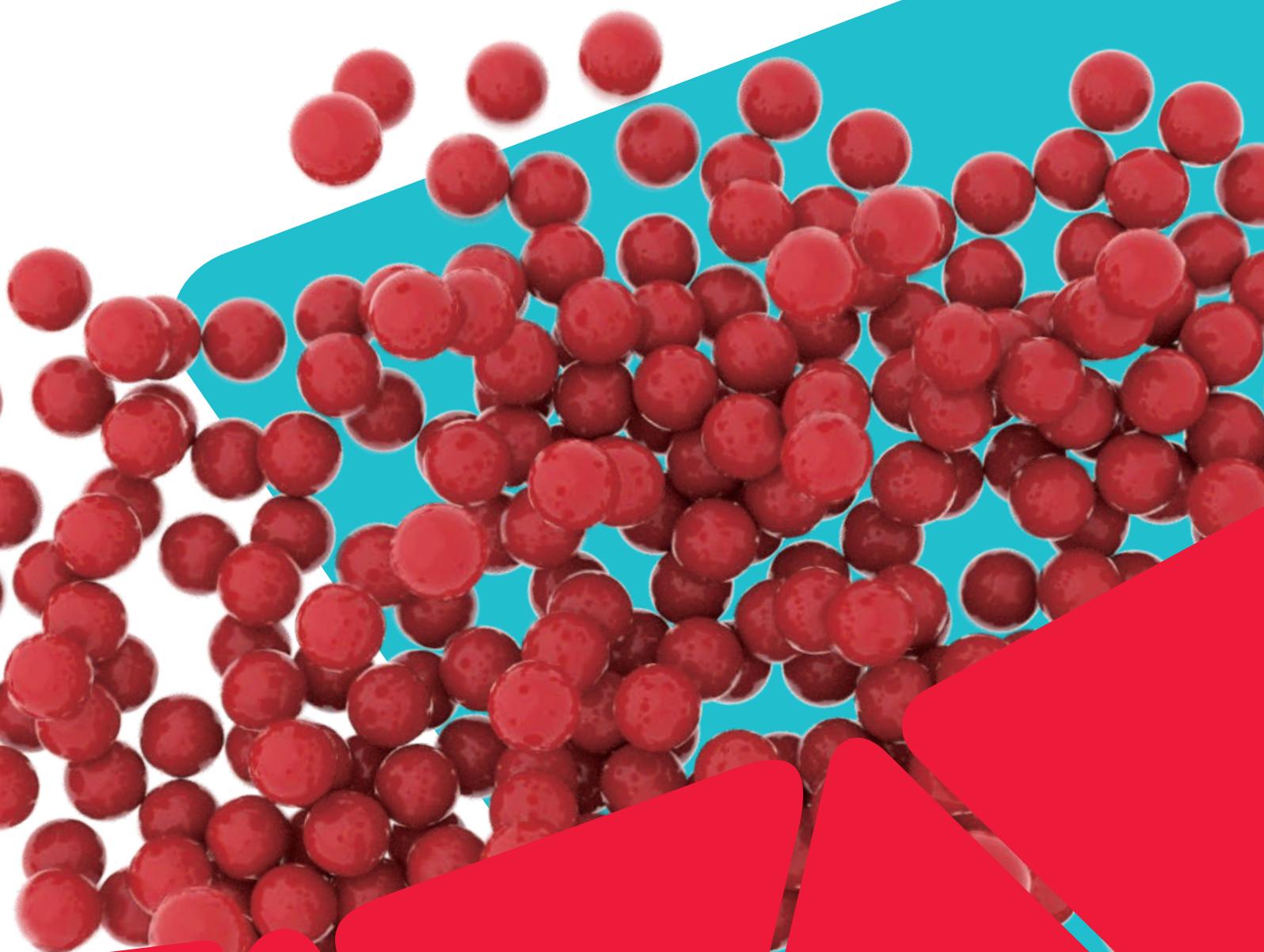


MERCK

# Estapor<sup>®</sup> 磁性マイクロスフェア

化学発光免疫アッセイ (CLIA) と  
生物成分分離のための重要な原材料



The life science  
business of Merck  
operates as  
MilliporeSigma in  
the U.S. and Canada.

**Sigma-Aldrich<sup>®</sup>**  
Lab & Production Materials

# Estapor<sup>®</sup> 磁性マイクロスフェア

私たちは、世界中のパートナーに最高品質のマイクロスフェアと技術的な専門知識を提供することに全力を注ぎ、診断製品の製造におけるニーズの最適化に向けて、構成要素とサポートを提供しています。

**品質、信頼性、選択肢を提供—**

**私たちは皆様の世界的なパートナーです。**

Estapor<sup>®</sup>磁性マイクロスフェアは過去35年間で、多くのCLIAおよび生物成分分離の診断検査メーカーから選ばれるようになってきました。国際的に知られたブランドが開発された数多くのアッセイに世界中で使用されているメルクのマイクロスフェアは、手動と自動両方の検査プラットフォームにも適合し、高度に特性評価され、カスタマイズが可能で、IVDメーカーのニーズに最適にマッチする主要な特徴を備えた設計となっています。

# 主な特徴と利点

## 信頼性のある供給：

最先端の製造施設で、1グラムから工業規模 (kg) までのマイクロスフェアを製造し、信頼できる安定した供給を推進しています。

## 再現性：

Estapor<sup>®</sup> マイクロスフェアは、強剛性、寸法安定性、サイズ均一性、優れたロット間再現性を提供できる、ポリスチレンをベースとしています。

## 高い性能：

Estapor<sup>®</sup> マイクロスフェアは消磁時に容易に分散するため、効率的な洗浄、バックグラウンドの低減、および非特異的結合の低減を可能にします。

## 確立済み かつ実証済み：

35年間にわたる IVD メーカーへの磁性マイクロスフェア供給実績から、Estapor<sup>®</sup> は、広く認知された確立済みのマイクロスフェアのポートフォリオを提供して、実証済みの成功をもたらします。

## 技術サポート：

Estapor<sup>®</sup> のお客様は、メルクの専任テクニカルチームの幅広い知識と長年渡るマイクロスフェア製造経験を利用できます。

## 柔軟性：

Estapor<sup>®</sup> マイクロスフェアは、手動形式の微小管や 96 ウェルマイクロタイタープレートに加えて、市販されているほとんどの自動化プラットフォームに適合します。

## 強化された磁化：

メルクのマイクロスフェアは迅速な磁気分離および移動性を示します。マイクロスフェア磁化の経時的に変化や低下はございません。ヒステリシスも残留磁化も見られません。

## 代表的な Estapor® 磁性マイクロスフェア／ナノスフェア

メルクの代表的な磁性マイクロスフェア製品の一部として、疎水性と親水性の両方のマイクロスフェアを提供しています。また、表面修飾または官能化マイクロスフェアも幅広いサイズやフェライト量で提供しています。



図1：Estapor® 磁性マイクロスフェアの磁気分離は、手動形式の微小管（左および中央）、96ウェルマイクロタイタープレート（右）に加え、市販されている多くの自動化プラットフォームにも適合します。

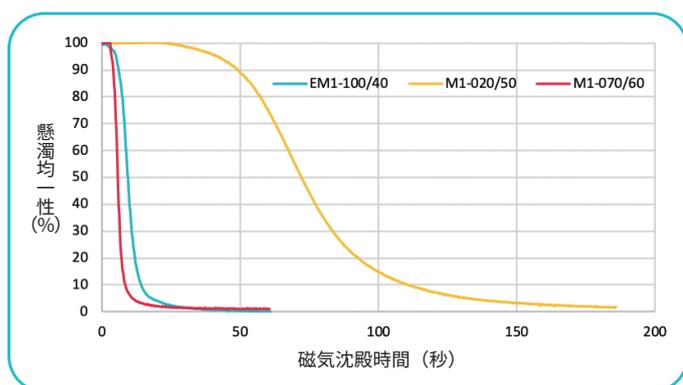


図2：磁化時のマイクロスフェア移動速度。

上の図2に示すように、フェライト量とマイクロスフェアサイズの両方が、磁化時のマイクロスフェア移動に影響を及ぼします。M1-070/60およびEM1-100/40マイクロスフェアはサイズとフェライト量が同様のため、類似した磁化時移動応答時間を示します。磁気沈殿時間は、フェライト量が多いためM1-070/60マイクロスフェアの方が若干短くなっています。よりサイズの小さいナノスフェア (M1-020/50) のフェライト量は50%を超えていますが、これらのマイクロスフェアはサイズが小さいためサイズの大きいマイクロスフェアよりも移動速度が遅く、ブラウン運動が増加して液体環境中での粘性の影響を受けやすいこともあります。

消磁時のマイクロスフェアは容易に再分散し、より効率的な洗浄、高い収率、バックグラウンドの低減、および再現性の向上などは可能です。Estapor® マイクロスフェアの挙動は、適用した磁化サイクル数に関わらず常に一定です。

### Estapor® カルボキシル化親水性磁性マイクロスフェア

メルクの M1-070/40 および M1-070/60 マイクロスフェアは、多くの CLIA IVD メーカーのゴールドスタンダードです。下記のような利点があります：

- 高い磁化率
- 低い沈殿率
- 高い表面積
- 優れたロット間再現性

製品名	直径 (μm)	フェライト量 (%)	表面 COOH (μeq/g)
M1-070/40	0.70-1.30	35-45	50-120
M1-070/60	0.70-1.30	55-65	50-250

### Estapor® カルボキシル化親水性磁性ナノスフェア

サイズの小さいカルボキシル化超常磁性ナノスフェア製品は、高い磁化率と高い表面積をもたらします。

製品名	直径 (μm)	フェライト量 (%)	表面 COOH (μeq/g)
M1-020/50	0.160-0.240	>50%	130-280
M1-030/40	0.251-0.400	40-60	100-250

### Estapor® 疎水性磁性マイクロスフェア

メルクの MS-070/40 マイクロスフェアは官能化されていません。これらのマイクロスフェアの表面は負に帯電しているため、マイクロスフェアと生体分子の共有結合は主にイオン相互作用による「受動的吸収」に基づきます。さらに、アッセイ条件に応じて水素結合、ファン・デル・ワールス相互作用、πスタッキングなども関与します。

製品名	直径 (μm)	フェライト量 (%)
MS-070/40	0.70-1.30	35-50

最終ページに Estapor® マイクロスフェア製品リストがございます。ご注文時は容量ごとカタログ番号が異なりますのでご注意ください。

## カプセル化 Estapor® 磁性マイクロスフェア

メルクのカプセル化磁性マイクロスフェアは、磁性キャリアの分野における新しい固相担体の代表です。メルク独自の製造工程でコアシェル構造が形成され、これにより超常磁性酸化鉄は高分子フィルムカプセルに包まれます。このカプセル化マイクロスフェアは以下の利点があります：

- 低い非特異的結合
- 優れたコロイド安定性
- 速い磁気応答時間と分散

EM1-100/40 マイクロスフェアは、3種類の表面 COOH（低、中、高）で結合能力を容易に調節でき、SN 比（信号対雑音比）を最適化することができます。

### カプセル化 Estapor® 磁性マイクロスフェア

製品名	直径 (μm)	フェライト量 (%)	表面 COOH (μeq/g)
EM1-100/40	0.90 - 1.80	36-50	*COOH content: 10-100 μeq/g
EM2-100/40	0.80 - 1.80	36 -50	NH2 content: 10-100 μeq/g

※ アッセイの最適化を容易にするために、低、中、高3種類の表面 COOH を用意しています。詳しくは、担当営業または販売店までお問い合わせください。

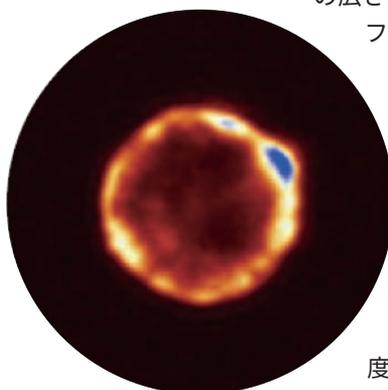
### Bio-Estapor® 磁性マイクロスフェア

メルクの Bio-Estapor® マイクロスフェアはストレプトアビジンと事前に結合されており、抗原、抗体、核酸などのビオチン化した生体分子を、血液、血清、組織および食品などの種々の原料から容易に分離、精製、検出できます。

Bio-Estapor® マイクロスフェアは、ストレプトアビジン結合に加えて効率的な磁気泳動流動性も兼ね備えることで、高表面積および低沈殿率の場合だけでなく、複合液体においても迅速に分離できます。

製品名	直径 (μm)	フェライト量 (%)	表面 COOH (μeq/g)
BE-M08/0.86	0.90-1.80	36-50	10-100

図 3 : Bio-Estapor ストレプトアビジンコーティングマイクロスフェア。写真の出典は Dr. U. Thoenes および Dr. C. Birkner、Roche Diagnostics 社（ドイツ）。



最終ページに Estapor® マイクロスフェア製品リストがございます。ご発注時は容量ごとにカタログ番号が異なりますのでご注意ください。

## CLIA アッセイの技術考察

Estapor® 磁性マイクロスフェアは過去 35 年間で、CLIA アッセイにおける機能性が実証されてきました。以下に、CLIA アッセイをデザインする際に役立つ技術ヒントと情報を示します。

### サイズ

マイクロスフェアは通常ホモジナイズされて、CLIA アナライザー内で懸濁液の状態が維持されますが、アナライザーの攪拌が不十分な場合にはサイズの大きいマイクロスフェアが沈殿するおそれがあります。マイクロスフェアのサイズを小さくすれば表面積 - 重量比が高くなり、タンパク質の付着が可能になってアッセイ感度を向上させることができます。しかし、サイズの小さいマイクロスフェアは、分離のために長い時間を要します。これらの理由から、1~2 μm 程度の中間サイズのマイクロスフェアは CLIA アッセイに最もよく使用されています。

### 組成

低フェライト量のマイクロスフェアは長い分離時間を要するため、CLIA ベースのアプリケーションには少なくとも 30~50%の磁性材料含有量のマイクロスフェアがよく用いられます。プレーンまたは未修飾のマイクロスフェアは、マイクロスフェア表面との疎水性相互作用を介した吸着または受動結合によってタンパク質を容易に付着させるために広く使用されています。これは、IgG やその他の巨大タンパク質をプレーンマイクロスフェアに付着させるための、最も簡単で費用対効果の高い方法です。ただし、このようなタンパク質固定化は、(i) 血液や血清成分による干渉を受けやすく、また (ii) 固定化が弱まって試薬が不安定になり、試薬の感度や特異性に影響する可能性もあります。表面を化学的に修飾すれば、タンパク質とマイクロスフェアの共有結合の可能性を高められます。カルボキシル化常磁性マイクロスフェアは、抗体とマイクロスフェア表面との強固で安定した結合をもたらす広く知られた技術です。

### 表面化学とパーキングエリア

官能基の表面電荷密度は、化学的に修飾されたマイクロスフェアにいつ作用するかを検討するための重要なパラメータです。「パーキングエリア」(PA) という用語は、官能基がどの程度の広さを占めているかを示します。また、マイクロスフェアの表面に存在する官能基の粒子サイズ、粒子密度、および含有量とも関連があります。カプセル化 Estapor® 磁性マイクロスフェアは3種類の表面 COOH、つまり3種類の PA を提供できます。CLIA によるトロポニン-I(cTnI)の検出に用いた PA=8、15 および 20 のカルボキシル磁性 Estapor® マイクロスフェア 1 μm の機能性比較を図 4 に示します。評価対象のすべての PA において、シグナルと cTnI 濃度の間に正の直接相関が見られます。PA 20 の超常磁性マイクロスフェアが、他よりも高い応答を示しています。したがって、EM1-100/40 マイクロスフェアは、CLIA アッセイにおける対象分析物の予測レベルに応じて、

個別のアッセイに最適な PA を定められる、優れた柔軟性と選択肢を提供できます。この試験は、CLIA イムノアッセイを開発する際に、官能基含有量の異なる超常磁性マイクロスフェアの評価の重要性を示しています。

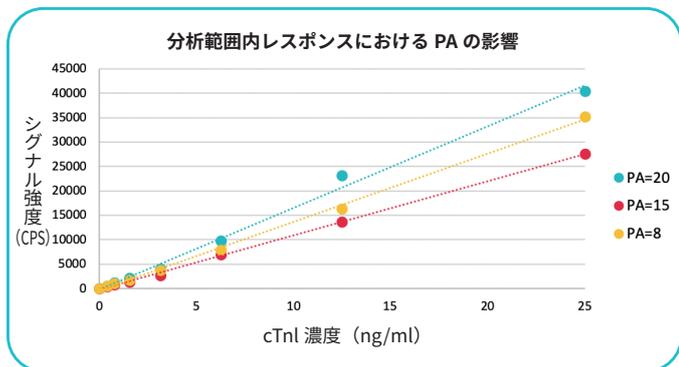


図4：異なる PA の EM1-100/40 磁性マイクロスフェアを用いた 25 ng/mL までのトロポニン-I アッセイの機能性。

## コーティング処理

一般的に、捕獲抗体をマイクロスフェアに結合させるには、CLIA アッセイでの抗体コーティングを最適化する必要があります。ここで考慮すべきパラメータには、(i) マイクロスフェア 1 mg あたりの抗体の付着量、(ii) インキュベート条件、および (iii) バッファーの配合があります。初期の試験では、マイクロスフェア 1 g あたり 60 mg の抗体の使用が推奨されます。

## マイクロスフェアの均質性

サンプル中のマイクロスフェアの均質性を維持することは重要で、これにより CLIA アッセイセットアップ時のマイクロスフェアコーティングの均一性が確保されます。必要に応じて、氷水で冷却されたサンプルチューブでサンプルを軽く超音波分解すると良いでしょう。400 倍拡大顕微鏡を用いれば、サンプル中にマイクロスフェアの凝集が存在するかどうかを確認することができます。サンプル中の分散されたマイクロスフェアは 400 倍拡大で観察することが難しく、かすんだマイクロスフェアの海のように見えます。一方、凝集したマイクロスフェアは 400 倍拡大で容易に観察できます。

## 抗体の選択

選択された一次・二次抗体は、対象分析物に対して高度に特異的でなければなりません。モノクローナル抗体は、ポリクローナル抗体よりも高い特異性をもたらします。ここで注意すべきなのは、一次・二次抗体の両方がモノクローナルの場合、これらは別のエピトープを認識しなければなりません。高純度 IgG に作用することが重要です。

## 信頼のおける品質保証

### ISO に準拠した製造

フランスのリヨンに近いメルクの製造所は、ISO に準拠しています。35 年に及ぶマイクロスフェア製造経験に基づき、メルクの専任チームが最先端の施設を利用して下記の規格に準拠したマイクロスフェアを生産しています。

- ISO 9001:2015
- ISO 14001:2015 (環境)
- OHSAS 18001:2007 (安全衛生)

ご要望があれば、お客様による工場監査も可能です。

### 詳細な試験成績書

Estapor® マイクロスフェアの各ロットには、以下を保証する試験成績書が付属しています。

- すべての試験仕様にロットが適合していること。
- 製造手順書および材料仕様書に準拠してロットが生産されたこと。

各品質証明書には、特定のロットの情報と購入製品の QC 試験データが記載されています。

### カスタム製品

メルクの標準製品はほとんどのお客様の CLIA アプリケーションに対応できると考えていますが、要求度の高いアプリケーションをサポートするために、メルクはカスタム開発サービスも提供しています。メルクのテクニカルチームは、最先端の施設を使用することにより、お客様のニーズとリクエストを満たすようにカスタマイズしたマイクロスフェアもご提供できます。担当営業や販売店にご連絡いただきご相談ください。

### 追加資料

1. Application Note: 'Development of a chemiluminescent immunoassay (CLIA) using Estapor® magnetic microspheres'. [emdmillipore.com/estapor](http://emdmillipore.com/estapor)
2. Application Note: 'Development of CLIA for the Detection of the Cardiac Troponin-I Marker- Influence of carboxyl superparamagnetic microsphere parking areas'. [emdmillipore.com/estapor](http://emdmillipore.com/estapor)
3. Capuano, F. et al. 2007. Development of automated assays for anticardiolipin antibodies determination: addressing antigen and standardization issues. *Ann NY Acad Sci* 1109: 493-502.
4. Erdem, A. et al. 2009. Electrochemical sensing of aptamer-protein interactions using a magnetic particle assay and single-use sensor technology. *Electroanalysis* 21 (11): 1278-1284.

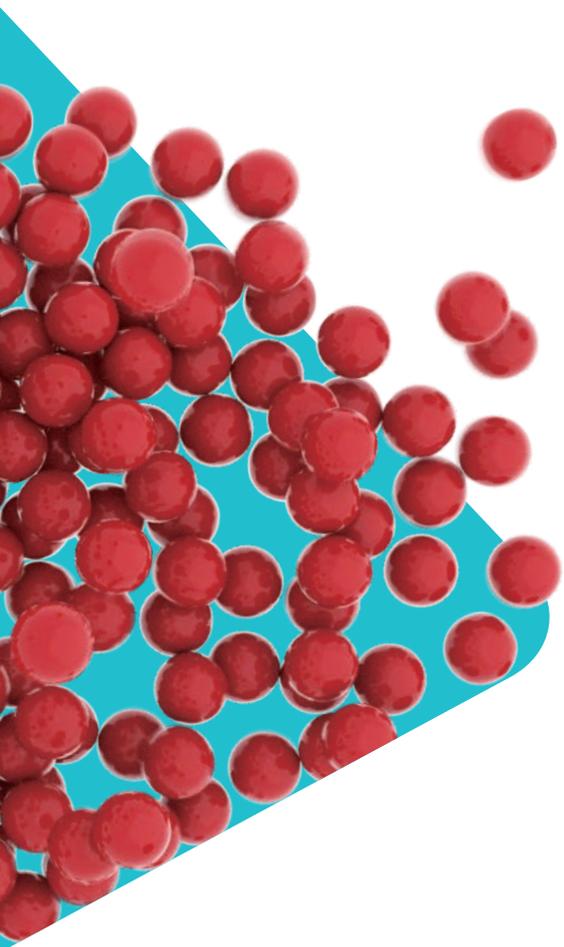
5. Francois, P. et al. 2003. Rapid detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from sterile or nonsterile clinical samples by a new molecular assay. *J Clin Microbiol* 254-260.
6. Häfeli, UO. et al. 2002. Characterization of magnetic particles and microspheres and their magnetophoretic mobility using a digital microscopy method. *Eur Cells Mat* 3 Suppl. 2: 24-27.
7. De Las Cuevas, G. et al. 2008. Low gradient magnetophoresis through field-induced reversible aggregation. *J Phys Chem C* 11: 945-950.
8. Montrás, A. et al. 2010. Bio-activated magnetic microspheres for a cost-effective isolation of biological molecules: fast separation and reusability using low field gradient magnetophoresis. 8th International Conference on the scientific and clinical applications of magnetic carriers. Rostock, Germany May 25-29th.
9. Puertas, S. et al. 2010. Designing novel nano-immunoassays: antibody orientation versus sensitivity. *J Phys D: Appl Phys* 43: 274012 (8pp).



## Estapor® マイクロスフェア製品リスト

製品名	容量	カタログ番号
K 030 Black	1 g	39442088-1
	10 g	39442088-10
	100 g	39442088-100
	1000 g	39442088-1000
K1 030 Black	1 g	80380143-1
	10 g	80380143-10
	100 g	80380143-100
	1000 g	80380143-1000
K1 050 Black	1 g	80380238-1
	10 g	80380238-10
	100 g	80380238-100
	1000 g	80380238-1000
K 030 Blue	1 g	39428080-1
	10 g	39428080-10
	100 g	39428080-100
	1000 g	39428080-1000

製品名	容量	カタログ番号
K1 030 Blue	1 g	80380065-1
	10 g	80380065-10
	100 g	80380065-100
	1000 g	80380065-1000
K1 050 Blue	1 g	39544001-1
	10 g	39544001-10
	100 g	39544001-100
	1000 g	39544001-1000
K 030 Red	1 g	39482086-1
	10 g	39482086-10
	100 g	39482086-100
	1000 g	39482086-1000
K1 030 Red	1 g	80380011-1
	10 g	80380011-10
	100 g	80380011-100
	1000 g	80380011-1000
K1 050 Red	1 g	39545001-1
	10 g	39545001-10
	100 g	39545001-100
	1000 g	39545001-1000
F1 XC 010	100 mg	39376080-100
	1 g	39376080-1
F1 XC 030	100 mg	39414082-100
	1 g	39414082-1
F1 XC 050	100 mg	80380535-100
	1 g	80380535-1
F1-Eu 010	0.1 g	80380623-0010-P
F1-Eu 030	0.1 g	80380624-0010-P
F1-Eu 050	0.1 g	80380625-0010-P
M1 020/50	1 g	80380073-1
	10 g	80380073-10
	100 g	80380073-100
	1000 g	80380073-1000
M1 030/40	1 g	80380000-1
	10 g	80380000-10
	100 g	80380000-100
	1000 g	80380000-1000



本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格（税別）です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2023年3月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Sigma-aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

## メルク株式会社

ライフサイエンス ダイアグノスティクス事業部  
 〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F  
 製品の最新情報はこちら [www.sigmaaldrich.com/JP/ja](http://www.sigmaaldrich.com/JP/ja)  
 E-mail: [Diagnosics\\_Japan@merckgroup.com](mailto:Diagnosics_Japan@merckgroup.com) Tel: 03-4531-1142