




# 生体サンプルから のオリゴ医薬の抽出

LC-MS 生体分析向

 **ジーエルサイエンス株式会社**  
GL Sciences

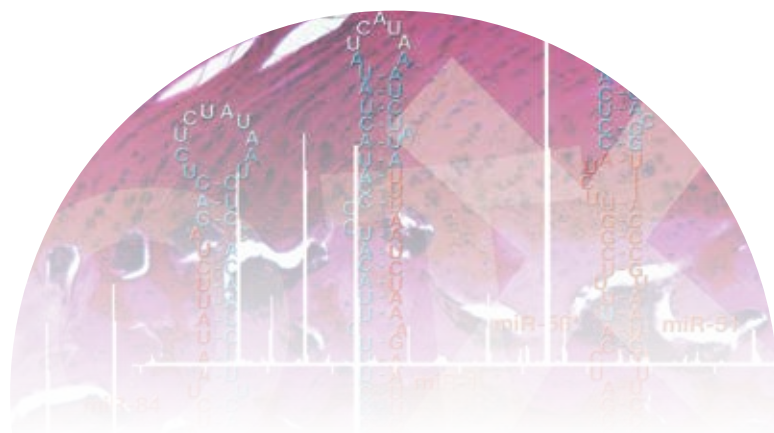


[www.phenomenex.com/ClarityOTX](http://www.phenomenex.com/ClarityOTX)

 **phenomenex**<sup>®</sup>

# オリゴ分離の信頼 できるパートナー

Phenomenex は革新的な分離科学の製品開発に注力し、合成 DNA と合成 RNA の抽出、精製、特性評価を行う組織に対して格別な支援を提供しています。核酸医薬対象の LC-MS 生体分析を行う科学者との共同研究により、Phenomenex は Clarity™ OTX™ 緩衝液と SPE 抽出溶液を開発しました。Clarity BioSolutions ラインナップにおけるこの最新の製品は、核酸医薬の高スループット抽出のために特別に設計され、これにより、LC-MS 定量化のための良好な回収率を有するクリーンな生体サンプルが提供されます。



# 目次

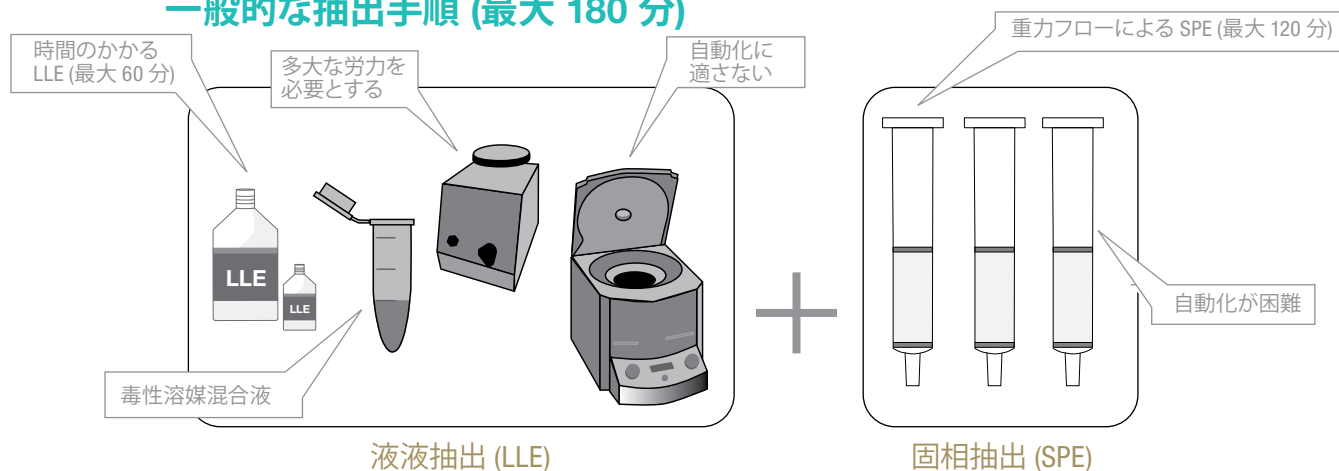
高スループット .....	p. 4
サンプルの適合性 .....	p. 5
効率的なクリーンアップ .....	p. 6
信頼できる回収率 .....	p. 7
LC-MS 高感度 .....	p. 8
良好な線形性 .....	p. 9
開発パートナー .....	p. 10
製品ラインナップ .....	p. 11

# 高スループット

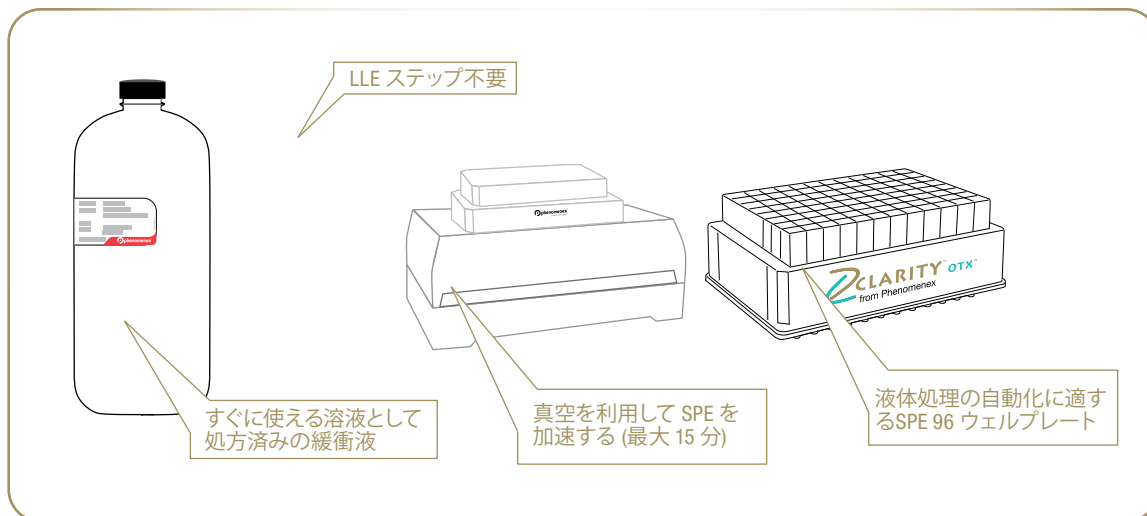
4

Clarity™ OTX™ は、ペースの速い DMPK/ADME 環境を考慮に入れて設計されました。生体マトリックスからオリゴを効率的に抽出するシンプルで、迅速、かつ再現性のあるソリューションです。さらに、簡単に自動化して未処理分のサンプルを一掃し、重要な期限を守ります。LLE (液液抽出) の必要性をなくし、液体ハンドラーに適合する 96 ウェルプレートフォーマットを提供し、合成オリゴ医薬化学に対象を絞ることで、Clarity OTX は 15 分間の抽出手順を実現します。

## 一般的な抽出手順 (最大 180 分)



## Clarity OTX 抽出手順 (最大 15 分)



# サンプルの適合性

核酸医薬のすべての PK 研究が同一であるとは限らないため、抽出溶液は、ダウンストリームの LC/MS 分析に加え、さまざまなサンプルに適合する必要があります。Clarity™ OTX™ は、フォーマット、オリゴタイプ、サンプルマトリックス、LC/MS 前処理に極めて適合するよう設計されています。

## オリゴ医薬とオリゴサンプルのほとんどのに適合している

オリゴタイプ:	サンプルタイプ:
DNA	血漿
アプタマー	血清
RNAi/siRNA	尿
チオエート	涙
脂質複合体	唾液
リボソーム被包体	組織

## 大小のサンプル量に対応する柔軟なフォーマット

### スターターキット

50 個のサンプルの抽出に必要なすべての材料を含む

スケールアップや低サンプル量を用いた研究の前に実現の可能性を確認するために設計される

100mg/3 mL SPE カートリッジと処方済み緩衝液 (load/lysis、平衡化、洗浄、溶出) を含む



### 個別品

大きなサンプルの研究や自動化に適している

液体処理プロトコル向けに平衡化、洗浄、溶出の緩衝液を処方

96 ウェルプレートあたり 100 mg および 1 L の処方済み Lysis-Loading 緩衝液を利用できる



**お問い合わせ** - 使用するオリゴタイプやマトリックスタイプがない場合は、Phenomenex までお問い合わせください。共同作業により、特定のサンプルに合う Clarity OTX 抽出プロトコルに最適化します。

# 効率的なクリーンアップ

6

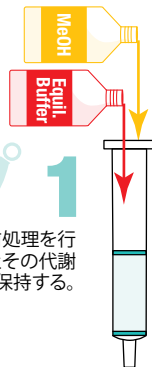
わずか 4 ステップで科学者は生体サンプルから医薬用オリゴとその代謝物を効率的にクリーンアップできます。Clarity™ OTX™ 抽出プロトコルは、タンパク質、ゲノム DNA、脂質など、対象オリゴ医薬の検知を大いに妨げる細胞残屑を効率的に除去します。これらの夾雑物を除去することで、MS ノイズが一貫して減少し、定量生体分析が容易になります。

## シンプルな 4 ステップ抽出プロトコル

### サンプルの前処理

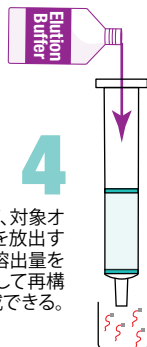
組織	- プロテイナーゼ K の消化作用または均質化 - Lysis-Loading 緩衝液と 1 対 1 に混ぜる
生体液	- Lysis-Loading 緩衝液と 1 対 1 に混ぜる

Lysis-Loading 緩衝液は、オリゴ医薬とその代謝物の選択的な結合を促進するために、カオトロップと界面活性剤の最適な混合により作成されました。



### ステップ 1

SPE 吸着剤の前処理を行い、対象オリゴとその代謝物を選択して保持する。



### ステップ 4

溶出緩衝液を追加して、対象オリゴ医薬とその代謝物を放出する。LC-MS 分析の前に、溶出量を乾燥するか、乾燥凍結して再構成できる。



### ステップ 3

洗浄緩衝液を処方して、オリゴ医薬とその代謝物を乱さないうちに、吸着剤から脂質とタンパク質をはぎ取る。

### ステップ 2

塩、糖類、高分子タンパク質、ゲノム DNA がカートリッジを通過する。対象オリゴ、タンパク質、脂質が、混合モードの弱陰イオン相互作用を通じて吸着剤に結合する。



- 🔴 オリゴおよび代謝物
- ▲ 塩
- 糖類
- ⋈ ゲノム DNA
- \* 脂質
- ⌘ タンパク質

# 信頼できる回収率

Clarity™ OTX™ 抽出溶液は、液体と組織から広範囲の核酸医薬を効率的に分離するために設計されています。混合モードの固体相抽出吸着剤と慎重に処方された緩衝液を利用して、Clarity OTX は、80%を超える回収率を一貫して実現します。さらに、Clarity OTX に用いる 96 ウェルプレートは、信頼できる回収に多大に寄与する一貫したフローを提供するよう特別に設計されました。

## ヒト血漿からの高回収率

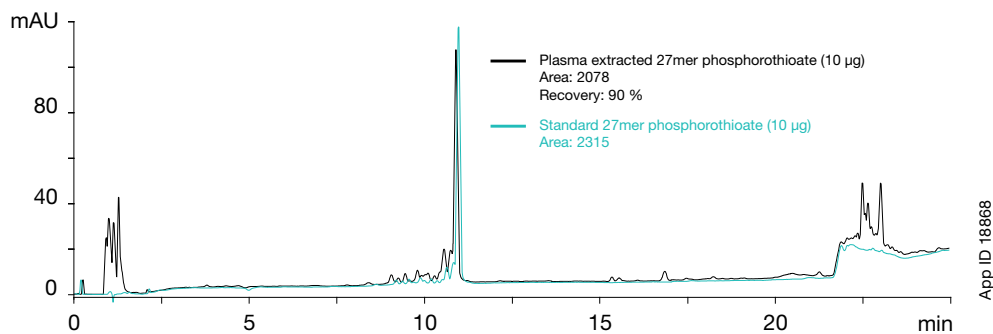
### サンプル前処理:

- 生体液マトリックスに等量の Lysis-Loading 緩衝液を加える
- 少しの間ボルテックスを行う

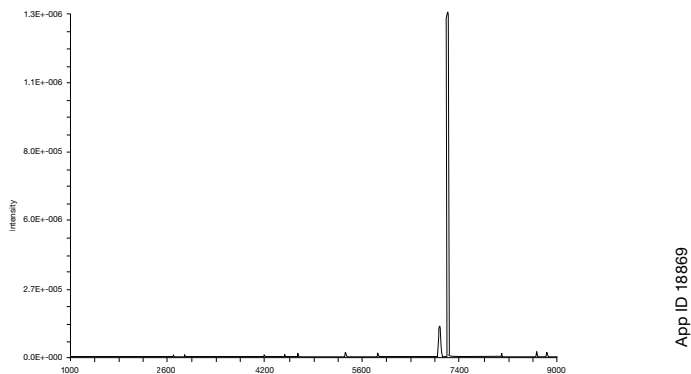
### 抽出プロトコル

- コンディショニング: 1 mL MeOH (Vacuum ~2" Hg)
  - 平衡化: 1 mL Equilibration buffer (Vacuum ~3" Hg)
  - サンプルロード: 0.4 mL - 3 mL volume (Vacuum ~3" Hg)
  - 真空度: ~10" Hg for ~10 seconds to completely evacuate solution through cartridge
  - 洗浄: 6 mL Wash buffer (2 mL x 3) (Vacuum 3-4" Hg)
  - 真空度: 10-15" Hg for ~1 minute
  - 溶出: 1 mL Elution buffer (Vacuum ~3" Hg)
- LC-MS 前処理: Dry down or lyophilize and reconstitute in 100 µL water or aqueous buffer

## UV 回収データ



## MS 回収データ



上図は、200 µL のヒト血漿からの 27mer チオエートの回収を示します。UV データは、90% の回収が Clarity OTX 抽出プロトコルで達成されることを示します。MS データはさらに、血漿の夾雑物が効果的に除去され、対象の完全な分離と回収が達成されることを示します。

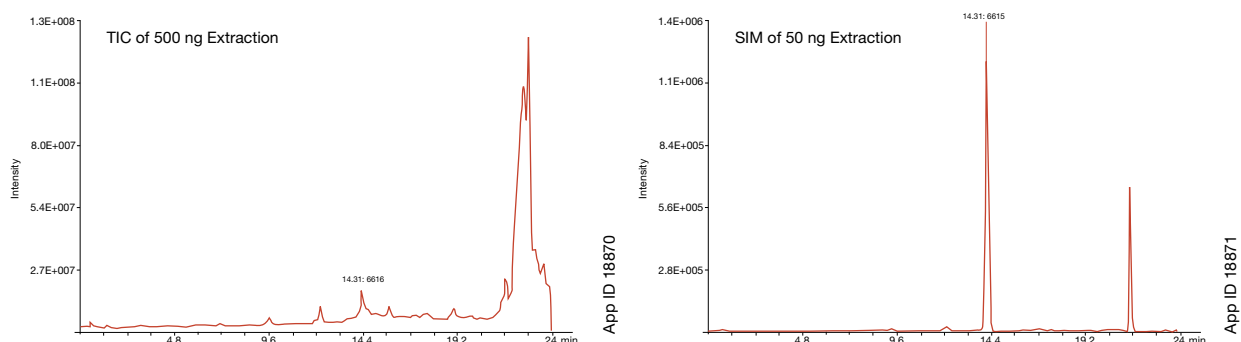
# LC-MS 高感度

8

固有の Clarity™ OTX™ 抽出方法は、高感度の欠如に関連する分析対象物の低回収率と MS 妨害化合物の課題を克服します。さらに、抽出されたオリゴと代謝物は簡単に乾燥 (または乾燥凍結) され、好適な LC/MS データのために鋭いピークを生成し、ナトリウム内転を抑制する溶液中で再構成できます。

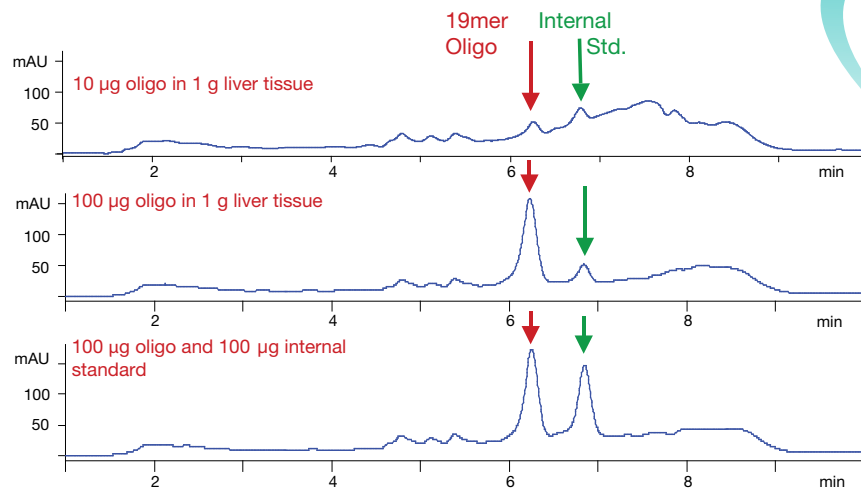
## 低投与量レベルの検出

### 血漿の感度研究



親の核酸医薬とその代謝物の代表的な 80% 以上の回収率により、ピコモル範囲の検出が可能です。上図の TIC は、この非常に高感度の範囲での投与量の検出を示します。血漿にスパイクされた 500 ng と 50 ng の一定分量を Clarity OTX を用いて抽出して、高感度の限界を特定しました。500 ng ロードの TIC を上図に示します。21mer P-S に対応する 14.3 分のピークを定量化できます。50 ng ロードの TIC のピークが観察されないのに対し、944 の m/z (-7 の荷電状態) で XIC を使用すると、非常に低レベルでオリゴヌクレオチドを定量化できます。

### 肝組織の高感度研究



MS 高感度のレベルは、使用される MS 装置と HPLC 移動相に高度に結合されます。特定の移動相を有するさまざまな装置上で Clarity OTX を用いて達成される高感度レベルの質問については Phenomenex までお問い合わせください

Clarity OTX を用いて肝組織から抽出されるオリゴヌクレオチドの UV クロマトグラム 19mer が抽出されたホスホロチオエートオリゴヌクレオチドは、分析前に、10 µg のオリゴヌクレオチド内部基準でスパイクされました。一番上の 2 つのクロマトグラムは、異なるレベルの培養された P-S オリゴを表します。一番下のクロマトグラムは、19mer のオリゴと内部基準と同量の外部標準です。培養されたサンプルからのオリゴヌクレオチドの回収率と低レベルの血漿夾雑物に注目してください。

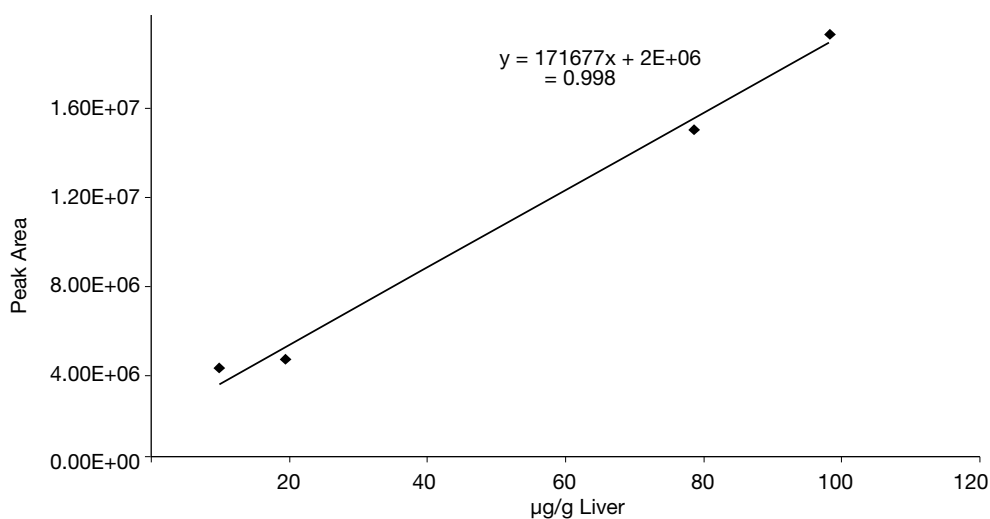


# 良好な線形性

良好な線形性と信頼できる定量結果を提供する抽出溶液の開発に多大な労力を費やしました。Clarity™ OTX™ を用いて生体サンプルを前処理し、高感度の MS 装置を用いてその生体サンプルを分析した際に、5 ~ 2000 ng/mL のダイナミックレンジを達成しました。このような定量結果は、信頼できる生体分析データを保証します。

## さまざまな濃度で優れた線形性

### 肝組織の線形性曲線




低濃度から高濃度の ng/mL まで、Clarity OTX 方法により、オリゴ医薬とその代謝物を抽出する MS 上で優れた線形性を達成します。肝組織内の 100 µg ~ 10 µg までの 4 つの異なるオリゴ濃度で 1 g の肝組織内の 19mer P-S オリゴヌクレオチドの線形性を評価しました。この初期研究のための生理的関連濃度の全域にわたり高回収率と良好な線形性を確認します。

# 開発パートナー

10

Phenomenex はオリゴ医薬を研究する科学者とパートナー関係を築き、分離科学と合成 RNA/DNA の専門知識を用いて、固有のソリューションの開発、オンサイトの技術トレーニングの提供、分析方法開発支援の提供、個別の顧客サポートの提案を行います。

## 技術支援



オリゴヌクレオチド対象の分析が困難な場合に、LC-MS 方法と抽出プロトコル修飾の両方に対して Phenomenex の経験豊富な Clarity™ BioSolutions チームによる無償の方法開発支援を利用できます。

## 長く続く関係

分離科学と医薬品業界での 38 年の経験を駆使して、Phenomenex は、満たされない医療ニーズに対処するために目標を新規の RNA と DNA をベースにした医薬の発見、開発、製造に設定した企業と科学者の支援に全力を注ぎます。

## 製品イノベーション

生体分析科学者と協力して、Phenomenex は、新しい革新的なクロマトグラフィーをベースにしたソリューションの研究開発能力を有して、下流のプレクリニカルとクリニカルパスまでオリゴ医薬を発展させます。



## 教育支援

電話、インターネット、または対面を問わず、合成核酸医薬の抽出、精製、特性評価に関するトレーニングと技術支援を提供する Clarity BioSolutions チームを利用できます。

## 信頼できる顧客サービス

Phenomenex は、顧客照会への迅速な対応、製品の迅速な引渡し、無料の技術的参考文献を介して信頼できるパートナーであることを目指します。



## グローバルな利用可能性

Clarity™ OTX™ の製品ラインナップとテクニカルサポートは、世界全域にわたるシームレスな方法伝達で世界中から利用できます。



# 製品ラインナップ

11

適切な種類の抽出ツールが LC-MS の正しい結果を実現します。Clarity™ OTX™ 製品ラインナップを構成する化学とフォーマットは、生体分析向け生体液から合成核酸医薬を効率的に高スループットで抽出するために特別に設計されています。

製品番号	説明		入数
KS0-8494	Clarity OTX Starter Kit-Tubes	Includes: 100 mg/3 mL cartridges (x50) Lysis-loading buffer (100 mL) Equilibration buffer (250 mL) Wash buffer (350 mL) Elution buffer (100 mL)	個装
KS0-9253	Clarity OTX Starter Kit-96-Well Plate	100 mg/ 96-well plate (x1) Lysis-loading buffer (100 mL) Equilibration buffer (250 mL) Wash buffer (350 mL) Elution buffer (100 mL)	個装
8M-S103-4GA	Clarity OTX Microelution Well Plate	2 mg/ well	1/box
8E-S103-CGA	Clarity OTX Well Plate	25 mg/ well	1/box
8E-S103-EGA	Clarity OTX Well Plate	100 mg/ well	1/box
8B-S103-EBJ	Clarity OTX Cartridge	100 mg/3 mL	50/box
8B-S103-HCH	Clarity OTX Cartridge	500 mg/6 mL	30/box
AL0-8579	Clarity OTX Lysis-Loading Buffer V2.0	1 L	個装

注記 - プロトコルの詳細については、Clarity OTX ユーザーズガイドをご請求ください。  
注記 - 平衡化、洗浄、および溶出の緩衝液の処方、Clarity OTX 96 ウェルプレートを用いて科学者が利用できます。

## お問い合わせ



Clarity OTX のご質問については、Phenomenex に直接お電話するか、質問内容を電子メールにて [jpinfo@phenomenex.com](mailto:jpinfo@phenomenex.com) までお寄せください。

免責事項  
Phenomenex の標準規約に従うものとします。  
詳細は [www.phenomenex.com/TermsAndConditions](http://www.phenomenex.com/TermsAndConditions) をご覧ください。

商標  
Clarity および OTX は Phenomenex の商標です。Clarity OTX は Phenomenex が特許を取得しています。

米国特許第 7,119,145 号 研究利用に限定。

臨床診断法への利用禁止。

© 2021 Phenomenex, Inc. All rights reserved.

アイルランド  
t: +353 (0)1 247 5405  
eireinfo@phenomenex.com

アメリカ(米国)  
t: +1 (310) 212-0555  
info@phenomenex.com

イギリス(英国)  
t: +44 (0)1625-501367  
ukinfo@phenomenex.com

イタリア  
t: +39 051 6327511  
italiainfo@phenomenex.com

インド  
t: +91 (0)40-3012 2400  
indiainfo@phenomenex.com

オーストラリア  
t: +61 (0)2-9428-6444  
auinfo@phenomenex.com

オーストリア  
t: +43 (0)1-319-1301  
anfrage@phenomenex.com

オランダ  
t: +31 (0)30-2418700  
nlinfo@phenomenex.com

カナダ  
t: +1 (800) 543-3681  
info@phenomenex.com

シンガポール  
t: +65 800-852-3944  
sginfo@phenomenex.com

スイス  
t: +41 (0)61 692 20 20  
swissinfo@phenomenex.com

スウェーデン  
t: +46 (0)8 611 6950  
nordicinfo@phenomenex.com

スペイン  
t: +34 91-413-8613  
espinfo@phenomenex.com

スロバキア  
t: +420 272 017 077  
sk-info@phenomenex.com

タイ  
t: +66 (0) 2 566 0287  
thaiinfo@phenomenex.com

チェコ共和国  
t: +420 272 017 077  
cz-info@phenomenex.com

デンマーク  
t: +45 4824 8048  
nordicinfo@phenomenex.com

ドイツ  
t: +49 (0)6021-58830-0  
anfrage@phenomenex.com

ニュージーランド  
t: +64 (0)9-4780951  
nzinfo@phenomenex.com

ノルウェー  
t: +47 810 02 005  
nordicinfo@phenomenex.com

フィンランド  
t: +358 (0)9 4789 0063  
nordicinfo@phenomenex.com

フランス  
t: +33 (0)1 30 09 21 10  
franceinfo@phenomenex.com

ベルギー  
t: +32 (0)2 503 4015 (フランス語)  
t: +32 (0)2 511 8666 (オランダ語)  
beinfo@phenomenex.com

ポーランド  
t: +48 22 104 21 72  
pl-info@phenomenex.com

ポルトガル  
t: +351 221 450 488  
ptinfo@phenomenex.com

メキシコ  
t: 01-800-844-5226  
tecnicomx@phenomenex.com

ルクセンブルク  
t: +31 (0)30-2418700  
nlinfo@phenomenex.com

台湾  
t: +886 (0) 0801-49-1246  
twinfo@phenomenex.com

中国  
t: +86 400-606-8099  
cninfo@phenomenex.com

香港  
t: +852 6012 8162  
hkinfo@phenomenex.com

◎ その他の国/地域:  
米国内社  
t: +1 (310) 212-0555  
info@phenomenex.com



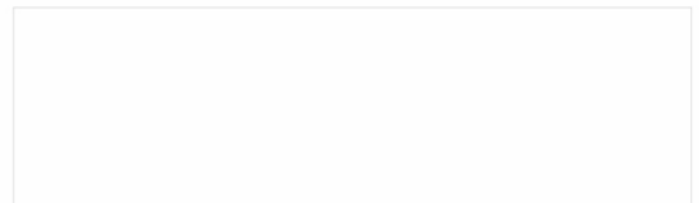
www.phenomenex.com


Phenomenexの製品は世界中どこでもお求めいただけます。  
他の国・地域の販売代理店については、Phenomenex USA 海外事業部  
(jpinfo@phenomenex.com) までお問い合わせください。



東京営業部	TEL.03(5323)6611	FAX.03(5323)6622
大阪支店	TEL.06(6220)0500	FAX.06(6220)0601
横浜支店	TEL.045(985)7900	FAX.045(985)7901
東北営業所	TEL.024(534)2191	FAX.024(536)1518
筑波営業所	TEL.029(858)3700	FAX.029(858)3780
北関東営業所	TEL.048(778)5001	FAX.048(778)5005
千葉営業所	TEL.043(248)2441	FAX.043(248)2485
名古屋営業所	TEL.052(931)1761	FAX.052(931)1814
広島営業所	TEL.082(233)1101	FAX.082(233)1110
九州営業所	TEL.092(738)6633	FAX.092(738)6636
総合技術センター	TEL.04(2934)2121	FAX.04(2934)2128
カスタマーサポートセンター	TEL.04(2934)1100	FAX.04(2934)3361
福島工場	TEL.024(533)2244	FAX.024(534)2139

本社 〒163-1130 東京都新宿区西新宿6丁目22番1号 新宿スクエアタワー30F  
TEL.03(5323)6611 FAX.03(5323)6622  
https://www.gls.co.jp E-mail:info@glsc.co.jp



 **安全に関するご注意**  
ご使用前には必ず「取扱説明書」を  
よくお読みのうえ、正しくお使いください。

BR78560221\_1\_jp\_Ja\_2