

臨床研究向け

薬物分析ソリューション



臨床研究向け 薬物分析ソリューション

血液などの生体試料中の化合物を測定する上で、液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）は有用なツールであり、信頼性の高い多成分分析を実施することで、多くの内因性または外因性化合物を一斉分析することが可能です。生体試料の前処理を行う全自動 LC-MS 前処理装置を用いることで、ミスやばらつき、感染性試料を処理する際のリスクなどを低減することができます。

四重極飛行時間型高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC-Q-TOF/MS）により、生体試料中の複雑な混合物や未知化合物を同定し、定量することが可能です。

これらの分析装置を用いたアプリケーション例を紹介します。

高速液体クロマトグラフ質量分析計による分析

Title	Page
ステロイドホルモン 20 種の一斉分析およびエストロゲンの高感度分析	4
ヒト血清中コルチゾールの高感度分析	
クロザピンおよび 2 種の代謝物の新規血漿中濃度分析法の構築	5
自動抽出装置を用いた血漿、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	
COVID-19 治療薬 Remdesivir の分析法の開発	6
マイクロサンプリング血漿を用いた高速エイコサノイドプロファイリング法の開発	
ラット血漿中のオキシトシンの定量分析	7
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（3-NPH 誘導体）分析	
タンデムマス・スクリーニングにおける C5 アシルカルニチンの識別	8
血漿中のミコフェノール酸および代謝物の分析	
ヒト全血中の薬毒物一斉スクリーニングおよび簡易定量	9
超微量血漿試料中の薬物の高感度分析	

高速液体クロマトグラフ質量分析計



LCMS-8060NX

全自動 LC-MS 前処理装置による分析

Title	Page
血漿中のセフェム系抗生物質の一斉分析	10
ヒト血漿中コリンおよび代謝物の分析	
ヒト血漿中一次代謝物の分析	11
ヒト血漿中 Dexamethasone および抗生物質の同時分析	
ヒト血漿中 Favipiravir の分析	12
ヒト血漿中 Remdesivir および代謝物の一斉分析	
血漿中のミコフェノール酸および代謝物の分析	13
抗凝固剤の分析	

全自動 LC-MS 前処理装置



CLAM-2040

四重極飛行時間型 高速液体クロマトグラフ質量分析計による分析

Title	Page
腸内細菌の Lipid A の構造推定	14
血中薬物の定性 / 定量分析	
血中薬物のスクリーニング	15

四重極飛行時間型
高速液体クロマトグラフ質量分析計



LCMS-9030

ステロイドホルモン20種の一斉分析およびエストロゲンの高感度分析


[Application >](#)

ステロイドホルモンを一斉分析し、プロファイルとして解析するアプローチが、再生医療や発癌研究において新しい知見をもたらしており、注目を集めています。ステロイドホルモン20種の一斉分析を短時間で実施することにより、様々な疾患のメカニズム解明や治療法に繋がる研究を加速するものと期待されています。

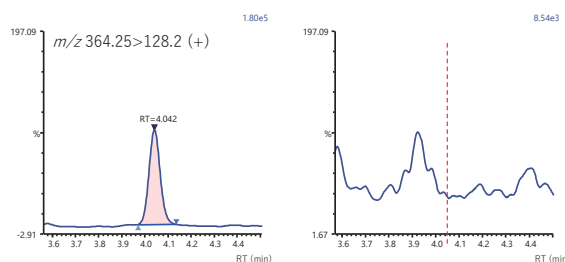


- ステロイドホルモン20種の一斉分析を測定時間15分で実施できます。
- 誘導体化によるエストロゲンの高感度分析が可能です。

LC/MS/MSメソッドパッケージ ステロイドホルモンを用いた定量分析を行いました。ヒト血清に添加したステロイドホルモン20種について、良好な定量結果が得られました。誘導体化エストロゲンについては、Estradiolは1 pg/mL、Estroneは0.5 pg/mLおよびEstrinolは100 pg/mLのLOQを示し、高感度分析を達成しました。

- 試料：ヒト血清
- 分析装置：LCMS-8060

LC/MS/MS メソッドパッケージ
ステロイドホルモン



エストラジオール
左：標準試料 (200 pg/mL) 添加血清、右：血清ブランク

ヒト血清中コルチゾールの高感度分析


[Application >](#)

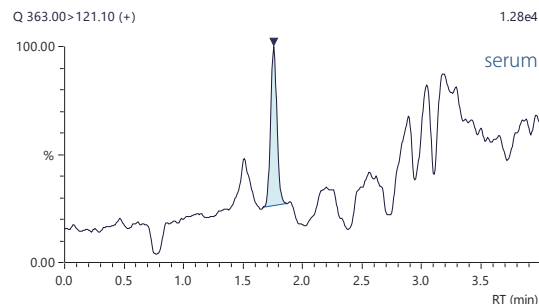
血清中コルチゾールの低下モニターへの応用性を確認するために、市販の脱ステロイド処理されたヒト血清を用い、正常値よりも低濃度域からのコルチゾールの測定性を確認しました。



- 特異性が高く、高感度に血清コルチゾールを測定できます。
- 広いダイナミックレンジでの定量分析が可能であり、定量値の正確、信頼性に優れた分析法です。
- IonFocus™ ユニットが効率的にイオンをMSへ導入するため、高い装置頑健性を実現します。

LCMS-8060NXを用いて、コルチゾールの定量分析を行いました。2.5~100,000 pg/mLの高感度、かつ幅広い濃度レンジでの定量分析が可能であり、ヒト血清への添加試料においても良好な結果が得られることが確認されました。脱ステロイド処理ヒト血清でも2.5 pg/mLの微量検出の可能性が示されました。

- 試料：ヒト血清
- 分析装置：LCMS-8060NX



脱ステロイド処理血漿中の微量コルチゾール

COVID-19 治療薬Remdesivirの 分析法の開発


[Application >](#)

RemdesivirはCOVID-19の治療薬として、日本では2020年5月に特例承認された抗ウイルス薬です。今回、質量分析計を用いたCOVID-19治療薬Remdesivirの活性代謝物（GS-441524）の分析法を確立しました。様々な患者の血中濃度測定を実施して、母集団薬物動態解析を行い、腎機能に応じた投与量設計モデルを構築しました。

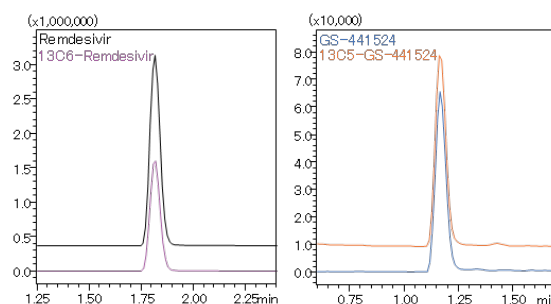


分析時間は4.5分と短時間で、Remdesivir（100– 5,000 ng/mL）、GS-441524（5– 250 ng/mL）の検量線範囲で決定係数（R²）>0.999と良好な結果を得ました。

GS-441524の血中濃度を測定し、体内動態の個体間変動へ影響を与える因子の解明を試みました。Remdesivirが投与された37名の患者の血液を採取し、GS-441524の血中濃度を測定した結果、腎機能障害患者では腎機能正常患者と比較して、GS-441524の血中濃度が高いことが判明しました。

高い血中濃度は副作用のリスクとなりうることから、モデルを用いてシミュレーションを行い、腎機能に応じた投与量設計を行う必要があります。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：LCMS-8060



MRM クロマトグラム
Remdesivir、[U-Ring-¹³C₆]-Remdesivir (左)
GS-441524、[¹³C₅]-GS-441524 (右)

マイクロサンプリング血漿を用いた 高速エイコサノイドプロファイリング法の開発


[Application >](#)

エイコサノイドやオメガ3系脂肪酸代謝物は、病態生理学的な機能の解明および疾患バイオマーカーを探索する上で重要なターゲットです。対象成分を血漿で検出された成分に絞り込むことで、エイコサノイドおよび関連する脂肪酸代謝物が10分でモニタリング可能となりました。新規開発したメソッドを用いて、マイクロサンプリングデバイス MSW²™ で微量採取した市販ヒト血漿の分析を行い、エイコサノイド類を検出した例をご報告します。



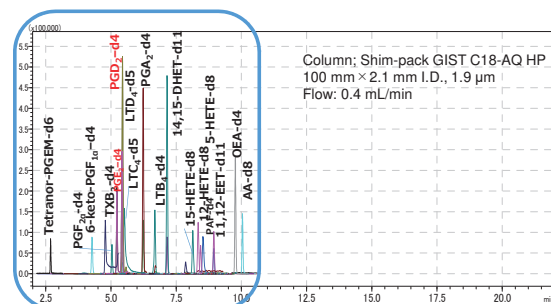
- 10分でヒト血漿中のエイコサノイドを含む脂肪酸代謝物のモニタリングが可能です。
- Nexera™ とトリプル四重極質量分析計 LCMS-8060 が、ハイスループット分析を実現します。
- マイクロサンプリングデバイス MSW² で、精度よく試料の微量採取が可能です。

エイコサノイドを含む脂肪酸代謝物114成分を10分でモニタリングできるハイスループット分析法を開発しました。本法を用いて、ヒト血漿 5.6 μL (MSW² マイクロサンプリング相当量) から、エイコサノイドを含む36成分以上の脂肪酸代謝物、DHA代謝物およびリノレン酸代謝物が定量的に検出可能であることが確認されました。

これらの成果は、再使用 (Re-using) マウスを用いた病態生理学の研究等への展開が期待できます。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：LCMS-8060

新規10分メソッド



内部標準物質 (18 成分) のMRMクロマトグラム

ラット血漿中のオキシトシンの定量分析


[Application >](#)

オキシトシンは、脳下垂体後葉から分泌される9個のアミノ酸と1個のS-S結合からなるペプチドホルモンです。このオキシトシンは、子宮筋の収縮促進作用から陣痛誘発剤として使用されることもあります。また、ストレス緩和などの効果があるとされることから、別名「幸せホルモン」や「愛情ホルモン」とも呼ばれており、母と子や、家族、恋人などの対人関係に大きく関わっているとされ、近年注目されているホルモンです。本稿では、ラット血漿中のオキシトシンをトリプル四重極質量分析計 LCMS-8050 により分析した例を紹介します。

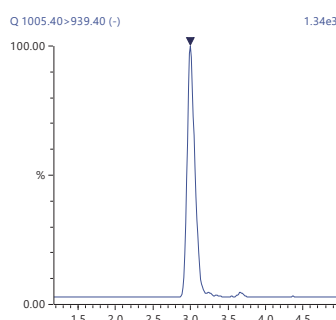


- LCMS-8050のMRM法により、超高感度にターゲット化合物を分析可能です。
- 血漿中から2 ng/mL にて、90 %を超える回収率を確認しています。

ラット血漿前処理サンプルについて測定を行い、未添加のラット血漿ブランクサンプルからオキシトシンが検出されました。2 ng/mL 添加試料について、90 %を超える回収率を確認しました。

オキシトシンについて0.1 ~ 500 ng/mL の濃度範囲で検量線を作成したところ、寄与率 $r^2 = 0.999$ 以上となり、広範囲に血漿中のオキシトシン定量が可能であると考えられます。

- 試料：ラット血漿
- 分析装置：LCMS-8050



ラット血漿サンプルのMRMクロマトグラム (2 ng/mL 添加)

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 (3-NPH誘導体) 分析


[Application >](#)

腸内細菌叢が産生する短鎖脂肪酸は、肥満や糖尿病をはじめとする生活習慣病との関連、また免疫機能の向上とも関連していると報告されています。食品・医薬分野を中心に注目されており、健康増進に寄与するプロバイオティクス市場の拡がりを受けて、定量分析への要望は今後も高まることが期待されます。本稿では生理的な腸内細菌叢の存在する SPF (Specific Pathogen Free) マウスと抗生剤投与マウスとの糞便試料を対象として、腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸の分析例を紹介します。

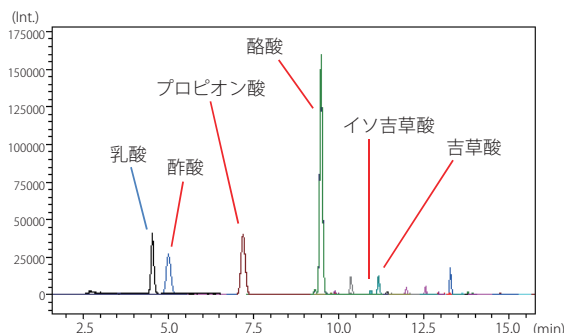


- 3-ニトロフェニルヒドラジン (3-NPH) で誘導体化することにより、C2 ~ C5の短鎖脂肪酸、乳酸、ピルビン酸、コハク酸などの有機酸 (16成分) の分析が可能です。
- LC/MS/MS メソッドパッケージ 短鎖脂肪酸にはMRMトランジションと分析メソッドが含まれます。

SPF マウス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と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重要なアプリケーションです。ソフトウェアとLC-MSとの組み合わせによる分析例は食品・医薬品分野において重要と考えられます。

- 試料：マウス糞便試料
- 分析装置：LCMS-8060

LC/MS/MSメソッドパッケージ
短鎖脂肪酸



SPF マウスの糞便試料における短鎖脂肪酸および有機酸 (3-NPH)

タンデムマス・スクリーニングにおける C5アシルカルニチンの識別


[Application >](#)

新生児マススクリーニング法は、LC/MS/MSによるフローインジェクション-タンデムマス法で、ろ紙血中の各種対象成分を測定します。本法はスループットでは優れていますが、異性体の識別が困難です。例えば、C5アシルカルニチンには、イソ吉草酸血症の関連代謝物であるイソバレリルカルニチン (i-C5) 以外に、異性体としてピバロイルカルニチン (p-C5)、2-メチルプチリルカルニチン、n-バレリルカルニチンが存在します。p-C5は、ある種の抗菌薬を投与することにより体内で生成されるi-C5との識別が困難となります。これによりp-C5による偽陽性の報告は多く、偽陽性を減らすための測定法としてLC/MS/MSの確認イオンを用いて異性体を識別するための技術を紹介します。

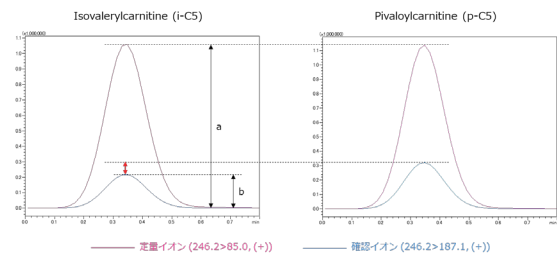


benefits

特別な試薬・装置を用いることなく、通常のタンデムマス・スクリーニングで使うメソッドを少し変更するだけで、C5アシルカルニチン（イソバレリルカルニチン、ピバロイルカルニチン）の識別が可能です。

MRM測定において、確認イオン比の違いで化合物を識別できることが知られています。そこで、定量イオンを m/z 246.2>85.0、確認イオンを m/z 246.2>187.1 と設定しました。カラムを用いないフローインジェクション法によるタンデムマス・スクリーニングにおいても、確認イオンを用いることでi-C5とp-C5を識別できることがわかりました。

- 試料：ろ紙血
- 分析装置：LCMS-8050



イソバレリルカルニチンとピバロイルカルニチンの
MRMクロマトグラム

血漿中のミコフェノール酸および 代謝物の分析


[Application >](#)

生体試料中の薬物分析では、主に免疫測定法が用いられてきましたが、非特異反応や抗体試薬のロット間差が指摘されています。質量分析計 (MS) は m/z による質量分離が可能であるため、選択性が高く、スループットや感度の観点で優れています。本稿では、血漿中のミコフェノール酸 (MPA) およびグルクロン酸抱合体 (MPA-G) について、トリプル四重極型と比較して安価かつ条件設定も容易なシングル四重極質量分析計を用いて分析した例を紹介いたします。

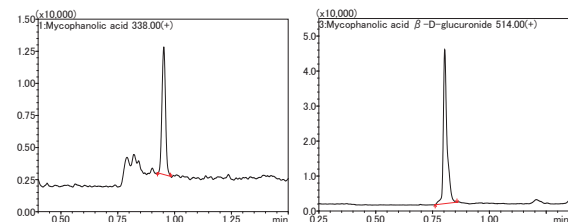


benefits

- シングル四重極LC-MSを用いることで、ミコフェノール酸およびその代謝物を1検体あたり2分間で分析可能です。
- 装置がコンパクトであるため、HPLCと同等の設置スペースで使用可能です。

血漿中のミコフェノール酸 (MPA) およびグルクロン酸抱合体 (MPA-G) について、シングル四重極質量分析計を用いて分析しました。2分という短い分析時間で、いずれの成分においても設定した濃度域で良好な直線性、正確さが得られました。シングル四重極質量分析計を用いることで、高感度かつハイスループットで生体試料中の薬物を分析できることが示されました。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：LCMS-2050



ミコフェノール酸 0.1 mg/L

ミコフェノール酸
グルクロン酸抱合体 1 mg/L

高速液体クロマトグラフ質量分析計
LCMS-2050



ヒト全血中の薬毒物一斉スクリーニング および簡易定量


[Application >](#)

LC/MS/MSは機器分析手法として広く普及し、法医学分野での応用に注目が高まっています。弊社のトリプル四重極質量分析計をベースとした一斉分析法 LC/MS/MS 薬毒物迅速スクリーニングシステム Ver. 3 には、231種の法医中毒関連化合物の同定および半定量が可能な分析条件が収録されています。また、微量化前処理と組み合わせ、100 μ L 程度の全血からデータを取得することが可能です。

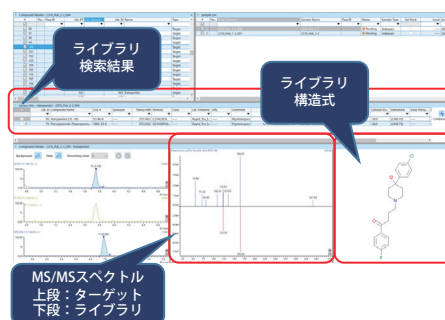


- Micro Volume QuEChERS Kitによる簡便な前処理方法で分析が可能です。
- LabSolutions Insight Library Screening により簡単にライブラリ検索結果の確認が可能です。
- 標準試薬が手元に無くても15分の分析で簡易的な定量結果が得られます。

LC/MS/MS薬毒物迅速スクリーニングシステムに含まれる検量線によって得られた7-AminoflunitrazepamおよびHaloperidolの剖検試料から取得した半定量結果は、先行研究で得られた結果に近いものとなりました。実試料中の低濃度化合物であっても標準試料を用意することなく、高感度に検出・同定を行い妥当な半定量結果を算出できることが確認できました。

- 試料：剖検例の全血（福岡大学医学部法医学教室ご提供）
- 分析装置：LCMS-8045

LC/MS/MS
薬毒物迅速スクリーニングシステム
Ver. 3



Library Screening によるライブラリ検索結果の一例

超微量血漿試料中の薬物の高感度分析


[Application >](#)

医薬品開発では、前臨床試験および臨床試験で体内薬物動態に関する評価が行われます。前臨床における薬物動態試験では、動物実験により得られた生体試料中の薬物および代謝物濃度をLC/MS/MS等を用いて分析します。この際、安全に採取可能な試料量は動物種により制限を受けるため、動物種によっては多くの実験動物と評価薬物を必要とするケースもあり、倫理および経済性の観点から課題となっています。課題解決において、試料の微量採取（マイクロサンプリング）技術の発展とともに、微量試料からの検出を可能とするLC/MS/MSおよびマイクロフロー化による高感度化についても検討がなされています。

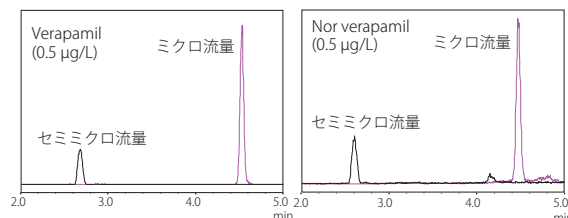


- Nexera Mikrosは、一般的に使用されている100~500 μ L/min程度の流量範囲で測定するセミマイクロ LC/MSシステムよりも目的成分を高感度に検出でき、かつ数百nL/min~1 μ L/minの流量範囲で測定するナノ LC/MS システムと比べて、分析の短時間化と堅牢性に優れています。

Nexera Mikrosを用い、サンプル溶媒によるピークのブロード化を抑制するため、トラップ&エリユート方式によりVerapamilとNor verapamilの定量を行いました。生体試料中の薬物の定量において、マイクロ流量条件では一般的なセミマイクロ流量条件より高感度な検出が可能でした。このことから、マイクロフロー LC/MS/MSを用いることで、薬物動態試験において必要な試料採取量を低減できる可能性が示唆されました。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：Nexera Mikros、LCMS-8060

マイクロ流量対応
液体クロマトグラフ質量分析計システム
Nexera Mikros



マイクロ流量とセミマイクロ流量の信号強度比較

血漿中のセフェム系抗生物質の一斉分析


[Application >](#)

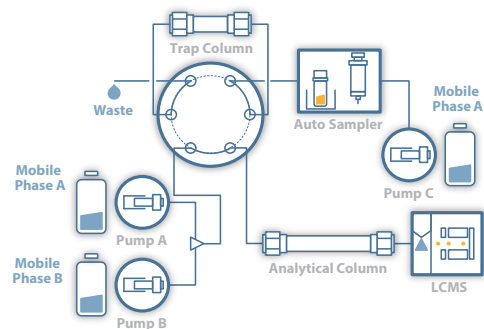
セフェム系抗生物質は副作用の頻度や程度も小さく、安全性が高いので、適応できる症例が多いことから広く普及しています。本稿では、血漿中のセフェム系抗生物質12成分を測定対象とし、全自動LC-MS前処理装置を用いたLC-MS/MSによる一斉分析法を紹介します。



- 12種類のセフェム系抗生物質の一斉分析が可能です。
- 生体試料の前処理からLC-MS/MS測定までを自動で行うことが可能です。
- 測定時間7分のサイクルで再現性良く分析可能です。

セフェム系抗生物質12成分について、全自動LC-MS前処理装置およびLC-MS/MSによる一斉分析系を構築しました。いずれの成分においても設定した濃度域において良好な直線性、正確さが得られました。また、血漿に添加したサンプルにおいても正確さは各化合物で100±15%以内、濃度値再現性(%RSD)も15%以下と良好な結果がトータル10分で得られました。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：CLAM™-2030、LCMS-8060



システム流路構成図

ヒト血漿中コリンおよび代謝物の分析


[Application >](#)

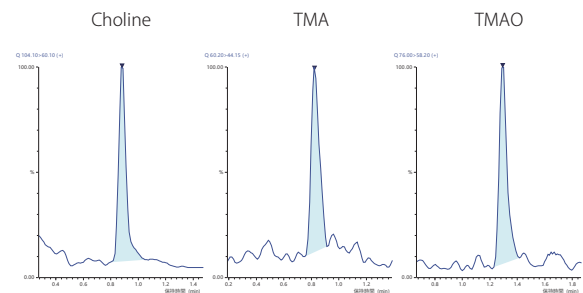
食事で体内に摂取したコリンの一部は、腸内細菌によりトリメチルアミン (TMA) に代謝され、さらに肝臓内の酵素によりトリメチルアミン-N-オキシド (TMAO) に代謝することが知られています。このTMAOは動脈硬化などの心血管疾患に関係していることや、心不全の予後予測に有用であることが報告されており、新たなバイオマーカーとして注目されています。ここでは、生体試料の除タンパクや内部標準物質の添加を自動で行う全自動LC-MS前処理装置およびLC-MS/MSを用いたヒト血漿中コリンおよびその代謝物の一斉分析系を紹介します。



- 生体試料中のコリン、TMAおよびTMAOの定量分析を行うことができます。
- 煩雑な試料前処理を自動で行い、スループットを向上することができます。
- 前処理作業の属人性を排除し、手技による定量結果のバラツキを低減することができます。

生体試料の除タンパクや内部標準物質の添加を全自動LC-MS前処理装置を用いて行い、LC-MS/MSによるヒト血漿中コリン、TMA、TMAOの定量分析を行いました。各化合物において検量線は良好な直線性を示し、ヒト血漿において再現性に問題がないことから、本分析系の高い有用性が示されました。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：CLAM-2030、LCMS-8060



ヒト血漿におけるコリン、TMA、TMAOのマスキロマトグラム

ヒト血漿中一次代謝物の分析


[Application >](#)

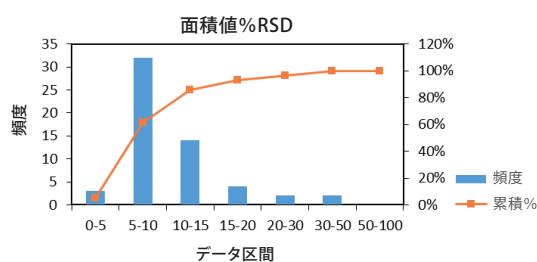
多数の代謝物を網羅的に解析する手法であるメタボロミクス解析は、食品の機能解析や発酵生産性の改善、生理・病理機構の解明など、幅広い分野・用途で用いられています。メタボロミクス解析には、液体クロマトグラフ質量分析計などの質量分析計が用いられています。近年、メタボロミクス解析が、疾患マーカーや薬剤の効果・毒性予測マーカーの探索などの臨床研究（Clinical Research）に利用されつつあります。本稿では全自動前処理LC-MS/MSシステムを用いて、メタボロミクス解析を臨床研究に適用する際の前処理の課題を解消できる分析例を紹介します。



- 血漿に含まれる一次代謝物を網羅的に測定することができます。
- 煩雑な試料前処理を自動で行います。
- 前処理作業の属人性を排除し、手技による定量結果のバラツキを低減します。

LC/MS/MS メソッドパッケージ 一次代謝物には、約200成分の化合物が登録されています。QC検体を22回測定した際の各一次代謝物の面積値 %RSD を算出し、それぞれのデータ区間と頻度を表したヒストグラムを右図に示します。臨床検体およびQC検体に対して安定した連続測定の実現可能性を示しました。本システムによるメタボロミクス解析は、マーカー候補の探索や検証に有用であり、今後の発展が期待されます。

- 試料：血漿（兵庫医科大学疾患オミクス解析学講座ご協力）
- 分析装置：CLAM-2030、LCMS-8060



QC検体22測定の面積値%RSDのヒストグラム

LC/MS/MS メソッドパッケージ
一次代謝物 Ver. 3



ヒト血漿中Dexamethasoneおよび抗生物質の同時分析


[Application >](#)

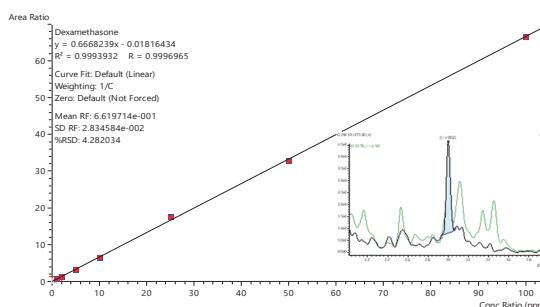
ステロイド系抗炎症薬の一つであるDexamethasoneは炎症反応や免疫反応を抑制する効果を有しており、腫瘍の対症療法や目の炎症治療に広く使用される薬剤です。これらの症状に対する効果だけでなく、アレルギー症状の改善やがん治療にも有効であると報告されています。本稿では、ヒト血漿中のDexamethasoneと複数の抗生物質を測定対象とし、全自動前処理LC-MS/MSシステムによる高感度一斉分析手法を紹介します。



- 分析時間5分と短時間で多検体のスクリーニングを行えます。
- LC-MS/MSの測定と並行して、次に測定する検体の前処理を行うことで、前処理から測定までを効率よく実施することが可能です。

ステロイド系抗炎症剤Dexamethasoneおよび抗生物質 3 種（Tazobactam、Meropenem、Piperacillin）の薬剤を対象とし、全自動LC-MS前処理装置およびLC-MS/MSによる高感度一斉分析系を構築しました。本分析法は全自動で検体の前処理を行い、分析時間 5 分の高速分析を実現しました。LC/MS高感度分析により血漿中 1 ~ 100 ng/mL の範囲で正確さ 85 ~ 115 % を満たし、3 濃度のQCサンプルにおいても、すべての薬剤で正確さ 85 ~ 115 % 以内、並行および室内精度 %RSD 15 % 以下の良好な結果を得ました。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：CLAM-2030、LCMS-8060



Dexamethasoneの検量線と定量下限（1 ng/mL）におけるMRMクロマトグラム

ヒト血漿中Favipiravirの分析


[Application >](#)

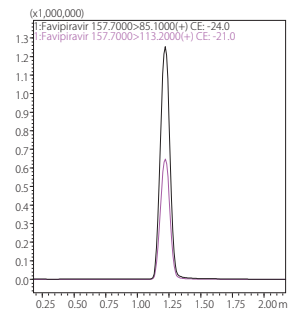
Favipiravir（商品：アビガン®）は、抗インフルエンザ薬であるRNAポリメラーゼ阻害剤の1種です。手動による血漿検体の前処理には一定の作業負担を伴うため、検体数の増加に伴う作業負担、人為的に生じるデータの差異、検体の取り違えに加えて、検体への暴露リスクを伴います。これらのリスクを低減できる全自動前処理LC-MS/MSシステムによるFavipiravirの分析法を紹介します。



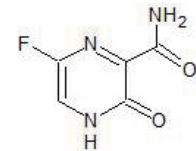
- 全自動前処理LC-MS/MSシステムでは、血漿を分離した採血管を直接システムにセットするだけで必要な前処理を全自動で実施可能です。
- LC-MS/MSによる分析と次の試料の前処理を並行して実行するため、分析に要する時間を短縮することが可能で、1試料あたり6.5分のサイクルタイムで行いました。

Favipiravirを血漿に添加し、全自動LC-MS前処理装置およびLC-MS/MSからなる全自動前処理LC-MS/MSシステムによる分析系を構築しました。検量線を作成したところ、1~100 μ/mLで良好な直線性を得ました。QCサンプルを用いて併行精度および日差再現性を評価したところ、良好な正確さおよび再現性を得ました。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：CLAM-2030、LCMS-8060



Favipiravir
Formula : C₅H₄FN₃O₂



FavipiravirのMSクロマトグラムおよび構造式

ヒト血漿中Remdesivirおよび代謝物の一斉分析


[Application >](#)

Remdesivir（販売名：ベクルリー®）はエボラ出血熱の治療薬であり、一本鎖RNAウイルスに対して抗ウイルス活性を示すプロドラッグであり、生体内で活性型のGS-441524へ代謝されます。薬物の用手前処理法による血漿検体の前処理には一定の作業負担を伴うため、検体数の増加に伴う作業負担、人為的に生じるデータの差異、検体の取り違えに加えて検体への暴露リスクを伴います。これらのリスクを低減できる全自動前処理LC-MS/MSシステムによるRemdesivirの分析法を紹介します。



- 全自動前処理LC-MS/MSシステムでは、血漿を分離した採血管を直接システムにセットするだけで必要な前処理を全自動で実施可能です。
- LC-MS/MSによる分析と次の試料の前処理を並行して実行するため、分析に要する時間を短縮することが可能で、1試料あたり7分のサイクルタイムで行いました。

Remdesivirとその代謝物であるGS-441524を血漿に添加し、全自動前処理LC-MS/MSシステムによる分析系を構築しました。QCサンプルを用いて併行精度および日差再現性を評価したところ、良好な正確さおよび再現性を得ました。

- 試料：ヒト血漿
- 分析装置：CLAM-2030、LCMS-8060

血漿中 Remdesivir、GS-441524 分析の併行精度

Compounds	QC Sample	Spiked Conc. (ng/mL)	Intra-Assay (n=6)		
			Average Conc. (ng/mL)	Precision %RSD	Accuracy %
Remdesivir	LLOQ	100	90.5	2.0	91
	Low	750	797	1.7	106
	Medium	1000	1045	0.9	105
	High	3750	3393	2.0	91
GS-441524	LLOQ	5	4.51	3.1	90
	Low	37.5	33.2	2.5	89
	Medium	50	45.2	2.3	90
	High	187.5	171.7	3.6	92

血漿中のミコフェノール酸および代謝物の分析


[Application >](#)

LC-MS/MSによる生体試料中の薬物分析では、固相抽出や液-液抽出といった抽出操作を伴うケースがあり、試料濃縮や適切な溶媒による再調製といった煩雑な作業を伴います。自動化により分析の効率化、取得データの安定化が期待されます。血漿中のミコフェノール酸 (MPA) およびグルクロン酸抱合体 (MPA-G) について、全自動LC-MS前処理装置およびLC-MS/MSからなる全自動前処理LC-MS/MSシステムを用いて、多検体の高感度かつ全自動分析を実現した研究成果を紹介します。



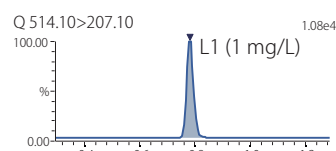
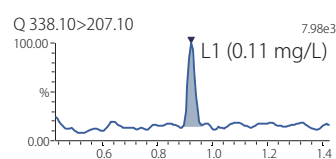
- 血漿中のMPAおよびMPA-Gには、LC-MS/MS用免疫抑制剤 (ミコフェノール酸) 分析キット DOSIMYCOが使用可能です。
- 全自動LC-MS前処理装置により、血漿試料は抽出、除たんぱく、フィルターろ過の工程を自動で実施し、LC-MS/MSにより分析が可能です。

全自動前処理LC-MS/MSシステムおよびDOSIMYCOを用いたミコフェノール酸および代謝物分析では、人為的誤差、ミスは排除でき、多数検体の連続測定において良好な正確さおよび精度が期待できることが示唆されました。

■ 試料：ヒト血漿

■ 分析装置：CLAM-2000、LCMS-8045

LC-MS/MS用
免疫抑制剤(ミコフェノール酸) 分析キット
DOSIMYCO



ミコフェノール酸 (上段) およびグルクロン酸抱合体 (下段) の MRMクロマトグラム

抗凝固剤の分析


[Application >](#)

直接経口抗凝固薬／新規経口抗凝固薬 (Direct / Novel Oral Anticoagulants; DOACs / NOACs) は、ワルファリンなどのビタミン K 拮抗薬の代替療法として血栓塞栓症の治療や予防に用いられます。DOACs / NOACs 5 種 (ダビガトラン、リバーロキサバン、アピキサバン、エドキサバンおよびベトリキサバン) を含む抗凝固剤 9 種について、全自動LC-MS前処理装置および高速液体クロマトグラフ質量分析計からなる全自動前処理LC-MS/MSシステムを用いた測定に関する事例を紹介します。



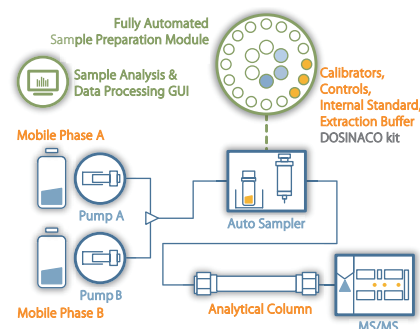
- LC-MS/MS用抗凝固剤分析キット DOSINACO により、9種の抗凝固剤の分析が容易に実施可能です。キットには検量線試料およびコントロール試料に加え、各々の安定同位体ラベル化体を含み、分析結果の信頼性向上に寄与します。

DOSINACO付属の検量線試料および既知濃度のコントロール試料を用いて、全自動前処理 LC-MS/MS システムによる測定系の評価を行いました。検量線範囲 (NOACs 10 ~ 500 µg/L、ワルファリン 100 ~ 5,000 µg/L) にて、寄与率 $r^2 > 0.99$ となりました。コントロール試料の再現 (N=3) は、いずれも 15 % 以下と良好でした。

■ 試料：ヒト血漿

■ 分析装置：CLAM-2000、LCMS-8045

LC-MS/MS用 抗凝固剤分析キット
DOSINACO



全自動 LC-MS 前処理装置および LC-MS/MS による DOSINACO 分析の模式図

腸内細菌のLipid Aの構造推定


[Application >](#)

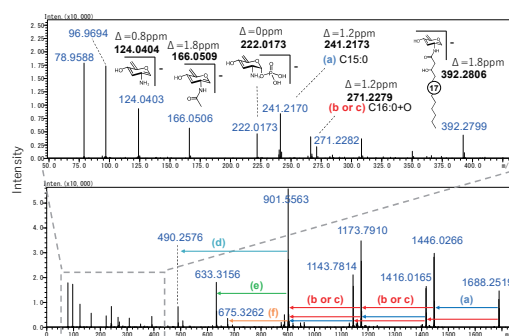
四重極飛行時間型高分解能質量分析計を利用して、微生物の産生する天然物の構造推定を行った事例を紹介します。グラム陰性細菌が細胞表面に持つLipid Aは、ヒトなどの宿主に免疫応答を引き起こす生理活性物質です。我々の腸内に共生する腸内細菌 *Bacteroides fragilis* もLipid Aを持っていることが分かっていますが、その構造は詳細に調べられていませんでした。本研究では、高分解能質量分析計の精密質量と安定性を活かして、*B. fragilis* のLipid Aの構造推定を行いました。高分解能質量分析計が自然界にある有用な天然物の発見と構造推定の迅速化に寄与していくと期待されます。



- 液体クロマトグラフー四重極飛行時間型質量分析計 (LC-Q-TOF/MS) を用いて、*B. fragilis* のLipid Aを分析し、構造推定を行うことが可能です。
- プロダクトイオンの帰属による詳細な講座宇迦遺跡から、宿主と細菌の相互作用を理解する上で各細菌ごとのLipid Aの構造を詳細に明らかにすることが可能と考えられます。

腸内細菌の1種 *B. fragilis* のLipid AをLC-Q-TOF/MSを用いて分析し、その構造を推定することに成功しました。Lipid Aの構造推定にLCMS-9030から得られた精密質量情報が大いに役立ちました。本解析では理論 m/z と実測 m/z の差が中～高 m/z 域で1 ppm未満、低 m/z 域でも2 ppm未満と精密質量の真度、精度ともに質の高いデータを取得することができたため、推定構造の候補を効率的に絞り込むことができました。このような精密質量安定性の高い質量分析計は、新規化合物や生理活性物質の発見や同定、およびスループット向上に寄与すると期待されます。

- 試料：培養細菌
- 分析装置：LCMS-9030



m/z 1688.251 をプリカーサーイオンとしたときのプロダクトイオンスペクトルと対応するイオンの構造の一例

血中薬物の定性 / 定量分析


[Application >](#)

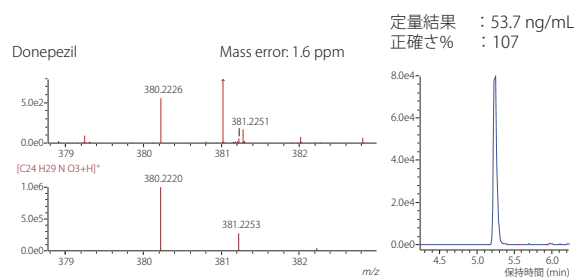
四重極飛行時間型質量分析計 LCMS-9030を用いた探針エレクトロスプレーイオン化キットDPiMS QTとの組み合わせによる定性と、超高速液体クロマトグラフ Nexera X3との組み合わせによる定量フローを紹介します。1台のLCMS-9030に対して、DPiMS QTとNexeraを併用することで、薬剤の高速定性スクリーニングから定量分析を迅速に実施することができます。定量分析を要する検体数を削減することで、測定の効率化と分析に必要な資源の削減が可能です。



- DPiMS QTによる定性スクリーニングは前処理時間約5分、測定時間約0.5分で実施できます。
- 簡単に超高速液体クロマトグラフ Nexeraへの切り換えが可能です。
- 一度データを取得することで、サンプルを保管することなく、後から対象化合物の拡張が可能です。

ヒト全血に添加した7成分の薬物を対象に、LCMS-9030とDPiMS QTによる高速定性スクリーニングおよびNexeraへの切り換えによる定量分析を行いました。Nexeraによる定量分析では、すべての成分において1～100 ng/mLの範囲で直線性が得られ、全血添加試料の定量結果の正確さは100 ± 15%以内と良好な結果が得られました。

- 試料：ヒト全血
- 分析装置：LCMS-9030、DPiMS QT、Nexera X3



ヒト全血添加試料のMSスペクトルおよびクロマトグラム

血中薬物のスクリーニング


[Application >](#)

ヒト全血中の薬物のスクリーニングを目的とした、探針エレクトロスプレーイオン化キット DPiMS QTと四重極飛行時間型質量分析計 LCMS-9030を組み合わせた新しい分析手法を紹介します。DPiMS QTでは、探針エレクトロスプレーイオン化法（Probe Electro-Spray Ionization：PESI）を採用しており、前処理から分析にかかる時間を最小限に抑えた直接分析が可能です。また、新規開発の測定手法 iDIA を使用することで、イオン化された全成分について、網羅的にMS/MSスペクトルを取得することができます。



- 簡便な前処理で生体試料中の薬物スクリーニングが可能です。
- カラムによる分離が不要です。網羅的な定性分析を測定時間 3 分で行えます。
- iDIA により、夾雑成分の影響を抑制し、かつ、網羅的な MS/MS スペクトル取得が可能です。

DPiMS QTとLCMS-9030を組み合わせて、サンプル中のイオン化した成分すべてのMS/MSスペクトルを網羅的に取得する測定法 iDIAを開発しました。ヒト全血に添加した17成分の薬物に対してスクリーニングを行った結果、ライブラリスコア 84-100 と非常に良好な結果を得ました。

■ 試料：ヒト全血

■ 分析装置：LCMS-9030、DPiMS QT

四重極飛行時間型
高速液体クロマトグラフ質量分析計
LCMS-9030



探針エレクトロスプレーイオン化キット
DPiMS QT



ヒト全血中薬物（500 ng/mL）のライブラリスコア

#	Compounds	Formula	[M+H] ⁺	Library Score
1	7-Aminonitrazepam	C15H13N3O	252.1132	97
2	Aconitine	C34H47NO11	646.3222	100
3	Blonanserin	C23H30FN3	368.2497	95
4	Carbamazepine	C15H12N2O	237.1023	84
5	Clotiazepam	C16H15ClN2O5	319.0667	95
6	Colchicine	C22H25NO6	400.1755	100
7	Dextromethorphan	C18H25NO	272.2009	100
8	Donepezil	C24H29NO3	380.2221	100
9	Dosulepin	C19H21NS	296.1468	87
10	Escitalopram	C20H21FN2O	325.1711	95
11	Lidocaine	C14H22N2O	235.1805	94
12	Methylphenidate	C14H19NO2	234.1489	97
13	Mosapramine	C28H35ClN4O	479.2572	98
14	Propericiazine	C21H23N3O5	366.1635	96
15	Temazepam	C16H13ClN2O2	301.0739	99
16	Trazodone	C19H22ClN5O	372.1586	96
17	Zolpidem	C19H21N3O	308.1758	96

IonFocus、MSW²、Nexera、CLAM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。
アピガンは、富士フイルム富山化学株式会社の登録商標です。
ベクルリーは、Gilead Sciences Ireland UC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

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

関西支社 (06) 4797-7230
札幌支店 (011) 700-6605
東北支店 (022) 221-6231
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
北関東支店 (官公庁・大学担当) (048) 646-0095
(会社担当) (048) 646-0081

横浜支店 (官公庁・大学担当) (045) 311-4106
(会社担当) (045) 311-4615
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
京都支店 (官公庁・大学担当) (075) 823-1604
(会社担当) (075) 823-1603

神戸支店 (078) 331-9665
岡山営業所 (086) 221-2511
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

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