

プレート配置例

●安定性試験(0 時間)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NAC	A												
	B												
	C					ST(0)	ST(0)	ST(0)					
	D												
NAL	E												
	F					ST(0)	ST(0)	ST(0)					
	G												
	H												

●5 サンプル 1 溶媒種(アセトニトリル)の場合

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NAC	A	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.1	std.5
	B	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.2	std.6
	C	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.3	std.7
	D	CC-1	CC-2	CC-3	CC-4	CC-5	ST(24)	ST(24)	ST(24)	-	-	std.4	-
NAL	E	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.1	std.5
	F	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.2	std.6
	G	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.3	std.7
	H	CC-1	CC-2	CC-3	CC-4	CC-5	ST(24)	ST(24)	ST(24)	-	-	std.4	-

●17 サンプル 1 溶媒種(アセトニトリル)の場合

1 プレート目

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NAC	A	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	サンプル11	サンプル12
	B	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	サンプル11	サンプル12
	C	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	サンプル11	サンプル12
	D	CC-1	CC-2	CC-3	CC-4	CC-5	CC-6	CC-7	CC-8	CC-9	CC-10	CC-11	CC-12
NAL	E	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	サンプル11	サンプル12
	F	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	サンプル11	サンプル12
	G	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	サンプル11	サンプル12
	H	CC-1	CC-2	CC-3	CC-4	CC-5	CC-6	CC-7	CC-8	CC-9	CC-10	CC-11	CC-12

2 プレート目

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NAC	A	サンプル13	サンプル14	サンプル15	サンプル16	サンプル17	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.1	std.5
	B	サンプル13	サンプル14	サンプル15	サンプル16	サンプル17	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.2	std.6
	C	サンプル13	サンプル14	サンプル15	サンプル16	サンプル17	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.3	std.7
	D	CC-13	CC-14	CC-15	CC-16	CC-17	ST(24)	ST(24)	ST(24)	-	-	std.4	-
NAL	E	サンプル13	サンプル14	サンプル15	サンプル16	サンプル17	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.1	std.5
	F	サンプル13	サンプル14	サンプル15	サンプル16	サンプル17	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.2	std.6
	G	サンプル13	サンプル14	サンプル15	サンプル16	サンプル17	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C	PC	std.3	std.7
	H	CC-13	CC-14	CC-15	CC-16	CC-17	ST(24)	ST(24)	ST(24)	-	-	std.4	-

●10 サンプル 2 溶媒種の場合

1 プレート目

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NAC	A	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	-	-
	B	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	-	-
	C	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	-	-
	D	CC-1	CC-2	CC-3	CC-4	CC-5	CC-6	CC-7	CC-8	CC-9	CC-10	-	-
NAL	E	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	-	-
	F	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	-	-
	G	サンプル1	サンプル2	サンプル3	サンプル4	サンプル5	サンプル6	サンプル7	サンプル8	サンプル9	サンプル10	-	-
	H	CC-1	CC-2	CC-3	CC-4	CC-5	CC-6	CC-7	CC-8	CC-9	CC-10	-	-

2 プレート目

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NAC	A	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C (溶媒1)	RC-C (溶媒2)	PC	-	-	-	-	std.1	std.5
	B	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C (溶媒1)	RC-C (溶媒2)	PC	-	-	-	-	std.2	std.6
	C	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C (溶媒1)	RC-C (溶媒2)	PC	-	-	-	-	std.3	std.7
	D	-	-	-	-	-	ST(24)	ST(24)	ST(24)	-	-	std.4	-
NAL	E	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C (溶媒1)	RC-C (溶媒2)	PC	-	-	-	-	std.1	std.5
	F	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C (溶媒1)	RC-C (溶媒2)	PC	-	-	-	-	std.2	std.6
	G	RC-A	RC-B	RC-B	RC-C (溶媒1)	RC-C (溶媒2)	PC	-	-	-	-	std.3	std.7
	H	-	-	-	-	-	ST(24)	ST(24)	ST(24)	-	-	std.4	-

プレート内容

サンプル

NAC および NAL と被験物質の反応液。 被験物質: NAC または NAL=200: 1 で反応させ、各被験物質の NAC および NAL に対する反応性を評価する。 組成...被験物質溶液(4mM 溶液): NAC または NAL 溶液(6.667μM) = 50μL: 150μL

PC(Positive control 陽性対照)

組成...陽性対照溶液(4mM Phenylacetaldehyde または Squaric Acid Diethyl Ester アセトニトリル溶液): NAC または NAL 溶液(6.667μM)=50μL: 150μL

RC(参照コントロール Reference control)

RC-A: HPLC 装置の適格性を確認するためのコントロール。被験物質溶液の代わりにアセトニトリルを添加した溶液について、標準液検量線に対して適切な NAC および NAL の濃度を算出できるかを確認する。

組成...アセトニトリル: NAC または NAL 溶液(6.667μM) = 50μL: 150μL

RC-B: 分析時間中の反応液の安定性を確認するためのコントロール。被験物質溶液の代わりにアセトニトリルを添加した溶媒について、分析開始時と終了時に n=3 ずつ測定し、値のばらつきを確認する。

組成...アセトニトリル: NAC または NAL 溶液(6.667μM) = 50μL: 150μL

RC-C: 各サンプルの NAC および NAL の減少率を算出するためのコントロール。被験物質溶液の代わりに被験物質を溶解している溶媒を添加した溶液について n=3 ずつ測定し、NAC および NAL の減少率の算出に用いる。被験物質によって溶媒が異なる場合はそれぞれの溶媒に対するコントロールを調製する。

組成...被験物質溶解溶媒*: NAC または NAL 溶液(6.667μM) = 50μL: 150μL

*陽性対照がアセトニトリル溶液のため、アセトニトリルを添加した RC-C は必ず調製する。

CC(Co-elution control 共溶出コントロール)

被験物質が NAC または NAL と共溶出していないか確認するためのコントロール。被験物質が 281nm で吸収があるかどうか、また溶出時間が NAC または NAL と同じではないか(共溶出する可能性はないか)を確認する。

組成...被験物質溶液(4mM): NAC Buffer または NAL Buffer=50μL: 150μL

ST(安定性試験 Stability test)

調製した 6.667μM NAC 溶液および NAL 溶液の安定性を確認するための試験。調製時(ST0)と調製 24 時間後(ST24)における NAC、NAL の残存率を測定する。

組成...NAC または NAL 溶液(6.667μM): アセトニトリル=150μL: 50μL