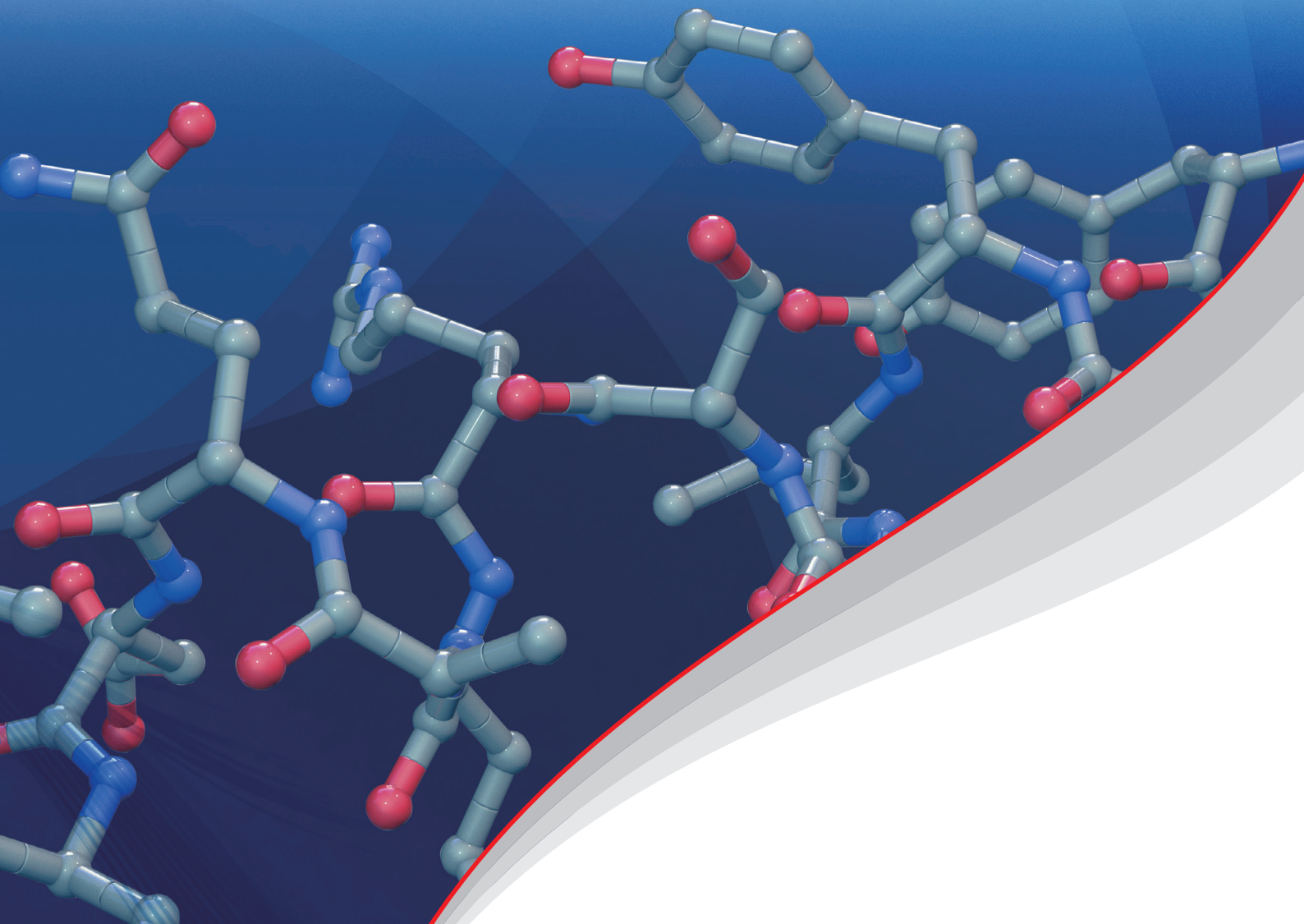
SHIMADZU
Excellence in Science

C10G-0209

ペプチド医薬ソリューション

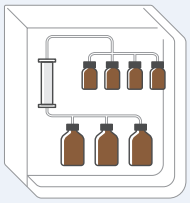


ペプチド医薬品の合成・精製・解析過程における分析機器の活用

ラボスケール

ペプチドの合成

ペプチド合成



粗精製



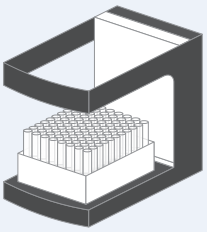
粗精製品の分子量確認

- MALDI-MS
- LC-MS（SQ）

フィードバック 合成条件の最適化

ペプチドの精製

精製



- Prep LC



Nexera Prep

回収物中の目的物の純度確認 分子量確認

- HPLC
- LC-MS(SQ)
- MALDI-MS

フィードバック 精製条件の最適化

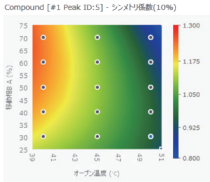
特性解析・

目的物および不純物の分離条件最適化

- HPLC•LabSolutions MD
- LC-MS（SQ）



Nexera＆LCMS-2050



LabSolutions MD

目的物および不純物の分子量確認

- LC-MS（Q-TOF•SQ）
- MALDI-MS



MALDI-8030



Nexera X4



LCMS-2050

LabSolutions向け波形処理ソフトウェア
Peakintelligence for LC & LCMS

AQbD対応分析法開発支援ソフトウェア
LabSolutions MD

冊子をご覧のお客様へ
本誌に掲載のアプリケーション、製品情報の詳細は、PDF をダウンロードのうえ、ご参照ください。

ペプチド医薬ソリューション PDF >

ペプチド医薬
分析例のご紹介 >

製造プロセス　分析項目

スケールアップ

分析法開発

目的物の配列解析

- プロテインシーケンサ



PPSQ-51A/53A

定量とスペクトル確認

- UV



UV-1900i Plus

新規分析法の開発

実験的極性 表面積の測定

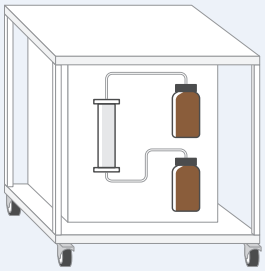
- 超臨界流体クロマトグラフィー SFC



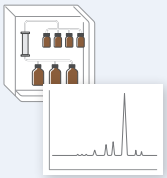
Nexera UC

合成・粗精製・精製

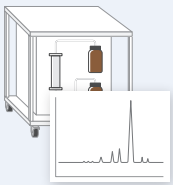
ペプチド合成・精製



スケールアップ前



スケールアップ後



スケールアップ前後での相関性を評価

粗精製品の分子量確認

- MALDI-MS
- LC-MS(SQ)

回収物中の目的物・不純物の分子量確認、配列解析

- LC-MS(Q-TOF・SQ)
- MALDI-MS

薬物動態

- LC-MS(TQ)



LCMS-8060RX

GC/MS & LC/MS用 多検体定量支援ソフトウェア
LabSolutions Insight

品質管理

残留溶媒分析

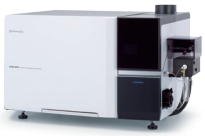
- GC



Brevis GC-2050

元素不純物分析

- ICP-MS



ICPMS-2050

カウンターイオンの定量

- イオンクロマトグラフィー



Nexera IC

高速液体クロマトグラフを用いたセマグルチド注射剤中のセマグルチドおよび保存剤の定量

Application

benefits

- 高速液体クロマトグラフにより、1 回の試料注入でセマグルチド注射剤中の有効成分と保存剤（フェノール）を同時に定量できます。
- 本方法は優れた再現性を示し、操作も簡単です。

■ 測定方法と結果

試料	①セマグルチド標準品およびフェノール標準品の混合液 ②セマグルチド注射剤
濃度、量	5 µL。濃度は表 1 に示します。
前処理	①フェノールは 5.5 mg/mL、セマグルチドは 1.22 mg/mL に調整後、各々を表 1 に示す濃度に水で希釈しました。 ②水で 50 倍に希釈しました。
測定条件	表 1 中の S1 について、クロマトグラムの取得、および 6 回の繰り返し測定による再現性確認を行いました。さらに S1 ～ S6 を用いて検量線を作成しました。その後、セマグルチド注射剤を分析し、セマグルチドおよび保存剤であるフェノールを定量しました。LC の分析条件は表 2、グラジエントプログラムは表 3 に示します。
結果	表 1 中の S1 についてクロマトグラムを取得した結果、フェノールの保持時間は 4.644 分、セマグルチドの保持時間は 9.212 分でした（図 1）。また S1 で 6 回の繰り返し測定を行った結果、保持時間の RSD はフェノール 0.08%、セマグルチド 0.05% であり、ピーク面積の RSD は各々 0.15%、0.69% と良好な装置再現性を得ました（図 2）。 表 1 中の S1 ～ S6 について検量線を作成した結果、相関係数はフェノール 0.9993、セマグルチド 0.9994 であり、正確さは各々 91.5 ～ 105.1%、90.2 ～ 105.2% と良好な結果を得ました（図 3）。 前処理したセマグルチド注射剤を分析した結果、セマグルチドは 1.41 mg/L、フェノールは 5.76 mg/L でした。セマグルチドを 1.22 mg/L、フェノールを 5.50 mg/L 添加した結果、回収率は各々 100.7%、112.7% でした（図 4）。

表 1　セマグルチドおよびフェノールの混合標準溶液の濃度 (µg/mL)

セマグルチドおよびフェノールの混合標準溶液						
サンプル番号	S1	S2	S3	S4	S5	S6
セマグルチド	6.09	12.18	24.36	60.9	121.8	243.6
フェノール	27.5	55	110	275	550	1100

表 2　分析条件

[HPLC condition] (Nexera X3)	
Column	Shim-pack GIST C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 2 µm)
Flow rate	0.3 mL/min
Column temp.	35℃
Mobile phase	〈A〉 0.1% trifluoroacetic acid in water 〈B〉 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile
Detection Wavelength	280 nm
Injection volume	5 µL
Gradient	B.Conc. Start with 20 % Mobile Phase B and see Table 3 for the time program.

表 3　グラジエントプログラム

時間	モジュール	コマンド	量
2.00	ポンプ	B.Conc	20
10.00	ポンプ	B.Conc	70
10.10	ポンプ	B.Conc	90
12.00	ポンプ	B.Conc	90
12.10	ポンプ	B.Conc	20
16.00	コントローラー	ストップ	

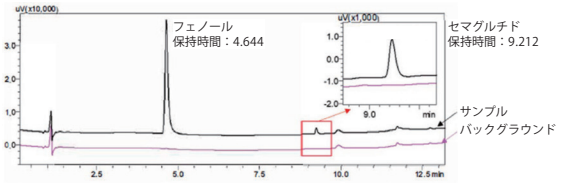


図 1　表 1 中の S1 のクロマトグラム

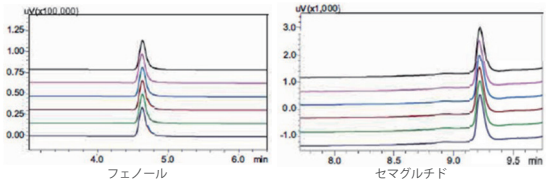


図 2　S1 の 6 回分析におけるフェノールおよびセマグルチドのクロマトグラム

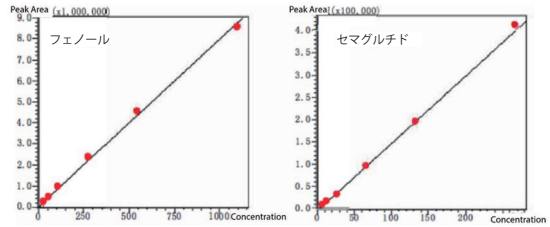


図 3　フェノールおよびセマグルチドの検量線

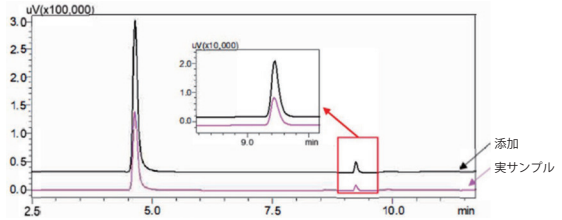


図 4　実際のサンプルおよび添加サンプルのクロマトグラム

■ まとめ

セマグルチド注射剤中の主成分セマグルチドおよび保存剤であるフェノールを定量するHPLC法をご紹介しました。HPLC法は高い正確さ、優れた再現性、および簡便な操作性を有しており、セマグルチド注射剤のルーチン品質管理に適しています。

超高速液体クロマトグラフ

Nexera X4

Product

■製品の特長

Nexera X4は、Nexera X3の後継機であり、島津製作所のNexeraシリーズで培われた技術を継承した、次世代超高速液体クロマトグラフ（UHPLC）システムです。業界最高レベルの低拡散設計により、シャープなピークとこれまでにない高い分離性能を実現します。また、最先端の流体制御技術により、超高圧下での高速分析においても抜群の送液安定性を発揮し、常に信頼性の高い結果を提供します。

UHPLCのハイエンド機種であるNexera X4は、最高レベルのパフォーマンスを求めるすべてのラボに、新たな価値をもたらします。

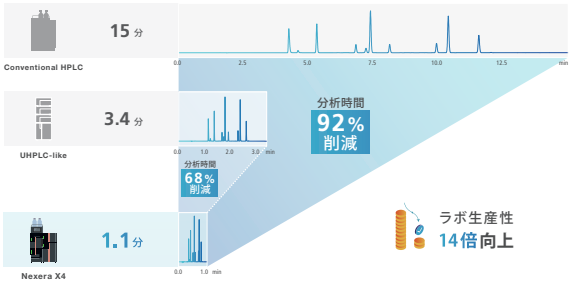


低拡散設計でカラム性能を最大限に発揮

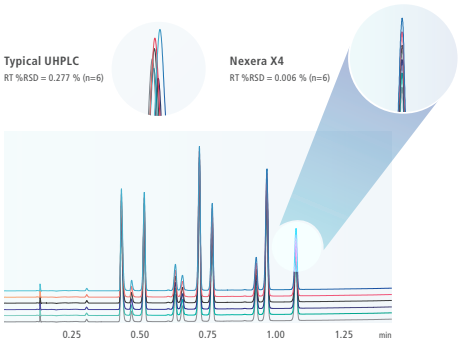
Nexera X4は、Nexflowテクノロジーによりシステム由来のピーク拡散を抑え、優れたクロマトグラフィー分離を実現します。カラム外拡散を最小限に抑えることで、UHPLCカラム本来の性能を引き出し、特に保持の弱い成分やアイソクラティック分析でも高い分離性能を発揮します。

超高速分析で生産性を向上

独立 4 駆動プランジャーと圧力フィードバック機構により、優れた送液応答性を実現。超高速グラジエント分析でも高い保持時間再現性を維持し、分析時間を大幅に短縮します。従来の分析品質を保ちながら処理能力を高め、ラボ全体の生産性向上に貢献します。



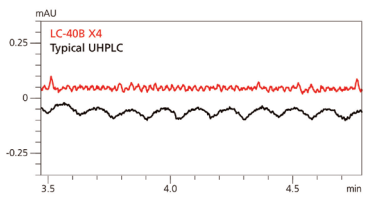
一般的なHPLCシステムでの分析を既存UHPLC-likeシステムおよびNexera X4で分析した際の分析時間比較



医薬品混合試料の繰り返し分析(N = 6)による重ね合わせクロマトグラム

脈動を低減する先進的な送液アルゴリズム

Nexera X4の送液ユニットであるLC-40B X4は、独立 4 駆動プランジャーと圧力フィードバック機構を新たに搭載したバイナリーグラジエントポンプです。各プランジャーの動作を独立させ、移動相の吐出・吸引タイミングを最適化し、ポンプ由来の脈動を大幅に低減しました。一般に、B 溶液濃度が極めて低い領域やシャローグラジエントにおいて保持時間が変動しやすいことが知られていますが、LC-40BX4により優れた再現性を実現します。



LC-40B X4によるベースライン変動の低減

質量分析計の性能を引き出す最適なパートナー

Nexera X4は、MS専用配管キット Nexflow tubing for MSにより、カラム出口からMSインターフェースまでのピーク拡散を低減します。LCMS-8060シリーズと組み合わせることで、超高速分析と高感度・高信頼性を両立し、薬物動態研究など多数検体を扱う高スループット分析を効率化します。



Nexera X4
LCMS-2050

シングル四重極質量分析計を用いたペプチドの合成確認と不純物の分析

Application

benefits

- HPLCにシングル四重極質量分析計を組み合わせることで、既知化合物の確認や未知不純物の簡易的な分子量推定が可能です。
- LCMS-2050はメンテナンスが容易な設計のため、装置のダウンタイム、メンテナンス労力・時間の削減に貢献します。

■ 測定方法と結果

試料	①市販環状ペプチド標準品 Somatostatin ② ACTH1-17 fragment
濃度、量	① 0.1 mg/mL、5 µL ② 2 mg/mL、10 µL
前処理	上記の濃度に超純水で希釈しました。
移動相	移動相の違いによる結果を比較するため、トリフルオロ酢酸（TFA）およびぎ酸の 2 種を用いました。
測定条件	上記 2 種の移動相でクロマトグラム取得、さらにTFA移動相でMSによるスキャン分析および多価イオン解析を行いました。LCおよびMSの分析条件は表 1 に示します。
結果	2 種の試料に対し 2 種の移動相でクロマトグラムを取得した結果、Somatostatinについては両移動相で比較的良好なピーク形状を得られた一方で、ACTH1-17 fragmentについてはTFA条件で得られた不純物ピークがぎ酸条件ではピークのリーディングにより検出できませんでした（図 1）。この不純物ピーク（m/z 704.1）についてマススペクトルおよびマスクロマトグラムを取得すると、PDA検出器のクロマトグラムから得られた不純物ピークと一致する位置にピークが確認されました（図 2）。 さらに、TFA 条件で両試料についてスキャン分析を行うと各々多価のプロトン化分子に帰属されるイオンが検出され（図 3）、その結果に対し多価イオン解析を行うと分子量は各々Somatostatinは1637.6（理論分子量：1637.88）、ACTH1-17 fragmentは2093.4（理論分子量：2093.41）と理論分子量と相違ない結果が得られました（図 4）。 TFA を含む移動相を使用すると、移動相を変えた後もシステム内に TFA が残留し、その後の分析に影響を及ぼす場合があります。この影響を低減するためには、洗浄などのメンテナンスが必要です。LCMS-2050はメンテナンスが容易な設計のため、装置のダウンタイム、メンテナンス労力・時間の削減に貢献します。右ページにおいてご紹介いたします。

表 1　分析条件

[HPLC condition] (Nexera X3)	
Column	Shim-pack Scepter C18-120 (50 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 µm)
Flow rate	0.4 mL/min
Column temp.	40℃
Mobile phase	〈TFA〉 A) 0.1% TFA in H_2O、 B) 0.1% TFA in Acetonitrile 〈Formic acid〉 A) 0.1% Formic acid in H_2O、 B) 0.1% Formic acid in Acetonitrile
Gradient	B.Conc 10% (0.00-1.50 min) → 80% (5.00 min) → 10% (5.01-8.00 min)
[MS condition] (LCMS-2050)	
Ionization	ESI/APCI (DUIS), Positive mode
Mode	Scan (m/z 250-2000)
Nebulizing gas flow	2.0 L/min
Drying gas flow	5.0 L/min
Heating gas flow	7.0 L/min
DL temp	450℃
Desolvation temp	200℃
Interface voltage	+3.0 kV
Qarray voltage	+20 V

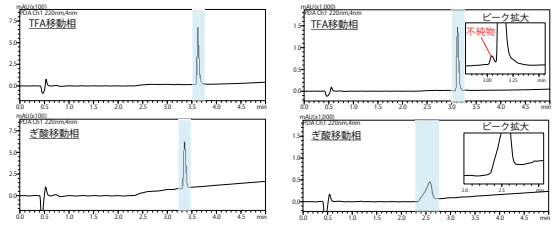


図 1　Somatostatin 標準溶液 0.1 mg/mL（5 µL 注入）のクロマトグラム（左）および ACTH1-17 fragment 標準溶液 2 mg/mL（10 µL 注入）のクロマトグラム（右）

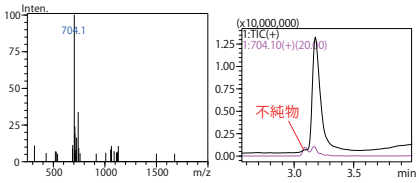


図 2　ACTH1-17 fragment 標準溶液 2 mg/mL（10 µL 注入）のクロマトグラム

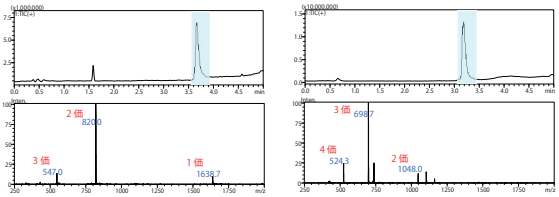


図 3　Somatostatin 標準溶液 0.1 mg/mL（5 µL 注入）の TIC とマススペクトルおよび ACTH1-17 fragment 2 mg/mL（10 µL 注入）の TIC とマススペクトル

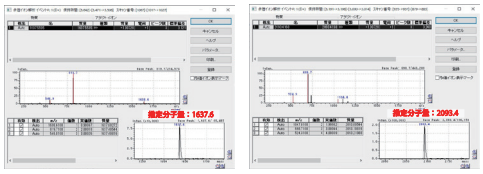


図 4　Somatostatin の多価イオン解析結果および ACTH1-17 fragment の多価イオン解析結果

■ まとめ

TFA を含む移動相条件で市販のペプチド標準品を分析し、多価イオンソフトウェアを用いた分子量確認および不純物のマススペクトル確認を実施しました。その結果、目的ペプチド由来の多価イオンピークが観測され、それらを利用した分子量計算では理論分子量と相違ない値が得られました。シングル四重極質量分析計 LCMS-2050 を用いてペプチドの分子量確認が簡便に実施できることが確認されました。TFA を含む移動相の使用後は、HPLC および MS の洗浄・メンテナンスが求められますが、LCMS-2050 はメンテナンスが容易な設計のため、装置のダウンタイム、メンテナンス労力・時間の削減が期待されます。

シングル四重極質量分析計

LCMS-2050

Product

■製品の特長

LCMS-2050は、LC検出器としての使いやすさとMSの優れた能力をかけあわせて「使いやすさ」「基本性能の高さ」「コンパクトさ」の全てを兼ね備えたシングル四重極質量分析計です。
ESI法とAPCI法、両方の特長を有するイオン化である加熱型DUISを標準搭載しています。対象化合物は低分子から高分子、低極性から高極性まで幅広く、LCMS-2050は様々な用途・分野にてお使いいただけます。



LCMS-2050

島津 LC システムとシームレスに接続可能

LCMS-2050をLCシステムの一部として組み入れていただくことができます。Nexera シリーズやi-Seriesといった既存HPLCシステムだけでなく、分取システムNexera Prepにも接続可能です。

簡単なパラメーター設定でLCと変わらない操作性

LCMS-2050ではPDA検出器と同じような簡単なパラメーター設定のみで分析可能です。LCを使っているときと変わらない操作感で、MSのデータ採取からデータ解析まで行うことができます。

光学検出器での結果に確度をプラス

LC/MSの特長は高感度・高選択性です。MS検出器は、一般的な光学検出器よりも高感度です。質量情報に基づいて化合物を同定するため、MS検出器は共溶出している成分や紫外可視領域に吸収をもたない成分を検出することができます。また、光学検出器で得られた情報に質量情報を追加することにより、検出されたピーク情報の確度を高めることができます。LCMS-2050は、LC検出器として LCシステムに追加することで、データの質を向上させます。

Mass-it（質量情報オーバーレイ表示機能）

LCの各種検出器とLCMS-2050を組み合わせて分析を実施した場合に、光学検出器で得られたクロマトグラムに質量情報を重ね書きする機能です。特に、成分の分離が困難な共溶出成分や紫外可視領域に吸収をもたない化合物を分析する場合に、質量情報を用いて化合物を分離、同定することができるため、有用な機能です。さらに Mass-it では質量の異なる複数成分が共溶出していることを示唆する機能があります。分離が困難な未知の不純物を見落とすリスクを低減できます。

メンテナンス性

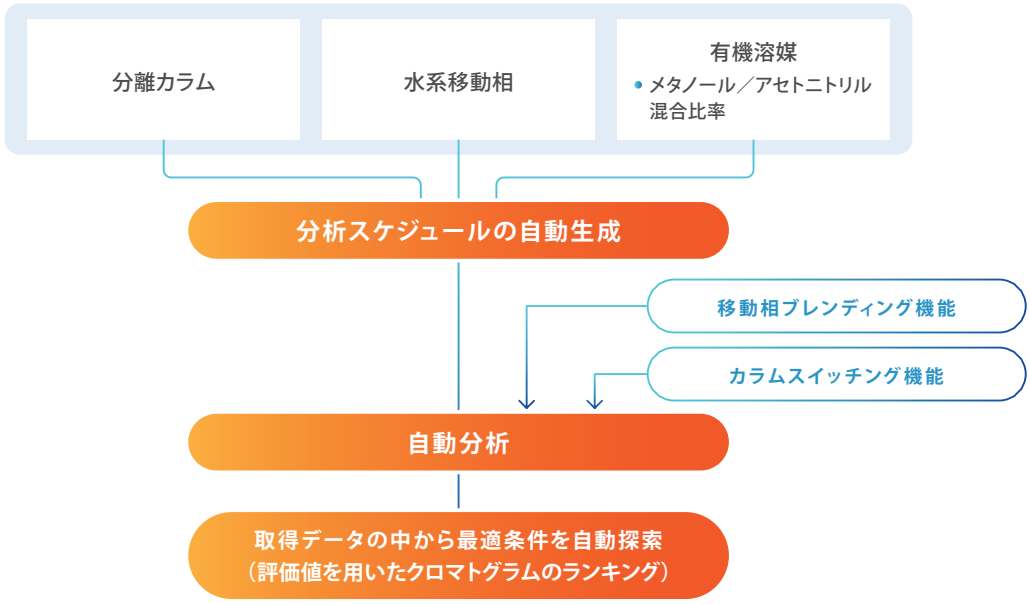
TFAを含む移動相を使用すると、移動相を切り替えた後もTFAがシステム内に残留し、TFA由来のイオン化によるバックグラウンドの上昇やイオン化抑制など、その後の分析に影響を及ぼすことがあります。TFA由来イオンの影響を低減・除去するには、HPLCでは流路を十分に洗浄し、必要に応じて接液部品を交換することが求められます。MS でも、部品交換に加えてイオン輸送部（レンズ系）の洗浄が必要です。
LCMS-2050は、インターフェイス周辺のメンテナンスを容易に行えるよう設計されています。試料を真空部へ導入する脱溶媒管（DL, Desolvation Line）は、工具不要で交換でき、交換時に真空を停止する必要もありません。また、イオン輸送部は装置前面から簡単に取り外すことができ、ビーカーに入れて超音波洗浄を行えます。
LCMS-2050は、装置のダウンタイムを抑えるとともに、メンテナンスにかかる労力と時間の削減に貢献します。



LabSolutions MD を用いた最適分離条件探索の効率化

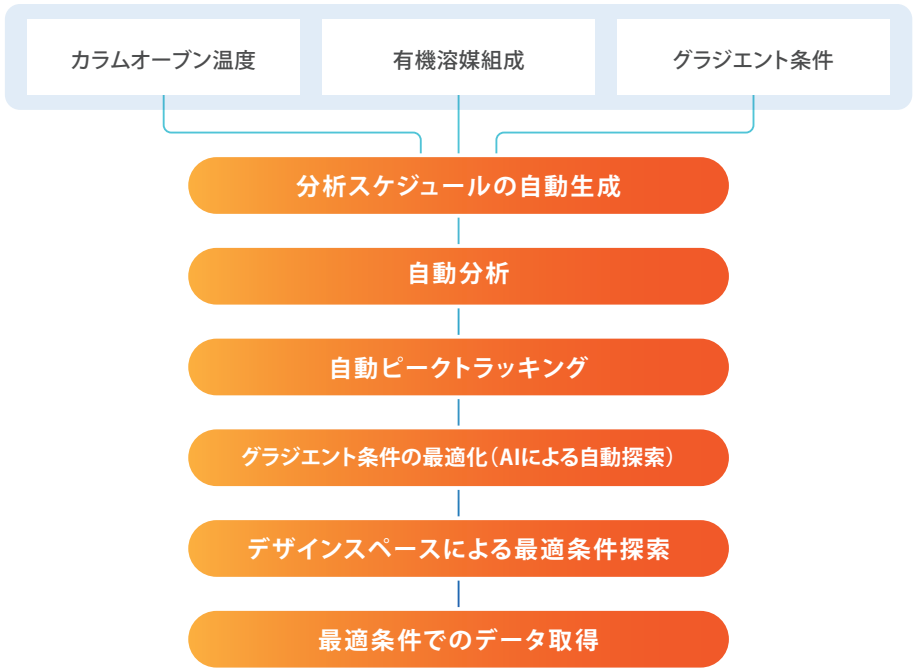
Step1 分析法の初期スクリーニング

検討するパラメーター（例）



Step2 分析法の最適化

検討するパラメーター（例）



AQbD対応分析法開発支援ソフトウェア

LabSolutions MD

Product

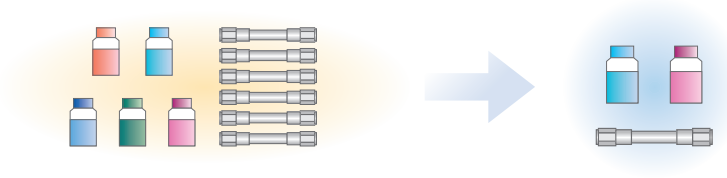
■製品の特長

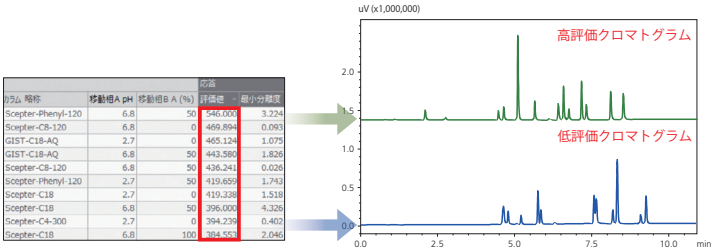
一連の分析法開発ワークフローの効率化を実現

LabSolutions MDは、科学的な根拠とリスクに基づき分析法を開発する"Analytical Quality by Design（AQbD）"アプローチに基づいた、効率的な分析法の開発を実現します。本ソフトウェアは、移動相やカラムといった各種パラメーターの設定を行い、実験計画法を用いた分析スケジュールを自動生成する分析機能、および、得られたデータに対するデザインスペースや予測クロマトグラムの描画を行う解析機能により、効率的に信頼性の高い分析法の開発を実現します。

Step1 分析法の初期スクリーニング

ピーク保持時間および分離に大きく影響を及ぼすパラメーターである、水系移動相のpH、有機系移動相の混合比率およびカラム種類等についてスクリーニングを実施します。膨大な数のデータから迅速に最適な分析条件を探します。

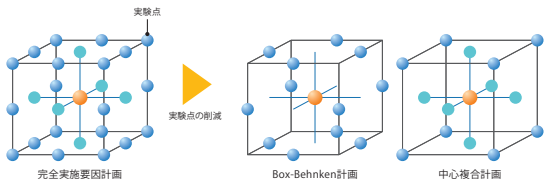




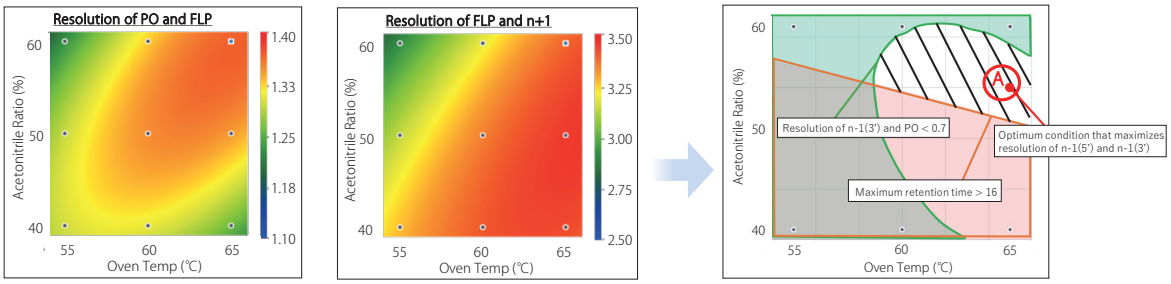
各分析条件および評価値による順位付け　　評価値が高いクロマトグラムと低いクロマトグラムの比較

Step2 分析法の最適化

初期スクリーニングの結果により設定された分析条件を起点として、ポンプのグラジエント条件やカラムオーブン温度等の各種パラメーターの最適な水準を検証します。
実験計画を用いた実験点数の削減が可能です。



因子と応答の関係をデザインスペースとして視覚的に描写することが可能です。



FLP及び各不純物の分離度のデザインスペース　　デザインスペースの重ね書きによる最適条件探索

Step3 頑健性評価

最適化された分析条件を小さい範囲で変動させた際に、測定値に与える影響が許容範囲内であることを確認します。

Nexera X4
LCMS-2050
LabSolutions MD

合成ペプチドの類縁物質試験法開発の効率化

Application

benefits

- ペプチドおよび関連不純物の最適分離条件探索の一連のワークフローを、LabSolutions MDにより効率化できます。
- 移動相およびカラム切換バルブを活用することで、複数種の移動相とカラムのスクリーニングを自動化できます。
- ペプチドおよび関連不純物の分子量をシングル四重極質量分析計LCMS-2050により推定し、正確にトラッキングできます。

■ 測定方法と結果 ー分析法の初期スクリーニングー

試料	Full length peptide（FLP）およびその関連不純物の計 6 種混合試料。各ペプチドの配列を表 1 に示します。
濃度、量	2 µL (FLP : 1000 mg/L、other impurities : 100 mg/L)
測定条件	上記混合試料に対して、LabSolutions MDを用いてカラム・移動相を自動スクリーニングしました。分析条件は表 2、候補カラム・移動相は表 3 に示します。また、LCMS-2050のデコンボリューションによる不純物の同定も実施しました。
結果	計 72 パターンの分析スケジュールを自動作成し（図 1）、スクリーニングした結果から、Scepter C8-120に対するスクリーニング結果のみ例として図 2 に示します。 さらに、ピーク検出数（P）と分離度（Rs）の総和の積から算出する評価値を用いて各スクリーニング結果をソートし、評価値の高い順に結果を表示しました（表 4）。

表 1　分析対象試料

名称	Sequence
FLP	AEKKDEGPYRMEHFRWGSPPKD
p.A1del	EKKDEGPYRMEHFRWGSPPKD
p.A1_E2del	KKDEGPYRMEHFRWGSPPKD
p.A1_K3del	KDEGPYRMEHFRWGSPPKD
p.A1_D5del	EGPYRMEHFRWGSPPKD
Met (O2)	AEKKDEGPYR{Met(O2)}EHFRWGSPPKD

表 2　分析条件

[HPLC condition] (Nexera X3)	
Column	Shown in Table 3.
Flow rate	0.5 mL/min
Temperature	40℃
Mobile phase	Shown in Table 3.
Time program (%B)	10% (0 min) → 60% (10 min) → 10% (10.01-15 min)
Detection	220 nm (SPD-M40, UHPLC cell)
[MS condition] (LCMS-2050)	
Ionization	ESI/APCI (DUIS), Positive mode
Mode	Scan (m/z 300-2000)
Nebulizing gas flow	2.0 L/min (N_2)
Drying gas flow	5.0 L/min (N_2)
Heating gas flow	7.0 L/min (N_2)
DL temperature	200℃
Desolvation temperature	450℃
Interface voltage	+1.0 k V

表 3　初期スクリーニングの条件

Column	
Column 1	Shim-pack Scepter C18-120
Column 2	Shim-pack GISS C18
Column 3	Shim-pack Velox SP-C18
Column 4	Shim-pack Scepter C8-120
Column 5	Shim-pack Scepter Phenyl-120
Column 6	Shim-pack GIST-HP C18-AQ
Note	(100 mm × 3.0 mm I.D., 1.9 µm : column 1, 2, 4~6) (100 mm × 3.0 mm I.D., 1.8 µm : column 3)
Mobile phases	
Pump A – Line A	0.1% Trifluoroacetic acid（TFA）in water
– Line B	0.1% formic acid in water
– Line C	10 mmol/L ammonium formate (pH 4) in water
– Line D	10 mmol/L ammonium acetate (pH 5) in water
Pump B – Line A	Acetonitrile
– Line B	Methanol

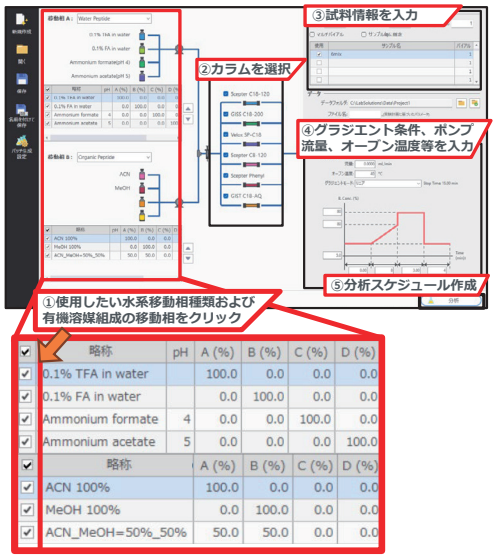


図 1　分析スケジュール作成画面

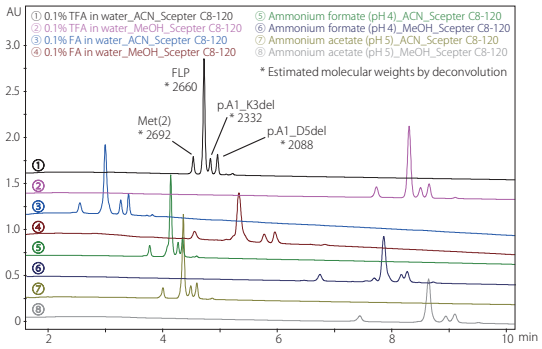


図 2　Scepter C8-120 に対するスクリーニング結果

表 4　各条件の評価値による順位付け
（評価値が高い順に上位 10 条件を表示）

移動相A 略称	移動相B 略称	カラム 略称	評価値
0.1% FA in water	MeOH	Scepter-C8-120	26.889
Ammonium acetate (pH 5)	ACN_MeOH=50_50	Velox SP-C18	26.328
Ammonium formate (pH 4)	MeOH	Scepter-C8-120	26.073
Ammonium formate (pH 4)	ACN_MeOH=50_50	Scepter-C8-120	25.948
Ammonium formate (pH 4)	ACN_MeOH=50_50	Scepter C18-120	25.792
Ammonium formate (pH 4)	ACN_MeOH=50_50	Scepter Phenyl-120	25.575
Ammonium formate (pH 4)	ACN_MeOH=50_50	GIST-C18-AQ	25.502
Ammonium formate (pH 4)	MeOH	Scepter C18-120	25.318
Ammonium formate (pH 4)	ACN	Scepter-C8-120	24.890
Ammonium formate (pH 4)	ACN	Scepter Phenyl-120	24.860

■ 測定方法と結果 ー分析法の最適化ー

試料	同左
測定条件	左記の初期スクリーニング結果上位 3 条件について、カラムオーブン温度最適化を 40、50、60、70、80 ℃の 5 条件で実施しました。 さらに、グラジエント初期濃度・グラジエント時間・流量の最適化を実施しました。 最後に、頑健性の高い条件を探索するため、デザインスペースの重ね書きにより、任意のクライテリアを満たす条件の自動探索を行いました。
結果	計 15 パターンのスクリーニング結果から、例として図 3 を示します。 さらに、この 15 パターンを評価値でソートし、評価値の高い順に結果を表示し（表 5）、水系移動相は 0.1% ぎ酸水、有機系移動相はメタノール、カラムはScepter C8-120を用いた際に p.A1delとFLPの分離が最も良好となることが分かりました（図 3 中①のクロマトグラム）。 上記で得た温度条件に加えグラジエント条件を最適化し、さらにLCMS-2050により分子量をデコンボリューションしピークトラッキングしました（図 4）。 続いて、FLPと各不純物の分離度を複数デザインスペースにより視覚化しました（図 5）。これにより、最適な分析条件を取得できました。そのクロマトグラムを図 6 に示します。 LabSolutions MDにより、勘と経験に基づかず最適分離条件の探索が可能となります。

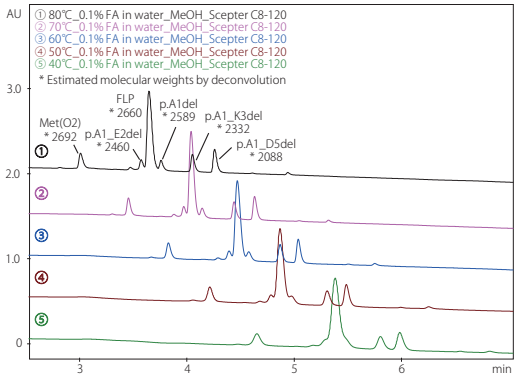


図 3　カラムオーブン温度を変動させたクロマトグラム
80℃（①）、70℃（②）、60℃（③）、50℃（④）、40℃（⑤）
（0.1% ぎ酸水 / MeOH / Scepter C8-120）

表 5　p.A1delとFLPの分離度が高い順に各条件を並び替えて表示

移動相A 略称	移動相B	カラム 略称	オーブン温度	分離度 (p.A1del)
0.1% FA in water	MeOH	Scepter-C8-120	80	1.492
0.1% FA in water	MeOH	Scepter-C8-120	70	1.396
0.1% FA in water	MeOH	Scepter-C8-120	60	1.238
Ammonium formate (pH 4)	MeOH	Scepter-C8-120	80	1.175
Ammonium formate (pH 4)	MeOH	Scepter-C8-120	70	1.172

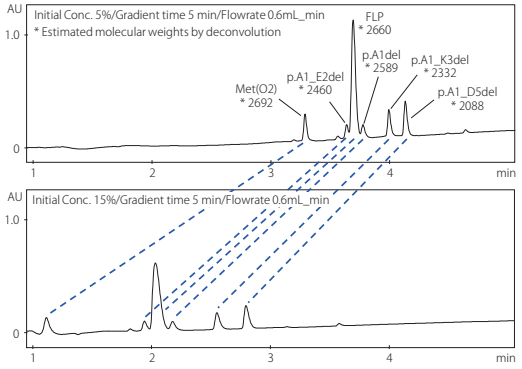


図 4　グラジエント時間 5 min、流量 0.6 mL/min 、
グラジエント初期濃度 5%（上）および 15%（下）の LC クロマトグラム
（点線は分子量による不純物のトラッキングを示す）

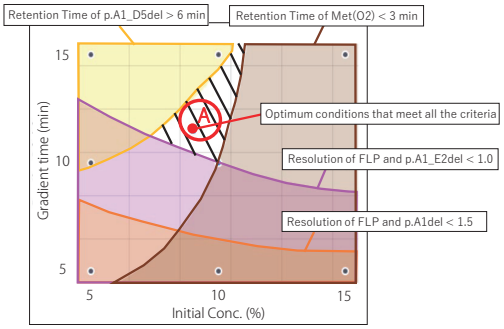


図 5　デザインスペースの重ね書きによる最適条件探索

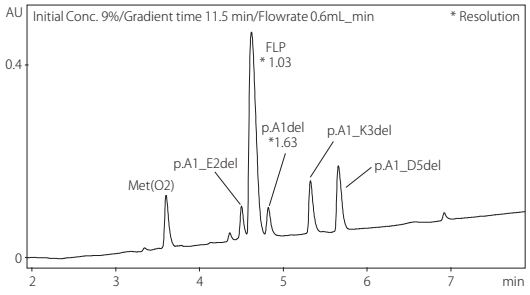


図 6　最適条件でのクロマトグラム
（水系移動相：0.1% ぎ酸水 / 有機系移動相：MeOH /
カラム：Scepter C8-120 / カラムオーブン温度：80℃）

■ まとめ

合成ペプチドの分析においては、移動相組成やカラムの種類、さらにはグラジエント条件、カラムオーブン温度、流量等の各種 LC パラメーターの変動により、各不純物の分離パターンが変化します。また、変化の挙動は合成ペプチドの鎖長、構成アミノ酸、修飾の有無等によっても異なるため、対象配列ごとに分離を最適化することが求められます。一方で、対象配列ごとに網羅的な分析を実施することや、得られた膨大なデータを解析し、最適条件を探索することは非常に手間がかかります。LabSolutions MDを用いることで、分析スケジュールの作成や移動相調製を自動化でき、また、解析面ではピークトラッキングの自動化やデザインスペースによる効率的な最適条件の探索が可能です。これにより、合成ペプチドの分析法開発の一連のワークフローの効率化を実現できます。本稿では、「スクリーニング」および「最適化」の各フェーズを通して合成ペプチドの最適分離条件探索を効率化した事例についてご紹介しましたが、LabSolutions MDは、AI アルゴリズムによりユーザーが任意に設定した分離度のクライテリアを満たすグラジエント条件の探索を自動化する機能も有しています。詳細はアプリケーションニュース「AI アルゴリズムによるグラジエント条件の自動最適化 – 合成ペプチドの不純物分析への適用 (No.01-00814)」をご参照ください。

GLP-1受容体作動薬セマグルチドの分離条件最適化と分取精製

Application

benefits

- LabSolutions MDのAIアルゴリズムにより、セマグルチドと不純物の分離条件を自動探索できます。
- LCMS-2050の分子量情報を用いたピークトラッキングにより、目的ピークを確実に追跡できます。
- 分析スケールから分取スケールへのメソッド移管を効率化し、計算・転記ミスを低減できます。
- MALDI-8030により、分取後フラクションの質量確認・純度確認を短時間で実施できます。

■ 測定方法と結果 ー分析　自動最適化ー

試料	未精製セマグルチド（セマグルチドと不純物を含む混合物）
濃度、量	1 mg/mL、5 µL
測定条件	上記試料に対して、表 1 に示す条件でLabSolutions MDを用いてグラジエント条件を自動最適化しました。 LabSolutions MDでセマグルチドを最適化対象のピークに指定し、最小分離度のクライテリアを 2.0 に設定しました。
結果	セマグルチドのマススペクトルを図 1 に示します。3 ～ 5 価の多価イオンが検出され、デコンボリューションによって分子量 4113 が算出されました。この結果、セマグルチドが分離最適化対象のピークと認識され、クライテリアを満たすグラジエント条件が自動で探索されました。 グラジエント条件の自動探索結果を図 2、3 に示します。初期分析の 5 条件ではセマグルチドと近傍不純物の分離が不十分でした。その後、自動最適化により補正分析を 3 回実施した結果、多段グラジエントのグラジエントプロファイルが自動生成され、分離度基準 Rs ＞ 2.0 を達成しました。

表 1　分析条件

[HPLC condition] (Nexera XR)	
Column	Shim-pack Scepter C18-120 (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 µm)
Flow rate	1.0 mL/min
Column temp.	25℃
Mobile phase	〈A〉 0.1% formic acid in water 〈B〉 0.1% formic acid in acetonitrile
Detection	280 nm
Criteria	Resolution > 2.0 (Semaglutide)
[MS condition] (LCMS-2050)	
Ionization	ESI/APCI (DUIS), Positive mode
Mode	Scan (m/z 200-2000)
Nebulizing gas flow	2.0 L/min
Drying gas flow	5.0 L/min
Heating gas flow	7.0 L/min
DL temp	200℃
Desolvation temp	450℃
Interface voltage	+1.0 kV

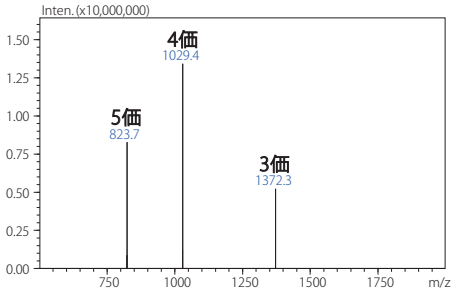


図 1　セマグルチドのマススペクトル

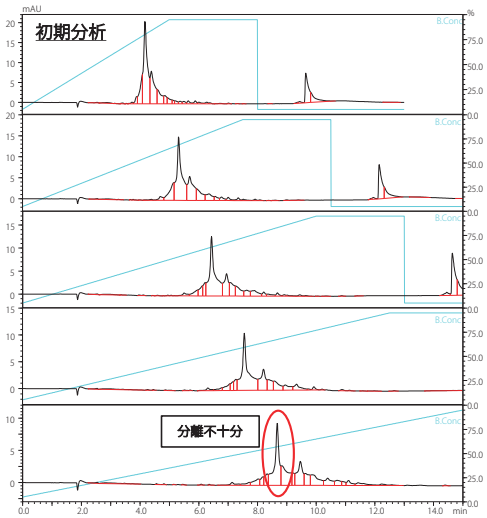


図 2　グラジエント条件の初期分析

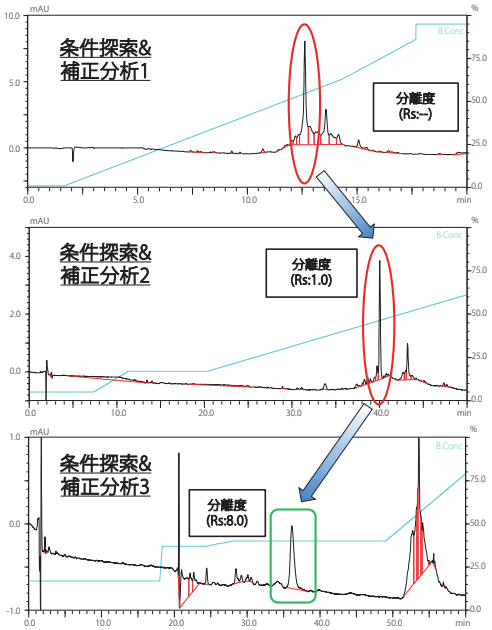


図 3　グラジエント条件の自動最適化結果

■ 測定方法と結果 ー分取精製ー

試料	同左
分取条件	分取カラム（内径 20 mm）と分析カラム（内径 4.6 mm）の断面積比（約 20 倍）に基づき、流量を 20 mL/min（線速度はスケールアップ前後で一定）にスケールアップしました。分取条件は表 2 に示します。
結果	分取スケールアップ後に得られた UV クロマトグラムを図 4 に示します（青い領域が分取領域）。 分析 LC から分取 LC へのスケールアップでは、パラメータ計算の手間や、計算結果をメソッドファイルへ転記する際のミスが懸念されます。LabSolutions MD は、これらの課題を解決するために、スケールアップ用の各種 LC パラメータを自動で計算し、反映したメソッドファイルを生成できます（図 5 の（1）～（4）のステップ）。 移行先のシステムを選択（図 5（1））、カラムサイズ（図 5（2））と流量（図 5（3））を入力するだけで、分取用のメソッドファイルが自動生成されます。

表 2　分取条件

[LC condition] (Nexera Prep)	
Column	Shim-pack Scepter C18-120 (150 mm × 20 mm I.D., 5 µm)
Sample concentration	5 mg/mL
Injection volume	1 mL
Flow rate (Prep)	20 mL/min
Flow rate (Make up)	1.5 mL/min (Methanol)
Detection	280 nm (UV, SPD-40, preparative cell)
[MS condition] (Nexera Prep)	
Desolvation temp	100℃

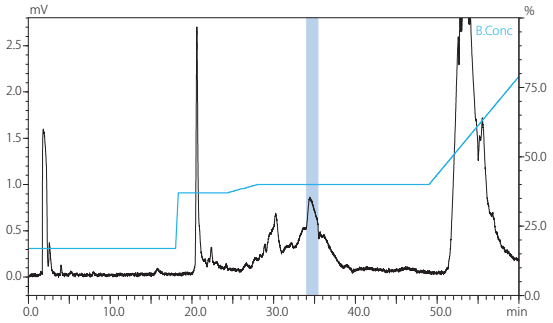


図 4　セマグルチドの分取クロマトグラム（図中青色が分取範囲）

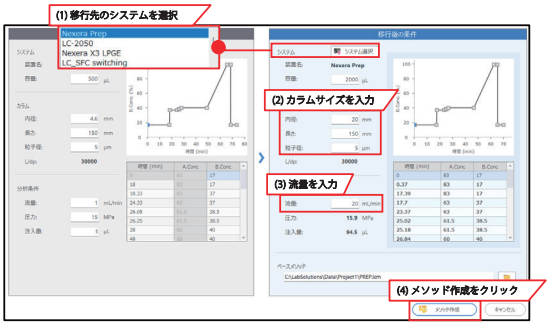


図 5　LabSolutions MD による分取用のメソッドファイル自動生成例

■ 測定方法と結果 ーフラクション分析ー

試料	分取したフラクション
分取条件	分取したフラクションの純度を、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計MALDI-8030を用いて確認しました。分析条件は表 3 に示します。 MALDIでは、簡便な前処理で質量分析を実施でき、1 サンプルあたりの測定時間はわずか数秒であり、複数のフラクションの純度確認を短時間で行えます。
結果	図 6 に未精製のセマグルチド、図 7 に分取後のフラクションのマススペクトルを示します。 未精製のセマグルチドでは、混在する夾雑物の影響でイオン化が抑制され、信頼性のある結果を得ることができませんでした。レーザーパワーを上げることでピークを検出しましたが、セマグルチドのプロトン付加体 $[M+H]^+$ とは異なる m/z のピークが確認されました。 一方、分取後のフラクションのマススペクトルでは、イオン化の抑制がなく、セマグルチドの $[M+H]^+$ の良好なマススペクトルを得ることができました。さらに、不純物由来のピークは検出されず、セマグルチドが高い純度で分取精製されたことを確認しました。

表 3　分析条件

[MALDI-TOF MS condition] (MALDI-8030)	
Matrix	5 mg/mL CHCA, 1% Methylenediphosphonic acid
Polarity	Positive-ion linear mode
Pulsed extraction	m/z 4100

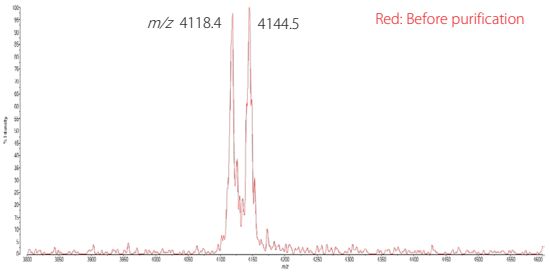


図 6　未精製サンプルのMALDIマススペクトル

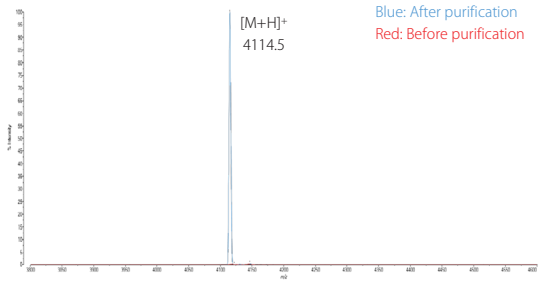


図 7　分取後フラクションのMALDIマススペクトル



Nexera Prep

■ まとめ

LabSolutions MDを用いることで、セマグルチドと近傍不純物の分離条件をAIにより自動探索し分離することが可能です。また、LCMS-2050の分子量情報を活用することで、UVクロマトグラム上で複数ピークが存在する場合でも目的ピークを確実に追跡できます。さらにLabSolutions MDのメソッド移管機能を活用することで、分析スケールから分取スケールへのスケールアップを簡便に実行できます。その後MALDI-8030を用いることで、分取後フラクション中のセマグルチドを短時間で確認でき、高純度に分取精製されたことを確認できます。本ワークフローは、ペプチド医薬品の分析法開発、分取精製、品質確認を効率化する有用な手法です。

分取精製液体クロマトグラフ
Nexera Prep

Product



■製品の特長

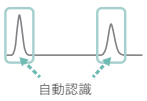
Nexera Prepはターゲット化合物を迅速かつ効率的に精製するために設計された、島津製作所の分取 LC システムです。このシステムは、分取や純度確認といった精製工程のワークフローを効率化します。Nexera Prepはシンプルなユーザーインターフェースを備えており、分画パラメータ、分析条件、レポートフォーマットなどを容易に設定可能です。

島津製作所は、マイクログラムスケールからグラムスケールの精製まで、ラボの規模に合わせた様々なスケールのNexera Prepシステムを提供しています。また本システムは、ラボのオープンアクセス化を支援するソフトウェア「Open Solution」にも対応しています。

分取条件の検討作業を省力化

Nexera PrepシステムはLabSolutionsによって制御されるため、他の分析 LC システムの操作感を保ちながら分取システムを利用できます。分画モードは 3 つあり、それぞれの分画モードは組み合わせて使用することができ、ニーズに合わせて目的成分を確実に分取可能です。自動ピーク認識による分画設定時には、クロマトグラムのノイズを成分ピークと判断して分画してしまい、フラクションコレクターにセットした試験管などの分画容器が足りなくなることがあります。Nexera Prepでは新開発のアルゴリズムがノイズと目的ピークを見分け、目的ピークのみを確実に分画します。
また、分画トリガーに複数の検出器を使用すると、設定が複雑になる場合があります。LabSolutionsでは、それぞれの検出器のクロマトグラムを一覧で表示し、各トリガーの判定を行うことができます。さらに、得られた判定結果を重ねて表示し、分画シミュレーションに活用することができます。

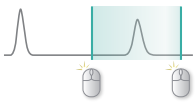
自動分画モード
自動分画パラメーターに従い、ピークを自動認識して分画を行います。保持時間が変動する際に適しています。



時間指定分画モード
あらかじめ回収する区間を時間指定して分画します。ルーチンの分取精製に適しています。

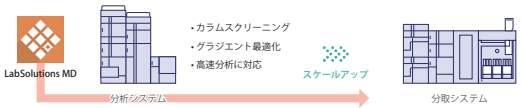


手動分画モード
分析画面を見ながら、分画開始ボタンをクリックすることによってピークを分画するモードです。



スケールアップのための分析条件検討を省力化

分取精製の条件を検討する際には、まず小規模な分析システムを用いて最適な移動相、カラム、グラジエント条件を見つけることが推奨されます。LabSolutions MDは、HPLCの分析法の開発を支援するソフトウェアで、分取精製における移動相の選択・カラムの選択・グラジエント条件の最適化・スケールアップ・分析スケジュールをAIによる自動化を駆使してサポートします。LabSolutions MD と Nexera Prep と組み合わせることで、分取精製およびスケールアップを省力化します。



様々なサポートを提供するシステム

効率化・省力化のための様々なシステムを提供します。

- **超高速分取トラップ精製システム Nexera UFPLC**
  分取・濃縮・精製・回収までの分取工程をオンライン自動化し、精製作業の省力化・作業時間の削減に貢献します。
- **Nexera Prep LC/MS 分取システム**
  UV シグナルだけでなく、質量分析計LCMS-2050のMSクロマトグラムのシグナルをトリガーに用いることができ、UV吸収のない成分や目的とする成分のみを選択的に分取することができます。
- **オープンアクセスソフトウェア Open Solution**
  分取精製の作業を効率化するだけでなく、複数ユーザーでの分取システムの運用をサポートします。
- **分取条件検討サポートソフトウェア Prep Solution**
  分取に特有のパラメーターの設定などに不慣れな方でも操作可能とし、さらに分取の実行中にクロマトグラムを見ながらパラメーターを変更することで分取条件を最適化できるシステムです。

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計

MALDI-8030/MALDI-8030 Easycare

Product

■製品の特長

MALDI-8030 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。オリゴ核酸、ペプチド、タンパク質、ポリマー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、イオン源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源クリーニング機能（TrueClean）を搭載しています。



- デュアル極性リニアモード（正負イオン）MALDI-TOF
- 200 Hz 固体レーザー、355 nm
- 迅速なサンプル導入のためのロードロックチャンバー
- UV レーザーによるイオン源クリーニング機能
- コンパクトな設置面積の卓上型
- 静かな運転音（< 55 dB）

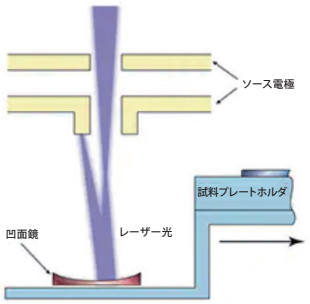
用途に応じて選択可能な試料プレート

スライドガラス型試料プレート FlexiMass シリーズは、ユーザーの実験フローに応じて異なるタイプのプレートを選択することが可能です。
ディスポーザブル型の FlexiMass-DS は、そのままの状態ですぐに使え、プレート洗浄の手間やキャリーオーバーのリスクがありません。ルーチン業務において簡便にお使いいただけます。再利用可能なステンレス製の FlexiMass-SR は、試料調製において消耗品の費用や、より長期間の使用を想定した場合に最適です。



自動イオン源クリーニング機能 TrueClean

大口径のイオン光学系は、長期間にわたりイオン源汚染のリスクを低減します。
装置性能を長期間維持することにより、堅牢性の高いプラットフォームを提供します。
また、稼働時間をさらに長くするために、装置の真空を落とすことなくイオン引出電極のクリーニングを行えるよう U V レーザーによる迅速な（<10 min）自動イオン源クリーニング機能 TrueClean を搭載しました。



高品質・低ランニングコスト

性能強化と長寿命化につながる部品の選択と構成部品数のスリム化を通じて、コンパクトな設置面積と優れたパフォーマンスの両立を可能とした信頼性と堅牢性の高いプラットフォームを作り上げました。また、シンプルな装置デザインは、保守部品の交換および日々のメンテナンスにかかるコストを低減し、長期にわたる分析の品質維持に貢献します。

データベースによる管理

MALDI-8030 は MALDI Solutions によって制御され、測定データに含まれるパラメーターや試料リストからなるすべての情報は、一元管理された堅牢な Microsoft SQL データベースに保存されます。このシステムは、装置管理者によりユーザーごとに異なる役割を与えることが可能で、データベースへのアクセスや装置の操作などの権限を管理できます。

PPSQ-51A/53A
MALDI-8030

MALDI-TOF MSおよびプロテインシーケンサによる合成ペプチドのアミノ酸配列解析

ーPTHおよびSomatostatinの全アミノ酸配列同定ー

Application

benefits

- MALDI-ISDにより、合成ペプチドのアミノ酸配列の同定が可能です。
- MALDI-TOF MSの分子量測定およびMALDI-ISDの結果とプロテインシーケンサの結果を補完的に組み合わせることで、ペプチドの構造に依存することなく、全アミノ酸配列を同定することができます。

■ 測定方法と結果

試料	① PTH（parathyroid hormone（1-34） SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLODVNF ②市販環状ペプチド標準品 Somatostatin（AGCKNFFWKTFTSC）
濃度、量	10 pmol/well
前処理	試料とマトリックス溶液をステンレス製のMALDIプレートにアプライし乾燥しました。
測定条件	①②を MALDI-8030 の正イオンモードで分析しました（表 1）。マトリックスとして分子量測定には CHCA、MALDI-ISDには 1,5-DANを使用し、試料とマトリックス溶液を MALDI プレートにアプライして乾燥後に測定しました。あわせて、PPSQ-50Aシリーズでエドマン分解によるアミノ酸配列分析を行いました。
結果	PTH では、プロテインシーケンサで 33 残基目までを決定することができました。PTH の分子量測定を行い、その分子量とPPSQから得られたアミノ酸配列結果の分子量差 147.2 から、C 末端である 34 残基目を Phe と推定できました。図 6 に PTH の MALDI-ISD マススペクトル、図 7 に同試料のアミノ酸配列結果を示します。図 8 には Somatostatin のアミノ酸配列結果を示します。プロテインシーケンサでは 12 残基目まで、MALDI-ISD では 9 ～ 14 残基目を決定しました。PPSQ では同定が困難な Cys の確認を MALDI-ISD では可能であり、ジスルフィド結合を分子内で持つ環状型ペプチドでも両手法を合わせることで全アミノ酸配列を同定できました。

表 1　分析条件

[MALDI-TOF MS condition] (MALDI-8030)	
Mode	Positive ion mode
Matrix for molecular weight measurement	α -Cyano-4-hydroxycinnamic Acid (CHCA)
Matrix for MALDI-ISD	1,5-Diaminonaphthalene (1,5-DAN)
[Protein sequencer condition] (PPSQ-50A series)	
System	Isocratic / Gradient

※詳細はアプリケーションニュース No.01-00521、No.01- 00549 をご覧ください。

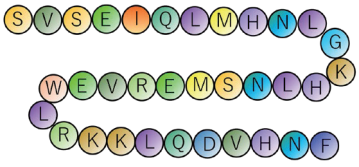


図 1　試料① PTHのアミノ酸配列（直鎖型ペプチド、34 残基）

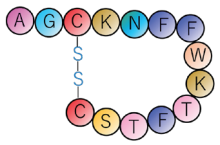


図 2　試料② Somatostatin のアミノ酸配列
（環状型ペプチド、14 残基）

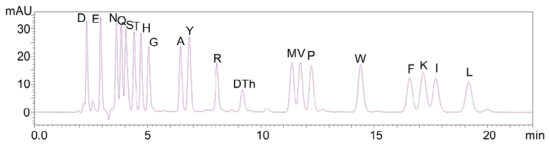


図 3　PTH- アミノ酸混合標準品（25 pmol）のクロマトグラム
（イソクラティックシステム）

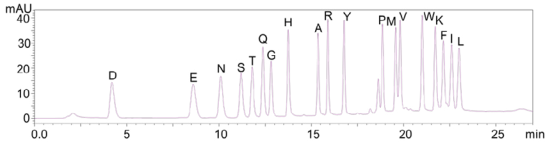


図 4　PTH- アミノ酸混合標準品（10 pmol）のクロマトグラム
（グラジエントシステム）

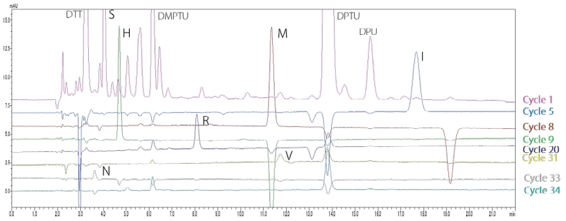


図 5　PTHのクロマトグラム



図 6　PTHのMALDIマススペクトル（分子量測定）



MALDI-ISDとプロテインシーケンサの組み合わせによるPTHのアミノ酸配列同定

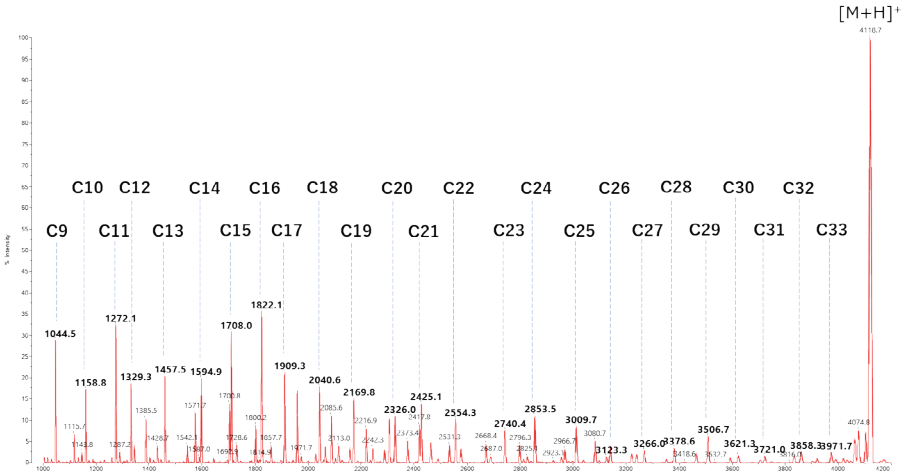


図 7　PTHのMALDI-ISDマススペクトル



MALDI-ISDとプロテインシーケンサの組み合わせによるSomatostatinのアミノ酸配列同定

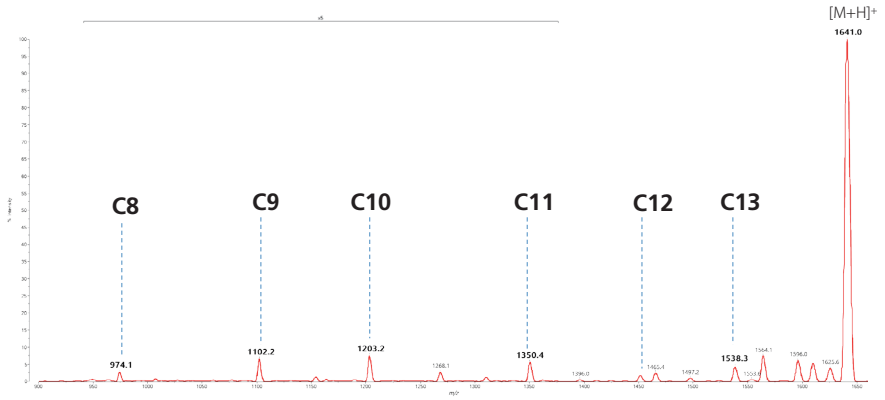


図 8　SomatostatinのMALDI-ISDマススペクトル

■ まとめ

MALDI-TOF MSの分子量測定またはMALDI-ISDとプロテインシーケンサの結果を組み合わせることで、直鎖型のPTHと環状型のSomatostatinの全アミノ酸配列を決定できました。ペプチドの構造に依存せず、多機種から得られたデータを組み合わせることで、目的ペプチドの全アミノ酸配列を得ることができます。MALDI-ISDとプロテインシーケンサの補完的な組み合わせは、合成ペプチドのアミノ酸配列解析に有用です。

側鎖修飾アミノ酸を含有する合成ペプチドのアミノ酸配列分析

Application

benefits

- 微量のサンプルでもN末端からのアミノ酸配列を確実に同定することができます。
- MALDI-ISD分析と組み合わせることで、C末端部の情報、修飾アミノ酸の情報を得ることができます。
- ゲノムデータベースに登録されていないタンパク質のアミノ酸配列も容易に決定することができます。

■ 測定方法と結果

試料	ヒストンH4の合成フラグメントペプチド誘導[Lys(Ac)12/16,Lys(Me3)20]-HistoneH4(1-25)-GSGSK(Biotin)(AnaSpec, Inc, CA)
濃度、量	0.1%トリフルオロ酢酸水溶液で10 pmol/μLに調製し、5 μLを分析しました。
測定条件	試料を上記の濃度に調製し、PPSQ-50Aでアミノ酸配列分析を行いました。サンプル保持体にはポリブレン処理されたガラスファイバーディスクを用いました。分析条件は表1に示します。
結果	試料は、12および16残基目に側鎖がアセチル基で修飾されたリジン（Lys）、20残基目には側鎖がトリメチル基で修飾されたLysをもつ合成ペプチドです。それぞれの側鎖修飾されたLysは、天然アミノ酸のチオヒダントイン（PTH）誘導体と溶出位置が重なることなく、検出が可能でした（図1, 2）。その結果、それぞれのサイクルで側鎖修飾アミノ酸を決定することができました（図3）。しかし、図3のように側鎖修飾のアミノ酸PTH誘導体の溶出位置が天然アミノ酸のPTH誘導体の溶出位置の近傍にある場合は、試料の夾雑物の影響を受けてPTH-アミノ酸の同定が難しくなることがあります。また、エドマン分解中のサンプルのwashoutでC末端部のアミノ酸の同定が困難であるという問題があります。それらの解決法としてMALDI-ISD測定を用いた分析結果と合わせることでそれらの問題が解消され、全アミノ酸配列の同定を実現することができます（図4）。

表1　分析条件

[Protein sequencer isocratic system condition] (PPSQ-50A series)	
Column	Wakopak Wakosil PTH-II (S-PSQ), 250 mm × 4.6 mm I.D.
Mobile phase	PTH-amino Acids Mobile Phase
Flow rate	1.0 mL/min
Time program	T.Flow 1.0 mL/min (0-21.25 min) → 0.3 mL/min (21.5-45.25 min) → 1.0 mL/min (45.5-45.51 min)
Column temp.	40℃
Detection	UV 269 nm (SPD-M30A), High Sensitivity Flow Cell
[Protein sequencer gradient system condition] (PPSQ-50A series)	
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) 〈B〉 PTH-amino Acids Mobile Phase B (for Gradient Elution)
Flow rate	0.3 mL/min
Time program	B Conc. 0% (0-4 min) → 100% (17-30 min) → 0% (30.01-45 min)
Column temp.	35℃
Detection	UV 269 nm (SPD-M30A), High Sensitivity Flow Cell
[MALDI-ISD condition] (MALDI-8030)	
アプリケーションニュース（No.01-00776）参照	

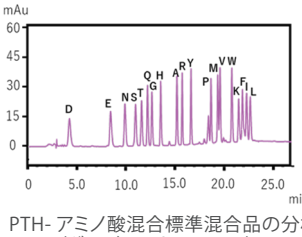


図1　PTH-アミノ酸混合標準混合品の分析結果（グラジエントシステム）

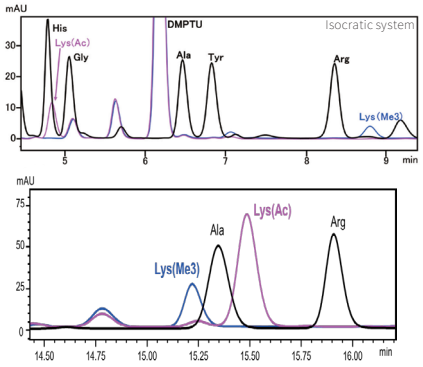


図2　修飾アミノ酸のエドマン分解のクロマトグラム
黒色：PTH-Ala、桃色：アセチルリジン（Lys（Ac））、
青色：トリメチルリジン（Lys（Me3））

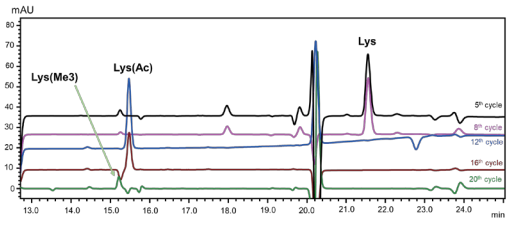


図3　プロテインシーケンサでのアミノ酸配列分析結果（差クロマトグラム）

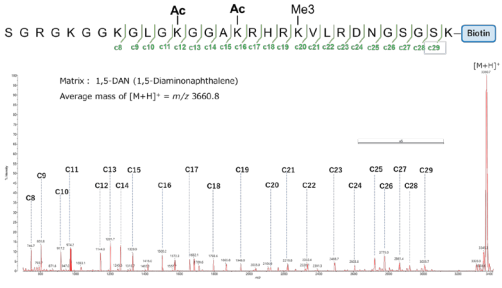


図4　MALDI-8030を用いた合成ペプチドおよびHistone H4 fragmentのMALDI-ISDマススペクトル

■ まとめ

プロテインシーケンサPPSQ-50Aシリーズを使用することで、側鎖修飾アミノ酸をもつ合成ペプチドのアミノ酸配列の同定、さらにMALDI-ISD測定と組み合わせることで、より確実な結果を得ることできます。プロテインシーケンサによるアミノ酸配列解析手法は、MALDI-ISD測定と組み合わせることで、より構造が複雑になっていくと考えられるペプチド医薬品の開発や合成確認において有用だと考えられます。

プロテインシーケンサ

PPSQ-51A/53A

Product

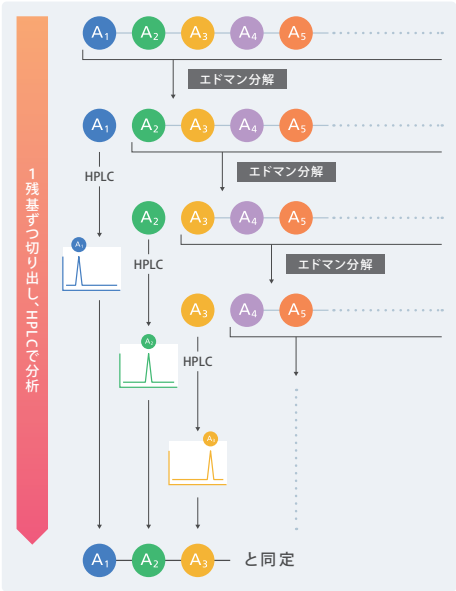


■製品の特長

PPSQ-51A/53A は、PPSQ-50A series の後継機であり、エドマン分解によってタンパク質の N 末端からアミノ酸（PTH- アミノ酸）を 1 残基ずつ切り出し、HPLC で分析することで、アミノ酸配列を決定する装置です。
データベースに登録されていないタンパク質のアミノ酸配列も決定できます。基礎研究だけでなく、抗体医薬品や食品中のタンパク質・ペプチドの分析など、様々な場面で利用できます。

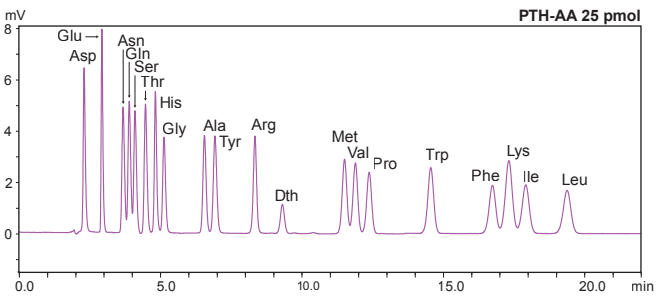
プロテインシーケンサとは

エドマン分解によって、タンパク質の N 末端からアミノ酸（PTH- アミノ酸）を 1 残基ずつ切り出し、HPLC で分析することで、アミノ酸配列を決定する装置です。
この図のように、エドマン分解から HPLC での PTH- アミノ酸までの分析終了の過程を 1 サイクルといいます。この過程を繰り返し、得られた PTH- アミノ酸を順に並べることで、タンパク質・ペプチドの N 末端からのアミノ酸配列を簡単にかつ確実に決定します。
データベースに登録されていないタンパク質のアミノ酸配列も決定できます。基礎研究だけでなく、抗体医薬品や食品中のタンパク質・ペプチドの分析など、様々な場面で利用できます。



簡単・確実な分析システム

エドマン分解の反応プログラムや HPLC の分析条件は最適化されており、条件検討は不要です。安定した送液を行えるポンプにより、ベースライン再現性の高いクロマトグラムを取得できます。さらに、前回の分析結果との差分を表示する「差クロマトグラム処理」により、特異的に増加した PTH- アミノ酸を容易に決定できます。
また、プロテインシーケンサには、システム制御ソフトウェアとデータ解析ソフトウェアが搭載されています。最適化されたエドマン分解条件に加え、アミノ酸配列の自動推定やクロマトグラムの重ね書きなどの機能があり、初めての方でもタンパク質・ペプチドのアミノ酸配列を簡単に決定できます。



PTH- アミノ酸混合標準品（25 pmol）の分析

イオンクロマトグラフを用いた合成ペプチドのカウンターイオンの定量

Application

benefits

- イオンクロマトグラフを用いて、合成ペプチドの純度確認が行えます。
- トリフルオロ酢酸と塩化物イオンを同時に定量することができます。
- 医薬品に含まれる無機陰イオンの不純物測定などといった高感度分析と併用する場合はサプレッサー式、コストパフォーマンスを重視する場合は装置構成がシンプルなノンサプレッサー式と、目的に応じてシステムを選択できます。

■ 測定方法と結果

試料	粗精製した以下の合成ペプチド 2 種 PTH（parathyroid hormone（1-34）、カウンターイオン付加数 9） 市販環状ペプチド Somatostatin（カウンターイオン付加数 3）
濃度、量	TFA 分析試料：PTH 0.2142 mmol/L、Somatostatin 0.5564 mmol/L Cl 分析試料：PTH 0.0140 mmol/L、Somatostatin 0.0213 mmol/L
測定条件	各ペプチドを超純水に溶解して TFA イオンを定量しました。Cl イオンについては、TFA 塩水溶液を Cl 塩へ塩置換を行った後、超純水に再溶解して分析しました。表 1 に示す分析条件で、サプレッサー式（HIC-ESP）およびノンサプレッサー式（HIC-NS）イオンクロマトグラフを使用しました。
結果	図 4, 5 に PTH のクロマトグラム、図 6, 7 に Somatostatin のクロマトグラムを示します。TFA 定量値 / 理論値の比は両システムで 0.9 ～ 1.2、Cl イオン定量値 / 理論値の比は両システムとも 1.1 で、理論値とほぼ一致する結果が得られました。

表 1　分析条件

[HIC-ESP condition]	
Column	Shim-pack IC-SA2 / IC-SA2(G) (250 mm × 4.0 mm I.D., 9 µm / 10 mm × 4.6 mm I.D., 9 µm)
Flow rate	1.0 mL/min
Column temp.	25℃
Mobile phase	12.0 mmol/L Sodium Hydrogen Carbonate 0.6 mmol/L Sodium Carbonate
Injection volume	5 µL
Detection	Conductivity
[HIC-NS condition]	
Column	Shim-pack IC-A3 / IC-GA3 (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 µm / 10 mm × 4.6 mm I.D., 5 µm)
Flow rate	1.2 mL/min
Column temp.	40℃
Mobile phase	8.0 mmol/L p-Hydroxybenzoic Acid 3.2 mmol/L Bis-Tris / 50 mmol/L Boric Acid / 50 mL/L Acetonitrile
Injection volume	50 µL
Detection	Conductivity

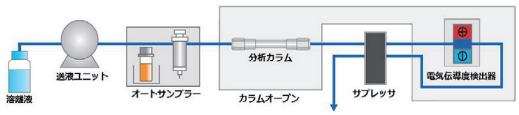


図 1　サプレッサー式イオンクロマトグラフ（HIC-ESP）の流路図

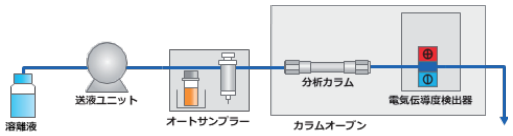


図 2　ノンサプレッサー式イオンクロマトグラフ（HIC-NS）の流路図

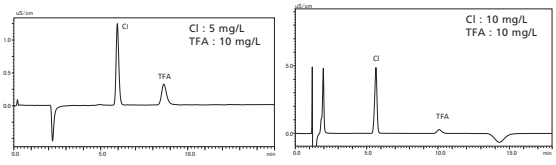


図 3　Cl イオン、TFA 混合標準液のクロマトグラム
（左：HIC-ESP、右：HIC-NS）

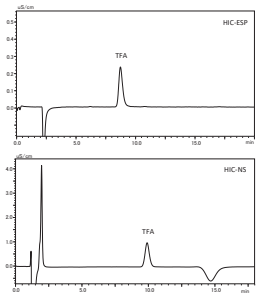


図 4　PTH のクロマトグラム
（上：HIC-ESP、下：HIC-NS）

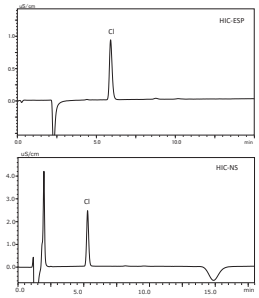


図 5　PTH Cl 塩のクロマトグラム
（上：HIC-ESP、下：HIC-NS）

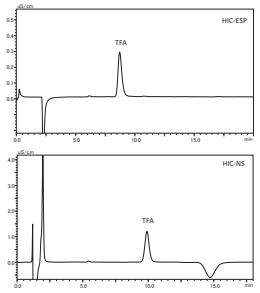


図 6　Somatostatin のクロマトグラム
（上：HIC-ESP、下：HIC-NS）

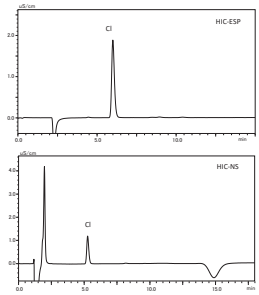


図 7　Somatostatin Cl 塩のクロマトグラム
（上：HIC-ESP、下：HIC-NS）

■ まとめ

イオンクロマトグラフを用いて合成ペプチドのカウンターイオンの定量を行いました。サプレッサー式 HIC-ESP およびノンサプレッサー式 HIC-NS のいずれにおいても、PTH および Somatostatin に対して理論値とほぼ一致する定量値が得られました。無機陰イオンの不純物測定など高感度分析との併用ではサプレッサー式、コストパフォーマンスを重視する場合はノンサプレッサー式と、目的に応じたシステム選択が可能です。さらに、アミノ酸配列や鎖長の違いに依存せず複数のカウンターイオンを安定して定量できることから、本法は合成ペプチドの正確な合成量算出および純度確認に適した手法であると考えられます。

イオンクロマトグラフ

Nexera IC

Product



■製品の特長

Nexera IC は、イオンクロマトグラフ分析に必要な溶離液・試料の調製、分析、データ解析までの一連のワークフローを効率化するシステムです。

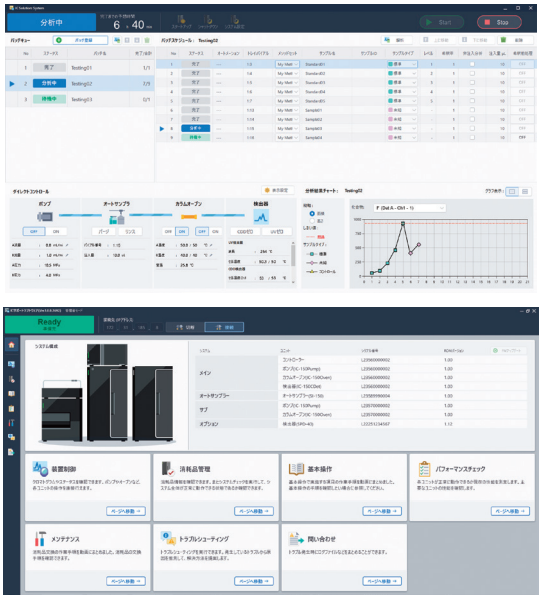
コンパクトで使いやすい装置設計に加え、ルーチン分析を支援する専用ソフトウェアや、手作業を減らす自動化機能、オプション追加による陰イオン・陽イオンの同時分析機能を搭載。日々の分析業務の負担を軽減するとともに、ダウンタイムの低減や安定した運用に貢献します。

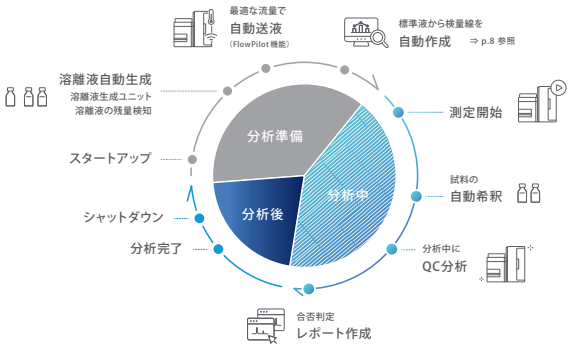
コンパクトで使いやすい装置設計

Nexera ICは、限られたラボスペースでも導入しやすいコンパクト設計を採用しています。装置高さは 50 cm 以下、標準的なオートサンプラー付きシングル分析システムでも横幅 52 cm と省スペースです。溶離液ボトルを設置しやすく、装置前面から各ユニットにアクセスできるため、日常操作やメンテナンスもスムーズに行えます。
また、オプションのIC-150Dを追加することで、用途に応じて陰イオン・陽イオンの同時分析が可能なデュアル分析システムへ拡張できます。

ルーチン分析を支えるソフトウェア

専用ソフトウェア IC Solution は、分析の実行から結果確認、レポート作成までを一貫してサポートします。複数の定量結果や異常値判定を一画面で確認でき、分析管理者があらかじめ設定したテンプレートに沿って操作することで、規制対応を含む日常のルーチン分析を誰でも確実に進められます。
さらに IC Support Software では、溶離液調製やカラム取り付けなどの基本操作支援に加え、消耗品の使用回数管理、対話形式のトラブルシューティング、メンテナンス動画の表示、問い合わせ時に必要なエラー情報や装置ログの収集・出力にも対応。トラブル発生時の原因特定と早期解決を支援します。





手作業を減らす自動化機能

Nexera ICは、分析前後の手作業を減らす独自の自動化機能を備えています。溶離液自動生成ユニットでは、設定した倍率に応じて溶離液を自動希釈でき、調製作業を省力化します。さらに、溶離液や洗浄液の残量を重量センサーでリアルタイムに監視し、不足の可能性がある場合は事前に通知することで、人的ミスや分析中断の防止に役立ちます。
また、FlowPilot機能により、カラム温度に応じて流量を自動制御し、カラムに過度な負荷をかけずに平衡化を実行します。加えて、試料濃度が検量線範囲を超えた場合には、装置が自動で希釈・再測定を行うため、再調製の手間を減らし、定量試験を効率化できます。

LCMS-TQ RXシリーズを用いたヒト血漿中リラグルチドの選択的かつ高感度な定量

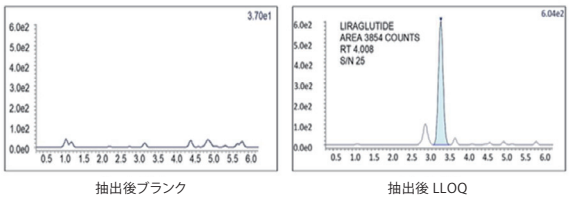
Application

benefits

- ヒト血漿中のペプチド医薬候補であるリラグルチドについて、前処理から LC-MS/MS 測定およびバリデーション項目に至る一連の分析手法を理解できます。
- LCMS-TQ RX シリーズは高感度、高速スキャン、高速極性切替のため、微量成分を含む複雑な生体試料でも選択的で再現性のある定量が可能です。

■ 測定方法と結果

試料	①リラグルチド ② LLOQ QC、LQC、MQC、HQC（QC 試料）
前処理	A.　リラグルチドの検量線標準試料およびQC試料 上記①を K2 EDTAヒト血漿中で0.50～202.07 ng/mL となるように調製しました。また、薬物動態評価に用いる分析法では 0.05 ng/mL が求められるため、上記②として QC 試料を 0.50 ～ 152.03 ng/mL となるように調製しました。 B.　試料抽出 血漿試料にメタノール 600 µLを添加して 1 分間混合し、タンパク沈殿後に 10 分間遠心分離しました。その後、メタノールおよび水を 1 mL添加してコンディショニング、平衡化、洗浄および溶出を行いました。
測定条件	選択性を確認するため、異なる 6 ロットのブランクヒト血漿およびリラグルチドをLLOQの濃度まで添加したヒト血漿のクロマトグラムを取得しました。 直線性を確認するため、0.50 ～ 200.00 ng/mLの範囲で検量線を作成しました。 日内精度および日内再現性を確認するため、②を同一バッチで 6 回繰り返し評価しました。 精度および確度は 3 バッチで評価しました。 回収率は LQC、MQC、HQC で評価しました。 マトリックスの効果確認は、LQCおよびHQC で評価しました。
結果	選択性の確認のためにブランクおよびリラグルチドを添加したクロマトグラムを取得した結果、保持時間およびMRMトランジションに有意な差はありませんでした（図 1）。 検量線を作成した結果、相関係数は 0.98 を超えました（図 2 および表 2）。 日内精度および日内再現性を確認した結果、回ごとにおける有意な差はありませんでした（表 3）。 精度および確度を確認した結果、LQC、MQCおよびHQCの%CVは13.09% 未満、%Nominal は 102.40 ～ 106.78% であり、いずれも許容基準内でした。LLOQ QCでは%CVが18.52%、%Nominal が 109.98% でした（右ページ下の表 4）。 回収率の結果は、正確かつ一貫性があり再現性が認められました。リラグルチドの全体的な回収率は 50.92% でした（右ページ下の表 5）。 マトリックスの効果確認の結果、リラグルチドの平均マトリクス効果は 0.97 あり（右ページ下の表 6）、本方法がヒト血漿中リラグルチドの定量に適していることが分かります。



抽出後ブランク　　抽出後 LLOQ

図 1　抽出ブランクおよび抽出 LLOQ（0.500 ng/mL）のクロマトグラム

表 1　分析条件

[HPLC condition] (Nexera X2)	
Column	Shim-pack velox biphenyl column (100 mm × 2.1 mm I.D., 2.7 µm)
Flow rate	0.25 mL/min
Column temp.	40℃
Mobile phase	〈A〉 Buffer 〈B〉 Acetonitrile
Elution mode	Gradient
[MS condition] (LCMS-8060)	
Ionization	ESI
Mode	Scan (m/z 250-2000)
Nebulizing gas flow	3.0 L/min (N_2)
Drying gas flow	10.0 L/min (N_2)
Heating gas flow	10.0 L/min
DL temp	400℃
Desolvation temp	250℃
Interface temp	300℃

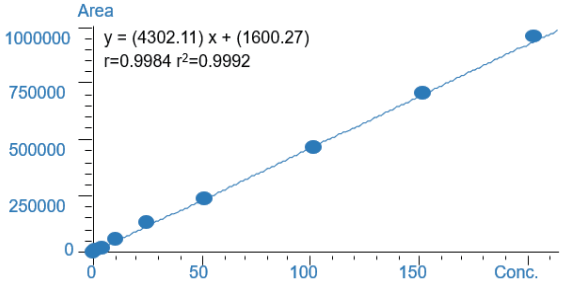


図 2　リラグルチドの検量線

表 2　リラグルチドの検量線

レベル	CC1	CC2	CC3	CC4	CC5	CC6	CC7	CC8	CC9	CC10
公称濃度	0.500	1.000	1.520	4.064	10.160	25.390	50.780	101.560	152.030	202.700
平均（n = 3）	0.503	1.070	1.469	4.175	10.591	25.886	50.073	99.647	159.287	204.988
SD	0.007	0.070	0.091	0.252	1.380	1.354	1.370	1.789	2.049	4.339
% RSD	1.40	6.52	6.19	6.03	13.03	5.23	2.74	1.80	1.29	2.12
% Normal	100.61	106.97	96.62	102.74	104.24	101.95	98.61	98.12	104.77	101.13

表 3　日内精度および日内再現性

QC（n = 6）	LLOQ QC	LQC	MQC	HQC
公称濃度	0.50	1.52	25.39	152.03
PA バッチ観測濃度	0.46	1.29	24.79	161.22
（ng/mL）	0.61	1.57	23.20	148.50
	0.51	1.38	25.12	146.16
	0.60	1.55	24.05	143.41
	0.47	1.86	24.84	142.15
	0.44	1.57	24.41	154.97
平均	0.51	1.54	24.40	149.40
標準偏差	0.07	0.20	0.70	7.35
%CV	14.52	12.79	2.85	4.92
% Normal	102.63	101.01	96.10	98.27

■ まとめ

LCMS-TQ RXシリーズは、試料前処理と最適化したクロマトグラフィーと組み合わせることで、ヒト血漿中リラグルチド試料のバイオアナリシスに対し、極めて高い選択性と感度を提供します。Nexera X2 UHPLCでは、シンプルな移動相と最小勾配流量0.250 mL/minを用いて、超高速かつ高分離の分析を達成しました。

トリプル四重極質量分析計

LCMS-TQ RX シリーズ

Product

■製品の特長

LCMS-TQ RXシリーズは、高感度・高速分析と高い頑健性を両立したトリプル四重極 LC-MS/MS システムです。
進化したイオン化ユニットと島津独自のUF Technologyにより、複雑なマトリックスを含む試料でも安定したデータ取得を実現します。さらに、分析条件の最適化、装置状態の確認、データ解析、メンテナンスまでを支援する各種ソフトウェア機能により、日常分析の効率化とダウンタイム低減に貢献します。加えて、省エネルギー設計や廃棄物削減にも配慮し、環境負荷の低減にも対応します。



高感度かつ安定した分析性能

LCMS-TQ RXシリーズは、新開発のCoreSpray、Heated ESIプローブ、IonFocusユニットを搭載し、より安定したイオン化と高効率なイオン導入を実現しています。これにより、同一装置内はもちろん装置間でもばらつきを抑え、幅広い化合物を高感度に分析できます。さらに、島津独自のUF Technologyにより、高速な極性切替やMRM測定、スキャン分析でも高品質なデータを維持します。夾雑成分の多い農産物や生体試料の連続分析でも、優れた頑健性を発揮します。

分析準備から解析までワークフローを効率化

装置状態の自動チェックや必要に応じた自動キャリブレーションにより、常に最適な状態で分析を開始できます。また、MRM条件やインターフェイス条件の自動最適化、LC条件の自動検討にも対応し、メソッド作成の手間を大幅に削減します。データ解析ではPeakintelligence for LCMSがAI による自動波形処理を行い、複雑なピークでも効率よく解析可能です。さらに、LabSolutions Insightを用いることで、多検体データから重要な成分を絞り込んで確認でき、解析作業のスループット向上に役立ちます。

ダウンタイムと環境負荷を低減

LCMS-TQ RXシリーズは、メンテナンス性にも配慮した設計を採用しています。Desolvation Line（DL）や ESI キャピラリーは短時間で交換でき、DL は真空を維持したまま交換可能なため、分析停止時間を最小限に抑えられます。また、一定時間未使用時に自動で装置を停止するエコロジーモードにより、消費電力を削減できます。さらに、オイルフリー真空ポンプの選択や溶媒消費量の低減により、廃棄物削減と環境負荷低減にも貢献します。

表 4　総合精度および正確さ

QC レベル（n = 18）	LLOQ QC (0.05 ng/mL)	LQC (1.52 ng/mL)	MQC (25.39 ng/mL)	HQC (152.03 ng/mL)
平均濃度	0.55	1.62	26.00	158.18
%CV	18.52	13.09	7.45	12.87
% Normal	109.98	106.78	102.40	104.04

表 5　回収率

回収率	リラグルチド
LQC	43.24
MQC	54.54
HQC	54.97
平均	50.92
SD	6.65
%CV	13.06

表 6　マトリックス効果

LQC			
	後抽出試料	水系試料	Matrix factor
	5,983	6,217	0.96
	5,777	5,883	0.98
	5,372	5,746	0.93
	5,723	6,024	0.95
	6,232	6,343	0.98
	5,936	5,718	1.04
平均			0.94
SD			0.04
%CV			3.69

HQC			
	後抽出試料	水系試料	Matrix factor
	522,379	543,668	0.96
	576,332	581,895	0.99
	606,953	636,429	0.95
	561,864	619,884	0.91
	589,440	603,813	0.98
	550,638	581,429	0.95
平均			0.96
SD			0.03
%CV			3.02

LabSolutions 向け波形処理ソフトウェア

Peakintelligence for LC & LCMS

LC Product　LCMS Product

benefits

- 事前のパラメータ調整は不要で波形処理
- 誰でも熟練者の波形処理を実現
- データ解析時間を大きく低減

■製品の特長

医薬品、食品などあらゆる業界で液体クロマトグラフィー、質量分析計の分析は必要不可欠となっており、中でもデータ解析については作業者に依存しない、効率的な解析が求められています。
Peakintelligenceは波形処理のノウハウを学習した AI アルゴリズムを搭載。
パラメータの設定なしで熟練者なみの波形処理を実現し、データ解析にかかる時間をおよそ 75 % 低減します。これにより、解析作業の属人性を低減し、手動波形処理での恣意的なデータの変更を抑制し、効率的なデータ解析ワークフローを提供します。

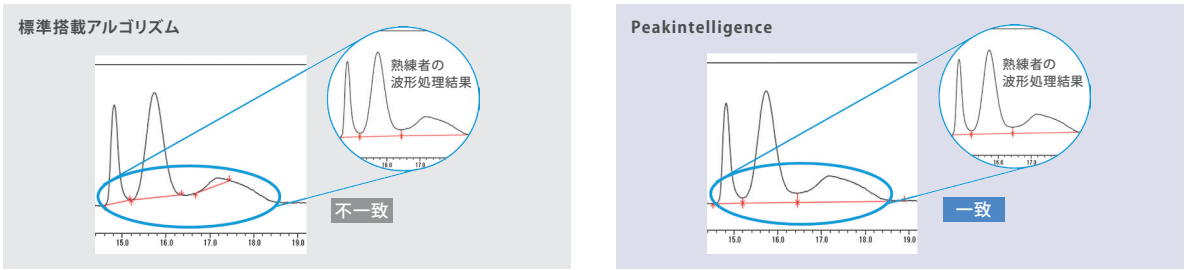


パラメータフリーで波形処理

熟練作業者が行った波形処理を AI に学習させており、事前のパラメータ調整は不要です。 クロマトグラムのピーク検出を AI がアシストして、熟練者と同等レベルの解析を実現できます。さらに、誤検出を抑えて小さなピークも正しく検出します。加えて、保持時間や面積 / 高さによるピークのフィルタリング機能で、目的ピークに絞ったピーク検出にも対応できます。

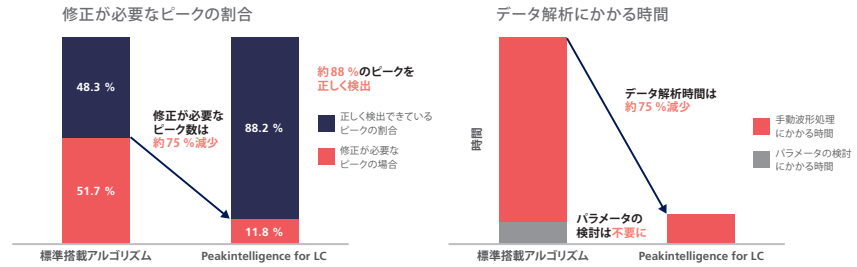
誰でも熟練者の波形処理を実現

Peakintelligence for LCはパラメータ不要で熟練者の波形処理結果を約 9 割再現でき、誰でも同じ結果が得られるため、データの見落としやデータの恣意的な変更を低減することができます。



データ解析時間を 75% 低減

Peakintelligenceではパラメータの設定は一切なし、手動波形処理での修正数も現行法の 75% 低減するため、トータルでのデータ解析時間を大幅に低減できます（約 45 サンプルに約 500 ピーク含まれるテストデータの場合）。



※標準搭載アルゴリズムの修正の割合は、波形処理パラメータを初期設定で解析した場合を示します。

GC/MS & LC/MS用 多検体定量支援ソフトウェア

LabSolutions Insight

Product

benefits

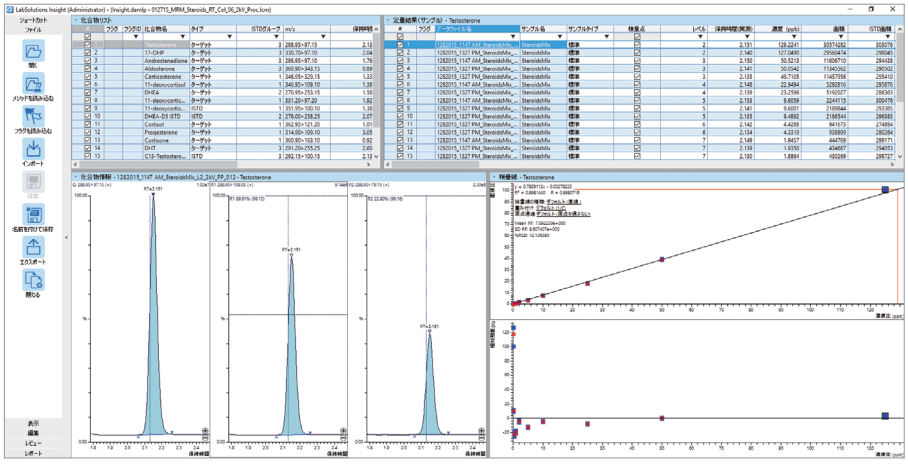
- 大量の多検体データを効率的かつ最適に解析できるソフトウェア
- ユーザに合わせたフラグ設定やピーク絞込みなどの各種機能
- 多検体データの出力に適したレポートフォーマットを実現
- データベースやメソッドパッケージとも組合せ可能

■製品の特長

近年、質量分析の高度な自動化に伴い、高品質な質量分析データを日夜大量に得ることができるようになりました。しかし、これらのデータをひとつひとつ確認・解析しようとすると、膨大な時間を浪費し研究作業効率を著しく損ないます。
このような多検体のデータ解析を、より簡便に、さらに効率的に行っていただくために誕生したのが GC/MS、LC/MS/MS用定量支援ソフト LabSolutions Insightです。

多検体データ解析作業の効率化とワークフローの最適化

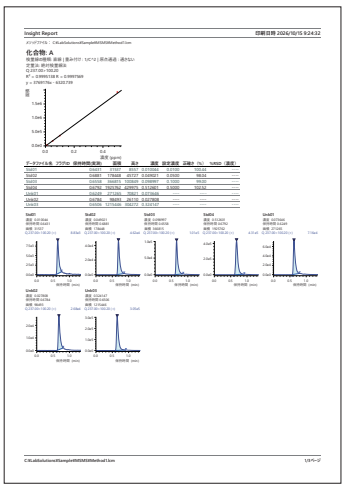
LabSolutions Insightは、多検体データを効率的かつ最適に解析するため、事前に設定した基準に合わせたピークの絞り込み、多彩なフラグ設定、フィルタリングとソート機能、クロマトグラムを一括表示も可能なさまざまなピーク確認方法、定量結果を簡単に修正できる機能、ネットワーク対応や複数のモニター表示可能といった柔軟な作業性など、多種多様な機能を備えています。



表示形式の一例

洗練されたレポート出力

多検体データの出力に適したレポートフォーマットを実現し、クロマトグラムやイオン比、濃度などの必要な情報を一覧で印刷することができます。また、検出された化合物のみを出力したり、フラグ機能を利用して設定基準を超えた定量値の化合物のみを出力することも可能で、データ確認作業の省力化や印刷コストの削減につながります。定量情報（面積値や面積比）を CSV 形式で出力し、多変量解析用ソフトウェアなどに受け渡すこともできます。



紫外可視分光光度計

UV-1900i Plus

Product

■製品の特長

紫外可視分光光度計UV-1900i Plus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便に抽出することができます。10 mm 角形セルは約 4 mL の試料容量が必要ですが、TrayCell や Nano Stick を使用することで 5 µL 以下の微量測定が可能です。



様々なニーズを満たす高い性能

高速スキャン	最速 29,000 nm/min でスペクトル取得が可能です。短時間の化学反応追跡などに効果を発揮します。UV-1900i Plus では特定波長における吸光度変化に加えて、短時間でのスペクトル取得が可能となったため、より詳細な挙動を調べることが可能です。
低い迷光	0.5 % 以下（198 nm）の低迷光により、紫外域でも 1 Abs 以上で正確な測定が可能となり、高い濃度の試料でも正確に定量できるようになりました。
高い再現性 繰り返し精度	0.0002 Abs 以下の高い測光繰り返し精度によって、測定結果のばらつきが抑えられるため、より正確な定量分析やより低濃度の試料の検出が可能です。
多彩な測定モード	フォトメトリック、スペクトル、定量、カイネティクス、タイムコース、バイオメソッドの 6 種類の測定モードが搭載されています。

薬局方、GLP/GMP、FDA 21 CFR Part 11 などの規制に完全対応

JP、USP、EP に準拠した 装置バリデーション機能	JIS の 9 項目だけでなく、日本薬局方（JP）、米国薬局方（USP）、欧州薬局方（EP）で規定されている検査が可能です。当然のことながら、各薬局方が求める仕様にハードウェアとしても準拠しています。また、検査条件の保存が可能なため、一度条件を保存してしまえば都度それを呼び出すだけで簡単に検査を行うことができます。 検査結果も保存可能なので、管理性に優れています。
クラス最高レベルの分解 1 nm	クラス最高レベルの分解 1 nm を達成するとともに、ツェルニー・ターナーマウントの分光器の採用によりコンパクトで明るい光学系を実現しています。 USP/EP で求められている波長分解性能を余裕をもってクリアできます。
セキュリティ機能 UP	外部制御に関するセキュリティ機能が追加され、規制対応がより強化されました。 「Administrator」、「Developer」、「Operator」の 3 段階の権限レベルを、使用ユーザに設定することができます。
規制・ガイドラインに対応	FDA 21 CFR Part 11、PIC/S GMP ガイドラインなどの ER/ES 規制対応に必要なユーザー管理、権限管理、データのオーディットトレイルなどデータの完全性の確保（データベース管理）に対応可能です。また、データベースによるデータ管理、ユーザー管理を行い厚労省 ER/ES 指針などの規制に対応します。1 台の PC でデータを安全に管理し、ER/ES 対応を行いたいお客様に最適な構成です。 * 取得データは LC/GC 等のデータとともにサーバ上で一元管理することも可能です。

バイオ医薬品凝集性評価システム

Aggregates Sizer

Product

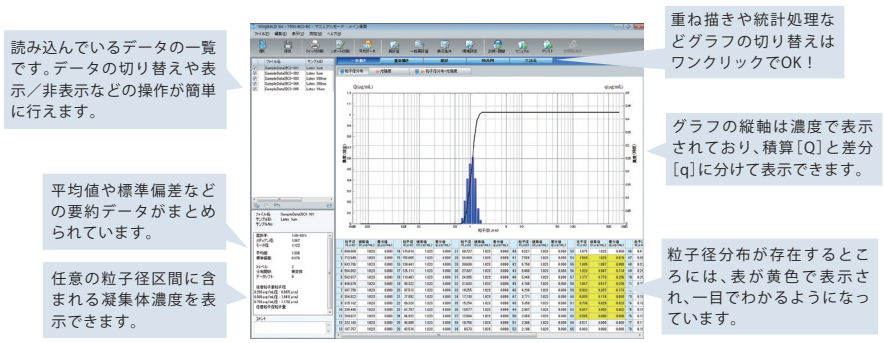


■製品の特長

バイオ医薬品凝集性評価システムでは、0.1 μm ～ 10 μm の領域において粒子濃度（単位：μg/mL または個 /mL）を定量的に評価することが可能です。バイオ医薬品の凝集体には Nanometer（<100 nm）、Submicrometer（100 nm–1 μm）、Subvisible（1–100 μm）、Visible（>100 μm）と凝集粒子の大きさによって分類されています。このうち Submicrometer から Subvisible の一部（100 nm ～ 10 μm）の領域の粒子測定は、これまで複数の手法を併用して解析されているのが一般的です。

100 nm ～ 10 μm の粒子径測定が 1 つの装置で可能

バイオ医薬品凝集性評価システム専用ソフトウェアWingSALD bioを使用することで粒子濃度（μg/mL または個 /mL）を定量的に評価することができます。



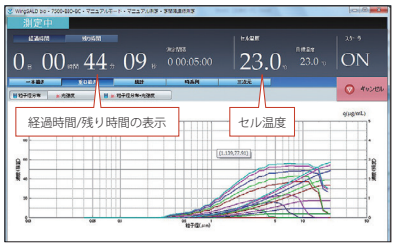
測定終了後、測定データは表示データ一覧に追加され、データの確認・解析や現在読み込んでいる他データとの比較などを行うことができます。

Aggregates Sizer TC　バイオ医薬品凝集性評価システム（温調機能付）

バイオ医薬品凝集性評価システム Aggregates Sizer に温調セルユニットを追加したシステムです。
これにより、通常の測定より時間がかかる回分セルの撹拌機能を用いた機械的ストレス試験でも温度による凝集体生成の影響なく測定することができます。また、マイクロセルについては、従来の 400 μL から 125 μL に変更し、サンプルの微量化も実現しました。

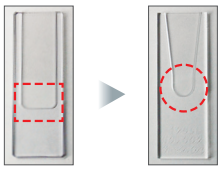
凝集体生成の過程をタイムリーに把握できる －連続測定機能の改良－

連続測定機能では、測定間隔を 30 秒から設定可能で最大 200 データの連続（経時変化）測定が可能です。また、測定中は、経過時間・残り時間を表示するだけでなく、現在測定中の粒子径分布をリアルタイム表示したり、測定済データを併せてデータ処理ができるため、凝集体生成の過程がタイムリーに把握できます。
標準付属の循環恒温槽を用いて温度範囲 20 ～ 42℃（温度精度：± 1℃）を一定温度で PC 制御することが可能になりました。これにより、温度による凝集体生成の影響なく、一定温度条件下で凝集体評価を行うことができます。



セル容量を 125 μL（従来比 1/4）に削減しました

測定に影響しない領域を出来るだけ排除することにより、サンプル必要量を従来の 400 μL から 125μL に低容量化しました。また、マイクロセルの材質を全て石英ガラスに変更したことにより、薬剤（アルカリ）洗浄や超音波洗浄が可能です。



必要な情報がすぐに得られるソフトウェア機能の追加

－個数濃度（個 /mL）での表示－

従来表示していた質量濃度表示（μg/mL）に加え、個数濃度（個 /mL）も表示できるようになりました。

－任意の粒子径区間での凝集量評価－

これまでご使用中の手法（粒子カウンターなど）に合わせた粒子区間表示が可能です。さらに、今後決定されると予想される規格や規制に対応した粒子径区間での粒子量の評価も可能です。

ICP 質量分析計

ICPMS-2040/2050

Product

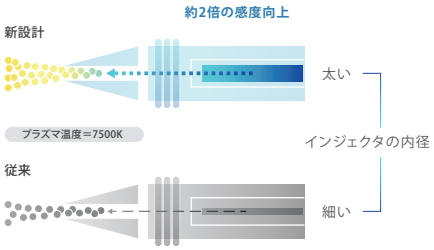


■製品の特長

ICPMS-2040/2050 は、進化した独自のミニトーチシステムにより環境性能と分析性能を高次元で両立させ、特別なオプション無し で測定時間を短縮できます。また、オペレーターの操作を最小限 に抑える各種機能やメンテナンスサポート機能を備えたソフトウ ェアは、働き方に変革をもたらします。

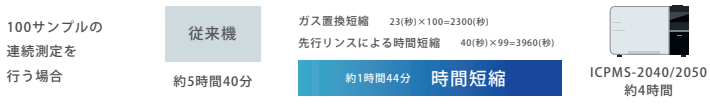
Eco Friendly yet Competent ーエコと高性能の両立ー

アルゴンガス消費量を通常の約 2/3 に低減し、かつ低純度（99.95 %）のガスを使用できるという島津独自のミニトーチシステムの特長はそのままに、トーチの形状を最適化することによりプラズマへの試料導入流速を下げ、試料のイオン化効率を向上させることで、従来機と比べ約 2 倍の感度向上を実現しました。



Fast at No Additional Cost ー「速い」をもっと身近にー

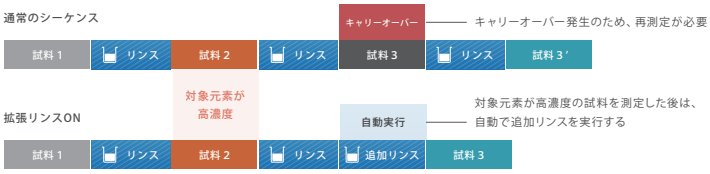
新設計ガスコントローラによる高速セルガス置換と、標準搭載の先行リンス機能により、測定時間を大幅に短縮できます。



Minimal Operation Required ー働き方に変革をもたらす操作性ー

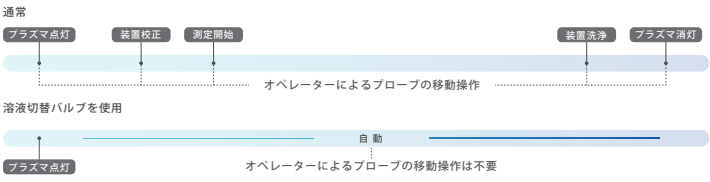
拡張リンス ー導入系洗浄の自動最適化ー

対象元素の定量値が予め設定した上限を超えた場合に、追加リンスを自動実行することでキャリーオーバーの発生を防止する拡張リンス機能を標準搭載しました。追加リンスでは異なる組成のリンス液を指定することもできるため、より確実な洗浄を行うことができます。



溶液切替バルブ ープラズマ点灯以降の無人操作を実現ー

溶液切替バルブは、オンラインで内標準自動添加を行う際に、それぞれのプローブの移動（溶液の切り替え）を自動化するオプションです。これにより、オペレータは試料セットおよびプラズマ点灯を行った後は装置を操作する必要がなく、装置校正から測定、装置洗浄、プラズマ消灯までを装置が自動で行います。



ガスクロマトグラフ

Brevis GC-2050

Product

■製品の特長

省スペースながら妥協のない分析性能を実現したBrevis GC-2050は「より小さく、よりシンプルで使いやすく、しかし分析性能は落とすことなくラボ分析を確実にこなすことができる」ニーズに応えた製品です。



Brevis GC-2050、HS-20 NX USTL(Ultra Short Transfer Line)

Compact without Compromises　妥協のないコンパクト設計

あらゆる分析ニーズをカバーする拡張性を備えつつ、横幅 350 mmのコンパクトサイズを実現しており、限られたスペースで装置の稼働数を上げることができます。省スペースデザインでありながら一般的に使用されるキャピラリカラム 2 本を収納することができ、水素を始めとしたヘリウム代替キャリアガスによる運用もサポートしています。

Built-in Analytical Intelligence　最新のユーザー支援技術

Remote Display、LabSolutions Directを活用し、スマートデバイスを用いてどこにいてもGC システムにアクセスすることが可能です（自動リモートオペレーション）。またClean Pilot機能を使うことで、短時間で効率的にカラムの自動コンディショニングを行い、ラボワークの負荷を軽減しながら、より安定した分析結果を提供します。

Best-in-Class Performance　クラス最高レベルの性能

最上位機種の基本性能を継承しており、非常に高い面積再現性、保持時間再現性を達成しています。

ヘッドスペースサンプラー

HS-20 NX

Product

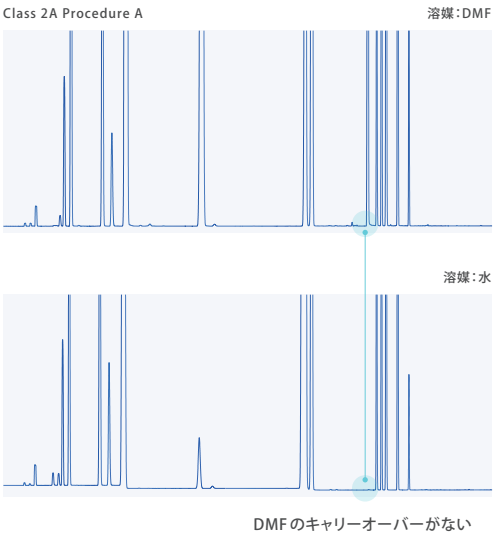
■製品の特長

高い基本性能とユーザーフレンドリーなデザインは、揮発性成分分析への最適なソリューションとして研究部門から品質管理まであらゆる分析を強力にバックアップします。

低キャリーオーバー

アイソレーションガスフローを採用したHS-20 NX シリーズは、キャリーオーバーを従来比 1/10 に低減しました。高沸点化合物や高極性化合物など幅広い化学種の分析に対応し、確かな分析結果が得られます。

医薬品残留溶媒分析ではDMF溶媒での分析後に水溶媒での分析を行うことがありますが、HS-20 NXではDMFのキャリーオーバーに悩まされることはありません。異なる溶媒種、濃度差の大きい試料の分析時には、低キャリーオーバーを実現するHS-20 NXが有効です。



DMFのキャリーオーバーがない

超臨界流体クロマトグラフィーによる合成ペプチド分離条件探索の効率化

Application

benefits

- 超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）は親水性化合物であるペプチドの分析にも用いることが可能です。
- SFCを用いた最適分離条件探索の一連のワークフローをLabSolutions MDにより効率化できます。
- 移動相ブレンディング機能により、移動相の自動調製が可能であり業務効率化と再現性向上に貢献します。

■ 測定方法と結果

試料	下記のペプチド標準品 7 種混合物 (A) lopinavir, (B) ritonavir, (C) angiotensin I, (D) angiotensin II, (E) insulin, (F) daptomycin, (G) pneumocandin B0
濃度、量	2 µL (1000mg/L for all compounds)
測定条件	本検討では、保持・分離に影響の大きいカラムおよびモディファイアーを中心に条件探索を行いました。まず、表 1 に示す 6 種カラムを用い、モディファイアーをメタノールとしてスクリーニングを実施しました。続いて、酸 / 塩基添加剤を含むモディファイアーのスクリーニングを段階的に行い、最適条件を絞り込みました（表 2）。分析スケジュール作成、カラム / モディファイアーの切換え、移動相調製はLabSolutions MDにより自動化しました。
結果	6 種カラムのスクリーニング結果をLabSolutions MDの評価値で比較したところ、Shim-pack UC-PolyVP が最も高い評価値を示しました（表 3）。しかし、7 成分に対して検出ピークは 6 本であり、十分な分離には至りませんでした。そこで、酸・塩基添加剤を加えたモディファイアーによる追加スクリーニングを行いましたが、分離およびピーク形状の明確な改善は認められませんでした。次に、その中で評価値の高かった 0.1% 酢酸メタノールに加え、ペプチド分析で広く用いられる 0.1%TFA メタノールを候補とし、水添加比率とカラムオーブン温度の影響を評価しました。図 1 に代表例を示すように、(C) angiotensin I と (D) angiotensin II の分離度は、いずれのモディファイアーでも水添加比率の増加に伴って向上しました。さらに、水添加比率とカラムオーブン温度を因子としたデザインスペース解析（最小分離度 1.2 以上、テーリングファクター〔10% 高さ〕0.8 ～ 1.2）を行った結果（図 2、3）、0.1% 酢酸メタノールでは基準を満たす領域は得られなかった一方、0.1%TFA メタノールでは、水 5%、カラムオーブン温度 25℃で基準を満たす最適条件が得られました。この条件で得られた良好なクロマトグラムを図 4 に示します。

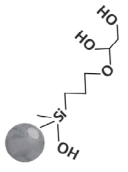
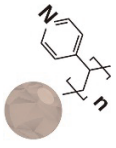
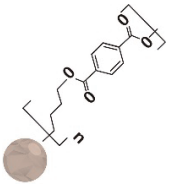
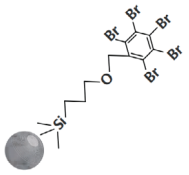
表 2　分析スクリーニング条件

[SFC condition] (Nexera UC)	
Column	Shown in table 1.
Flow rate	2.5 mL/min
Temperature	25, 50℃
Mobile phase	〈A〉 CO_2, 〈B〉 Methanol
Time program	B.Conc. 5% (0 min) → 75% (8-10min) → 5% (10-12 min)
BPR pressure	10 MPa
Sample solvent	Dimethyl sulfoxide (DMSO)
Detection	220 nm (SPD-M40, high-pressure flow cell)

表 3　各条件の評価値による順位付け

カラム略称	最小分離度	ピーク数	分離ピーク本数	評価値
PolyVP	2.02	6	6	120.778
SilII	1.416	5	3	62.147
DiolII	0.835	4	0	28.970
PBr	1.647	3	2	19.942
PolyBT	2.194	2	2	4.388
ODS	0	1	0	0.000

表 1　6 本カラムの種類と特徴

	Shim-pack UC-Diol II	Shim-pack UC-Sil II	Shim-pack UC-PolyVP
Chemistry			
Feature	分離モードは順相系。 非特異的相互作用を抑制。	塩基性化合物の保持・立体構造の認識に優れる。	酸塩基無添加条件でも良好なピーク形状を発揮。
	Shim-pack UC-PolyBT	**Shim-pack UC-PBr**	**Shim-pack UC-ODS**
Chemistry			
Feature	π-π相互作用により、芳香族化合物の認識性に優れる。	ODSでは保持が小さい化合物の分離改善。	分離モードは逆相系。 疎水性作用により保持。

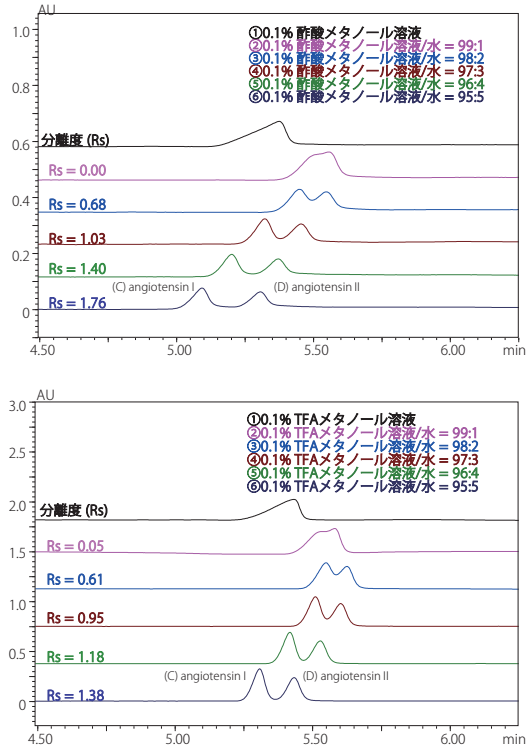


図 1　(C) angiotensin I と (D) angiotensin II の
溶出部分拡大クロマトグラムと
それぞれの分離度（上：モディファイアー 0.1% 酢酸メタノール溶液、
下：モディファイアー 0.1% TFA メタノール溶液）

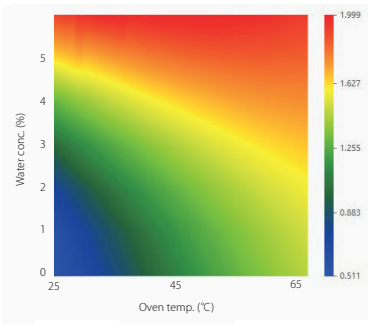


図 2　(C) angiotensin I と (D) angiotensin II の
分離度についてのデザインスペース

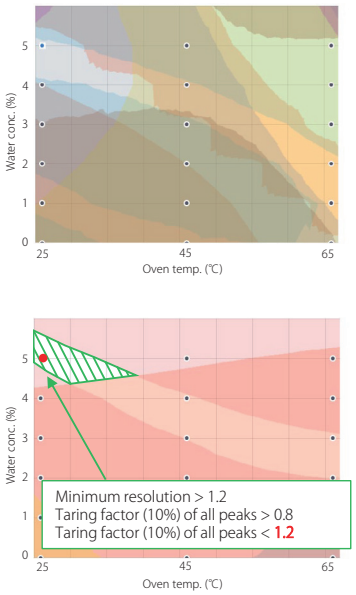


図 3　デザインスペースの重ね書きによる最適条件探索
（上：0.1% 酢酸メタノール溶液、下：0.1% TFA メタノール溶液）

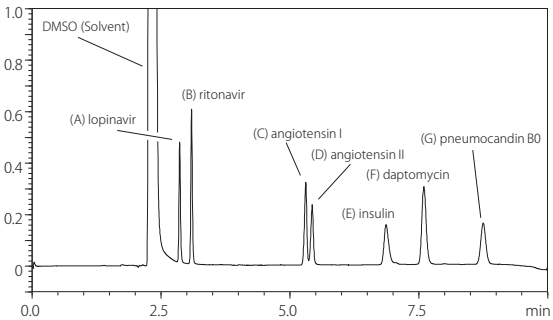


図 4　0.1% TFA メタノール溶液を用いた場合の最適条件におけるクロマトグラム（図 3 中の赤丸の分析条件）水の添加比率：5%、
カラムオーブン温度：25 ℃

■ まとめ

超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）はカラム・モディファイアー・添加剤を適切に選択することでペプチドのような親水性化合物の分析にも用いることが可能です。ペプチド混合物の分析においては、モディファイアーに水を添加することで分離とピーク形状が大きく改善しました。一方で、最適な分離条件の探索にはカラム・モディファイアー・添加剤の種類と比率など網羅的な分析を実施することもあり、分析スケジュール作成や得られた膨大なデータを解析するのに非常に手間がかかります。LabSolutions MDを用いることで、分析スケジュール作成や移動相調製を自動化でき、また、解析面では分離の状態の順位付けやデザインスペースによる効率的な最適条件の探索が可能となります。これにより、SFC分析法開発の一連のワークフローの効率化を実現可能です。

超臨界流体クロマトグラフィーを用いた実験的極性表面積の測定

Application

benefits

- 超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）により、実験的極性表面積（Experimental Polar Surface Area；EPSA）の測定が可能です。
- Open Solutionを活用することで、オープンアクセス環境下での効率的なEPSAの測定が可能です。

■ 測定方法と結果

試料	①検量線作成：表 1 に示す 9 種の化合物 ② EPSA 測定対象：シクロスポリン A（環状ペプチド）
濃度、量	① 2 µL（表 1 の試料を各々ジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解させ、0.1 g/L に調製しました。） ② 2 µL（上記試料を DMSO に溶解させ、0.1 g/L に調製しました。）
測定条件	①②ともに表 2 に示す条件で分析しました。
結果	①各化合物の保持時間と参考文献 * に記載の TPSA を用いて作成した検量線を図 1 に示します。EPSA が 47 ～ 230Å^2 の範囲で寄与率 0.99 以上と良好な直線性が得られました。 ②図 2 にシクロスポリン A の分析結果を示します。シクロスポリン A は PDA 検出器では検出が難しい一方で、MS 検出器を使用することで検出を行うことが可能です。 保持時間と図 1 の検量線を用いて、シクロスポリン A の EPSA を測定しました。両化合物の EPSA と TPSA を表 3 に示します。TPSA は分子の立体的な構造を考慮せず、分子全体の極性部位に基づいて計算されるため、両化合物ともに高い値を示しました。一方で、EPSA は実測に基づき分子表面に実際に露出した極性領域を評価できるため、TPSA と比較して低い値となりました。このように、TPSA が過大に評価しうるペプチド等の中分子についても、EPSA であればより妥当な評価が可能となります。

* : Yue-Ting Wang, Edward Price, et al. “High-Throughput SFC-MS/MS Method to Measure EPSA and Predict Human Permeability” J. Med. Chem. 2024, 67, 16, 13765–13777

表 1　検量線作成用標準化合物

	Name	Assigned EPSA Value (Å)	Monoisotopic mass
(A)	Lidocaine	47	234.17
(B)	Antipyrine	61	188.09
(C)	Chlorpromazine	68	318.10
(D)	Desipramine	87	266.18
(E)	Pindolol	103	248.15
(F)	Diclofenac	135	295.02
(G)	*m*-NitroBenzoic Acid	157	167.02
(H)	Bumetanide	185	364.11
(I)	Furosemide	230	330.01

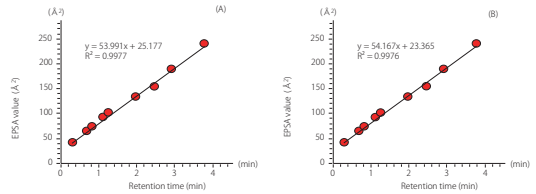


図 1　標準溶液中の各化合物の保持時間と TPSA より作成した検量線
（A）PDA 検出器の保持時間を使用、（B）MS 検出器の保持時間を使用

表 2　分析条件

[SFC condition] (Nexera UC)	
Column	Phenomenex Chirex (S)-Val and (R)-NEA (50 mm × 4.6 mm I.D., 5.0 µm)
Flow rate	4.0 mL/min
Column temp.	40℃
Mobile phase	〈A〉CO_2, 〈B〉20mM Ammonium Formate in Methanol
Time program	5% (0 min) → 65% (2.75-4 min) → 98% (4.01-5.5 min) → 5% (5.51-6 min)
BPR pressure	20.4 MPa
BPR temp	70℃
Sample solvent	DMSO
Detection	254 nm (SPD-M40, high-pressure flow cell)
[MS condition] (LCMS-2050)	
Ionization	ESI/APCI(DUIS), positive and negative mode
Mode	SCAN(m/z 100-2000)
Nebulizing gas	2.0 L/min(N_2)
Drying gas	5.0 L/min(N_2)
Heating gas	7.0 L/min(N_2)
DL temp	200℃
Desolvation temp	450 ℃
Interface voltage	+3.0 kV / -2.0 kV
Make-up pump mobile phase	Methanol
Flow rate	0.5 mL/min

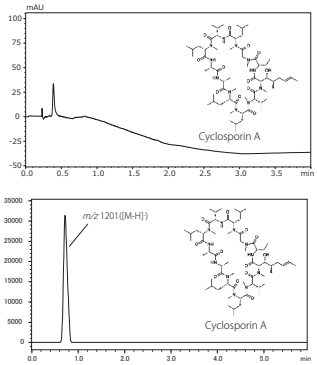


図 2　シクロスポリン A の分析結果
（上）PDA クロマトグラム、（下）MS クロマトグラム

表 3　シクロスポリン A とリトナビルの TPSA と EPSA[Å^2]

	Cyclosporin A	Ritonavir
TPSA	278	145
EPSA	62	75

■ まとめ

SFCとPDA検出器だけでなく、シングル四重極質量分析計LCMS-2050を組み合わせたEPSA測定の手法をご紹介しました。SFCにおける保持時間を基に測定されるEPSAは、TPSAが捉えきれない立体配座や分子内水素結合の影響を反映し得るため、特に環状ペプチドや中分子化合物の透過性評価に有用な指標となる可能性があります。

また、上記ではご紹介していませんが運用面ではOpen Solutionを活用しました。オープンアクセス環境の構築や自動コンディショニングなどの機能を活用し、少量多検体を高スループットで処理しつつ安定したデータ品質を維持でき、創薬や中分子研究のスクリーニング・候補選定プロセスの迅速化が期待できます。 詳細は、上部 Application からアプリケーションニュースをご覧ください。

超臨界流体クロマトグラフシステム

Nexera UC

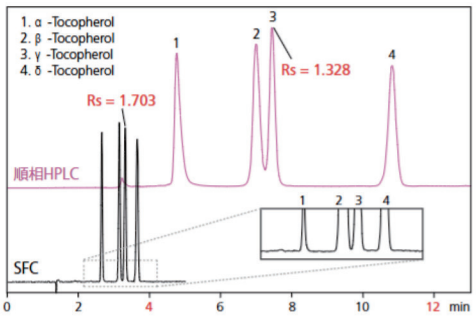
Product

■製品の特長

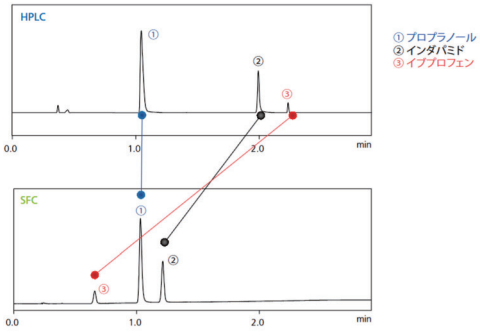
近年、カラム技術および装置技術の進歩を背景に、液体に比べて低粘性・高拡散性を有する超臨界流体を移動相に用いる超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）が注目されています。SFC は、HPLC とは異なる保持挙動により新たな分離選択性をもたらし、高速かつ高効率な分離が期待できます。Nexera UC は、こうした SFC の特長を活かし、分析から分取まで対応する幅広いシステムラインアップにより、メソッド開発の効率化、装置稼働率の向上、分取精製業務の効率化に貢献します。

究極の高速・高分離化

高い拡散係数と低粘性を有する超臨界 CO_2 を移動相に用いることで、高流速条件でも分離性能を維持しやすく、分析時間の短縮が期待できます。さらに、HPLC とは異なる保持挙動により、従来分離が難しかった成分に対しても新たな分離の可能性を広げます。



HPLC と SFC によるトコフェロール異性体の分離比較



HPLC と SFC による医薬品成分の分離比較

LabSolutions MD が SFC の分析法開発を強力に支援

SFC では、カラムやモディファイアーの組成、グラジエント条件、カラム温度、BPR 圧力など、さまざまなパラメータの調整によって分離を最適化できます。LabSolutions MD は、これらのパラメータが分離に与える影響を、マトリックスビューやデザインスペースにより視覚的に把握・比較でき、効率的な条件検討を支援します。

少量分取に対応　ー分析フラクションシステムにアップグレードー

Nexera UC にフラクションコレクターを追加することで、分析フラクションシステムへのアップグレードが可能です。メソッドスカウティングによる条件検討から、数 mg オーダーの少量分取までを同一システムでシームレスに実現し、開発から回収までのワークフローを効率化します。



用途に応じて選べるシステム構成

分析対象やワークフローに応じて、検出器や周辺機器を組み合わせた最適なシステム構成を選択できます。スクリーニングから高分離分析、分取まで、目的に合わせた柔軟な運用を支援します。



SFC-UV/SFC-MSシステム



キラルスクリーニングシステム



Nexera UC/s UHLC/SFC切替システム

全多孔性有機シリカハイブリッドカラム

Shim-pack Scepter シリーズ

Product

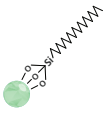
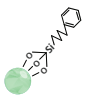
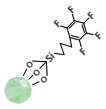
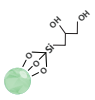
benefits

- 中分子、高分子に適したワイドポア型の充填剤など種類豊富な固定相ラインアップ
- 有機シリカハイブリッドによる高pH移動相に対する高い耐久性
- バイオイナートコーティングによる吸着抑制

■製品の特長

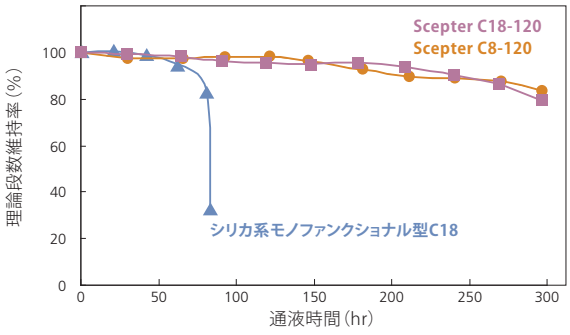
種類豊富な固定相により幅広い分離選択性を実現

Shim-pack Scepter シリーズは直鎖アルキル鎖系の C4、C8、C18 の他、Phenyl、PFPP、Diol と、分離性能の異なる豊富な固定相ラインアップを有します。また、C4、C18 には中分子、高分子向けに最適化したワイドポア型の充填剤があり、幅広い化合物に対して優れたクロマトパフォーマンスを発揮します。

	逆相							HILIC
	C18-120	C18-300	HD-C18	C8-120	C4-300	Phenyl	PFPP	Diol-HILIC
構造								
官能基タイプ	Octadecyl groups		Octadecyl groups (高官能基密度タイプ)	Octyl groups	Butyl groups	Phenylbutyl groups	Pentaflorophenyl propyl groups	Dihydroxypropyl groups
基材	Organic Silica Hybrid							
粒子径 (μm)	1.9, 3, 5							
細孔径 (nm)	12	30	8	12	30	12		
エンドキャップ	独自						No	
使用可能pH範囲	1 - 12				1 - 10		1 - 8	2 - 10
水100％移動相の使用	Yes	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	N/A
USP コード	L1		L1	L7	L26	L11	L43	L20

高pH移動相における耐久性

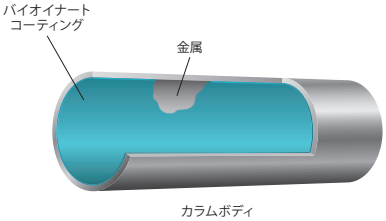
Shim-pack Scepter に用いている有機シリカハイブリッド基材は、高い耐久性を有し、酸性から塩基性まで幅広い pH の移動相条件で使用可能です。以下に酸性、中性、塩基性条件における Shim-pack Scepter 逆相カラムの耐久性を示しています。
市販の C18 カラムに比べ長期にわたり安定したカラム性能を示します。



Mobile phase : 50 mmol/L triethylamine (pH 11.5)/methanol = 90/10 (v/v)
Flow Rate : 1.0 mL/min
Column temp. : 40 ˚C
Sample : Benzyl alcohol

バイオイナートコーティングによる優れた低吸着性

Shim-pack Scepter Claris はバイオイナートコーティングを施したカラムボディに Scepter 充填剤をパッキングしたカラムです。金属吸着しやすい化合物において優れた低吸着性能を発揮するカラムです。



低吸着ポリプロピレンバイアル

TORAST-H PP Vial (Screw)

Product
島津ジーエルシーWebページ

benefits

- 独自のコーティング技術でペプチドや塩基性化合物の吸着を抑制
- 低ブリードなコーティング仕様

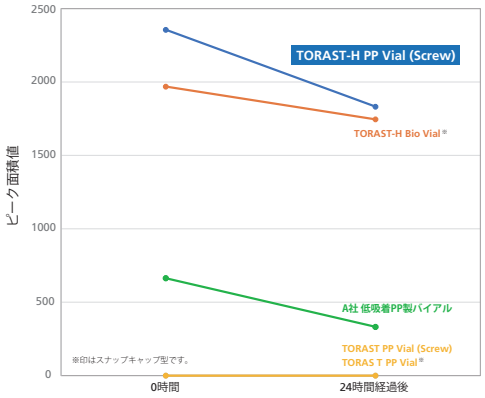
■製品の特長



TORAST-H PP Vial（Screw）は、島津ジーエルシー製のポリプロピレン（PP）製低吸着バイアルです。ペプチドや塩基性化合物に対し極めて低吸着であるため、これらの化合物の分析に最適です。ペプチドがバイアルに吸着する主なメカニズムは、疎水的吸着とイオン的吸着と言われています。PP 等の樹脂製バイアルでは樹脂との疎水的吸着が生じます。本製品は、TORAST PP Vial（Screw）に特殊コーティングを施しています。TORAST PP Vial（Screw）の特長である機能性と利便性を追求した設計を引き継ぎつつ、疎水的吸着を抑制しています。本製品は吸着の影響が大きい低濃度試料の分析の信頼性確保に貢献します。

低濃度試料分析の信頼性確保

以下はバイアルにサンプルを添加し、0, 24 時間経過後に LC/MS で測定したときのピーク面積値です。TORAST-H PP Vial（Screw）と TORAST-H Bio Vial ではピークが検出できているのに対し、低吸着処理をしていない TORAST PP Vial（Screw）や TORAST PP Vial ではピークが検出できていません。また、A 社低吸着 PP 製バイアルは、サンプルの吸着によってピーク面積値が小さくなっています。

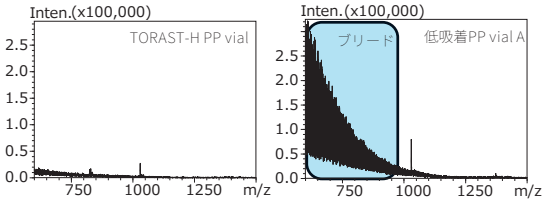


吸着試験結果

Instruments	Nexera X2, LCMS-2020
Column	Shim-pack Arata C18 (2.0 mmI.D. x 150 mmL., 5 µm)
Mobile Phase	A：0.1% HCOOHaq., B：0.1% HCOOH in MeCN, Gradient
Detection	ESI Positive, SIM
Flow rate	0.2 mL/min.
Column temp.	40 ℃
Inj. Volume	1 µL
Sample	0.1 µg/mL Peptide

低ブリードなコーティング仕様

コーティング技術を用いた低吸着バイアルの中には、コーティングが剥がれることによってブリードが検出されることがあります。
以下はバイアルにサンプルを添加し、LC/MS でプリカーサーイオンのスキャンを行った結果です。低吸着 vial A では m/z =500-1000 の広範囲にブリードが確認されたのに対し、TORAST-H PP vial ではブリードは検出されませんでした。



Instruments	Nexera X3, LCMS-8060RX
Column	Shim-pack Scepter ClarisC18-120 (2.1 mmI.D. x 100 mmL., 1.9 µm)
Mobile Phase	A：1% HCOOHaq., B：1% HCOOH in MeCN, Gradient
Detection	ESI Positive, Scan (m/z = 500-2000)
Flow rate	0.3 mL/min.
Column temp.	65 ℃
Inj. Volume	2 µL
Sample	0.1 µg/mL semaglutide

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。

製品情報　価格お問合せ

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
（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

初版発行：2026年11月　3656-09614-PDFIT