

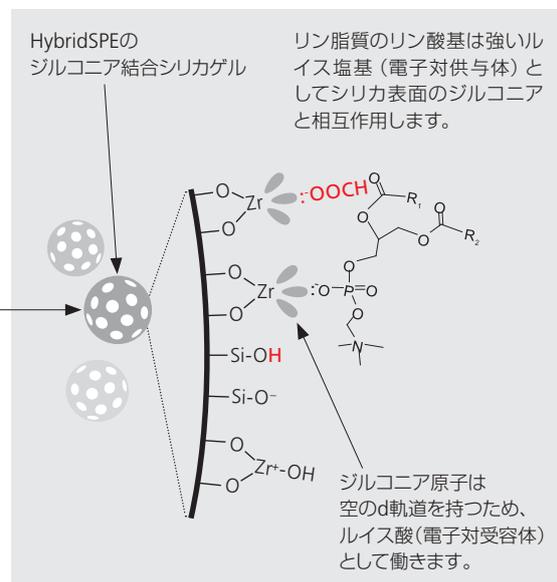
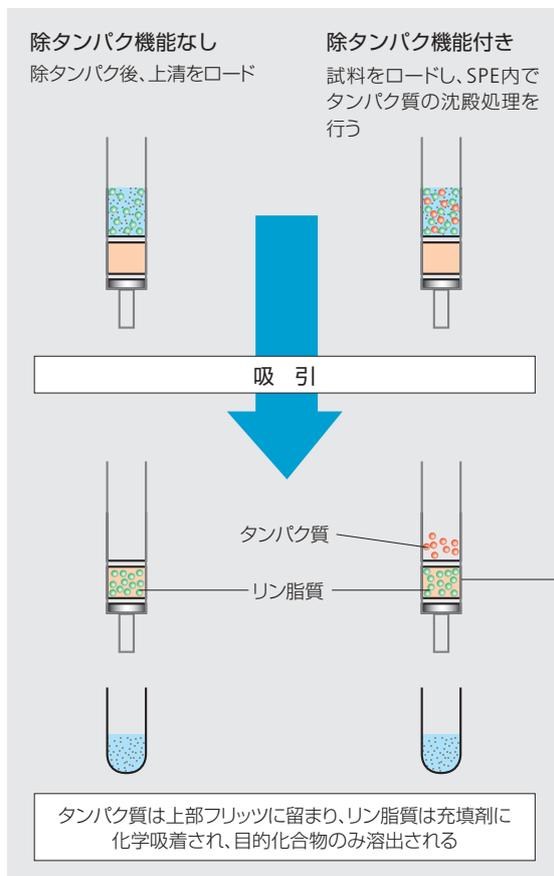


HybridSPE®-Phospholipid

リン脂質除去・濃縮用 固相抽出管

LC-MS分析におけるイオン化抑制の原因の一つがリン脂質妨害である事が知られています。リン脂質はポジティブイオンモード (ESI+) で感度低下を起こすだけでなく、サンプル分析後に分析カラムに蓄積してしまいます。HybridSPE-Phospholipidは、除タンパク後あるいは除タンパクしながら、生体試料中の血清や血漿からリン脂質を除去する固相抽出管です。シリコンアとのルイス酸-塩基相互作用を利用してリン脂質は保持させたまま、目的の塩基性、中性、酸性化合物を溶出させます。また、濃縮させたリン脂質やリン酸系化合物の回収も可能です。

HybridSPE-Phospholipidによるリン脂質除去・濃縮のメカニズム



保持メカニズム: ルイス酸-塩基相互作用

サンプルマトリックス: ルイス塩基を含む溶液

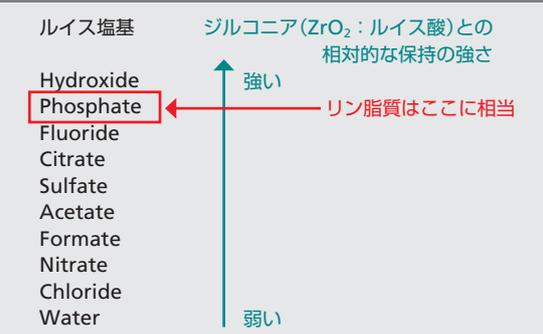
(例: 1%ギ酸アンモニウム/メタノール溶液)

特長:

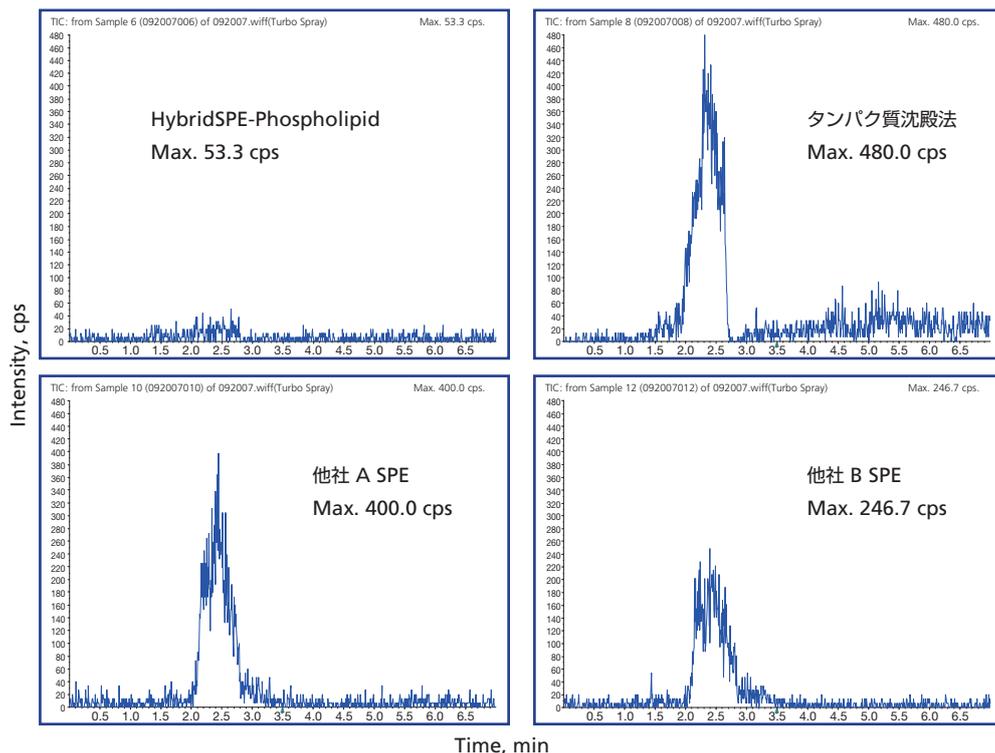
- ・ 除タンパク後あるいは除タンパクしながら、血清や血漿からリン脂質を除去 (リン脂質妨害によるLC-MS分析におけるイオン化抑制 (検出感度低下) の排除)
- ・ リン脂質の濃縮・回収 (リポドミクス、メタボロミクス)
- ・ リン酸系化合物 (グリホサート、アミノメチルホスホン酸) の濃縮・回収

HybridSPE-Phospholipid	
担体	: シリカゲル
粒子径	: 20 μm
ポアサイズ	: 120Å
表面積	: 350 m²/g
結合密度	: ZrO₂%=3.5

サンプルマトリックスより弱いルイス塩基は保持されず溶出し、強いルイス塩基 (リン脂質) は保持される



ラット血漿精製後の TIC クロマトグラム：リン脂質除去の比較



HybridSPE®-Phospholipid 50 mg/well :

ウェルに100 μ Lのラット血漿を添加し、300 μ Lの1% ギ酸/アセトニトリル溶液(1:3, v/v)を加える。1分間攪拌/混合し、2分間吸引(-10 in Hg)して溶出させる。

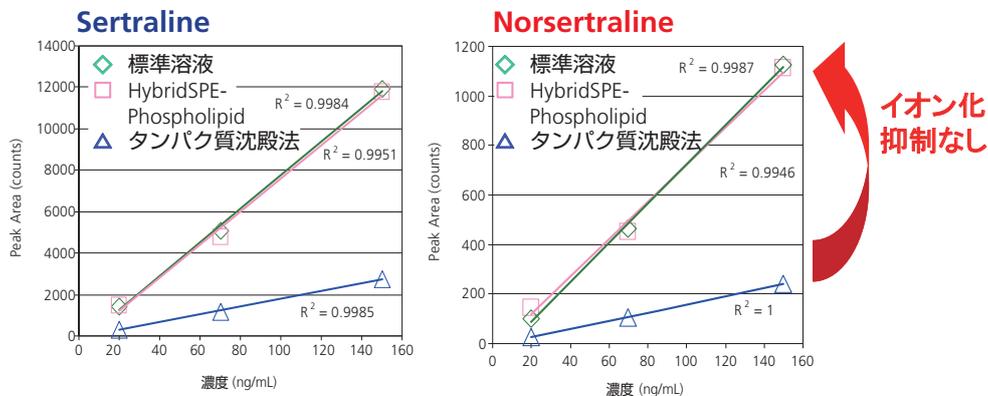
タンパク質沈殿法 :

100 μ Lのラット血漿と300 μ Lの1% ギ酸/アセトニトリル溶液(1:3, v/v)を1分間混合し、3分間遠心分離にかけ(6000 rpm)、上清を得る。

他社 SPE(polymer)60 mg/3 mL :

1 mLのメタノールでコンディショニングし、1 mLの水で平衡化する。200 μ Lのラット血漿をロードし、5%メタノール溶液で2回洗浄した後、1 mLのメタノールで溶出する。溶出液を乾固し、0.8 mLの水：1% ギ酸/アセトニトリル溶液(1:3, v/v)に再溶解する。

ラット血漿中の Sertraline と Norsertaline の回収率



標準溶液 :

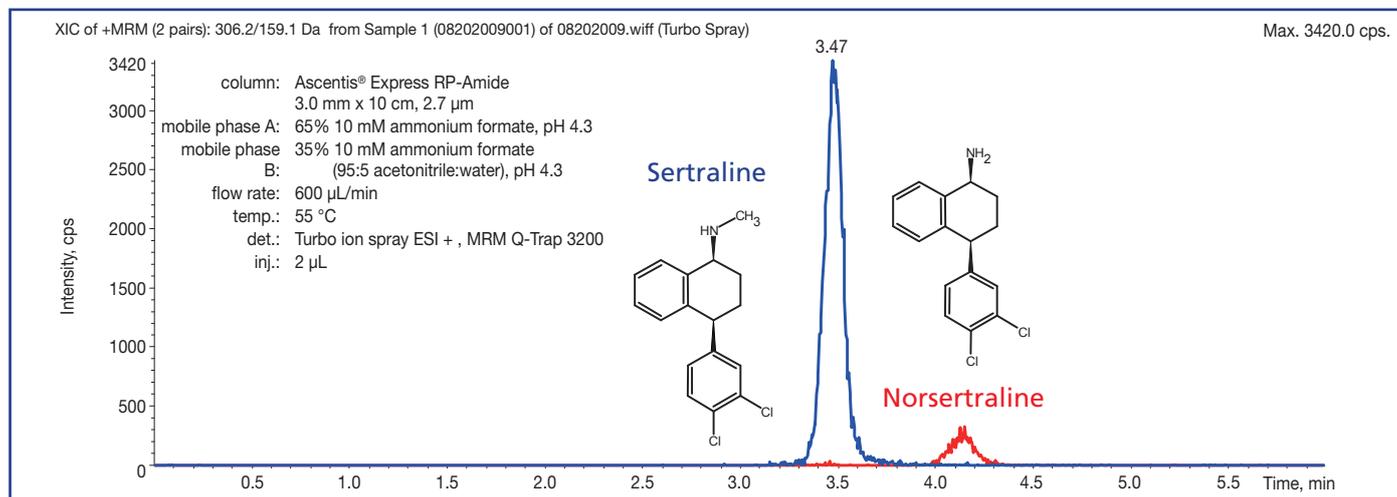
20, 70, 150 ng/mLのSertralineとNorsertalineの標準溶液。

HybridSPE-Phospholipid 15 mg/well :

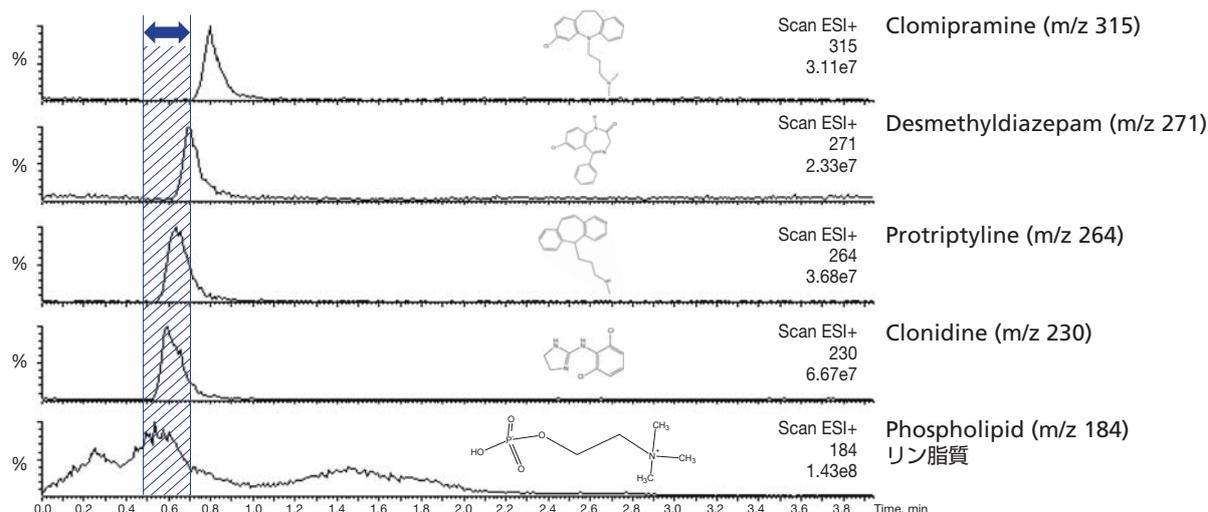
標準溶液をスパイクしたラット血漿20 μ Lと1% ギ酸/アセトニトリル溶液60 μ Lをウェルに添加し、攪拌/混合後、吸引して溶出。

タンパク質沈殿法 :

標準溶液をスパイクしたラット血漿20 μ Lと1% ギ酸/アセトニトリル溶液60 μ Lを遠心分離管に入れ、混合し、遠心分離して上清を得る。



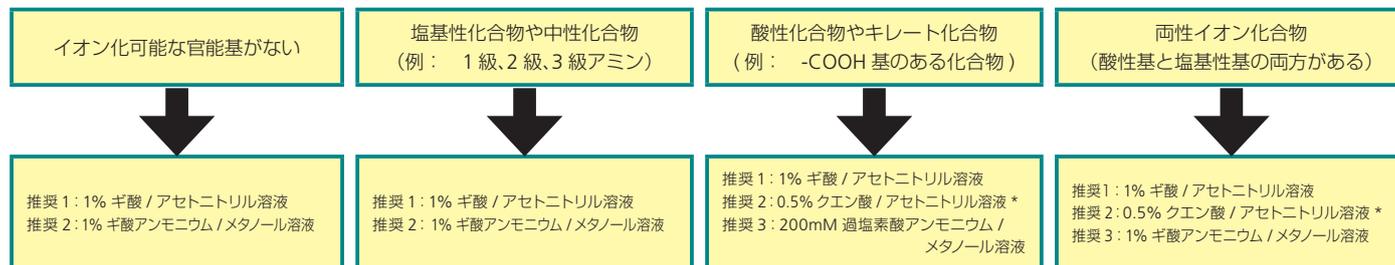
リン脂質 (Phospholipid) とオーバーラップする塩基性化合物の回収率



100 ng/mL STD	回収率 %			
	Clonidine (m/z 230)	Protriptyline (m/z 264)	Desmethyldiazepam (m/z 271)	Clomipramine (m/z 315)
HybridSPE®-Phospholipid	96.7%	104.1%	102.6%	97.8%
タンパク質沈殿法	54.5%	44.7%	81.9%	110.9%

リン脂質とオーバーラップする化合物は、リン脂質が残存していると回収率が低下する

対象化合物タイプによる除タンパク液／溶出液(サンプルマトリックス)の選択



* 注: 0.5% クエン酸 / アセトニトリル溶液を使う際は、事前にウェルもしくはカートリッジを 400µL の 0.5% クエン酸 / アセトニトリル溶液でコンディショニングしてください。

除タンパク機能なし

1. 血漿 (必要に応じて IS 添加) と除タンパク液 (血漿と除タンパク液比 1 : 3 v/v) を 攪拌 / 混合 (例: ポルテックスで 1 分)
2. 遠心分離を 2 ~ 5 分, 3000 rpm で行う
3. 上清を HybridSPE に移して吸引し、溶出液を LC-MS 分析

除タンパク機能付き

1. HybridSPE に血漿 (必要に応じて IS 添加) と除タンパク液を添加 (血漿と除タンパク液比 1 : 3 v/v)
2. 攪拌 / 混合 (例: ポルテックスで 1 分、ピペティング 3 ~ 5 回)
3. 10 inch Hg, 4 分以上の吸引 (あるいは遠心 3000 rpm, 5 分) により溶出液を得、LC-MS 分析

HybridSPE-Phospholipid の製品仕様

容量	血漿負荷量	リン脂質除去量
500 mg/6 mL	1 ~ 2 mL	1 mg
30 mg/1 mL	30 ~ 100 µL	100 µg
15 mg/well	20 ~ 40 µL	30 µg
50 mg/well	100 ~ 300 µL	100 µg

リン脂質・リン酸系化合物の溶出液

充填剤に吸着したリン脂質・リン酸系化合物は、5% (v/v) NH₄OH / アセトニトリル溶液、あるいは、5% (v/v) NH₄OH / メタノール溶液で溶出、回収可能です。

※ 溶出液調製例: 1 mL の 28% NH₄OH (水酸化アンモニウム水溶液) を 4.6 mL のアセトニトリルあるいはメタノールと混合する。

HybridSPE®-Phospholipid

30 mg/1 mL カートリッジ
15 mg/well (0.8 mL) プレート表面 (上)、裏面 (下)

上: 50 mg/well (2 mL)
下: バキュームマニホールド



HybridSPE-PLus

HybridSPE-Phospholipid 50mg 96-ウェルプレートの改良版です。ウェルのハードウェア面を改良することにより、ウェル間のロット間差を低減させました。



品名	入数	CAT. NO.	価格(¥)
除タンパク機能付き			
HybridSPE-Phospholipid Ultra 除タンパクフィルター付カートリッジ, 30 mg/1 mL	100	55269-U	35,000
HybridSPE-Phospholipid 96- ウェルプレート, 15 mg/well (0.8 mL, 丸型)	1	52794-U	29,800
	20	52798-U	534,900
HybridSPE-Phospholipid 96- ウェルプレート, 50 mg/well (2 mL, 角型)	1	575656-U	31,500
	20	575657-U	565,400
HybridSPE-PLus 96- ウェルプレート, 50 mg/well (2 mL, 丸型)	1	575659-U	31,500
	20	575673-U	565,400
除タンパク機能なし			
HybridSPE-Phospholipid カートリッジ, 30 mg/1 mL	100	55261-U	29,800
	200	55276-U	53,200
HybridSPE-Phospholipid カートリッジ, 500 mg/6 mL	30	55267-U	40,000
関連製品			
96- ウェル除タンパクフィルタープレート, 2 mL (0.20 µm PVDF フリッツ)	1	55263-U	12,400
PlatePrep 96- ウェル用バキュームマニホールド	1	57192-U	99,700
96- 角型ディープウェル コレクションプレート, 0.35 mL, PP	50	575651-U	40,000
96- 角型ディープウェル コレクションプレート, 1 mL, PP	50	575652-U	40,000
96- 角型ディープウェル コレクションプレート, 2 mL, PP	50	575653-U	40,000
96- 角型ウェル キャップマット	50	575655-U	40,000
96- 丸型ウェル キャップマット	50	575680-U	40,000
96- ウェルプレートキット (575656-U 1枚、575653-U 1個、575655-U 1枚)	1	52813-U	61,500
96- ウェルプレートキット (575659-U 1枚、575680-U 1枚、96-丸型ウェルコレクションプレート 2 mL PP製 1個、フィルムシート 1枚)	1	52818-U	61,500

© 2014 Sigma-Aldrich Co. LLC. All rights reserved. SIGMA, SAFC, SIGMA-ALDRICH, ALDRICH, and SUPELCO are trademarks of Sigma-Aldrich Co. LLC, registered in the US and other countries. FLUKA is a trademark of Sigma-Aldrich GmbH, registered in the US and other countries. SAFC brand products are sold through Sigma-Aldrich, Inc. Purchaser must determine the suitability of the product(s) for their particular use. Additional terms and conditions may apply. Please see product information on the Sigma-Aldrich website at sigma-aldrich.com. Ascentis and HybridSPE are registered trademarks of Sigma-Aldrich and Sigma-Aldrich Biotechnology, LP.

本記事の製品および情報は2014年5月1日現在の情報であり、掲載の品目、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。最新情報は、弊社Webサイト (sigma-aldrich.com/japan) をご覧ください。掲載価格は希望納入価格(税別)です。詳細は販売代理店様へご確認ください。弊社の試薬は試験研究用のみを目的として販売しております。医薬品原料並びに工業用原料等としてご購入の際は、こちらのWebサイト (sigma.com/safc-jp) をご覧ください。

SIGMA-ALDRICH®
シグマ アルドリッチ ジャパン
<http://www.sigma-aldrich.com/japan>

お問い合わせは下記代理店へ