

Agilent 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 48 本用および 96 ウェルプレート用に関する技術ガイド

技術概要

はじめに

固相抽出 (SPE)、保持型液液抽出 (SLE)、ろ過 (タンパク処理) のような、カートリッジと 96 ウェルプレートの加圧処理には、従来の減圧処理よりも多くのメリットがあります。従来の真空マニホールドでは、カートリッジまたは 96 ウェルプレートの底から液体を抜き取ります。流れの速いカートリッジが空になると、そのカートリッジは抵抗が最小の流路となるため真空状態になり、その結果残りのカートリッジの流れが遅くなります。このような状態になると、処理時間にばらつきが生じて結果に再現性がなくなる可能性があります。カートリッジ型真空マニホールドの場合、未使用のポートをふさぐためのキャップまたはプラグが必要になります。ストップコックバルブが実装されている場合もありますが、バルブの開閉によりサンプル処理に余計な時間が生じます。さらに真空マニホールドの場合、圧力上限が大気圧 (約 15 psi) 未満に制限されるため、粘性が高く流れにくいサンプルに対しては処理能力が不足します。

このようなサンプルを処理する際の代替品としては、Agilent 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 48 本用 (PPM-48) および 96 ウェルプレート用 (PPM-96) が優れています (図 1 および 2)。PPM-48 および PPM-96 には、チャンネルが未使用または空になった場合でも、すべてのチャンネルで一貫したガス流量を維持できるような独自の流量制限ポートが備えられています。これにより、カートリッジやウェルの内容量に関係なく、列間およびカートリッジ間の再現性が保証されます。PPM-48 は最大 48 のサンプル前処理カートリッジを同時に処理できるため、従来の 24 カートリッジ真空マニホールドよりもスループットが高くなります。また、1、3、および 6 mL サイズのカートリッジラックが使用できるため、複数のサンプル前処理製品とラボプロトコルに対応できます。独自の設計を採用しているため、ストップコックバルブ、キャップ、およびプラグも必要ありません。PPM-96 は、96 ウェルプレート、Agilent VersaPlate フォーマット、および 1 mL タブレスカートリッジに対応しています。タブレスカートリッジを使用するには、1 mL タブレスカートリッジホルダ (部品番号 5191-4119) が必要になります。さらに、PPM-48 と PPM-96 では、従来の真空マニホールドよりも印加するガス圧力が非常に高いため (50 ~ 100 psi)、粘性の高いサンプルも効率的に処理できます。



PPM-48 と PPM-96 は、あらゆるラボに簡単に導入できます。モジュラ型ラックは、カートリッジとコレクションラック (PPM-48) または 96 ウェルプレートとコレクションプレート (PPM-96) を単純に積み重ねる形式です。カートリッジとコレクションラックは、スライドプラットフォーム上に互いが 1 方向のみで適合するように物理的に固定されています。これにより、プラットフォーム移動時の安定性が保証され、ラック方向を間違える可能性が低くなります。加圧式マニホールドは、異なるサイズの 96 ウェルプレート、カートリッジ、試験管、およびオートサンプリャルにも対応するように自動調整されるため、スペーサを追加する必要はありません。この機能により、Agilent PPM 加圧式マニホールドはサンプル処理における容易で効率的な手法といえます。



図 1. 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 48 本用



図 2. 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 96 本用

プロトコル固有の指示

注意: 詳細な情報、安全上の問題、および使用上の警告について理解するために、設置前にユーザーマニュアルに目を通してください。

以降のセクションでは、PPM-48 と PPM-96 における固相抽出とろ過 (タンパク処理) ワークフローのプロトコル例について説明します。PPM の各部分については、図 3 および 4 を参照してください。

注意: 各プロトコルは、加圧式マニホールドの操作方法に関する一般的なガイドとして機能するものです。流量、サンプル/溶媒の種類と容量、抽出ステップ数、および乾燥時間は、分析対象物、マトリックス、およびラボのプロトコルに応じて異なる場合があります。加圧式マニホールドの圧力設定と調整は、使用中の列数 (PPM-48)、サンプル/溶媒の種類、カートリッジ/ウェルのサイズ、充填剤の種類と重量、使用されている独自のサンプル前処理製品などにより異なる場合があります。

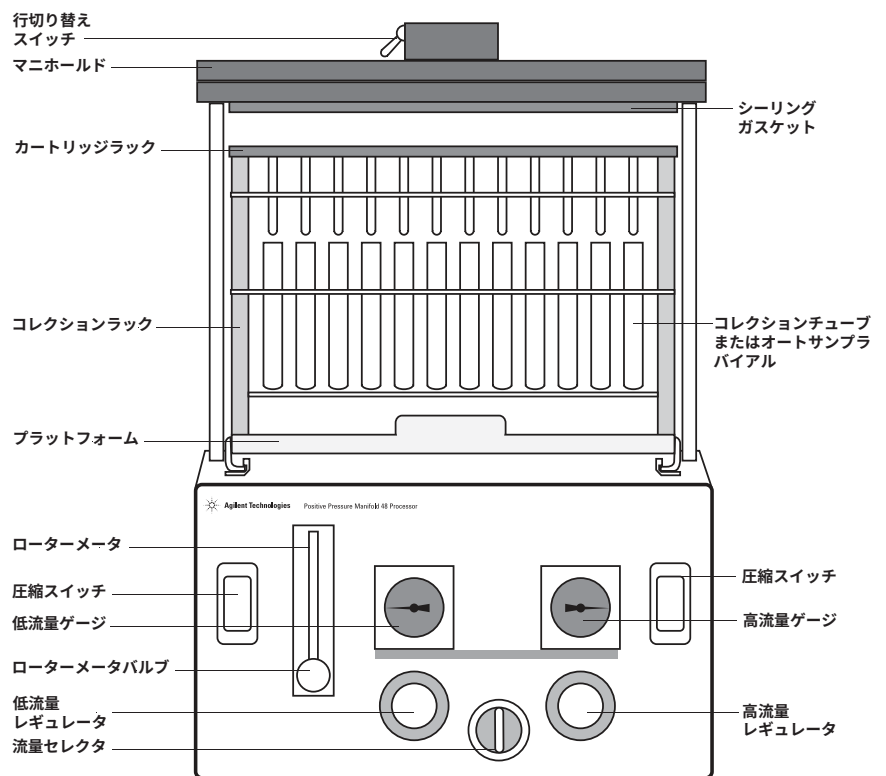


図 3. 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 48 本用と関連部品

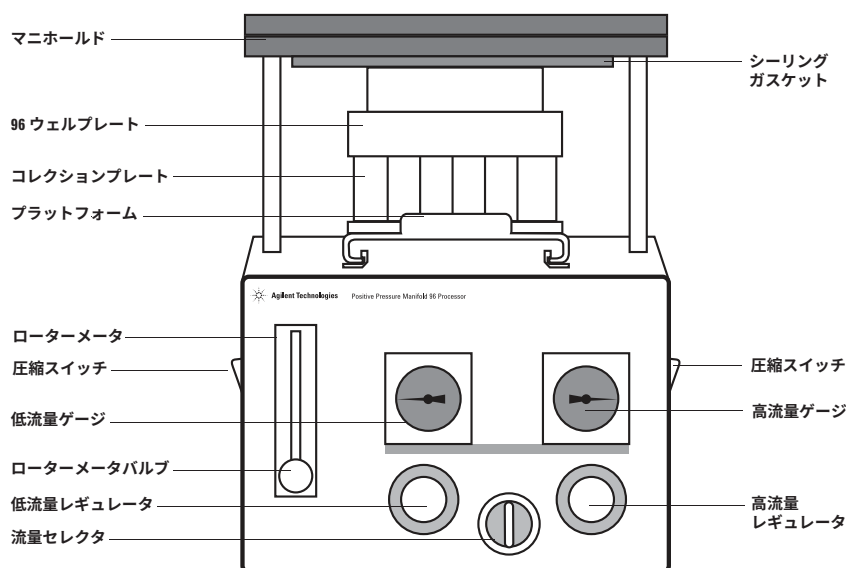


図 4. 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 96 本用と関連部品

使用した試薬/化学薬品

HPLC グレードのメタノールとアセトニトリルは Honeywell (マスキゴン、ミシガン州、米国) から購入しました。水は、EMD Millipore Milli-Q Integral System (ダルムシュタット、ドイツ) を使用して純水化しました。ギ酸は Sigma-Aldrich Corporation (セントルイス、ミズーリ州、米国) から入手しました。血漿は Biological Specialty Corporation (コルマール、ペンシルベニア州、米国) から入手しました。

使用した器具

- Agilent 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 48 本用 (部品番号 5191-4101)
- Agilent 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 96 本用 (部品番号 5191-4116)
- PPM-48 用 1 mL SPE カートリッジラック (部品番号 5191-4102)
- PPM-48 用 3 廃液ボトル付き廃液ラック (部品番号 5191-4112)
- コレクションラック、12 × 32 mm オートサンプリングバイアル、PPM-48 (部品番号 5191-4109)
- プレート用ホルダ、PPM-96 (部品番号 5191-4120)
- PPM-96 用シングルウェル廃液プレート (部品番号 5191-4121)
- Agilent Bond Elut Plexa、30 mg、1 mL カートリッジ (部品番号 12109301)
- Agilent Bond Elut Plexa 96 ラウンドウェルプレート、1 mL、30 mg (部品番号 A4969030)
- Agilent Captiva EMR-Lipid、1 mL カートリッジ (部品番号 5190-1002)
- Agilent Captiva EMR-Lipid、96 ウェルプレート (部品番号 5190-1000)
- Agilent Captiva 96 ディープウェルコレクションプレート、1 mL (部品番号 A696001000)
- Agilent Captiva 96 ウェルコレクションプレートカバー、Pierceable (部品番号 A8961007)
- Agilent 茶色スクリュウガラスバイアルラベル付き、純正品、部品番号 5182-0716
- Agilent 圧着スクリュウキャップ、PTFE/赤色シリコンセパタム、部品番号 5190-7024
- エッペンドルフピペットおよびリピーター

Bond Elut 固相抽出 (SPE) のプロトコル例

注意: 以下に示すのは一般的なガイドラインです。実際のプロトコルは、分析対象物、マトリックス、および SPE 充填剤に応じて異なる場合があります。

- **PPM-48:** Agilent Bond Elut Plexa ポリマー SPE 30 mg、1 mL カートリッジ (部品番号 12109301)
- **PPM-96:** Agilent Bond Elut Plexa ポリマー SPE 30 mg、1 mL 96 ラウンドウェルプレート (部品番号 A4969030)

PPM-48 および PPM-96

1. **サンプル前処理:** 0.5% のギ酸を含む 400 μ L の水を 100 μ L の血漿に加えて、ボルテックスと遠心分離します。
2. **PPM-48:** 1 mL SPE カートリッジを 1 mL カートリッジラックにロードします。廃液ラックと廃液ボトルをカートリッジラックの下に置きます。
PPM-96: 1 mL SPE 96 ウェルプレートを、プレート用のホルダを適合させたシングルウェル廃液トレイにロードします。
3. カートリッジ/プレートスタックをプラットフォームに置きます。
4. 低流量圧力を 3 ~ 4 psi に設定します。
 - a. **PPM-48 のみ:** 列スイッチを使用して、該当する列バルブを開きます。
 - b. 流量セレクトを「Off (オフ)」から「Low Flow (低流量)」に切り替えます。
注意: システムでガス流量により圧力を調整する方が簡単です (「Low Flow (低流量)」または「High Flow (高流量)」)。ただし、流れがない (「Off (オフ)」) 場合には、マニホールドが持ち上げられたり下げられたりすることがあります。
 - c. 低流量レギュレータノブを引き出して、所定の圧力になるまで時計回りに回します。
 - d. レギュレータノブを押し込んでロックします。
 - e. ローターメータを閉めずに、ローターメータバルブを調整して所定の流量に設定します。低流量から始めて、必要に応じて増大させてください。
注意: 加圧式マニホールドの損傷を防ぐために、ローターメータを決してシャットオフしないでください。ガス流量をオンまたはオフする場合は、流量セレクトのみを使用してください。
 - f. 流量セレクトを「Off (オフ)」に切り替えます。
5. **コンディショニング:** 0.5% ギ酸を含む 1 mL メタノール (MeOH) を各カートリッジ/ウェルに加えます。
注意: いずれかのステップで液こぼれが発生した場合は、次のステップに進む前に即座に拭き取ってください。
6. カートリッジ/プレートスタックがマニホールドの下の位置に到達して停止するまで、プラットフォームを後方にスライドさせます。
7. 流量セレクトが「Off (オフ)」に設定されていることを確認し、2 つの圧縮スイッチを同時に押し下げてマニホールドを下げます。
8. 流量セレクトを「Low Flow (低流量)」に切り替えます。
9. ローターメータバルブを調整して、所定の液体流量にします (例えば、1 ~ 2 mL/min)。

10. カートリッジ/ウェルからすべての液体が溶出したら、流量セレクトを「Off (オフ)」に切り替えます。
11. 2つの圧縮スイッチを同時に押し上げて、マニホールドを持ち上げます。
12. プラットフォームを停止するまで前方にスライドさせます。
13. 次のワークフローステップのために、ステップ5～12を繰り返します。

- **平衡化:** 1 mL 水 + 0.5 % ギ酸
- **ロード:** 前処理したサンプルを加える
- **洗浄:** 1 mL 30 % MeOH 水溶液

* 特定のプロトコルに応じて、自然落下溶出または加圧 (「**Low Flow (低流量)**」、3 ~ 4 psi) による推奨流量 (プロトコルに依存) を使用し、サンプルをロードする必要があります。

14. **乾燥:** 洗浄溶媒が溶出したら (ステップ10)、流量セレクトを「**Low Flow (低流量)**」から「**High Flow (高流量)**」に切り替えて、所定の圧力に調整します (50 ~ 80 psi)。約5分間乾燥させます。流量セレクトを「Off (オフ)」に切り替えます。マニホールドを持ち上げて、プラットフォームを前方にスライドさせます。
15. **収集:** 廃液プレート/ラックを、試験管またはオートサンプリヤルを載せた適切なコレクションプレート/ラックと交換します。各カートリッジ/ウェルに、溶出溶媒を加えます (250 μ L MeOH)。プロトコルに応じて、自然落下または加圧 (「**Low Flow (低流量)**」) を使用して溶出します。追加の 250 μ L MeOH でこの手順を繰り返して、両方の溶出液を混合します。
16. サンプル抽出物は希釈、乾燥、再溶解させるか、または特定のプロトコル要件に基づいて直接分析する必要があります。

本製品は一般的な研究開発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は行っていません。

タンパク処理のプロトコル例

注意: 以下に示すのは一般的なガイドラインです。実際のプロトコルは、分析対象物、マトリックス、および充填剤に応じて異なる場合があります。

- Agilent Captiva EMR-Lipid、1 mL カートリッジ (部品番号 5190-1002)
- Agilent Captiva EMR-Lipid、96 ウェルプレート (部品番号 5190-1000)

PPM-48 および PPM-96

1. **PPM-48:** 1 mL Captiva EMR-Lipid カートリッジを 1 mL カートリッジラックにロードします。カートリッジラックの下に、試験管またはオートサンプリヤルを載せたコレクションラックを置きます。
PPM-96: 1 mL Captiva EMR-Lipid 96 ウェルプレートを 96 ウェルコレクションプレートの上に置きます。
2. カートリッジ/プレートスタックをプラットフォームに置きます。

3. 低流量圧力を 3 ~ 4 psi に設定します。
 - a. **PPM-48:** 列スイッチを使用して、該当する列バルブを開きます。
 - b. 流量セレクトを「Off (オフ)」から「Low Flow (低流量)」に切り替えます。
注意: システムでガス流量により圧力を調整する方が簡単です (「Low Flow (低流量)」または「High Flow (高流量)」)。ただし、流れがない (「Off (オフ)」) 場合には、マニホールドが持ち上げられたり下げられたりすることがあります。
 - c. 低流量レギュレータノブを引き出して、所定の圧力になるまで時計回りに回します。
 - d. レギュレータノブを押し込んでロックします。
 - e. ローターメータを閉めずに、ローターメータバルブを調整して所定の流量に設定します。低流量から始めて、必要に応じて増大させてください。
注意: 加圧式マニホールドの損傷を防ぐために、ローターメータを決してシャットオフしないでください。ガス流量をオンまたはオフする場合は、流量セレクトのみを使用してください。
 - f. 流量セレクトを「Off (オフ)」に切り替えます。
4. 1% ギ酸を含む 400 µL ACN を各カートリッジ/ウェルに加えます。
注意: いずれかのステップで液こぼれが発生した場合は、次のステップに進む前に即座に拭き取ってください。
5. 100 µL 血漿を各カートリッジ/ウェルに加えます。
6. ピペットチップを用いて吸引し、5 回吸引、排出を繰り返します。
7. タンパク変性が完了するまで 1 分間待ちます。
8. カートリッジラック/プレートスタックがマニホールドの下の位置に到達して停止するまで、プラットフォームを後方にスライドさせます。
9. 流量セレクトが「Off (オフ)」に設定されていることを確認し、2 つの圧縮スイッチを同時に押し下げてマニホールドを下げます。
10. 流量セレクトを「Low Flow (低流量)」に切り替えます。
11. ローターメータバルブを調整して、所定の液体流量にします (Captiva EMR-Lipid の場合は、3 ~ 5 秒間に 1 滴)。
12. 溶出の間は適切な流量を維持してください。ローターメータバルブを開くと流れが速くなり、カートリッジ/ウェルの溶出が早く終了します。
13. すべてのカートリッジ/ウェルの溶出後、流量セレクトを「High Flow (高流量)」に切り替えて、所定の圧力に調整します (50 ~ 80 psi)。約 1 分間乾燥させます。
14. サンプル抽出物は希釈、乾燥、再溶解させるか、または特定のプロトコル要件に基づいて直接分析する必要があります。

本製品は一般的な研究開発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は行っておりません。

結論

Agilent 加圧式マニホールド SPEカートリッジ 48 本用および 96 ウェルプレート用は、Bond Elut SPE、Chem Elut SLE、Captiva フィルタ、および関連するサンプル前処理製品の処理が簡単かつ効率的になる新製品です。PPM-48 および PPM-96 の自動調整マニホールドは、特別なスペースを用意しなくても複数のカートリッジサイズ (1、3、および 6 mL) と 96 ウェルプレート (1 および 2 mL) に対応できます。流量制限ポートにより流量が均一になるため、処理時間のばらつきが少なくなり再現性の高い結果が得られます。加圧式マニホールドは窒素などのガスを強制的に供給することにより、従来の真空マニホールドよりも十分に高い圧力を印加できます。そのため、PPM-48 および PPM-96 は粘性が高いサンプルに対して優れた製品です。PPM-48 は一度に最大 48 のサンプルに対応できるため、従来の真空マニホールドよりもスループットが高くなり、時間とコストの両方を節約できます。オプションのオートサンプリングバイアルコレクションラック (部品番号 5191-4109) を使用すると、試験管からバイアルへの最終移動ステップが必要なくなるため、さらなるコスト削減になります。Agilent 加圧式マニホールド SPEカートリッジ 48 本用および 96 ウェルプレート用は汎用性と簡易性があり使いやすいため、既存の大部分のワークフローに簡単に組み込むことができ、サンプル前処理ラボにとって優れた製品です。

詳細情報

本文書のデータは代表的な結果を記載したものです。アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

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. 2017

Printed in Japan, June 26, 2017

5991-8151JAJP



Agilent Technologies