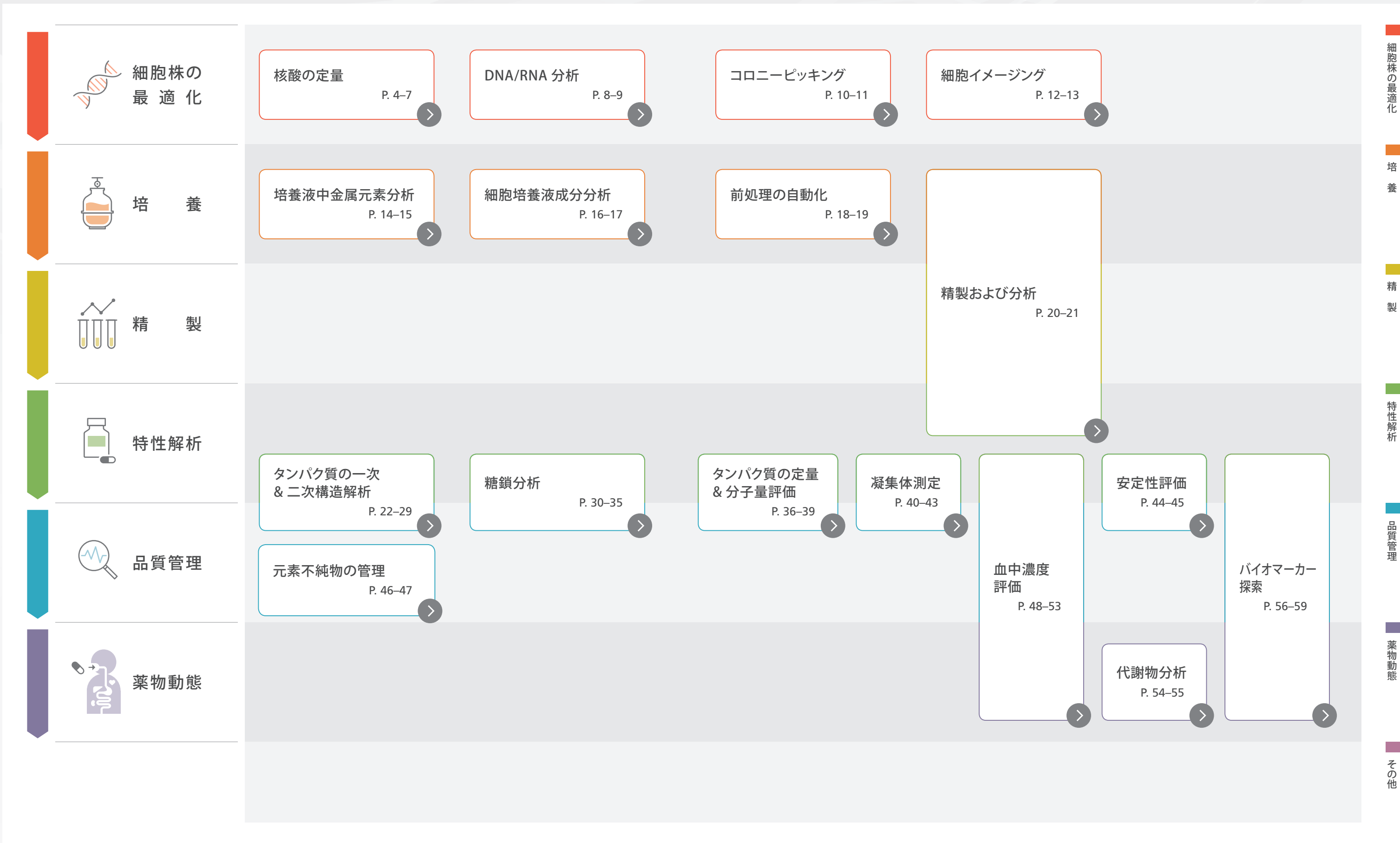


バイオ医薬品ソリューションガイド ～細胞株の最適化から薬物動態まで～



バイオ医薬品のワークフローに応じたソリューション





核酸の定量



二本鎖 DNA の定量測定 ～ TrayCell™ や Nano Stick を用いた微量測定～



click here

装置原理と特長

紫外可視分光光度計 UV-1900i は、省スペース設計かつ人間工学に基づいたハードデザインを採用しています。カラータッチパネルを搭載し、「一目で状態・使い方が分かる」を実現したユーザーインターフェース（UI）を採用しています。また、バイオメソッド内に1. 核酸定量、2. Lowry 法、3. BCA 法、4. CBB（Bradford 法）、5. Biuret 法、6. UV 吸収法の6種類の測定条件が内蔵されており、目的に応じて簡単に測定ができます。操作パネルのスクリーンショット機能も備えており、パソコンに接続しなくても測定結果を簡単に抽出することができます。10 mm 角形セルは約 4 mL のサンプル容量が必要ですが、TrayCell や Nano Stick を使用することで 2 μ L ～ 4 μ L 程度の微量測定が可能です。

測定方法

TrayCell を用いた二本鎖 DNA の測定方法

二本鎖 DNA を調製し 27.5、55、110、220、440 ng/ μ L の標準サンプルを用意しました（希釈溶液には超純水を用いました）。また未知濃度サンプルは、同じ DNA をエタノール沈殿にて調製しました。TrayCell は 2 種類の蓋を使い分けることで 1.0 mm と 0.2 mm の光路長に変更することができます。今回は光路長 1.0 mm の蓋を使用し、4 μ L 滴下して表 1 の条件で測定しました（図 1）。

Nano Stick を用いた二本鎖 DNA の測定方法

二本鎖 DNA の標準サンプルおよび未知サンプルは上記 TrayCell と同様に調製し、測定条件も上述同様に表 1 の通り行いました。Nano Stick の光路長は 0.5 mm で、サンプル容量は 3 μ L で測定しました（図 2）。

結果

TrayCell および Nano Stick を使用し測定したときの検量線と UV スペクトルの結果を図 3 および図 4 に示します。どちらの結果も高い直線性のある検量線が得られ、440 ng/ μ L のサンプルを 10 回繰り返し測定を行い相関関数や CV 値を算出した結果精度よく測定できていることを確認しました。

まとめ

紫外可視分光光度計 UV-1900i と TrayCell および Nano Stick を用いることで数 μ L オーダーの微量サンプルでも精度よく簡単に測定できることを確認しました。

応用例

- ・吸光度比による DNA 精製度評価
- ・DNA 濃度測定
- ・タンパク質濃度測定

表 1 測定条件	
波長（検量線）：	260 nm, 320 nm
波長範囲：	220 nm ～ 330 nm
スキャンスピード：	低速
サンプリングピッチ：	1.0 nm

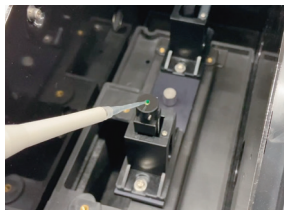


図 1 TrayCell の外観



図 2 Nano Stick の外観と使用手順

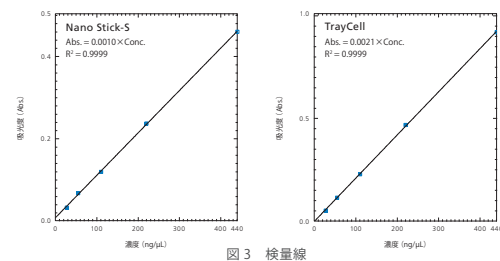


図 3 検量線

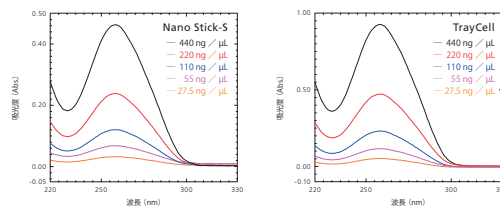


図 4 各濃度における Lambda-DNA 吸収スペクトルの重ね書き

UV-1900i



- 最速 29,000 nm/min の超高速スキャンでスペクトル取得が可能です。
- TrayCell や Nano Stick を利用することでサンプル容量最小 0.7 μ L から測定可能です。
- バイオメソッド内の核酸定量機能を用いることで、核酸濃度の定量値が表示されます。



システム仕様

装置：	UV-1900i
サンプル容量：	10 mm 角形セル = 2.5 ～ 4.0 mL TrayCell = 0.7 μ L ～ 10 μ L、Nano Stick = 2 μ L ～
波長範囲：	190 ～ 1,100 nm
スペクトルバンド幅：	1 nm
光源：	20 W ハロゲンランプ、重水素ランプ（光源位置自動調整機構内蔵）
分光器：	ツェルニーターナーマウント ローレイ™ グレード プレーズドホログラフィック グレーティング使用
検出器：	シリコンフォトダイオード
サンプル室：	室内寸法（内寸）：幅 110 mm × 奥行 250 mm × 深さ 115 mm
光束間距離：	100 mm
大きさ：	幅 450 mm × 奥行 501 mm × 高さ 244 mm
重さ：	16.6 kg
出力装置：	USB メモリ（オプション） 拡張メモリ（オプション） 保存データファイルはテキスト形式と UVPC 形式 * *UVPC 形式のファイルは LabSolutions™ UV-Vis の機能である UVProbe ファイルビューワ、または UVProbe ソフトウェアで読み込み可能
ディスプレイ：	24 ビットカラータッチパネル タッチペン（標準付属） タッチパネル保護シート（オプション）



核酸の定量



BioSpec™-nano による 二本鎖 DNA の定量



click here

装置原理と特長

BioSpec-nano は 0.2 mm と 0.7 mm の 2 つの光路長を有し、1 μL もしくは 2 μL のサンプル量で核酸定量が可能です。また、オプションで光路長 5 mm セル（サンプル量 2 mL）を使用した測定も可能です。

自動ワイピング機能により、連続測定時のサンプルを拭う操作を自動化し、作業負担を軽減できます。また、作業後のサンプル拭い忘れを防ぐこともできます。

測定方法

サンプルは Tris-EDTA (TE) buffer に溶解した精製 2 本鎖 DNA を用いました。各光路長に対して表 1 に示した濃度範囲及びサンプル量を準備しました。測定は各光路長においてそれぞれ 10 回ずつ測定し、260 nm における OD (Optical Density、光学純度、光路長 10 mm 換算の吸収度) を求めました。図 1 ～図 3 の縦軸値 (Measured OD260) が BioSpec-nano の測定値に相当します。また、正確さを求めるための基準値 (Corrected OD260、各図の横軸値) は当社の紫外可視分光光度計 UV-2450 でサンプルを適宜希釈し光路長 1 mm セルを用いて求めました。図 1 ～図 3 の直線は基準値を示す直線であり、各々の直線からの乖離が誤差に相当します。

結果

光路長 0.2 mm における分析結果

基準値に対する測定値の相関係数は 0.999 と良好でした (図 1)。250 ng/μL 以上の時、測定再現性は CV 値 (%) が 1.4% 以下 OD 誤差 (%) が -5.4% ～ 2.8% でした。

光路長 0.7 mm における分析結果

基準値に対する測定値の相関係数は 0.999 と良好でした (図 2)。70 ng/μL 以上の時、測定再現性は CV 値 (%) が 1.4% 以下 OD 誤差 (%) が -8.6% ～ 4.4% でした。

光路長 5 mm セルにおける分析結果

基準値に対する測定値の相関係数は 0.999 と良好でした (図 3)。70 ng/μL 以上の時、測定再現性は CV 値 (%) が 0.6% 以下 OD 誤差 (%) が -1.6% ～ 3.6% でした。

核酸定量における自動ワイピング性能

光路長 0.7 mm、578 ng/μL の二本鎖 DNA 3 μL を測定後、ワイピング操作 1 回行った後、TE buffer を測定することでキャリアオーバー (%) を調べました (式 1)。サンプルまたは TE buffer 測定後は必ずワイピング操作を 1 回行うよう設定しました。

キャリアオーバー (%)

$$= 100 \times \frac{[\text{TE buffer 時の核酸濃度}]}{[\text{二本鎖 DNA 時の核酸濃度}]} \quad \cdots \text{式 1}$$

2 本鎖 DNA 測定 → ワイピング → TE buffer → ワイピングを 1 セットとし 60 セット行った結果、キャリアオーバー (%) は 0.3% 以下に保たれ、自動ワイピングを用いた時のサンプル場のサンプル残量は非常に低いことを確認しました。

表 1 分析条件		
光路長 0.2 mm	サンプル濃度	50 ～ 3700 ng/μL
	サンプル量	1 μL
光路長 0.7 mm	サンプル濃度	15 ～ 1000 ng/μL
	サンプル量	2 μL
光路長 5 mm セル (オプション)	サンプル濃度	2 ～ 150 ng/μL
	サンプル量	2 mL

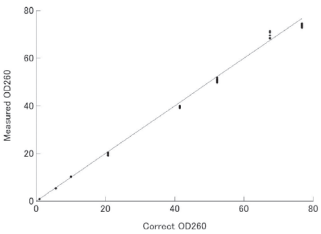


図 1 光路長 0.2 mm における分析結果

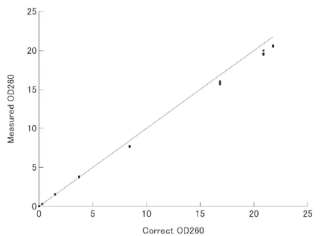


図 2 光路長 0.7 mm における分析結果

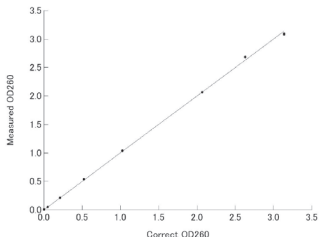


図 3 光路長 5 mm セルにおける分析結果

まとめ

光路長 0.2 mm、0.7 mm においてそれぞれ 1 ～ 2 μL のサンプル量で簡便かつ優れた測光値直線性、測定再現性、測光値正確さを示す核酸定量が行えます。

応用例

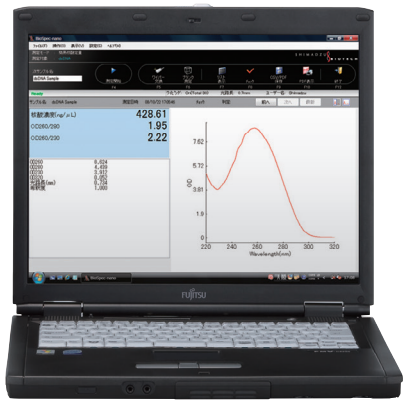
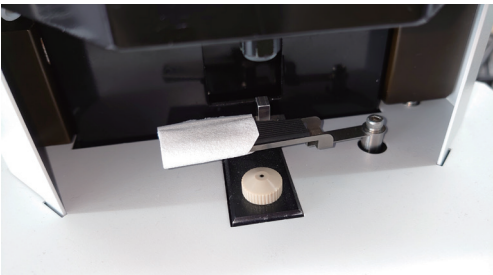
- ・ 1 本鎖 DNA 濃度測定
- ・ RNA 濃度測定
- ・ タンパク質濃度測定 (P.38 参照)

BioSpec-nano



- 抽出した二本鎖 DNA 濃度の測定や、精製度の確認にご利用いただけます。
- サンプル容量最小 1 μL から測定可能です。
- 低キャリアオーバーを実現した自動ワイピング機能を搭載しています。

自動ワイピング機能付きで
拭き忘れなし



システム仕様

装置：	BioSpec-nano
波長範囲：	220 ～ 800 nm
スペクトルバンド幅：	3 nm
波長正確さ：	± 1 nm
光路長：	0.2 mm、0.7 mm
測光値表示単位：	OD (Optical Density)、光路長 10 mm 換算吸光度
サンプル容量：	光路長 0.2 mm：1 μL 以上 光路長 0.7 mm：2 μL 以上
光源：	キセノンフラッシュランプ
分光器：	ホログラフィックグレーティング
検出器：	フォトダイオードアレイ
自動ワイピング機能：	あり
スペクトル測定時間：	3 秒
定量可能濃度範囲：	光路長 0.2 mm：1 ～ 75 OD、50 ～ 3,500 ng/L 光路長 0.7 mm：0.3 ～ 21 OD、15 ～ 1,000 ng/L 光路長 5 mm セル：0.04 ～ 3 OD、2 ～ 150 ng/μL (オプション)
大きさ：	幅 210 mm × 奥行 214 mm × 高さ 417 mm
重さ：	7 kg
測定モード：	簡易核酸定量、ラベル化核酸定量、タンパク質定量、ラベル化タンパク質定量、フォトメトリック測定

* 液滴の形成状態が分析結果に影響を与えます。十分な液滴が形成できる量で測定ください。



DNA/RNA 分析用電気泳動



ヘテロ二本鎖移動度分析を用いた
ゲノム編集の変異確認



click here

装置原理と特長

MultiNA™ は、DNA や RNA のサイズを測定するマイクロチップを用いた自動電気泳動装置です。アガロースゲル電気泳動におけるゲルの作成からサンプルアプライ、電気泳動、染色、検出、洗浄までを自動で行います。アガロースゲル電気泳動では、移動度や染色による検出のバラつき、目視によるサイズ推定は客観性に欠けます。MultiNA は、専用試薬、蛍光色素、マイクロチップを使用した全自動分析により迅速、簡易、高感度な電気泳動を実現できます (図 1)。

使用例

Transcription Activator-Like Effector Nuclease (TALEN™) や CRISPR/Cas System などによりゲノム上の任意の配列を切断させると、細胞は切断された二本鎖 DNA の修復を行います。ゲノム編集は、この修復時に発生する修復エラーを利用し、元の配列に欠失や挿入を導入させる遺伝子改変技術です。ゲノム編集によって目的とする遺伝子改変が導入できたかを確認する手法として、立体構造の異なるホモ二本鎖 DNA とヘテロ二本鎖 DNA の電気泳動での移動度差を利用した分析を行うことがあります (ヘテロ二本鎖移動度分析、HMA)。

測定方法と結果

変異導入後の個体における欠損／挿入近傍領域に対して PCR 後、PCR 産物を変性⇒再アニールしてヘテロ二本鎖を形成させます。その後、サンプルの泳動パターンを MultiNA で確認することで、鎖長鎖だけでは判別困難な欠失の短い有無を確認することができます (図 2)。

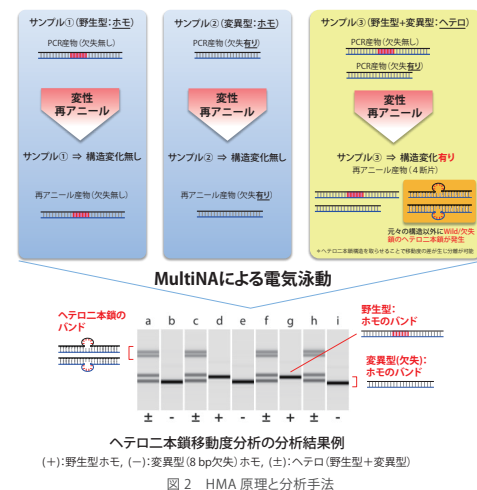


図 2 HMA 原理と分析手法

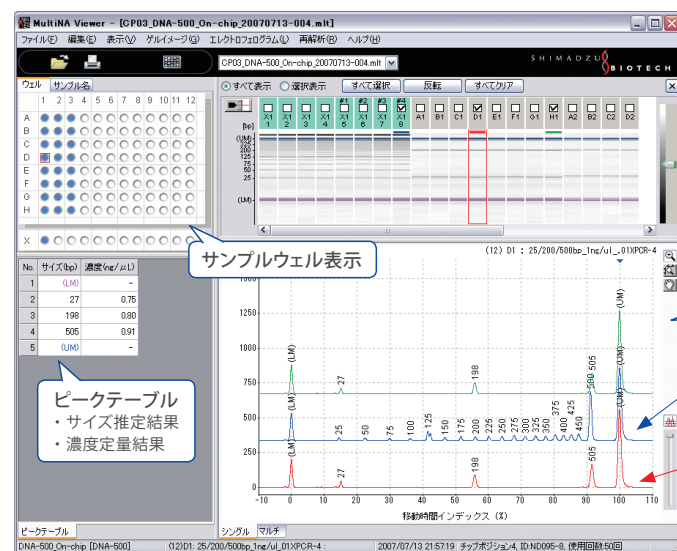


図 1 MultiNA で解析された結果の表示例

まとめ

MultiNA は、アガロース電気泳動法の不満を解消するための新しい自動分析プラットフォームです。DNA/RNA の有無やサイズを再現性良く簡単にチェックできます。

こちらの記事は京都大学大学院 農学研究科 応用生物科学専攻 木下政人先生にご協力いただきました。

応用例

- ゲノム編集の変異確認
- 次世代シーケンサのライブラリーチェック
- ジェノタイピング、微生物やウィルスの検出

MCE-202 MultiNA



benefits

- 分析コストと手間を低減することができます。
- 最大 108 分析まで全自動分析可能です。
- 高感度・高分解能・高再現性を実現しました。



システム仕様

装置：	MCE-202 MultiNA
サンプルラック：	96 ウェル PCR プレート (蒸発防止にアルミシートが必要) および 12/8 連 PCR チューブ (当社推奨品) に対応
マイクロチップ：	石英製 (繰り返し使用可) S292-36000-91
前処理機能：	自動サンプル分注、自動分離バッファ充填、自動チップ洗浄、アルミシール専用ピアシング機能
泳動：	最大定格電圧 = 1.5 kV、最大電流 = 250 μ A チップステージ定温温調機能
検出方法：	LED 励起蛍光検出 (励起波長：470 nm) <クラス 1 LED 製品>
最大サンプル数：	108 サンプル
分析サイズレンジ (MultiNA 専用試薬キット)：	25 ~ 500 bp (DNA-500 キット) S292-27910-91 100 ~ 1,000 bp (DNA-1000 キット) S292-27911-91 100 ~ 2,500 bp (DNA-2500 キット) S292-27912-91 100 ~ 12,000 bp (DNA-12000 キット) S292-36600-91 28S rRNA (5.0 knt) まで (RNA キット) S292-27913-91
マイクロチップ洗浄：	チップクリーニングキット RA S292-35925-91
サンプル量：	5 μ L
定量範囲：	DNA 分析 = 0.5 ~ 50 ng/ μ L 50 mM KCl、1.5 mM MgCl ₂ を含む 10 mM Tris-HCl バッファのとき RNA 分析 = 25 ~ 500 ng/ μ L (total RNA)、25 ~ 250 ng/ μ L (mRNA) 1 mM EDTA を含む 10 mM Tris-HCl バッファのとき
外形寸法：	幅 415 mm × 奥行 545 mm × 高さ 508 mm
重さ：	43 kg
電源：	100 - 120 V、220 - 230/240 V 300 VA 以下
装置制御：	分析スケジュール作成、リアルタイム制御、自動分析前処理、自動分析後処理、自動エラー処理、分析ログ管理、分析性能点検
データ処理：	ゲルイメージ・フェログラムの一括・詳細表示、サイズマーカによる自動サイズ推定・自動定量、データ検索、データのインポート・エクスポート、手動編集と再解析
レポート出力：	データの多段階表示、サンプル、ファイルなどのツリー表示、RNA 構成比、分析性の点検結果、分析ログの表示



細胞コロニーのピッキング



細胞コロニー分離法による
ゲノム編集細胞のピッキング操作を自動化



click here

装置原理と特長

CELL PICKER™ は、高速液体クロマトグラフのコア技術のひとつである液体吸引吐出動作を応用しています。目的の細胞を目視で決定して頂いたあとは、ボタンを押すとノズル先端にピペットチップを自動で取りつけ、目的の細胞付近に安定的にチップ先端が近づきます。チップ先端が細胞を掻き取ると同時に計量ポンプが動作し細胞と微量の培地を吸引し、吐出します。観察、操作はタブレット上で可能なため、作業負担を軽減することができます。

操作方法と培養条件

$1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ cells/well で播種したヒト結腸腺癌細胞（HCT116 細胞、接着細胞）を 6 日間 6 well plate で培養した後、CELL PICKER を用いて細胞をピックアップし 96 well plate に播種しました。その後同様の培養条件で 6 日間培養した後接着および増殖について確認しました。作業フローのイメージを図 1 に示しました。

結果

ピッキング前後の様子を図 2 に示し、ピッキングした細胞の増殖の様子を図 3 に示しました。
播種した well のうち、接着増殖した well の割合は 100% でした。細胞を損傷させることなくピッキング及び播種可能であることが確認されました。

応用例

・iPS 細胞樹立時のピッキング

iPS 細胞コロニーは、未分化性を維持し、継続培養が可能であることを確認しました。

・浮遊した細胞集塊（スフェロイド）の回収

三次元培養で作製したスフェロイドを回収する目的でもご使用できます。

HEK293 細胞（400 ～ 500 μm ）の複数あるスフェロイドの中から 1 個のスフェロイドをピッキングすることができます（図 4）。

表 1 接着細胞培養条件	
細胞：	HCT116 細胞（ヒト結腸腺癌細胞）
培地：	McCoy's 5A 培地 10% FBS, 2 mM Glutamine 添加
コーティング：	ゼラチン溶液
培養条件：	静置, 37 °C, 5% CO ₂

ゲノム編集ツールをかけた細胞を播種し、コロニーを形成させます

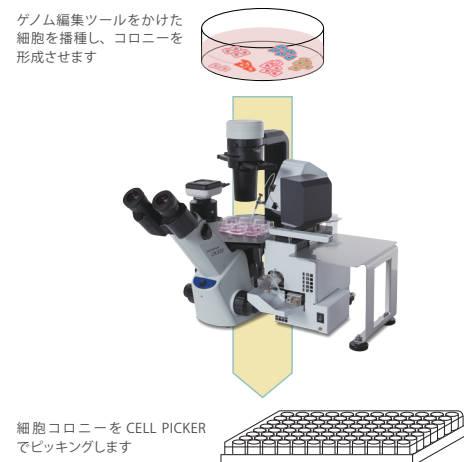


図 1 作業フローのイメージ

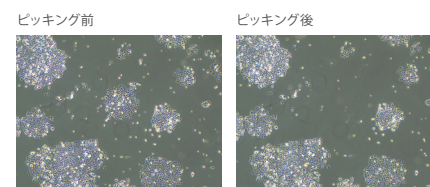


図 2 ピッキング前後の様子

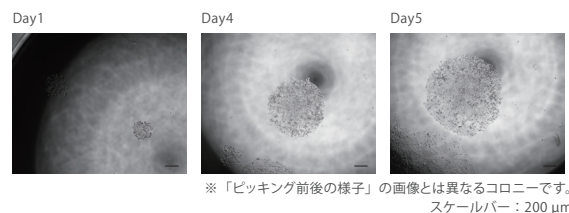
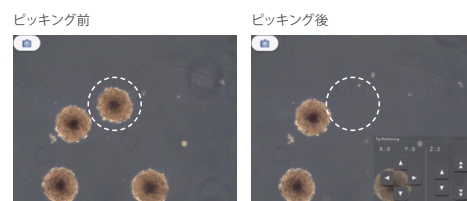


図 3 ピッキング後の細胞増殖の様子



画像中の白枠線はソフトウェア上に表示されません。
※本操作には専用の動作プログラムが必要です。

図 4 スフェロイドピッキング前後の様子

CELL PICKER



- 手作業を自動化し、安定したピッキング作業が可能です。
- シンプルな操作感で、作業を記録することが可能です。
- 小型で省スペースなので手狭な実験室にも設置可能です。



システム仕様

装置：	CELL PICKER
顕微鏡：	島津理化製 AE2000、OLYMPUS 製 CKX53
チップ：	200 μL
推奨：	QSP（サーモフィッシャーサイエンティフィック）製
型番：	TW110-96RNS-Q
ピッキング先培養器： （推奨品）	6 well plate：FALCON_353046 / IWAKI_3810-006 6 cm dish：FALCON_353002 / IWAKI_3010-060 10 cm dish：FALCON_353003 / IWAKI_3020-100
吸引量：	約 10 μL （ピッキングモード時）
寸法：	幅 280 mm × 奥行 350 mm × 高さ 400 mm（顕微鏡含まず）
重量：	約 8.5 kg
電源：	100 – 240 V、75 VA、周波数：50 / 60 Hz
使用温度：	10 – 35 °C
使用湿度：	20 – 85% RH

*別途操作用タブレット PC をご準備頂く必要があります。



ラベルフリー細胞イメージング



ゲノム編集後のシングルセルクローニングに
平面 / 3 次元細胞イメージングシステムを



click here

装置原理と特長

Cell³iMager duos は、平面培養した細胞、スフェロイドなどの 3 次元培養細胞をラベルフリーで観察することができます。Well 全体の画像（図 1）や、選択部分の画像を高速でスキャンし、取得した画像を計測レシビで画像解析することで、個数や細胞の面積、真円度などの形態に関する定量データを計測することができます。標準ソフトウェアでは、定量データ（図 2）の CSV ファイル出力に加え、定量化した解析結果をヒートマップなど各種グラフとして直観的に表示することが可能です。

測定方法と結果

GFP 発現遺伝子を HeLa 細胞にトランスフェクションし数日培養後、PERFLOW Sort (p. XX) で 96 well plate にシングルセルソーティングした細胞を Cell³iMager duos で 10 日間撮像しました。増殖の様子を確認するために明視野観察を、GFP 発現確認のために、蛍光観察を実施しました。C9 の位置の well では、培養 8 日目でコロニー形成が確認され、10 日目の蛍光画像では GFP 発現も明確に確認できました（図 3 上）。また、培養 0 日目に取得した画像から同コロニーがシングルコロニー由来であることも確認いたしました。撮像後、GFP 陽性のコロニー数を数えました。各 well の計測結果をヒートマップ表示し（図 3 下）、シングルセル由来であるものは赤枠表記いたしました。ヒートマップの各 well 内の数字は、コロニー数を表しています。

まとめ

本製品を利用し、細胞培養状態の観察が可能です。明視野観察に加え、蛍光観察も可能なため、蛍光タンパク質の発現等の確認にご利用できます。また、高速自動計測機能も搭載しており、スキャンした画像から細胞数や粒子径計測等の定量データの取得も可能です。

応用例

- ゲノム編集後のクローン作製
- 細胞株樹立時のクローナリティ観察
- 非侵襲での薬剤感受性評価

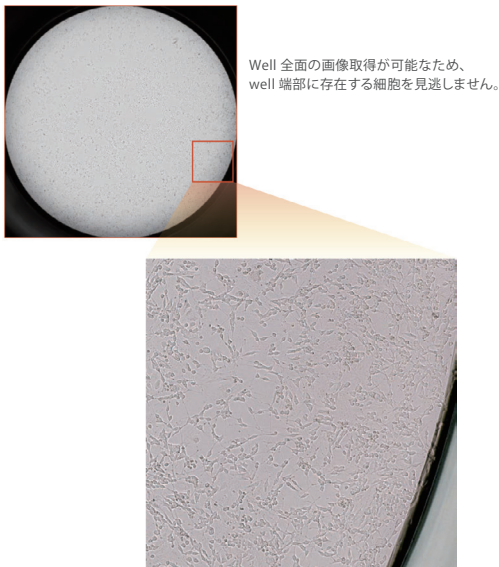


図 1 ホールウェル画像

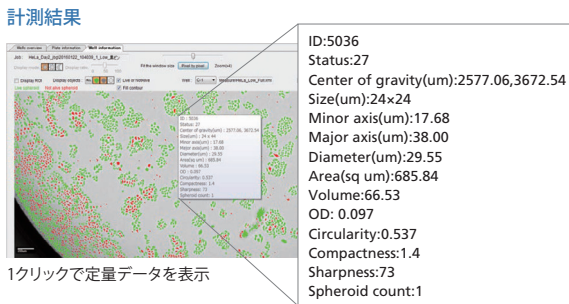


図 2 計測結果表示例

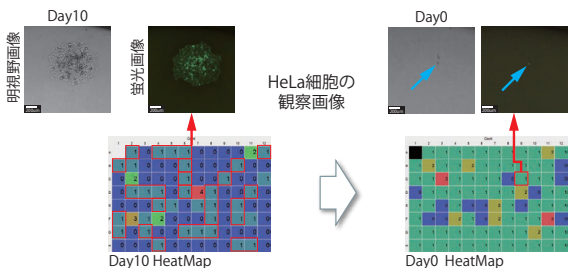


図 3 GFP 陽性を検出した結果例

データご提供：東京大学大学院薬学系研究科 細胞情報学教室 名黒功先生

Cell³iMager duos



benefits

- 高速ラベルフリーイメージングが可能です。
- 画像処理により細胞 / スフェロイド数、面積、類似体積、粒度分布といった多彩な解析データを取得できます。
- 様々な培養細胞を用いた化合物の有効性評価、安全性評価に適した解析が可能です。



システム仕様

装置：	Cell ³ iMager duos
対応容器：	6 ～ 384 ウェルプレート（平底・U 底）
スキャン速度：	高速モード：60 秒 / 1 プレート ※ 96well plate のとき 高精細モード：5 分 10 秒 / 1 プレート ※ 96well plate のとき
スキャン分解能：	高速モード：6350 dpi（約 4 μm / pixel） 高精細モード：31500 dpi（約 0.8 μm / pixel）
光源：	ストロボ白色 LED
計測内容：	画像解析によるスフェロイド数、面積、直径、光学濃度、真円度、輪郭鮮明度、座標など
出力形式：	・基本ソフトウェアでの捕捉表示、数値データ確認 ・粒状分布チャート、増殖傾向チャート確認 ・各種計測データの CSV ファイル出力
使用環境：	18 ～ 28 °C
電源：	AC 単相 100 ～ 240 V
外形寸法：	幅 677 mm × 奥行 570 mm × 高さ 550 mm
本体重量：	106 kg
オプション：	蛍光観察ユニット、深層学習用ソフトウェア



培地中の金属元素成分を簡易定量



原子吸光法による細胞培養上清中 金属元素モニタリング



click here

装置原理と特長

原子吸光法は、高温で元素を原子化し、原子化時に特定の波長の光が吸収されることを利用して元素濃度を定量する手法です。原子化法は主に①電流を流して加熱する電気加熱法（高感度）と、②可燃性ガスの炎で加熱するフレイム法の2つに分類されますが（比較：表1）、本装置は両手法の測定が可能で、オートアトマイザチェンジャ（AAC）を用いることで自動切換え測定も可能です。

測定条件および測定方法

高濃度含有されているMgとZnに関してはフレイム法、それ以外の微量元素（Cu, Mn, Co, Fe）に関しては電気加熱法を用いて表2、3の条件で測定しました。CHO細胞を125 mL フラスコにて4日間振とう培養しました。培養開始直後から24時間ごとに1 mL ずつ細胞培養液をサンプリングし、遠心分離した後の上清を回収しました。Cu, Mn, Znに関しては20倍希釈、Co, Feに関しては40倍希釈、Mgに関しては500倍希釈して分析に供しました（硝酸濃度は0.5 v/v%に調製）。各元素の標準液は、原子吸光分析用標準液（1000 mg/L）をそれぞれ希釈し、硝酸濃度を0.5 v/v%に調製しました。全ての分析は検量線法で行いました。

結果

どの成分においても各検量線は $r = 0.999$ 以上と良好な相関関係が得られました。添加回収試験は元素ごとに一定濃度の標準液を添加することで実施し（添加回収率 = 添加サンプルと無添加サンプルの濃度差 / 添加濃度）概ね $100 \pm 10\%$ 以内となり良好な添加回収率が得られました。電気加熱法およびフレイム法で各サンプルにおける培養上清中の濃度の経時変化をモニタリングすることができました。電気加熱法およびフレイム法での培養上清の測定結果のピークプロファイルと濃度の経時変化の結果を抜粋して図1、2に示します。

まとめ

2種類の原子吸光法（電気加熱法・フレイム法）での測定が可能な原子吸光分光光度計（AA-7000）を用いて細胞培養上清中の金属元素濃度を定量することができます。細胞培養上清を希釈するだけの簡便な前処理だけで、金属元素濃度の経時変化のモニタリングが可能です。

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- 細胞培養用培地中の金属元素分析（A634）

参考文献
1) Inn H Yuk et al., Biotechnology Progress, 30, 429-442 (2014)
2) Prabhu et al., Applied Microbiology and Biotechnology, 102, 5989-5999 (2018)
3) アプリケーションニュース A634 原子吸光法による細胞培地中金属元素の直接分析

表1 原子化法の比較

	電気加熱法	フレイム法
感度	ppt ~ ppb	ppb ~ ppm
原子化効率	90% 以上	約 10%
必要サンプル量 / 1 分析	5 ~ 50 μ L	1 ~ 2 mL
分析時間 / 1 分析	2 ~ 5 min	5 ~ 10 sec
再現性	RSD 3% 程度	RSD 1% 程度

表2 電気加熱法の分光器および原子化条件

	分析波長 (nm)	スリット幅 (nm)	灰化温度	原子化温度	点灯モード	チューブ タイプ
Cu	324.8	0.7	800℃	2500℃	BGC-D2	プラットホーム型 チューブ
Mn	279.5	0.2		2200℃		
Co	240.7			2300℃		
Fe	248.3			2300℃		

表3 フレイム法の分光器および原子化条件

	分析波長 (nm)	スリット幅 (nm)	点灯モード	フレイムタイプ	アセチレン流量
Zn	213.9	0.7	BGC-D2	空気 - アセチレン	2.0 L/min
Mg	285.2				1.8 L/min

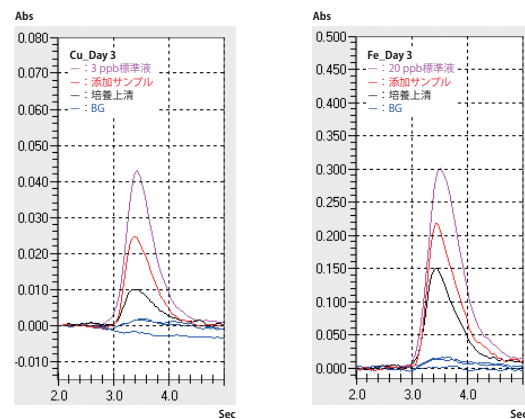
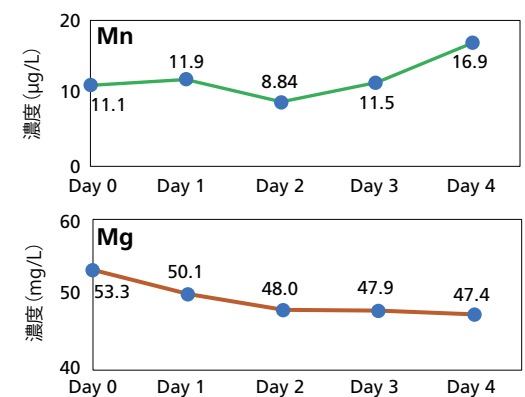


図1 ピークプロファイル



* 測定値を細胞培養上清原液に換算した値です。

図2 細胞培養上清中のMnとMg濃度の経時変化

AA-7000 シリーズ



benefits

- 煩雑な前処理なく培地中の金属元素成分を分析できます。
- 安価かつ簡便に複数の微量金属元素を定量できます。
- 電気加熱法もフレイム法も測定可能で自動切換も可能です。



システム仕様

装置：	AA-7000F/AAC	
測定波長範囲：	185.0 ～ 900.0 nm	
バンド幅：	0.2、0.7、1.3、2.0 L nm (4 段階自動切換)	
BG 補正：	高速自己反転法 (BGC-SR)、重水素ランプ法 (BGC-D2)	
点灯モード：	EMISSION、NON-BGC、BGC-D2、BGC-SR	
測定モード：	フレイム吸引法、フレイム一滴法、ファーンズ法、炎光法	
最大サンプル点数：	試薬 8 点、サンプル 60 点 (オートサンプラー使用時)	
電子記録関連：	ログイン ID / パスワードによる管理、ユーザレベルによる使用権限の制限管理、ログの記録、オーディットトレイル、電子署名	
位置調整：	モータ駆動によるバーナ／ファーンズ自動切換	
大きさ・重さ：	幅 700 mm × 奥行 588 mm × 高さ 714 mm、76 kg (オートサンプラー除く)	
フ レ ー ム	バーナーヘッド：	チタン製 10 cm スロット (標準)
	ネブライザー：	Pt-Ir キャピラリー、PTFE 製オリフィス、セラミック製インパクトビード (ふっ素酸使用可能)
	フレイムの種類：	Air-C ₂ H ₂ 、N ₂ O-C ₂ H ₂
	安全装置：	自動ガス漏れチェック、C ₂ H ₂ 流量増量による Air/N ₂ O 自動切換、バーナ誤使用防止機構、ガス圧力モニタ、ドレイン水位モニタ、瞬時停電自動検出による安全消火、振動センサによる安全消火、逆火検知
フ ア ー ネ ス	加熱制御方式：	乾燥：電流制御方式 (自動温度校正機能あり) 灰化、原子化：光温度制御方式
	キャリアオーバー：	洗浄ポート：0.0001 以下 調合ポート：0.00001 以下
	自動希釈再測定：	未知サンプルの測定結果が作成した検量線で 外挿可能な場合：検量線範囲内に入るように倍率を自動計算して希釈 外挿不可能な場合：希釈率は一律 10 倍とする
	安全装置：	冷却水流量モニタ、ガス圧モニタ、過電流防止装置 (ブレーカと光センサの二重チェック)、ファーンズブロック冷却チェック



細胞培養液成分をモニタリング

培養条件の最適化に向けた
CHO 細胞培養上清中の成分一斉分析

click here

装置原理と特長

LCMS™-8060 は、感度と高速性を兼ね備える UF Technology が結集しています。高速スキャンと高速正負イオン化切替が可能であるため、多様な化学特性を有する代謝物の高速多成分一斉分析を可能にします。細胞培養プロファイリングメソッドパッケージは培養上清の多成分分析に最適化されたメソッドで、最大 125 化合物（製品スペック参照）の分析が 20 分以内で実施可能です（図 1）。今回は、CHO 細胞培養上清成分の経時変化をモニタリングした事例をご紹介します。

測定方法および結果

CHO 細胞培養液を 24 時間ごとにサンプリングし、遠心上清を用いました。これを除タンパク処理し超純水で希釈したものを分析に供しました。測定したデータをエクスポートし、培養上清成分の時系列変化を可視化しました。図 2 に示したように細胞がどの培地成分を好んで消費し、どのような代謝物が培地中に分泌されるか解析することが可能です。

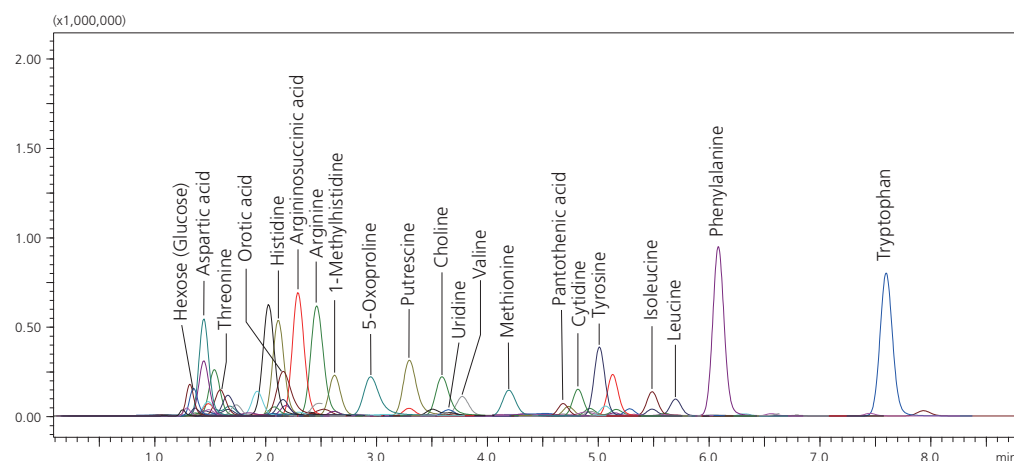


図 1 MRM クロマトグラム

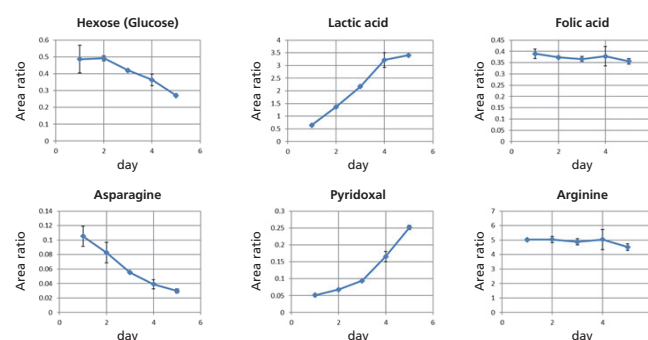


図 2 各成分の経時変化

まとめ

細胞培養液を我々のご提案するメソッドを用いて LC/MS/MS 分析することで、細胞培養液成分の一斉解析を短時間で行うことが可能です。

お客様での実施例

1) Zhiyuan Sun *et al.*, *Biologicals*. 61, 144-51 (2019)

応用例

- Spent media analysis
- 培地、ウシ胎児血清などの定性および定量（検量線作成必要）
- 培養上清、体液のメタボロミクス

Nexera™ X3 + LCMS-8060 + 細胞培養プロファイリング



- 培養上清に含まれるアミノ酸、ビタミン、核酸など最大 125 化合物を 20 分以内で一斉分析が可能です。
- 測定対象成分について含有量を考慮した感度設定がなされており、希釈系列作成の手間を削減可能です。
- 多成分経時変化モニタリングにより、培養条件の最適化を強力に支援します。



システム仕様

メソッドパッケージ：	LC/MS/MS メソッドパッケージ細胞培養プロファイリング Ver.2
LC 部：	Nexera X3 (SCL-40、LC-40BX3、CTO-40S、SIL-40C X3、ミキサ MR20 μL)
MS 部：	LCMS-8045/-8050/-8060
分析サイクル：	20 分以内／1 サンプル
登録化合物：	125 化合物＋内部標準物質 (2-Isopropylmalic acid) アミノ酸・代謝物 60 化合物 核酸・代謝物 31 化合物 ビタミン類 15 化合物 糖類 4 化合物 その他（有機酸等） 15 化合物
分離モード：	逆相
検出モード：	MRM（ポジティブ・ネガティブ）



細胞培地分析プラットフォーム



培養上清分析の前処理から LC/MS/MS 測定までを自動化



click here

装置原理と特長

C2MAP™-2030 は、有機溶媒添加により沈殿させた培養上清中のタンパク質を吸引る過により除去するための自動前処理装置です。除タンパク済みの培養上清サンプルは自動的に HPLC のオートサンプラーに搬送され、マイクロタイタープレート（MTP）内に分注保管されます。このサンプルは自動的に LC/MS/MS 測定に供され、細胞培養プロファイリングメソッド（ver.1 相当）により、95 成分の一斉分析が実行されます。波形処理後のデータファイルを製品付属の C2MAP TRENDS™ にロードすることで、容易に各成分の時系列変化グラフを作成することが可能です（図 1）。

C2MAP システムは LC-MS/MS システムに自動前処理装置を結合させることで、シームレスな分析を可能にしました。サンプル情報と測定データファイルが紐づけられるので、サンプルの取り違いなどのヒューマンエラー低減も可能です。用手法では作業者の技量に依存してデータの質が変動しますが、自動化装置を用いることで誰がオペレートしても再現性良くデータが取得可能です（図 2）。また、自動化によりオペレーターの作業時間を削減することが可能です（図 3）。

自動前処理装置
C2MAP-2030オートサンプラー
SIL-30ACLCMS-8050/-8060
細胞培養プロファイリング
(ver. 1 相当のメソッドが付属)

C2MAP TRENDS

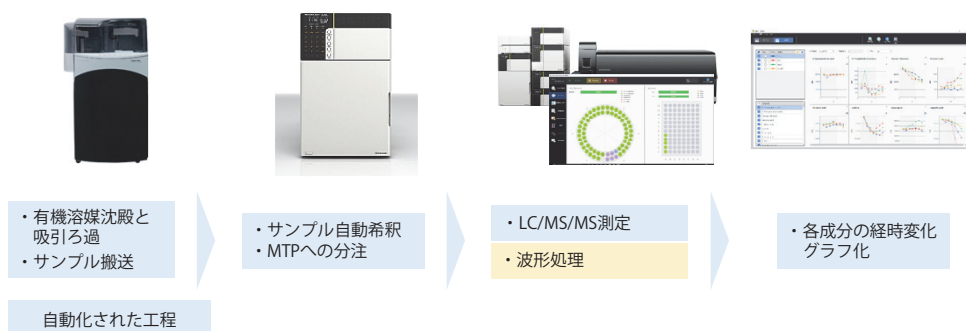
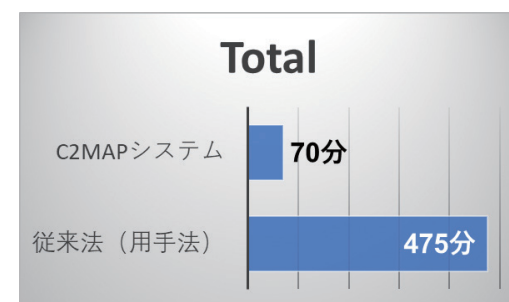
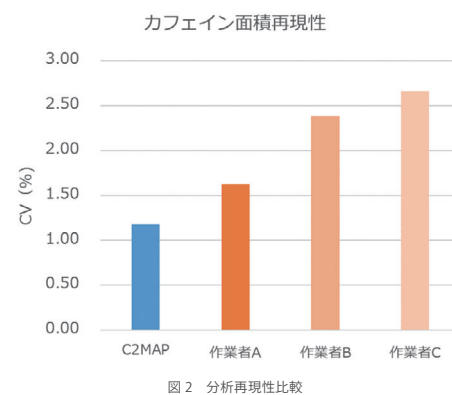


図 1 C2MAP システムにおける分析フロー



まとめ

本製品を用いることで、最大 65 サンプルまでの培養上清サンプルの除タンパク操作を自動化することが可能です。さらに LC-MS システムと結合することで、前処理から LC/MS/MS 測定までをシームレスに実行することが可能です。

Cell Culture Media Analysis Platform C2MAP システム



- 培養上清分析の前処理から LC/MS 測定までの自動化により、誰でも高品質のデータ取得可能です。
- 専用の制御ソフトウェアにより、サンプルと測定結果を紐付けることが容易です。
- 自動前処理に必要なモジュールのみで稼働でき、LC-MS/MS システムを他の分析と共用可能です。



システム仕様

装置：	C2MAP-2030
LC 部：	NexeraX2 (CBM-20A、LC-30AD、CTO-20AC、SIL-30AC、ミキサ MR20 μ L 他)
MS 部：	LCMS-8050/-8060
必要サンプル量：	400 ~ 500 μ L (100 ~ 250 μ L、オプションラック使用時)
前処理時間：	10.8 min / サンプル (LC/MS 測定は 17 min / サンプル)
前処理工程：	内標 / サンプル / 有機溶媒添加、攪拌、吸引る過、処理後サンプル搬送
処理方式：	バッチモード 全サンプルの一括前処理完了後に LC/MS 測定開始 逐次モード 1 サンプル毎の逐次並列処理 前処理モード 全サンプルの前処理のみ実施
最大サンプル数：	65 (逐次モード使用時は 64)
外形寸法：	幅 670 mm × 奥行 700 mm × 高さ 1,190 mm (C2MAP-2030 のみ)
重量：	185 kg (C2MAP-2030 のみ)

分取精製から製品評価までを自動化



ヒト血漿中 IgG の精製から SEC 評価のシームレスな分析



click here

装置原理と特長

Prominence™ イナート LC システムは、接液部に PEEK などの樹脂素材を使用しています。バイオ医薬品分析に欠かせない塩化ナトリウムなどのハロゲン化物イオンは、金属に対する高い腐食性を有しておりますが、メタルフリー設計のため安心してご利用いただけます。

リキッドハンドラー（LH-40）は、オートサンプラーおよびフラクションコレクターが一体化したものです。そのため、1 回目の分析で分取したサンプルをフラクションコレクターから移さずにそのまま 2 回目の分析に注入することが可能です。例えば、1 段階目でアフィニティー精製を、そのフラクションを 2 段階目にサイズ排除クロマトグラフィーで評価するという工程を、メソッドとフラクションを指定するだけで分析いただけます。

測定方法と測定条件

移動相 A で 5 倍に希釈した、市販の正常ヒトプール血漿 5 mL を 15 mL チューブに用意し、LH-40 のラックにセットしました。これを表 1 の条件で IgG 精製カラムを用いてアフィニティー精製を行い、LH-40 にセットした 96 ディープウェルプレートに分取しました。ここで得られたピークトップ部分のフラクション 100 μ L を表 2 の条件でサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）分析を行いました。

結果

1 段階目のアフィニティー精製で得られた IgG のピークと、2 段階目で SEC 分析をして得られたピーク（図 1）を選元の SDS-PAGE で評価した結果、目的の IgG の H 鎖と L 鎖のバンドが検出されました（図 2）。

まとめ

LC システムに組み込まれたリキッドハンドラー（LH-40）にサンプル溶液をセットするだけで精製のみならず、分取したフラクションの再分析までシームレスに行うことができます。ターゲットが決まっているルーチンワークの場合、目的フラクションだけを再分析することも可能です。さらにカラムスイッチングバルブの追加によりカラムを増やして精製条件の検討や多段階精製を行うこともできます。また、96 ウェルプレートに分取することで、SDS-PAGE や ELISA 等その後の様々な分析にそのままお使いいただけます。

応用例

- 細胞培養タンパク質の発現・品質確認
- 培養条件の最適化
- 血中タンパク質の評価

表 1 アフィニティーカラム分析条件	
Column :	HiTrap rProtein A FF (1 mL) (cytiva 社製)
Mobile phase A :	10 mmol/L (sodium) phosphate buffer pH 6.9
Mobile phase B :	100 mmol/L (sodium) citrate buffer pH 4.0
Time Program (B. Conc.) :	0% (0 – 10 min) → → 100% (10.01 - 20 min) → → 0% (20.01 – 35 min)
Flow rate :	1.0 mL/min
Column Temp. :	15 °C
Injection Volume :	5 mL
Detection :	SPD-20A (280 nm)
Flow Cell :	Inert flow cell

表 2 SEC 分析条件	
Column :	Shim-pack™ Bio Diol-300 (300 mm × 4.6 mm I.D., 5 μ m)
Guard Column :	Shim-Pack Bio Diol-300 (G) (30 mm × 8.0 mm I.D., 5 μ m)
Mobile phase A :	10 mmol/L (sodium) phosphate buffer pH 6.9
Flow rate :	0.5 mL/min
Column Temp. :	15 °C
Injection Volume :	100 μ L
Detection :	SPD-20A (280 nm)
Flow Cell :	Inert flow cell

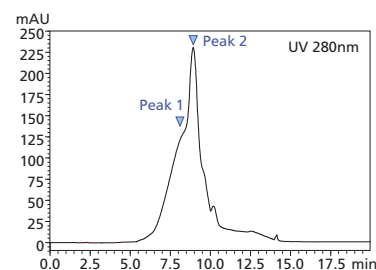


図 1 SEC 分析のクロマトグラム

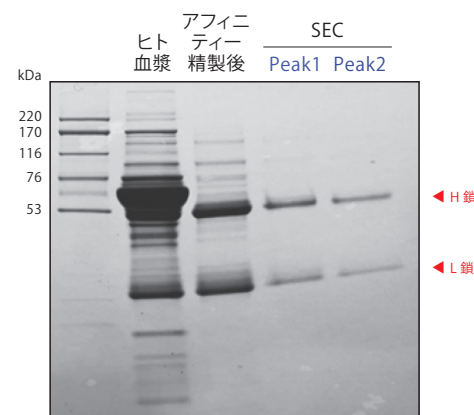


図 2 SDSPAGE (選元) 結果

Prominence イナート LC システム + LH-40



- 分取後の目的ピークを選ぶだけで自動的に再注入され分析できます。
- 搭載したカラムスイッチングバルブにより、精製や分析に合わせたカラムを自動切換できます。
- 培養条件の最適化など、多数のサンプルを比較したい時などにもとても便利です。

96 ウェルプレートや試験管等
様々な容器に対応



システム仕様

Prominence イナート LC システム	システムコントローラ	CBM-20A	
	送液ユニット	LC-20Ai 2 台	
	脱気ユニット	DGU-20A5R	
	カラムオーブン	CTO-20AC	
	ミキサ	ミキサ PEEK	S228-45093-92
	UV-VIS 検出器	SPD-20A	
リキッドハンドラー LH-40		イナート LC 用フローセル	S228-33338091
	高圧流路切替バルブ	FCV-12AHi	
	オプションボックス VP		S228-65512-58
	リキッドハンドラー LH-40 本体		S228-65506-41
	LH バルブキット プンシュヨウ		S228-75605-42
	シリンジキット 20 mL		S228-64173-44
	サンプルコイル 5ML		S228-39389-94
	分析キット		S228-75587-41
	洗浄ポンプ		S228-75586-41
	サンプルラック		S228-75268-41
SEC 分析カラム例	ラックキット D16		S228-75604-49
	ラックキット MTP		S228-75604-40
	Shim-Pack Bio Diol-300	(300 mm × 4.6 mm I.D., 5 μ m)	S227-31010-04
	Shim-Pack Bio Diol-300 (G)	(30 mm × 8.0 mm I.D., 5 μ m)	S227-31010-06



タンパク質の一次配列構造解析



PPSQ™-51A/53A グラジエントシステムを用いた
マウス IgG の N 末端部アミノ酸配列システム



click here

装置原理と特長

PPSQ は、エドマン分解を自動化させたプロテインシーケンサです。エドマン分解によりアミノ酸配列を決定する方法は時間がかかるものの、得られたアミノ酸配列結果は信頼性が高く、データベースが構築されていないタンパク質のアミノ酸配列分析に極めて有効です。エドマン分解して得られた PTH-アミノ酸をイソクラティック、もしくはグラジエント溶離にて分析します。

測定方法と測定条件

操作は、分析を行うタンパク質またはペプチドをポリブレン処理をしたガラスフィルターに固定化するか、電気泳動後に PVDF 膜に転写し染色したタンパク質スポットを切り出したものをリアクタにセットするだけで、後は自動分析を行うことができます。分析例で使用したサンプルは、マウス血清由来 IgG 2 pmol を還元処理後、SDS-PAGE にて H 鎖と L 鎖に分離した後に PVDF 膜に転写し染色および脱色後のバンドを切り出したものを用いました（図 1、2）。IgG は還元され H 鎖と L 鎖に分かれます。この H 鎖と L 鎖を表 1 に示す条件で分離精製しアミノ酸配列を分析しました（図 3）。

結果

例えば L 鎖 では Asp-Ile-Gln-Met-Thr-Gln-Ser-Pro-Ala-Ser-Leu-Ser-Ala(Val) と、N 末端から 13 残基までのアミノ酸を同定することができます。データベース検索から Immunoglobulin kappa light chain であると確認できました（図 2）。

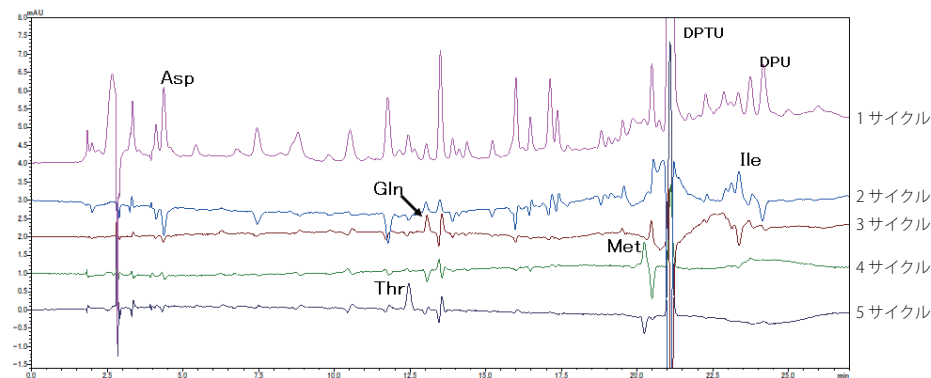


図 3 L 鎖のクロマトグラム（1 サイクル目は生クロマトグラム、2～5 サイクルは差クロマトグラム）

まとめ

PPSQ-51A/53A システムは、N 末端部の配列決定が容易かつ正確に行うことができます。さらに、グラジエントシステムでは、アイソクラティック溶離よりもピーク高さが全体的に 3～5 倍ほど高く検出されるため、微量なタンパク質のアミノ酸配列分析を行うことも可能です。

応用例

- ペプチドの一次配列同定
- S-S 結合の有無及び位置の同定
- 翻訳後修飾の同定

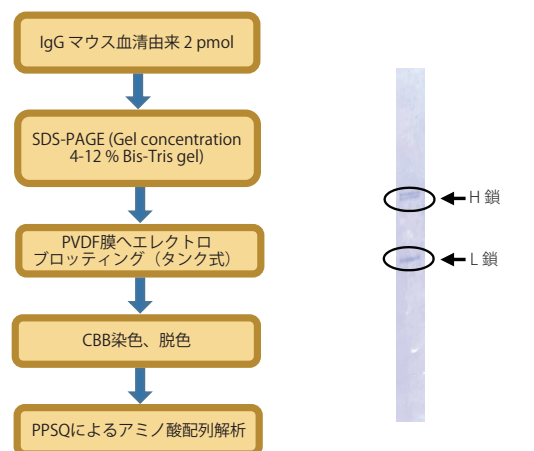


図 1 分析のプロトコル

図 2 エレクトロブロットング後の PVDF 膜

表 1 分析条件 (グラジエントシステム)

Column :	Wakopak Wakosil PTH-GR (S-PSQ, 250 mm × 2.0 mm I.D.)
Mobile phase A :	PTH-amino Acids Mobile Phase A (for Gradient Elution)
Mobile phase B :	PTH-amino Acids Mobile Phase B (for Gradient Elution)
Flow rate :	0.3 mL/min
Column Temp. :	35 °C
Detection :	SPD-M30A (269 nm)
Flow Cell :	High Sensitivity Flow cell

PPSQ-51A / 53A



benefits

- データの信頼性が非常に高く、確実はアミノ酸配列決定が行えます。
- 同じ櫃量数の Ile と Leu を区別でき、S-S 結合の有無とその位置の決定もできます。
- タンパク質をそのまま分析可能で操作が極めて容易です。



PPSQ-51A / 53A イソクラティックシステム

システム仕様

装置：	PPSQ-51A	PPSQ-53A
反応方法：	エドマン分解	
反応時間：	46.5 min / サイクル	48 min / サイクル
リアクタ数：	1	3
サンプル保持方法：	Φ 8 mm ガラスファイバーディスク または PVDF 膜	
リアクタ温度制御範囲：	室温 + 10 °C ~ 60 °C	
コンバータ温度制御範囲：	室温 + 10 °C ~ 70 °C	
サンプル・溶媒数：	7 本	
サンプル・溶媒供給方法：	N ₂ ガス加圧	
寸法：	幅 510 mm × 奥行 500 mm × 高さ 540 mm	
重さ：	43 kg	45 kg
溶離方法：	イソクラティックシステムもしくはグラジエントシステム	
移動相：	島津タンパク質一次構造分析装置用専用溶離液 *	
反応試薬：	島津タンパク質一次構造分析装置用試薬 *	
カラム：	アミノ酸配列分析用カラム *	
所要電源：	AC 100 V、15 A、50/60 Hz	
窒素ガス：	純度 99.9999% 以上	

* 富士フィルム和光純薬株式会社様よりご購入いただけます。



タンパク質の一次配列構造解析



MALDI-TOF MSとプロテインシーケンサによる
より確実なペプチド N 末端部アミノ酸配列解析



click here

装置原理と特長

前頁 (P.24) でもご紹介した PPSQ のエドマン分解によるアミノ酸配列解析は、N 末端から各アミノ酸を 1 つずつ順番に分析するため、質量およびデータベース依存性などの問題はありますが、長い配列情報の処理はエドマン分解反応効率の低下により不得手です。そこで、MALDI-TOF MS を用いたインソース分解 (In Source Decay, ISD) の結果を補完的に組み合わせることでより確実で正確な N 末端アミノ酸配列情報を得ることができます。

質量分析によるアミノ酸配列解析では、フラグメントイオン間の質量差を利用してペプチドのアミノ酸配列を決定します。ISD では、レーザー出力を増加させることによって分析物を不安定化し断片化させます。その結果、ペプチドの N-C α 結合での開裂による様々なフラグメント (典型的には c- イオン) が得られます。得られたデータから、データベース検索または *De novo* シークエンシングのいずれかの方法を利用してアミノ酸配列を決定します。データベース検索では、測定された質量をデータベースと比較するため最も簡単で速い方法ですがデータベースの内容に依存します。一方 *De novo* シークエンシングではデータベースを使用しませんが、解析が複雑なため多くの経験と習熟を必要とします。

これに関しては、Mass++ などのソフトウェアを利用すると手動でデータを解釈する必要がなくなるためとても有用です。

測定方法

利尿作用と血管拡張作用を有するホルモンの 45 残基の環状ペプチドからなる脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP、図 1) をサンプルとしました。環状部分を形成するジスルフィド結合を分析する場合、PPSQ では還元アルキル化する必要がありますが、MALDI-TOF MS ではプレート上で還元することができるため、直接分析可能です。

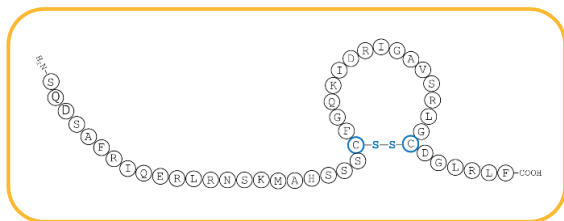


図 1 環状ペプチド BNP の構造



図 2 ISD とエドマン分解シークエンシングの組み合わせによる BNP の配列決定

結果とまとめ

MALDI-TOF MS を利用した分子量測定から、ペプチドまたはタンパク質について多くの情報が得られます。この分子量は、誤ったアミノ酸組成、可能性のある分解、または修飾の存在を迅速に判断するのに役立ちます。ペプチドの正確な平均分子量は、適切なマトリックスの選択によって容易に決定することができます (表 1)。単純なリニアモード専用機の MALDI-8020 を用いた場合でも、質量は理論分子量の 20 ppm 以内の精度で検出されました。

表 2 に示すように、MALDI-TOF MS とエドマン分解による N 末端アミノ酸配列解析はいずれもアミノ酸配列を同定することに大きな利点をもたらします。現在利用可能なすべての方法の中で、エドマン分解による N 末端アミノ酸配列解析法は依然として、タンパク質またはペプチドの実際の N 末端を決定するための最良の方法です。ISD もまた配列情報を得るための信頼できる手段ですが、N 末端に関連する低質量フラグメントについては一般にマトリックスからの干渉のため観測できません。図 2 に、BNP の分析について PPSQ と MALDI-8020 との組み合わせの結果を示します。これらの方法のうち 1 つを使用するだけでは配列の一部しか得られませんが、2 つを補完的に使用することにより、全長の正確な配列情報が得られました。

表 1 BNP の理論質量と実測質量

ペプチド	予測質量 [MH+] ⁺	実測質量 [MH+] ⁺	質量精度 (ppm)
BNP	5038.6	5038.5	20

表 2 PPSQ-50 グラジエントシステムと MALDI-8020 によって特定できる機能の概要表

機能	PPSQ-50 シリーズ	MALDI-8020
N 末端部アミノ酸配列分析	✓	
内部または C 末端部アミノ酸配列分析		✓
同一質量アミノ酸の識別	✓	
データベースの使用回避	✓	
データ解釈の容易性 (アミノ酸配列)	✓	
簡便性	✓	✓
分析速度		✓
質量測定		✓

PPSQ-51A / 53A + MALDI-8020



- PPSQ と MALDI-TOF MS を併用することで長い配列も対応できます。
- より確実で正確なアミノ酸配列解析が可能です。
- MALDI-TOF MS では環状ペプチドや N 末端がブロックされたペプチドも直接分析できます。



PPSQ-51A / 53A グラジエントシステム

MALDI-8020

システム仕様

装置:	MALDI-8020
質量範囲:	m/z 1 ~ 500,000
質量分解能:	> 5,000 FWHM
感度:	> 250 amol
質量精度:	< 20 ppm (内部標準)、< 150 ppm (外部標準)
加速電圧:	15 kV
レーザー:	固体レーザー
波長:	355 nm
繰り返し周波数:	50, 100, 200 Hz (可変)
飛行距離:	850 mm
検出器:	Electron Multiplier
イオン源クリーニング:	自動機能 有 (内蔵個体レーザーによる)
運転音:	< 55 dB
本体電源:	単相 AC 100 V、50/60 Hz、1 kVA
大きさ:	幅 600 mm × 奥行 745 mm × 高さ 1,055 mm (突起部を除く)
重さ:	86 kg
設置環境:	温度: 18 ~ 28 °C 湿度: 70% 以下 (結露しないこと)

* PPSQ については P.25 をご参照ください。



製品のペプチド断片分析



高い再現性を実現した一体型 UHPLC 抗体医薬品のペプチドマッピングへの応用

[click here](#)

装置原理と特長

HPLC によるペプチドマッピングでは、同一性や変異の確認として溶出プロファイルの比較を行うため、再現性の高いシステムが求められます。一体型 UHPLC である“LC-2060”シリーズはそのような分析に理想的なシステムです。

測定方法と測定条件

ヒト免疫グロブリン G (IgG) を還元、アルキル化した後にトリプシンで酵素消化したものをサンプルとして用い（図 1）、表 1 に示す条件で分析を行いました。

結果

トリプシン消化した IgG のクロマトグラムから、非常に多くのピークが検出され、分離できていることがわかります（図 2）。ペプチドマッピングの場合、非常に長く緩やかな傾斜のグラジエントを用いて多くのピークを分離します。そのため、特に低圧グラジエントシステムを用いた場合は再現性が悪化する傾向があることから、保持時間の日内再現性および日間再現性も確認しました。分析結果のクロマトグラムから主要なピーク（a～f）を選び、日内再現性は、連続する 6 回の分析結果から、日間再現性については 6 日間、1 日 3 回の分析を行った 3 回の平均値から算出しました（表 2、3）。日内再現性も日間再現性もどちらも良好な再現性が得られました。

表 1 分析条件	
Column :	Aeris PEPTIDE XB-C18 100 Å (150 mm × 2.0 mm I.D., 1.7 μm)
Mobile phase A :	0.1% Trifluoroacetic acid in water
Mobile phase B :	0.08% Trifluoroacetic acid in acetonitrile
Time Program :	0% (0 min) → 45% (90 min) → (B. Conc.) → 100% (90.01 ~ 95 min) → → 0% (95.01 ~ 110 min)
Flow rate :	0.2 mL/min
Column Temp. :	60 °C
Injection Volume :	10 μL
Detection :	PDA (215 nm)
Flow Cell :	High-speed high-sensitivity cell

まとめ

LC-2060 シリーズは、低圧グラジエントシステムにとって再現性が悪化しやすい条件でも高い再現性でデータが得られるシステムです。また、質量分析計にも接続できますので、ペプチドマッピング等の分析にもご利用いただけます。

応用例

- ・蛍光検出器を用いた高感度分析
- ・各種 UHPLC 分析

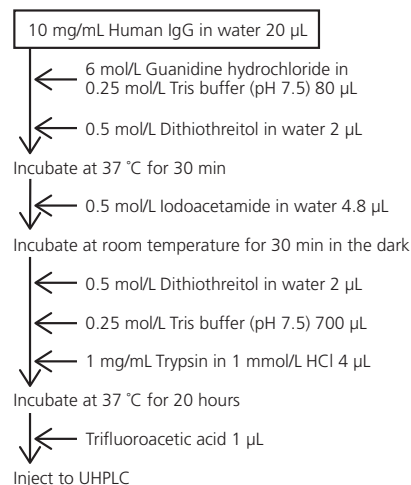


図 1 前処理フロー

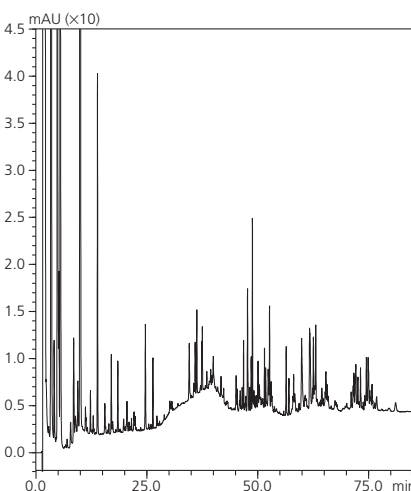


図 2 IgG トリプシン消化物のクロマトグラム

表 2 保持時間の日内再現性 (n = 6)			
Peak	Avg. R.T. (min)	Std. Dev. (min)	%RSD (%)
Peak a	9.929	0.027	0.271
Peak b	24.669	0.047	0.192
Peak c	36.299	0.042	0.117
Peak d	48.815	0.033	0.068
Peak e	59.864	0.032	0.054
Peak f	74.535	0.043	0.057

表 3 保持時間の日間再現性 (n = 6)			
Peak	Avg. R.T. (min)	Std. Dev. (min)	%RSD (%)
Peak a	9.907	0.016	0.159
Peak b	24.708	0.033	0.132
Peak c	36.355	0.034	0.093
Peak d	48.877	0.034	0.093
Peak e	59.901	0.027	0.046
Peak f	74.555	0.036	0.049

LC-2060 シリーズ



- 感度の良いタッチパネルを採用し、手袋をしたままでも反応し、簡単に操作することができます。
- 質量分析計への接続も可能です。
- 医薬品の品質管理にもご利用いただける再現性の高いデータが得られます。



システム仕様

装置：	LC-2060 シリーズ
脱気ユニット：	5 ライン（移動相 4 ポート + 洗浄液 1 ポート）
送液方式：	並列ダブルブランジャ
脈動：	0.1 MPa 以下（1.0 mL/min、10 MPa 水送液）
流量設定範囲：	0.0001 ～ 10 mL/min
グラジエント方式：	4 液低圧グラジエント
グラジエント設定：	0 ～ 100%（0.1% ステップ）
最大耐圧：	70 MPa 0.0001 ～ 3 mL/min
遅れ容量：	460 μL

オートサンブラ	
注入方式：	全量注入方式
注入量設定範囲：	0.1 ～ 50 μL（オプション：0.1 ～ 100 μL、1 ～ 500 μL、1 ～ 2,000 μL）
注入サイクル時間：	最速 14 sec（指定条件）
サンプル数：	336 本（1 mL）、216 本（1.5 mL）、112 本（4 mL）、4 枚（サンプルプレート）
サンプルクーラー：	4 ～ 45 °C

カラムオープン	
加熱冷却方式：	空気循環方式
収納カラムサイズ：	カラム長さ 10 cm × 6 本、カラム長さ 30 cm × 3 本
設定可能温度範囲：	室温マイナス 12 °C ～ 90 °C、設定範囲 4 °C ～ 90 °C
流路切換バルブ：	最大 1 個



タンパク質の二次構造を簡易的に把握



タンパク質の二次構造解析 ～卵白の熱変性による二次構造変化解析～



click here

装置原理と特長

ペプチド結合の C=O 基の伸縮振動に由来する複数の吸収は、重なり合った状態で 1650 cm^{-1} 付近にブロードなピーク（アミド I バンド）として現れます。これを解析することで、タンパク質の二次構造に関する情報を得ることができます。重なり合っている吸収バンド中の各吸収バンドは、波形をローレンツ曲線やガウス曲線などの近似曲線で表した計算スペクトルと実測スペクトルとの差が最小になるように、各吸収バンドの近似曲線のピーク情報（位置、強度、半値幅）を最適化する波形分離（カーブフィッティング）によって求めることができます。今回はこの方法を用いてタンパク質の熱変性に伴う二次構造の変化を二次微分スペクトルと波形分離を用いて考察した例をご紹介します。

測定方法

サンプルには、鶏卵の卵白をそのまま 60 μL 使用しました。測定は、ATR 測定装置 MicromATR™ に加熱型 3 回反射 ATR プリズム（ダイヤモンド / ZnSe）を設置して行いました。これは、卵白が加熱すると固化するため、固体サンプルも測定できる 3 回反射 ATR プリズムを使用しました。また、アミド I ピークは水蒸気のピークと重なるため、乾燥空気を使用して光学系をパージしました。表 1 の測定条件で、温度コントローラを使用して、プリズムの温度を 40 $^{\circ}\text{C}$ から 100 $^{\circ}\text{C}$ まで 10 $^{\circ}\text{C}$ ずつ上昇させ、各温度において卵白に十分に熱が伝わるように昇温後に卵白を滴下し 2 分間保持してから測定を行いました。なお、卵白中の水分の影響を除くため、各温度における水のスペクトルを差し引いた差スペクトルを使用して解析しました。

表 1 測定条件

分解	4 cm^{-1}
積算回数	100
アボタイズ関数	Sqr-Triangle
ゼロフィリング	4 倍
検出器	DLATGS

結果と考察

各温度における卵白と水の差スペクトル（図 1、1700 ～ 1600 cm^{-1} 付近を拡大）から、60 $^{\circ}\text{C}$ 以上で 1625 cm^{-1} と 1675 cm^{-1} 付近のピークが顕著に増加し、熱変性との相関を確認しました。

まとめ

FTIR を使用することにより、タンパク質の熱変性による二次構造変化を簡単に予測することができます。例えば、構造が解明されているタンパク質の熱安定性を高めるために、加熱によってほどこしやすい構造に変異を加えるなどといったタンパク質改変技術に貢献できます。

参考文献：

- 1) JENNIFER KOVACS-NOLAN, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8421-8431 (2005)
- 2) Yoshinori Mine, Tatsushi Noutomi, and Noriyuki Haga, *J. Agric. Food Chem.*, 38 (12), 2122-2125 (1990)
- 3) Jilie KONG, Shaoning YU., *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 39(8), 549-559 (2007)
- 4) A. Kato and T.Takagi, *J. Agric. FoodChem.*, 36, 1156-1159 (1988)

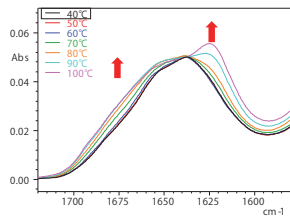


図 1 卵白アミド I バンドの赤外差スペクトル

二次微分スペクトルによる解析

二次微分スペクトルでの評価は、タンパク質の二次構造（ α ヘリックス、 β シート、 β ターン、ランダムコイル）の変化を調べる際に有効です。図 1 から求めた二次微分スペクトル（図 2）から、熱変性により、1693 cm^{-1} と 1622 cm^{-1} 付近の β シートが増加するのに対し、1637 cm^{-1} 付近の β シートおよび 1655 cm^{-1} 付近の α ヘリックスがほどけていることを確認しました。また、熱変性により peak シフトが起こっていることから、水素結合状態が変化していると考えられます。

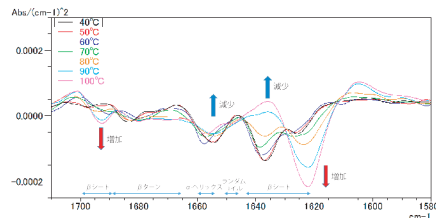


図 2 図 1 の二次微分スペクトル

アミド I バンドの波形分離

アミド I バンドを表 2 の条件で波形分離して得られた個々のピークに対するピーク波数と面積値から、各波形に対して二次構造を割り当て、二次構造の比率を求めました（表 3）。これにより得られた β シートの増加と、 α ヘリックスの減少の傾向は、二次微分スペクトルでの傾向と一致しました。

表 2 波形分離条件

ピーク曲線の種類	ガウス関数
ベースライン	Offset 1 Pt
範囲	1710 cm^{-1} ～ 1580 cm^{-1}
最大誤差	0.01%

表 3 波形分離条件

	α ヘリックス	β シート	β ターン	ランダムコイル
40 $^{\circ}\text{C}$	30.3%	37.9%	16.4%	15.4%
100 $^{\circ}\text{C}$	15.1%	47.6%	29.7%	7.7%

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- ・タンパク質の二次構造予測
- ・タンパク質の変性部位予測
- ・アミロイド β の凝集評価 (A619)

IRTracer™-100



benefits

- 加熱タイプの一回反射型全反射測定装置を用いることで、加熱環境下におけるタンパク質の赤外スペクトルを取得することができます。
- 取得した赤外スペクトルに対して二次微分処理を行うことにより、赤外スペクトル形状のわずかな変化を明瞭に示すことができます。
- 二次微分処理したスペクトルにおけるアミド I バンドの波形分離処理により、タンパク質の二次構造を解析することができます。



システム仕様

装置：	IRTracer-100
干渉計：	30°入射マイケルソン型干渉計 アドバンストダイナミックアライメント機構内蔵 オートドライヤー付き密閉型干渉計
光学系：	シングルビーム方式
ビームスプリッタ：	Ge 蒸着 KBr（中赤外用、標準） Ge 蒸着 Cs（I 中 / 遠赤外用、オプション） Si 蒸着 CaF ₂ （近赤外用、オプション）
光源：	高輝度セラミックス光源（中 / 遠赤外用、標準） [3 年間保証] タングステンランプ（近赤外用、オプション）
検出器：	温度調節機構付き DLATGS 検出器（中 / 遠赤外用、標準） 液体窒素冷却型 MCT (Hg-Cd-Te) 検出器（中赤外用、オプション） InGaAs 検出器（近赤外用、オプション）
波数範囲：	7,800 ～ 350 cm^{-1} （標準） 12,500 ～ 240 cm^{-1} （オプション）
分解能：	0.25、0.5、1、2、4、8、16 cm^{-1} （中 / 遠赤外） 2、4、8、16 cm^{-1} （近赤外）
大きさ：	幅 600 mm × 奥行 665 mm × 高さ 295 mm
重さ：	47 kg
測定：	スペクトル測定、連続測定、大気補正測定、 オートサンプラを使用した連続測定、簡単測定モード



糖鎖分析



HPLC による糖鎖分析 蛍光標識化糖鎖の検出



click here

装置原理と特長

安全性や有効性を左右するバイオ医薬品中の糖鎖を分析するために、糖鎖を蛍光標識し蛍光検出器を用いた HPLC で分析する手法があります。当社の蛍光検出器 RF-20Axs は、ノイズが低く、良好な S/N を得ることができるため（従来機との比較、図 1）、糖鎖分析に十分な感度と直線性が得られます。糖鎖を蛍光標識する方法にはピリジニアミノ化（PA 化）や 2-アミノベンズアミド化（2-AB 化）などといった方法があります。どちらの蛍光標識化糖鎖においても同様に分析いただけます。

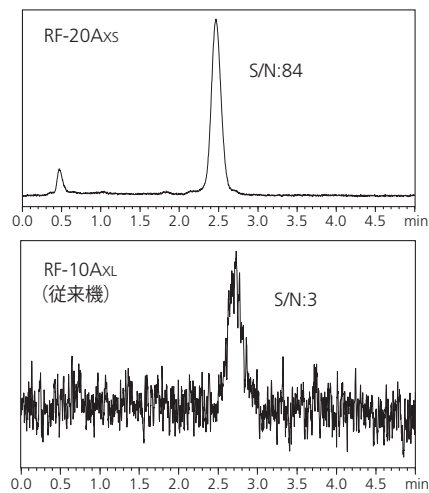


図 1 PA 化糖鎖 10 fmol のクロマトグラム

表 1 分析条件

Column :	Aeris PEPTIDE XB-C18 (150 mm × 2.1 mm I.D., 1.7 μm)
Mobile phase A : (pH 4.5)	20 mmol/L Ammonium Formate 0.0095% (v/v) Formic acid-water
Mobile phase B :	20 mmol/L Ammonium Formate 0.0095% (v/v) Formic acid- Methanol
Time Program (B. Conc.) :	0% (0 min) → 5% (60 min) → → 10% (70 min) → → 100% (70.01 min- 80 min) → → 0% (95.01 - 110 min)
Flow rate :	0.4 mL/min
Column Temp. :	40 °C
Injection Volume :	3 μL
Detection :	RF-20Axs (Ex: 320 nm, Em: 400 nm)

まとめ

HPLC を用いた抗体医薬品の糖鎖分析は、トリブシン処理後に糖鎖を蛍光標識することで分析いただけます。RF-20Axs は高感度でノイズが小さいことが特徴です。一体型 HPLC の LC-2060 シリーズ (p.28 参照) にも接続してご利用可能です。

抗体医薬品中の糖鎖の分析は、静岡県立大学 薬学部 生体機能分子分析分野 轟木堅一郎先生にご協力いただきました。

測定方法と測定条件

検出器に高感度蛍光検出器 RF-20Axs を用いて HPLC にて抗体医薬品中の糖鎖分析を行いました。カラムは Core-Shell 型高速分析用カラム Aeris PEPTIDE XB-C18 を使用しました。このカラムは、ペプチド等の高分子化合物分析において充てん剤への浸透性が最適化されているため、抗体医薬品に含まれる糖鎖や夾雑成分の分離に有用です。

2 種類の抗体医薬品をトリブシン処理し、Glycopeptidase F を用いて糖鎖を切り出しました。その後、PA 化により糖鎖を蛍光誘導体化し分析に供しました（表 1）。

結果

抗体医薬品 A と B のクロマトグラムから、約 50 分に溶出するピークにおいて差が見られたことから、糖鎖含有量に違いがあることが明らかになりました。また、レスポンスが異なるピークが多数確認されました（図 2、3）。

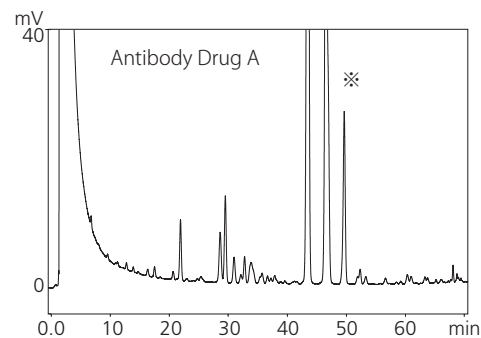


図 2 PA 化抗体医薬品 A のクロマトグラム

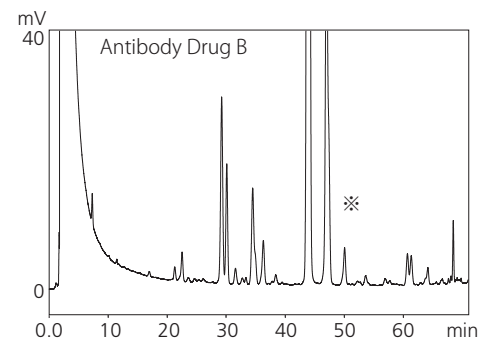


図 3 PA 化抗体医薬品 B のクロマトグラム

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- ・ 2-AB 化糖鎖分析 (L483)
- ・ 血漿中ファビピラビルの定量 (L570)

RF-20Axs



- ノイズが小さく良好な S/N が得られるため、糖鎖分析に十分な感度を発揮します。
- セル温調機能搭載のため、再現性の高いデータを取得することができます。
- 標準、セミマイクロ、イナー特仕様など分析に適したセルをご利用いただけます。



システム仕様

装置：	蛍光検出器 RF-20Axs		
光源：	キセノンランプ	低圧水銀ランプ（波長正確さチェック用）	
波長範囲：	励起波長	200 ～ 900 nm	蛍光波長 200 ～ 900 nm
セル温調：	（室温マイナス 10 °C）～ 40 °C		
セル：	標準コンベンショナルセル	容量 12 μL	耐圧 2 MPa
	オプションセミマイクロセル	容量 3 μL	耐圧 2 MPa
	オプションイナー特セル	容量 12 μL	耐圧 2 MPa
サンプリングレート：	最大 100 Hz（1 波長モード）		
機能：	4 波長同時測定、波長スキャン		
使用温度範囲：	4 ～ 35 °C		
大きさ：	幅 260 mm × 奥行 500 mm × 高さ 210 mm		
重さ：	18 kg		
所要電源：	AC 100 ～ 240 V、400 VA、50/60 Hz		



糖鎖分析



MALDImini™-1 を用いた *N*-結合型糖鎖解析 シアル酸結合様式異性体の識別と構造推定


[click here](#)

装置原理と特長

従来の MSⁿ 質量分析装置は大型で、周辺装置も必要でしたが、MALDImini-1 は、A3 サイズを下回る省スペースで設置できます。真空ポンプも内蔵しており、AC 100V 電源さえあれば設置可能です。ガス供給源として、小型ガスカートリッジを使用するためのセットもオプションでご用意しております。さらに、MALDI イオン源と DIT 技術により、微量なサンプルであっても広い質量範囲で高感度な MS、MSⁿ 測定が可能です。

測定方法

タンパク質にはシアル酸を有する酸性糖鎖が多く付加しており、その解析には HPLC や質量分析計が用いられます。HPLC では、基本的に糖鎖標品が必要であったり、複雑な糖鎖の場合はシアル酸の結合様式の判別までは困難である等といった技術的課題があり、質量分析計では、シアル酸残基の不安定さから、分析中に脱離しやすい点と結合異性体が判別できない点で課題があります。そこで、血清由来の *N*-結合型糖鎖に対して、当社で開発したシアル酸結合様式特異的修飾法（SALSA 法^{*1}、図 1）を用いてシアル酸残基を安定化し、小型 MALDI デジタルイオントラップ質量分析計「MALDImini-1」で検出・解析を行いました。SALSA 法は、二段階の反応により α 2,6-シアル酸に対してイソプロピルアミン（IPA）でアミド化、 α 2,3-シアル酸に対してメチルアミン（MA）でアミド化することで質量差を生じさせる方法です。これにより、本来同一質量のシアル酸結合異性体を MS で区別できるようになります。

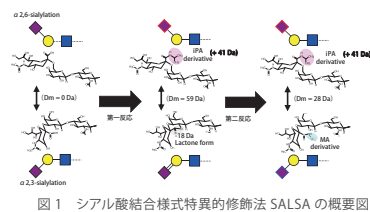


図 1 シアル酸結合様式特異的修飾法 SALSA の概要図

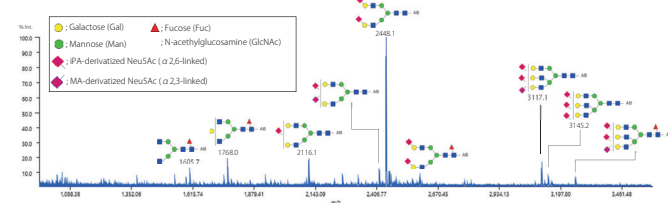


図 2 血清糖タンパク質由来 *N*-結合型糖鎖のマスマスペクトル

まとめ

SALSA 法によるシアル酸の安定化と MALDImini-1 による MSⁿ 分析によりシアル酸の結合様式を含んだ糖鎖構造解析にご利用いただけます。

* 1 特許第 06135710 号

市販血清 5 μ L を SDS と DTT で変性・還元し、PNGaseF (Peptide-*N*-glycosidase F) を加えて 37 $^{\circ}$ C で 18 時間反応させることで糖タンパク質から *N*-結合型糖鎖を切り出しました。切り出された *N*-結合型糖鎖のうち 4 μ L を直接 SALSA の反応溶液 20 μ L と混合し、室温で 1 時間反応させました。その後、ラクトン構造の安定化試薬を加えて混合した後 GL-Tip Amide (GL サイエンス) を用いて過剰試薬を取り除きました。さらに、この糖鎖の還元末端を 2-aminobenzamide でラベル化しました。以上により作製したサンプルを 0.5 μ L サンプルプレートに滴下し、さらにマトリックス（塩化ナトリウムを含む α -cyano-4-hydroxycinnamic acid）を 0.5 μ L 重層して乾燥させ、MALDImini-1 を用いて MSⁿ 分析を行いました。

結果

血清糖タンパク質由来 *N*-結合型糖鎖からは、複合型糖鎖を中心とした二分岐・三分岐など様々な糖鎖が検出されました（図 2）。三分岐糖鎖の 2 種類の MS² スペクトルを比較すると、これらの糖鎖は 28 Da 差で検出されたことから、1 か所で α 2,3-/ α 2,6- の異なる糖鎖であることが推測できました。また、MS² ではシアル酸の結合様式の違いを裏付ける、修飾されたシアル酸相当の質量のニューラルロスが起きていたことから、 m/z 3117.1 は α 2,3-/ α 2,6- の混合、 m/z 3145.2 は α 2,6- のみであることが分かりました。また、MS³ 解析により、糖鎖のどの部分から生じたフラグメントイオンであるかを判定しました。例えば m/z 2448.1 の二本鎖糖鎖の MS² における m/z 720.0 のフラグメントイオンは、非還元末端側からの逐次の糖鎖脱離では説明できません。そこで、シアル酸を含むフラグメントイオン（ m/z 2107.0）と含まないフラグメントイオン（ m/z 1783.9）の MS³ を比較すると、後者からは m/z 720.0 のフラグメントイオンがシアル酸を含む非還元末端側の三糖に由来することが分かりました。

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- ・タンパク質同定
- ・糖鎖・糖ペプチドの構造解析（B100）
- ・様々な分子の質量確認

参考文献

- 1) Nishikaze T, et al., *Anal Chem*, 89, 2353-2360 (2017)
- 2) Hanamatsu H, et al., *Anal Chem*, 90(22), 13193-13199 (2018)

MALDImini-1



- コンパクトなサイズとシンプルな装置構成により、狭いスペースにも設置が可能です。
- 調製したサンプルをすぐその場で測定することが可能です。
- 微量なサンプルからの分子量測定から複雑な分子構造解析まで幅広い用途でご使用いただけます。



システム仕様

装置：	MALDImini-1
質量範囲：	m/z 650 ～ 70,000
MS/MS 質量範囲：	m/z 350 ～ 5,000
質量分解能：	> 4,000 FWHM、[Glu1]-Fibrinopeptide B m/z 1570.68、スキャンスピード 1000 Da/s
MS 感度：	1 fmol ([Glu1]-Fibrinopeptide B m/z 1570.68) 500 fmol (BSA m/z 66,431)
MS/MS 感度：	10 fmol ([Glu1]-Fibrinopeptide B m/z 1570.68)
質量精度：	内部標準：< 200 ppm 外部標準：< 200 ppm (m/z 1,000 ～ 5,000)
MS ⁿ ：	1 $\leq$ n $\leq$ 3
レーザー：	媒質：Nd:YLF 波長：349 nm
サンプルプレート：	ディスポーザブル型 FlexiMass-DS、ステンレス製 FlexiMass-SR (26 × 76 mm)
ガス：	アルゴン、ヘリウム (99% 以上、40 ～ 60 kPa)
ガスカートリッジ：	レギュレータ、He ガス配管、Ar ガス配管、ガスカートリッジホルダ
本体電源：	AC 100 ～ 120 V、50/60 Hz、8 A
大きさ：	幅 309 mm × 奥行 385 mm × 高さ 320 mm
重さ：	25 kg
設置環境：	温度：18 ～ 26 $^{\circ}$ C 湿度：40 ～ 70% 以下（結露しないこと）
ソフトウェア：	データ保存： SQLite によるデータベース方式 Export ファイル形式： mzML、mzXML



糖鎖分析



卓上型 MALDI-TOF MSとFc領域のアフィニティ精製を用いたIgGのグリコシル化プロファイル

[click here](#)

装置原理と特長

MALDI-8020 はコンパクトな設置面積のリニアモード MALDI-TOF 質量分析計です。ペプチド、タンパク質、ポリマーやオリゴ核酸などの品質管理やプロファイリングの用途で用いられます。装置性能を長時間保つために、卓上型でも大口径のイオン光学系を使用し、イオン減汚染リスクを低減しています。また、真空を落とすことなくイオン引出電極のクリーニングが行える、UV レーザーによる迅速な自動イオン減クリーニング機能（TrueClean）を搭載しています。また、データ等を一元管理でき、21 CFR Part11 の厳守を支援するツールを提供します。

測定方法

特にバイオ医薬品の開発において *N-/O-* 結合型の特性評価は非常に重要なため、ハイエンドの質量分析計が積極的に用いられていますが、スクリーニングや QA/QC を想定したバッチ分析用途では、比較的安価で使い勝手の良い市販装置のニーズが高いです。この MALDI-8020 は、一般的なプロファイリングには十分な仕様、スループット、コスト効率を兼ね備えています。

ここでは、糖鎖を遊離させずに IgG の糖鎖修飾をプロファイリングした例をご紹介します。ヒト化 IgG1_K モノクローナル抗体（NIST mAb）、マウス血清由来 IgG、ミエローマ IgG を Tris-NaCl 緩衝液に溶解し、IdeZ（IgG 分解酵素）と共に 37 °C で 2 時間インキュベートしました。その後 Protein A 磁気ビーズを用いて Fc 部位を回収し、酸性溶液でビーズから Fc 領域を溶出させ、ZipTip™ C18 で脱塩しました。シナビン酸とフェルラ酸をそれぞれ 0.1% TFA を含む 50% アセトニトリル で終濃度が 20 mg/mL になるように溶解し、これをマトリックスとして MS 分析しました。

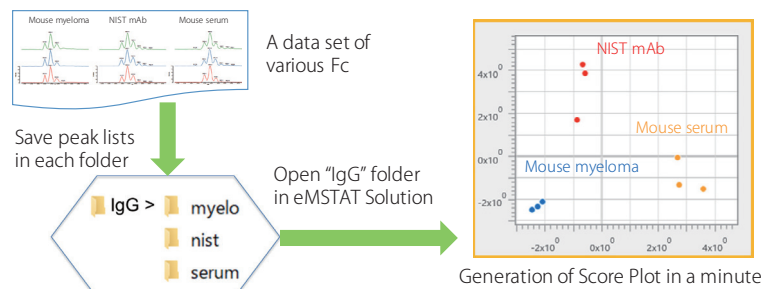


図3 eMSTAT Solutionを用いたFc領域の分類

まとめ

MALDI-8020 は、糖鎖修飾のパラエティが異なる3つのFc領域認識に十分なMS分解能を有しています。さらに、eMSTAT Solutionによる統計分析により、3種類のFcをスムーズかつ迅速に分類でき、バッチ分析やQA/QCなどに適用できます。

結果

IgG 全長のマスペクトルから、150 kDa 付近に IgG の分子量が観察されました（図1）。高分子量の *m/z* 範囲では質量分解能が不十分なため、糖鎖修飾を受けた Fc 領域約 25 kDa のマスペクトルを解析しました（図2）。各スペクトルのピーク間の質量ギャップは糖ユニットを示します。さらに、各 Fc 領域の MS 測定を3回繰り返し、eMSTAT Solution™ を使用して統計分析を行いました。いくつかのパラメータを最小限調整するだけで簡便にスコアプロットが得られます（図3）。

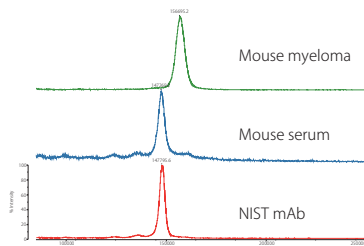


図1 IgG全長のマスペクトル

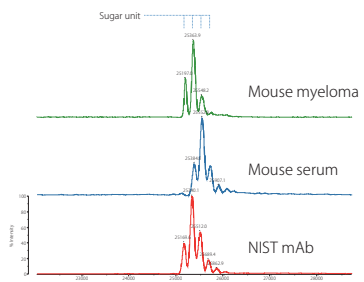


図2 Fc領域のマスペクトル

応用例

- 抗体医薬品の品質管理
- 核酸医薬品の合成確認

MALDI-8020



benefits

- 最小限の前処理かつ卓上で迅速な糖鎖プロファイリングが可能です。
- 高いメンテナンス性、低いランニングコストでご利用いただけます。
- 核酸やタンパク質、高分子の分析にも適しています。



システム仕様

装置：	MALDI-8020
質量範囲：	<i>m/z</i> 1 ～ 500,000
質量分解能：	> 5,000 FWHM
感度：	> 250 amol
質量精度：	内部標準：< 20 ppm 外部標準：< 150 ppm
加速電圧：	15 kV
レーザー：	固体レーザー 波長：355 nm 繰り返し周波数：50、100、200 Hz（可変）
飛行距離：	850 mm
検出器：	Electron Multiplier
イオン源クリーニング：	自動機能 有（内蔵個体レーザーによる）
サンプルプレート：	ディスポーザブル型 FlexiMass-DS、ステンレス製 FlexiMass-SR
運転音：	< 55 dB
本体電源：	単相 AC 100 V、50/60 Hz、1 kVA
大きさ：	幅 600 mm × 奥行 745 mm × 高さ 1,055 mm（突起部を除く）
重さ：	86 kg
設置場所：	温度：18 ～ 28 °C 湿度：70% 以下（結露しないこと）
解析ソフトウェア：	eMSTAT Solution
解析機能	単変量解析： t- 検定、Mann-Whitney の U- 検定、ANOVA（分散分析） 多変量解析： PCA（主成分分析）、PLS-DA 判別分析： Support Vector Machine（SVM）、Random Forest その他： 動的グルーピング
表示機能	多変量解析： Peak Matrix、Box Plot、ROC、AUC、Score/Loading Plot、Dendrogram 判別分析： 判別結果（Group、Score）、Score Plot への未知サンプル点の重量表示
入出力データ	入力： ピークリスト（ASCII、JCAMP、mzML 形式） 出力： ピークリスト（txt 形式）、解析結果（xism 形式）、グラフキャプチャー画像



タンパク質の定量



BioSpec-nano によるタンパク質の定量

[click here](#)

装置原理と特長

BioSpec-nano は 0.2 mm と 0.7 mm の 2 つの光路長を有し、1 μL ～ 4 μL 程度でタンパク質や核酸を定量することができます。オプションで光路長 5 mm のセル（サンプル量：2 mL）を使用した測定も可能です。タンパク質濃度を簡便に測定したい時、スペクトルの確認をしたい時に少量のサンプルで測定いただけます。測定後のサンプル拭き忘れ防止や連続測定に便利な自動ワイピング機能搭載です（図 1）。

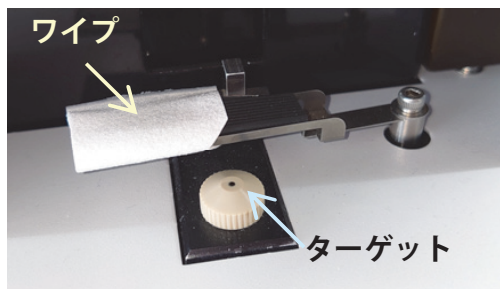


図 1 自動ワイピング機能

測定方法

ウシ由来の免疫グロブリン（IgG）をリン酸緩衝生理食塩水で 1000 $\mu\text{g/mL}$ に調製し測定サンプルとしました。光路長は 0.7 mm に設定し（図 2）、サンプル 4 μL をターゲットに滴下して 280 nm における OD（Optical Density, 光学密度, 光路長 10 mm 換算の吸光度）を測定しました。またソフトウェアの分析選択画面にモル吸光係数（ ϵ 280）と分子量を入力すると、タンパク質濃度が計算されます（図 3）。 ϵ 280 はアミノ酸配列からトリプトファン、チロシン、システイン残基数を入力することでソフトウェア上でも計算が可能です。



図 2 光路長設定部

まとめ

BioSpec-nano により、サンプルを 1 μL ～ 4 μL 程度の少量サンプルをステージにドロップしスタートボタンを押すだけの簡単操作で濃度測定を行うことができます。アームの上げ下げやセルのセット、測定後のサンプルのふき取り操作も不要です。任意に指定した波長の OD 値の表示も可能です。

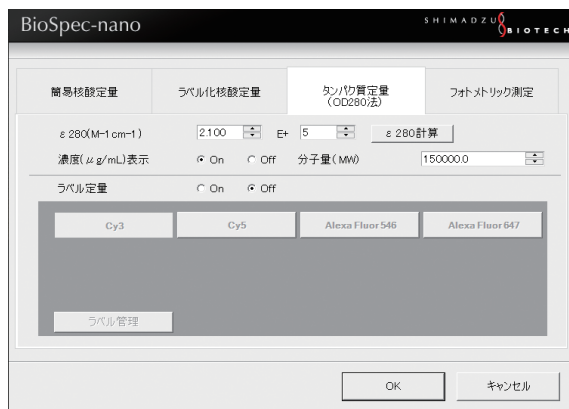


図 3 分析選択画面

結果

測定結果を図 4 に示します。調製通り約 1000 $\mu\text{g/mL}$ の濃度であることが示されました。詳細表示画面ではサンプルの濃度値とスペクトルが確認できます。また、結果は CSV もしくは PDF で出力できます。

タンパク質濃度(M)	7.146E-06
タンパク質濃度($\mu\text{g/mL}$)	1071.89
ϵ 280 (M-1cm-1)	2.100E+05
MW	150000.0
OD280	1.981
光路長 (mm)	0.707
希釈度	1.000

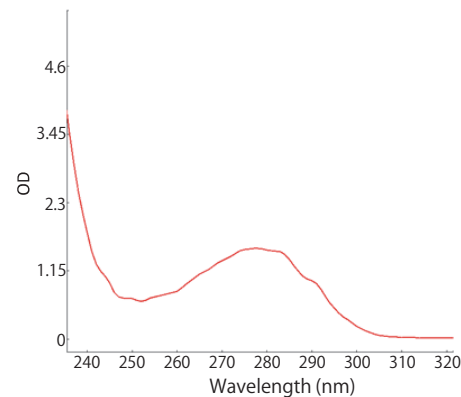


図 4 光路長 0.7mm における分析結果

応用例

- 一本鎖 / 二本鎖 DNA 濃度測定
- ラベル化核酸濃度測定
- RNA 濃度測定

BioSpec-nano



benefits

- タンパク質濃度の測定や、精製度の確認にご利用いただけます。
- サンプル容量最小 1 μL から測定可能です。
- 低キャリーオーバーを実現した自動ワイピング機能を搭載しています。



システム仕様

装置：	BioSpec-nano
波長範囲：	220 ～ 800 nm
スペクトルバンド幅：	3 nm
波長正確さ：	± 1 nm
光路長：	0.2 mm、0.7 mm
測光値表示単位：	OD (Optical Density)、光路長 10 mm 換算吸光度
サンプル容量：	光路長 0.2 mm：1 μL 以上 光路長 0.7 mm：2 μL 以上
光源：	キセノンフラッシュランプ
分光器：	ホログラフィックグレーティング
検出器：	フォトダイオードアレイ
自動ワイピング機能：	あり
スペクトル測定時間：	3 秒
定量可能濃度範囲：	光路長 0.2 mm：1 ～ 75 OD、50 ～ 3,500 ng/L 光路長 0.7 mm：0.3 ～ 21 OD、15 ～ 1,000 ng/L オプション光路長 5 mm セル：0.04 ～ 3 OD、2 ～ 150 ng/ μL
大きさ：	幅 210 mm × 奥行 214 mm × 高さ 417 mm
重さ：	7 kg
測定モード：	簡易核酸定量、ラベル化核酸定量、タンパク質定量、 ラベル化タンパク質定量、フォトメトリック測定

* 液滴の形成状態が分析結果に影響を与えます。充分な液滴が形成できる量で測定ください。



抗体医薬品の分子量確認



四重極飛行時間型質量分析計 LCMS-9030 を用いたモノクローナル抗体の分子量確認

[click here](#)

装置原理と特長

LCMS-9030 は、四重極型と飛行時間型という 2 種類のイオン質量分離機構を持つ Q-TOF 型質量分析計です。イオンの利用効率を向上させる技術、高強度な微細格子電極を製造する加工技術、高精度温度コントロール、電位分布の最適化など、様々な箇所に当社独自の技術が搭載され、常に安定した質量精度を保ちながら、高感度、高分解能を両立したデータ取得が可能です。

測定条件

ヒト化 IgG1_K モノクローナル抗体 (mAb) を、50 mmol/L 炭酸水素アンモニウム水に溶解し、1 mg/mL の標準溶液を作製しました (インタクト mAb)。また、100 μg のインタクト mAb に、8mol/L 尿素と 50 mmol/L DL-ジチオスレイトールを含む 50 mmol/L Tris-HCl 緩衝液を添加することで H 鎖と L 鎖に還元し、mAb のサブユニットを作製しました。インタクト mAb と mAb サブユニットの測定条件を表 1 に示します。

表 1 分析条件

[LC]		
Column :		Restek C4 (150 mm × 2.1 mm I.D., 5 μm)
Column oven :		50 °C (Intact), 85 °C (subunits)
Solvent A :		0.1% formic acid/water
Solvent B :		0.1% formic acid/acetonitrile
Intact	Gradient : (Conc. B)	0% (0.5 min) → 5% (3.0 min) → → 60% (5.5 – 5.6 min) → 5% (10 min)
Subunits	Gradient : (Conc. B)	0% (0.5 min) → 15% (1.5 min) → → 30% (2.5 – 3.5 min) → → 45% (7.5 – 8.5 min) → → 50% (10.5 – 10.6 min) → → 15% (15 min)
Flow rate :		0.4 mL/min
[Q-TOF]		
Mode :		MS mode
		IntactSubunits
TOF Start <i>m/z</i> :		1000.0000800.0000
TOF End <i>m/z</i> :		4000.00004000.0000
Event Time (s) :		5.02.0
Pulser Inj. Times :		99933993
Interface :		300 °C
Nebulizer gas :		3 L/min
Drying gas :		10 L/min
Heating gas :		10 L/min

まとめ

Q-TOF 型質量分析計 LCMS-9030 と Protein Metrics を用いることで、高い感度と分解能をもって常に安定した制度でバイオ医薬品の分子量評価を行っていただけます。

結果

図 1 にインタクト mAb を測定した際の TIC クロマトグラム、MS デコンボリユートしたスペクトルおよび MS スペクトルを示します。インタクト mAb を測定し、得られた質量と理論上の質量を比較した結果から、25 ppm 以下の精度で理論上の質量と実測した質量が一致しました (表 2)。インタクト mAb のデコンボリユーションには Protein Metrics Intact Mass Workflow を用いました。また、mAb サブユニットの H 鎖と L 鎖においても同様に TIC クロマトグラム、MS デコンボリユートしたスペクトルおよび MS スペクトルを解析し、分子量の確認を行った結果、良好な値を得ることができました。

表 2 質量の理論値の実測値比較

		Sample name		NIST mAb
		Peak#	Mass	
Name ↓	Expected mass ↑			1
G2F/G2F+Hex	148848	148850		1.8
G2F/G2F	148686	148688		1.9
G1F/G2F+Lys	148652	148653		1.6
G1F/G2F	148524	148525		1.0
G1F/G1F+Lys	148490	148489		-0.9
G1F/G1F	148362	148362		0.7
G0F/G1F-GluNAc	147996	148000		3.5
G0F/G1F+Lys	148328	148326		-1.4
G0F/G1F	148199	148200		0.7
G0F/G0F-GlcNAc	147834	147837		3.2
G0F/G0F-2GlcNAc	147631	147631		0.0
G0F/G0F+Lys	148165	148164		-1.5
G0F/G0F	148037	148039		2.0

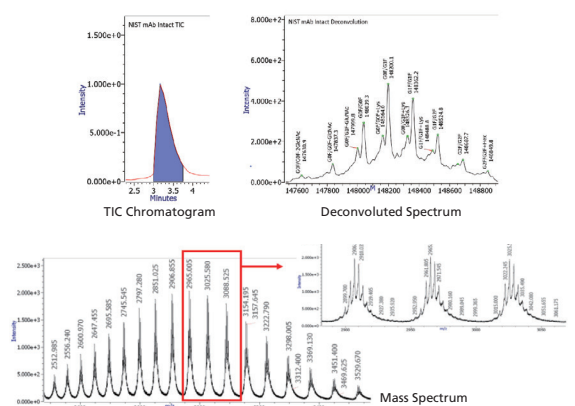


図 1 NIST mAb Intact 結果

応用例

- ・ 医薬品の定量
- ・ 不純物の同定
- ・ ペプチドマッピング

LCMS-9030



benefits

- 原薬中に微量含まれる不純物の高感度測定が行えます。
- 精密質量情報により製品中の不純物同定ができます。
- デコンボリユーションしたスペクトルを用いて抗体医薬品などの分子量を確認する事が可能です。



システム仕様

型名	LCMS-9030		
質量範囲		Q 部	m/z 10 ～ 2,000
		TOF 部	m/z 10 ～ 40,000
感度	ESI ポジティブ	1pg レセルピン	
		MS 測定	S/N > 1,000 : 1 (RMS)
		MS/MS 測定	S/N > 10,000 : 1 (RMS)
	ESI ネガティブ	1 pg クロラムフェニコール	
		MS 測定	S/N > 1,000 : 1 (RMS)
		MS/MS 測定	S/N > 10,000 : 1 (RMS)
分解能 (Q 部)	R < 0.8 u FWHM		
分解能 (TOF 部)	ESI ポジティブ	30,000 FWHM at m/z 1,972	
	ESI ネガティブ	30,000 FWHM at m/z 1,626	
質量精度	MS 測定	< 1 ppm (peak to peak) at m/z 622.5662、 NaI クラスタ (internal calibration)	
	MS/MS 測定	< 2 ppm (peak to peak) at m/z 1072.2489 > 472.6719 NaI クラスタ (external calibration)	
質量精度の温度安定性	1 ppm/24 h、設置温度：18 ～ 28℃、一定温度下		
最大データ採取レート	100 Hz		
正負イオン化切り替え時間	1 sec		
インターフェース	標準	：ESI	
	オプション	：APCI、DUIS™、CDS、Nano-ESI	



タンパク質の凝集体測定（温調・攪拌付き）



Aggregates Sizer™（温調機能付き）を用いた
タンパク質安定性の加速試験



[click here](#)

装置原理と特長

バイオ医薬品凝集性評価システム Aggregates Sizer は、従来のタンパク質凝集体の評価法では困難であった「0.1 μm ～ 10 μm の領域を一度に測定」、「ストレスを与えながらの測定」、「定量測定」を 1 台で実現した装置です。本製品は、レーザ回折・散乱法に基づく粒子径分布測定装置です。通常、レーザ回折・散乱法ではサンプルの散乱パターンから粒子径を求めますが、濃度を得ることはできません。本製品では粒子径・濃度既知の標準サンプルによる校正を行うことで絶対濃度の測定を可能としています。

測定方法と条件

サンプルには凍結乾燥品のウシ由来 γ-グロブリンを PBS (pH 7.4) で 1 mg/mL に調製した溶液を用いました。温調機能付きの回分セル（図 1）の中で 5 mL のサンプル溶液を 190 ストローク / 分で 40 分間攪拌しながら測定しました。攪拌棒の材質には PEEK、ステンレス、ガラスの 3 種類を用いて比較しました。また、加速試験中は循環恒温槽を用いて 23 °C、31 °C、42 °C の 3 種類の温度で一定に保ち温度による比較も行いました。

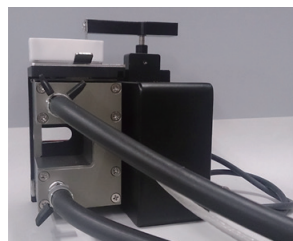


図 1 回分セル（温調機能付き）

結果

0.2 - 2 μm の領域と 2 - 10 μm の領域について 23 °C、40 分経過時の凝集体生成量（図 2）を比較すると、2 - 10 μm の領域では PEEK が最も多く、0.2 - 2 μm の領域では SUS が最も多く、いずれの領域においてもガラスが最も凝集体が少ないことが分かりました。PEEK、42 °C における粒子径分布の経時変化（図 3）から、時間経過により凝集体が生成されていることがわかりました。また、凝集体の生成は温度にも依存することが確認できました。

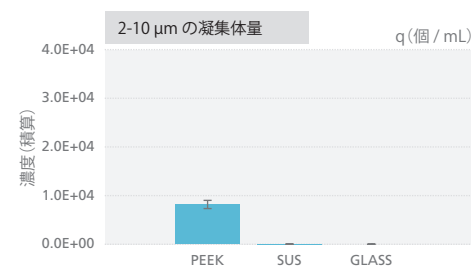
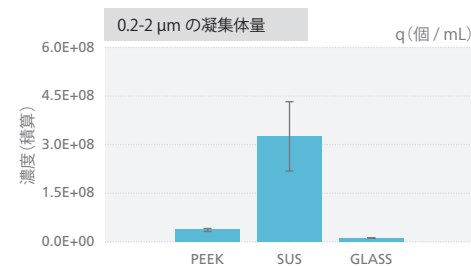


図 2 材質の異なる攪拌棒におけるサイズ領域ごとの凝集体生成量比較 (23 °C、40 分経過後)

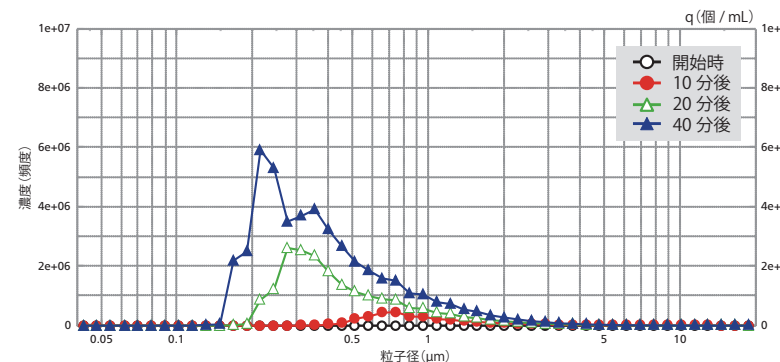


図 3 加速試験時の凝集体精製過程 (PEEK、42 °C の場合)

まとめ

Aggregates Sizer は、接液部の材質を変えて、温調下で攪拌ストレスを与えながら、凝集体濃度をリアルタイム測定することが可能なため、タンパク質の安定性評価に適しています。

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- ・バイオ医薬品の安定性・ストレス応答性評価
- ・凝集抑制添加剤検討 (Q117)
- ・臨床検査薬の凝集性評価 (Q118)
- ・血中粒子濃度評価 (Q120)

Aggregates Sizer



- 従来の評価法では困難であった 0.1 - 10 μm の凝集体濃度を 1 台で測定できます。
- 温調下で、攪拌ストレスをかけながらリアルタイム測定が可能です。
- マイクロセルを用いることで少量 (125 μL) での測定が可能です。



システム仕様

装置：	Aggregates Sizer
測定原理* ¹ ：	レーザ回折・散乱法
測定範囲：	粒子径範囲：100 nm ～ 10 μm (粒子径分布表示範囲：40 nm ～ 20 μm)
濃度測定正確度* ² ：	± 30%以内
濃度範囲* ³ ：	粒子径 100 nm の場合：2 ～ 12 μg/mL 粒子径 1 μm の場合：0.5 ～ 10 μg/mL 粒子径 10 μm の場合：10 ～ 180 μg/mL
回分セル：	材質：石英ガラス 必要液量：5 mL 攪拌機構：攪拌プレートの上下運動による 攪拌プレート材質：ステンレス、ガラス、PEEK 温度範囲（温調機能付きの場合）：20 °C ～ 42 °C ± 1 °C PC より設定 使用環境：温度：10 ～ 30 °C、湿度：20 ～ 80%（結露しないこと）
マイクロセル：	材質：石英ガラス、PTFE（セルキャップ、温調機能付きの場合） 必要液量：約 0.125 mL 温度範囲（温調機能付きの場合）：20 °C ～ 42 °C ± 1 °C PC より設定 使用環境：温度：10 ～ 30 °C、湿度：20 ～ 80%（結露しないこと）
大きさ・重さ：	約幅 230 mm × 奥行 420 mm × 高さ 610 mm 約 31 kg （温調機能付きの場合）

*¹ 測定範囲は、粒子の形状等の性質に依存します。

*² 濃度測定正確度は、弊社指定の参照サンプルを規定の手順で測定した場合。

*³ 濃度範囲は、粒子の形状等の性質に依存します。



タンパク質製剤の凝集体評価



動的画像解析法による バイオ医薬品中の不溶性微粒子評価



click here

装置原理と特長

タンパク質製剤の凝集体評価に関し、米国薬局方や日本薬局方では 10 μm 以上の不溶性微粒子について光遮蔽法（Light Obscuration、LO 法）で評価するように定められています。一方で、マイクロメートルオーダーの不溶性微粒子評価として、透過性の高い粒子への感度が高く画像から粒子の分類も可能な動的画像解析法（Flow Imaging、FI 法）が注目されています。ダイナミック粒子画像解析システム iSpect™ DIA-10 は動的画像解析法に基づく、液体サンプル中の粒子画像取得・粒子径分布・粒子濃度・形状測定を行う装置です。サンプル使用量が少なく（最小測定量 50 μL）、見逃しが少ない光学系を採用しており、バイオ医薬品の不溶性微粒子評価に有用です。

測定方法と条件

サンプルには凍結乾燥品のヒト免疫グロブリンを用いました。サンプル粉末をクエン酸-リン酸緩衝液 pH 5.0 で溶解し（1 mg/mL）、100 nm のフィルターでろ過したものをサンプル溶液としました。サンプル溶液の半分は 80 °C で 3 分間加熱し、もう半分は室温で PEEK 樹脂製の攪拌板で 10 分間攪拌しました。以上の加熱凝集サンプルと攪拌凝集サンプルを表 1 の条件で測定しました。

表 1 測定条件

Frame rate	8 frame / sec
Efficiency	97%
Sample amount	50 μL
Threshold	220
Flow rate	0.1 mL / min

結果

測定により得られた粒子径分布と散布図を図 1 に、粒子画像を図 2 に示します。粒子画像から凝集体と気泡や油滴を区別することが可能です。また粒子濃度測定結果は表 2、図 3 の通りです。なお、5 μm 未満の粒子については形状解析は困難ですが、検出は可能です。

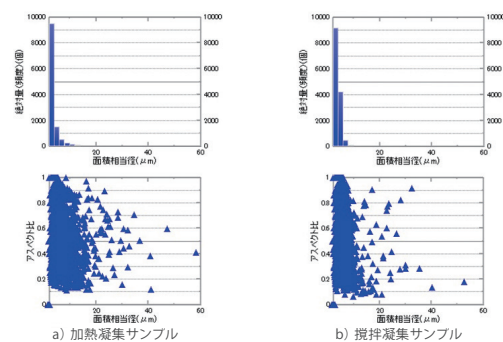


図 1 粒子径分布と散布図

参考文献

- 1) 内山 進、薬学雑誌、138、1503-1507 (2018)
2) Kiyoshi M et al., Journal of Pharmaceutical Sciences、108、832-841 (2019)

表 2 観測粒子数及び個数濃度

			加熱凝集サンプル	攪拌凝集サンプル
			全体	全体
観測粒子数	サイズ別	< 2 μm	32246	18813
		2 - 10 μm	20129	4669
		10 - 25 μm	11797	14057
		≥ 25 μm	298	78
			22	9
粒子濃度 * (個 / mL)	サイズ別	< 2 μm	668102	389784
		2 - 10 μm	417051	96737
		10 - 25 μm	244421	291246
		≥ 25 μm	6174	1616
			456	186

* 粒子濃度は観測粒子数、観測エリアの体積、撮影枚数から計算

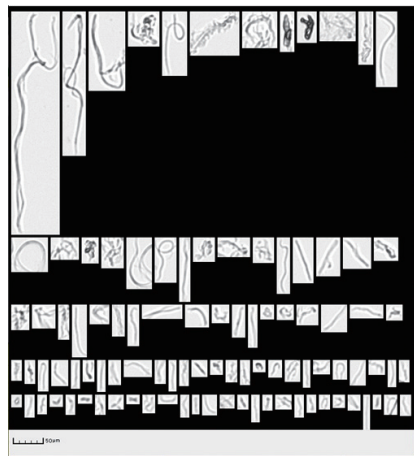


図 2 攪拌凝集体の粒子画像

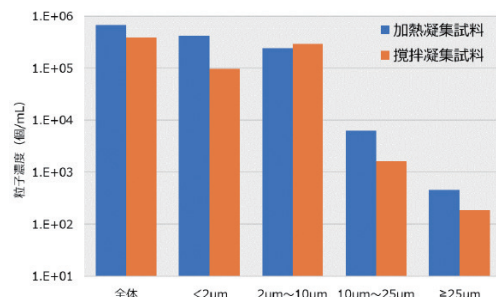


図 3 粒子径ごとの個数濃度

まとめ

iSpect DIA-10 は、少量のサンプルで、撮影効率の高い測定が可能です。また粒子画像から不溶性微粒子の種類を推定することも可能なため、バイオ医薬品中のマイクロメートルオーダーの不溶性微粒子の濃度評価に適しています。

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- ・バイオ医薬品の不溶性粒子の濃度評価
- ・医薬品の異物・粗大粒子・粒子形状評価
- ・懸濁性点眼剤中の粒子径評価（Q122）

iSpect DIA-10



- 見逃しが少ない光学系を使用し、マイクロメートルオーダーの凝集体の個数濃度評価が可能です。
- 最小 50 μL のサンプル量からの測定が可能です。
- 3 ステップでの簡単測定が可能で、作業者の負荷を低減できます。



システム仕様

装置：	iSpect DIA-10
測定方法：	動的画像解析法
粒子径測定範囲* 1：	5 ～ 100 μm
個数濃度再現性* 2：	CV ≤ 5 %
測定項目：	粒子径項目 面積円相当径、周囲長相当径、最大長、最大長垂直長 垂直フェレー径、水平フェレー径、粒子周囲長、包絡周囲長など 形状解析項目 円形度、アスペクト比、水平外接矩形縦横比など その他の項目 粒子面積、平均輝度など
統計解析項目：	平均値、標準偏差、CV 値、メディアン値（50% 値）、モード値、任意%値
表示項目：	粒子画像、ヒストグラム、スキャッタグラム、積算分布 頻度 / 積算テーブル、任意区間粒子量
必要サンプル量：	50 ～ 1000 μL
ポンプ：	シリンジポンプ、流量 0.1 mL / min
接液材料	測定ユニット：PEEK 樹脂、フッ素樹脂、石英、パーフロゴム ポンプユニット：フッ素樹脂、ガラス
寸法・質量	測定ユニット：幅 223 mm × 高さ 205 mm × 奥行 465 mm、10 kg ポンプユニット：幅 97 mm × 高さ 150 mm × 奥行 190 mm、3 kg

* 1 面積円相当径の性能保証範囲。当社指定の NIST トレーサブルな粒子径標準サンプルの測定による。

* 2 当社指定の標準サンプルの測定による。



タンパク質の熱安定性評価



DSC によるタンパク質の熱安定性測定

[click here](#)

装置原理と特長

示差走査熱量計 (DSC) は、直径 6 mm 程度のセルにサンプル溶液とリファレンス溶液をそれぞれサンプリングし、加熱炉内の熱的に対称な位置にセット後、一定の速度で加熱もしくは冷却させたときに生じる熱エネルギーの変化（吸熱または発熱）をモニタリングします。例えばタンパク質を一定速度で加熱すると、タンパク質の 3 次元構造がほどけ変性が起こり始めますが、DSC はその時の熱変化を吸熱ピーク（熱変性温度）として捉えることができます。DSC-60 plus はベースラインの安定性に優れているため、溶液中のサンプルの熱変化も容易に測定することができます。

操作方法と測定条件

サンプルは、ニワトリ卵白リゾチームを表 1 の濃度になるようリン酸緩衝液 (pH 7.05) で希釈し、アルミニウムシールセルに 20 μ L 添加しました。リファレンスには 20 μ L のリン酸緩衝液を用い、35 $^{\circ}$ C から 105 $^{\circ}$ C まで 5 $^{\circ}$ C /min の速度で昇温させ、熱変性温度を測定しました。

また、タンパク質の pH による影響を調べるために、溶媒として pH 4.20、pH 7.05、pH 9.10 の 0.2 mol/L リン酸緩衝液 3 種類を用いて、10% リゾチーム溶液を調製し測定しました。温度は 40 $^{\circ}$ C から 100 $^{\circ}$ C まで 5 $^{\circ}$ C /min の速度で昇温させました。

表 1 使用サンプル

サンプル	濃度
図 1. リゾチーム	タンパク質として 2.5%
図 2. リゾチーム	タンパク質として 0.2%

結果

2.5% および 0.2% リゾチームでは 75 $^{\circ}$ C 付近に熱変性による吸熱ピークが得られ、0.2% の希薄溶液でもタンパク質の熱変性温度が測定できることを確認しました（図 1、2）。

また、リゾチームの pH による安定性では、熱変性温度が最も高温に見られる pH 4.20 が安定であることが分かりました（図 3）。

まとめ

DSC ではタンパク質の熱変性温度を簡便に測定することができます。改変タンパク質の安定性評価や、保存溶媒の検討など、様々な評価の指標としての熱安定性評価にご利用いただけます。

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- ・タンパク質の安定性評価
- ・医薬品の結晶多形評価 (T152)

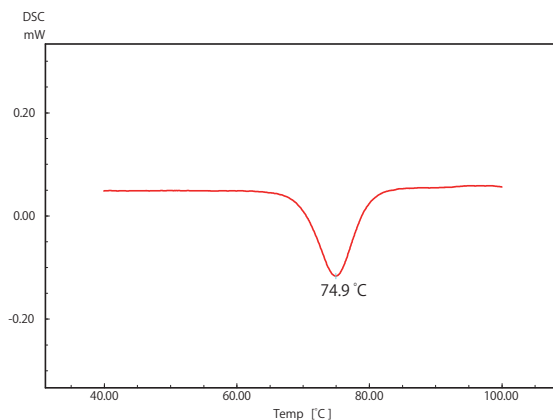


図 1 2.5% のリゾチームの吸熱ピーク

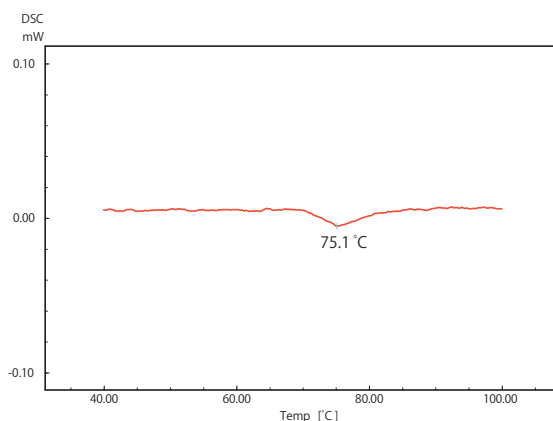


図 2 0.2% のリゾチームの吸熱ピーク

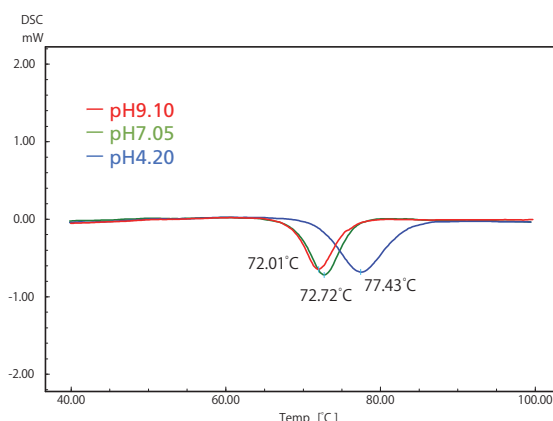


図 3 pH によるリゾチームの安定性変化

DSC-60 Plus



- タンパク質の熱安定性を簡便に評価できます。
- 溶媒や pH の差による安定性評価にもご利用いただけます。
- 液化窒素用冷却層内蔵のため、凍結によるタンパク質の影響評価にもご利用いただけます。



システム仕様

装置：	DSC-60 Plus
方式：	熱流束方式
測定温度範囲：	-140 ~ 600 $^{\circ}$ C (冷却槽標準装備、液体窒素使用時)
熱量測定範囲：	$\pm$ 150 mW
ベースラインノイズ：	0.5 μ W 以下 (RMS 値、ブランクにて 150 $^{\circ}$ C ホールド時)
雰囲気：	窒素、不活性ガス、乾燥空気ガスフロー
外形寸法：	幅 320mm $\times$ 奥行 500 mm $\times$ 高さ 290 mm
重量：	28 kg
所要電源：	AV 100 V、800 VA、50/60 Hz
オプション：	サンプルシーラ・クリンブプレス SSCP-1 (S222-13130-91) クリンブアタッチメント (S222-13053-91) 対応セル ^{*1} シールアタッチメント (S222-12826-91) 対応セル ^{*2} AI クリンブセル (S201-52943) ^{*1} AI シールセル (S201-53090) ^{*2}

^{*1} アプリケーションニュース T152 で使用

^{*2} 図 1 ~ 3 (p.46) で使用



元素不純物の管理



ICH Q3D 医薬品元素不純物ガイド
ラインの ICP 質量分析法による分析



click here

装置原理と特長

ICP-MS は、誘導結合によって生成される約 10,000 °C のアルゴンプラズマ (ICP: Inductively Coupled Plasma) を利用して液体サンプル中の元素をイオン化し、質量分析を行う装置です。ppt レベルで元素を検出でき、元素分析装置として最も高感度といわれています。医薬品中の元素不純物は低濃度の管理が要求されるため、より高感度な測定装置として ICP-MS が注目されています。しかし、ICP-MS は、アルゴンガスの消費量が多く、ランニングコストが高いという難点があります。それに対して ICPMS-2030 は、独自のミニートーチプラズマシステムを搭載することによりアルゴンガス消費量を従来の 2/3 に低減することに成功しました。加えて、一般に ICP-MS で使用されている 99.999% 以上の高純度アルゴンガスでなく、比較的低価格な 99.99% の工業用アルゴンガスをご使用いただけますので、トータルで約 1/2 のコストで分析いただけます。

測定方法と測定条件

ICH Q3D 医薬品元素不純物ガイドラインには、毒性が懸念される 24 元素についての一日許容曝露量が設定されています。ここでは、このガイドラインの基準値を満たしているかを確認する評価法を用いて測定しました。なお、「ミニートーチ」と「低価格な工業用アルゴンガス」を用いました。

錠剤 (1 日の摂取量 1 錠、0.20 g) 1 錠と、塩酸 0.5 mL、硝酸 5 mL をクォーツ製分解容器に入れた後、マイクロ波サンプル前処理装置を用いて分解処理を行いました。分解処理後、塩酸 0.1 mL を添加、純水で 20 mL に定容し測定溶液としました (100 倍希釈)。このとき内標準元素として、Sc、Ga、Y、Te (測定溶液濃度として 10 µg/L) を添加しました。また、サンプルの分解処理後に測定元素を添加し、添加回収試験溶液を作製しました。

検量線法 - 内標準法により、ICH Q3D ガイドラインの対象 24 元素について表 1 に示す測定条件で定量分析および、添加回収試験を行いました

結果

多くの元素において、測定値としての濃度は N.D. となりましたが、許容濃度の 4 桁以上低い濃度まで確認できています。また、各元素の添加回収率も良好で、正しく測定できていることを明らかにしました (表 2)。

まとめ

ICPMS-2030 であれば、従来比 1/2 の低ランニングコストで、ICH Q3D ガイドラインの対象 24 元素を短時間で精確に分析することができます。

表 1 測定条件

装置	ICPMS-2030
高周波出力	1.2 kW
プラズマガス流量	8.0 L/min
補助ガス流量	1.1 L/min
キャリアーガス流量	0.60 L/min
サンプル導入	ネブライザー 10
チャンバー	サイクロンチャンバー (電子冷媒)
プラズマトーチ	ミニートーチ
コリジョンガス	He

表 2 錠剤の分析結果

	経口製剤 PDE	許容 濃度 *1	錠剤中 換算 *2 検出限界 (3 σ)	測定値 (錠剤中)	添加濃度 (錠剤中)	添加 回収率
	µg	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	%
Ag	150	750	0.001	N. D.	0.1	107
As	15	75	0.002	N. D.	0.2	101
Au	100	500	0.001	N. D.	0.2	91
Ba	1400	7000	0.002	0.013	0.2	96
Cd	5	25	0.003	N. D.	0.2	96
Co	50	250	0.0006	N. D.	0.4	101
Cr	11000	55000	0.003	0.017	0.4	104
Cu	3000	15000	0.04	0.15	0.4	102
Hg	30	150	0.006	N. D.	0.2	100
Ir	100	500	0.0005	N. D.	0.2	98
Li	550	2750	0.01	N. D.	0.2	93
Mo	3000	15000	0.001	N. D.	0.2	107
Ni	200	1000	0.003	0.156	0.4	101
Os	100	500	0.007	N. D.	0.2	92
Pb	5	25	0.001	0.003	0.2	105
Pd	100	500	0.006	N. D.	0.2	104
Pt	100	500	0.003	N. D.	0.2	99
Rh	100	500	0.0008	0.003	0.2	101
Ru	100	500	0.002	N. D.	0.2	98
Sb	1200	6000	0.0009	0.007	0.2	98
Se	150	750	0.01	N. D.	0.2	98
Sn	6000	30000	0.002	N. D.	0.2	98
Tl	8	40	0.0005	N. D.	0.2	103
V	100	500	0.002	N. D.	0.4	100

* 1 許容濃度	1 日の摂取量 (0.2 g) での PDE 値は 経口製剤の値を用いた許容濃度
* 2 錠剤換算検出限界 (3 σ)	測定溶液中検出限界 (3 σ) × 希釈倍率 (100)
N. D.	未検出

応用例

- ・ 水道水に含まれる有害元素の測定
- ・ 食品に含まれる有害元素・ミネラル分の分析
- ・ 血中成分の分析
- ・ 医薬品の安全性評価

参考資料

- 1) 医薬品の不純物ガイドラインについて (平成 27 年 9 月 30 日, 薬食審査 0930 第 4 号)
 - 2) GUIDELINE FOR ELEMENTAL IMPURITIES Q3D (R1)
 - 3) 第十七改正日本薬局方第二追補 (令和元年 6 月 28 日厚生労働省告示第 49 号)
- * なお、現時点でバイオ医薬品は ICH Q3D の対象外です。

ICPMS-2030



- 当社独自開発のミニートーチプラズマシステムにより、従来比 1/2 のランニングコストで測定が可能です。
- 高感度・低干渉を実現した新開発のコリジョンセルにより評価対象全元素を一斉に測定可能です。
- 業界初の 2 つのアシスタント機能を用いれば、従来の 1/10 の時間でデータ解析が可能です。



システム仕様

	装置：	ICPMS-2030
プラズマイオン源部	サンプル噴霧室：	サイクロンチャンバー (電子冷却)
	ペリスタルティックポンプ：	4 ch
	プラズマトーチ：	ミニートーチプラズマシステム
	ネブライザー：	同軸型
	トーチ位置調整：	X、Y、Z 3 軸自動調整
高周波電源部	周波数：	27 MHz
	高周波出力：	最大 1.4 kW ± 0.3% 以内
質量分析部	質量分析計：	四重極型質量分析計
	質量数範囲：	5 ~ 260
	コリジョンセル：	オクタポールコリジョンセル ヘリウムガス 0 ~ 10 mL/min
	検出器：	エレクトロンマルチプライヤ
	排気系：	3 段差動排気
	大きさ：	幅 870 mm × 奥行 645 mm × 高さ 587 mm (突起部を除く)
	重さ：	145 kg



抗体定量分析の前処理



LC-MS/MS を使って血中の
モノクローナル抗体を定量分析
するために開発された前処理法



click here

キットの原理と特長

nSMOL™ Antibody BA kitは、LC-MS/MSを用いて血中のモノクローナル抗体を定量する際に使用できる前処理キットです。どのような抗体医薬品にも対応できるため、従来のモノクローナル抗体を検出するために必要だった、特異的な検出抗体の作製、交差性テストが不要です。ELISA 法と比較して、ダイナミックレンジが広く、選択性が極めて高いこと、多成分一斉分析が可能であることが特長です。操作面でも、フィルターカップ上で行うため、面倒な洗浄操作やサンプル回収は遠心操作で簡単に行うことができます（図1）。また、前処理後のサンプルは直接 LC-MS にインジェクションできます。樹脂表面には抗体回収レジンがコーティングされているため、抗体の Fab 部分が外側を向くように配向されます。そこに、トリプシンが表面に固相化されたナノ粒子を添加することでトリプシンが効率よく抗体にアクセスし、トリプシン消化されます（図2）。トリプシン消化によって得られた Fab 由来ペプチドは遠心することで簡単に回収することができます。

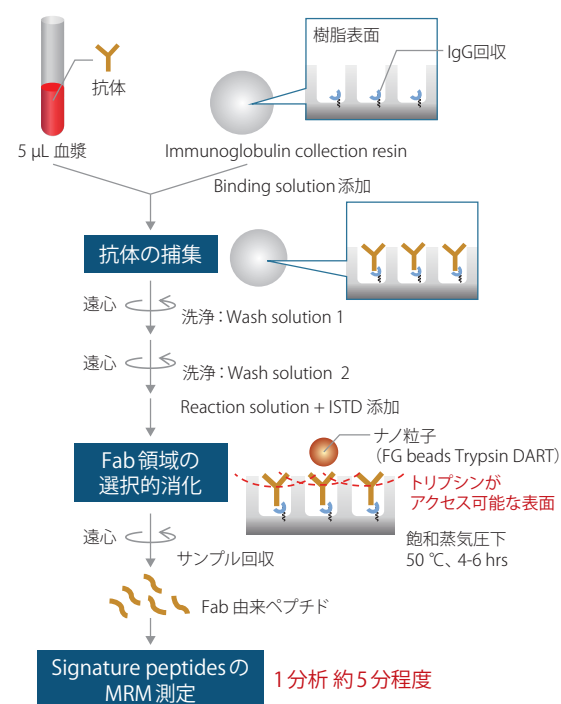


図1 シンプルなワークフロー

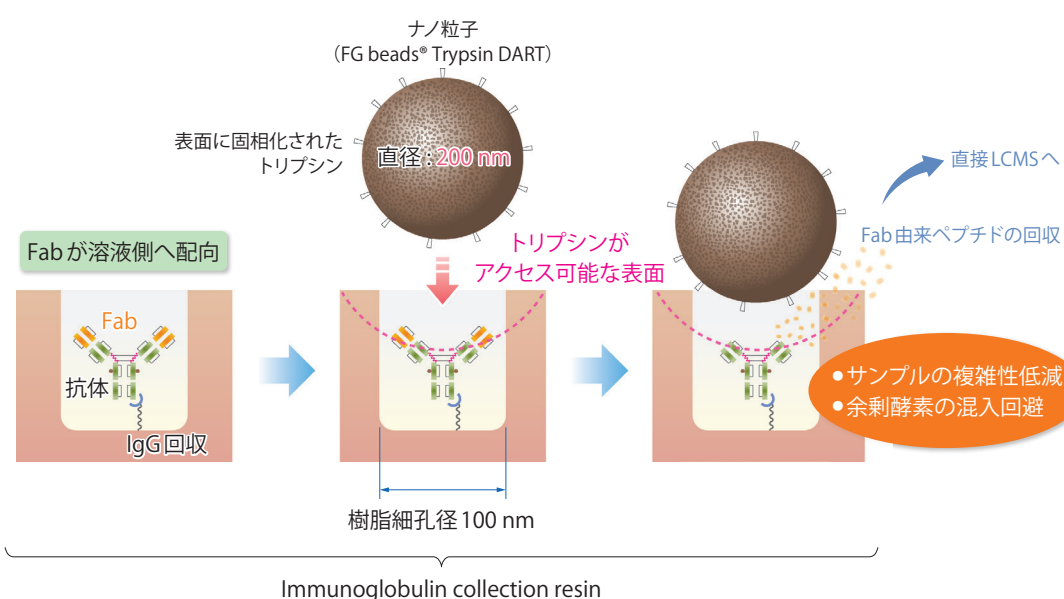


図2 キットの原理

nSMOL Antibody BA kit モノクローナル抗体定量用 LC/MS/MS 前処理キット



- Fab ペプチドを選択的に回収し、過剰なペプチド、トリプシンの混入なく分析可能です。
- どんな抗体医薬品にも適用する汎用性の高い前処理キットです。
- キャプチャー用の抗体やリガンドが不要なため、メソッド開発の迅速化・低コスト化につながります。



キット構成

試薬名称	数量	容量	保存温度
Immunoglobulin collection resin	2 本	1.3 mL/ 本	4 °C
Wash solution 1 (Binding solution)	1 本	80 mL	4 °C
Wash solution 2	1 本	80 mL	4 °C
Reaction solution	1 本	10 mL	4 °C
Enhanced reaction solution	1 本	凍結乾燥品	4 °C
Reaction stop solution	1 本	1 mL	4 °C
FG beads Trypsin DART	1 本	1.1 mL	-20 °C ^{注1)}

注1) 1 カ月以上の長期保存をする場合は、-80 °C で保存してください。

注2) 試薬キットの輸送温度は冷蔵 (2 ~ 8 °C) です。



抗体医薬品の血中濃度評価



Fab 選択的タンパク質分解法 nSMOL 法を用いた抗体医薬の LC/MS バイオアナリシス

- トラスツズマブの分析事例 -



[click here](#)

装置原理と特長

当社の nSMOL 法はモノクローナル抗体の Fab 領域選択的なタンパク質分解を可能とした、全く新しい画期的な LC-MS 前処理法です。抗体医薬品の種類に依存しないメソッド開発を可能とし、抗体医薬品分析におけるパラダイムシフトをもたらします。また医薬品開発における生体サンプル中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン（厚生労働省）の基準をクリアしております。当社ではそれぞれの最適化メソッド、プロトコルを提供しています。本手法は当社トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8050（以下、LCMS-8050）および LCMS-8060（以下、LCMS-8060）に最適化されています。

測定方法と測定条件

トラスツズマブをスパイクしたヒト血漿を nSMOL 法を用いて前処理を行い、Fab 由来ペプチドを得ました。これを LC-MS により血漿中のトラスツズマブ定量分析を行いました（表 1）。また、厚生労働省で設定されている医薬品開発における生体サンプル薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドラインに則ってフルバリデーションを行いました。

結果

定量ペプチド（signature peptide）の選択は、抗体特異性を規定する相補性決定領域（CDR）を含むトリプシンペプチド断片から選択します。しかし CDR 含有ペプチドであっても、内在性 IgG と同一配列でない保証はありません。そこで、使用するバイオリジカルマトリックス中で競合しないことを確認する必要があります。また質量分析はその原理上、基本的な m/z およびシグナル強度の情報しか取得できません。そこで、バイオアナリシスにおいて定量 MRM 設定と同時に、構造確認 MRM のモニターを使用し（表 2、図 1）、高品質で確実な分析結果を得る解析方法を使用しました。また、厚生労働省で定められているガイドラインを満たし（表 3）、良好な検量線も得られました。

まとめ

LC-MS を用いた血漿中の抗体医薬品を定量（定量下限：0.06 $\mu\text{g/mL}$ ）を前臨床～ヒト臨床試験まで同一のアッセイ法で実施いただけます。

応用例

・血清もしくは血漿中のモノクローナル抗体の定量

参考文献
1) Iwamoto N et. al., Analyst, DOI: 10.1039/c3an02104a
2) Iwamoto N et. al., Anal Methods, DOI:10.1039/c5ay01588j

表 1 LC-MS 分析条件

[LC] NexeraX2 system	
Column :	Shim-pack GISS C18 (50 mm × 2.1 mm I.D.)
Column oven :	50 °C
Solvent A :	0.1% formic acid/water
Solvent B :	0.1% formic acid/acetonitrile
Gradient : (Conc. B)	1% (1.5 min) → 25% (4.0 min) → → 95% (5.0 min) → 1% (6.0 min)
Flow rate :	0.4 mL/min
Injection :	10 μL
[MS] LCMS-8050, 8060	
Ionization :	ESI Positive
DL :	250 °C
Heat Block :	400 °C
Interface :	300 °C
Nebulizer gas :	3 L/min
Drying gas :	10 L/min
Heating gas :	10 L/min

表 2 トラスツズマブ定量ペプチドの MRM トランジション

ペプチド	MRM トランジション	目的
P ₁₄ R	512.1 > 292.3 (b3+)	定量用 (IS)
	512.1 > 389.3 (b4+)	構造確認用
	512.1 > 660.4 (b6+)	構造確認用
IYPTNGYTR	542.8 > 404.7 (y7+)	定量用
	542.8 > 808.4 (y7+)	構造確認用
	542.8 > 610.3 (y5+)	構造確認用

* ヒト血漿中定量範囲 : 0.0610 ~ 250 $\mu\text{g/mL}$
平均真度 : 100.7%

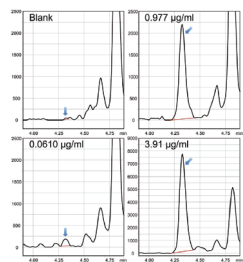


図 1 IYPTNGYTR のヒト血漿中 MRM クロマトグラム

表 3 フルバリデーション結果

【真度および精度】			
設定濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	データ平均 (N=15)	真度 (%)	CV (%)
2.93	2.58	88.1	8.2
200	211	106	5.6
【凍結融解試験】			
設定濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	データ平均 (N=5)	真度 (%)	温度 (°C)
2.93	2.87	98.1	-20
200	199	99.7	-20
【長期保存安定性試験】			
設定濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	データ平均 (N=5)	真度 (%)	温度 (°C)
2.93	3.03	104	-20
200	209	101	-20
【サンプル処理後 48 時間安定性試験】			
設定濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	データ平均 (N=5)	真度 (%)	温度 (°C)
2.93	3.67	91.2	5
200	211	106	5

LCMS-8050 / 8060 / 8060NX



- “UF Technologies” による最高感度と最高スピードを両立しました。
- 5 msec. の超高速極性反転により、正負イオンの同時測定できます。
- 「かんたんメンテナンス」を継承し、分析のダウンタイムを最小限にとどめることが可能です。



システム仕様

型名	LCMS-8050	LCMS-8060	LCMS-8060NX
質量範囲	m/z 2 ~ 2000	m/z 2 ~ 2000	m/z 2 ~ 2000
感度	ESI ポジティブ	1 pg レセルピン、 S/N>500,000:1 (RMS)	1 pg レセルピン、 S/N>1,500,000:1 (RMS)
	ESI ネガティブ	1 pg クロラムフェニコール、 S/N>500,000:1 (RMS)	1 pg クロラムフェニコール、 S/N>1,500,000:1 (RMS)
分解能	$R < 0.7 u$ (半値幅)、 0.5 u に調整可能	$R < 0.7 u$ (半値幅)、 0.5 u に調整可能	$R < 0.7 u$ (半値幅)、 0.5 u に調整可能
質量安定性	0.05 u/24 hr	0.05 u/24 hr	0.05 u/24 hr
質量精度	0.1 u	0.1 u	0.1 u
スキャン速度	最高 30,000 u/sec	最高 30,000 u/sec	最高 30,000 u/sec
正負イオン化切り替え時間	5 msec	5 msec	5 msec
インターフェース	標準： ESI	標準： ESI	標準： IonFocus™ (ESI, DUIS)
	オプション： Micro-ESI、APCI、 DUIS	オプション： Micro-ESI、APCI、 DUIS	オプション： Micro-ESI、APCI



抗体医薬品の血中濃度評価



nSMOL 法を用いたトラスツズマブの高感度 LC/MS バイオアナリシス


[click here](#)

装置原理と特長

高速液体クロマトグラフ質量分析（LC-MS）システムは、LC 流量を低下させることにより、MS 部でイオン化およびイオン取り込みの効率を向上させ、より高度な分析を可能にします。当社の「Nexera Mikros™」は、LC 流量をマイクロ流量（1 ～ 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 付近）まで低減したマイクロ LC-MS で、従来のセミマイクロ LC-MS に準じた堅牢性、スループットを維持しつつも感度は数～数十倍の高いシステムです。

測定方法と条件

抗体医薬品の血中濃度は、これまでリガンド結合法を用いた ELISA 法が主流でしたが、今回高感度 LC-MS を用いた定量法をご紹介します。サンプルには、トラスツズマブ標準品をスパイクしたヒト血漿とブランク血漿を用いました。全ての抗体医薬品に対し、同一のプロトコルで前処理が可能な nSMOL 法を用いて前処理を行い、Fab 由来ペプチドを得ました。これを表 1 ～ 3 に示す分析条件にて血漿中のトラスツズマブの定量を行いました。

表 1 LC 分析条件

[Analytical] :	
Column :	Shim-Pack MC C18 (50 mm $\times$ 0.175 mm I.D., X μm)
Mobile phase A :	0.1% Formic acid in water
Mobile phase B :	0.1% Formic acid in Acetonitrile
Gradient : (B. Conc.)	5% (0 – 0.5 min) $\rightarrow$ $\rightarrow$ 25% (0.5 – 4.5 min) $\rightarrow$ $\rightarrow$ 95% (4.51 – 5.0 min) $\rightarrow$ $\rightarrow$ 5% (5.01 – 11.0 min)
Flow rate :	4.0 $\mu\text{L}/\text{min}$
Column Temp. :	50 $^{\circ}\text{C}$
[Trap]	
Trap column :	L-column 2 ODS Micro (5 mm $\times$ 0.3 mm I.D., X μm)
Mobile phase A :	0.05% Trifluoroacetic acid in water
Mobile phase B :	0.1% Formic acid in Acetonitrile
Column Temp. :	50 $^{\circ}\text{C}$
Injection Volume :	10 μL

表 2 MS 分析条件

Ionization :	ESI Positive
DL Temp. :	250 $^{\circ}\text{C}$
Heat Block Temp. :	400 $^{\circ}\text{C}$
ESI Temp. :	100 $^{\circ}\text{C}$
Nebulizer Gas :	2 L/min
Drying Gas :	OFF
Heating Gas :	3 L/min

まとめ

nSMOL 法と Nexera Mikros を組み合わせることで、スループット性を保ちつつ高感度に血中の抗体医薬品定量を行うことができます。

参考文献

- 1) Iwamoto N et al., Analyst, DOI: 10.1039/c3an02104a
- 2) Iwamoto N et al., Anal Methods, DOI: 10.1039/c5ay01588j
- 3) アプリケーションニュース : C145A

表 3 トラスツズマブ定量ペプチドの MRM トランジション

ペプチド	MRM トランジション	目的
P ₁₄ R	512.1 > 292.3 (b3+)	定量用 (IS)
	512.1 > 389.3 (b4+)	構造確認用
	512.1 > 660.4 (b6+)	構造確認用
IVPTNGYTR	542.8 > 404.7 (y7++)	定量用
	542.8 > 808.4 (y7+)	構造確認用
	542.8 > 610.3 (y5+)	構造確認用

* ペプチド (signature peptide) の選択は、抗体特異性を規定する相補決定領域 (CDR) を含むトリプシンペプチド断片から選択。

結果

血漿中トラスツズマブは、設定濃度と測定濃度において $R^2 = 0.99$ 以上の良好な相関関係が得られ、真度および精度も良好でした。さらに、Nexera Mikros では血漿中トラスツズマブの LLOQ は 0.00763 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であることが確認されました。Nexera Mikros (図 1) と一般的なセミマイクロ LC-MS システム (図 2) による MRM クロマトグラムの比較から、セミマイクロ LC-MS システムでは検出できなかった濃度が Nexera Mikros では十分な感度をもって検出できることがわかりました。

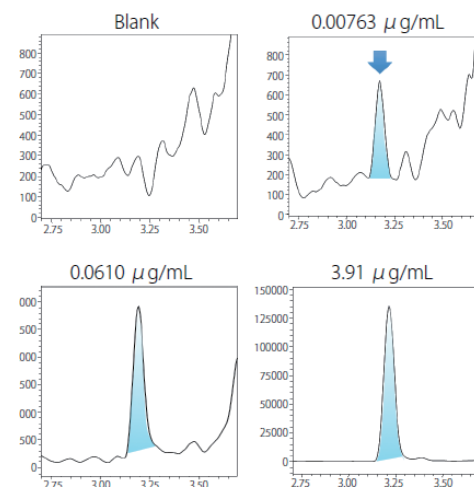


図 1 MRM クロマトグラム (Nexera Mikros)

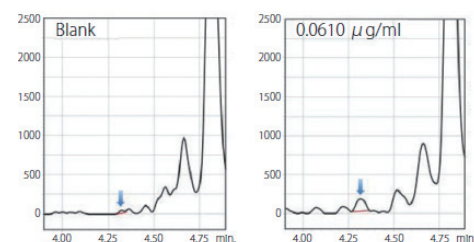


図 2 MRM クロマトグラム (セミマイクロ LC-MS)

応用例

- ・脂質メディエーターの高感度分析

Nexera Mikros



- LC-MS システムに高感度とスループットを兼ね備えたマイクロ流量 LC-MS です。
- 分析カラムの取り付けと LC-MS イオン化インターフェースへの接続がワンタッチでできます。

直接注入システム：注入量が少なく、脱塩などの前処理済みサンプルの分析向け



トラップ & エリ्यूートシステム：セミマイクロシステムでの注入量などを維持し、感度向上を目的としたシステム



イオン化促進システム：上記の 2 システムに LC-20ADnano を 1 台追加し、ネガティブモードでの感度向上を目的としたシステム



システム仕様

送液ユニット：	LC-Mikros™	流量領域：	1 ～ 500 $\mu\text{L}/\text{min}$
システム耐圧：	80 MPa		
オートサンブラ：	SIL-40C XR	注入量範囲：	0.1 ～ 50 μL
イオン化ユニット：	Micro-ESI™ 8060、Micro-ESI 9030		
カラムオープン：	CTO-Mikros™ (UF-Link™ によりゼロデッドボリューム化された簡単なカラム着脱が可能)		



代謝物の網羅的分析



GC/MS、LC/MS を用いた代謝物の網羅的解析
腸内細菌研究への応用



click here

装置原理と特長

質量分析計を用いたメタボローム解析では、一般的にガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）や高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）を使用し、サンプル中に含まれる代謝物（メタボローム）を網羅的に分析します。また、図1のように分析対象成分や分析目的に応じて、GC/MS、LC/MS を使い分ける必要があります。GC/MS ではアミノ酸、有機酸、糖等の親水性代謝物を分析する場合、誘導体化の処理が必要になりますが、頑健性に優れ、1回の分析で数百成分を網羅的に分析できます。一方 LC/MS は、誘導体化することなく特定の代謝物（～100成分）を効率的に分析することができ、特定成分のルーティン分析に適した手法です。

測定方法と条件

通常環境下で飼育した雄性 C57BL/6J マウスの新鮮糞便を回収し、糞便 50 mg に生理的リン酸緩衝液 450 μ L を添加後攪拌し、その上清を遠心分離による限外濾過することで代謝物を抽出しました。GC-MS/MS による一時代謝物分析では、この濾液に誘導体化処理を行い GC-MS/MS 用の分析サンプルとしました。一方、LC-MS/MS による一時代謝物分析では、濾液を超純水で 10 倍に希釈し、LC-MS/MS 用の分析サンプルとしました。GC/MS/MS 分析は生体サンプルに含まれる代謝物を中心に 475 成分の MRM 情報が登録されている Smart Metabolites Database[™] の MRM メソッドを用いて 475 成分の一斉分析を行いました。一方、LC/MS/MS 分析は、一次代謝物 LC/MS/MS メソッドパッケージ Ver. 2 に含まれるイオンペア LC/MS/MS 法（解糖系、TCA 回路、ペントース・リン酸回路およびアミノ酸・ヌクレオチドといったライフサイエンス分野のメタボローム解析において重要となる代謝物 55 成分の一斉分析法）とイオンペアフリー LC/MS/MS 法（イオンペア LC/MS/MS 法では対応できない有機酸やその他代謝物 97 成分の一斉分析法）を用い、LCMS-8040 および LCMS-8050 で分析しました。

結果

GC-MS/MS では、短鎖脂肪酸や有機酸を中心に 100 成分検出され、LC や LC-MS/MS では分析困難な糖類のうち 17 成分も検出できました（図2）。イオンペア法ではアミノ酸を中心とした 17 成分、イオンペアフリー法ではアミノ酸、ヌクレオチド、ヌクレオシド、TCA サイクルに関わる有機酸等の 75 成分検出されました（図2）。糞便中から網羅的に代謝物を分析するには、GC-MS/MS と LC-MS/MS を両方使用することが非常に有効です（図3）。

こちらの記事は服部考成^{*1,2}、國澤研大^{*1,2}、川名修一^{*1}、河野慎一^{*1,2}、早川祐宏^{*1}、飯田順子^{*1,2}、福岡英一^{*2,3}、松本光晴^{*1} 様にご協力いただきました。

*1 株式会社島津製作所 分析計測事業部

*2 大阪大学・島津分析イノベーション共同研究講座

*3 大阪大学大学院 工学研究科 *4 協同乳業株式会社 研究所

参考文献

1) M. Matsumoto, et al., *Scientific Reports*, 2, 223 (2012).

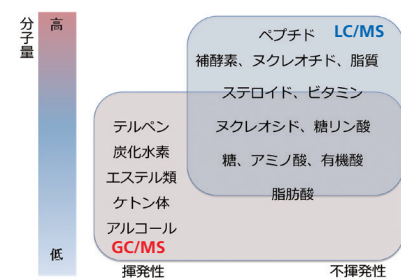


図1 GC/MS、LC/MS の分析対象成分

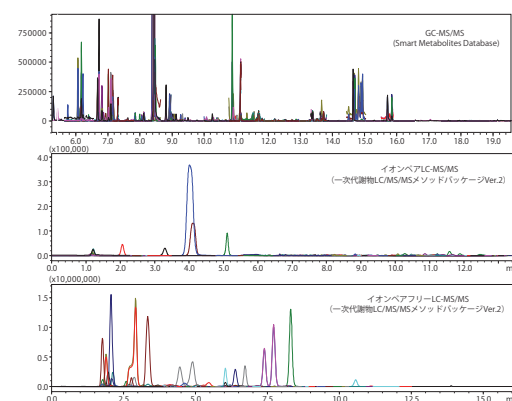


図2 マウス糞便抽出液の MRM クロマトグラム

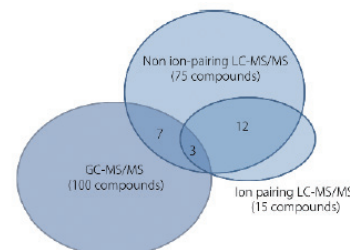


図3 マウス糞便抽出液からの代謝物の検出数

まとめ

GC/MS/MS と LC/MS/MS では分析対象成分が異なるため、両手法を用いることで代謝物を網羅的に分析することができます。また、GC/MS/MS 用の MRM データベースや LC/MS/MS 用のメソッドパッケージを使用することで、分析初心者でも代謝物の網羅的分析が簡便にできます。大量に得られたデータは、当社のマルチオミクス解析パッケージを用いることで簡便に可視化できるため、解釈が容易になります。本分析・解析手法は、腸内細菌叢研究に限らず様々な薬物動態におけるメタボローム解析に非常に有効だと考えられます。

応用例

- 代謝物の一斉分析（メタボロミクス）

GCMS-TQ[™]8040 NX LCMS-8040 / 8050



benefits

- 最適なメソッドが予め登録されている、世界最大の代謝物データベースをご用意しています。
- MRM 測定によりスキャン、SIM では検出できない成分を検出することが可能です。
- 高速 MRM 分析による多成分一斉分析によって、高感度の網羅分析を実現します。



システム仕様

装置：	GCMS-TQ8040 NX
GC 部：	オープン温度：室温 + 2 ～ 450 °C キャリアガス制御：線速度一定、圧力一定、流量一定 フローコントローラ圧力：最高 970 kPa
MS 部：	イオン化：EI（標準）、CI、NCI（オプション） 質量範囲： m/z 10 ～ 1090 MRM 最大速度：> 800 MRM/sec 測定モード：スキャンモード、SIM モード、MRM モード、 プロダクトイオンスキャンモード、 プリカーサイオンスキャンモード、 ニュートラルロススキャンモード、 任意の組み合わせでの同時分析も可能 重量：GC-MS 本体 110 kg、補助ポンプ 10 kg



揮発性ガス分析 バイオマーカー探索



腸内微生物が生成する揮発性ガス分析



click here

装置原理と特長

腸内細菌叢は様々な揮発性物質を生成しております。これを網羅的に解析することでバイオマーカー探索等の研究に用いられています。ヘッドスペースサンブラとガスクロマトグラフ質量分析計の組み合わせにより（HS-20+GCMS-QP2020 NX）、揮発性物質の網羅的分析を行うことができます。

また、ヘッドスペースサンブラと硫黄成分のみ高感度に検出するGC 検出器のSCD と組み合わせにより（HS-20+Nexis™ GC-2030+SCD-2030）、揮発性硫黄化合物を高感度に分析することができます。

測定方法と条件

無菌および通常菌叢定着マウスの新鮮糞便をそのままヘッドスペースバイアルに入れ、嫌気性ガスを噴入後に密閉し 24 時間培養しました。その後、ヘッドスペースサンブラにセットし、発生ガスをGC/MS、GC-SCD により分析を行いました（分析条件の詳細はタイトルリンク先をご参照ください）。

結果

網羅的に揮発性物質を分析したトータルイオンクロマトグラム（TIC、図 1）、硫黄系揮発性物質を分析したクロマトグラム（図 2）ともに、無菌マウスに比べ菌叢定着マウスの方が揮発性物質の検出数および発生量が多いことを確認しました。また、GC/MS ではピーク強度が小さかったり、他のピークと重なっているような硫黄化合物をGC-SCD で検出・同定可能なことを確認しました。

菌叢定着マウス 6 匹において、2 回ずつサンプルを回収し GC/MS 分析を行って得られた 121 種類の化合物データについて、多変量解析ソフトウェア SIMCA® 15 により主成分分析を行いました。以上から得られたスコアプロット（図 3）上で、同一個体由来サンプルで最小クラスターを形成し、個体間で別れることから、個体差検出が可能であることが明らかになりました。

まとめ

GC-MS と GC-SCD を使用し、前処理不要で腸内細菌生成の揮発性ガス分析が可能であることを確認しました。GC/MS では網羅的な分析、GC-SCD では GC/MS では検出が難しい低濃度の硫黄成分の分析を行うことができます。これらを組み合わせて薬物動態におけるバイオマーカーの探索等に役立ててください。

応用例

- ・揮発成分の網羅的分析
- ・揮発性硫黄化合物の高感度分析
- ・新たなバイオマーカーの探索

GC/MS（揮発性物質の網羅的分析）

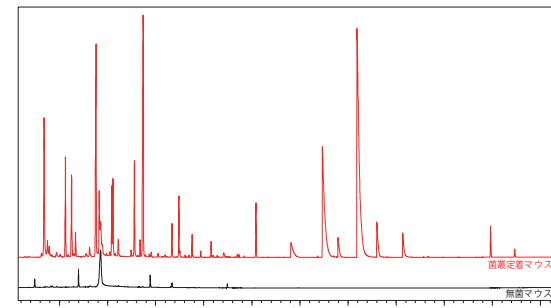


図 1 GC/MS のトータルイオンクロマトグラム

GC-SCD（硫黄系揮発性物質の選択的分析）

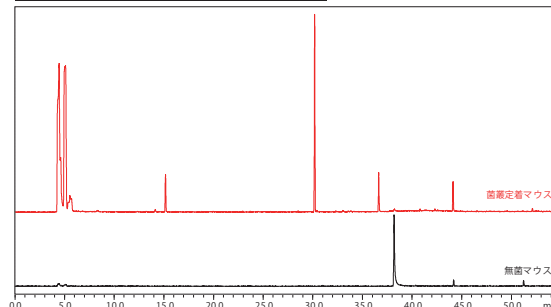


図 2 GC-SCD のクロマトグラム

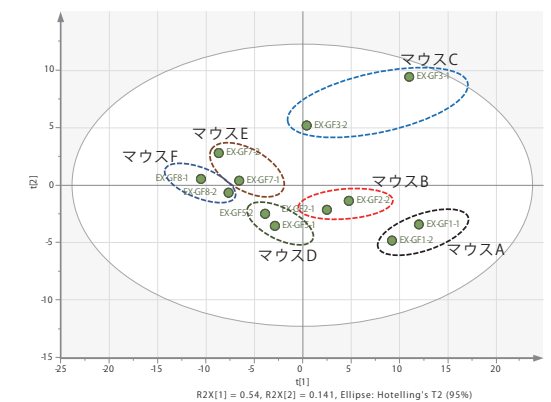


図 3 菌叢定着マウス分析結果の多変量解析結果（スコアプロット）

本測定を行うにあたり、サンプル供給等のご協力いただいた協同乳業株式会社の松本光晴 主幹研究員に感謝いたします。

HS-20 Trap / GCMS-QP2020 NX
HS-20 / Nexis GC-2030 / SCD-2030

- HS-20 により前処理なく揮発性ガスの高感度分析が可能です。
- HS-20 のトラップモードを用いることで更なる高感度化を実現します。
- GC-SCD により硫黄成分のみを選択的に高感度に分析ができます。



システム仕様

装置：	HS-20 Trap / GCMS-QP2020 NX
HS 部：	サンプル導入方式：サンプルループ方式 / 吸着剤トラップ サンプル：90 本 オープン温度：室温 +10 °C ～ 300 °C（1 °C ステップ） 重量：40 kg（HS-20Trap）
GC 部：	オープン温度：室温 + 2 ～ 450 °C キャリアガス制御：線速度一定、圧力一定、流量一定 フローコントローラ圧力：最高 970 kPa
MS 部：	イオン化：EI（標準）、CI、NCI（オプション） 質量範囲： m/z 1.5 ～ 1090 測定モード：スキャン、SIM、スキャン / SIM 同時測定 高速スキャンレート：20,000 u/sec 重量：GC-MS 本体 85 kg、補助ポンプ 10 kg



システム仕様

装置：	HS-20 / Nexis GC-2030（検出器 SCD-2030）
HS 部：	サンプル導入方式：サンプルループ方式 サンプル：90 本 オープン温度：室温 +10 °C ～ 300 °C（1 °C ステップ） 重量：33 kg（HS-20）
GC 部：	オープン温度：室温 + 2 ～ 450 °C 試料気化室温度：最高 450 °C キャリアガス制御：線速度一定、圧力一定、流量一定 フローコントローラ圧力：最高 970 kPa 重量：43.5 kg（SPL/FID モデル）
SCD 部：	最小検出量：<0.3 pgS/s（ジベンゾチオフェン） ダイナミックレンジ：>10 ⁴ 選択性：>10 ⁷ （S/C） 重量：27 kg



バイオマーカー探索



卓上 MALDI-TOF MS を用いた がん細胞のプロファイリング



click here

装置原理と特長

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型（MALDI-TOF）の質量分析計は、四重極型や磁場型などと比べ、広い測定質量範囲と迅速性を両立している点が特長です。核酸やタンパク質、高分子の測定に適しています。高さ約 2 m の従来機から、設計を見直すことで高さを半分に抑え、設置面積は従来比 25% 減、重量は同 74% 減に抑えました。分解能と感度は卓上型として世界最高級です。さらに、レーザー高速化や排気システムの改良による真空待機の短時間化、ステージの高速化によって測定時間を大幅に短縮しました。

測定方法

がん細胞は細胞外小胞を介して全身に転移します。そこで、通常の大腸がん転移リンパ節細胞と、化学療法抵抗性を高めたリンパ節細胞から細胞外小胞を取り出し、細胞外小胞由来のタンパク質発現

レベルの違いを MALDI-TOF MS でプロファイリングしました。大腸がん転移リンパ節細胞をフルオロウラシルと共培養することにより、化学療法抵抗性の高い細胞を樹立しました。培養した細胞から細胞外小胞のタンパク質を回収し、MALDI-8020 にてマスペクトルを取得しました。 α -cyano-4-hydroxycinnamic acid をマトリックスとして使用しました。得られたマスペクトルは eMSTAT Solution による多変数解析を行いました（図 1）。

結果

細胞外小胞のマスペクトルから、 m/z 2,000 ~ 25,000 範囲にタンパク質由来成分が検出されました。多変数解析の Score plot の結果、フルオロウラシルに耐性があるグループと感受性があるグループを識別し、Peak Matrix から、化学療法抵抗性に特徴的なピークを m/z 2,000 ~ 7,000 の範囲に検出しました（図 2）。



図 1 細胞外小胞分析のワークフロー

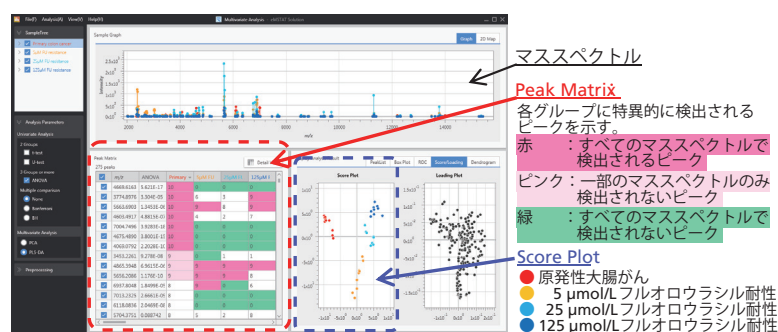


図 2 4つの細胞外小胞グループの PLS-DA 分析結果

まとめ

MALDI-8020 と統計解析ソフトウェアを組み合わせることでバイオマーカー探索研究に用いる可能性を見出しました。このようなタンパク質プロファイリング法は、低侵襲がん診断や化学療法モニタリングに役立つことが期待されます。

原発性大腸がん由来の細胞外小胞と細胞抽出物、5、25、125 μ M の 5-fluorouracil (FU) に耐性を持つリンパ節転移サブクローンはウィーン医科大学の Dr. Gerald Stübiger より提供されました。

参考文献
1) Stübiger, G. et al., *Analytical Chemistry*, 90, 13178-13182 (2018)

応用例（当社アプリケーションニュース番号）

- 組織中の発現タンパク質プロファイリング
- 糖鎖・糖ペプチド解析 (B113)
- タンパク質一次構造解析 (B105)

MALDI-8020



- 卓上で迅速高感度なプロファイリングが可能です。
- 高いメンテナンス性、低いランニングコストでご利用いただけます。
- 核酸やタンパク質、高分子など幅広い分子量探索が可能です。



システム仕様

装置：	MALDI-8020
質量範囲：	m/z 1 ~ 500,000
質量分解能：	> 5,000 FWHM
感度：	> 250 amol
質量精度：	内部標準：< 20 ppm 外部標準：< 150 ppm
加速電圧：	15 kV
レーザー：	固体レーザー 波長：355 nm 繰り返し周波数：50、100、200 Hz (可変)
飛行距離：	850 mm
検出器：	Electron Multiplier
イオン源クリーニング：	自動機能 有 (内蔵個体レーザーによる)
サンプルプレート：	ディスポーザブル型 FlexiMass-DS、ステンレス製 FlexiMass-SR
運転音：	< 55 dB
本体電源：	単相 AC 100 V、50/60 Hz、1 kVA
大きさ：	幅 600 mm × 奥行 745 mm × 高さ 1,055 mm (突起部を除く)
重さ：	86 kg
設置場所：	温度：18 ~ 28 °C 湿度：70% 以下 (結露しないこと)
解析ソフトウェア：	eMSTAT Solution
解析機能	単変数解析： t-検定、Mann-Whitney の U-検定、ANOVA (分散分析) 多変数解析： PCA (主成分分析)、PLS-DA 判別分析： Support Vector Machine (SVM)、Random Forest その他： 動的グルーピング
表示機能	多変数解析： Peak Matrix、Box Plot、ROC、AUC、Score/Learning Plot、Dendrogram 判別分析： 判別結果 (Group、Score)、Score Plot への未知サンプル点の重量表示
入出力データ	入力： ピークリスト (ASCII、JCAMP、mzML 形式) 出力： ピークリスト (txt 形式)、解析結果 (xslm 形式)、グラフキャプチャー画像

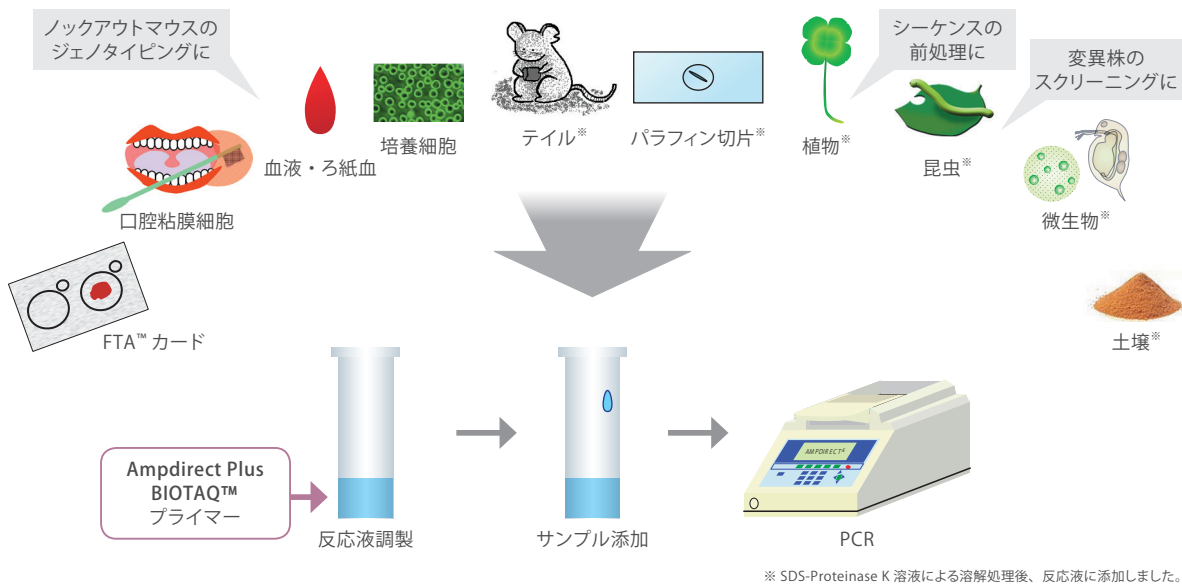
DNA 抽出不要な PCR 酵素セット

DNA 精製はもう不要です！

Ampdirect™ Plus 酵素セット

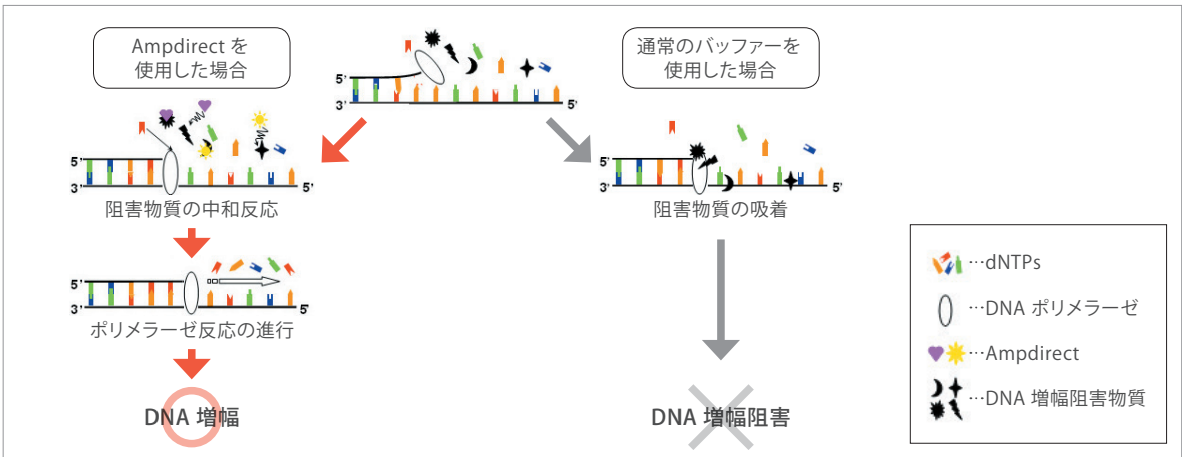
研究用試薬

ノックアウトマウスのジェノタイピングや植物 DNA マーカーの検出他、PCR 操作を負担に感じることはありませんか？
DNA 精製不要の PCR 試薬、Ampdirect Plus 酵素セットは、皆様のご負担を劇的に軽減いたします。この機会にぜひお試しください。



Ampdirect の原理

Ampdirect はサンプル中のタンパク質や糖といった PCR 阻害物質に対する中和作用をもつため、DNA 精製なしにサンプルから直接 PCR やクールドな状態からの PCR が可能になります。



Ampdirect Plus



Ampdirect Plus 酵素セット (P/N S241-08890-92)



- 簡便・迅速 DNA 精製が不要になり、簡便かつ迅速な PCR が可能になります。
- 微量サンプルに最適 DNA 精製が不要なため、精製時のサンプルロスがなく、微量サンプルからの PCR に最適です。
- 安定した PCR に サンプル中の夾雑物による PCR 阻害を受けにくくなり、安定した PCR が可能になります。
- ホットスタート用酵素 便利で高性能なホットスタート用 Taq Polymerase を採用しております。
- シーケンス、フラグメント解析に 増幅産物は、シーケンスや RFLP などのフラグメント解析に使用可能です。
- 低コスト DNA 抽出キットや装置は不要となり、ランニングコストを抑えることが可能となります。



キット内容：	・ Ampdirect Plus(MgCl ₂ 、dNTP 含む) ・ BIOTAQ™ HS DNA Polymerase	1 mL × 5 本 250 units (5 units / μL)
反応回数：	500 回分 (20 μL 反応系)	
保存温度：	-20° C	

単品で、Ampdirect Plus 1 mL × 5 本 (P/N S241-08800-98) もございます。

技術に関する
お問合せは…

(株) 島津製作所 分析計測事業部 バイオ・臨床ビジネスユニット
〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町 1
TEL (075) 823-1351 FAX (075) 823-1364

注) 本製品は研究用試薬です。医薬品医療機器法に基づく体外診断用医薬品あるいは医療機器として承認・認証等を受けておりません。治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。
人、動物の診断・治療用として承認されていないので、医薬品、化粧品、食品などの用途で人、動物の身体に直接使用できません。

TORAST™-H シリーズ

島津ジーエルシーが最新の技術を取り入れ実使用に近い条件で性能評価・検証したハイエンド消耗品シリーズの名称です。

低吸着ガラスバイアル
TORAST™-H Glass Vial

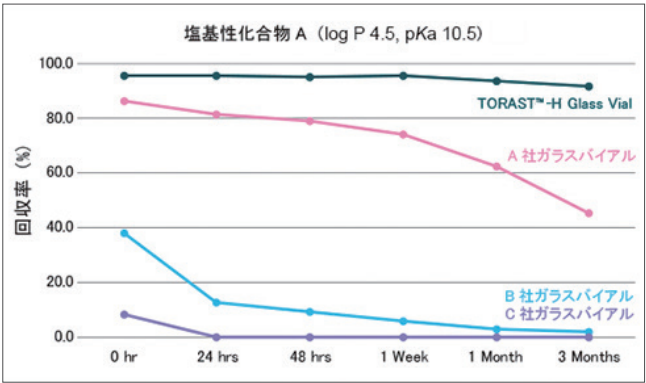


- 世界最高峰の低吸着性能（塩基性、酸性、中性すべてに対して）
- 機能性を追求したデザイン（小容量バイアル、梱包）
- 万全な品質管理（品質証明書付き、Lot 管理）



長期保存にも適した低吸着性能 ～ 3 ヶ月経っても吸着が極めて少ない～

分析後のサンプルをバイアルにいったまま長期保存すると、サンプルが容器に吸着し、再現性が低いことがあります。
TORAST™-H Glass Vial は分析における低吸着性能を極めた結果、保存容器としても世界最高峰の性能に行き着きました。



	0 hr	24 hrs	48 hrs	1 Week	1 Month	3 Months
TORAST™-H Glass Vial	96.0%	95.7%	95.4%	95.6%	93.7%	91.9%
A 社ガラスバイアル	86.6%	81.4%	79.2%	74.4%	62.4%	45.5%
B 社ガラスバイアル	38.1%	13.0%	9.6%	5.9%	3.1%	2.2%
C 社ガラスバイアル	8.5%	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

ポリプロピレン (PP) バイアル (コントロール) 0 時間の面積値を 100%とし、各面積値を比較しました。
3 ヶ月後の PP バイアルの回収率は 89%となり、TORAST™-H Glass Vial の回収率を下回りました。

品名	仕様	キャップタイプ	スリット	容量	入数	P/N
TORAST™-H Glass Vial (品質証明書、PTFE / シリコン セプタムキャップ付き)	透明ガラス、ラベル付き (広口径 9-425)	スクリュー型	無	1.5 mL	100	370-04300-01
			有			370-04300-02
	褐色ガラス、ラベル付き (広口径 9-425)		無			370-04300-03
			有			370-04300-04
	透明ガラス、ラベル付き (広口径 9-425)		無	150 µL		370-04301-01
			有			370-04301-02
	褐色ガラス、ラベル付き (広口径 9-425)		無			370-04301-03
			有			370-04301-04
Screw Cap for TORAST™-H Glass Vial	PTFE / シリコンセプタム (広口径 9-425)		無	—		370-04310-01
			有			370-04310-02

特殊コーティング ポリプロピレン製バイアル
TORAST™-H Bio Vial

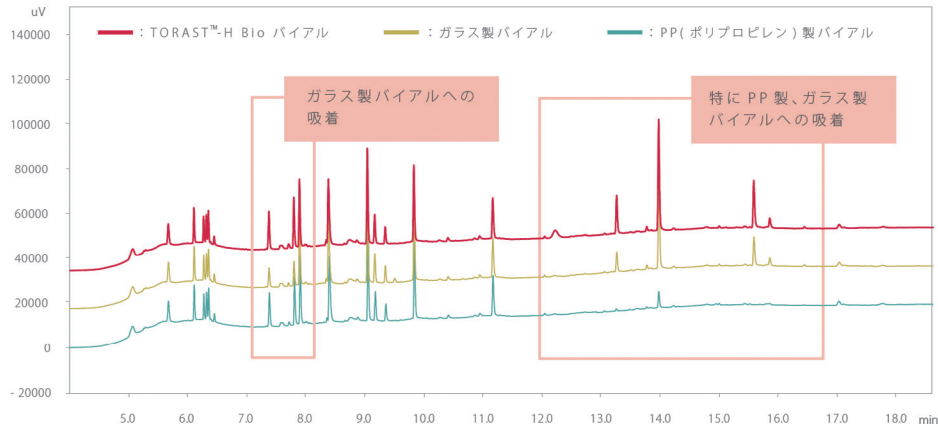


- ペプチドが極めて低吸着
- 塩基性化合物が極めて低吸着
- 使い勝手が良いユーザーフレンドリーな設計



Myoglobin (≒ 1.9 pmol/mL) のトリプシン消化物による吸着試験

保持時間が、約 7 ～ 8 分に検出される極性の高いペプチドは主にガラス製バイアルへ、また約 12 ～ 16 分に検出される疎水性の高いペプチドは主に PP 製バイアルへ吸着している現象が、それぞれ確認されました。



フラッシュ遠心にそのまま使用できる外形設計



品名	仕様	スリット	容量	入数	P/N
TORAST-H Bio Vial	PP バイアル	有	300 µL	100	370-04350-00

当社 LC システム I-Series でお使いいただく際は、右記の特殊バイアル検出板 (P/N:S228-51891-03) をご使用ください。



蛍光測定

RF-6000



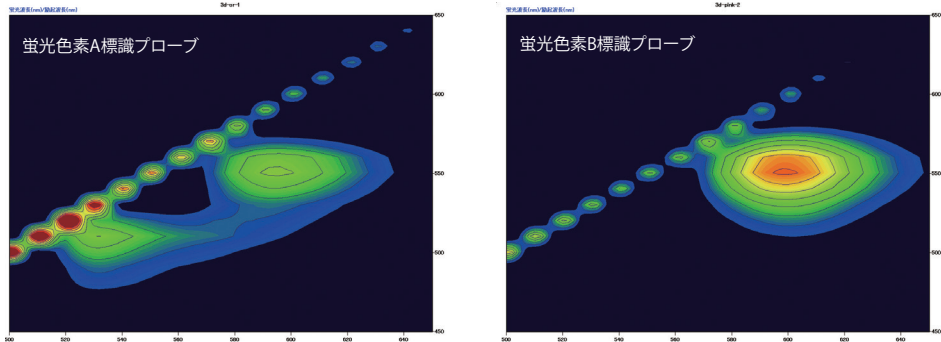
- **高感度** クラス最高レベルの SN 比 1,000 以上 (RMS)、350 以上 (P-P) を実現
- **高速測定** 超高速スキャン 60,000 nm/min
- **長寿命** 2000 時間長寿命キセノン
- **自動スペクトル補正機能搭載** 装置特性の影響がないスペクトル



DNA 検出用蛍光色素の測定

DNA と結合したときにのみ蛍光を発する色素で標識された DNA プローブを用いることで、プローブに相補的な特定の DNA を検出することができます。

下図に 2 種類の蛍光色素で標識されたプローブによって蛍光を発するようになった DNA の 3 次元測定を行った結果を示します。蛍光色素毎に現れる特有な蛍光ピークを、超高速スキャン機能により迅速に確認することができます。



RF-6000



分析天びん

AP シリーズ

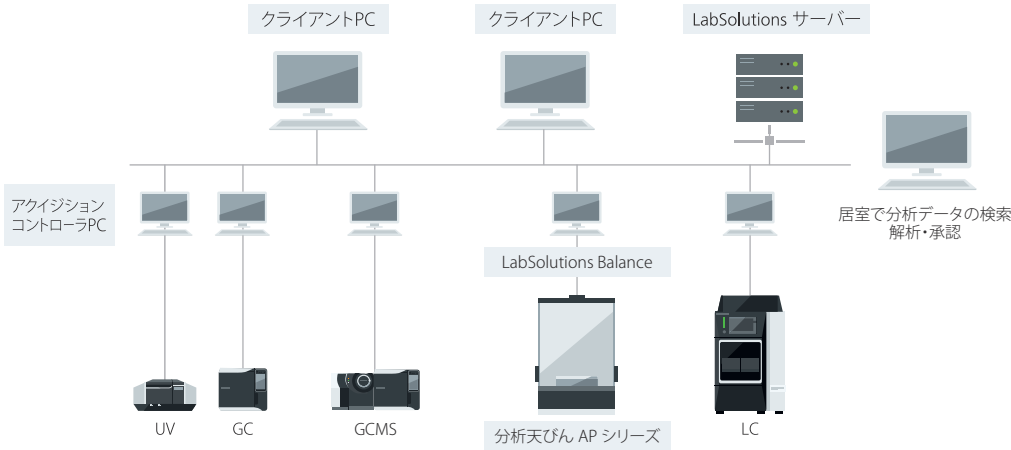


- **LabSolutions Balance** クロマトデータのデータインテグリティ対応
- **生産性向上** 応答性能クラス最速 (応答時間従来比 5 分の 1)
- **風防内部プレートとイオナイザ STABLO™-AP 併用で安定計量**



最小読取：0.1mg /0.01mg
(本写真は 0.1mg用の装置です)

LabSolutions を用いたネットワークシステムによる分析データの統合管理



風防内部プレートとイオナイザ STABLO-AP 併用で安定計量

風防内部プレートセット

ひょう量室内の対流や気流の影響を抑え、計量の安定性、応答性を向上させます。



除電機 (イオナイザ) STABLO-AP

容器やサンプルの静電気を一掃！
スタンド 外置き型、天びん本体内部型、自由に切り替え可能です。



AP シリーズ



参考文献一覧

培養

p.16_ 原子吸光法による細胞培養上清中金属元素モニタリング

- 1) Inn H Yuk et al., Biotechnology Progress, 30, 429-442 (2014)
- 2) Prabhu et al., Applied Microbiology and Biotechnology, 102, 5989-5999 (2018)
- 3) アプリケーションニュース A634 原子吸光法による細胞培地中金属元素の直接分析

p.18_ 培養条件の最適化に向けた CHO 細胞培養上清中の成分一斉分析

- 1) Zhiyuan Sun et al., Biologicals, 61, 144-51 (2019)

品質管理

p.30_ タンパク質の二次構造解析 ～卵白の熱変性による二次構造変化解析～

- 1) JENNIFER KOVACS-NOLAN, J. Agric. Food Chem., 53, 8421-8431 (2005)
- 2) Yoshinori Mine et. al., J. Agric. Food Chem., 38 (12), 2122–2125 (1990)
- 3) Jilie KONG, Shaoning YU., Acta Biochim. Biophys. Sin., 39(8), 549–559 (2007)
- 4) A. Kato and T.Takagi, J. Agric. FoodChem., 36, 1156-1159 (1988)

p.34_ MALDImini-1 を用いた N- 結合型糖鎖解析 シアル酸結合様式異性体の識別と構造推定

- 1) Nishikaze T, et al., Anal Chem, 89, 2353-2360 (2017)
- 2) Hanamatsu H, et al., Anal Chem, 90(22), 13193-13199 (2018)

p.44_ 動的画像解析法によるバイオ医薬品中の不溶性微粒子評価

- 1) 内山 進 , 薬学雑誌 , 138, 1503-1507 (2018)
- 2) Kiyoshi M et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 108, 832-841 (2019)

p.48_ ICH Q3D 医薬品元素不純物ガイドラインの ICP 質量分析法による分析

- 1) 医薬品の不純物ガイドラインについて（平成 27 年 9 月 30 日, 薬食審査 0930 第 4 号）
- 2) GUIDELINE FOR ELEMENTAL IMPURITIES Q3D(R1)
- 3) 第十七改正日本薬局方第二追補（令和元年 6 月 28 日厚生労働省告示第 49 号）

* なお、現時点ではバイオ医薬品は ICH Q3D の対象外です。

薬物動態

p.52_ Fab 選択的タンパク質分解法 nSMOL 法を用いた抗体医薬の LC/MS バイオアナリシス - トラスツズマブの分析事例 -

- 1) Iwamoto N et. al., Analyst, DOI: 10.1039/c3an02104a
- 2) Iwamoto N et. al., Anal Methods, DOI:10.1039/c5ay01588j

p.54_ nSMOL 法を用いたトラスツズマブの高感度 LC/MS バイオアナリシス

- 1) Iwamoto N et.al., Analyst, DOI: 10.1039/c3an02104a
- 2) Iwamoto N et al., Anal Methods, DOI: 10.1039/c5ay01588j
- 3) アプリケーションニュース C145A

p.56_ GC/MS、LC/MS を用いた代謝物の網羅的解析 腸内細菌研究への応用

- 1) M. Matsumoto, et al., Scientific Reports, 2, 223 (2012).

p.60_ 卓上 MALDI-TOF MS を用いたがん細胞のプロファイリング

- 1) Stübiger, G. et al., Analytical Chemistry, 90, 13178-13182 (2018)

ローレライ、LabSolutions、BioSpec、MultiNA、CELL PICKER、LCMS、Nexera、C2MAP、C2MAP TRENDS、Prominence、Shim-pack、PPSQ、IRTracer、MALDImini、eMSTAT Solution、DUI5、Aggregates Sizer、iSpect、nSMOL、IonFocus、Nexera Mikros、LC-Mikros、Micro-ESI、CTO-Mikros、UF-Link、Smart Metabolites Database、GCMS-TQ、Nexis、Ampdirect および STABLO は、株式会社島津製作所の商標です。

TrayCell は、Hellma GmbH & Co.KG の商標です。

TALEN は、Cellestis Group の商標です。

Wakopak および Wakosil は、富士フイルム和光純薬株式会社の登録商標です。

Microsoft および Windows は、米国 Microsoft Corporation の米国およびその他の国における登録商標または商標です。

Cell3iMager は、株式会社 SCREEN ホールディングスの商標です。

MicromATR は、Czitek,LLC. の商標です。

ZipTip は、Merck KGaA の商標です。

FG beads は、多摩川精機株式会社と国立大学法人東京工業大学の登録商標です。

SIMCA は、Sartorius Stedim Data Analytics AB の登録商標です。

FTA は、General Electric 社またはその子会社の商標です。

BIOTAQ は、Bioline Reagents limited の商標です。

TORAST は、株式会社島津ジーエルシーの商標です。



本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。
本製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器として承認・認証等を受けておりません。
治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。
トラブル解消のため補修用部品・消耗品は純正部品をご採用ください。
外観および仕様は、改良のため予告なく変更することがありますのでご了承ください。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部

604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1



東京支社	(官公庁担当) (03) 3219-5631	郡山営業所	(024) 939-3790	静岡支店	(054) 285-0124	四国支店	(087) 823-6623
	(大学担当) (03) 3219-5616	つくば支店	(官公庁・大学担当) (029) 851-8511	名古屋支店	(官公庁・大学担当) (052) 565-7521	広島支店	(082) 236-9652
	(会社担当) (03) 3219-5622		(会社担当) (029) 851-8515		(会社担当) (052) 565-7531	九州支店	(官公庁・大学担当) (092) 283-3332
関西支社	(官公庁・大学担当) (06) 6373-6541	北関東支店	(官公庁・大学担当) (048) 646-0095	京都支店	(官公庁・大学担当) (075) 823-1604		(会社担当) (092) 283-3334
	(会社担当) (06) 6373-6556		(会社担当) (048) 646-0081		(会社担当) (075) 823-1603		
札幌支店	(011) 700-6605	横浜支店	(官公庁・大学担当) (045) 311-4106	神戸支店	(078) 331-9665	島津コールセンター	0120-131691
東北支店	(022) 221-6231		(会社担当) (045) 311-4615	岡山営業所	(086) 221-2511	(操作・分析に関する相談窓口) IP電話等:	(075) 813-1691