에 수상에서 일부 염료가 계속 관찰되었습니다. 이와 유사하게, chloroform 상의 부피가 이 상의 methanol 섞임성으로 인해 10%가량 증가하였습니다. 따라서, 일부 비극성 화합물이 수상에서도 나타날 것으로 예상하였습니다.

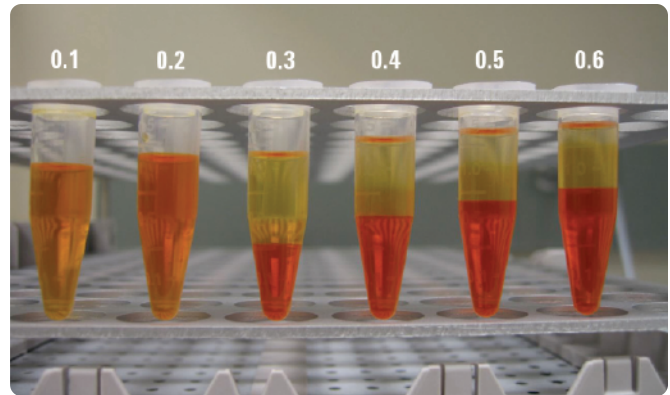


그림 4. Chloroform의 부피를 증가시키면서 80:20 methanol/water의 분취액 0.75mL를 혼합하여 추출 단계를 시뮬레이션하였습니다. 이후에 0.20mL의 물을 별도로 추가하여 상분리를 촉진하였습니다. 상분리를 육안으로 확인하는 데 도움을 주는 지용성 다이아조염료, Sudan I를 추가하였습니다. 절반 가량의 수상(상단) 내 색 밴드가 나타나는 것은 chloroform이 수상으로 재확산되기 때문입니다.

테스트 추출

다음 실험에서는 이전 실험에서 확인된 수용성 용매/유기 용매 비율을 적용하여 적혈구에서 대사체를 추출하였습니다. 실험은 그림 5의 워크플로를 따랐습니다.

Sodium citrate 항응고제로 전처리한 인간 공여 적혈구 (Stanford University Blood Center)의 분취액 0.5mL를 1.7mL 마이크로 원심분리기 튜브 6개에 넣었습니다. 4°C에서 1,000g로 2분간 원심분리한 다음, 상등액을 흡입하는 동안 얼음 위에 놓았습니다.

본 실험에서는 포함하지 않았지만, 인산염 완충 생리식염수 (PBS)에서의 세포 재부유, 원심분리 및 상등액 흡입을 포함하는 세척 사이클을 이 시점에 포함할 수 있습니다. 세척 사이클은 세포 밖에 여전히 존재할 수 있는 비 적혈구 대사체 및 기타 화합물을 제거할 수 있지만, 또한 퀸칭(quenching) 및 세포 용해를 지연시키고 극미량의 인산염 잔류물을 남길 수 있습니다.

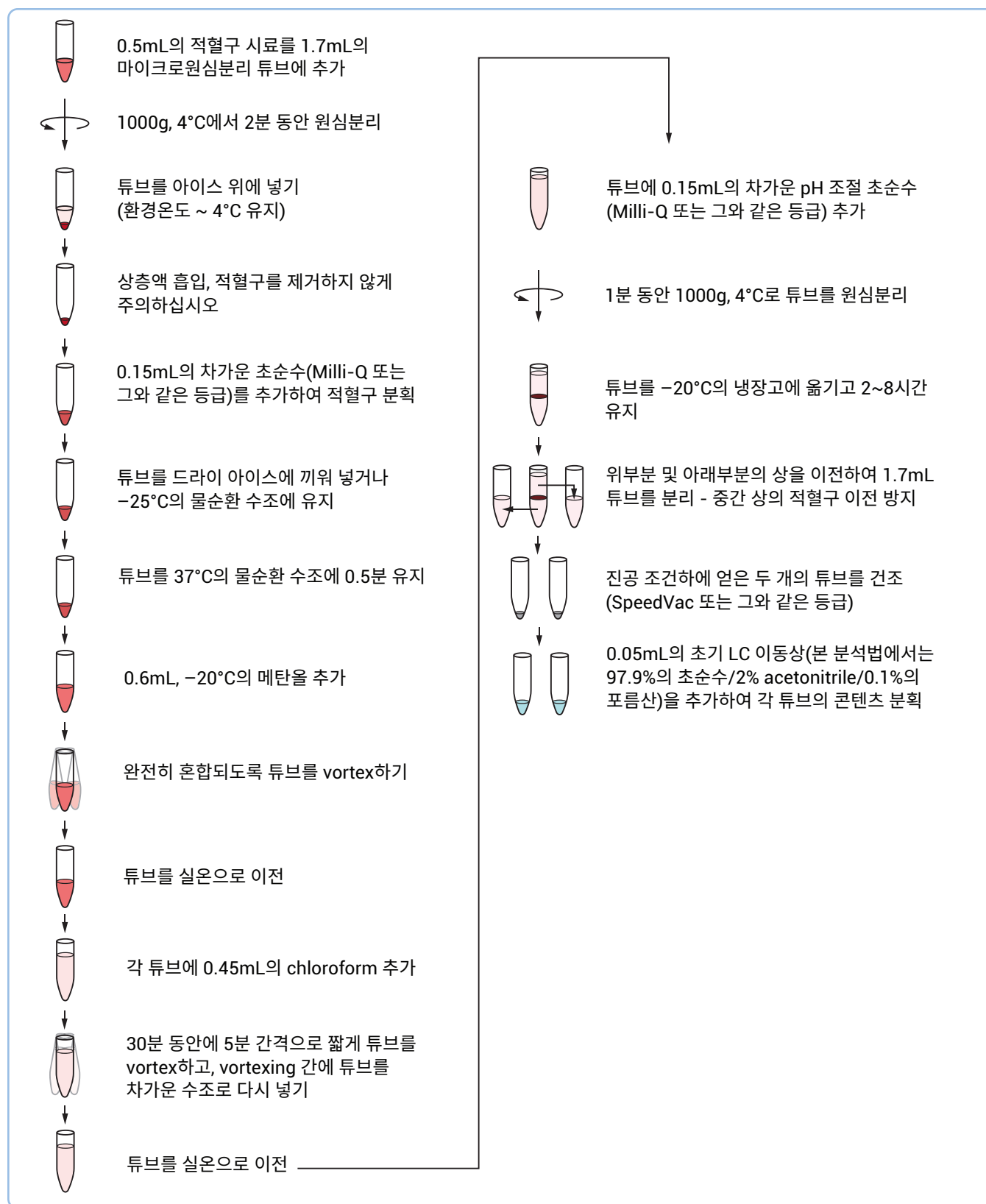


그림 5. 1.7mL의 단일 마이크로 원심분리 튜브를 사용하여 적혈구 중 대사체를 액체-액체 추출하기 위한 워크플로

0.15mL의 차가운 초순수(Milli-Q)를 각 튜브에 추가하여 적혈구를 재부유하였습니다. 해당 튜브를 -25°C의 순환 수조에 0.5분간 넣은 다음, 37°C의 수조에 0.5분간 담귀 대사를 켜고 세포를 용해하였습니다.

-20°C의 methanol 0.6mL를 각 튜브에 추가하고 튜브를 vortex해 완전히 혼합하였습니다. 해당 튜브를 -25°C의 순환 수조로 옮겼습니다. Chloroform을 0.35mL부터 0.60mL까지 0.05mL 단위로 증가시켜 각 튜브에 추가하였습니다(표 1). 30분에 걸쳐 5분에 한 번씩 튜브를 간단히 vortex했고 vortexing 사이에는 차가운 수조에 튜브를 보관하였습니다. 튜브를 실온으로 옮겨 0.15mL의 차가운 초순수를 각 튜브에 추가해 상분리를 촉진하였습니다. 튜브에서 적혈구가 차지하는 부피 때문에 첫 번째 실험에서 지정한 0.2mL 대신 0.15mL를 사용하였습니다. 튜브를 4°C에서 1,000g로 1분간 원심분리하여 컴팩트 디스크 모양의 적혈구 층 위와 아래에 놓인 2상의 분리층을 명확하게 관찰할 수 있었습니다. 튜브를 -20°C 냉동고로 옮기고 하룻밤 동안 보관하여 잔존 chloroform을 수성 methanol 상에서 침전시켰습니다.

그림 6은 대사체 추출 결과를 보여줍니다. 모든 튜브에서 실제 수상의 부피는 동일하지만, methanol의 chloroform과의 용매 섞임성 때문에 다르게 보입니다.

6개의 튜브 각각에 소량의 Sudan I 알갱이를 추가하였습니다(그림 7). 이것은 실제 LC/MS 분석을 수행할 시료에서는 진행하지 않을 것이지만, 이 실험의 목적을 위해, 염료가 최종 chloroform 상의 부피를 평가하고, chloroform/methanol 섞임성에 의해 수상에 남아있는 chloroform의 부피를 추정하는 것을 더욱 쉽게 만들어 주었습니다.

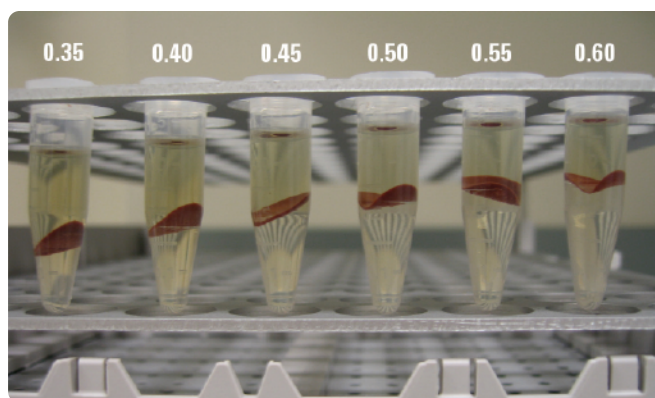


그림 6. 표 1의 용매 부피를 사용한 적혈구 추출. 각 튜브에서 전체 수상의 부피(가장 높은 층의 상)는 동일하지만, methanol과 chloroform 용매의 섞임성 때문에 혼합 후 부피가 다르게 나타납니다.

각 튜브 내의 두 액상을 별도의 1.7mL 마이크로 원심분리기 튜브에 각각 옮겼습니다. 디스크 모양의 적혈구 층을 건드리거나 적혈구가 새 튜브로 옮겨지지 않도록 주의를 기울였습니다. 회수된 chloroform의 원래 부피를 기준으로 볼 때, 가장 완벽한 상분리는 3번 튜브(표 1 참조)에서 이루어졌으며, 이는 0.45mL chloroform에 해당하였습니다. 따라서 3번 튜브의 용매 부피를 이후의 실험에 사용하였습니다. 이 부피는 추출 및 상분리에 대하여 최종 4:2:3의 methanol/water/chloroform 비율로 변환하였습니다. 이 비율에서 수상과 유기상 사이의 섞임성이 최소화되어, 이후의 분석을 위한 우수한 상분리 결과를 나타냅니다.

표 1. 각 튜브에 추가한 수용성 및 유기 성분의 양

튜브	세포 용해용 물 추가 (mL)	Methanol 추가 (mL)	Chloroform 추가 (mL)	상 분리용 물 추가 (mL)	전체 부피 (mL)
1	0.15	0.60	0.35	0.15	1.25
2	0.15	0.60	0.40	0.15	1.30
3	0.15	0.60	0.45	0.15	1.35
4	0.15	0.60	0.50	0.15	1.40
5	0.15	0.60	0.55	0.15	1.45
6	0.15	0.60	0.60	0.15	1.50

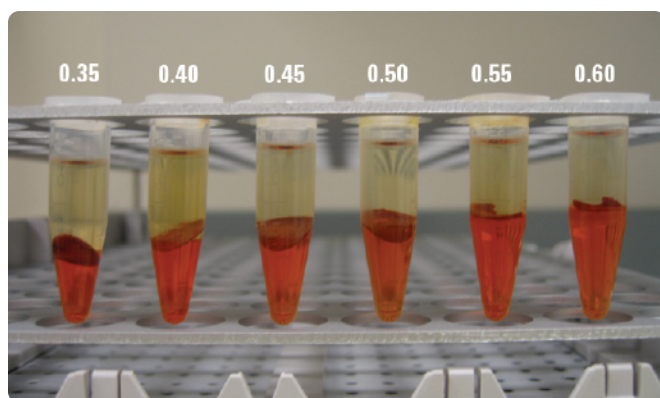


그림 7. Chloroform 상을 육안으로 확인하고 methanol/water와의 혼합 정도를 추정하는 데 도움을 주기 위해 Sudan I을 추가하였습니다.

실험 2의 테스트 시료는 LC/MS에 의한 추가 분석을 수행하지 않았지만, 실제 시료의 경우에는 이 시점에서 2 개의 튜브를 진공건조 했을 것입니다. 그런 다음, 내용물을 초기 LC 이동상으로 재부유시켰을 것입니다.

다중 수상 pH에서의 추출

수상 pH가 비표적 대사체 추출에 미치는 영향의 정도를 분석하고 다중 pH 단계에서 추출 수행 시 대사체 포함 범위(coverage)를 향상시킬 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 세 번째 실험을 수행하였습니다.

50mL의 삼각 플라스크 3 개를 초순수(Milli-Q)로 채웠습니다. 플라스크 중 1개를 formic acid원액으로 산성화하여 pH 2에서 최종 농도 1% formic acid로 제조하였습니다. 이와 마찬가지로 두 번째 플라스크에서는 30% ammonium hydroxide 원액을 초순수로 희석하여 pH 9에서 최종 농도 2% ammonium hydroxide로 만들었습니다. 세 번째 플라스크는 조절하지 않은 pH 7의 중성 상태로 두었습니다.

3 개의 적혈구 시료를 그림 5에 요약한 워크플로를 사용하여 전처리하였습니다. 최적의 분리를 위해, 이전 실험에서 측정한 용매 부피 및 비율을 사용하였습니다. 최초 재부유(4단계) 동안, 시료 1 개는 pH 2의 물 및 formic acid 0.15mL로 재부유시켰습니다. 다른 시료 1 개는 중성 pH의 초순수 0.15mL로 재부유시켰습니다. 나머지 시료 1 개는 pH 9의 물 및 ammonium hydroxide 0.15mL로 재부유시켰습니다.

추출 및 상분리 과정의 마지막에 각 시료의 수상을 진공 건조시킨 다음, 분석을 위해 초기 LC 이동상으로 재조성하였습니다.

데이터 수집 및 분석

3 개의 모든 시료는 Agilent 1100 시리즈 액체 크로마토그래프와 전자분무 이온화원의 Agilent 6210 TOF LC/MS를 결합한 구성의 LC/MS 시스템을 사용하여 분석하였습니다. TOF 시스템에서는 질량 정확도를 최대한으로 높이기 위해 m/z 121.050873 및 m/z 922.009798 이온으로 외부 기준질량 보정을 사용하였습니다.

Agilent MassHunter Workstation 소프트웨어의 molecular feature extraction(MFE) 알고리즘을 사용하여 3 개의 데이터 파일 각각에서 확인되지 않은 비표적 화합물의 분자 특징을 탐색하였습니다. MFE 알고리즘은 시간에 따라 함께 변하는 질량 신호(이온)를 찾고, 가능한 화학적 관계(동위원소, 부가물, 이합체, 다중 전하 상태)를 고려하여 각 분자 특징에 대한 추출 화합물 크로마토그램 및 화합물 질량 스펙트럼을 생성합니다. 이 접근방식을 사용하면 크로마토그래피적으로 잘 분리되지 않은 화합물을 찾아서, 확인된 전체 화합물의 개수를 증가시켜줍니다. 결과물은 모든 특징(화합물)에 따른 관련 크로마토그램 및 질량 스펙트럼을 포함한 각 시료의 특징 목록입니다.

LC 조건

컬럼:	Zorbax SB-Aq, 2.1 x 150 μ m, 3.5 μ m
유속:	0.4mL/분
컬럼 온도:	20°C
주입량:	2.0 μ L
이동상:	A: 0.1% formic acid in water B: 0.1% formic acid in acetonitrile
그레디언트:	0.0분에서 2% B 28.0분에서 100% B 30.0분에서 분석 중지

MS 조건

이온화 모드:	양이온 전자분무
건조 가스 유량:	10L/분
건조 가스 온도:	250°C
Nebulizer:	40psig
Vcap:	4,000V
최대 질량:	1,700
기준 질량 유속:	10 μ L/분
스캔 범위:	m/z 50~1000
수집 속도:	2Hz

각 시료에서 용매 추출한 화합물을 식별하기 위해 3 개의 특징 목록을 Agilent METLIN Personal Metabolite 데이터베이스에서 검색하였습니다. 스크립스 연구소(Scripps Research Institute)의 질량 분석 센터(Center for Mass Spectrometry)에서 작성한 METLIN 데이터베이스는 디- 및 트리-펩타이드 뿐만 아니라 15,000가지 이상의 내인성 및 외인성 대사체의 질량 스펙트럼 데이터, 화학식 및 구조를 포함하고 있습니다. METLIN 데이터베이스에서 매칭(10ppm 이하의 질량 일치)을 생성한 화합물은 Microsoft Excel 스프레드시트로 가져왔습니다.

그림 8은 각 pH에서 추출한 화합물의 전체 수를 막대 그래프로 보여줍니다. pH 7과 9 사이의 추출 화합물 수에서 특히 유의미한 차이가 있었는데, 발견된 화합물의 개수가 2배 증가한 것으로 나타났습니다. 그림 8에서 초기의 전체 수는 특징이 METLIN 데이터베이스에서 동일한 질량을 갖는 여러 가지 화합물과 매칭되는 경우를 포함하여 일부 중복을 반영합니다. 3 개 화합물(질량) 목록을 각각 Microsoft Excel에서 필터링하여 이러한 중복을 제거하였습니다. 그 결과 특정 화합물(질량)이 pH 목록당 오직 한 번씩만 나타나는 3 가지의 화합물 목록을 얻었습니다. 이를 통해 한 가지 이상의 pH에서 추출한 화합물을 1:1로 직접 비교할 수 있었습니다.

다음으로, 3 가지 화합물 목록을 병합하여 단일 비중복 화합물 라이브러리를 만들었습니다. 이 라이브러리를 각 pH에서의 추출 화합물을 포함한 3 가지 목록과 함께 애질런트의 GeneSpring MS 데이터 분석 소프트웨어로 가져왔습니다. 3 가지 목록과 라이브러리를 바탕으로 벤 다이어그램(그림 9)을 작성하여 1 가지 pH에서만 추출된 화합물의 수 또는 3 가지 pH 중 2 가지 이상에서 추출될 수 있었던 화합물을 나타냈습니다.

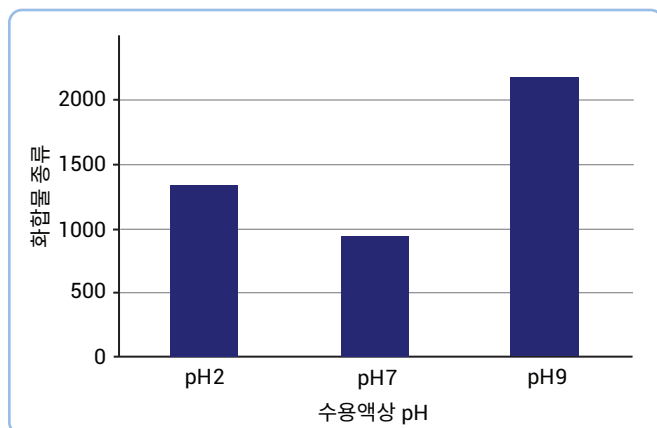


그림 8. 각 pH에서 MassHunter가 검출한 화합물의 전체(초기) 수

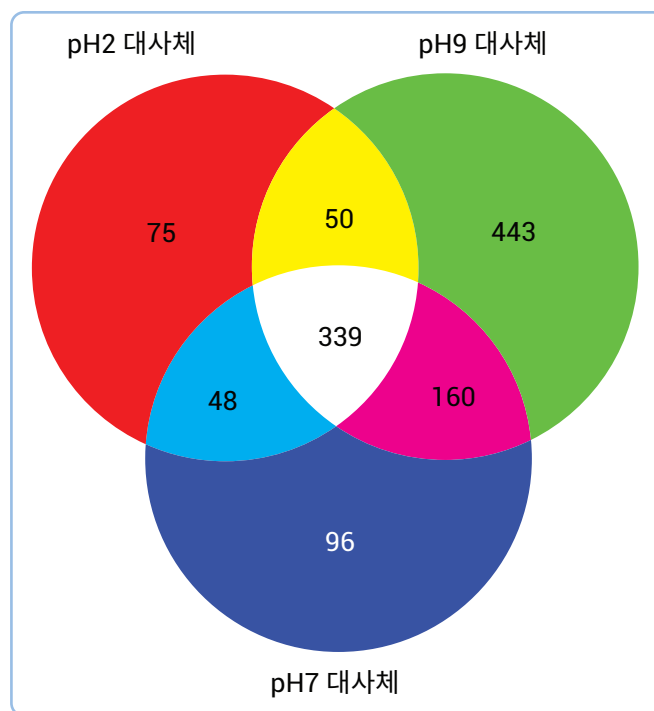


그림 9. GeneSpring MS의 벤 다이어그램(Venn diagram)은 3 가지 pH 중 하나 이상의 pH에서 추출한 고유의 화합물(대사체)의 수를 보여줍니다.

라이브러리에 있는 1,211개의 비중복 화합물 전체 세트로부터 상당수의 화합물(339)을 3 가지 모든 pH에서 추출하였으며, 이 화합물은 추출 pH의 변화에 영향을 받지 않음을 보여주었습니다. 만약 한 가지 pH(예: pH 7)에서만 추출을 수행했다면, 이 세트의 화합물이 재현성 있게 추출될 수 있었다고 생각하는 것이 합리적입니다. 하지만, 추출된 전체 화합물 중 3분의 1 이상에 해당하는 443개는 pH 9에서만 추출된 것이었습니다. 이것은 carboxylic acid 작용기를 포함한 화합물을 추출할 것으로 예상하는 pH입니다. pH 9에서 추출한 대사체 중 상당수가 arachidonic acid 대사, leukotriene 대사 및 지질 합성에 관여하는 지방산으로 확인되었습니다. 많은 화합물이 중성 pH에서 안정하고 pH 7에서 추출할 수 있지만, 일반적인 관행에 따라 중성 pH에서만 추출했다면 이러한 화합물을 발견할 수 없었을 것입니다. pH 7에서만 추출된 96가지 화합물과 pH 2에서만 추출된 75가지 화합물에 대해서도 비슷한 결론을 내릴 수 있습니다.

결론

이 연구는 마이크로 원심분리기 튜브에서의 액체-액체 추출 프로토콜이 적혈구에서 대사체를 추출하기 위한 실용적 접근이라는 점을 보여줍니다. 수용성 용매와 유기 용매의 올바른 비율은 높은 유기 용매 비율에서의 퀀칭 대사와 추가적인 물 첨가 후 2상 용매 분배 사이의 적당한 균형을 이루는데 필수적입니다. 2상 분배를 통해 극성 및 비극성 대사체를 별도로 회수할 수 있습니다. 마지막으로, 다중 pH(예: pH 2, 7 및 9)에서의 대사체 추출은 발견하는 고유한 대사체의 수를 극적으로 증가시킵니다. 이 특정 시료의 경우, 현재 현장의 일반적인 관행에 따라 단 하나의 중성 pH에서만 추출을 진행하였다면 추출된 고유 대사체 중 45% 이상이 회수되지 않았을 것입니다.

참고 문헌

1. Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. Preparation of lipid extracts from brain tissue. *J. Biol. Chem.*, 226, 497–509 (1957).
2. Bligh, E.G. and Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911–917 (1959).
3. Green, Floyd J., *The Sigma-Aldrich Handbook of Stains, Dyes, and Indicators*, ©1990, Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, Wisconsin.

애질런트 테크놀로지스 정보

애질런트 테크놀로지스는 선도적인 생명 과학 연구 시스템 공급업체로 과학자들이 복잡한 생물학적 프로세스를 이해하고, 질병 메커니즘을 분석하여, 의약품 발굴의 속도를 높일 수 있도록 도움을 드립니다. 감도, 재현성 및 워크플로 생산성 구현을 위해 설계된 애질런트의 생명 과학 솔루션은 기기, 미세 유체역학, 소프트웨어, 마이크로어레이, 소모품 및 유전체학, 단백질체학과 대사체학 응용을 위한 서비스를 포함하고 있습니다.

추가 정보:

www.agilent.com/chem/metabolomics

온라인 구매:

www.agilent.com/chem/store

국가별 애질런트 고객 센터 찾기:

www.agilent.com/chem/contactus

미국 및 캐나다

1-800-227-9770

agilent_inquiries@agilent.com

유럽

info_agilent@agilent.com

아시아 태평양

adinquiry_aplsca@agilent.com

이 아이템은 연구용으로만 사용하실 수 있습니다. 진단 용도로는 사용하지 않습니다. 이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

애질런트 테크놀로지스는 이 발간물에 포함된 오류나 이 발간물의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2007

2007년 10월 31일, 한국에서 인쇄

5989-7407KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418

한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부

고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies