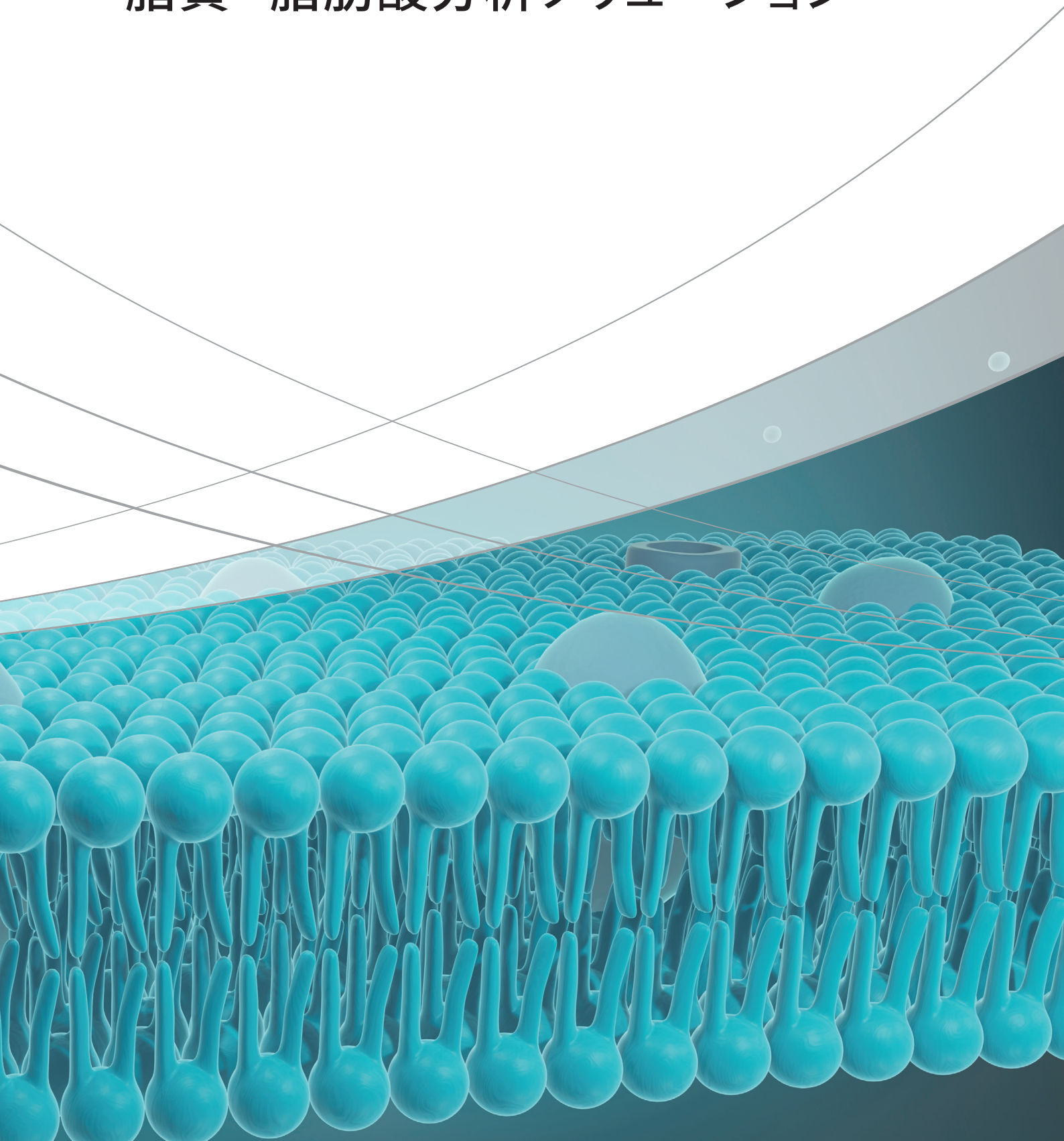


# 脂質・脂肪酸分析ソリューション



# 脂質・脂肪酸

脂質は、タンパク質、糖、核酸とともに4つの主要生体物質の一つです。また、脂肪酸は生体内において細胞膜を構成する多くの脂質分子の主要成分として重要です（例：リン脂質、スフィンゴ脂質、コレステロールエステル）。どちらも生物の生理学において欠かすことのできない役割を果たしており、生体膜の構成成分やエネルギー貯蔵の媒体、細胞内および細胞間のシグナル伝達分子などとして機能しています。

## 脂質

脂質とは、無極性溶媒に可溶な物質を総称したものです。無極性溶媒は通常炭化水素で、これに可溶なワックス、ステロール、ビタミン、アシルグリセロール、リン脂質などが一般に脂質として分類されています。

図1に脂質の8つの分類、図2に血しょう中の主要な脂質を示します。

脂肪アシル	長鎖脂肪酸 脂肪酸エステル 脂肪酸アミド ソホロ脂質
グリセロ脂質	アシルグリセロール グリセリルエーテル グリセロ糖脂質 アーキオール クレンアーキオール
グリセロリン脂質	ホスファチジルコリン ホスファチジルイノシトール プラズマローゲン エーテル型リン脂質
スフィンゴ脂質	スフィンゴシン セラミド スフィンゴリン脂質 スフィンゴ糖脂質
ステロール脂質	ステロール ステロイドホルモン 胆汁酸
プレノール脂質	カロテノイド レチナール トリテルペノイド ジテルペノイド セスキテルペノイド
糖脂質	リピッド A
ポリケチド	マクロライド テトラサイクリン

図1 脂質の8つの分類

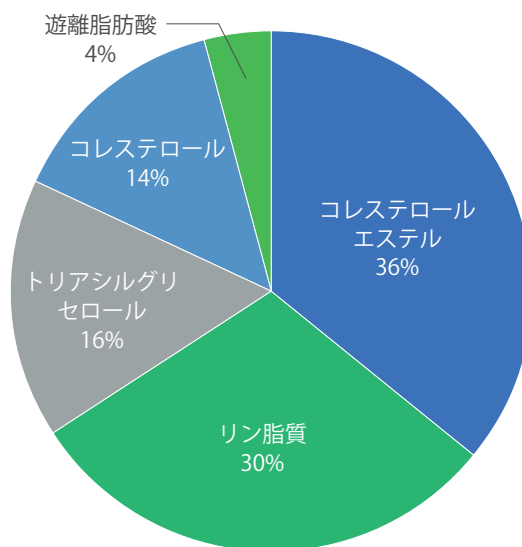


図2 血しょう中の主要な脂質

## 脂肪酸

脂肪酸分析は、食品、臨床、化学など様々な分野で行われています。分析には通常 LC-MS/MS または GC-MS（もしくは GC-FID）が使用され、解析目的や対象分子種によって装置を使い分けます。簡単な比較は図 3、図 4 の通りです。

		LC	GC
Profiling	総脂肪酸量からの割合 (%)	△	◎
	特定の脂肪酸種のプロファイリング	○	◎
Targeted	1 ppm 未満の微量分析	○	△
	1 ppm 以上の高濃度分析	○	◎

図 3 用途による機種比較

		LC	GC
遊離脂肪酸	短鎖	○	△
	中鎖・長鎖	◎	○
脂肪酸エステル	短鎖	○	△
	中鎖・長鎖	○	◎
不飽和脂肪酸	二重結合位置	×	○
	異性体	×	◎
感度		◎	○
前処理		○	△

図 4 脂肪酸の種類、感度、前処理による比較

### LC-MS 特長

- ・高感度で分析できるため、体内では低濃度しか存在しない微量の遊離脂肪酸分析に向いています。
- ・アラキドン酸からのキャストレードなどに絞った分析となります。

### LC-MS 欠点

- ・ *cis-trans* といった異性体が区別できません。
- ・ 直鎖 (n-)・分岐脂肪酸 (iso-, anteiso-) を分離できません。
- ・ イオンサプレッションが起こるため、複雑なマトリックスを対象とする分析には不向きです。

### 例

- 1) ライフサイエンス分野で腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸を測定したい場合  
➔ GC でも可能ですが、LC が適しています。
- 2) リン脂質のヘッドグループが知りたい場合  
➔ GC では分析が難しいので、LC が適しています。

### GC-MS 特長

体内に少量しかない遊離脂肪酸だけでなく、体内の脂肪酸が多く存在する形である脂肪酸エステル（ワックス、グリセリド、リン脂質）中の構成脂肪酸を分析するのに適しています。

### GC-MS 欠点

- ・ メチル化するためにメチル化が 100% 完了しているか確認する必要があります (TLC など)。
- ・ 脂質種の判別測定は困難です。

### 例

- 1) 食品分野で健康食品の品質管理を行っている場合
  - ・ 不飽和 > 飽和
  - ・ *cis* 異性体 > *trans* 異性体
  - ・ オメガ -3 > オメガ -6
 ➔ LC では分析が難しいので、GC が適しています。
- 2) 細胞の脂肪酸組成分析により菌種を知りたい場合
  - ・ C16、C17、C18 のうちどれが検出されるかに注目
 ➔ LC でも可能ですが、GC が適しています。

# 血しょう中の短鎖脂肪酸分析



Application >

短鎖脂肪酸は沸点が低いことから揮発しやすく、定量分析の難しい化合物として知られています。GC-MSでは水酸基の誘導体化を行う必要がありますが、多くの誘導体化工程ではサンプル中に存在する水分を乾固する必要があり、その過程で短鎖脂肪酸の多くは揮発してしまうことが問題となります。本アプリケーションでは、短鎖脂肪酸をアミンによって誘導体化することで、分析を可能にしました。



簡便な誘導体化法によって、定量分析が難しいとされてきた短鎖脂肪酸の分析が可能になりました。

## ■ 分析

水やメタノール中でもカルボン酸とアミンの縮合反応を進行させることができる縮合剤、4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium Chloride (DMTMM) を用いて短鎖脂肪酸をアミンで誘導体化し、GC-MS で分析を行いました。分析方法が限定されている短鎖脂肪酸（ギ酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸など）をDMT-MMとn- オクチルアミンで誘導体化し、分析しました。

## ■ 試料

ヒト標準血しょう（コージンバイオ：正常ヒト血しょう・プール EDTA-2Na (12271450)）

## ■ 分析条件

GC-MS System : GCMS-TQ™8040 NX  
 Column : BPX-5 (0.25 mm I.D. × 30 m, 0.25 μm)  
 Carrier Gas Control : Helium  
 : Linear Velocity

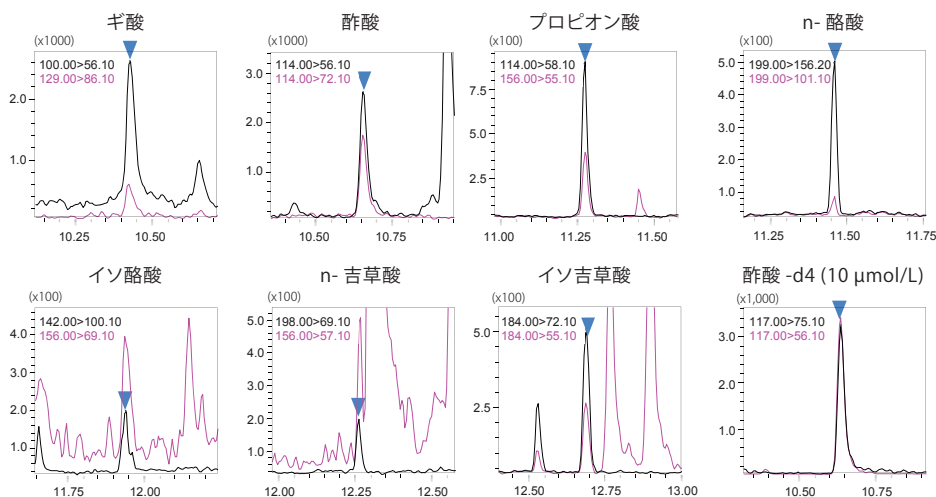


図5 1 μmol/L スパイク試料のMRM クロマトグラム

## ■ まとめ

分析方法が限定されている短鎖脂肪酸（ギ酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸など）をDMT-MMとn- オクチルアミンで誘導体化し、GC-MSで分析しました。腸内環境分析や、その他の代謝物分析に応用が可能と考えられます。ギ酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸など、これまでMSでは分析が難しかった化合物を、特殊な誘導体化法の採用によりGC-MSでの分析を可能にしました。

## トリプル四重極 ガスクロマトグラフ質量分析計

本装置は、その圧倒的な超高感度を活かして、長期利用でのメンテナンス頻度・コストの削減や高質量分解能による更なるきょう雑物との高分離といった新たな領域の分析を提案します。



Product >

## 脂肪酸メチルエステル (FAMES) の定量分析



Application &gt;

FAMES においてはイオン化の際にフラグメンテーションしやすく、低質量の類似したイオンが多数検出されることから、感度と分離が要求されます。それらの問題の対策として CI-MRM が用いられます。GC-MS/MS の CI-MRM は、イオン化したプロトン付加分子を CID することでフラグメンテーションするため、夾雑物や FAMES 同士の質量分離が向上します。



- PCI-MRMは、不飽和脂肪酸に対してEI-MRMよりも感度が向上し、脂肪酸分析に最適です。
- Smart EI/CI イオン源は、装置を止めずに EI と PCI のイオン化法を切り替えられます。
- Smart Metabolites Database と脂肪酸メチル化キットを利用することにより、食品中脂肪酸分析が簡単に行えます。

## ■ 分析

FAMES の標準溶液は、37成分のFAMESが含まれている FAME Reference Standard (AccuStandard Inc., cat.: FAMQ 005) を段階希釈して調製しました。食品試料はホモジナイズおよび凍結乾燥後、50 mg 量り取り、アセトン 2 mL を添加して攪拌、遠心分離後に抽出溶液を回収しました。さらに残渣にヘキサン 2 mL を添加し、攪拌、遠心分離後に抽出溶液を回収しました。その後、アセトンおよびヘキサン抽出液を混ぜ合わせ、イオン交換水 2 mL 添加後、攪拌および遠心分離を行い、上相を回収して乾固しました。乾固した試料はナカライテスク社の脂肪酸メチル化キットを用いて前処理を行いました。抽出試料はヘキサンで100倍希釈して測定を行いました。

## ■ 試料

市販されている牛肉およびサバ

## ■ 分析条件

GC-MS System : GCMS-TQ8050 NX  
 Column : DB-5MS (0.25 mm I.D. × 30 m, 0.25 μm)  
 Carrier Gas : Helium  
 Carrier Gas Control : Linear Velocity

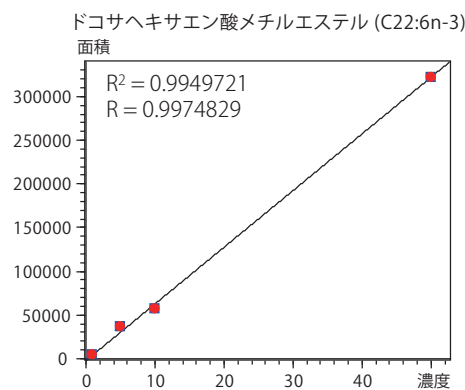
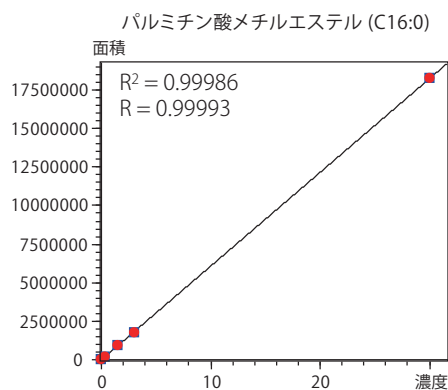


図6 PCI法で採取したパルミチン酸メチルエステルとドコサヘキサエン酸メチルエステルの検量線

## ■ まとめ

食品中の脂肪酸の定量分析において、PCI-MRM は EI-MRM よりも高感度で検出可能であり、定量精度も EI-MRM と遜色ないイオン化法です。PCI は、これまで専用イオン源に交換する必要があることが大きなデメリットでしたが、Smart EI/CI イオン源を用いることにより、装置を止めずに EI と PCI を切り替えることができます。

GC-MS(/MS) 代謝物分析用データベース  
Smart Metabolites Database™ Ver. 2

本データベースには50成分の脂肪酸が分析対象化合物として登録されており、メソッドを最適化する必要がなく、脂肪酸分析の大幅な効率化が図れます。



Product &gt;

# SPFおよび抗生剤投与マウス糞便試料中の短鎖脂肪酸・有機酸分析



Application >

一般に短鎖脂肪酸は揮発性が高く、親水性も高いため、通常の逆相系でのLC/MS分析は困難です。また一般的なGC/MS法で広く使われている誘導体化法では、試料を乾固させる必要があり、揮発成分を失う可能性があります。本アプリケーションでは、カルボン酸を水溶液中で 3-ニトロフェニルヒドラジン (3-NPH) で誘導体化することにより、分析を可能にしました。



3-NPH はケトン体とも反応するため、カルボニル基を有するピルビン酸、オキサロ酢酸なども誘導体化できます。

## ■ 分析

秤量した試料をエタノールで懸濁してから遠心分離により上清を回収しました。この上清を 3-NPH による誘導体化に供しました。3-NPH 誘導体化にあたっては、触媒にピリジン、縮合剤にカルボジイミドを使用し、室温、30分間にて反応させました。反応後、ギ酸を含むメタノール溶液にて希釈した後、LCMS™-8060 による一斉分析を行いました。分析にあたっては、LC/MS/MS メソッドパッケージ 短鎖脂肪酸に登録されている MRM トランジションおよび分析メソッドを用いました。

## ■ 試料

SPF マウスおよび抗生剤投与マウス糞便試料

## ■ 分析条件

LC-MS System : LCMS-8060  
 Column : Mastro C18 (2.1 mm I.D. × 150 mm, 3 μm)  
 Injection volume : 3 μL

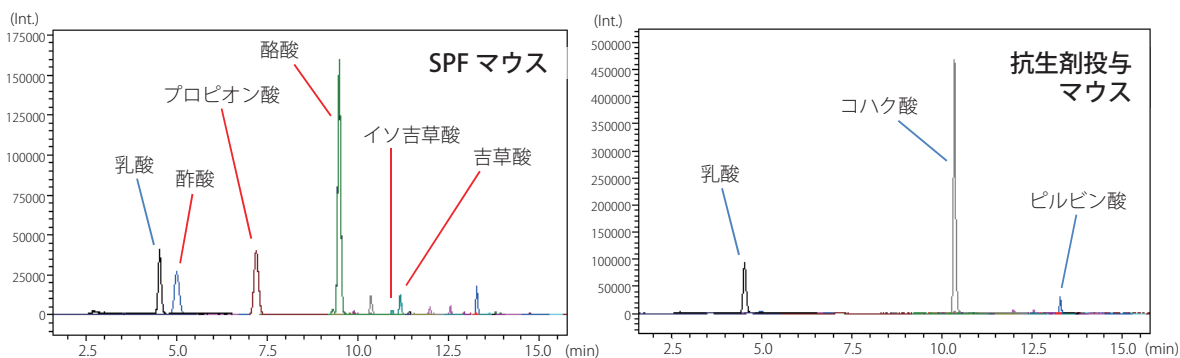


図7 SPFマウスと抗生剤投与マウス糞便試料における短鎖脂肪酸および有機酸 (3-NPH) のMRMクロマトグラム

## ■ まとめ

通常飼育と抗生剤投与マウスを使って、腸内細菌叢の変化が糞便中の短鎖脂肪酸や有機酸に与える影響を評価しました。短鎖脂肪酸は、肥満・糖尿病をはじめとする生活習慣病との関連が報告されており、また免疫機能の向上にも関連しているため、腸内細菌叢との相関を評価している医学系研究者にとって魅力的なアプリケーションとなります。

## LC/MS/MS メソッドパッケージ 短鎖脂肪酸

本メソッドパッケージには 3-ニトロフェニルヒドラジンによる誘導体化ステップを含めた前処理プロトコルを取扱説明書に含んでおり、本手順にしたがって誘導体化～分析・解析までの作業を導入後すぐに行うことができます。



Product >

# 唾液中親水性代謝物のメタボローム解析


[Application >](#)

短鎖脂肪酸は ODSカラムに保持されないため、質量分析計でも検出感度が低くなります。本アプリケーションでは、3- ニトロフェニルヒドロラジン (3-NPH) により誘導体化させ、ODSカラムへの保持の強化と質量分析計での検出感度の向上を実現しました。



短鎖脂肪酸は、LC/MS/MS メソッドパッケージと LCMS-8060NX を用いることで、簡便に分析できます。

## ■ 分析

短鎖脂肪酸・有機酸分析のための前処理では、ODSカラムへの保持と MS 検出における感度向上を目的に、サンプルを 3-ニトロフェニルヒドロラジン (3-NPH) により誘導体化させました。唾液中に 3-NPH (誘導体化試薬)、ピリジン (触媒)、カルボジイミド (縮合剤)、2-Ethylbutyric acid (内部標準物質) を添加し、室温で30分間反応させました。反応後、ギ酸を含むメタノール溶液で 5 倍希釈しました。

親水性代謝物の一斉分析のための前処理では、唾液を超純水で 5倍希釈しました。希釈の際、内部標準物質として  $1 \mu\text{mol/L}$  になるよう 2-Morpholinoethanesulfonic acid (MES) を添加しました。

## ■ 試料

健常の成人男性 1 名から採取した唾液

## ■ 分析条件

LC-MS System : LCMS-8060NX  
Column : Reversed-phase column

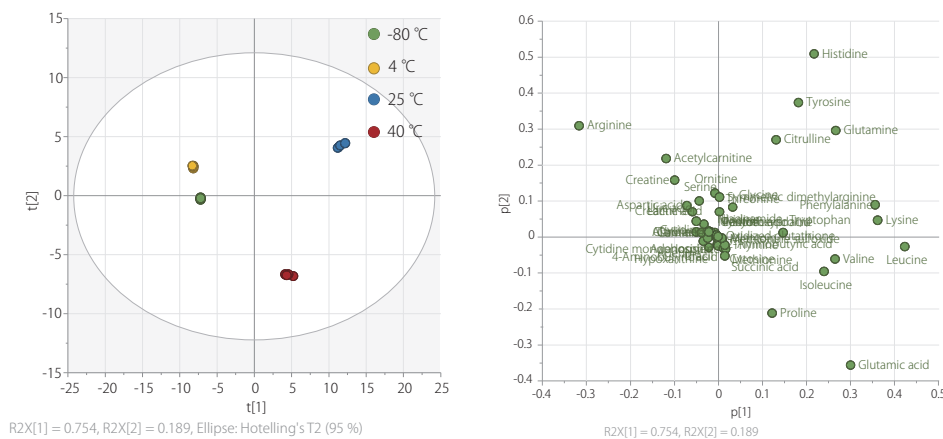


図 8 親水性代謝物一斉分析における主成分分析結果

## ■ まとめ

LCMS-8060NX の特長である IonFocus による感度向上や、AI で学習した波形処理が可能な Peakintelligence、LC/MS/MS メソッドパッケージ 一次代謝物、短鎖脂肪酸などを使用することで、唾液中の親水性代謝物を網羅的に分析することができます。

## LC/MS/MS メソッドパッケージ 一次代謝物 Ver. 3

LC/MS/MS 分析において必要となる分離条件の検討や、各化合物に対する MS パラメータの最適化などの煩雑な作業を、ユーザーが実施することなく分析を始められるため、多成分一斉分析業務を効率よく進めることができます。


[Product >](#)

# エイコサノイド類196成分に対応した代謝マップによる解析ツールの開発



Application >

エイコサノイド脂肪酸の代謝物は多岐に渡るため、メソッド開発が煩雑になります。そのため、弊社では196成分のエイコサノイド類一斉分析法 LC/MS/MS メソッドパッケージ 脂質メディエーター Ver. 3 を提供しています。



LC/MS/MS メソッドパッケージ 脂質メディエーター Ver. 3 が対象とする196成分の代謝マップによる解析ツールをご利用いただけます。また、脂肪酸代謝物の量的な違いを代謝マップ上に表示することで、関与する代謝酵素を容易に解析できます。

## ■ 分析

試料30 μLに0.1%ギ酸を含むメタノールを300 μLと18成分の内部標準物質溶液を10 μL添加し、約3分間攪拌しました。遠心分離後、上清を0.1%ギ酸水で3倍に希釈して固相抽出カートリッジに添加しました。抽出液を乾固した後、メタノール30 μLで溶解し、5 μLをLC-MS分析に供しました。各サンプルについて3回分析しました。

## ■ 試料

ヒト血しょうおよび血清

## ■ 分析条件

LC-MS System : LCMS-8060NX  
Column : Kinetex® C8 (2.1 mm I.D. × 150 mm, 2.6 μm)

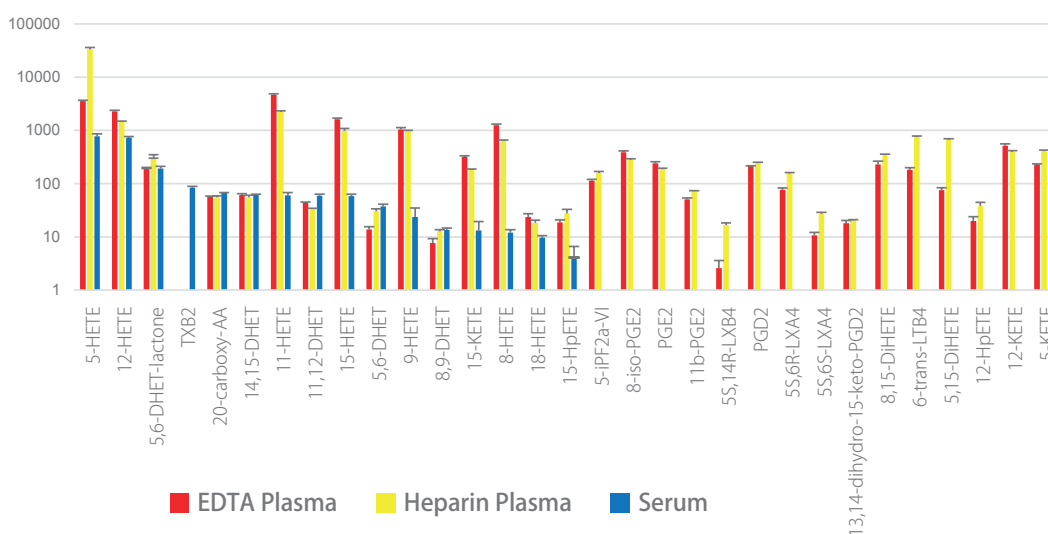


図9 ヒト血しょうと血清から検出されたアラキドン酸代謝物31成分の定量的プロファイルング (縦軸は内部標準との面積比を1000倍した値を表示しています。)

## ■ まとめ

この196成分の代謝マップ表示による解析ツールを開発し、ヒト血しょうと血清から検出された代謝物の比較解析を行いました。196成分の一斉分析法により、血しょうと血清から延べ68成分の代謝物が検出されました。この解析ツールを用いることで、検出された代謝物に関与する酵素を容易に確認することができました。

## LC/MS/MS メソッドパッケージ 脂質メディエーター Ver. 3

本メソッドパッケージでは、アラキドン酸カスケードに由来する脂質メディエーターやその関連物質196成分と内部標準物質18成分、合わせて214成分の一斉分析条件を用意しました。わずか20分のクロマトグラムで全成分をモニターできます。



Product >



# 血しょう、尿、糞便サンプルの 胆汁酸 39種類の迅速プロファイリング



Application &gt;

胆汁酸の基本骨格であるコラン酸構造はMS/MSで壊れにくく、構造の違いによる特異的なフラグメントイオンを測定することが困難です。化学的に類似した多様な胆汁酸を、LC-MS/MSによる一斉分析で正確に定量するためには、異性体をHPLCで十分に分離しなければならないという課題があります。本アプリケーションでは、HPLC条件を厳密に最適化したことにより、従来困難であった胆汁酸の分離とスループット・高感度を両立することができました。



胆汁酸の種類の多さと迅速性を両立した定量メソッドです。血しょう、尿および糞便の全自動前処理と組み合わせて、簡便に多検体の高感度測定が可能です。

## ■ 分析

マウスの糞便試料の場合には、腸管内で生成される胆汁酸の硫酸エステルおよびグルクロン酸抱合体から、胆汁酸を遊離させるため、最初に加水分解を行います。糞便 5 ~ 10 mg に水酸化カリウムを加え、80℃で 20 分間インキュベートし、リン酸カリウム緩衝液を用いて pH を下げて自動抽出用サンプルとしました。血漿、尿および加水分解糞便いずれのサンプルについても、250  $\mu$ L を抽出に使用しました。抽出用プレートには Evolute Express ABN 30 mg 96 ウェルプレート (Biotage®) を、抽出溶媒にはギ酸を添加した水とメタノールを使用しました。

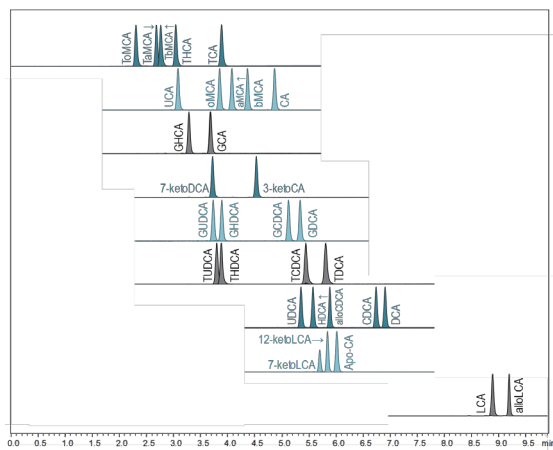


図 10 胆汁酸異性体 (標準溶液 10 ng/mL) の MRM クロマトグラムの例

## ■ 試料

生体試料 (ヒト血しょう、ヒト尿およびマウス糞便)

## ■ 分析条件

LC-MS System : LCMS-8060NX  
Column : ACE Excel C18 Amide (ADVANCED CHROMATOGRAPHY TECHNOLOGIES LTD)

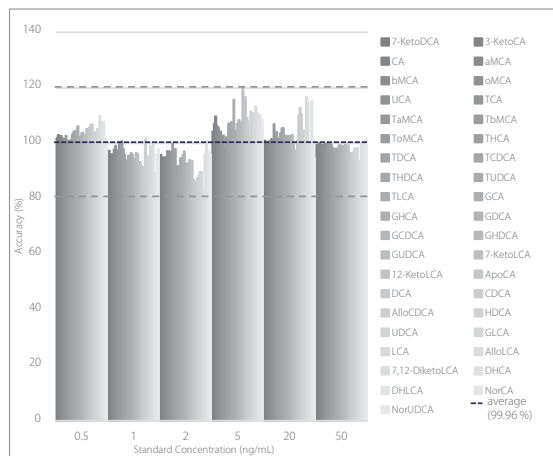


図 11 標準溶液の正確さ

## ■ まとめ

生体試料 (ヒト血しょう、ヒト尿およびマウス糞便) 中の 39 種の胆汁酸を、10 種の内部標準物質を用いて定量分析しました。分析には LC/MS/MS メソッドパッケージ 胆汁酸 Ver. 2 を用いました。本パッケージには、LC-MS/MS での分析のための最適化された条件および自動化試料調製プロトコルが含まれています。HPLC 条件を厳密に最適化したことにより、従来困難であった胆汁酸の分離とスループット・高感度を両立することができました。

## LC/MS/MS メソッドパッケージ 胆汁酸 Ver. 2

本メソッドパッケージでは、49 種の胆汁酸について、分離条件や MS パラメータが最適化されたメソッドが含まれています。また、生体サンプルを対象にした前処理例を記載しています。前処理や分析法の検討を行うことなく、生体サンプル中の胆汁酸を網羅的に分析することができます。



Product &gt;

# 血中トリグリセリド分析法の開発



Application >

通常の血液検査ではトリグリセリドの総量が見積られています。トリグリセリドに結合する多様な脂肪酸についての定量的知見が得られていません。そのため、弊社はトリプル四重極型 LC-MS/MS を用いた血中トリグリセリドの分析法を「LC-MS/MS MRM ライブラリトリグリセリド」として開発しました。



血中のトリグリセリド47種類の分析を1サイクル11分（130分析/日）で行うことが可能で、トリグリセリド中の脂肪酸組み合わせ推定が可能です。そのため、ハイスループットスクリーニングによるバイオマーカー探索に有用です。

## ■ 分析

血漿または血清 20 μL に 960 μL のメタノール/ブタノール混合液を添加し、3分間攪拌させました。15分間遠心分離を行い、上清のメタノール/ブタノール混合液を10倍希釈しました。希釈した上清 3 μL を LC-MS/MS に注入しました。トリグリセリドのMRMは、 $[M + NH_4]^+$  をプリカーサーイオンとして、脂肪酸のニュートラルロス (NL) により検出されるイオンをプロダクトイオンとして設定しました。

## ■ 試料

2種類のヒト血しょう (Plasma 1、2) および血清 (Serum)

## ■ 分析条件

LC-MS System : LCMS-8060  
 Column : Shim-pack Velox™, C18 (2.1 mm I.D. × 50 mm, 2.7 μm)

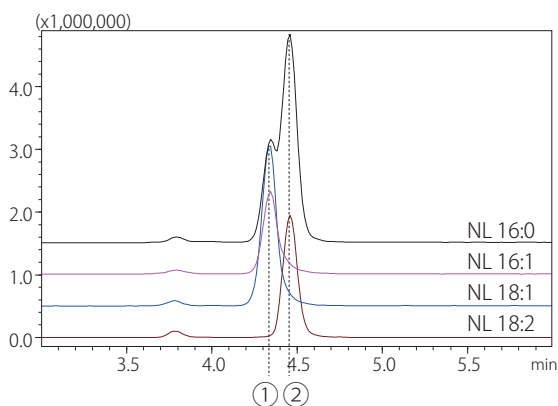


図 12 TG 50:2 の MRM クロマトグラム

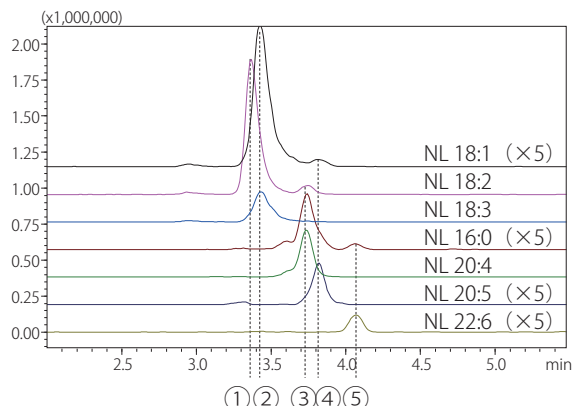


図 13 TG 54:6 の MRM クロマトグラム

## ■ まとめ

構築した分析法は、分子量の異なる47種類の血中トリグリセリドを1分析11分（130分析/日）で測定することができます。また、195個のMRMデータの取得により、同一保持時間に溶出する脂肪酸由来のピークの組み合わせから、トリグリセリドの異性体を推定できます。本分析法を用いて、市販のヒト血しょうおよび血清サンプル3種を分析し、多変量解析によりトリグリセリドの微細なサンプル間差を捉えることができました。

## LC/MS/MS MRM ライブラリ トリグリセリド

本ライブラリでは、47種類のトリグリセリドを対象として、推定される脂肪酸組み合わせを反映した195個のMRMトランジションを用意しました。検出される様々なトリグリセリドを試料間で比較することができます。



Product >

# メタボロミクスとリポドミクスによる複合的なオミクスアプローチ



Application &gt;

代謝変動のモニタリングでは、目的物質はもちろんのこと、その前駆体・中間体を含めた代謝変動を理解する必要があります。メタボロミクスによる代謝変動を評価するとともに、リン脂質を対象としたリポドミクスの結果を組み合わせることで、複合的なオミクスアプローチによる代謝変動を捉えられるようになりました。



LC/MS/MS MRM ライブラリ リン脂質プロファイリングを用いることにより、簡便に分析することが可能です。

## ■ 分析

硫黄源として、50 mMチオ硫酸塩もしくは100 mM硫酸塩を添加した最小培地を用いて、ジャーファーマンターによる大腸菌の培養を行いました。また、培養経過に依存した代謝物変動を評価するために、0、24、48、72、96、120、168、216時間経過後に培養懸濁液から菌体の一部を回収しました。回収した大腸菌はOD値を測定した後、OD=2、1 mL相当になるように調整して培地を除去してから、超純水にて菌体をリンスしました。次に、Bligh-Dyer法を用いて菌体からの親水性代謝物およびリン脂質の抽出を行いました。水層およびクロロホルム層を回収して、濃縮遠心機で乾固させた後、超純水およびメタノールで溶かしたものを適宜希釈して、LCMS-8060による一斉分析を行いました。代謝物の分析にあたっては、LC/MS/MSメソッドパッケージ 一次代謝物 Ver. 2の非イオンペアメソッドを、リン脂質の分析にあたっては、LC/MS/MS MRM ライブラリ リン脂質プロファイリングによる分析条件にて一斉分析を行いました。

## ■ 試料

大腸菌抽出物

## ■ 分析条件

LC-MS System : LCMS-8060  
Column : C8 カラム (2.1 mm I.D. × 150 mm, 2.6 μm)

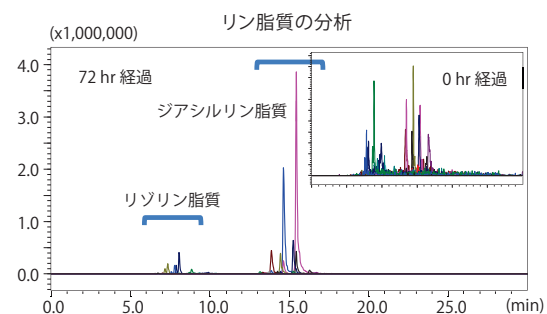
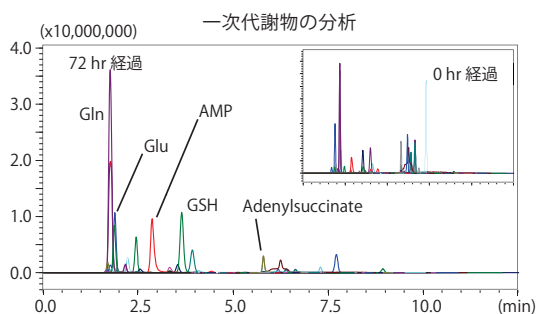


図 14 チオ硫酸添加培地にて培養した大腸菌抽出物の MRM クロマトグラム (一次代謝物およびリン脂質)

## ■ まとめ

有用物質生産を微生物で行っている食品・バイオ関連の企業や研究者にとって、より高効率な物質生産を行うために、目的物質に関連した代謝経路がどのように変化しているかをモニタリングすることの重要性を示唆しており、このような微生物育種を行っている研究者にとって魅力的なアプリケーションです。また、代謝変動を評価するにあたり、メタボロミクスとリポドミクスといった2つのオミクス解析からのアプローチを行っており、複合的なオミクス解析による代謝変動評価に有効です。

## LC/MS/MS MRM ライブラリ リン脂質プロファイリング

本メソッドパッケージでは、C14～C22からなる脂肪酸を含んだリン脂質を分析対象としており、生体中の主要なリン脂質の網羅的解析としてリン脂質クラス決定メソッドを、またその分析結果から推定される脂肪酸組成決定メソッドとして最大867成分のMRMトランジションを含んでいます。



Product &gt;

## 4種のマウス組織におけるリン脂質解析



Application >

リン脂質は生体内で様々な役割を担うため、その構造を構成している特徴的なヘッドグループおよび脂肪酸の組み合わせから、その数は膨大なものとなります。本アプリケーションでは、PREMIER Biosoft 社 (www.premierbiosoft.com) の SimLipid ソフトウェアにより、候補リン脂質の推定を行いました。



SimLipid ソフトウェアを使ったデータベース検索を行うことによって、膨大なリン脂質の中から試料中に含まれるリン脂質を推定することが可能です。

### ■ 分析

マウスの各組織からの脂質抽出は、メタノールにより行いました。調製した組織抽出液は、メタノールにて適宜希釈した後、LCMS-8060 を用いてプリカーサーイオンキャン (PIS) およびニュートラルロスキャン (NLS) によるリン脂質分析を行いました。

### ■ 試料

4つの異なるマウス組織 (脳、脾臓、肺、肝臓)

### ■ 分析条件

LC-MS System : LCMS-8060  
Column : Phenomenex Kinetex C8 (2.1 mm I.D. × 150 mm, 2.6 μm)

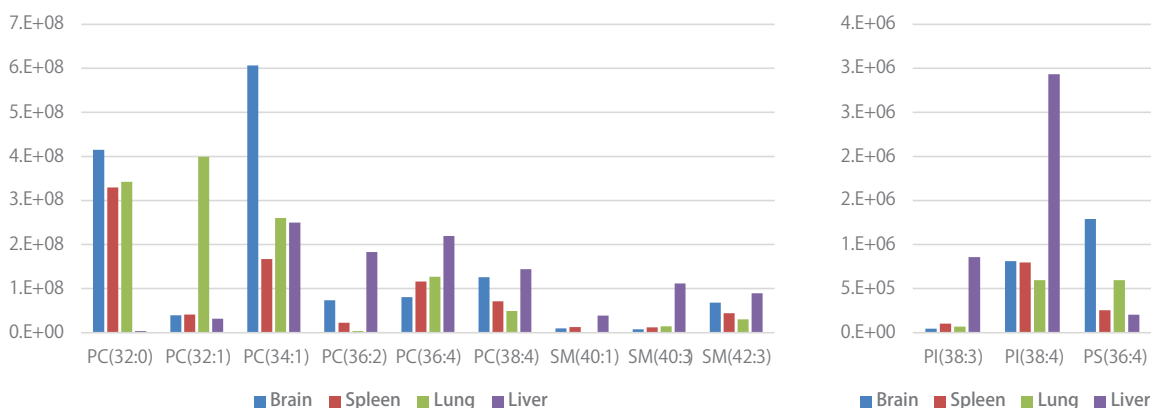


図 15 4つの組織におけるリン脂質の“Total Abundance”

### ■ まとめ

データベース検索の結果、各組織において推測されたリン脂質のうち、いずれの組織サンプルにおいても確認されたリン脂質について、そのピーク強度 (Total Abundance) をプロットしました (図 15)。それぞれの組織に特徴的なリン脂質の存在を確認することができます。

### 高速液体クロマトグラフ トリプル四重極質量分析計 LCMS-8060NX

新開発のフォーカス電極により、イオンのみを効率よく質量分析計内部に導入できます。夾雑成分が除去されるため、汚れによる影響が少なく、安定した脂質分析が可能です。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などの連続分析に威力を発揮します。



Product >

# サプリメント中のグルコシルセラミドの定量



Application &gt;

グルコシルセラミドは光吸収性がほとんどないため、紫外可視吸光度 (UV-VIS) 検出器を用いて分析することはできません。また、グルコシルセラミドは分子種が多いため、総含有量を測定する際には分子種を分離させずにまとめて溶出するようクロロホルムなどを用いる順相モードを用いて分析することが一般的です。蒸発光散乱検出器 (ELSD) は、移動相を噴霧、蒸発させ、微粒子化した目的成分の散乱光を測定する汎用性の高い検出器であり、UV 吸収がない物質の検出も可能です。また、超臨界クロマトグラフィー (SFC) は、極性の低い二酸化炭素を移動相に用いることで、有害性の高い有機溶媒を大量に用いることなく分析を行うことが可能です。



- 移動相にクロロホルムを使用しないため、順相モードに比べて安全にグルコシルセラミドを分析できます。
- グルコシルセラミドを順相モードと同程度に再現性よく高速分析し、高感度に検出できます。
- 二酸化炭素はHPLCで使用される有機溶媒に比べて安価なため、ランニングコスト削減効果が期待できます。

## ■ 分析

市販のサプリメントに 9 mL のクロロホルム / メタノール混合液を添加し、5 分間超音波洗浄しました。その後、10 分間遠心分離し上清をろ過し、クロロホルム / メタノール混合液で 5 倍希釈しました。希釈した上清 5  $\mu$ L を SFC に注入しました。

## ■ 試料

市販のサプリメント

## ■ 分析条件

LC-MS System : Nexera UC  
Column : Shim-pack™ UC Sil  
(4.6 mm I.D. × 150 mm, 5.0  $\mu$ m)

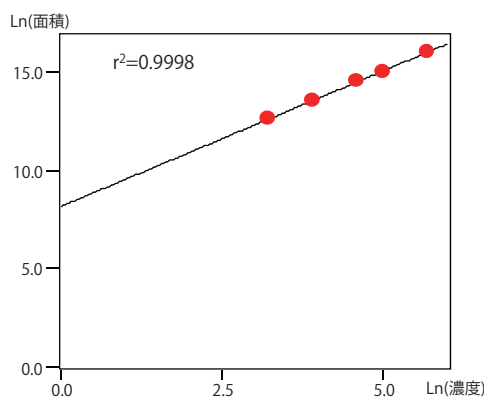


図 16 検量線

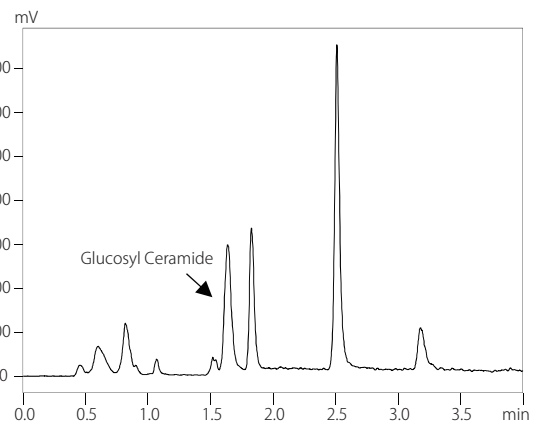


図 17 サプリメントのクロマトグラム

## ■ まとめ

サプリメント中の米由来グルコシルセラミドの定量をSFCとELSDを用いて行いました。SFCでは有害性の高いクロロホルムを移動相に用いることなく、二酸化炭素を用いることで安全性が向上するだけでなく、グルコシルセラミドを2分以内に溶出させることができました。また、検出にELSDを用いることによって、高感度で再現性の良い分析を行うことができました。

## 超臨界流体クロマトグラフ Nexera™ UC / ELSD-LT III

不安定な成分も確実に分析し、究極の高速・高分離を実現しています。Nexera UCでは複雑な前処理操作は必要ないため、脂質分析の大幅な効率化が図れます。



Product &gt;

GCMS、GCMS-TQ、Smart Metabolites Database、LCMS、Shim-pack Velox、Shim-packおよびNexeraは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。Kinetexは、Phenomenex Inc.の商標または登録商標です。

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

製品情報



価格お問合せ



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