

# LC TALK

Vol. 107  
April 2019



Talk アミノ酸精密メタボロミクス研究 ..... P. 2

in the LAB よくあるトラブルと対処法 ベースラインノイズの増大 ..... P. 4

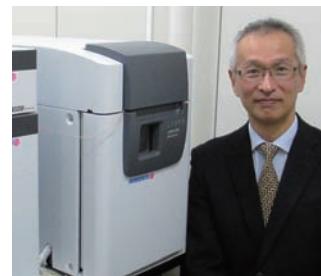
Applications 皮膚感作性試験DPRA（ペプチド結合性試験） ..... P. 6

Products Q-TOF 高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-9030 ..... P. 9

超高速液体クロマトグラフ Nexera series ..... P. 12

## Talk

## アミノ酸精密メタボロミクス研究



味の素株式会社 バイオ・ファイン研究所  
中山 聰

私たちのグループでは、アミノ酸やその関連物質を中心とした生体代謝物の測定を主要業務の一つとして行っています。いわゆるメタボロームに属する内容ですが、一般的なメタボローム研究とは少し異なるアプローチをしています。私たちが開発している分析法では測定ターゲットはせいぜい20～40程度と少なく、1サイクルも15～30分と今どきの測定方法としては少し長めです。血液検体中のアミノ酸濃度が疾患により変動することは古くから知られていますが、先天性代謝異常を除けばその変動はあまり大きくありません。そのわずかな変動を捉えるため、精確性（真度+精度+再現性）を優先した測定を行っているわけです。特に血漿中遊離アミノ酸については、採血から測定まで標準化された分析法<sup>1)</sup>を多くの共同研究者とともに開発し、医薬品開発の世界のスタンダードとなっているBMV（Bioanalysis Method Validation）ガイドライン<sup>2)</sup>を上回る基準で管理・運用をしています。

BMVガイドラインの基準である「真度100±15%、精度15%以内」というのは、医薬品開発で要求される精確性と日常の管理の手間のバランスがとられており、ある意味運用しやすい基準です。この基準より厳しい管理をするとなると、注意を払わなければいけない事項が飛躍的に増えます。標準品の品質、前処理操作、試料の安定性などはもちろん、使っている容器の形状や材質まで幅広く管理を行うことが求められます。分析的に取り扱いやすく、生体内代謝物としては存在量も多いアミノ酸ですら測定に際しては多くのトラップ（注意ポイント）があります。

その中でも、測定装置/測定法の堅牢性は重要な要素の一つとなります。私たちはヒト血漿中の遊離アミノ酸濃度を(株)島津製作所と共同開発した自動プレカラム誘導体化機能付LC/MS装置「UF-Amino Station」を用いて測定しています。(株)島津製作所の開発陣の英知が詰まったシステムではあります、「プレカラム誘導体化」「多成分（数10種のアミノ酸）

分離」「MS検出」など変動要因の多い装置/測定法をBMVガイドラインの基準を上回るレベルで運用しているわけですので、装置状態には常に神経を尖らせています。10年近くシステムを運用しノウハウも蓄積してきましたので、現在では部品の経年劣化以外のトラブルはほとんど発生しない状態で稼働しています。このノウハウは装置点検を行っている(株)島津アクセスの協力も得て昨年末にマニュアル化されており、装置を使用していただく研究者の方々に活用いただけるようになっています。また、装置の課題についても開発陣の方々と議論をさせていただいているので、今後一層堅牢性が高い装置の開発が期待されます。日頃お世話になっている(株)島津製作所、及び、(株)島津アクセスの方々に紙面を借りて御礼申し上げたいと思います。

メタボローム研究において分析の精確性が重要であるということは、測定の実務を行っている研究者にとっては共通の問題意識となっているのではないかと思います。「生体内代謝物の濃度はコントロールされていて疾患等による変動幅が思ったよりも大きくなない」というのは、アミノ酸に限った話ではありません。網羅的に数100～1000の代謝物を一斉に高速分析できたとしても、その精確性が悪ければ微小な変動を捉えることはできません。私たちが測定ターゲットを絞り、分析時間も長めにすることで、選択性を上げ、マトリックス効果の軽減に努めている理由はここにあります。この考え方は、測定化合物群を絞り込む「ターゲットメタボロミクス」という研究の方向性と合致しており、近年は評価されつつあるよう感じています。ただ、分析の精確性の良さというのはどうしても目新しさに欠けるようで、論文上で理解してもらうのはとても難しいようです。レビューのコメントを見るたびに、分析の「質」を感覚的に表現できる手法の必要性を感じています。きっと、私たちクロマト研究者に課せられた課題なのだと思います。

そんな評価を受けながらも、苦労して論文投稿した分析法を一つ紹介したいと思います。軸不斉骨格を有する新規キラル誘導体化試薬 (*R*)-BiACを用いたD,L-アミノ酸分析法です。LC-MS/MSを用いて、タンパク質構成アミノ酸19種類を分離度1.9以上でキラル分割することができます。19種全てのD-アミノ酸がL-アミノ酸よりも前に溶出するように設計されており、100倍以上の濃度差があっても微量のD-アミノ酸を捉えることが可能です。この性能を持って、1サイクルは約15分。わかる人にはわかってもらえる「高速分析法」です(図1)。

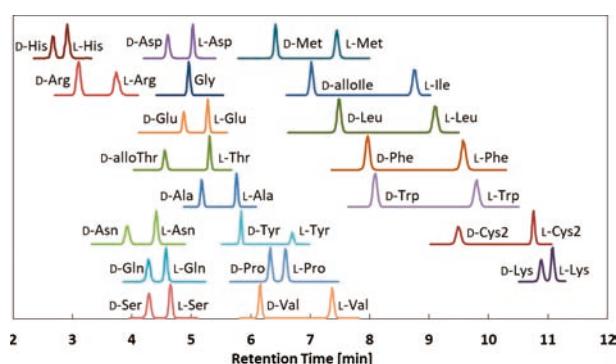


図1 (*R*)-BiAC試薬を用いたD,L-アミノ酸のクロマトグラム

本試薬はLC-MS用に設計されており、MS感度を向上させる官能基をもたせることで1インジェクションあたりattoモルレベルでの高感度を達成しています<sup>3)</sup>(図2)。

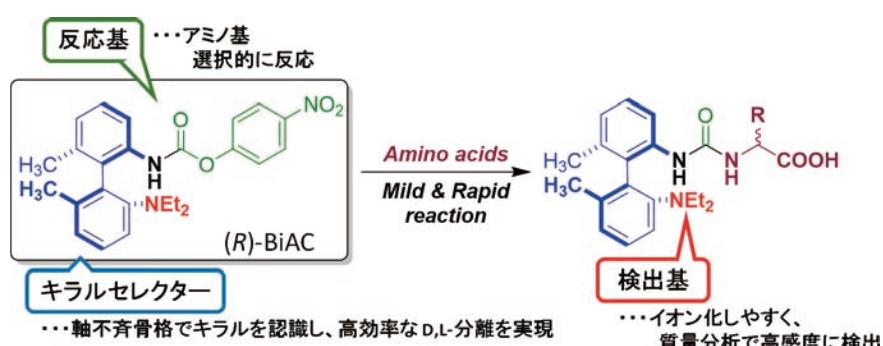


図2 (*R*)-BiAC試薬の設計コンセプトとアミノ酸との反応

実際のD,L-アミノ酸測定ではキラル分割だけでなく、ロイシン、イソロイシンなど同じ質量をもつ他のアミノ酸類との分離も重要なポイントです。また、キラル分離では準備できる安定同位体ラベルの内標準物質に限りがあることから、マトリックス効果の影響を最小限にするためにも保持時間の再現性が必要となります。一般に、分析時間が短くなるほどナーバスな装置設定が要求され、分離や保持時間を一定に保つことが難しくなります。私たちの研究目的である「精密メタボロミクス」の特徴を出すためには、これ以上の高速化はまだまだ難しいようです。

D,L-アミノ酸分析は日本のチームの研究が先導しており、高い選択性を有する多次元分析法(九州大学)や誘導体なしで簡易的に測定ができるキラルカラムLC-MS法(大阪大学)など優れた分析法が開発されD-アミノ酸研究が広がっています。私たちも自身の分析法の特徴を生かして、D-アミノ酸研究の世界を切り開いていきたいと思っています。

## 参考文献

- 1) 中山聰, 宮野博, ぶんせき, No.2, 58-66 (2019)
- 2) 「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」について 薬食審査発0711第1号 (平成25年7月11日)
- 3) M. Harada, S. Karakawa, et al., *J. Chromatogr. A*, in press, doi: 10.1016/j.chroma.2019.01.075
- 4) K. Hamase, A. Morikawa, et al., *J. Chromatogr. A*, 1143, 105-111 (2007)
- 5) Y. Nakano, Y. Konya, et al., *J. Biosci. Bioeng.*, 123, 134-138 (2017)

## 執筆者紹介

1994年に東京大学薬学系研究科修士課程卒業後、味の素株式会社に入社。医薬品開発の分析業務(薬物動態、規格設計)に20年ほど従事。2016年よりアミノ酸類の精密メタボロミクスや無機分析など定量を主業務とするグループのマネージャーに従事し、現在に至る。

専門分野 クロマトグラフィー、Regulated Bioanalysis 将来の夢 気ままな国内外への旅行 趣味 テニス、スナップ写真

## in the LAB

# よくあるトラブルと対処法

## ベースラインノイズの増大

島津総合サービスリサーチセンター  
三上 博久

今号のテーマは、日常分析、特に高感度分析時でしばしば遭遇する「ベースラインノイズの増大」です。

ベースラインノイズが増大する主な原因としては、図1に示すようなことが考えられます。ノイズが増大した場合には、まずポンプの動作とノイズ周期が一致するかを確認して、原因がポンプ関連かそれ以外かを切り分けます。

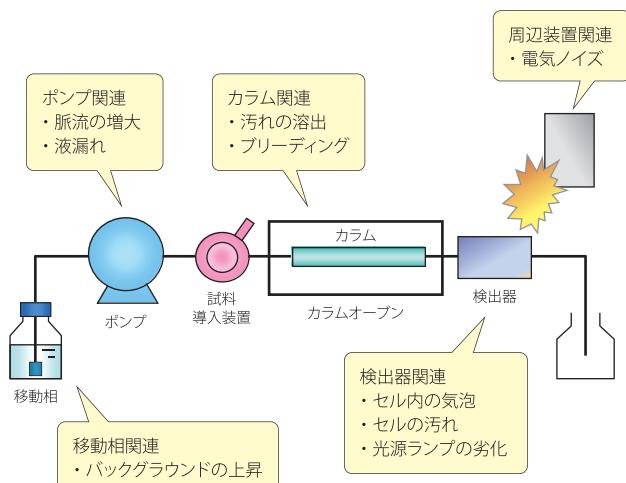


図1 ベースラインノイズ増大の主な原因

### 1. ポンプ関連

#### ● 脈流の増大

ポンプの動作とノイズ周期が一致する場合、ポンプヘッド内の気泡やチェックバルブの動作不良等により生じる脈流が原因している可能性があり、この時圧力変動が通常より大きくなります。脈流の影響は、示差屈折率検出器、電気伝導度検出器、電気化学検出器などで受けやすく、吸光光度検出器でも短波長域で使用時には可能性があります。

ポンプ内の気泡はドレインバルブを開けてバージしますが、抜けにくい時には、ドレインチューブの先に注射器を取り付けて吸引除去します。

チェックバルブは、ポンプから取り外して超音波洗浄します。チェックバルブは精密部品ですので、一般的に分解洗浄はできません。チェックバルブには、ポンプの入口側用と出口側用があり、逆に取り付けると機能しません。くれぐれもご注意ください。

#### ● 液漏れ

ポンプからの液漏れが確認されたら、プランジャーシールを交換します。プランジャーを交換しても液漏れが止まらない場合には、プランジャーの傷が疑われます。(ポンプ関連のトラブル対処につきましては、本誌“Special Issue IX”P.6-7をご参照ください。)

### 2. 移動相関連

#### ● バックグラウンドの上昇

使用する検出器のバックグラウンド上昇を起こす移動相でないかを確認します。例えば、吸光光度検出器の短波長域におけるカルボン酸塩緩衝液(図2)の使用、蒸発光散乱検出器における不揮発性塩、不揮発性添加剤入り有機溶媒の使用などは要注意です。また、装置流路やカラムの洗浄が不十分で、これら試薬類が残っているとノイズの原因になります。



図2 緩衝液に用いられるカルボン酸塩

日常使用している移動相の場合では、移動相への不純物の混入、移動相調製に用いる試薬や溶媒、さらにガラス容器や移動相ボトルの汚染も疑われます。これらに注意して、移動相の再調製を行ってみましょう。

### 3. カラム関連

#### ● 汚れの溶出

ベースラインドリフトの場合と同様、別の分析条件で使用していた時の汚れが原因となることもあります。カラムの使用履歴を確認して洗浄します。

#### ● ブリーディング

ブリーディングは、充填剤由来の成分（充填剤基材、固定相成分、製造時の残存試薬や不純物など）がカラムから徐々に溶出する現象です。特に、不揮発性成分の溶出が質量分析計、蒸発光散乱検出器などにおけるノイズ増大の原因となります。また、質量分析計では、分析種のイオン化を抑制して感度低下の原因になります。まず、取扱説明書に従ってカラムを洗浄します。洗浄で効果がない時には、ブリーディングの少ないカラムの選択が必要です。

### 4. 検出器関連

#### ● セル内の気泡

フローセル内に気泡が入り込むと、図3に示すような症状が観測されます。

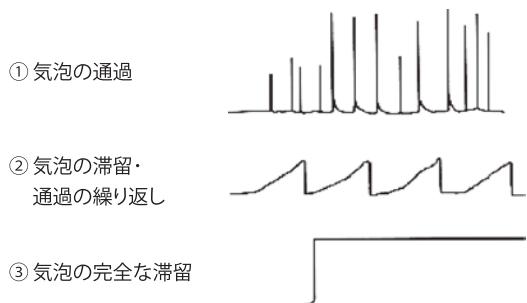


図3 セル内の気泡による主な症状

このような症状が出た時には、次項のセル洗浄のように注射器を用いるか、図4のようにセル出口に背圧管（内径0.3 mm、長さ1～2 m程度）を取り付けて気泡を追い出します。

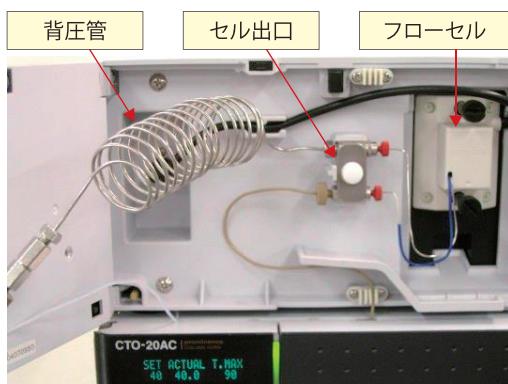


図4 セル出口への背圧管の取り付け例（吸光光度検出器）

ただし、背圧管を付ける際には、必ず取扱説明書でセルの耐圧を確認してください。

#### ● セルの汚れ

セルが汚れると光量が減少して、ノイズが増大することがありますので、光量をチェック（多くの装置で可能）します。セルの洗浄は、注射器を用いて行います。洗浄溶媒としては、2-プロパノール（脂溶性の汚れを除去する時）などを用います。塩を含む移動相を使用している場合には、洗浄前後、水で十分置換します。セル部の分解洗浄については、取扱説明書をご覧ください。

#### ● 光源ランプの劣化

光源ランプは、取扱説明書記載の交換目安時間に応じての交換が必要です。ランプの積算点灯時間が記憶できる装置では、必ず確認しましょう。特に、蛍光検出器で用いるキセノンランプは、定格寿命を超えて使用すると破裂することもありますので、ご注意ください。ランプ交換は、以下の点に留意して慎重に行います（図5）。

- ・作業前に検出器の電源をOFFにして、電源プラグをコンセントから抜く。
- ・作業は、ランプが十分冷えてから行う。
- ・保護具（保護面）、長袖の衣類、手袋（軍手など）を着用する。万一、素手でランプに触れた時には、エタノールに浸したガーゼなどで拭き取る。
- ・ランプは丁寧に扱い、決して衝撃を与えない。



図5 ランプ交換の例（吸光光度検出器）

### 5. 周辺装置関連

#### ● 電気ノイズ

お使いのHPLC装置周辺にある装置からの電気ノイズが原因になることもあります。新たな装置を周辺に設置した時などには、特にご注意ください。また、コンセントの位置や同じコンセントで使っている装置が関係することもあります。

## Applications

# 皮膚感作性試験DPRA（ペプチド結合性試験）

グローバルアプリケーション開発センター  
野村 文子

私達の日常生活において、化学物質はあらゆる場面において使用、利用されている一方で、ヒトに悪影響を与える可能性もあります。

ここでは、化学物質に対する皮膚への感作性試験の一例であるDPRA (Direct Peptide Reactivity Assay : ペプチド結合性試験)について、「TG442C OECDの化学物質の試験に関するガイドライン *in Chemico* 皮膚感作性:ペプチド結合性試験 (DPRA)」<sup>1)</sup>を参考に、一体型高速液体クロマトグラフ "Prominance-i" を用いて分析を行った例をご紹介します。

### 1. 皮膚感作性の評価とDPRA

皮膚感作性の評価は動物試験法が主流でしたが、2013年に欧州における化粧品の動物実験が完全禁止となり、動物を用いない代替試験法が求められています。DPRAはその代替法の1つであり、発症機序に基づき化学物質(以下、「被験物質」と)とペプチドの結合性を *In Chemico* で調べることによって、皮膚感作性の有無を評価する方法です。

ペプチドには、システインを含むものとリジンを含むものの2種を使用し、これらと被験物質を混合、24時間反応させた後、HPLCを用いてペプチドの減少率を求めます。得られた各ペプチドの減少率から、被験物質の皮膚感作性を評価します。

### 2. 被験物質

今回は、被験物質として上記ガイドラインの「補遺2」に記載されている習熟度評価<sup>2)</sup>用物質から、感作物質のホルムアルデヒド (strong)、ベンジリデンアセトン (moderate) および非感作物質の乳酸で試験を行い、システイン含有ペプチドとリジン含有ペプチドの減少率を求めました。

### 3. 溶液の調製

各被験物質は、アセトニトリルを用いて 100 mmol/L に調製しました。システイン含有ペプチド およびリジン含有ペプチド (株式会社スクラム) の溶液は、分析直前にそれぞれ緩衝液を用いて、0.667 mmol/L に調製しました。各溶液を表1および表2に示すように混合し、これら溶液をガラスバイアルに入れ、Prominance-i のオートサンプラーのラック温度を 25 °C に設定し、24 時間インキュベートしました。

基準対照とは、インキュベートなどの操作や分析中にペプチドの増減がないことを確認するための試料であり、基準対照 A ~ C を調製します。基準対照 A を連続分析の最初に測定し、HPLC システムの適合性を検証します。基準対照 B を試験溶液測定前と後に測定し経時的な安定性を、また基準対照 C を試験溶液とセットで測定し試料溶媒がペプチド減少率に影響しないことを検証します。共溶出対照とは、ペプチド溶出位置に夾雑成分の溶出がないかを確認するための試料です。また、陽性対照はペプチドの減少率が既知の成分で、一連の操作や分析が上手く行えているか検証するための試料で、シンナムアルデヒドを用いました。

表1 システイン含有ペプチドと各試験溶液の調製

	ペプチド溶液	pH7.5 りん酸塩緩衝液	アセトニトリル	被験溶液
基準対照	750 µL	—	250 µL	—
試験溶液	750 µL	—	200 µL	50 µL
共溶出対照	—	750 µL	200 µL	50 µL

表2 リジン含有ペプチドと各試験溶液の調製

	ペプチド溶液	pH10.5 酢酸アンモニウム緩衝液	アセトニトリル	被験溶液
基準対照	750 µL	—	250 µL	—
試験溶液	750 µL	—	—	250 µL
共溶出対照	—	750 µL	—	250 µL

## 4. 分析

24時間インキュベート後、各溶液を表3の順序で、表4に示す条件で分析を行いました。各溶液は、ペプチドの標準溶液と共に溶出対照以外は3回分析し、ばらつきなく測定できているかを確認します。図1と図2に、システイン含有ペプチドおよびリジン含有ペプチドの検量線を示します。いずれも良好な直線性が得られました。

表3 HPLC分析順序

試料名	コメント
STD1	ペプチド溶液 検量線用標準溶液
STD2	ペプチド溶液 検量線用標準溶液
STD3	ペプチド溶液 検量線用標準溶液
STD4	ペプチド溶液 検量線用標準溶液
STD5	ペプチド溶液 検量線用標準溶液
STD6	ペプチド溶液 検量線用標準溶液
STD7	ペプチド溶液 検量線用標準溶液
基準対照A	基準対照A 1回目
基準対照A	基準対照A 2回目
基準対照A	基準対照A 3回目
共溶出対照	陽性対照 (シンナムアルデヒド)
共溶出対照	ホルムアルデヒド
共溶出対照	ベンジリデンアセトン
共溶出対照	乳酸
基準対照B	基準対照B 1回目
基準対照B	基準対照B 2回目
基準対照B	基準対照B 3回目
基準対照C	基準対照C 1回目
試験溶液	陽性対照 (シンナムアルデヒド) 1回目
試験溶液	ホルムアルデヒド 1回目
試験溶液	ベンジリデンアセトン 1回目
試験溶液	乳酸 1回目
基準対照C	基準対照C 2回目
試験溶液	陽性対照 (シンナムアルデヒド) 2回目
試験溶液	ホルムアルデヒド 2回目
試験溶液	ベンジリデンアセトン 2回目
試験溶液	乳酸 2回目
基準対照C	基準対照C 3回目
試験溶液	陽性対照 (シンナムアルデヒド) 3回目
試験溶液	ホルムアルデヒド 3回目
試験溶液	ベンジリデンアセトン 3回目
試験溶液	乳酸 3回目
基準対照B	基準対照B 4回目
基準対照B	基準対照B 5回目
基準対照B	基準対照B 6回目

## 5. 許容基準の評価

一連の分析結果から、許容基準の評価（次頁表5）を行いました。今回の測定で、全ての項目において基準を満たしていることがわかりました。

表4 分析条件

装置 : Prominence-i 3D  
カラム : Shim-pack HR-ODS\*  
(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$ )  
流量 : 0.35 mL/min  
移動相 : A) 0.1 % トリフルオロ酢酸水溶液  
B) 0.085 % トリフルオロ酢酸-アセトニトリル  
グラジエント溶離  
B濃度 10 % (0 min)  $\rightarrow$  25 % (10 min)  
 $\rightarrow$  90 % (11 ~ 13 min)  $\rightarrow$  10 % (13.5 ~ 20 min)  
温度 : 30 °C  
検出器 : フォトダイオードアレイ検出器 220 nm  
注入量 : 7  $\mu\text{L}$

\* ガードカラム使用

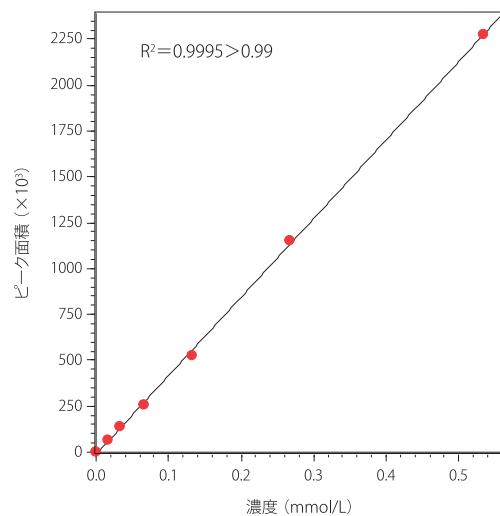


図1 システイン含有ペプチド検量線

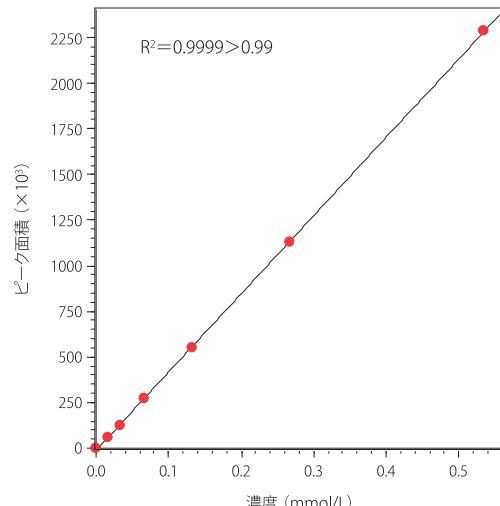


図2 リジン含有ペプチド検量線

## 6. 習熟度試験の結果

図3と図4に、システイン含有ペプチドおよびリジン含有ペプチド標準溶液となる基準対照Cと陽性対照、各試験溶液のクロマトグラム(各1回目のデータ)を示します。各試験溶液の3回繰り返し分析結果から各ペプチド減少率の平均を算出した結果(表6)、「補遺2」の習熟度評価で示されているペプチド減少率の範囲内になりました。

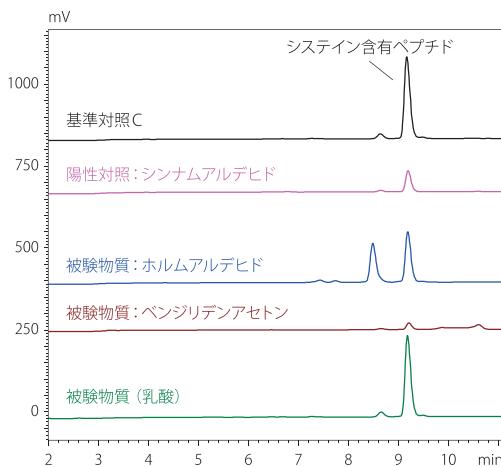


図3 システイン含有ペプチドのクロマトグラム

## 7. まとめ

ホルムアルデヒド、ベンジリデンアセトン、乳酸について皮膚感作性DPRA試験を行いました。被験物質とペプチドの24時間インキュベーションは、Prominence-iのオートサンプラーのラック(25 °C)を用いて行いました。試験における許容基準を全て満たし、習熟度評価も良好な結果が得られました。

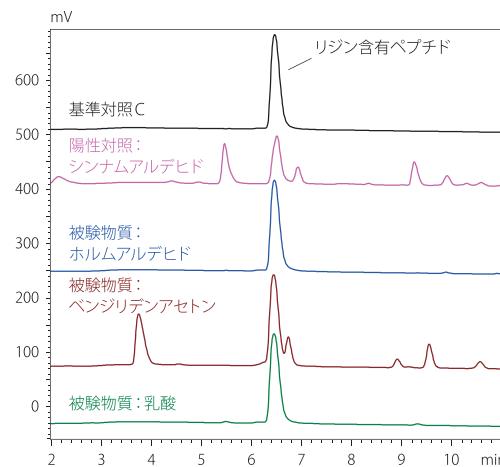


図4 リジン含有ペプチドのクロマトグラム

表5 許容基準の結果

試料名	システイン含有ペプチド	システイン含有ペプチド	基準	判定
検量線 R <sup>2</sup>	0.999	0.999	>0.99	OK
陽性対照シンナムアルデヒド 3回反復測定におけるペプチド減少率*の平均	77.1 %	51.2 %	システイン含有ペプチド: 60.8 ~ 100 % リジン含有ペプチド: 40.2 ~ 69.0 %	OK
陽性対照シンナムアルデヒド3回反復測定におけるペプチド減少率の標準偏差	0.8 %	1.2 %	システイン含有ペプチド: 14.9 %未満 リジン含有ペプチド: 11.6 %未満	OK
基準対照A 3回繰り返し分析濃度平均	0.49 mmol/L	0.50 mmol/L	0.50±0.05 mmol/L	OK
基準対照BおよびC 9回分析のピーク面積の変動係数	3.7 %	0.3 %	15.0 %未満	OK
被験物質「ホルムアルデヒド」 減少率の標準偏差	0.6 %	0.1 %	システム含有ペプチド: 14.9 %未満 リジン含有ペプチド: 11.6 %未満	OK
被験物質「ベンジリデンアセトン」 減少率の標準偏差	0.3 %	0.3 %		OK
被験物質「乳酸」 減少率の標準偏差	1.8 %	0.1 %		OK
基準対照C 3回反復測定におけるペプチド濃度の平均	0.50 mmol/L	0.51 mmol/L	0.50±0.05 mmol/L	OK

\* ペプチド減少率: [(1 - (反復分析におけるペプチドのピーク面積)) / (基準対照Cにおけるペプチドピーク面積の平均)] × 100

表6 習熟度評価

	システイン含有ペプチド 減少率の平均 (%)	リジン含有ペプチド 減少率の平均 (%)	OECD/OCDE TG442C 補遺2記載		判定
			システイン含有ペプチド 減少率の範囲 (%)	リジン含有ペプチド 減少率の範囲 (%)	
ホルムアルデヒド(感作物質 strong)	41.7	1.7	30 ~ 60	0 ~ 24	OK
ベンジリデンアセトン(感作物質 moderate)	92.7	3.8	80 ~ 100	0 ~ 7	OK
乳酸(非感作物質)	5.5	1.2	0 ~ 7	0 ~ 5.5	OK

1) TG442C OECDのガイドライン推奨の下記プロトコルを参考にして分析を行いました。

EURL ECVAM動物実験代替法データベースサービス(DB-ALM) Protocol no 154: Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA) for Skin Sensitisation Testing

2) 習熟度評価: DPRAに期待する結果を正確に得る技術的習熟度を立証する目的で、指定した物質のペプチド減少率について範囲内の結果が得らるかをみるもの。

## Products

# Q-TOF 高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS-9030

MSビジネスユニット  
松原 稔哉、奥村 大輔

Q-TOF質量分析計は、四重極 (Quadrupole) と飛行時間 (Time-of-Flight, TOF) という二種類のイオン質量分離機構を持ち、質量分析計の中でも特に精密な質量測定が可能な高分解能精密質量分析装置 (HRAM: High Resolution Accurate Mass Spectrometer) に分類される装置です。LCMS-9030は、Q-TOF質量分析計に求められる性能、「高感度」、「高速」、「高分解能」の全てを高いレベルで実現した島津初のQ-TOF質量分析計です。製薬、マルチオミックス、環境、法医学、食品などの研究分野において、複雑な化合物の高精度な定性・定量分析を可能にし、構造解析に有効な情報を得られる高分解能精密質量分析計です。



### 1. LCMS-9030 の特長

LCMS-9030のイオン導入部からイオン分離部は、定評あるトリプル四重極質量分析計LCMS-8000シリーズの高速性能と高いイオン収束力を継承しており、新開発したTOF部へとイオンを効率良く導きます。高強度微細格子電極 "Ufgrating"、理想リフレクトロン "iRefTOF"、高精度温度コントロールシステムといった島津オリジナルの技術により、優れた質量精度および高感度

と高分解能の両立を実現しました。特に、HRAMとしての要である質量精度に最も寄与しているのが高精度温度コントロールシステムです。ラボの室温変化などの外的要因による精密質量変化を抑制するため、TOF部に配置するヒーターおよび温度センサーの位置を最適化して、堅牢性の高い温度コントロールを行い、長時間の高い質量精度安定性を実現しています。

#### ● LCMS-8060 から継承された技術



#### ● TOFの新技術: Effortless Performance

##### UFgrating™

イオン射出に用いる高強度微細格子電極で、イオン熱運動を抑え高い質量精度を実現しています。SNの向上、定性業務の負担軽減に寄与します。

高い質量精度で、定性・定量業務を推進

##### UF-FlightTube™

ヒーター・センサー配置の最適化とロバストな制御方式により、質量精度が長時間安定しています。質量校正や解析時の質量補正の手間を軽減します。

安定した質量精度で、分析～解析の負担を軽減

##### iRefTOF™

電位分布を最適化した理想的なリフレクトロン (ideal Reflectron) で、高分解能と高感度の両立によりシンプルな分析モードを実現しました。

分解能と感度の両立てで、メソッド設定を簡素化

## 2. 卓越した質量精度安定性

### ● 60時間連続分析における堅牢性

フライトチューブ温調に採用された高精度温度コントロールシステム "UF-FlightTube" は、通常ラボ環境下での堅牢性の向上に寄与します。これにより、卓越した質量精度の安定性を実現しました。

図1に、質量安定性試験例として、一般ラボ環境下における室温変化と連続分析における質量誤差の推移を示します。表

1に示す分子量100 Daから1000 Da前後の多様な化合物をTOF校正なしで60時間連続分析し、各化合物における理論値からのマスズレ ( $\Delta m/m$  [ppm]) をプロットしました。この結果から、室温が変動する一般ラボ環境においても、広い  $m/z$  範囲で長時間にわたって安定した質量精度が得られることが示されました。

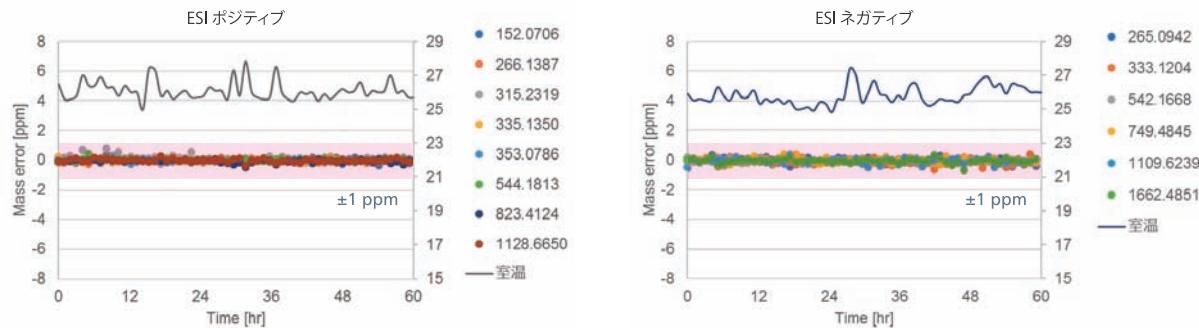


図1 質量精度安定性試験例

表1 分析化合物リスト

ESI ポジティブ			
化合物名	理論 $m/z$	化合物名	理論 $m/z$
Acetoaminohen	152.0706	Griseofulvin	353.0786
Anisomycin	266.1387	Doxorubicin	544.1813
Progesterone	315.2319	Rifampicin	823.4124
Mitomycin C	335.1350	Valinomycin	1128.6650

ESI ネガティブ	
化合物名	理論 $m/z$
Tubercidin	265.0942
Mitomycin C	333.1204
Doxorubicin	542.1668
Salinomycin	749.4845
Valinomycin	1109.6239
Thiostrepton	1662.4851

### ● 幅広い濃度域における質量精度安定性

図2は、定量下限域付近での質量精度例を示します。10～500 pg/mLのベラパミルを表2の分析条件で測定し、各濃度におけるマススペクトルの質量精度を調べました。10 pg/mLの低濃度域で、1 ppm以下の極めて良好な質量精度を維持していることが示されました。

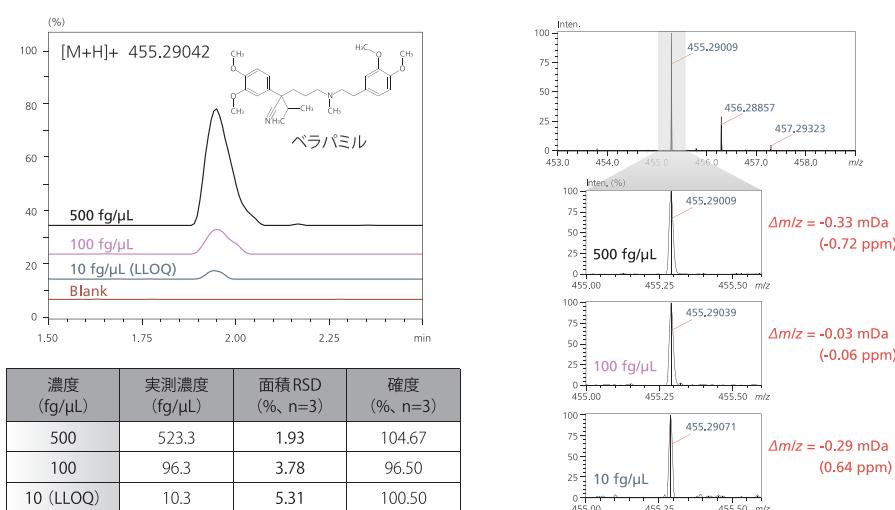


図2 低濃度域における質量精度例

表2 分析条件

カラム : Shimpact XR-ODSIII (内径 2 mm、長さ 50 mm)  
移動相 : A) 0.1 % ぎ酸/水、B) 0.1 % ぎ酸/アセトニトリル  
注入量 : 1 μL

流 量: 0.2 mL/min  
温 度: 40 °C  
イオン化: ESI ポジティブ

### 3. 高精度な構造解析と確度の高い化合物同定

#### ● 微量成分の組成推定

図3に、緑茶中に含まれる微量化合物の組成推定例を示します。市販緑茶中に含まれる微量残留農薬のピークから、組成推定によりボスカリドの組成式がトップスコアでヒットしました。表3は、組成推定条件です。標準品を用いた保持時間確認とMS/MSフラグメント比較の結果から、該当ピークがボスカリド

であることが確認されました。試料中の残留濃度は、日本国内の基準を大きく下回る0.231 ppbであることが分かりました。この結果から、複雑な実試料から微量化合物の組成を特定できることが示され、LCMS-9030が高いレベルで感度と精度、分解能を両立していることが実証されました。

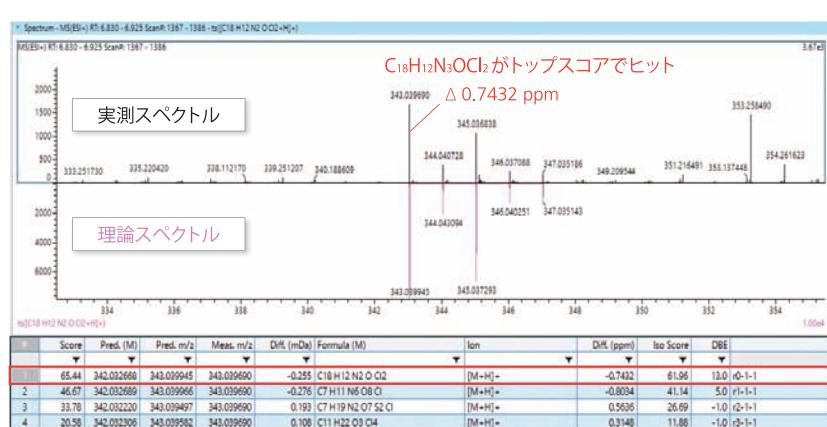


図3 緑茶中に含まれる微量化合物の組成推定例



表3 元素テーブル (組成推定条件)

元素	Min	Max
Carbon	0	150
Hydrogen	0	300
Nitrogen	0	12
Oxygen	0	12
Fluorine	0	12
Sulphur	0	12
Chlorine	1	12

#### ● 高いMS/MS質量精度

LCMS-9030は、MS測定だけでなく、MS/MS測定においても高感度と高い質量精度の両立を実現しました。これらは、複雑性の高い試料においても、より精度の高い構造解析と確度の高い化合物同定を可能にしました。図4は、細胞培養上清を用いたノンターゲットメタボロミクスの一例です。MSフルスキャンデータを用いて多変量解析を行った結果、経日的な量的変動が認められる未知代謝物を見出しました。組成

推定から得られた組成式を公共データベースを用いて検索したところ、N'-ホルミルキヌレニンが代謝物候補として絞り込まれました。MS/MS測定結果と、N'-ホルミルキヌレニンの構造式から予測される理論MS/MSスペクトルを比較したところ、主要なMS/MSフラグメントが、*m/z*誤差1 mDa以下の精度で理論フラグメントと完全一致しました。

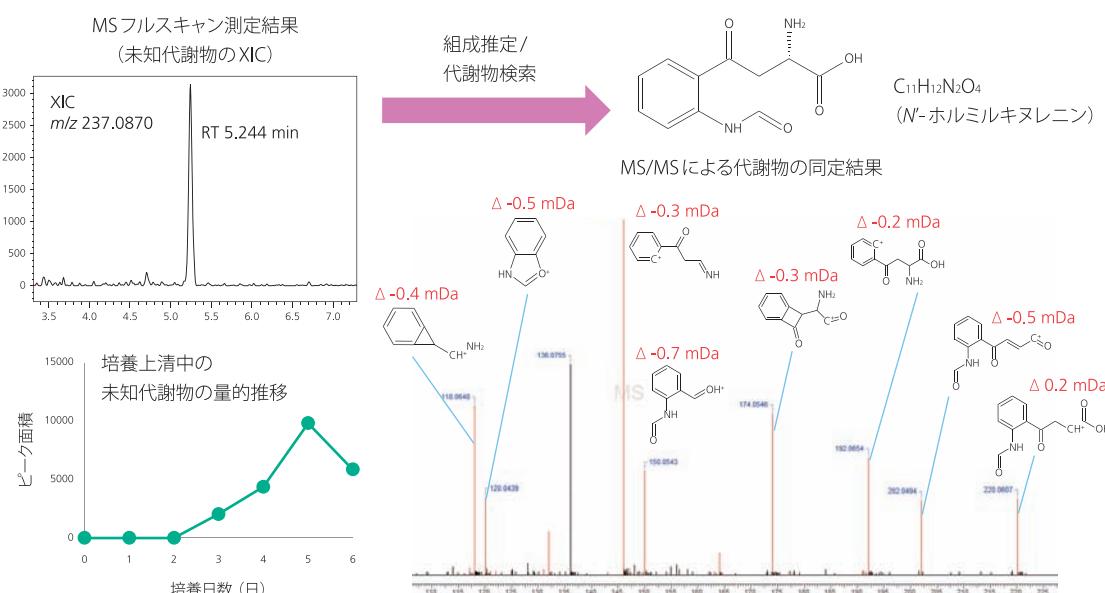


図4 細胞培養上清を用いたノンターゲットメタボロミクス分析例



超高速液体クロマトグラフ

# Nexera series

Ultra High Performance  
Liquid Chromatograph

## EXPERIENCE NEW BENCHMARKS

お客様の分析ワークフローに対するさまざまな改善要望に応えるべく、保持時間や極微量の試料注入での優れた再現性能、高速多検体分析、低キャリオーバー、試料の自動前処理技術、高感度検出、消耗部品の耐久性能向上など、高速液体クロマトグラフは常にお客様とともに進化し続けてきました。また、IoTやクラウドを活用したネットワーク技術により、ラボ内の機器情報を自動的に収集することで、装置の稼働状況を監視するだけでなく、いつでも最高の状態で装置が使用できる環境が容易に構築できるようになりました。

島津製作所は、これらの最新技術をさらに進化、融合させることで、「分析装置自身が考えて、お客様の分析ワークフローを支援する」という今までにない体験を提供します。



Intelligence、Efficiency、Designのすべてが新たな業界標準となるUHPLC。それが新しいNexera seriesです。

[Nexeraseries.com](http://Nexeraseries.com)

### 情報コーナー

公益社団法人日本分析化学会 LC/MS 分析士認証試験 2019年度は、以下の日程で実施されます。

- |                         |                          |                      |
|-------------------------|--------------------------|----------------------|
| ■ 五段認証試験：8月7日（水）、東京     | ■ 四段認証試験：9月26日（木）、東京     | ■ 三段認証試験：10月1日（火）、東京 |
| ■ 二段認証試験：11月1日（金）、東京・京都 | ■ 初段認証試験：11月27日（水）、東京・京都 |                      |

詳しくは、日本分析化学会のホームページをご覧ください。順次掲載される予定です。