

Evaluation of the Deliciousness for Meat Alternatives

代替肉の評価アプリケーション集



Introduction

2019年6月に国連が発表した報告によると、世界の人口は現在の77億人から2050年には97億人に増加し、今後30年間で20億人増加すると予測されています。人口の急激な増加のため、飢餓や栄養失調などの食糧問題への対策が緊急に必要だと記述されています。世界の食肉消費量は過去50年間で5倍に増加しており、減少の兆しはありません。また、畜産物は世界の温室効果ガス排出量の約20%を占め、土壌・水質汚染の原因となることが報告されています。

近年、肉の食感、風味、外観を人工的に再現する「代替肉」が開発されています。代替肉には、大豆やエンドウ豆、キノコなどの植物性タンパク質を主原料とする「植物肉（プラントベースドミート）」と、牛などの動物の幹細胞を培養して生産される「培養肉」の2種類があります。いずれの技術も世界中の食品市場で関心を集めています。

本アプリケーション集では、代替肉の開発における肉のおいしさの評価をまとめました。



Contents

においの評価	p. 3
• 植物肉と牛肉の風味比較（GC-MS）	
• 機械学習による風味分析による肉の分類（GC-MS）	
味の評価	p. 6
• 大豆ミートと鶏肉のアミノ酸比較（LC）	
• ひき肉と植物肉における一次代謝物の比較（LC-MS）	
食感の評価	p. 8
• ミートボールの食感の比較（テクスチャーアナライザ）	
• 鶏肉のタンパク質変性と食感の評価（示差走査熱量計、テクスチャーアナライザ）	
培養細胞の評価	p. 11
• 哺乳動物細胞の培養上清の同時分析（LC-MS）	
• 細胞塊の圧縮試験（微小圧縮試験機）	
関連機器のご紹介	p. 14

植物肉と牛肉の 風味比較 (GC-MS)

生肉自体にはほとんど香りがないため、「肉らしさ」に関連する香りのほとんどは、調理過程におけるアミノ酸と還元糖のメイラード反応によって生じます。見た目や味を畜肉に似せて製造された植物肉（Plant-based meat）が近年普及しはじめています。大豆タンパク質濃縮物といった植物性タンパク質に対して、色素や安定剤などの食品添加物と油脂を混合させることによって、肉の風味や食感を従来の畜肉に近づけています。また、そのようにして作られた植物肉に含まれているタンパク質のアミノ酸も同様にメイラード反応を起こします。

固相マイクロ抽出（SPME）は、吸着ファイバーを使用して試料中において成分を吸着/吸収する技術です（図1）。ヘッドスペースSPMEは揮発性化合物の選択性が高く、マトリックス効果を低減するため高感度分析が可能です。また、SPME Arrowは、従来の吸着ファイバーよりも大量の吸着剤相と大きな表面積をもっているため、効率良く抽出することができます。

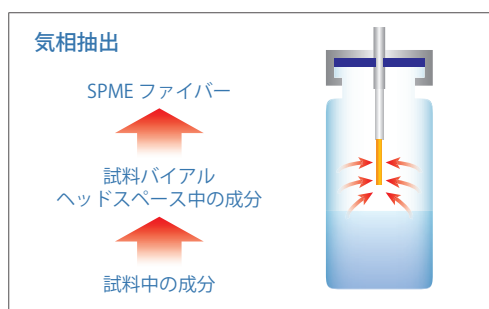


図1 SPMEの原理

SPME法による捕集とGC/MS法を用いて、植物肉の香気と通常の肉の香気を比較しました。

図2に植物肉と牛肉から発生したにおい成分のクロマトグラムを重ね描きました。

表1には両試料から検出された成分をまとめています。いずれも共通して脂肪酸やメイラード反応で生成する香気成分が検出されていますが、植物肉と牛肉とは由来が異なるアミノ酸や糖が含まれているため、検出された成分の種類や数に違いが生じていることがわかります。

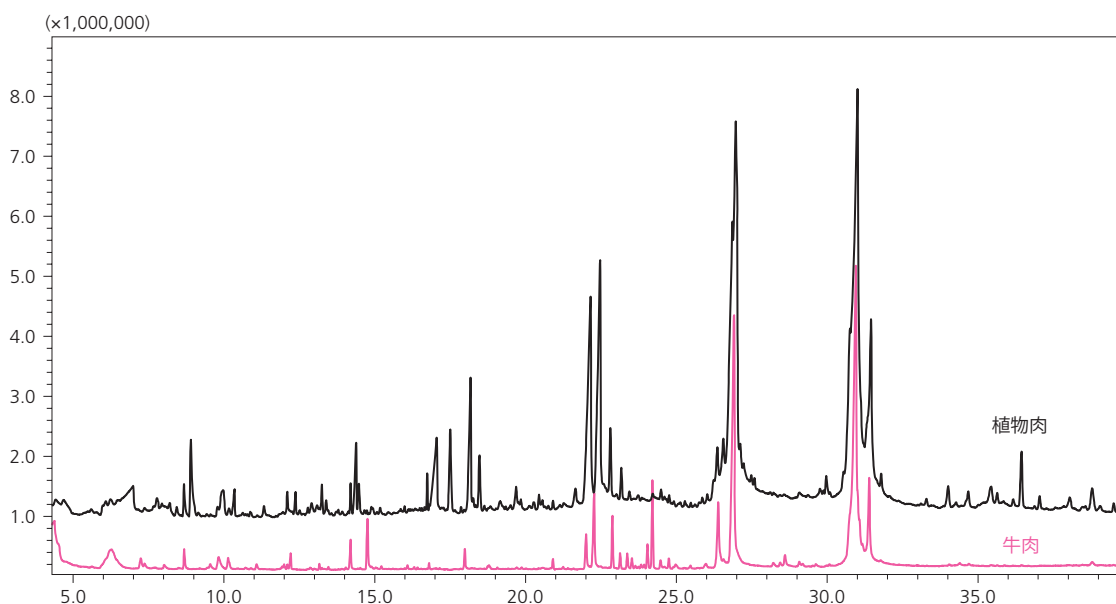


図2 トータルイオンクロマトグラムの重ね描き
(植物肉(黒)、牛肉(ピンク)、SPME Arrowで10分抽出)

表1 検出された化合物

植物肉	牛肉
1,3-Propanediol	Propanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester, (+/-)-
Pentaethylene glycol	Dimethyl sulfone
2(5 <i>H</i>)-Furanone	Glycerin
Glycerin	3-Pentanone, 2,4-dimethyl-
Furaneol	Hexyl <i>n</i> -valerate
3,5-Octadien-2-one, (<i>E,E</i>)-	Nonanal
Nonanal	4 <i>H</i> -Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-
Maltol	2(3 <i>H</i>)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-
4 <i>H</i> -Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	Octanoic acid
2(3 <i>H</i>)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-	Thiophene, 2,3-dihydro-
Octanoic acid	Piperidine, 1-nitroso-
Caprolactam	Nonanoic acid
2-Decenal, (<i>E</i>)-	1,2-Benzenediol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-
Nonanoic acid	<i>n</i> -Decanoic acid
2- <i>n</i> -Octylfuran	Niacinamide
2,4-Decadienal, (<i>E,E</i>)-	6,10-Dodecadien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-
<i>cis</i> -4-Decenal	2-Tridecanone
<i>n</i> -Decanoic acid	Dodecanoic acid
2-Tridecanone	Phosphonofluoridic acid, (1-methylethyl)-, cyclohexyl ester
Tetradecane	Eicosane
Thiazole, 4,5-dimethyl-	1-Hexadecanol
<i>n</i> -Nonylcyclohexane	Methanone, (1-hydroxycyclohexyl)phenyl-
Dodecanoic acid	Hexadecenoic acid, <i>Z</i> -11-
1-Pentadecyne	Tetradecanoic acid
8-Heptadecene	1-Dodecanol, 3,7,11-trimethyl-
2-Dodecanone	Octadecane
Tetradecanoic acid	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-
Tetradecanoic acid, ethyl ester	Tetradecanal
Erucic acid	Pentadecanal
<i>n</i> -Hexadecanoic acid	Pentadecanoic acid
Oleic Acid	2-Heptadecanone
Octadecanoic acid	δ-Dodecalactone
Hexadecanamide	Erucic acid
	<i>n</i> -Hexadecanoic acid
	Heptadecanoic acid
	2(3 <i>H</i>)-Furanone, 5-dodecyldihydro-
	Oleic Acid
	Octadecanoic acid
	8,11,14-Eicosatrienoic acid, (<i>Z,Z,Z</i>)-
	Squalene

機械学習による 風味分析による 肉の分類 (GC-MS)

食品の多くはきわめて多くの成分で構成されており、同じ食品でもその品質は完全に同一ではないことがあります。品質の違いは食品を構成する成分の微妙な違いに由来すると考えられるため、昨今では包括的な品質評価を目的とした、構成成分の網羅分析が注目されています。味、におい、劣化の度合いなど、主観的な食品の性質を構成成分から予測・判別するためには、構成成分と主観的性質の関係について、予めその対応が明らかな既知のサンプル群から学習し、その学習結果をもとに未知サンプルの予測・判別を行うという手法が有効と考えられます。

適切に冷蔵および解凍された肉の揮発性成分に関するデータをトレーニングデータとして使用し、未知サンプルのデータの判別可否を検証するために使用しました。



図3 左:適切に冷蔵された肉(4°Cサンプル)
右:40°C環境に3時間暴露された肉(40°Cサンプル)

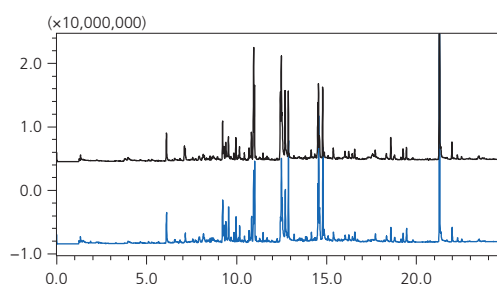


図4 トータルイオンクロマトグラムの例
黒(4°Cサンプル) 青(40°Cサンプル)

パイアルを200°Cで加熱し、発生する気体をSPMEで捕集してスキャン分析しました。サンプル数が多いため、注入には自動でSPMEでの捕集・脱着が可能な多機能オートサンプルAOC-6000 Plusを使用しました。トータルイオンクロマトグラムの比較からは、各サンプルを特徴づけるピークを見つけることはできませんでした(図4)。

識別器としてサポートベクトルマシン(SVM)を用い、解析して得たデータを用いて品質識別法を開発しました。収集したデータの116サンプルのうち、92サンプルをトレーニングセット、24サンプルをテストセットとして用いました(図5)。

トレーニングセット内で最適化されたハイパーパラメータを使用し、テストセットである24サンプルを判別させました。その結果、24サンプル中23サンプルについて、正しく判別することができました。結果を表2に示します。表では、4°CサンプルをPositive、40°CサンプルをNegativeと表現しています。

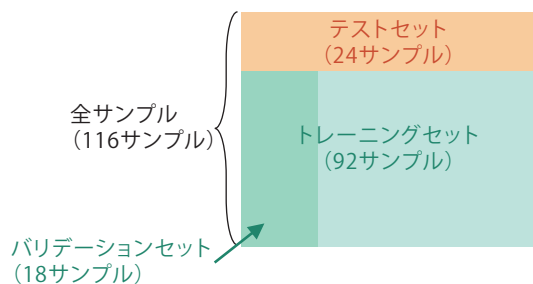


図5 データセット分割の模式図

表2 テストセット24サンプルの判別結果

	True	False
Positive	12	0
Negative	11	1
Precision	95.8 %	



AOC-6000 Plus+GCMS-QP2020 NX

大豆ミートと鶏肉の アミノ酸比較 (LC)

人間の舌は旨味を含めて5つの基本的な味があります。アミノ酸の量と種類は人が感じる味に寄与しています。グルタミン酸はアミノ酸の中でも旨味成分として広く知られていますが、グリシンとアラニンは甘味、バリンとロイシンは苦味、アスパラギン酸とグルタミン酸は旨味といった特徴があり、食品に含まれるアミノ酸の種類や成分比率は風味に影響します。

当社製アミノ酸分析システムは陽イオン交換カラムを用いたグラジエント溶出法で各成分を分離後、検出にo-フタルアルデヒド(OPA)による蛍光誘導体化法を用いた自動分析システムです(図6)。それぞれの分離モードに最適なタイムプログラムを使い、アミノ酸の一斉分析を行います。専用の移動相キット、および反応液キットを用いることで、調製の手間なく精度の高いアミノ酸分析を行うことができます。

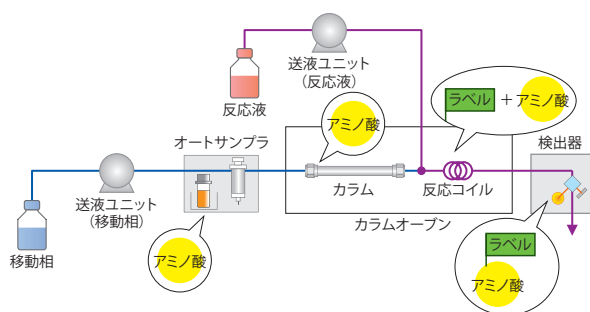
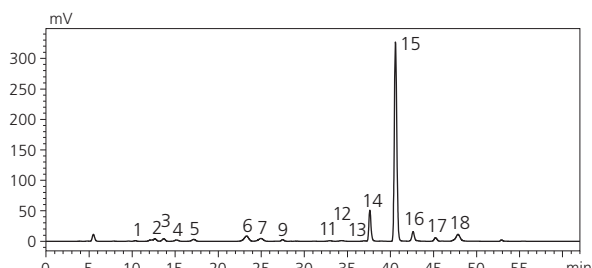


図6 アミノ酸分析システムの流路図



Nexera ポストカラムアミノ酸分析システム

鶏ムネ肉および大豆肉から抽出した遊離アミノ酸18種の分析例を示します(図7、図9)。また、図8、図10には本分析のための前処理プロトコルを記載しました。大豆肉と鶏ムネ肉のクロマトグラムを比較すると、味の特性に差があることがわかります。

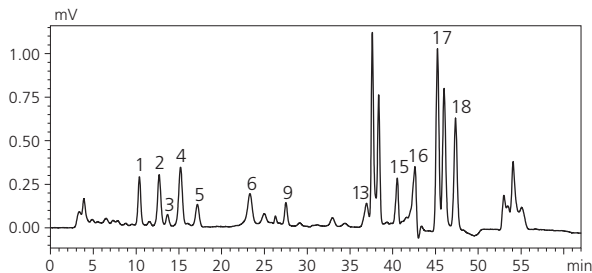


- | | | | |
|------------------|------------|-------------------|---------------|
| 1. Aspartic Acid | 5. Proline | 11. Isoleucine | 15. Histidine |
| 2. Threonine | 6. Glycine | 12. Leucine | 16. Lysine |
| 3. Serine | 7. Alanine | 13. Tyrosine | 17. Ammonia |
| 4. Glutamic Acid | 9. Valine | 14. Phenylalanine | 18. Arginine |

図7 鶏ムネ肉の分析

- Chopped chicken breast meat 1.668 g
- 0.2 mol/L sodium citrate buffer (pH 2.2) (10 mL)
 - Homogenize (1 minute)
 - Centrifuge (5000 rpm × 5 minutes)
- Supernatant
- Ultrafiltration filter (10K)
 - Centrifuge (10000 rpm × 10 minutes)
- Filtrate 100 μL
- 0.2 mol/L sodium citrate buffer (pH 2.2) (900 μL)
- HPLC

図8 鶏ムネ肉の前処理プロトコル



- | | | |
|------------------|--------------|---------------|
| 1. Aspartic Acid | 5. Proline | 15. Histidine |
| 2. Threonine | 6. Glycine | 16. Lysine |
| 3. Serine | 9. Valine | 17. Ammonia |
| 4. Glutamic Acid | 13. Tyrosine | 18. Arginine |

図9 大豆肉の分析

- Dry soy meat 109 mg
- 0.2 mol/L sodium citrate buffer (pH 2.2) (20 mL)
 - Stand at room temperature, 2 hours
 - Homogenize (1 minute)
- Supernatant
- Ultrafiltration filter (10K)
 - Centrifuge (10000 rpm × 10 minutes)
- Filtrate 100 μL
- 0.2 mol/L sodium citrate buffer (pH 2.2) (400 μL)
- HPLC

図10 大豆肉の前処理プロトコル

ひき肉と植物肉における一次代謝物の比較 (LC-MS)

持続可能で健康的な食生活への関心が高まる中、近年、植物由来の肉への注目が高まっています。植物由来の肉の新製品開発の需要が増加するにつれて、製品の風味のコントロールに焦点が当てられています。しかし、多くの化合物を組み合わせる風味の因子を定義する必要があり、味と香りを含む風味を正確に評価することは困難です。アミノ酸、有機酸およびヌクレオシドのような一次代謝物の網羅的な分析は風味を評価する1つの手段に成り得ます。ここでは、4つの異なる植物肉およびひき肉中の一次代謝物を測定して特徴を解析した例を紹介します。

4つの異なる市販の植物肉 (Product 1~4とします) とひき肉を本分析サンプル用に調製しました。200℃のオーブンで100 mgの肉試料を20分間加熱後、0.75 mLのメタノールを添加し、除タンパクおよび脱脂しました。サンプルの遠心分離後、上清を採取し、孔径0.45 mmのフィルターで濾過しました。濾過した溶液を元のストック試料溶液として-20℃で保存し、分析用の試料溶液は、マトリックス効果を最小にするために、水で5000倍に希釈しました。

対象成分となる化合物は希釈試料溶媒中で80~120%の範囲で良好な回収率を示しました。代表的な旨味成分であるグルタミン酸とイノシンのピーク形状を図11に示します。また、一次代謝物を分析したデータを基にして主成分分析を行いました。主成分分析から得られたスコアプロットを図12に示します。スコアプロットは、味に対する各サンプルの「全類似性」として解釈することができます。データのパターンが類似すればするほど、サンプルの特徴を示す点は互いに接近します。得られたスコアプロットから、ひき肉は4種類の植物肉と異なっています。このことから、ひき肉と植物肉の間に味の違いがあることを示唆しています。

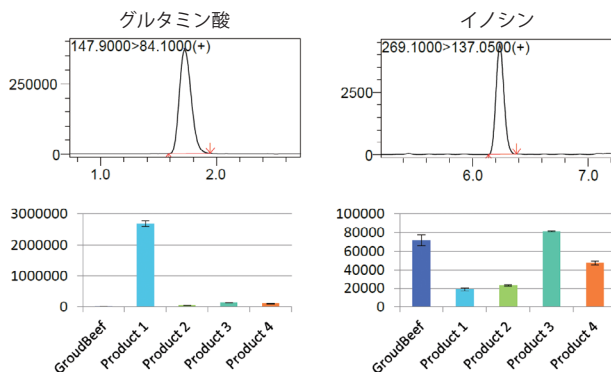


図11 植物肉 (Product 1) 中のグルタミン酸とイノシンのピーク形状およびサンプル間の比較

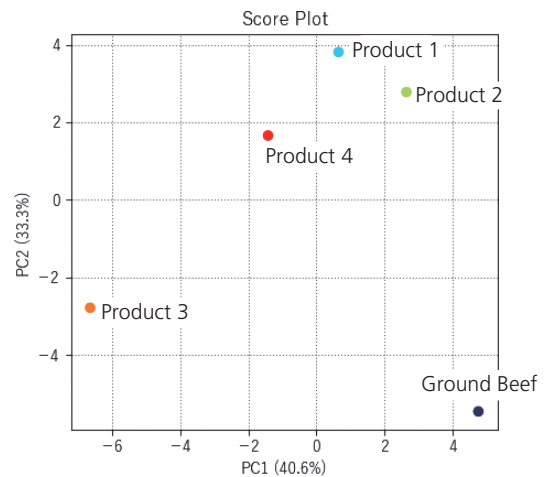
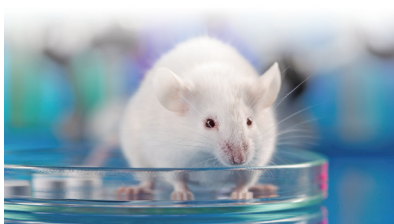


図12 主成分分析結果のスコアプロット

LC/MS/MSメソッドパッケージ 一次代謝物 Ver. 3

糖、アミノ酸、有機酸など多くの代謝物は親水性の化合物であり、それらを簡便な前処理で測定可能であることから、メタボロミクスにはLC-MSが最も広く用いられています。高感度と高速性能を特長とする当社のLC-MS/MSと一次代謝物測定用のメソッドパッケージを組み合わせることにより、短時間で効率よく代謝物の定量分析が可能となります。



対象代謝経路	メソッド	登録数
解糖系、ペントース・リン酸経路、補酵素 他	イオンペアメソッド	112 成分
Methylation 回路、Urea 回路、TCA 回路 他	非イオンペアメソッド	141 成分

本パッケージには2つのメソッドが用意されており、対象成分・装置環境に合わせていずれかのメソッドを選択していただけます。なお非イオンペアメソッドではPFPPカラムを使用しています。

ミートボールの 食感の比較 (テクスチャーアナライザ)

歯ごたえ、弾力、舌触りなどの食感、味とともに食品のおいしさに影響を与える重要な要素です。食感は通常、官能検査を用いて評価しますが、人の感覚や体調の個人差のため、再現性を得ることが困難です。当社のテクスチャーアナライザは官能検査を補完し、食品開発の分野で客観的な結果を数値で得る方法として使用されています。ここでは、食感の特性を評価する方法の原理と、植物肉と鶏肉で作ったミートボールの食感の比較例を紹介します。

食品を食べた時に感じる食感、食品の破断や咀嚼といった力学的性質と密接に関係があります。破断試験から得られた応力-ひずみ曲線の例を図13に、その結果から得られるテクスチャー特性を表3に示します。

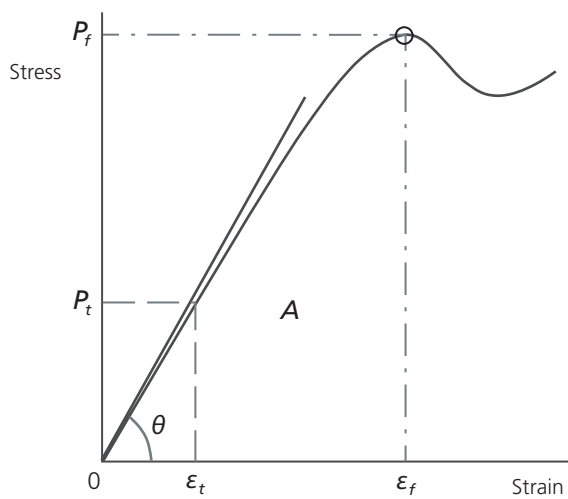


図13 応力ひずみ曲線

表3 特性値

破断応力	物体を破断するのにかかる応力 (P_f)
破断エネルギー	破断に至るまでの仕事量として、応力-ひずみ曲線が破断点までに描く面積 (A)
破断ひずみ	破断応力時のひずみ (ϵ_f)
初期弾性率	小さな応力によって発生する変形の量応力-ひずみ曲線の直線性が成り立つ範囲内における直線の立ち上がりの傾きから算出 ($\tan\theta$)

テクスチャー試験の原理を図14に示します。食品をベースプレート上に置き、上部に取り付けられたプレート等を等速直線運動で圧縮と引っ張りを2回繰り返します。図15にテクスチャー試験の結果得られた曲線を示します。この結果からテクスチャーの各種パラメータを算出することができます。表4に食感特性の定義と食感の特性を求める式を示します。

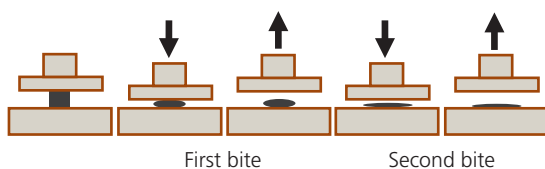


図14 テクスチャー試験の模式図

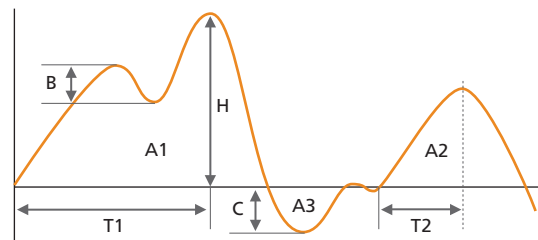


図15 テクスチャー曲線

表4 ツェスニャクのテクスチャープロフィールと計算式

特性	一次特性	二次特性	一般的な用語	テクスチャー特性の定義
力学特性	かたさ		やわらかい - 歯ごたえのある、かたい	一定変形をさせるのに必要な力、食品を形づくっている内部結合力 (H)
	凝集性 (A2/A1)	もろさ	ポロポロの - ガリガリの - もろい	食品を粉砕するときの力、かたさと凝集性に関係 (B)
		咀嚼性	やわらかい - 強靱な	固形食品を飲み込める状態にまで咀嚼するのに要するエネルギー、かたさ、凝集性、弾力性に関係 ($H \times A2/A1 \times T2/T1$)
		ガム性	くずれやすい - 粉状 - 糊状、ゴム状	半固形状食品を飲み込める状態にまで咀嚼するのに必要なエネルギー、かたさ、凝集性に関係 ($H \times A2/A1$)
	弾力性		塑性のある - 弾力のある	外力による変形が、力を取り去ったときにもどる割合 ($T2/T1$)
	付着性		ネバネバする - 粘着性 - ベタベタする	食品の表面と他の物(舌、歯、口蓋など)の間の引力に打ち勝つのに要する力 (A3)

※ツェスニャク (Szczeniak) 1963年に世界で初めてテクスチャーに関する用語を整理、体系化

市販の植物肉のミートボールと鶏肉のミートボールの食感をテクスチャーアナライザを用いて比較しました。2種類のミートボールの食感について、鋭い先端を持つジグにより噛み切る動きを模倣するせん断試験と咀嚼する動きを模倣する圧縮テクスチャー試験を実施しました。事前に植物肉のミートボールと鶏肉のミートボールの官能評価をしました。これらのミートボールの食感を比較すると、植物肉のミートボールは硬く、弾力性は鶏肉のミートボールの方が強いという結果となりました。

図16に2種類のミートボールの試験力-変位曲線を、表5にせん断試験結果を示します。植物肉のミートボールは、鶏肉のミートボールよりも硬さと相関がある破断強度が高い結果となりました。また、図17に圧縮テクスチャー試験のプロファイルを示します。鶏肉のミートボールと比較して、植物肉のミートボールは1サイクル目の押しつぶす際の硬さが高く、また、変形を還元させる特性を示す弾力性は小さい結果となり、この結果は事前に実施した官能試験の結果と一致しています。

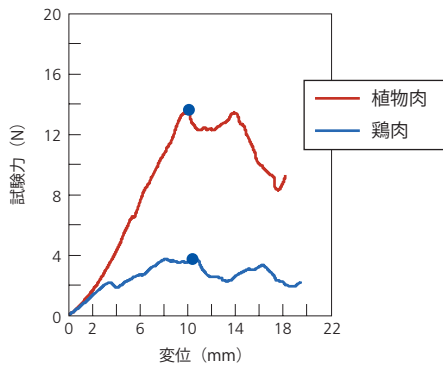


図16 ミートボールのせん断試験



表5 せん断試験の結果

	植物肉	鶏肉
破断点 (N)	13.6	3.7

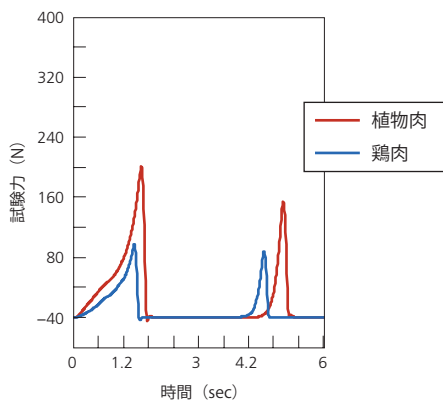


図17 ミートボールのテクスチャー試験



表6 テクスチャー試験の結果

	植物肉	鶏肉
かたさ (N)	202	97
弾力性	0.41	0.53

食感の評価

鶏肉のタンパク質変性と食感の評価

(示差走査熱量計、
テクスチャーアナライザ)

食品のおいしさは甘み、塩味、酸味、苦味、うまみなど舌で感じる化学的な味と歯ごたえ、柔らかさ、ジューシーさなど食感による物理的な味が大きく影響しています。ここでは保温時間を変えた鶏ムネ肉唐揚げのタンパク質変性を示差走査熱量計（DSC）で、硬さをテクスチャーアナライザで測定することにより総合的な食感の評価を行いました。

調味料で下味をつけた鶏ムネ肉をアルミニウムシールセルに入れ、10℃/minで加熱しました（図18）。57℃、64℃、78℃に吸熱ピークが見られました。各吸熱ピークは57℃がミオシン、64℃が結合組織、78℃がアクチンの変性にそれぞれ対応していると推測されます。

鶏ムネ肉唐揚げの中心温度70℃到達確認後、それぞれ0分、1時間、2時間、4時間保温後、直ちにショックフリーザーにて冷却し、凍結したサンプルを示差走査熱量計で測定する前に解凍し、アルミニウムシールセルに入れ、10℃/minで100℃まで加熱しました（図19）。保温1時間まではアクチンと思われるタンパク質の変性による吸熱ピークが見られます。これは変性していないタンパク質がまだ残っていることを意味します。これに対して保温時間が2時間を越えると吸熱ピークは見られなくなり、柔らかさがなくなります。これは保温時間が長くなるほどパサパサした食感になってしまうことと相関があります。

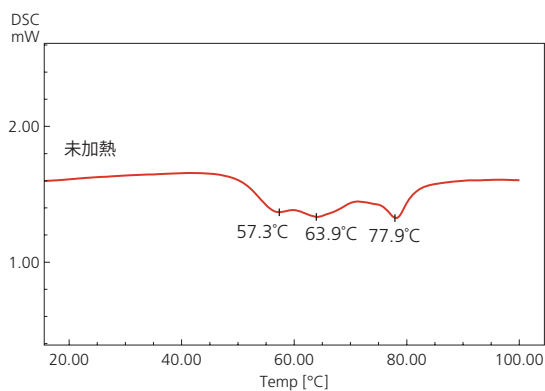


図18 鶏肉のDSC測定

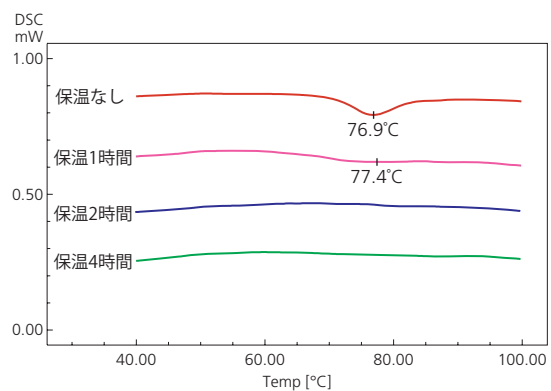


図19 保温時間の異なる唐揚げのDSC曲線

次に鶏ムネ肉の繊維に対して直交方向でせん断による硬さの評価を行いました。図20に試験力と時間のグラフを、表7に食感の特性を示しました。保温時間が1時間までの硬さは微増ですが、2時間を越えると急に硬くなっていくことが分かります。これは1時間まではタンパク質の変性が見られるDSCの測定結果とよく一致しています。

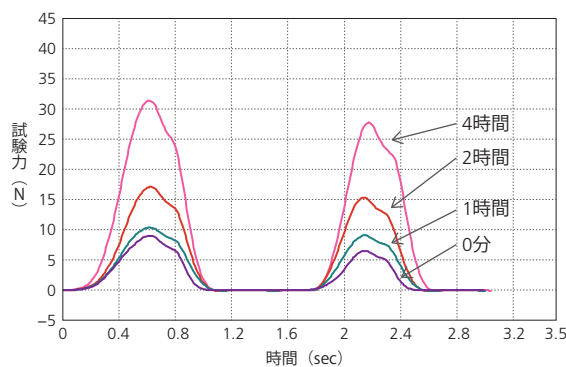


図20 鶏肉のテクスチャー試験

表7 鶏肉のテクスチャー試験の結果

保温時間	かたさ (N)
0分	8.87
1時間	10.15
2時間	16.83
4時間	32.77

培養細胞の評価

哺乳動物細胞の 培養上清の同時分析 (LC-MS)

細胞培養の技術は主に医療分野で用いられてきましたが、近年は食肉、鶏卵、牛乳などの畜産物を効率的に生産するため世界中で応用研究されています。培養肉の開発における課題として、従来の畜肉と同程度の価格で取引するために製造コストを削減することがあげられます。このような背景により、効果的な培養プロセスの開発と制御が求められています。

培養プロセス最適化や培養工程管理には、培地のpH、溶存ガス、炭素源(グルコース)、窒素源(グルタミン)等のパラメータをコントロールする必要があります。細胞培養中の培地成分は上記以外にもビタミンや核酸関連化合物、さらには細胞から分泌される代謝物など様々な化合物から構成されるため、培地に含まれる成分の一斉分析は、より詳細にバイオプロセスを考察する上で有用な情報を与えることが期待されます。そこで、当社は高速トリプル四重極型質量分析計LCMS-8050による培地成分および分泌代謝物の一斉分析システム「細胞培養プロファイリングメソッドパッケージ」を開発しました。表8に対象となる95成分の化合物リストを示します。ここでは、「細胞培養プロファイリングメソッドパッケージ」を用い、ハイブリドーマの培養経過に伴う培養上清成分の変化を分析した例をご紹介します。

表8 登録化合物の一覧(細胞培養プロファイリングメソッドパッケージ)

No.	化合物名	分類	No.	化合物名	分類	No.	化合物名	分類
1	2-Isopropylmalic acid	標準物質	33	N-Acetylaspartic acid	アミノ酸	65	Cytidine	核酸関連
2	Gluconic acid	糖	34	N-Acetylcysteine	アミノ酸	66	Cytidine monophosphate	核酸関連
3	Glucosamine	糖	35	Ornithine	アミノ酸	67	Deoxycytidine	核酸関連
4	Hexose (Glucose)	糖	36	Oxidized glutathione	アミノ酸	68	Guanine	核酸関連
5	Sucrose	糖	37	Phenylalanine	アミノ酸	69	Guanosine	核酸関連
6	Threonine acid	糖	38	Pipecolic acid	アミノ酸	70	Guanosine monophosphate	核酸関連
7	2-Amino adipic acid	アミノ酸	39	Proline	アミノ酸	71	Hypoxanthine	核酸関連
8	4-Aminobutyric acid	アミノ酸	40	Serine	アミノ酸	72	Inosine	核酸関連
9	4-Hydroxyproline	アミノ酸	41	Threonine	アミノ酸	73	Thymidine	核酸関連
10	5-Glutamylcysteine	アミノ酸	42	Tryptophan	アミノ酸	74	Thymine	核酸関連
11	5-Oxoproline	アミノ酸	43	Tyrosine	アミノ酸	75	Uracil	核酸関連
12	Alanine	アミノ酸	44	Valine	アミノ酸	76	Uric acid	核酸関連
13	Alanyl-glutamine	アミノ酸	45	4-Aminobenzoic acid	ビタミン	77	Uridine	核酸関連
14	Arginine	アミノ酸	46	Ascorbic acid	ビタミン	78	Xanthine	核酸関連
15	Asparagine	アミノ酸	47	Ascorbic acid 2-phosphate	ビタミン	79	Xanthosine	核酸関連
16	Aspartic acid	アミノ酸	48	Biotin	ビタミン	80	Penicillin G	抗生物質
17	Citrulline	アミノ酸	49	Choline	ビタミン	81	2-Aminoethanol	その他
18	Cystathionine	アミノ酸	50	Cyanocobalamin	ビタミン	82	2-Ketoisovaleric acid	その他
19	Cysteine	アミノ酸	51	Ergocalciferol	ビタミン	83	3-Methyl-2-oxovaleric acid	その他
20	Cystine	アミノ酸	52	Folic acid	ビタミン	84	4-Hydroxyphenyllactic acid	その他
21	Glutamic acid	アミノ酸	53	Folinic acid	ビタミン	85	Citric acid	その他
22	Glutamine	アミノ酸	54	Lipoic acid	ビタミン	86	Ethylenediamine	その他
23	Glutathione	アミノ酸	55	Niacinamide	ビタミン	87	Fumaric acid	その他
24	Glycine	アミノ酸	56	Nicotinic acid	ビタミン	88	Glyceric acid	その他
25	Glycyl-glutamine	アミノ酸	57	Pantothenic acid	ビタミン	89	Histamine	その他
26	Histidine	アミノ酸	58	Pyridoxal	ビタミン	90	Isocitric acid	その他
27	Isoleucine	アミノ酸	59	Pyridoxine	ビタミン	91	Lactic acid	その他
28	Kynurenine	アミノ酸	60	Riboflavin	ビタミン	92	Malic acid	その他
29	Leucine	アミノ酸	61	Tocopherol acetate	ビタミン	93	O-Phosphoethanolamine	その他
30	Lysine	アミノ酸	62	Adenine	核酸関連	94	Putrescine	その他
31	Methionine	アミノ酸	63	Adenosine	核酸関連	95	Pyruvic acid	その他
32	Methionine sulfoxide	アミノ酸	64	Adenosine monophosphate	核酸関連	96	Succinic acid	その他

ハイブリドーマをDMEMで5日間培養しました(詳細な培養条件は表9に記載)。播種後、24時間毎に培養上清をサンプリングしました。培養上清に分析データ補正のための標準物質として、2-Isopropylmalic acidを加えました。これに、アセトニトリルを添加し除蛋白を行いました。有機溶媒沈殿後の遠心上清を超純水で適宜希釈したものを試料として、1 μ Lの注入量にて一斉分析を行いました。細胞の増殖曲線と生存率は図21に、各サンプリング時間における面積比(測定化合物の面積を標準物質の面積値で除した値)をプロットした結果は図22に示しました。

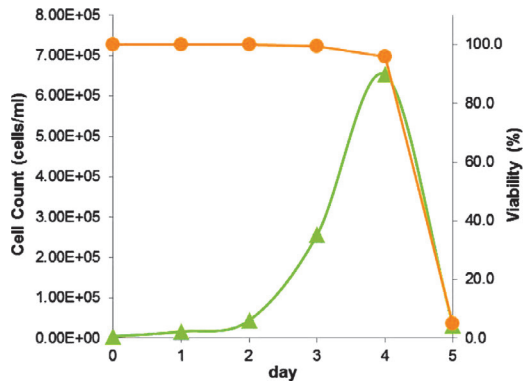


図21 増殖曲線と生存率

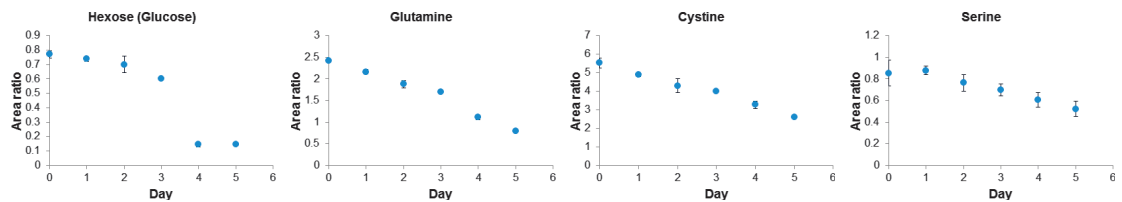
表9 培養条件

細胞:	SJK-287-38 (ATCC CRL-1644)
培地:	DMEM (Low Glucose) + 10 % FBS + Gln, NaHCO ₃
条件:	37 °C, 5 % CO ₂ , 120 rpm
スケール:	24 mL (N = 4)

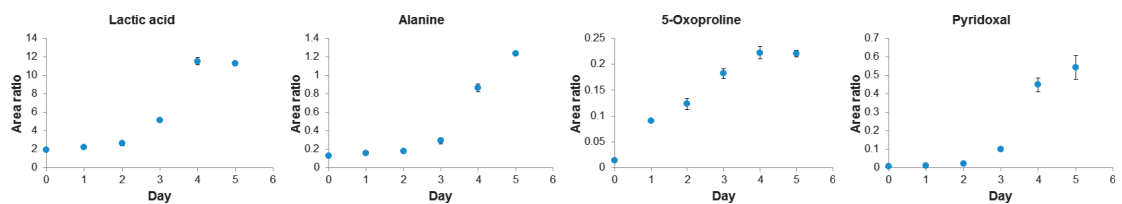
培養上清サンプルおよびデータは極東製薬工業株式会社様よりご提供いただきました。

以下に結果の一例を示します。主要な炭素源と窒素源であるグルコースとグルタミンおよびいくつかのアミノ酸は、細胞増殖に伴いシグナル強度の減少が認められました(A)。グルコース消費の結果、老廃物として分泌される乳酸は培養時間経過とともにシグナルが増加しました(B)。乳酸以外にもいくつかの化合物でシグナル強度の増加傾向が認められました(B)。必須アミノ酸といくつかのビタミンについては、培養経過に伴う強度変化はほとんど認められませんでした(C)。

(A) 培養経過に伴いシグナルが減少した化合物の一例



(B) 培養経過に伴いシグナルが増加した化合物の一例



(C) 培養経過に伴うシグナル強度変化が認められない化合物の一例

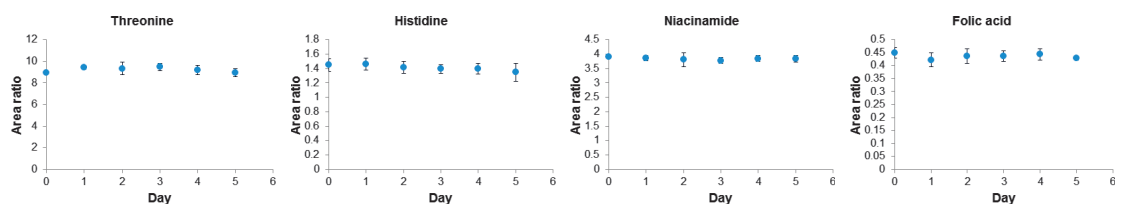


図22 培養経過に伴う培養上清成分の強度変化

培養細胞の評価

細胞塊の圧縮試験 (微小圧縮試験機)

培養肉は肉の組織細胞を培養することによって作られます。これまで細胞培養は再生医療の治療応用に向けて、さまざまな研究機関や企業により精力的な研究が行われてきました。ここでは、培養細胞の特性の定量評価の一例として、微小圧縮試験機MCTを用いて、培養組織のモデルである細胞塊の硬さに相当するものとして変形強度*1を測定した事例を紹介します。

*1 変形強度：下記の式(1)の計算により求められる強度。JIS Z 8844（微小粒子の破壊強度及び変形強度の測定方法）にて定義されています。

HEK293と2種類のiPS細胞から形成された細胞塊の硬さを評価しました。HEK293はヒト胎児の腎由来の細胞株で汎用セルラインの1種です。iPS cells A および Bは異なる人由来の細胞を同じ方法で樹立したiPS細胞株です。表10に試験に用いた3種類の細胞塊サンプルの平均サイズを示します。変形強度の算出には表10に示した粒子径を使用しました。

表10 細胞塊サンプルの平均サイズ

細胞塊サンプル	平均径 (μm)
HEK293	231.31
iPS Cell A	243.13
iPS Cell B	225.59

図23にMCT-510の外観と試験の模式図を示します。MCT-510では粒子一粒ずつの圧縮試験を実施でき、サイド観察キットを用いることで圧縮の様子を動画で確認できます。以下に変形強度の算出式を示します。

$$\sigma_{10\%} = \frac{F_{10\%}}{A} \quad \dots (1)$$

$$A = \frac{\pi F}{4}$$

$\sigma_{10\%}$: 粒子径の10%の圧縮変位に対する変形強度 [Pa]
 $F_{10\%}$: 粒子径の10%の圧縮変位に対する試験力 [N]
 A : 代表面積 [m²]
 (圧縮前に計測した粒子径によって求めた相当円の面積)
 d : 粒子径 [m]

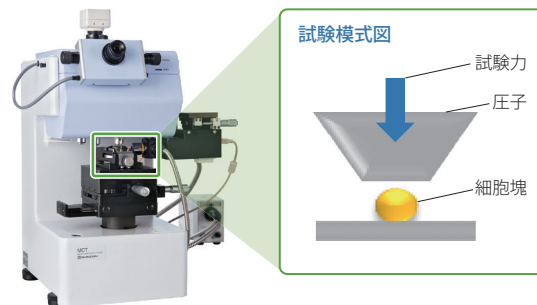
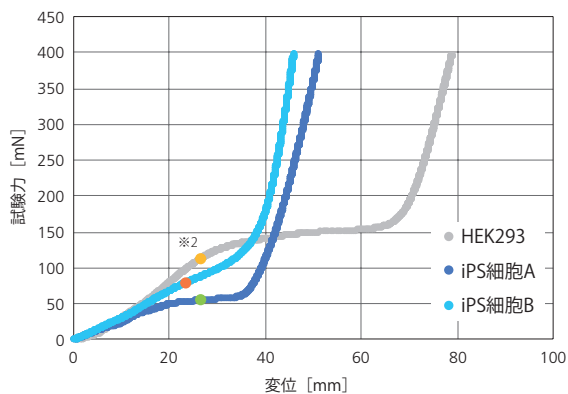


図23 MCT-510の外観と試験の模式図

試験力-変位線図を図24に、MCT-510による細胞塊圧縮の様子を図25に示します。HEK293では変位量約20~60 μm、iPS細胞では約20~40 μmの部分で試験力の変化が小さい領域があり、この領域で細胞塊が大きく変形しています。明確な破壊点が検出されなかったため、粒子径の10%変形時の試験力から変形強度 $\sigma_{10\%}$ を算出しました。この結果を表11に示します。HEK293とiPS細胞Aについては、有意な差が見られ、さらに由来の異なるiPS細胞間でも差が見られることが明らかとなりました。



※2 グラフ中の点は粒子径の10%変形を示す。

図24 試験力-変位線図



図25 MCT-510による細胞塊圧縮の様子(サイド観察キット)

表11 試験結果

サンプル	HEK293	iPS細胞A	iPS細胞B
平均径 [μm]	271.78	243.13	225.59
変形強度 $\sigma_{10\%}$ [MPa]	1.91	1.26	1.77

関連機器のご紹介

トリプル四重極 高速液体クロマトグラフ質量分析計

LCMS-8060NX



Enhanced performance Sensitivity and Robustness

世界最高クラスの感度、測定速度を実現しながら、操作性、頑健性をさらに向上させた島津トリプル四重極質量分析計の集大成モデルです。Analytical Intelligenceを備えたLCMS-8060NXはあなたのラボのアウトプットを最大化します。

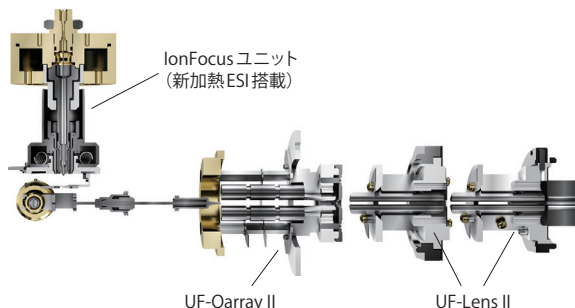


ANALYTICAL INTELLIGENCE

Analytical Intelligenceは、島津製作所が提案する分析機器の新しい概念です。システムやソフトウェアが、熟練技術者と同じように操作を行い、状態・結果の良し悪しを自動で判断し、ユーザーへのフィードバックやトラブルの解決を行います。また、分析機器に対する知識や経験の差を補完し、データの信頼性を確保します。

世界最高クラスの感度と測定速度

LCMS-8060が誇る、世界最高クラスの感度と測定速度はそのままに、加熱ESIの改良と、ヒーティングガス流量の上限値拡張により、脱溶媒効率をさらに向上。イオン化しにくかった化合物に対しても最適なイオン化条件を設定でき、さらなる高感度分析が可能です。



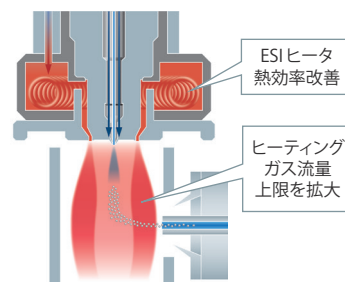
IonFocusユニット
(新加熱ESI搭載)

UF-Qarray II

UF-Lens II

脱溶媒効率の改善による、より高感度な分析

ESIヒータの熱効率の改善とヒーティングガス流量の上限値の拡張により、脱溶媒の効率が向上しました。

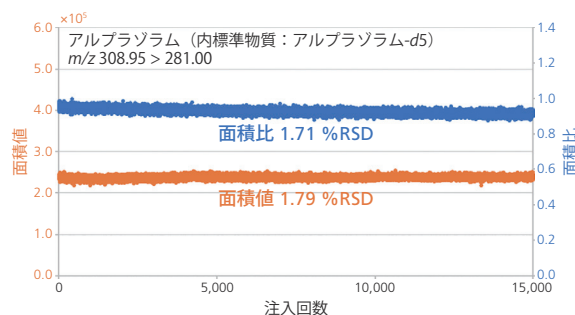


ESIヒータ
熱効率改善

ヒーティング
ガス流量
上限を拡大

新技術による頑健性の向上

LCMS-8060NXの優れた頑健性は、装置を汚染しやすい生体由来のサンプルの連続分析に威力を発揮します。下記データは、ヒト血漿中に添加したアルブラゾラムを連続分析し、面積値と面積比（内部標準物質：アルブラゾラム-d5）をプロットしたものです。より過酷な条件で頑健性を評価するため、バルブを用いた夾雑成分の除去は行わず、合計15,000回の連続測定を行いました。結果は下図に示すように、面積値再現性1.79%RSD、面積比再現性1.71%RSDという非常に安定したデータを示しました。



ヒト血漿中に添加したアルブラゾラムの連続分析結果

ダウンタイムを最小化する高い頑健性

新開発のイオン源IonFocusユニットは、イオンのみを効率よく装置内部に導入し、夾雑成分は除去。装置内部の汚染やマトリクス効果を緩和できます。さらに、高いイオン透過率を維持しながら頑健性を向上させた新イオンガイドUF-Qarray II、UF-Lens IIを採用し、装置のダウンタイムを最小化します。

ワークフロー全体を効率化する操作性

最適化せずに高感度が得られる新パラメータや、装置の自動スタートアップ、シャットダウン機能 (LabSolutions Connect MRM) など、Nexeraシリーズと組み合わせることで、種々のAnalytical Intelligence機能がワークフロー全体の効率化を支えます。



ANALYTICAL INTELLIGENCE

GCMS-QP2020 NX

ラボの可能性を最大限に広げる Smartソリューション

さまざまな分野で利用されるGC-MSは、今や分析の汎用機となっています。その中で、装置のさらなるコストパフォーマンスの向上と、利用するユーザーのワークライフバランスが期待されています。

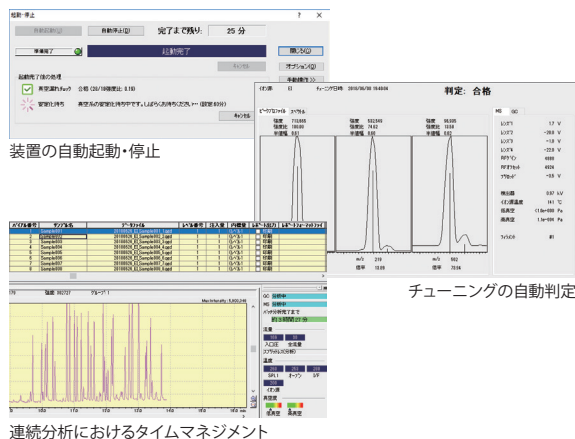
GCMS-QP2020 NXは、分析のあらゆる場面に対するの効率化を提案し、ラボの可能性を最大限に広げます。

UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY



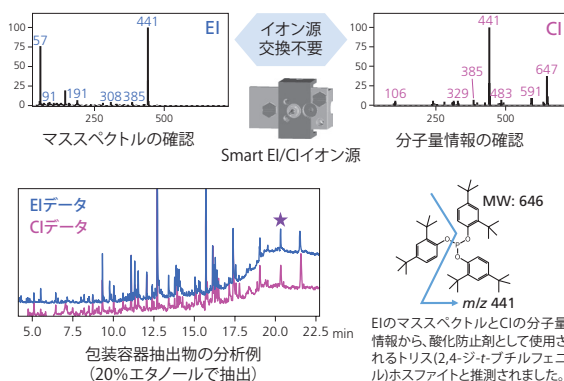
アクティブタイムマネジメント

メンテナンスやシステムの切り替えや分析にかかる時間を見える化し、装置の待機時間を適切に管理します。ユーザーが行っていた作業を自動化することで装置の効率的な運用が可能となります。



Smart EI/CIイオン源

新たに開発したSmart EI/CIイオン源は、イオン源を交換せずに汎用的に利用されるEIの感度を損なうことなくCIのデータを採取することができます。EI法ではマススペクトルライブラリを用いた同定が困難な場合でも、CI法のデータから分子量情報を取得することができ、未知の化合物の推定に役立ちます。



GC-MS応用システム 異臭分析システム



異臭の原因物質を確実に特定できる分析システムです。異臭の問題を解決するためには原因物質の特定が必要です。しかし、正確な特定のためには、どのような成分が異臭の原因になるか、また、それらにの質や臭気閾値判断などの知識や経験が必要とします。本システムは、主要な異臭原因物質と官能情報(においの質や臭気閾値)をデータベース化し、GC-MSと組み合わせたシステムです。異臭分析に必要なトータルソリューションをご提供します。

GC-MS応用システム AOC-6000 Plus 多機能オートサンプリングシステム



AOC-6000 Plusは、液体試料注入、ヘッドスペース(HS)注入と固相マイクロ抽出(SPME)注入法など複数の試料導入法に対応しており、さまざまな形状の試料を分析できます。また、試料導入法の自動切り換えができ、異なる試料導入法を組み合わせた連続運転も可能です。最新の装置は、シリンジおよびファイバーの使用履歴を管理する機能が追加され、分析精度の確保をサポートします。

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 101-8448 東京都千代田区神田錦町1丁目3
(03) 3219-(官公庁担当) 5631・(大学担当) 5616・(会社担当) 5622

関西支社 530-0012 大阪市北区芝田1丁目1-4 阪急ターミナルビル14階
(06) 6373-(官公庁・大学担当) 6541・(会社担当) 6556

札幌支店 060-0807 札幌市北区北七条西2丁目8-1 札幌北ビル9階 (011) 700-6605

東北支店 980-0021 仙台市青葉区中央2丁目9-27 プライムスクエア広瀬通12階 (022) 221-6231

郡山営業所 963-8877 郡山市堂前町6-7 郡山フコク生命ビル2階 (024) 939-3790

つくば支店 305-0031 つくば市吾妻3丁目17-1
(029) 851-(官公庁・大学担当) 8511・(会社担当) 8515

北関東支店 330-0843 さいたま市大宮区吉敷町1-41 明治安田生命大宮吉敷町ビル8階
(048) 646-(官公庁・大学担当) 0095・(会社担当) 0081

横浜支店 220-0004 横浜市西区北幸2丁目8-29 東武横浜第3ビル7階
(045) 311-(官公庁・大学担当) 4106・(会社担当) 4615

静岡支店 422-8062 静岡市駿河区稲川12丁目1-1 伊伝静岡駅南ビル2階 (054) 285-0124

名古屋支店 450-0001 名古屋市中村区那古野1丁目47-1 名古屋国際センタービル19階
(052) 565-(官公庁・大学担当) 7521・(会社担当) 7531

京都支店 604-8445 京都市中京区西ノ京徳大寺町1
(075) 823-(官公庁・大学担当) 1604・(会社担当) 1603

神戸支店 650-0033 神戸市中央区江戸町9-3 栄光ビル9階 (078) 331-9665

岡山営業所 700-0826 岡山市北区磨屋町3-10 岡山ニューシティビル6階 (086) 221-2511

四国支店 760-0017 高松市番町1丁目6-1 高松NKビル9階 (087) 823-6623

広島支店 732-0057 広島市東区二葉の里3丁目5-7 GRANODE広島5階 (082) 236-9652

九州支店 812-0039 福岡市博多区冷泉町4-20 島津博多ビル4階
(092) 283-(官公庁・大学担当) 3332・(会社担当) 3334

島津コールセンター（操作・分析に関する電話相談窓口） ☎ 0120-131691
IP電話等：(075) 813-1691

<https://www.an.shimadzu.co.jp/>