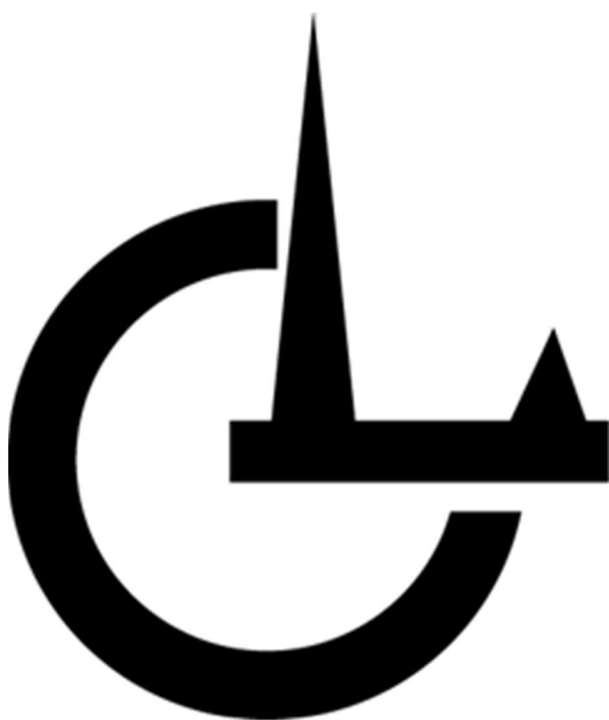


LCとLC/MSの知恵 2023年第2号(通巻第7号) 令和5年12月15日発行 ISSN 2436-1194

LC と LC/MS の知恵

Wisdom for LC and LC/MS

**The Division of Liquid Chromatography
The Japan Society for Analytical Chemistry**



(公社) 日本分析化学会
液体クロマトグラフィー研究懇談会

<https://www.lckon.org/>

LC と LC/MS の知恵

第 7 号
2023 年 12 月

目 次

巻頭言

本誌の起承転結

(LC 研究懇談会委員長、本誌編集委員長) 中村 洋 3

2023 年度 CERI クロマトグラフィー分析賞受賞業績

ペプチド吸着能のメカニズム解明及びペプチド吸着制御 LC の開発

(第一三共 (株)) 合田竜弥 5

2023 年液体クロマトグラフィー科学遺産認定業績

新規エンドキャッピング技法：シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結
合化

((株) クロマニックテクノロジーズ) 長江徳和 14

2023 年度 POTY 賞受賞業績

リモート開催各種事業の円滑運営と対面開催に向けた新たな取り組みへの貢
献

(栗田工業 (株)) 榎本幹司 23

トピックス

新規注入方式によるクロマトグラフィー性能の向上

(アジレント・テクノロジー (株)) 林 慶子、熊谷浩樹 27

編集委員紹介

液体クロマトグラフィー研究懇談会との関わり

(一般社団法人臨床検査基準測定機構) 岡橋美貴子 35

LC 研究懇談会と質量分析計との出会い

((株) 東レリサーチセンター) 竹澤正明 37

団体会員紹介

- フジクラにおける液体クロマトグラフィーの活用
(株) フジクラ 市川進矢 40
- 日本食品検査における分析法開発
(一般財団法人日本食品検査) 橘田 規 43
- 製薬企業の歴史と変化
(第一三共 (株)) 合田竜弥 47

新役員紹介

- 運営委員心得に就任して
(味の素 (株)) 大貫隆史 51
- LC 研究懇談会運営委員心得に就任して
(ジーエルサイエンス (株)) 太田茂徳 52
- LC 研究懇談会 運営委員心得に就任して
(花王 (株)) 奥田愛未 53

閑話休題

- 第 7 回 LC 懇クロスワードパズル～英単語尻取りクイズ
(東京理科大学) 中村 洋 54
- 第 6 回 LC 懇クロスワードパズル～英単語完成パズル～正解と当選者発表
(東京理科大学) 中村 洋 56

投稿規程と投稿の手引き 58

原稿執筆に際する注意 60

平仮名／漢字の使い分け等 62

2023 年度後半～2024 年度前半 LC 懇・事業カレンダー 67

奥付 68

【巻頭言】

本誌の起承転結／The Introduction, Development, Turn and
Conclusion of Our Journal

中村 洋／Hiroshi NAKAMURA

LC 研究懇談会・委員長、「LC と LC/MS の知恵」・編集委員長 ／
Chairman of the Division of Liquid Chromatography
The Japan Society for Analytical Chemistry
Editor-in-Chief of *Wisdom for LC and LC/MS*

本誌「LC と LC/MS の知恵」は、2020 年 12 月 15 日に第 1 号が発行された。丁度丸 3 年が経過した事に成る。人間で言えば満 3 歳である。創刊号の構成は、巻頭言、祝辞、総合論文、報文、技術論文、解説、トピックス、シリーズ「試料分析の定石とコツ」、会員動向、団体会員紹介、新会員紹介、投稿規程、LC カレンダー、奥付、であった。その後、ノート、CERI クロマトグラフィー分析賞受賞業績、LC 努力賞受賞業績、LC 科学遺産認定業績、先達に学ぶ、提言、新役員紹介、閑話休題（以上、第 2 号）、ノウハウ（第 3 号）、POTY 賞受賞業績（第 4 号）、人生の達人、新編集委員紹介（以上、第 5 号）、編集委員紹介（第 6 号）、など投稿欄の拡充を進め、編集委員も発足時の 6 名から第 6 号以降は 8 名に増員した。3 年が経過した今、心に浮かぶのは「桃栗三年柿八年」と言う慣用語である。これは、芽生えてから実が成る迄の年数を口調良く表現したものであり、『本誌にも漸く実が成ったか』という感慨である。桃栗三年柿八年の後に続く慣用語にも、諸説が知られている。例えば、江戸時代に松葉軒東井（ショウヨウケン トウセイ）が編集した『譬喩尽』（たとへづくし）では、「枇杷は九年でなり兼ねる、梅は酸い酸い十三年」と続く。又、地方によっては「梨はゆるゆる十五年、柚子の大馬鹿十八年、蜜柑の間拔けは二十年」などの言い做しも有る。願わくば、枇杷、梅は疎か、柚子や蜜柑も本誌に実って欲しいものである。

一方、筆者が常々実感しているのは、「物事を始めるのは易しいが、終わりにするのは難しい」事である。思い返すと、本誌の創刊は、LC 研究懇談会において例会、見学会などの会員サービスがコロナ禍で一切出来なくなった為、その代替えとして応急手当的に捻出したものであった。正直に言えば、事前に物事の「起承転結」をじっくりと構想した結果では無かった。そこで、最近この事実を反省し、本誌の大まかな年次計画を以下の様に考える様に成った。即ち、「起」が 2020 年であるなら、「承」は 2020～2025 年、「転」は 2025～2030 年、「結」は 2030 年以降、であろうか。勿論、この様な夢想は LC 研究懇談会の活動が、今後も健全に維持される事が前提である。LC 研究懇談会は、来年創立 50 周年を迎え、12 月 3 日（火）に記念式典を行う。今後、75 周年、100 周年を祝える様、後に続く後

輩諸兄姉の頑張りを心から期待している。

2023 年 12 月 6 日 記

＜執筆者略歴＞ 中村 洋 (Hiroshi NAKAMURA)

E-mail : nakamura@jsac.or.jp

1968 年 東京大学・薬学部製薬化学科卒業
1970 年 同・大学院薬学系研究科・修士課程修了
1971 年 同・大学院薬学系研究科・博士課程中退
1971 年 同・薬学部・教務職員
1973 年 同・薬学部・助手
1974 年 米国 NIH 留学 (2 年間)
1976 年 東京大学・薬学部・助手復職
1979 年 社団法人日本分析化学会・奨励賞受賞
1986 年 東京大学・薬学部・助教授
1994 年 東京理科大学・薬学部・教授
1998 年 社団法人日本分析化学会・学会賞受賞
2000 年 社団法人日本分析化学会・関東支部長
2007 年 放送大学・客員教授
2007 年 私立大学環境保全協議会・会長
2009 年 社団法人日本分析化学会・会長
2011 年 社団法人日本分析化学会・会長 (2012 年 公益社団法人日本分析化学会・会長)
2015 年 東京理科大学・名誉教授



現在の公職

- ◆ (公社) 日本分析化学会・名誉会員
- ◆ 同・分析士認証委員会・委員長
- ◆ 同・LC 分析士認証専門委員会・委員長
- ◆ 同・LC/MS 分析士認証専門委員会・委員長
- ◆ 同・生涯分析談話会・会長
- ◆ 同・千葉県分析化学交流会・会長
- ◆ 同・LC 研究懇談会・委員長
- ◆ 同・LC 研究懇談会・電子ジャーナル「LC と LC/MS の知恵」編集委員長
- ◆ LC シニアクラブ・会長
- ◆ ISO / TC47 (化学)・国際議長・国内委員長
- ◆ 東京理科大学・名誉教授
- ◆ 私立大学環境保全協議会・顧問
- ◆ 一般財団法人化学物質評価研究機構・理事、など

【2023 年度 CERI クロマトグラフィー分析賞受賞業績】

ペプチド吸着能のメカニズム解明及びペプチド吸着制御 LC の開発

Clarification of The Mechanism of Peptide Adsorption Capacity
and Development of Peptide Adsorption-controlled LC

合田竜弥/Ryoya GODA

第一三共株式会社/Daiichi Sankyo Co. Ltd.

(Received November 15, 2023 ; Accepted November 20, 2023)

要旨

ポリペプチドの固体への吸着は、溶液中の有機溶媒によって惹起される高次構造変化に伴うものであり、或る特定の有機溶媒含量（臨界値）を境に急激且つ可逆的に変化（相転移）する事を世界で初めて見出した。又、その吸着能の状態を、 k' 値として式で表現する事にも成功した。同時に、逆相 LC におけるポリペプチドの溶出は、カラム充填剤に対する吸脱離を繰り返しながら臨界値（ $k' = 1$ ）を示す溶離液によって溶出されている事を示した。一方、この吸着能の相転移現象を利用したペプチド吸着制御 LC（peptide adsorption-controlled LC, PAC-LC）を開発した。PAC-LC は、ペプチド及びタンパク質の容器等への吸着回避を目的とした高有機溶媒含量溶液を使用する事で定量的な操作を可能にすると同時に、この様な試料を標準 LC に導入した場合の問題点である非保持ピークの発生を回避する事が可能と成り、測定精度の高い定量が可能と成った。又、PAC-LC に対する試料導入量は理論上無制限であり、高い測定精度を維持したまま試料導入量増加による高感度化を達成可能である事も明らかにした。更に、臨界値の異なる複数のペプチド定量における PAC-LC の優位性も明らかにした。

キーワード LC ; ペプチド ; タンパク質 ; 吸着能 ; 相転移 ; 測定精度 ; 試料導入量

1. 始めに

ペプチド及びタンパク質は、遺伝子の最終産物であり、細胞の形態や機能を直接制御している。個々のペプチド及びタンパク質の発現量や翻訳後修飾等は、様々な疾患によって細胞の形態や機能が変化する過程において変化する。これらの変化は、疾患の早期診断として、又、創薬においては患者の層別化、薬効評価等のためのバイオマーカーとして利用可能であ

り、更には疾患の原因解明の為に積極的に評価されている。加えて、近年の医薬品開発研究においては、ペプチド及びタンパク質は、抗体医薬品に代表される様に新しい創薬モデルティとしても活用されている。

このような内因性及び医薬品としてのペプチド及びタンパク質の定量には、従来、特異的な抗体を用いるリガンド結合法 (Ligand binding assay, LBA) が用いられている。しかし、抗体作成の難しさ、抗体の交差性等の問題により、LBA では測定出来ない場合も存在する。一方、Liquid chromatography / mass spectrometry (LC/MS) は、 m/z 及び溶出時間の組み合わせによる高い選択性、測定における迅速性、高い感度と堅牢性、及び自動化が可能と言った特長を有しており、近年では、ペプチド及びタンパク質の定量にも積極的に用いられている。

本稿では、まず、ペプチド吸着能の相転移現象について説明し、続いて、その現象を利用したペプチド吸着制御 LC (peptide adsorption-controlled LC, PAC-LC) について紹介する。

2. ポリペプチドの固体に対する吸着能の相転移現象の発見

LC/MS を用いたペプチド及びタンパク質定量を困難とする要因の一つが、ペプチド及びタンパク質の容器等の固体に対する吸着である。この吸着回避の為に、アルブミンや界面活性剤等が用いられる場合もあるが、これらの使用は LC/MS 測定にとって好ましくない。一方、低分子有機化合物の場合、その吸着回避の為に有機溶媒を添加する方法が広く用いられている。

著者は、アミノ酸残基数 40、分子量 4696 のウロコルチンをモデルペプチドとして用い、ウロコルチン溶液中の有機溶媒が容器等の固体に対する吸着に与える影響を評価した。その過程において、40%以上のアセトニトリル含量のウロコルチン溶液を測定した場合に、カラムに保持したウロコルチンピーク (以後、保持ピーク) に加えて、カラムに全く保持されないウロコルチンピーク (以後、非保持ピーク) が同時に発生している事を見出した (図 1 左)¹⁾。この時得られた保持及び非保持ピークの形状は共に良好であり、このようなクロマトグラムが得られる為には、ウロコルチンのカラム充填剤に対する吸着能が、30~40%の間に存在する特定のアセトニトリル含量 (臨界値) を境に急激且つ可逆的に変化する (相転移現象) 必要が有る事を見出した (図 1 右)。

一方、この相転移現象を引き起こす要因を検証する為に、ウロコルチンを用いて CD スペクトル解析を実施した結果、有機溶媒によって惹起されるウロコルチンの高次構造変化の臨界値が、クロマトグラムから推定される臨界値と一致する事を確認した。同時に、その高次構造変化が可逆的である事も明らかにした。

これらの現象の普遍性を確認する為に、様々な有機溶媒及びペプチドを用いて同様の検討を実施した。その結果、全てのペプチドにおいて、或る特定の有機溶媒含量以上のペプチド溶液を測定した場合に、保持ピークと共に非保持ピークが同時に発生する現象が確認さ

れた。但し、各有機溶媒が各ポリペプチドに対して示す臨界値は其々異なっていた。又、イソロイシルセリルブラジキニン（分子量 1260）及びオキシトシン（分子量 1007）を用いた CD スペクトル解析においても、ウロコルチンと同様の結論が導かれた¹⁾。

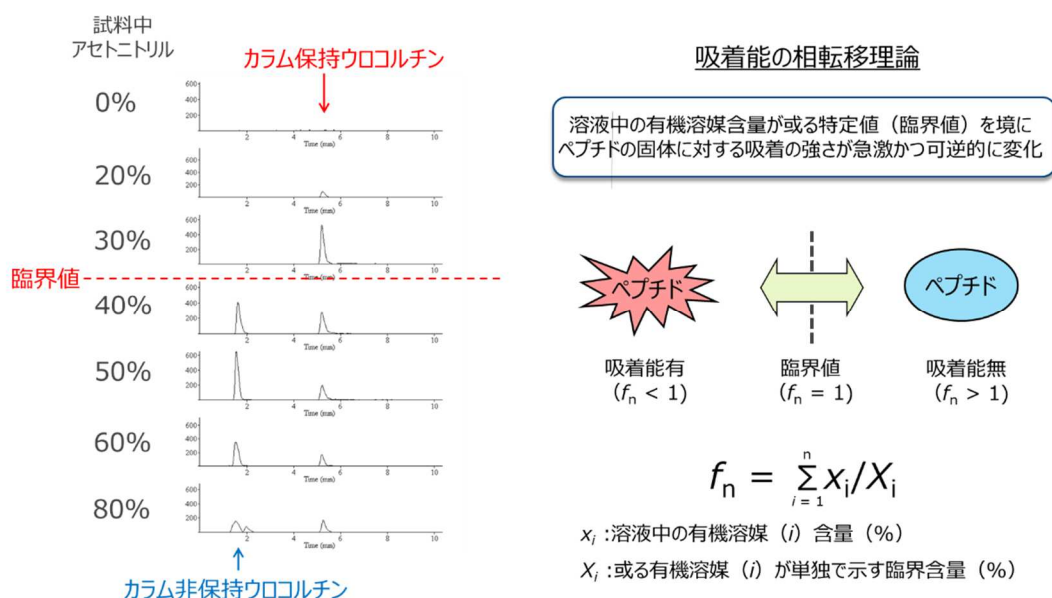


図 1 試料中アセトニトリル含量の異なるウロコルチン溶液を測定して得られるクロマトグラム（左）及びペプチドの吸着能の相転移現象（右）

以上の結果から、ペプチドの吸着能の相転移現象は、有機溶媒によって惹起されるペプチドの高次構造変化によるものであり、又、この高次構造変化はペプチドにとって普遍的な現象であることから、高次構造変化に伴うペプチド及びタンパク質の吸着能の変化も普遍的な現象であると考えられた。

3. ポリペプチドの固体に対する吸着能の臨界値

次に、複数の有機溶媒を含む溶液中のペプチドの吸着能の状態を理解する為に、最初に各ペプチドに対して単独の有機溶媒が示す臨界値を簡単に求める方法を検討した。直線グラジエント勾配(%/min)を r 、ペプチドの保持時間(min)を $T(r)$ 、ペプチドの非保持時間(min)を t_0 （ホールドアップタイム）で表す場合、ペプチドがカラムから溶出される迄の間に溶離液中で増加した有機溶媒含量 $\Delta V(\%)$ は式 1 で表される。

$$\Delta V(\%) = r \cdot [T(r) - t_0] \quad (1)$$

ペプチドの溶出が、吸着能の相転移現象に基づいて溶出されている事を考慮すると、異なるグラジエント勾配下においても $\Delta V(\%)$ は同じ値を示すと仮定出来ることから、式 2 が成立し、

この式 2 から、 t_0 及び $\Delta V(\%)$ は其々式 3 及び 4 で表される。

$$\Delta V(\%) = r_1 \cdot [T(r_1) - t_0] = r_2 \cdot [T(r_2) - t_0] \quad (2)$$

$$t_0 = [T(r_1) \cdot r_1 - T(r_2) \cdot r_2] / (r_1 - r_2) \quad (3)$$

$$\Delta V(\%) = -r_1 \cdot r_2 \cdot [T(r_1) - T(r_2)] / (r_1 - r_2) \quad (4)$$

実際に、 $r = 4, 6, 8$ の条件下で得られた保持時間を用いて t_0 及び $\Delta V(\%)$ を算出した結果、異なるグラジエント勾配の組み合わせによって算出された 3 つの t_0 及び $\Delta V(\%)$ は、その組み合わせに関わらずほぼ同じ値を示し、且つ小さな標準偏差を示していた²⁾。この結果は、カラムに保持されたペプチドは、グラジエント勾配に関わらず或る特定の有機溶媒含量の溶離液によってカラムから溶出している事を裏付けるものと考えられた。

一方、保持時間とグラジエント勾配との間には、移動相に用いる有機溶媒の種類に関わらずべき乗則が成立していた (図 2)。

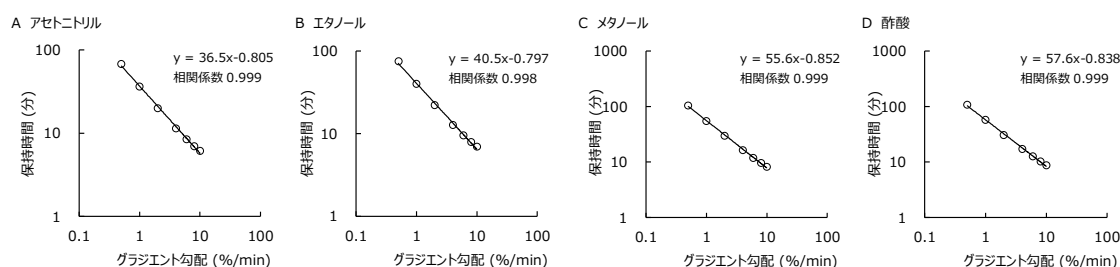


図 2 各単独有機溶媒を用いた場合のペプチドの保持時間とグラジエント勾配との関係

ここで、べき乗定数を C 、べき指数を δ とすると、 $T(r)$ は式 5 で表現される。

$$T(r) = C \cdot r^{-\delta} \quad (5)$$

$r=1$ で得られた $T(1)$ が t_0 よりも比較的大きい、詰り、 t_0 の影響を無視出来る場合、式 1 から、 $T(1)$ はペプチドがカラムから溶出される迄の間に溶離液中で増加した有機溶媒含量 $\Delta V(\%)$ に相当し、且つ、式 5 より C と等しい事が分かる。ここで、測定開始時の有機成分含量が無視出来る条件下で計算された $\Delta V(\%)$ は、ペプチドがカラムから溶出する時の溶離液中の総有機溶媒含量 $V_T(\%)$ 、つまり臨界含量に相当すると考えられた。

実際に、測定開始時の有機溶媒含量が無視出来る測定条件下で得られた $T(1)$ は、式 4 から求められる $\Delta V(\%)$ に近似しており、又、試料溶液中の有機溶媒含量を変化させたペプチド溶液を測定して得られるクロマトグラムから推定される有機溶媒含量範囲内にも近似していた。従って、ペプチド対する単独有機溶媒が示す臨界含量は、測定開始時の有機溶媒含

量が無視出来る条件下で得られた保持時間 $T(1)$ の値を用いる事で推定可能であると考えられた。加えて、この方法は、複数のペプチドの臨界含量を 1 回の測定で数値化出来る事から、非常に有用であると考えられた。

続いて、複数の有機溶媒を含む溶液中のペプチドの吸着能の状態を、有機溶媒含量の異なるペプチド溶液を測定した際に認められる非保持ピークの有無から評価した結果 (表 1)、ペプチドの吸着能は、単独有機溶媒 (i) が示す臨界含量 X_i と溶液中の有機溶媒含量 x_i を用いて図 1 右に示す k_f 値で表現可能である事を見出した。

表 1 試料溶液中アセトニトリル及びエタノール含量の異なるウロコルチン溶液を測定した際に認められるカラムへの非保持ピークの面積値及び k_f 値

	試料溶液中 アセトニトリル 含量	試料溶液中エタノール含量									
		0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
非保持ピーク 面積値	0	0	0	0	0	0	69,479	124,283	177,267	188,804	130,798
	10	0	0	0	0	88,019	230,550	268,011	293,100	148,695	-
	20	0	0	0	16,951	162,425	189,540	277,111	164,651	-	-
	30	0	0	93,965	136,457	220,466	195,184	213,015	-	-	-
	40	73,008	nt	nt	nt	nt	nt	-	-	-	-
k_f 値	0	0.00	0.22	0.44	0.67	0.89	1.11	1.33	1.56	1.78	2.00
	10	0.29	0.51	0.73	0.95	1.17	1.40	1.62	1.84	2.06	-
	20	0.57	0.79	1.02	1.24	1.46	1.68	1.90	2.13	-	-
	30	0.86	1.08	1.30	1.52	1.75	1.97	2.19	-	-	-
	40	1.14	nt	nt	nt	nt	nt	-	-	-	-

又、ペプチドがカラムから溶出する時の溶離液が示す k_f 値を、保持時間 $T(1)$ から推定される単独有機溶媒の臨界値 (X_i)、ペプチドがカラムから溶出する時の溶離液中の総有機溶媒含量 $V_t(\%)$ 、及び移動相中の各有機溶媒含量 (x_i) を用いて実際に計算した結果、 $k_f = 1$ (臨界値) である事が示された。この結果は、ペプチドは、溶離液中に存在する臨界値 ($k_f = 1$) を挟んでカラム充填剤に対する吸着能を急激に変化させながら、カラム充填剤に対する吸脱離を繰り返す事で、最終的に臨界値 ($k_f = 1$) を示す溶離液によって溶出している事を示すものと考えられた。更に、移動相の混合比、移動相とサンプル溶媒との混合比を基に計算して得られた k_f 値から、各ペプチドに必要な混合比の計算も可能である事も確認出来た。

従来、逆相 LC におけるポリペプチドの溶出については、「ポリペプチドは、カラム入り口の充填剤担体表面に強く保持された後、溶離液中の有機溶媒含量が或る程度上昇しても全くその場から脱離せず、特定の有機溶媒含量に達した時に固定相から初めて脱離し、一旦脱離したポリペプチドは、それ以降固定相とは何ら相互作用もせずカラムから溶出する」と考えられて来たが、今回のペプチドの吸着能の急激な変化 (相転移) 及び可逆性も考慮すると、「ポリペプチドはカラム充填剤に対する吸脱離を繰り返しながら溶出している」と考えられた。

4. ペプチド吸着制御 LC (peptide adsorption-controlled LC; PAC-LC) の開発

標準 LC を用いて高有機溶媒含量のペプチド溶液 ($k_f > 1$) を測定した場合、図 1 のクロマトグラムが示す様に非保持ピークが発生する為に精度の高い定量が困難であると考えられた。そこで、著者は、今回見出した有機溶媒によって惹起されるペプチド及びタンパク質の吸着能の相転移現象を利用する事で、 $k_f > 1$ を示す高有機溶媒含量のペプチド溶液を測定した場合でも、非保持ピークを発生させずに高精度且つ高感度な定量が可能となる PAC-LC を考案した (図 3) ^{1, 3)}。

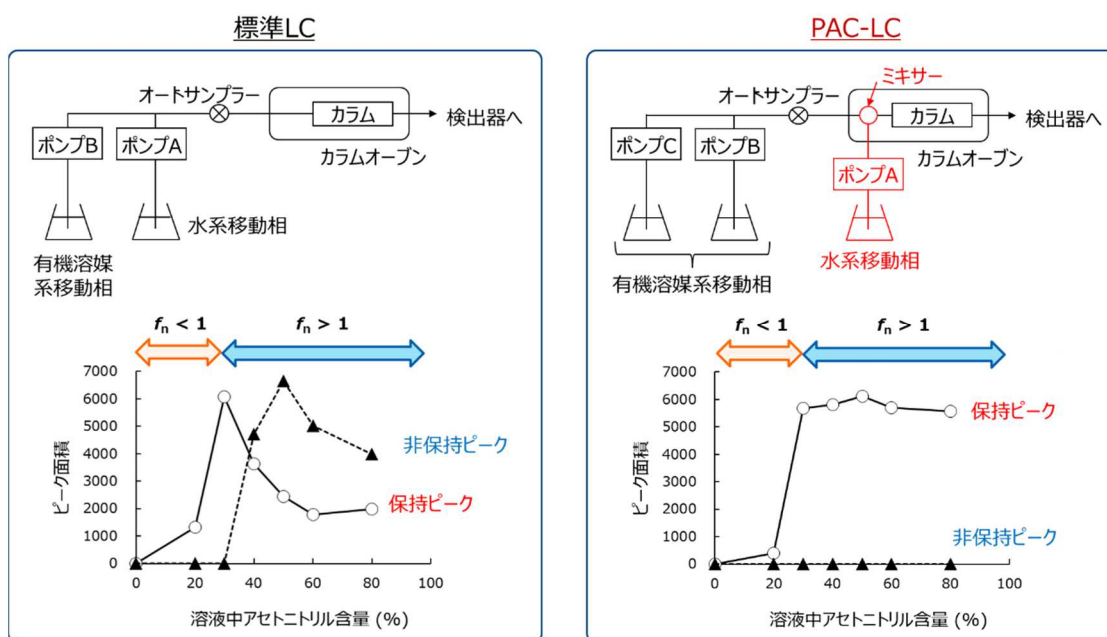


図 3 標準 LC (左) 及び PAC-LC (右) システム構成図、及びアセトニトリル含量の異なるウロコルチン溶液を測定した場合に得られる保持及び非保持ピーク面積

この PAC-LC では、LC に導入された試料溶液に対してカラム直前で水系移動相を混合させる事で、ペプチド及びタンパク質周辺の有機溶媒含量を強制的に低下させる事が可能である。詰り、 $k_f > 1$ を示す溶液中で容器等だけでなくカラム充填剤等に対する吸着能を失っていたペプチド及びタンパク質の吸着能を、水系移動相の混合により瞬時に回復 ($k_f < 1$) させる事で、カラムに保持させ得る事が可能となる。この時、非保持ピークは発生しない為、感度及び測定精度の低下も回避可能と考えられた。

実際に、標準 LC 及び PAC-LC を用いて溶液中アセトニトリル含量の異なるウロコルチン溶液を測定した結果を図 3 及び表 2 に示す ^{1, 4)}。標準 LC では $k_f = 1$ 付近の 30%アセトニトリル含量の溶液を用いた場合にのみ、最も大きいピーク面積値及び高い測定精度が得られる一方、PAC-LC では、予想通り非保持ピークは確認されず、又、 $k_f > 1$ の溶液を測定した場合に一定のピーク面積値及び高い測定精度が得られていた。

表 2 標準及び PAC-LC を用いて得られるウロコルチンのピーク面積及び測定精度

LC	試料中 アセトニトリル 含量(%)	ウロコルチン濃度					
		0.1 nM		1 nM		10 nM	
		平均 ピーク面積 (n = 3)	変動係数 (%)	平均 ピーク面積 (n = 3)	変動係数 (%)	平均 ピーク面積 (n = 3)	変動係数 (%)
標準	0	200	64.8	238	63.4	17861	32.1
	20	1679	15.4	19004	18.1	226518	6.8
	30	2660	4.9	27910	4.0	263502	5.5
	40	1729	17.6	24817	44.3	153628	2.4
	50	994	20.9	8345	19.9	82437	5.8
	60	762	24.8	7511	7.4	67222	11.5
	80	748	37.4	5817	10.5	55178	7.2
PAC	0	84	15.8	614	26.5	43641	128.7
	20	1656	7.9	20477	9.8	206180	1.4
	30	2665	2.5	28394	4.9	254617	0.9
	40	2900	1.8	28606	2.2	284122	3.0
	50	3059	4.7	31331	4.6	274426	4.8
	60	3077	5.6	30818	7.9	294642	0.7
	80	3099	5.0	30882	4.6	285681	2.4

更に、ウロコルチン溶液の導入量を 400 μL 迄増加させて同様に評価した結果を表 3 に示す。PAC-LC を用いた場合にのみ、 $f > 1$ 以上の溶液の導入量を増加させる事で、高い測定精度を維持したまま導入量に比例した高感度化が可能である事が明らかと成った。

表 3 試料導入量を増加させた時のウロコルチンのピーク面積、測定精度、面積比

LC	試料中 アセトニトリル 含量(%)	試料導入量 (0.1 nM)				
		100 μL		400 μL		ピーク面積比 (400/100)
		平均 ピーク面積 (n = 3)	変動係数 (%)	平均 ピーク面積 (n = 3)	変動係数 (%)	
標準	0	200	64.8	944	80.3	4.7
	20	1679	15.4	6263	41.2	3.7
	30	2660	4.9	11525	7.3	4.3
	40	1729	17.6	4541	43.1	2.6
	50	994	20.9	2337	5.3	2.4
	60	762	24.8	1644	12.2	2.2
	80	748	37.4	1223	14.8	1.6
PAC	0	84	15.8	161	17.7	1.9
	20	1656	7.9	6639	13.4	4.0
	30	2665	2.5	11190	2.8	4.2
	40	2900	1.8	11414	3.3	3.9
	50	3059	4.7	12572	2.9	4.1
	60	3077	5.6	12250	2.8	4.0
	80	3099	5.0	12324	0.8	4.0

ここで、図 2 に示したべき乗則に基づくと、イソクラティック溶出 ($r = 0$) 条件下では、ペプチドの保持時間が無限大、詰り、カラムに保持したペプチドは、 $r = 0$ の条件下では基

本的にカラム内を移動しない事を示している。従って、この様な条件下での PAC-LC への試料導入量は理論上無制限であると考えられた。実際に、試料導入量を 10 mL 迄増加させた場合に導入量に比例した高感度化が可能である事が示された。

ここ迄、高有機溶媒含量のペプチド溶液 ($k_f > 1$) を用いる場合の高精度且つ高感度定量における PAC-LC の優位性を示して来たが、この様な測定が可能と成る試料中有機溶媒範囲の広さは、臨界値の異なる複数ペプチドの高精度且つ高感度な同時定量においても極めて重要である。詰り、図 4 に示す通り、操作時の全ペプチドの吸着を回避する為には、最も大きい臨界値を有するペプチドに合わせた有機溶媒含量の溶液を用いる必要が有る一方で、この様な高有機溶媒含量のペプチド溶液を LC に導入した場合に、非保持ピークを発生させずに全てのペプチドをカラムに保持させ得る移動相混合比を設定する事が PAC-LC でのみ可能と成る。

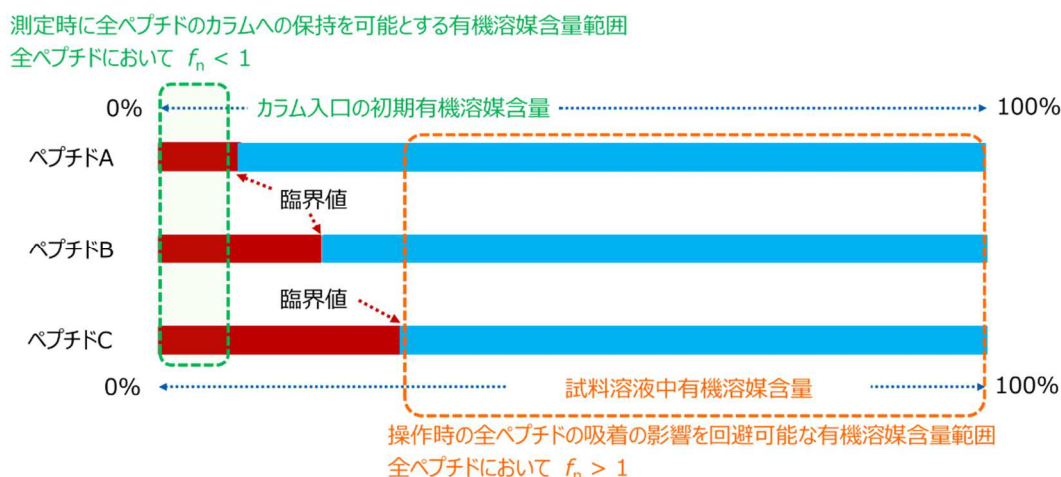


図 4 臨界値の異なる複数ペプチドの同時定量において考慮すべき試料溶液及び溶離液中の有機溶媒含量の関係

実際に、複数のペプチドを含む試料 (100 nM) を、水及び水/アセトニトリル (1/1, v/v) を用いて調製した後、同じ溶液にて 100 倍希釈したペプチド溶液 (1 nM) を標準及び PAC-LC で測定した。その結果、吸着の影響が小さい 100 nM の試料では溶液組成及び LC システムに関わらず保持ピークが確認されていたが、希釈後の 1 nM ペプチド溶液を測定した場合、全ペプチドの吸着が回避可能な水/アセトニトリル (1/1, v/v) で調製されたペプチド溶液を PAC-LC で測定した場合にのみ、濃度に比例した保持ピークが確認されていた。従って、臨界値の異なる複数ペプチドを同時定量する為には、全ペプチドの吸着回避可能な溶液を選択すると共に、全ペプチドを保持可能な混合比を有する PAC-LC でのみ、高感度且つ高精度な測定が可能に成ると考えられた。

5. 最後に

標準 LC と比較して様々な利点を有する PAC-LC の開発により、現在の製薬企業における新薬開発に不可欠な様々なモダリティ医薬品の定量及び医薬品開発に不可欠な生体試料中バイオマーカーの高精度・高感度な定量が比較的容易に実施可能と成った。しかし、現在ではより高い感度が要求される場面も多く、更なる技術的發展が求められている。特に、ペプチド定量においては、ペプチドの安定性担保や前処理法の開発が精度及び感度に対して極めて重要な鍵を握っている。今後、こうした関連技術の発展と共に PAC-LC が疾患やバイオマーカーに関する新規知見の獲得に役立つ事を期待したい。

最後に、著者の一連の研究等に対し、2023 年度 CERI クロマトグラフィー分析賞を賜った（一財）化学物質評価研究機構（CERI）及び（公社）日本分析化学会・液体クロマトグラフィー研究懇談会の関係各位に心より感謝申し上げます。

引用文献

- 1) R. Goda, K. Sudo, *Biomed. Chromatogr.*, **21**, 1005-1015 (2007).
- 2) R. Goda, K. Sudo, *Biomed. Chromatogr.*, **22**, 81-91 (2008).
- 3) R. Goda, N. Kobayashi, *Journal of Chromatography B*, 895– 896, 137– 145 (2012).
- 4) R. Goda, H. Masumoto, O. Okazaki, K. Sudo, *Biomed. Chromatogr.*, **22**, 857-866 (2008).

<執筆者略歴>

合田竜弥 (Ryoya GODA)

1996 年 3 月 東京大学大学院薬学系研究科薬学専攻修了
1997 年 4 月 第一製薬株式会社代謝分析研究所
2007 年 4 月 第一三共株式会社薬物動態研究所
2009 年 4 月 博士（薬学）東京大学（論文博士）
分析士資格：LC 分析士二段、LC/MS 分析士初段
E-mail: goda.ryoya.u4@daiichisankyo.co.jp



【2023 年液体クロマトグラフィー科学遺産認定業績】

新規エンドキャッピング技法：
シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化
Novel End-capping Technique:
Siloxane Bond Formation by Dehydration Condensation of Silanol Groups

長江徳和/ Norikazu NAGAE

株式会社クロマニクテクノロジーズ/ChromaNik Technologies Inc.

(Received October 16, 2023 ; Accepted November 8, 2023)

キーワード シリカ系逆相充填剤；シラノール基；エンドキャッピング

1. はじめに

ロシア人植物科学者 Tswett により 1903 年にクロマトグラフィー (Chromatography) が提唱¹⁾された。これは炭酸カルシウムの粉末を充填剤とし、石油エーテルを移動相として植物抽出液を分離したものであった。その後、固定相基材又は固定相としてアルミナやシリカなどが提唱された。現在はポリマー系とシリカ系が主流であるが、逆相クロマトグラフィーにおいてはシリカ系充填剤が多用されている。又、液体クロマトグラフィー (Liquid chromatography) を高速化した HPLC (High performance liquid chromatography) は 1969 年に J.J.Kirkland²⁾らにより開発された。発表当時に使用されていたカラムには、直径 30 μm から 40 μm のガラスビーズなどの表面に 0.5 μm 程度の厚みの多孔質層が存在する粒子が充填されていた。これは当時 Pellicular (ペリキュラー) 型充填剤^{2,3)}と呼ばれていた。その後、粒子径 10 μm 以下の全多孔性シリカ (シリカゲル) による高性能化⁴⁾が進み、現在ではサブ 2 μm の粒子まで利用可能と成った。

シリカの表面に存在するシラノール基は活性が高く、このシラノール基を介して様々なシリル化試薬を結合する事が出来、逆相の C18 (ODS) など多くの固定相が開発された。しかし、シリカ表面に存在する全てのシラノール基に C18 などのシリル化試薬が反応する訳ではなく、1/2 から 2/3 のシラノール基はシリカ表面に残っていた。この残存シラノール基は極性化合物の分離に寄与したり、塩基性化合物を吸着し、テーリングさせたりした為、嵩の小さなトリメチルシリル化 (TMS) 試薬を結合させ、残存シラノール基を少なくする、所謂エンドキャッピングが行われる様に成った。本稿ではこの残存シラノール基の分離への役割や、エンドキャッピング技法としてのシラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化について述べる。

2. シラノール基の影響

2.1 固定相としてのシラノール基の役割

HPLC 用のシリカゲル充填剤はシリカ表面に何も修飾しないシリカゲルそのものを吸着クロマトグラフィーとして、又、水やアルコールなどの極性溶媒をシリカ表面に保持させ、順相分配による分離を行う順相クロマトグラフィーとして使用される場合と、シリカ表面にシラノール基を介して極性の高いアミノプロピルシリル基などを結合し順相クロマトグラフィーとして、又、オクタデシルシリル基やフェニルシリル基などを結合し逆相クロマトグラフィーとして使用される場合がある。其の分離モードによりシラノール基の役割は変わるが、吸着クロマトグラフィーでは文字通り吸着点として働き、逆相モードや HILIC モードの様に移動相に水が含まれる分離モードでは、カチオンに対してイオン交換、アニオンに対してイオン排除、極性化合物に対して水素結合が働く。シリカ表面に存在するシラノール基の pK_a は 2.6 前後であると言われており、シラノール基が解離し、 SiO^- の状態になる pH 3 以上の移動相条件において、イオン交換やイオン排除が起こる。

2.2 シラノール基による塩基性化合物のテーリング

一般的な C18 などの逆相カラムを用いて塩基性化合物を分離した場合、ピークがテーリングする事が知られており、特に移動相有機溶媒にアセトニトリルを用いるとテーリング度合いが酷くなる。このテーリングはエンドキャッピングの効率が悪く、シリカ表面に未だ残っているシラノール基が原因であると言われている。エンドキャッピングの優れている C18 カラムほど塩基性化合物のテーリングは抑えられる為、高効率のエンドキャッピングが求められ、HPLC カラムメーカーは高効率エンドキャッピングを競って来た。

さて、イオン交換クロマトグラフィーにおいて、分析種と固定相と間でイオン交換が起こり、分析種は保持される。しかし保持されたピークは基本的にテーリングする事は無い。言い換えれば、イオン交換そのものはテーリングの原因ではない事になる。ではシリカ系逆相 C18 カラムでは、何故塩基性化合物はテーリングピークと成るのか。アセトニトリルと 20 mmol/L 酢酸アンモニウム緩衝液(pH 6.8)を或る比率で混合した移動相は、逆相クロマトグラフィーでの代表的な移動相である。この移動相を用いて未修飾のシリカゲルを充填したカラムと、C18 又はシアノプロピル (CN) を修飾したシリカ系 C18 カラムとシリカ系 CN カラムを用い、塩基性化合物であるアミトリプチリンのピークを観察すると、シリカカラムとシリカ系 CN カラムはテーリングの無い対称性の良いピークと成ったが、シリカ系 C18 カラムはテーリングピークを示した。シリカカラムではシリカ表面に水和層が出来、この水和層が固定相として働き HILIC モードの順相分配が起こり、分析種を保持する。HILIC モードのシリカ固定相はシラノール基とシラノール基に水和した水分子から成り、pH 6.8 の移動相条件ではシラノール基は解離し、プロトン化した塩基性化合物とイオン交換も起こる。同様に、シリカ系 C18 カラム及びシリカ系 CN カラムの固定相は、C18 又は CN、エンドキャッピングを施した場合にはエンドキャッピング剤 (TMS など) と溶媒和した有機溶媒、そしてシリカ表面の残存シラノール基から成っており、シラノール基は解離し、イオ

ン交換が起こっている。図 1 にはアミトリプチリンのクロマトグラムとシラノール基の水和状態を示す。ここに示されている様に、十分に水和されているシラノール基と水和不足のシラノール基では塩基性化合物の吸着性が異なる。詰り、シリカ系 C18 カラムでは C18 アルキル鎖が高疎水性である為、C18 アルキル鎖の近くに存在するシラノール基は水和

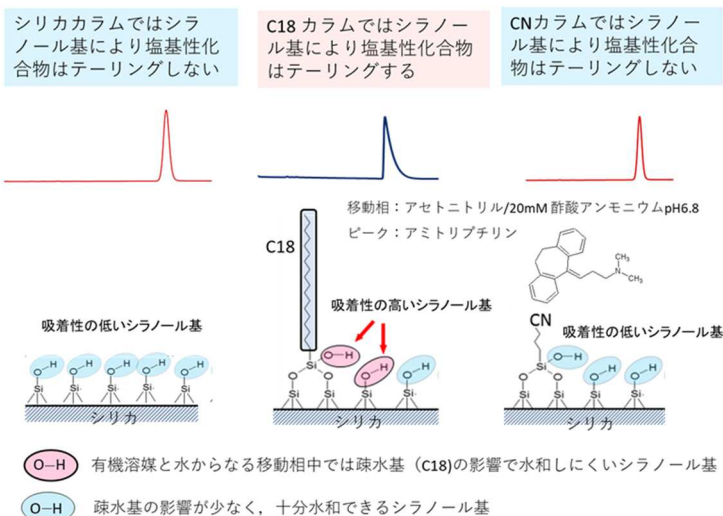


図 1 アミトリプチリンとシラノール基の水和状態

不足に成り、塩基性化合物とイオン交換をした時に脱離がスムーズに起こらず、吸着した状態に成りピークテーリングを起こすと考えられる。シリカ系 CN カラムのシアノプロピル基は疎水性が余り高くなく、ヘキサン/アルコール系などの溶媒を移動相に用いれば、シリカ系 CN カラムは順相モードの分離も可能と成る事からも分かる様に、逆相カラムの中では CN は非常に極性の高い固定相である。従って、固定相内のシラノール基は全て水和十分であったと考えられ、シリカカラムと同様に十分水和したシラノール基は塩基性化合物との間で働くイオン交換が吸着状態に成る事はなく、スムーズに行われた為テーリングの無いピークが得られたと考えられる。1982 年に発表された論文⁵⁾では、アミトリプチリンの分析に移動相として有機溶媒と pH 7 の緩衝液が、又分析カラムとして CN カラムが用いられた。当時は殆どの C18 カラムで、pH 7 の条件ではアミトリプチリンピークはテーリングしたが、この論文では CN カラムを用いて、テーリングの無いピークが得られている。しかし CN カラムが塩基性化合物に対しテーリングを示さない理由の言及は無かった。

2.3 シラノール基を活かした C18 カラム

C18 カラムの固定相内に存在するシラノール基が全て十分水和していれば、シラノール基と塩基性化合物のイオン交換が起こってもテーリングしない筈である。この様な C18 充填剤は、熱処理を施し二つのシラノール基を脱水縮合によりシロキサン

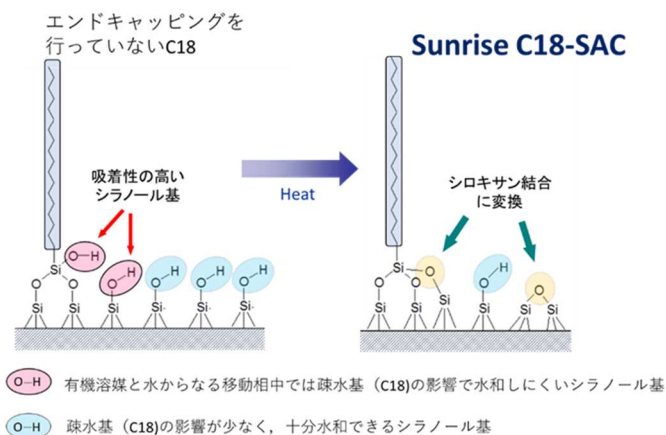


図 2 熱処理によるシロキサン結合への変換

結合に変換させる事により調整可能である⁶⁾。図 2 には C18 が結合した シリカ充填剤の脱水縮合の模式図を示す。シリカゲルはアモルファスで結晶構造を有していない為、200 °C 以上の熱を掛けるとケイ素原子が動き、2 つのシラノール基が近付く事により脱水縮合が可能となり、シロキサン結合に変換される。その後水処理する事により、疎水部分の影響を受けず水分子が接触し易い場所のシロキサン結合のみが加

水分解され、再びシラノール基に戻る。詰り、再生成されたシラノール基は水和が十分なもののみと成る。クロマニックテクノロジーズ社の Sunrise C18-SAC は、この様にして製造された C18 カラムであり、このカラムを用いて塩基性化合物を分離した結果を図 3 に示す。移動相の pH を 3.5 から 6.8 まで変化させているが、pH が高いほど保持時間は長く成った。又、5 番ピーク（アミトリプチリン）理論段数を図中に示しているが、全てのクロマトグラムで 11,000 段以上の高い段数でテーリングの少ないピークが得られた。更に図 4 では、塩濃度を 10 mmol/L から 200 mmol/L に増加させた時の分離を示す。ホールドアップタイム測定用のウラシルと中性化合物のトルエンは塩濃度に依存せず、一定の溶出時間であった。しかし塩基性化合物であるプロプラノロール、ノルトリプチリン及びアミトリプチリンは塩濃度が高いほど保持時間は短く成った。図 5 ではウラシル以外のピークについて緩衝液の塩濃度の対数を横軸、保持係数の対数を縦軸としてプロットした。又、図 5 には

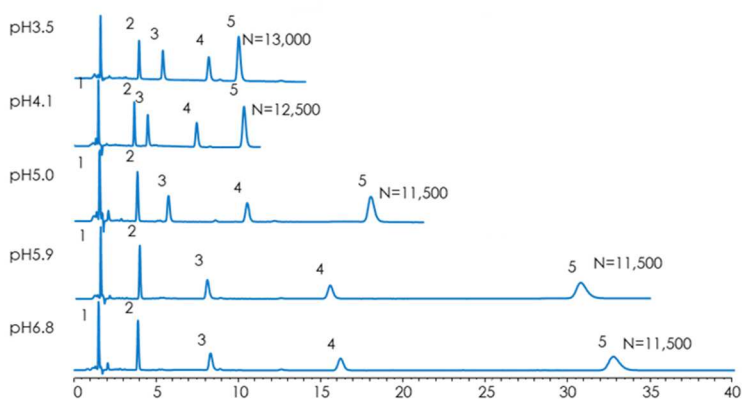


図 3 塩基性化合物の分離

測定条件：カラム、Sunrise C18-SAC 5 μm 、150 $\times$ 4.6 mm i.d.；移動相、アセトニトリル/100 mmol/L 酢酸アンモニウム（酢酸で pH 調整、pH は図中に記載）= 70/30；流量、1.0 mL/min；カラム温度、40 °C；検出；UV250 nm；ピーク、1=ウラシル、2=トルエン、3=プロプラノロール、4=ノルトリプチリン、5=アミトリプチリン。

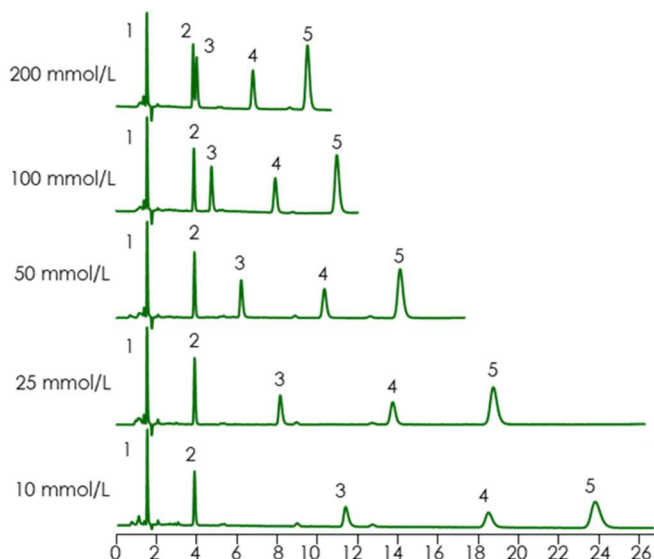
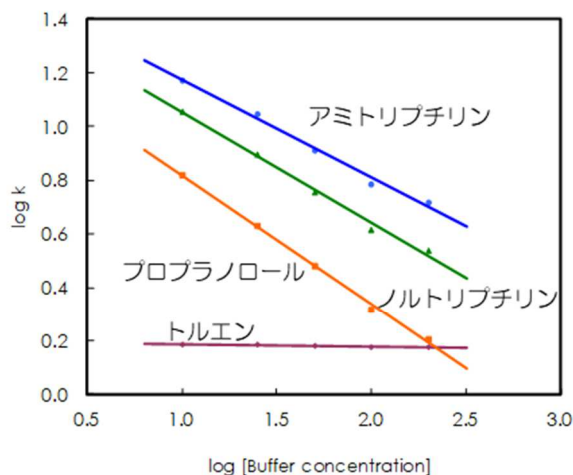


図 4 異なる緩衝液濃度でのクロマトグラム

測定条件：移動相、アセトニトリル/酢酸アンモニウム pH 4.1（緩衝液濃度は図中に記載）= 70/30；流量、1.0 mL/min；他の条件は図 3 と同じ。

イオン交換クロマトグラフィーにおける溶離液イオン濃度と保持の関係式も示している。プロプラノロール、ノルトリブチリン及びアミトリブチリンはこの図から分かる様に保持係数の対数と塩濃度の対数の関係はマイナスの傾きの直線と成り、イオン交換クロマトグラフィーにおける溶離液イオン濃度と保持の関係式に当て嵌まる分離挙動であった。これは正にイオン交換が作用する事により、保持時間が変化している事を示している。シラノール基の影響がほぼ無いエンドキャッピングの優れたシリカ系 C18 カラムに比べ、水和十分なシラノール基を残した Sunrise C18-SAC カラムは塩基性化合物の保持が 10 倍以上大きく、逆相分配とイオン交換の両相互作用が働いた分離が達成されている。



$$\log k = -\frac{z_B}{z_A} \log[A] + \frac{z_B}{z_A} \log[\bar{A}] + \log \frac{V_r}{V_m} + \frac{1}{z_A} \log K_A^B$$

A : 溶離剤イオン, B : 測定イオン, k : B の保持指数, K : 選択係数
 z_A, z_B : 各イオンの電荷, V_r, V_m : カラム内の樹脂体積と移動相体積

図 5 移動相のイオン濃度と保持の関係

3. シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化を含むエンドキャッピング

3.1 従来のエンドキャッピングとの差

従来のエンドキャッピングは C18 などのアルキル基をシリカ表面に結合後、残ったシラノール基に嵩の小さなシリル化試薬例えば TMS などを結合させ、シラノール基を少なくしていた。シリカ表面にはシラノール基が 8 ~ 9 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ 存在すると言われていたが、1980 年に発表された論文⁷⁾ではシリカゲルに C18 アルキル基を結合後、TMS によるエンドキャッピング処理を行った後でも、シリカ表面には 50 %程度のシラノール基が残っていると結論付けられた。その後エンドキャッピング手法は改善されたが、残存シラノール基の影響が最も少ないシリカ系 C18 充填剤でも 30 %以上のシラノール基が残っていると推察される。熱処理によりシラノール基はシロキサン結合に変換される為、エンドキャッピング処理を高温で行う事により、シリル化試薬の結合でシラノール基が減少すると共にシラノール基のシロキサン結合への変換が起こり、更にシラノール基は減少する。又、高温でのエンドキャッピング処理でも、前述の様にケイ素原子は動いていると考えられ、ケイ素原子の移動によりエンドキャッピングでのシリル化試薬の結合密度は高く成ると考えられる。従って、高温エンドキャッピング処理により、シリカ表面上のシラノール基は 10 %から 20 %程度まで減少していると推察される。

3.2 高温エンドキャッピング

様々なエンドキャッピング方法が HPLC カラム各社で試みられているが、近年の傾向として、殆どの HPLC カラムメーカーはシリル化試薬や反応条件を開示しておらず、シリカ系逆相カラムのユーザーにとってはエンドキャッピングについてはブラックボックス化している。ここでは、クロマニックテクノロジーズ社で行っているエンドキャッピング方法⁸⁾について簡単に記述する。逆相固定相としてのアルキル基やフェニル基は三官能性シリル化試薬を用い、トルエン中で還流する事によりシリカゲルに結合させる。エンドキャッピング処理は 2 回行い、エンドキャッピング試薬として 1 回目は 1, 5-ジクロロヘキサメチルトリシロキサンを、2 回目はトリメチルクロロシランを用い、トルエン中で還流した後、窒素封入した密閉容器内で 12 時間 200 °C 以上の温度を維持した。表 1 にはコアシェルシリカ

表 1 異なる温度でのエンドキャッピングの差

エンドキャッピングの反応温度	X °C	(X-40) °C
C18 結合後の炭素含有量	7.0%	7.0%
エンドキャッピング後の炭素含有量	7.3% (熱により C18 が一部切断)	7.7% (熱による C18 の切断はない)
シロキサン結合への変換	Yes	No
アミトリプチリンのピーク形状	良好	良好 (X °C と同じ)
Retention factor (k)	10.4	9.5

*基材シリカ：コアシェルシリカ（比表面積 150 m²/g）

*Retention factor の測定条件：移動相、メタノール/水=7/3；カラム温度、40 °C、試料、アミルベンゼン。

を用い、C18 アルキル基を結合後、200 °C 以上である X °C と (X-40) °C でエンドキャッピングを行った時の炭素含有量、アミルベンゼンの保持係数などを示す。エンドキャッピング後の

炭素含有量は X °C の反応温度の方が (X-40) °C よりも低く成った。これは X °C の反応温度では一部の C18 アルキル基が切断する事が原因であると推察される。又、塩基性化合物であるアミトリプチリンのピーク形状は両反応温度でも同程度に良好であり、残存シラノール基の影響はほぼ認められなかった。一般的に同じシリカ基剤を用いた場合、炭素含有量の高い充填剤の方が保持は大きく成るが、アミルベンゼンの保持係数は炭素含有量の低い X °C の方が逆に 10 % 程度大きく成った。図 6 にはエンドキャッピング後のシリカ表面のシラノール基の存在状態の模式図を示す。X °C の反応ではシラノール基はシロキサン結合に変換されるのに対し、(X-40) °C の反応ではシラノール基はシロキサンに変換されず、残っていると推察される。固定相の疎水性はシリカ表面

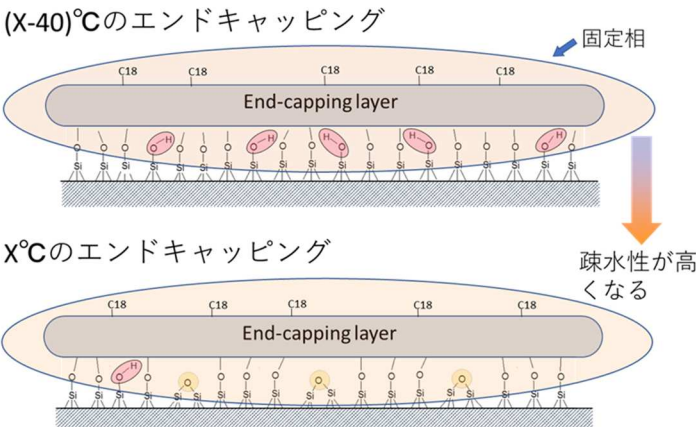


図 6 エンドキャッピング後のシリカ表面のシラノール基の存在状態の模式図

に残っているシラノール基を含め C18 アルキル基及びエンドキャッピング剤全体が関与していると考えられ、シラノール基の存在が疎水性を低減し、保持を小さくしていると考えられる。炭素含有量が低いにも関わらず保持が大きい事は、シリカ表面に残るシラノール基が少ない事を肯定している。アルカリ性条件でのシリカ系逆相カラムの劣化は、アルカリによるシリカの加水分解により促進される。エンドキャッピングの高効率化でシリカ表面近くの疎水性が上がり、水分子のシリカ基剤への接触頻度も少なくなる為、シリカの加水分解も遅くなる。しかし、シリカのアルカリによる加水分解⁹⁾は、シリカ表面に存在するシラノール基のケイ素原子に対する求核反応が起点と成り起こる為、シリカ表面に存在するシラノール基が少ないほど劣化は遅くなる。シラノール基の存在量を少なくするシラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化を含む高温エンドキャッピングは、塩基性化合物のテーリングを抑えるだけでなく、耐久性、特にアルカリ性条件での耐久性を向上させる。

3.3 塩基性化合物のピーク形状

前述のシラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化を含む高温エンドキャッピング処理を施した全多孔性シリカ C18 である Sunniest C18 カラムを用いた塩基性化合物の分離を図 7 に示す。比較として通常の TMS によるエンドキャッピングの A 社 C18 の分離も示す。A 条件のメタノールとリン酸塩緩衝液(pH 7.5)を移動相に用い、カラム温度 40 °C での 4 番のアミトリプチリンピークは A 社 C18 カラムでも、シャープなピーク形状であったが、B 条件の様にカラム温度を 22 °C に下げたり、C 条件の様に移動相有機溶媒をメタノールからア

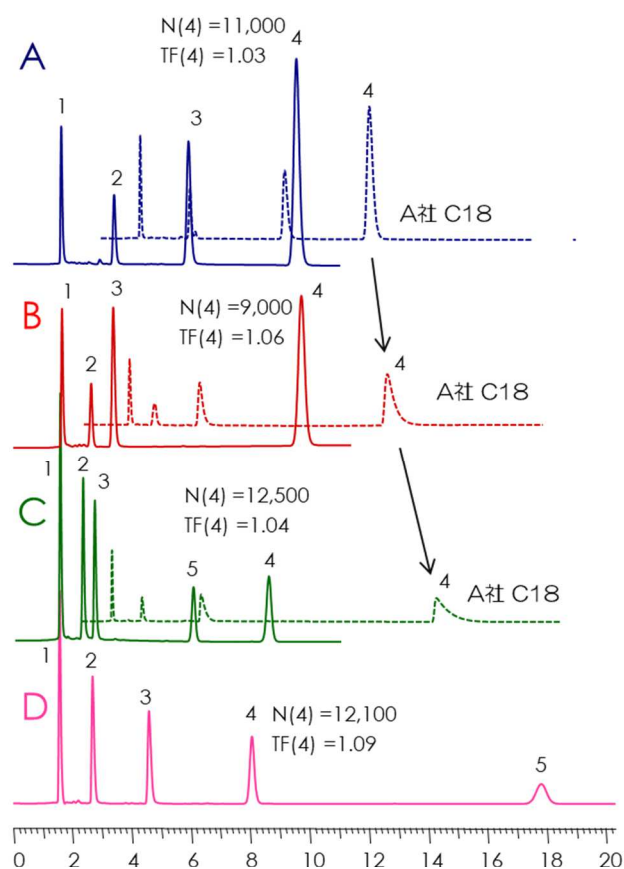


図 7 塩基性化合物の分離

測定条件: カラム、Sunniest C18 5 μ m、150 $\times$ 4.6 mm i.d. (実線)、A 社 C18 5 μ m、150 $\times$ 4.6 mm i.d. (破線); 移動相、A) メタノール/20 mmol/L リン酸ナトリウム pH 7.5 = 80/20、B) メタノール/20 mmol/L リン酸ナトリウム pH 6.0 = 80/20、C) アセトニトリル/20 mmol/L リン酸ナトリウム pH 7.0 = 60/40、D) アセトニトリル/10 mmol/L 酢酸アンモニウム pH 6.8 = 40/60; 流量、1.0 mL/min; カラム温度、A)、C)、D)、40 °C、B)、22 °C; 検出; UV250 nm; ピーク、1=ウラシル、2=プロプラノロール、3=ノルトリプチリン、4=アミトリプチリン、5=トルエン。

セトニトリルに変更した場合には、A 社 C18 カラムではアミトリプチリンピークは著しくテーリングした。一方 Sunniest C18 カラムでは LC/MS 用の揮発性緩衝液を移動相に用いた条件 D も含め、全ての移動相条件でテーリングの少ないシャープなピークが得られた。

4. おわりに

本稿ではシラノール基の分離への影響を考察し、シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化を含むエンドキャッピングについて述べた。多くのクロマトグラファーはシリカ系逆相カラムでの塩基性化合物のテーリングは残存シラノール基が原因であると認識していると思われるが、実際にはシラノール基の水和状態により塩基性化合物のテーリング度合いは変わり、十分水和したシラノール基は塩基性化合物のテーリングの原因ではない事を説明した。又、シラノール基のイオン交換及び C18 固定相の逆相分配が、塩基性化合物に同時に作用して分離が達成される事を明らかにした。更にシリカゲルはアモルファスであり、ガラスと同じ様に高温では原子が動き、結合状態が変化する事や、高温によるシラノール基のシロキサン結合への変換もエンドキャッピングの手法の一つである事も紹介した。

シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化を含むエンドキャッピング技法は決して古い技法ではないが、今まで提唱されて来なかった新たな考え方によるエンドキャッピング技法である。この技法により製品化されたカラムは全世界の多くの HPLC カラムメーカーから販売されており、2023 年現在 28 のブランドが市場に投入されている。

最後に「新規エンドキャッピング技法：シラノール基の脱水縮合によるシロキサン結合化」を 2023 年液体クロマトグラフィー科学遺産に認定して頂いた事に対し、関係各位に心より感謝申し上げる。

引用文献

- 1) M. S. Twett, *Tr. Protok. Varshav. Obshch. Estestvoispyt*, Otd. Biol 14 (1903).
- 2) J. J. Kirkland, *J. Chromatogr. Sci.*, **7**, 7 (1969).
- 3) C. Horvath, B. A. Preiss, S. R. Lipsky, *Anal. Chem.*, **39**, 1422 (1967).
- 4) J. J. Kirkland: *J. Chromatogr. Sci.*, **10**, 593 (1972).
- 5) P. Koteel, R. E. Mullines, R. H. Gadsden, *Clin. Chem.*, **28/3**, 466 (1982).
- 6) N. Nagae, *Pittcon2008*, 830-6P (2008).
(<http://chromanik.co.jp/technical/pdf/pittcon08.pdf>) (2023 年 10 月 13 日、最終確認).
- 7) G. E. Berendsen, L. D. Galan, *J. Chromatogr. A*, **196**, 21 (1980).
- 8) N. Nagae, E. Shearer, T. Tsukamoto, *HPLC2019*, P 391 (2019).
(http://chromanik.co.jp/info/wp-content/uploads/2019/12/HPLC2019_2.pdf) (2023 年 10 月 13 日、最終確認).
- 9) 長江徳和、LC と LC/MS の知恵、第 2 号、6 (2021)

< 執筆者略歴 > 長江徳和 (Norikazu NAGAE)

- (株)クロマニックテクノロジーズ (〒552-0001 大阪府大阪市港区波除 6-3-1)。
- 名古屋大学工学部応用化学卒。工学博士 (熊本工業大学)。
- 分析士資格 : LC 分析士二段。
- 主な著書 : “LC/MS、LC/MS/MS のメンテナンスとトラブル解決” (分担執筆、オーム社)
- E-mail: nagae@chromanik.co.jp



【2023 年 POTY 賞受賞業績】

リモート開催各種事業の円滑運営と対面開催に向けた新たな取り組みへの貢献 / Contributing to The Smooth Operation of Various Remote-held Projects and New Initiatives for Face-to-face Events

榎本幹司 / Kanji ENOMOTO

栗田工業株式会社 / Kurita Water Industries Ltd.

(Received November 25, 2023 ; Accepted November 26, 2023)

キーワード COVID-19；オンライン；ハイブリッド；ZOOM；Teams

1. 始めに

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の影響により、2020 年 3 月開催予定の第 345 回から、LC 懇の例会が開催中止となり、2021 年の 2 月の第 356 回迄丸 1 年中止と成りました。その後、2021 年 3 月の第 357 回より、例会をオンラインで再開しました。オンライン例会再開に当たり、Web 対策小委員会の小委員長として、オンライン例会の運営のお手伝いをさせて頂いております。オンライン例会が開催出来たのは、小委員会メンバーにご尽力頂いたお蔭であり、特に東洋合成工業(株)の小林宣章様には例会の参加申込 GoogleForms の作成から、ZOOM ウェビナーでの例会開催の設定に至る迄、全てをやって頂きました。その後、2022 年 3 月に小林様退任に伴い、同じ東洋合成工業(株)の加藤幸一郎様が引き継がれたのですが、加藤様の退任に伴い、2023 年 5 月より、ZOOM ウェビナーの設定、当日の運用等も含めて、私が引き継ぐ事に成りました。今回、オンラインでの例会や運営委員会、その他不定期に開催される臨時委員会等の運営、更にはオンライン例会から対面開催へのスムーズな移行における一連の活動が評価されて、小林様が 2021 年度に受賞された同じ POTY 賞を頂く事に成り、大変恐縮しております。オンライン例会の開催への取り組みの経緯や利用している Web ツールについては、小林様の 2021 年度 POTY 賞受賞投稿に詳しく解説されているので、ここでは、実際の例会の運営上の流れ、起こったトラブルへの対応、対面例会の開催復活後の新たな取り組みの現状等について紹介したいと思います。

2. オンライン例会の運用

例会開催の 3 カ月前に Web での申込み・受付の為の参加申込みフォームを Google Forms にて作成し、会告に参加申込フォームの URL を開催案内の会告に記載する

と共に、LC 懇の HP 上にアップします。続けて後援学会誌への会告の掲載の申告を行います。

開催の約 1 週間前にはオンラインで Web 対応小委員会を開催し、小委員全員で、役割分担、注意事項、もし有れば問題点などについて確認します。その後、例会用の ZOOM ウェビナーの設定と URL の送付、例会当日の午前中に実施される講演者の事前練習用、運営委員会用、情報交換会用の ZOOM ミーティングの設定と URL 送付を行います。又、各講演者の要旨を一括 PDF 化し、参加者にメールで要旨集を配信します。

ここ迄で事前の準備完了ですが、よく有るトラブルとしては、参加申込み時の自動返送メールが本人に届かない（殆どが参加者自身のアドレスの記載ミス）、要旨集が配信されない（殆どが添付ファイルの容量が受け手のシステムの上限をオーバーした為）などです。これらの問題が起こった場合は、極力迅速に個別対応しておりますが、参加申込時の自動返送メールに連絡事項などを返信されると、システムを覗きに行って初めて確認出来る為、対応が遅れてしまう事に成りますので、避けて頂ければ幸いです。

例会当日は、午前中に講演者のうち、希望者のみで事前練習を行い、画像や音声が無事配信されるかどうかのチェックを行います。

午後に成ると、いよいよ例会が開始されるので、少し前に注意事項の画像を流した後は、各オーガナイザーに運営をお任せして、配信が巧く成されているかどうかを見守るのが主な仕事に成ります。例会中に起こったトラブルとしては、音声のみ進行し、画像の送りが行われずに静止画状態と成ってしまった事が 1 回、配信が全く止まってしまった事が 1 回、画像が共有されていない状態で講演が進行してしまう事が 1 回有りました。原因は、順に、講演者側のルーターの不具合（講演の後半で音声だけで進行。後日、ルーターを交換して頂き、その後の再発は無し）、講演者側の会社のシステムトラブル（別の講演者を繰り上げて進行し、その間に別回線に変更する事で対応）、講演者のうっかりミス

（途中で講演者に電話連絡し、再スタート）であった事が分かっており、例会全体としては、致命的なトラブルには至らなかったのかなと思います。矢張り、講演者側、運営側、参加者が其其離れた場所で回線に接続している以上、多少のトラブルは致し方無いと言う事でご容赦頂ければ幸いです。

又、会員数の増強策として、役員のための講演の録画を実施し、1 講演 5 分程度に編集して、LC 懇 HP にリンクした YouTube へのアップを実施しています。

例会終了後は、ZOOM ウェビナー終了後に自動でアンケート画面が表示される設定として、参加者のご意見を頂き、例会の運営の改善に役立てています。

更に情報交換会を例会終了後に ZOOM ミーティングを用いてオンライン開催し、対面での情報交換とは一味違う雰囲気の中での参加者同士の情報交換の場を提供して来ました。

3. 対面開催の復活とオンライン開催の終焉？

2023 年 7 月例会をもって、オンライン開催が終了し、対面開催での例会が 2023 年 9 月より再開しました。やっと、長いトンネルが終わり、日常に戻ったと言うべきか、ニューノーマルが始まったと言うべきか。

矢張り、この様なオンライン例会は、特に地方の方の参加を促進する事が出来た事が大きなメリットではないかと思います。アンケートでもオンライン例会の継続を望む声が、地方の方を中心に多く寄せられています。

そこで、LC 懇では、以下の事をオンライン例会終了後に始めております。

3.1 運営委員会のハイブリッド開催

例会開催日の午前中に運営委員会が開催されており、8~10 名程度の運営委員プラスアルファで毎回開催しています。例会の対面開催の復活と同時に、運営委員会も対面開催と成りましたが、遠方の役員の参加の負担軽減の為、ハイブリッド開催が出来ないかと言う要望が出て来ました。そこで、会議室に LC 懇にて購入した Web カメラ付きマイクスピーカーを設置して PC に繋ぎ、更にこれ迄の ZOOM ミーティングの利用を止め、Teams 会議を利用して臨場感の有るハイブリッド会議を 2023 年 9 月より開始しております。

Teams 会議は多くの企業が採用して日常的に利用しているので、ZOOM 利用時に発生していた費用も発生する事無く、運用出来ております。現在のところ、問題無く開催出来ており、主に関西方面のオンライン参加者からもストレス無く、臨場感を感じながら参加出来ているとのコメントを頂いております。

又、分析士関連、褒章関連、解説書関連、その他臨時の委員会についても、オンライン会議を 2023 年 9 月以降も継続していますが、こちらもこれ迄の ZOOM ミーティングから Teams 会議に切り替えて運用しています。

3.2 例会のハイブリッド化？

さて、既に述べました様に、例会についてもハイブリッド開催をして欲しいと言う要望を参加者からのアンケートでも頂いております。これにつきましては、2023 年 9 月の対面式例会の復活以降、トライアルと言う形で、役員の一部の方にモニターとしてオンライン参加をお願いして Teams 会議を活用して試験的な試みを現在実施しております。実際の運用上の問題が無いか、会場の回線の状態は大丈夫か、運用による参加者増への寄与度はどれ位か、逆に対面参加者の減少を招かないかなど、未だ未だ手探りの状態です。物理的にはハイブリッド例会が可能である事を確認済みですが、実際に運用して行くかどうかは、これらのトライアルで分かった課題を整理してから運営委員会で決定しますので、現時点では未定です。会員の皆様、特に過去に例会にオンライン参加された方を含め、皆様のご意見を加味して、決定して行きたいと思いますので、今暫くお待ち頂くと共に、忌憚なきご意見を頂ければ幸いです。

4. 最後に

長く辛いコロナ禍ではありましたが、その中で、オンラインでここ迄出来るんだという
気付きも多く有りました。コロナ禍が明けてからも、運営委員会のハイブリッド開催、そ
の他臨時の会議におけるオンライン会議を継続して実施しており、コロナ禍のオンライン
開催で培った知恵を使って、LC 懇の効率的な運用に寄与出来ているのではないかと思
います。例会のハイブリッド開催については、未だトライアル中ですが、今後も参加者の増
加に繋がる運営法を模索し、シーズとニーズの情報交換の機会を創出して主催者と参加者
が Win-Win の関係に成れる様な運営を目指して行きます。今後も、LC 懇並びに会員企業
の皆様、更には、参加者の皆様の発展に繋がる様、微力ながら尽力して行きたいと思
います。

5. 謝辞

この度 2023 年度 POTY 賞と言う名誉な賞を頂き、ご推薦頂きました(株)島津総合サービ
ス 三上博久様、中村 洋先生を始めとする選考委員の方々及び Web 対応小委員の皆様
に感謝申し上げます。

元 Web 対応小委員会のメンバーでは、オンライン例会の基礎を準備頂いた、東洋合成工
業(株)の小林宣章様、小林様の後を引き継ぎ、オンライン例会の運用を起動に載せた東洋
合成工業(株)の加藤幸一郎様に感謝申し上げます。

現 Web 対応小委員会メンバーでは、アンケート用の PDF 作成や YouTube への PR 動画
のアップ作業を(株)東レリサーチセンターの竹澤正明アドバイザーに、参加申込フォーム
の作成、要旨の一括 PDF 化を RESTEK(株)の海老原卓也様に、後援頂ける学会誌への例
会の会告掲載の申請を三菱ケミカル(株)の前中佑太様に、YouTube 用の動画編集作業等
を国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構の高橋亜紀子様に担当頂いて
います。感謝申し上げますと共に、引き続きよろしくお願い致します。

＜執筆者略歴＞

榎本幹司 (Kanji ENOMOTO)

- ・ 1987 年 筑波大学大学院修士課程環境科学研究科修了
- ・ 1987 年 栗田工業株式会社入社
- ・ 現在：栗田工業株式会社に在籍し、排水処理技術、土壌・
地下水浄化技術、分析技術（主に GC, LC）に従事
- ・ 分析士資格：LC 分析士三段、LC/MS 分析士三段
- ・ その他資格：環境計量士（濃度関係）、土壌環境監理士、
土壌環境保全士、土壌リスク管理者

Email : k.enomoto15@kurita-water.com



【トピックス】

新規注入方式によるクロマトグラフィー性能の向上

Improvement of Chromatographic Performance by Novel Injection Approach

林 慶子、熊谷浩樹／Keiko HAYASHI、Hiroki KUMAGAI

アジレント・テクノロジー株式会社／Agilent Technologies Japan, Ltd

(Received October 12, 2023 ; Accepted October 23, 2023)

要旨

液体クロマトグラフィーでは、固定相と移動相の二相間の相互作用によって化合物が分離される。しかしながら、サンプルの注入量が多い場合や強溶媒に溶解している場合には、サンプル溶媒にも化合物が分配されてしまい、ピークの歪み（リーディングやピーク割れなど）が引き起こされる（溶媒効果）。溶媒効果の低減には、サンプル溶媒を初期移動相組成とする事やサンドイッチ注入、ミキサー追加などが有効と考えられるが、これらは工程変更やハードウェアの変更が伴う為改善が困難である。

Feed (Focused, Enduring, Extra control, Delay volume free) 注入は、移動相にサンプルを混和しながら加圧注入する新しい注入機構である。サンプルが強溶媒に溶解している場合や大量注入の場合などにサンプル溶媒への化合物の分配を最小限にし、良好なピーク形状を維持する事が可能に成る事が判明した。

本稿では、HPLC 装置のオートサンプラーで一般的なフロースルーニードル注入と Feed 注入の比較を行い、Feed 注入において良好なピークパフォーマンスが得られたので報告する。また、超高速分析の場合の Feed 注入による分析時間短縮についても述べる。

キーワード Feed 注入；フロースルーニードル注入；溶媒効果；加圧注入；新規注入機構

1. 始めに

逆相分配クロマトグラフィーでは、固定相と移動相の間の疎水性相互作用によって化合物が分離される。サンプル調製の際には、移動相若しくはグラジエント分析の場合には初期組成溶媒でサンプルを調製する事が望ましいが、溶媒置換の手間や溶解度及び化合物の安定性の問題によりサンプルを強溶媒で調製する場合がある。又、濃縮工程の省略や高感度検出の為に、大量注入が必要な場合もある。強溶媒に溶解したサンプルや大量注入では、固定相と移動相の他にサンプル溶解溶媒との相互作用が起こる事によって、化合物の保持の減

少やピークの歪み（リーディングやピーク割れなど）と言ったクロマトグラフィー性能の低下（溶媒効果）を引き起こす事が有る。

溶媒効果の低減には、サンプルと移動相の混和を促す事が有効なので、インジェクタープログラムによるサンディッチ注入やオートサンプラーとカラムの間へのミキサー追加などが考えられる。しかしながら、これら方法はピークバンドの拡散を引き起こし、必ずしも解決策にならない点と工程やハードウェアの変更が伴う点で実行出来ない場合が有る。

溶媒効果低減のもう 1 つの解決策として、注入方法の変更が考えられる。現在一般的に HPLC に採用されているフローズルーニードル注入（以下、フローズルー注入）は、ループに計量したサンプルを一旦貯留し、流路切り換えによって計量されたサンプルを注入する方法である。汎用の 2 ポジション 6 ポートバルブで注入出来、分析中はループ内に常に移動相が通液されている為、キャリーオーバーが最小限である点などが利点である。

これに対して、**Feed 注入**は次世代の注入方法と言える。移動相の流れに対しサンプルを任意の速度で加圧導入出来る為、サンプルは注入と同時に移動相で希釈され、溶媒効果を最小化する事が出来る。

ここではフローズルー注入と **Feed 注入**によるクロマトグラフィー性能を比較し、後者の特長について考察する。

2. Feed 注入について

新規の注入方法である **Feed 注入**は、元々超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）の為に開発された注入機構である。液体状態の CO₂ の維持と大気圧の液体サンプルの注入を両立する為に、計量デバイスで計量したサンプルを加圧しながら注入する。模式図を図 1 に示した。

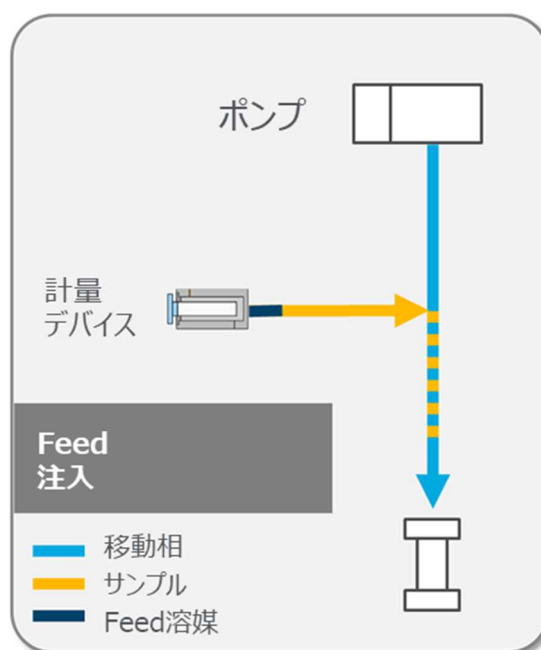


図 1 Feed 注入の模式図

Feed 注入では注入量の他に、注入速度 (**Feed** 速度: 対ポンプ流量比%)、注入共溶媒 (**Feed** 溶媒) を分析条件に合わせて柔軟に選択する事が出来る。例えば、**Feed** 速度を低くして注入を行えば移動相とサンプルは十分に混和されながら注入され、**Feed** 速度を高くして注入を行えばサンプルバンドは拡散されず分析を実行出来る。又、キャリーオーバー低減の為にニードル外側の洗浄と流路内の洗浄を実施する事が可能である。

Feed 注入機構を HPLC 装置に実装した 1260 ハイブリッドマルチサンプラーでは、新規開発のバルブによってフロースルーニードル注入と **Feed** 注入を切り換えて使用する事が出来る (図 2)。

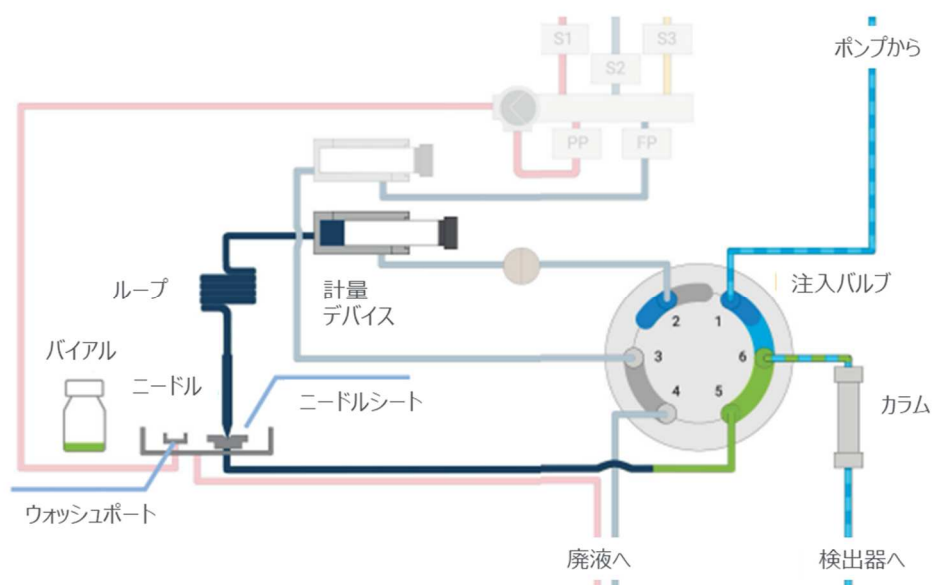


図 2 **Feed** 注入の時の流路図

2.1 イソクラティック分離

図 3 にフロースルー注入と **Feed** 注入におけるクロマトグラムを示した。分離のパターンや溶出時間に大きな違いは無く、同等の結果が得られた。一方、ピークパフォーマンスを確認すると **Feed** 注入において高い理論段数が得られた (表 1)。比較的高速の **Feed** 注入を実施する事で、サンプルバンドが拡散を受けずにカラム先端に到達し、より理想的な分離が実行されたと考えられる。最も溶出の早いフタル酸ジメチルでは約 1.7 倍の理論段数が得られており、調製溶媒の効果を受け易い溶出の早い化合物ほど、ピークパフォーマンス向上の効果が顕著であった。

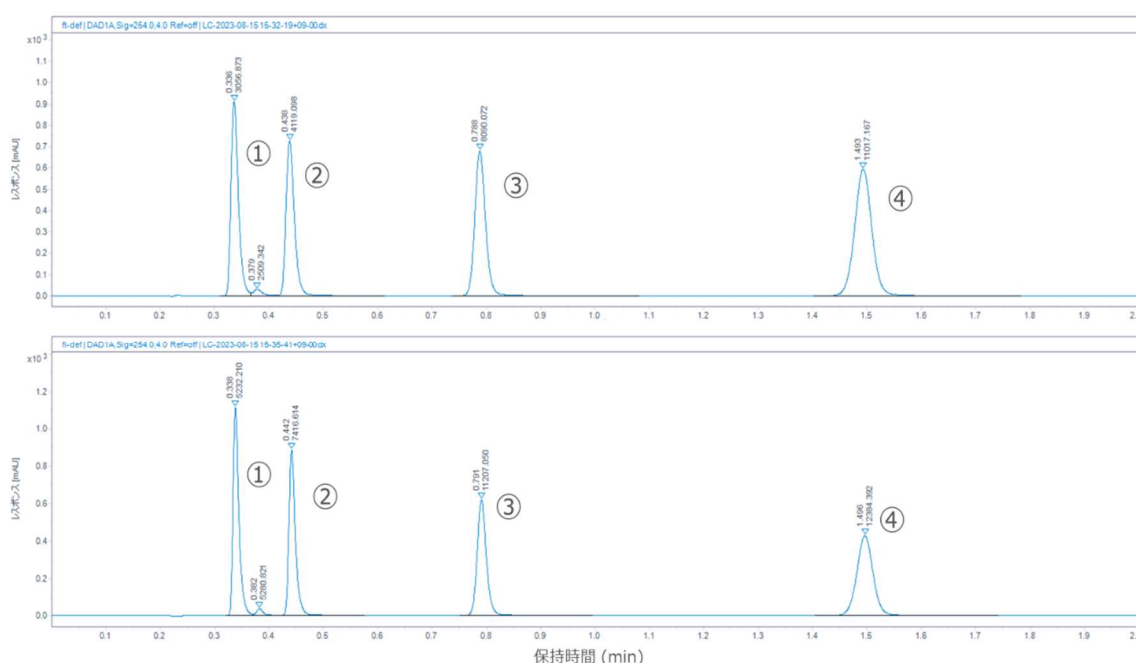


図 3 フロースルー注入（上）と Feed 注入（下）によるイソクラティック分離
 カラム：ZORBAX Eclipse Plus C18（内径 2.1 mm、長さ 50 mm、粒子径 1.8 μ m）、流速：0.5 mL/min、移動相：水/アセトニトリル=40/60、サンプル：Isocratic sample(p/n 01080-68704、メタノールに溶解した 0.15 % フタル酸ジメチル (①)、0.15 % フタル酸ジエチル (②)、0.01 % ビフェニル (③)、0.03 % σ -ターフェニル (④)、注入量：1 μ L、Feed 速度：80 %対ポンプ流量

表 1 図 3 で得られた各ピークの理論段数

化合物	フロースルー注入	Feed 注入
フタル酸ジメチル	3056	5232
フタル酸ジエチル	4119	7416
ビフェニル	8090	11207
σ -ターフェニル	11017	12384

2.2 グラジエント分離

2.2.1 クロマトグラフィー性能の比較

次にグラジエント分離において比較を行った。強溶媒で調製したサンプルとして、Isocratic sample をアセトニトリルで 10 倍希釈し分析に供した。グラジエント分離の際の Feed 速度は 30 %対ポンプ流量比とした。

各条件で得られたクロマトグラムを図 4 に示した。フロースルー注入のクロマトグラムでは全てのピークで歪みやリーディングピークと成り、良好なピークパフォーマンスを得る事が出来なかった。一方、Feed 注入ではビフェニルと σ -ターフェニルにおいて良好なビ

ーク形状を示した。ピークパフォーマンスを比較する為、シンメトリー係数を表 2 に示した。

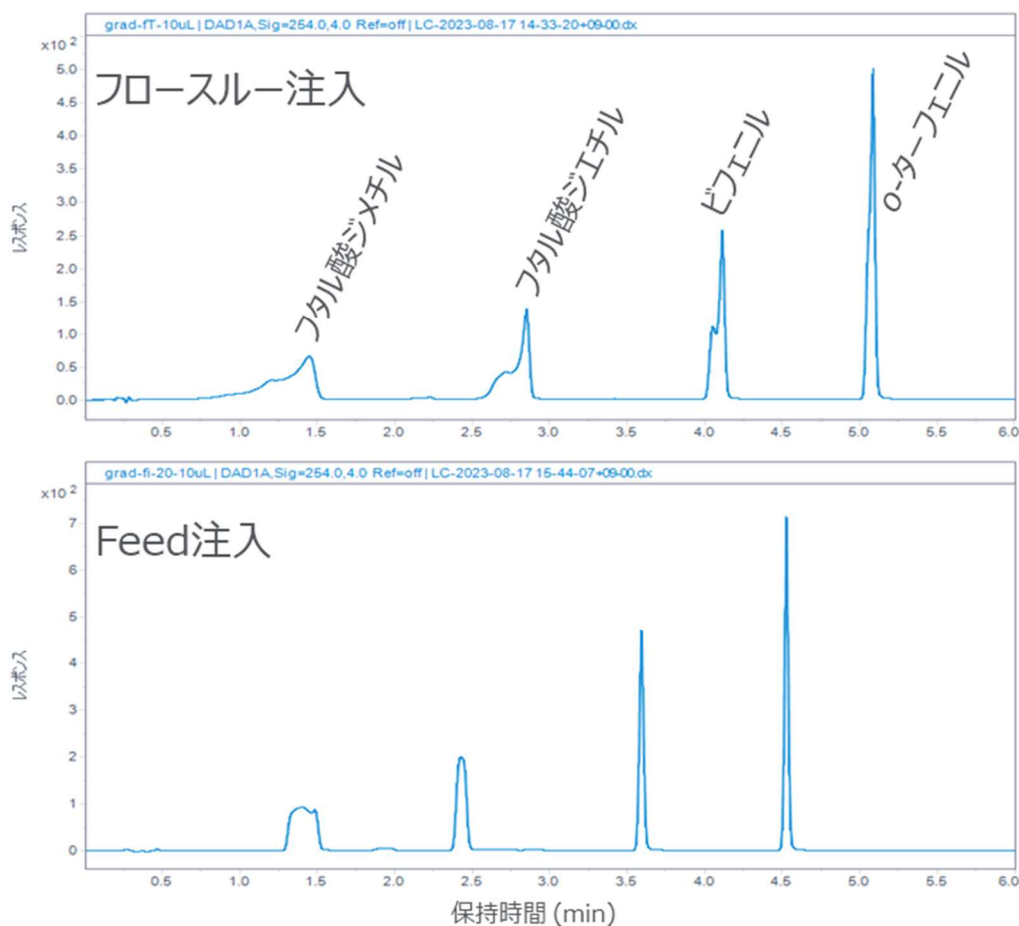


図 4 フロースルー注入（上）と Feed 注入（下）の
グラジエント分離のクロマトグラム

カラム：ZORBAX Eclipse Plus C18（内径 2.1 mm、長さ 50 mm、粒子径 1.8 μ m）、流速：0.5 mL/min、移動相 A：超純水、移動相 B：アセトニトリル、グラジエント：30 %B(0 min) – 95 %B(5 min)、サンプル：アセトニトリルで 10 倍希釈した Isocratic sample(p/n 01080-68704)、注入量：10 μ L、Feed 速度：30 %対ポンプ流量

表 2 図 4 で得られた各ピークのシンメトリー係数

化合物	フロースルー注入	Feed 注入
フタル酸ジメチル	0.56	1.05
フタル酸ジエチル	0.57	1.11
ビフェニル	0.67	1.03
o-ターフェニル	0.76	1.01

2.2.2 動作圧力の比較

図 5 にグラジエント条件の際の圧力プロットを示した。フロースルー注入では注入時のバルブ切り換えによる圧力降下が見られた。一方の Feed 注入では注入による圧力変動は非常に小さかった。

グラジエントによる圧力変動に着目すると、フロースルー注入に対し Feed 注入において圧力変化の開始が早かった。Feed 注入はオートサンプラーに由来するボリュームが最小限であり、高速分析に適した注入機構である事が示された。

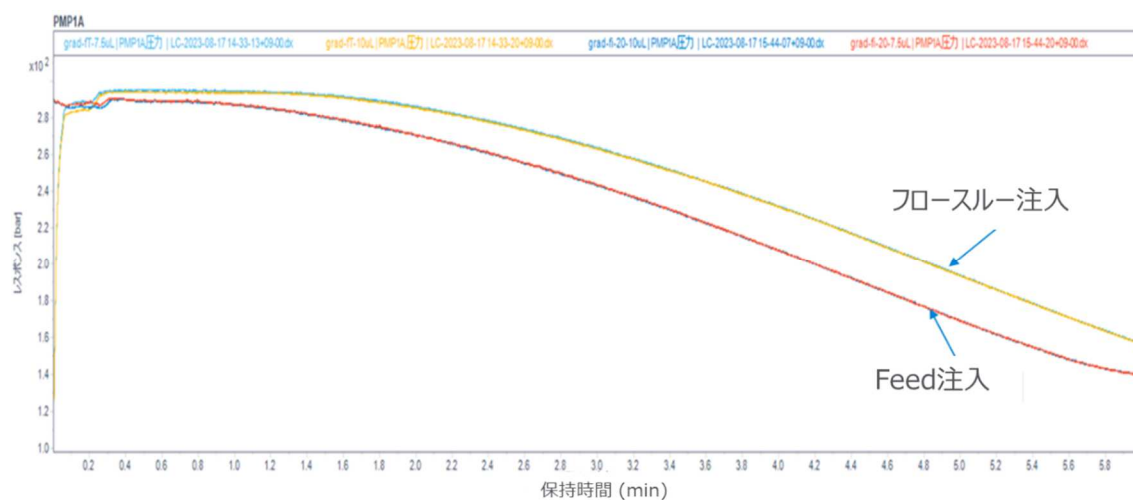


図 5 グラジエント分離の時の圧力プロット

2.2.3 超高速分析への応用

Feed 注入ではオートサンプラー内のループやニードルシートが流路に含まれない為、高速分析において有用であると考えられる。そこで、高速分析への応用可能性を検証した。

同一のグラジエント条件で分析をした場合のクロマトグラムを、図 6 に示した。注入方法の切り換えだけで、最終溶出ピークの溶出時間は 1.43 分から 1.05 分に短縮された。Feed 注入は、オートサンプラーによるグラジエント遅延を最小化出来る為、超高速分析に適している事が示された。

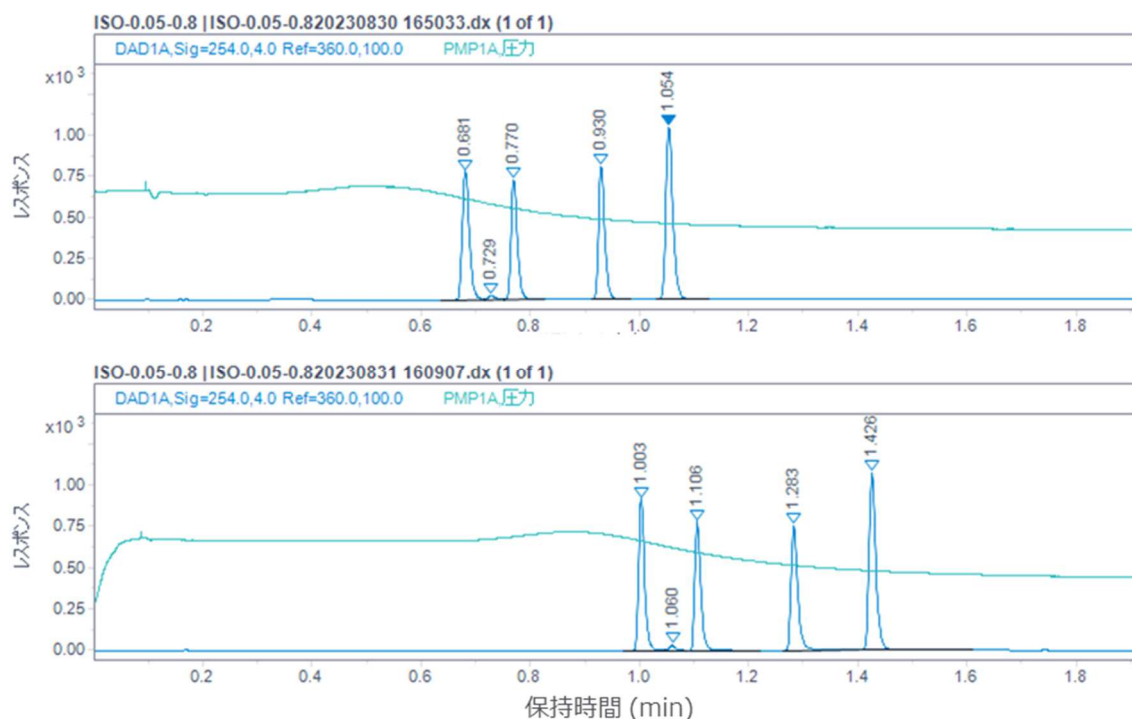


図6 Feed 注入（上）とフロースルー注入（下）の
高速分析のクロマトグラムと圧力プロット

カラム：ZORBAX Eclipse Plus C18（内径 2.1 mm、長さ 50 mm、粒子径 1.8 μm ）、流速：0.8 mL/min、移動相 A：超純水、移動相 B：アセトニトリル、グラジエント：30 %B(0 min) – 95 %B(0.05 min)、サンプル：アセトニトリルで 10 倍希釈した Isocratic sample(p/n 01080-68704)、注入量：1 μL 、Feed 速度：30 %対ポンプ流量

この時の最大動作圧力は 750 bar であった。高速化には微小粒径充填剤を使用して高い線流速で分析する方法が一般的であるが、Feed 注入によってシステムのドゥエルボリュームを減らし、グラジエント遅延を最小化する方法も有効である事が示された。

3. 纏め

Feed 注入は新開発の注入機構であり、サンプルの調製溶媒による意図しない相互作用（溶媒効果）を最小化する。イソクラティック分析では従来の注入モードとの比較で溶出挙動の違いはなかったが、Feed 注入では良好な理論段数が得られた。

グラジエント分析では Feed 注入で良好なピーク形状、ピーク高さが得られた。カラム内径に対し注入量が多い場合においても良好な結果が得られたことから、止むを得ず強溶媒で調製する HPLC 条件においても有用である事が示された。

サンプラー由来のドゥエルボリュームが最小限であることから意図しないグラジエントホールドが最小限であり、グラジエント遅延が少なくハイスループット分析にも好適である事が示された。

<執筆者略歴>

林 慶子 (Keiko HAYASHI)

2010 年 広島大学大学院生物圏科学研究科博士課程前期修了

2010 年 アジレント・テクノロジー株式会社入社

修士 (学術)



熊谷 浩樹 (Hiroki KUMAGAI)

1982 年 上智大学大学院理工学研究科化学専攻修了

1982 年 株式会社横河電機製作所入社

2007 年 アジレント・テクノロジー株式会社へ移籍

2000 年 山梨大学大学院工学研究科博士後期課程修了

博士 (工学)



【編集委員紹介】

液体クロマトグラフィー研究懇談会との関わり

Involvement in The Division of Liquid Chromatography
The Japan Society for Analytical Chemistry

岡橋美貴子／Mikiko OKAHASHI

一般社団法人臨床検査基準測定機構／Japan Reference Measurement Institute

(Received November 18, 2023 ; Accepted November 20, 2023)

私は、電子ジャーナル「LC と LC/MS の知恵」の編集委員を 2020 年の創刊号より、本研究懇談会（以下、本会）の役員を 1992 年より務めさせて頂いています。本会に携わる様に成ったのは、役員になる前からで、慶應義塾大学に入職したばかりの 1987 年頃から前委員長である星野忠夫先生の下、事務的なお手伝いをさせて頂いていました。本会とは関りは 36 年に渡り、長いお付き合いと言う事に成ります。

この紹介文を書くに当たり、1980 年代後半にも本会の会誌発行の考えが有ったと言う話を星野先生から伺った事を思い出しました。その経緯は、第 300 回例会記念誌（2016 年）における「年を重ねた厚み—会誌だけ無い」と本誌の創刊号（2020 年）における「祝辞 開門!!を祝す」と題された星野先生の寄稿文に詳細が綴られています。

やっと開門と嬉しく感じた。永い間実現出来なかった液クロ研究懇談会の会員誌「LC と LC/MS の知恵」(Wisdom for LC and LC/MS) の発刊である。事情に縛られ実現出来なかった積年の夢がやっと実現する。会員誌の発刊が出来ない背景には、会に発刊能力が無い場合と会に発刊能力があっても何らかの制約が有る場合の二つがある。本会の場合は後者であった。

(星野忠夫、LC と LC/MS の知恵、1、6-7 (2020) より)

これらを読み返した時、30 数年前に本会で願われていた会誌の発行が遂に実現し、自分がその編集に携わっていると言う事に対して、改めて身の引き締まる思いがしました。

さて、私が長年所属していた特定非営利活動法人病態解析研究所は、昨年末に理事長であった星野先生が亡くなり、今年の 6 月末をもって解散しました。星野先生は 1971 年に慶應義塾大学医学部内に病態解析研究会を設立し、1999 年に病態解析研究所として厚木佐藤病院内に移転し、2012 年には特定非営利活動法人として独立させました。病態解析は、

病気の状態を分析して理論的に明らかにする事で、物質面からの評価が重要です。研究所では、分離分析法を用いた生体内物質の精密且つ正確な測定法の開発を行い、その測定結果を解析して病気の診断や治療方針の決定、治療効果の判定、更には病気の予防に繋がる様に研究を行って来ました。そして、その研究には HPLC や LC/MS の利用が欠かせない為、研究所としても積極的に本会に参加して来ました。

研究所は無くなりましたが、これ迄の研究や事業活動の一部は関係者によって受け継がれています。私も一般社団法人臨床検査基準測定機構に所属し、引き続き臨床検査値の標準化に関する活動を行っています。又、本会の役員及び編集委員の職務も続けさせて頂いています。

今後も、本会との関りを大切にし、本会及び「LC と LC/MS の知恵」の発展に対して微力ながらもお手伝い出来ればと思っています。今後ともどうぞ宜しくお願い致します。

<執筆者略歴>

岡橋美貴子 (Mikiko OKAHASHI)

mikikojrm@jrmia1c.org

東京薬科大学大学院薬学研究科修士課程修了、慶応義塾大学
医学部薬化学研究所に勤務後、病態解析研究所に移籍

- ・ (一社) 臨床検査基準測定機構 (JRM) 監事
- ・ (公社) 日本分析化学会 LC 研究懇談会 運営委員
- ・ (一社) 日本臨床化学会糖尿病関連指標専門委員会 委員
- ・ (一社) 日本糖尿病学会糖尿病関連検査の標準化に関する委員会委員



資格：薬剤師、LC 分析士三段

【編集委員紹介】

LC 研究懇談会と質量分析計との出会い

Encounter with the Division of LC, The Japan Society for
Analytical Chemistry and Mass Spectrometer

竹澤正明／Masaaki TAKEZAWA

株式会社東レリサーチセンター／Toray Research Center, Inc.

(Received November 14, 2023 ; Accepted November 23, 2023)

キーワード LC 研究懇談会；質量分析計；東レリサーチセンター

「LCとLC/MSの知恵」創刊時より編集委員として参加させて頂いております、株式会社東レリサーチセンターの竹澤です。私は、1989年に東レ（株）へ入社し、その後、受託分析会社である（株）東レリサーチセンターへ出向し、現在に至っています。大学では、発蛍光試薬を合成し、HPLCを用いて生体試料中のシアニイオンの高感度定量法を開発し、喫煙者・非喫煙者の血漿や尿中のシアニイオンの動態を研究して来ました。入社後は、縁有って学生時代に取り組んで来た「生体試料中の薬物分析」を行う部署に配属され、約30年間、主にGC/MSやLC/MSにより、お客様が開発する医薬品候補化合物やバイオマーカーの定量に取り組んで来ました。

LC 懇には 1993 年に入会し、2003 年に運営委員に就任し以来、同懇談会で微力ながら中村委員長のご指導の下で活動して来ました。例会、研修会、LC-DAYS、LC テクノプラザ、教育に関わる書籍の執筆や査読等、同懇談会の活動内容は毎年広がりを見せています。私の記憶が間違っていなければ、例会で初めて発表したのは、東京理科大学薬学部（千葉県・野田市）にて「親水性相互作用クロマトグラフィー vs 逆相クロマトグラフィー」を主題テーマとして取り上げた第 205 回（2007 年 7 月）の時で、「生体試料中薬物濃度測定における HILIC カラムを用いた LC/MS/MS の諸問題」を発表しました。あれから 15 年以上の年月が経過した現在においても、生体試料中の医薬品やバイオマーカー分析に関わる発表の機会に恵まれています。当時から、質量分析計は欠かせない分析機器であったので、発表前には、しばしば、数社の質量分析メーカーに問い合わせをし、最新情報を入手し勉強した思い出が今でも脳裏に浮かびます。当時の LC 懇では、第一線の分析機器メーカー、カラムメーカーの専門家が多数参加していて、私自身、多くの専門家とディスカッションする事が出来た事は大変有難く、又、会社の業務にも役立ちました。LC 懇のメンバーとして参加していなかったら、色々な事を気軽に相談する機会も無かった事で有ろうと思います。そう言う意味においても、コロナ渦の 3 年間は Web 中心の例会であった為、淋しい思いでした。アフターコロナと成った現在、例会はリアル開催に戻りましたので、今後も積極的に参加し、LC 懇での出会いを大切に行きたいと思っています。

質量分析計との出会いは、生体試料中の医薬品分析に従事した事が切っ掛けに成ります。当時、LC-MSは未だ導入されてはおらず、日本電子のセクター形GC-MSを利用して業務を行っていました。大学時代に、GC/MSやELISA、RIAの免疫学的手法が高感度である事は知っていましたが、実際にGC-MS（負イオン化学イオン化）を使う様に成り、そう簡単に高感度検出を成し遂げる事は出来ず、日々泣かされました。イオン源が汚れると、全てのパーツを分解洗浄する訳ですが、当時のイオン源のパーツは数十個にも及んだ為、組立図を見ながら慎重にイオン源を組み立てて行きました。しかしながら、組立て方によって、感度が出たり出なかったりした為、何度も組立て直して漸く感度が出る様に成る迄には2~3日間費やしました。実際の試料の分析は遅々として進まない事態と成り、苦い経験をしました。その後、LC-MSが実用化され始めたのを切っ掛けに、当社でも導入されました。GC-MSでは分析種を揮発性・高感度化を目的に誘導体化を必要としていましたが、LC-MSではその様な手間が不要で、GC-MSと同じ感度を達成出来る事と成り、驚愕した事を今でも覚えています。言う迄もなく、現在も質量分析計は目覚ましい発展を遂げ、新しい製品が発売される度に ng/mL から pg/mL、そして fg ~ ag/mL と飛躍的にその感度は向上しています。LC/MSの飛躍的な発展により、今迄検出困難であった極微量なバイオマーカーの検出及び定量が可能と成っています。医薬品開発や医療現場では、今後、医薬品の作用機序の解明、疾患の診断、疾病の経過予測及び治療効果の予測等にバイオマーカーの利用が益々促進されて行くでしょう。

話は変わりますが、三つ目の出会いとして、我が家の子猫と蛙について紹介します。3年ほど前に母親が生まれて間も無い子猫の面倒を見



る事が出来無くなり、我が家で引き取る事に成りました。飼い始めた当初はケージの中で世話をしていましたが、猫が自由気ままな習性である事に気付き、ケージから解放して飼う様にしました。読者は想像出来ると思いますが、子猫の仕業で自宅のカーテンやソファはぼろぼろに成りました。この日から我が家では、何をするにも子猫が主役と成り家族の会話は子猫中心と成りました。遊びたい時にふらっと家族に寄って来て共に遊び、家中を走り回っています。食べたい時に餌を求め、寝たい時に寝ている（現実には、ほぼ一日中寝ている）姿を見ていると何とも羨ましいと思った事もしばしば有ります。何を子猫は考えているのか想像出来ませんが、家族で会話している時には、じっと耳を立てて聞いている姿を見ると、我が家の子猫は、人間の言葉をしっかりと理解しているのではないかと思うほどです。何かのTV番組で、猫は人の言葉を可成り理解している事が証明されていると動物学者によって報じられた事が有り、納得させられた記憶が有ります。何れにしても、何とも癒される

毎日です。又、昨年、庭の掃除をしていた所、偶然にヒキガエルを見掛けました。その時は気にも留めていませんでしたが、庭の掃除をする度に見掛ける様に成りました。つい先日も同じ蛙を見掛け、どうやら我が家の庭に住み着いた様です。この蛙は何を食べて命を繋いでいるのか分かりませんが、我が家の子猫は、家の中から蛙の歩く姿を見て楽しんでいます。今では家族の中心に子猫と蛙がいます。いつの間にか子猫は、毎日、自宅で蛙を探し回っています。たわいもない話ではありますが、今年還暦を迎えた私にとっては、この様な姿を見るとホッとする瞬間であり、安らぎのひと時です。



今回、「液クロ懇」、「質量分析計」、「子猫と蛙」の三つの出会いを紹介しました。これからも出会いを大切に活動していければと思います。最後に、今後もLC懇で発表が出来る様最新情報の取得に努めると共に、更なる LC 懇の発展に微力ながら貢献して行きたいと存じます。

<執筆者略歴>

竹澤正明 (Masaaki TAKEZAWA)

1989 年 東京理科大学薬学研究科修士修了

2022 年 株式会社東レリサーチセンター・取締役

ライフサイエンス全般担当 現在に至る

分析士資格：LC 分析士三段、LC/MS 分析士マイスター

専門：生体試料中の薬物濃度測定、医薬品の安定性試験、
質量分析

趣味：小物集め、温泉、読書、お酒

E-mail：masaaki.takezawa.f9@trc.toray



【団体会員紹介】

フジクラにおける液体クロマトグラフィーの活用／

Application of Liquid Chromatography in Fujikura

市川進矢／Shinya ICHIKAWA

株式会社フジクラ／Fujikura Ltd.

(Received October 30, 2023 ; Accepted October 31, 2023)

キーワード HPLC ; LC/MS ; イオンクロマトグラフィー (IC) ; 燃焼 IC 装置

1. はじめに

株式会社フジクラは、1885 年（明治 18）に藤倉善八が創業した電線メーカーで、光ファイバなどの情報通信分野、電力ケーブルなどのエネルギー分野、エレクトロニクス分野、自動車電装分野などの領域で、様々な製品を提供しています。

2. フジクラにおける分析化学の役割

フジクラの製品は、樹脂、ゴム、金属、ガラス、セラミックスなど、様々な材料を用いた成形品であることから、成型品だけでなく原材料を評価する上でも分析化学が果たす役割は大きく成ります。具体的には、樹脂、ゴムなどの有機材料は GC/MS や FTIR など、金属、ガラス、セラミックスなどの無機材料は ICP-MS や XRF などを活用して評価を行います。又、エレクトロニクス分野では微小な電子部品の評価を行う必要があり、電界放出形走査電子顕微鏡（FE-SEM）や、電界放出形透過電子顕微鏡（FE-TEM）などの装置を活用しています。

3. 液体クロマトグラフィーの活用

前述の様に、取り扱う製品の材質が樹脂や金属などの固体であることから、一見すると液体クロマトグラフィーは全く活用されていないのでは？と思うかも知れませんが、樹脂の分子量分布は GPC、樹脂やゴム中の添加剤は逆相分配クロマトグラフィー、試料の前処理では各種固相抽出など、有機材料の分析でも活用されています。又、無機材料の分析では、金属の表面処理剤の評価において、LC/MS/MS を活用しています¹⁾。更に、エレクトロニクス分野では、めっき液などの各種薬液、洗浄水、表面汚染や変色の評価において、様々な液体クロマトグラフィーや LC/MS/MS を活用している他、イオンクロマトグラフィー (IC) による無機イオンや有機酸分析も役立っています。

なお、私共の分野においても環境への配慮が必要で、PFAS やアルデヒド類などの分析では、液体クロマトグラフィーを活用しています。その一例として、逆相系カラムを用いた水

系試料のアルデヒド類分析を図 1 に示します。本結果では、水系試料に含まれるホルムアルデヒドとアセトアルデヒドが検出されていますが、本試料は分解物として生成したアルデヒド類をモニタリングした事例に成ります。

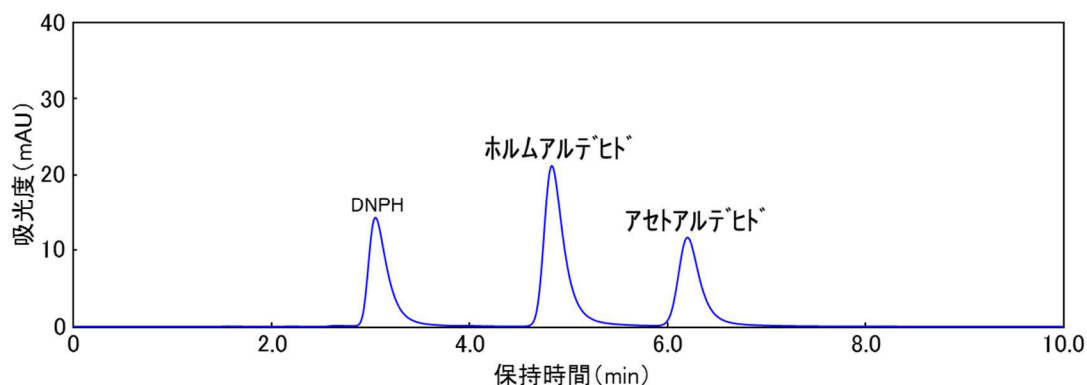


図 1 水系試料のアルデヒド類分析²⁾

その他、異業種の方々には余り馴染みが無い分析装置かも知れませんが、イオンクロマトグラフの前段に自動燃焼装置を接続した、燃焼イオンクロマトグラフ (以下、燃焼 IC 装置) も活用しています。この燃焼 IC 装置は、試料を燃焼ボートに秤量し、その燃焼ボート上の試料を燃焼させて吸収液に発生ガスをトラップし、その吸収液中のハロゲン化物イオンと硫酸イオンをイオンクロマトグラフにて検出する事で、有機材料中に含まれるハロゲンと硫黄を簡便に定量分析出来る装置です。

当初は、フジクラの顧客ニーズとしての電子材料のハロゲンフリー対応に伴うハロゲン分析の需要が有り、それに対応して購入した分析装置でした。しかし、顧客ニーズの変化に伴い、現在は他の社内ニーズへ活用を広げています。

フジクラの主力製品で有る電線や、電子部品等を使用される樹脂・ゴム材料には、様々な添加剤が含まれていますが、抽出率の問題や前処理の煩雑さを考えると、添加剤に含まれる元素を定量分析し、元素濃度から添加剤の濃度を換算する方が効率的な場合があります。その分析対象と成る元素がハロゲン若しくは硫黄の場合、この燃焼 IC が非常に役立ちます。その一例として、燃焼 IC による電線被覆材分析を図 2 に示します。本結果では、電線被覆材に含まれるハロゲンと硫黄がイオン成分として検出されていますが、本法は装置立ち上げと試料の秤量のみで前処理は必要とせず、ハロゲンと硫黄を連続的に定量分析出来る為重宝しています。

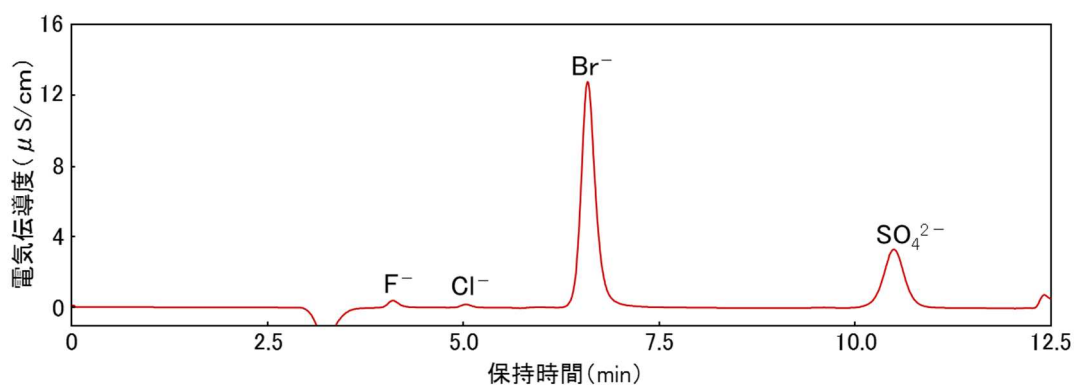


図 2 燃焼 IC による電線被覆材分析 ²⁾

4. おわりに

この団体会員紹介では、私が普段実施している液体クロマトグラフィーの活用のうち、その一部を紹介しました。これからも、新しい液体クロマトグラフィーの活用を探索しつつ、液体クロマトグラフィー研究懇談会や日本分析化学会等での活動を通じて、価値の有る情報発信を続けたいと思います。

引用文献

- 1) 市川進矢、第 70 回分析化学討論会要旨集、p.173 (2009).
- 2) 市川進矢、とても頼りになるイオンクロマトグラフ仕様の Prominence、LCtalk、Vol.110、p.3、島津製作所 (2020).

<執筆者略歴>

市川進矢 (Shinya Ichikawa)

- ・株式会社フジクラ 基盤技術センター 分析技術室
- ・液体クロマトグラフィー研究懇談会 事業委員
- ・LC 分析士二段、LC/MS 分析士初段



【団体会員紹介】

日本食品検査における分析法開発／Analytical Method Development in JFIC

橘田 規／Tadashi KITTA

一般財団法人日本食品検査／Japan Food Inspection Corporation

(Received November 20, 2023 ; Accepted November 28, 2023)

キーワード アレルギー物質；麻痺性貝毒；NMN

1. 始めに

一般財団法人日本食品検査（Japan Food Inspection Corporation, JFIC）は、「総合食品検査機関」として「正確な試験」と「信頼される検査」を遂行する事により、食品産業の健全な発展に資すると共に、食の安全及び食品衛生の向上等の公共の福祉に寄与する事を理念として活動する機関です。当法人は、未だ戦後の混乱が残る 1949 年、日本の輸出水産物の安全性を確保する事を目的に、財団法人輸出冷凍水産物検査協会として設立されました。1950 年には東京検査所（現在の首都圏事業所）を開設し、本格的に業務を開始しました。その後、神戸、札幌、福岡、仙台、名古屋に事業所・検査所を設立し、時代に合わせ、食の安全を取り巻く有らゆるニーズに対応して来ました。2017 年には現在の名称である一般財団法人日本食品検査に改称し、2024 年には創立 75 周年を迎えます。

試験業務は、輸入食品中の残留農薬、動物用医薬品、食品添加物、カビ毒、貝毒、微生物などに係る食品衛生法への適合性試験、及び市販食品中の栄養成分、機能性関与成分などの定量分析を行っています。検査業務は、食品工場の監査、飲食店・スーパーマーケット等店舗の衛生調査・改善指導、HACCP・ISO 等認証取得のコンサルティングなどを行っています。本稿では、筆者が所属する事業本部試験部門がこれ迄に実施した分析法開発の事例をご紹介します。

2. 分析法開発の事例紹介

2.1 食物アレルギーの LC-MS/MS 法

食品表示基準（平成 27 年内閣府令第 10 号）に基づく食物アレルギー表示制度では、複雑なマトリックス中の食物アレルギーを検出・定量する方法として ELISA 法が採用されています¹⁾。この方法は、特定のタンパク質を高感度に検出する手法ですが、検査キットの特性や適用する食品の種類・加工度によっては、タンパク質の変性等による偽陰性及び交差反応による偽陽性の判定を避ける事が出来ません。そこで、我々は高感度・高選択性を特徴とする LC-MS/MS を用いて種々の食物アレルギーを同時分析する方法の検討を行って来まし

た²⁾。しかし、標準品規格³⁾に適合した定量分析用標準品が市販されていない為に、加工食品に対する LC-MS/MS 法の適用性・有効性を評価する事が出来ませんでした。そこで、即時型食物アレルギーの主要な原因食品である鶏卵（34.7%）及び牛乳（22.0%）⁴⁾を対象とし、市販の鶏卵及び牛乳由来タンパク質を定量用標準品とする LC-MS/MS 法を開発し、加工食品への適用性及び検査法としての有効性を検討しました。図 1 に示した抽出イオンクロマトグラムは、標準品をトリプシン消化して得られた特異的ペプチドを LC-MS/MS 測定したものです。

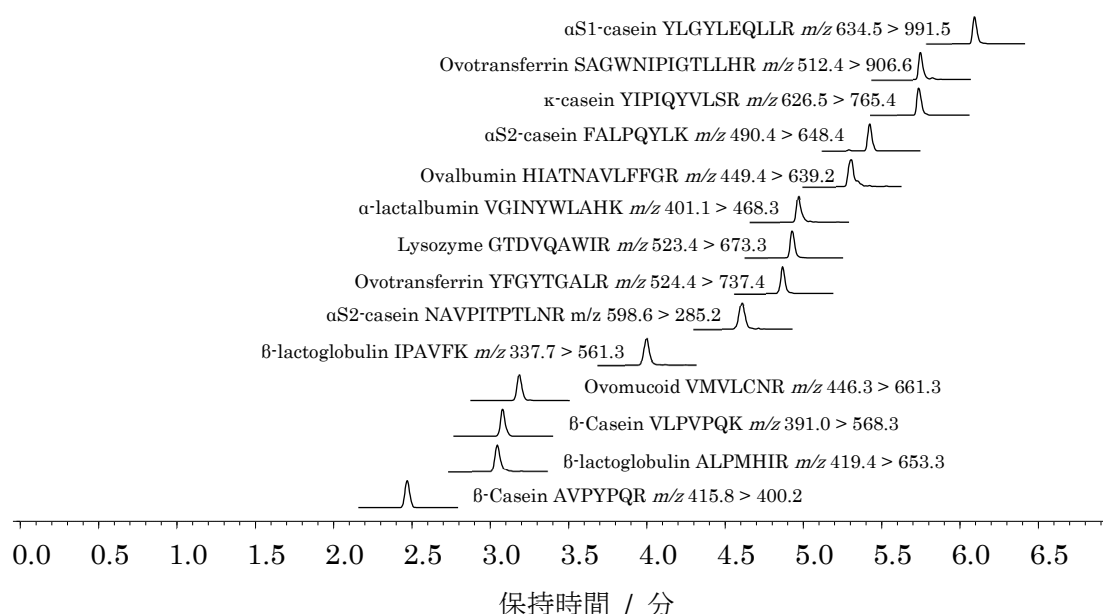
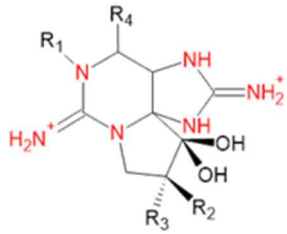


図 1 特異的ペプチドの抽出イオンクロマトグラム

2.2 麻痺性貝毒検査法のバイオアッセイから LC-MS/MS 法への移管

麻痺性貝毒（paralytic shellfish poisoning, PSP）は、*A. catenella*、*A. pacificum* 等の渦鞭毛藻が産生するサキシトキシン（STX）及びその類縁物質（図 2）の総称です。環状グアニジンアルカロイドである PSP は、Na チャネルを可逆的・特異的にブロックする強力な神経毒である為、PSP を蓄積した二枚貝をヒトが喫食して重症化すると呼吸麻痺で死亡する事が有ります。

これ迄我が国では、EU に輸出されるホタテ貝の麻痺性貝毒検査に、マウスを用いたバイオアッセイを用いて来ましたが、EU 規制当局から、輸出を継続する為には EU 実施規則に基づき「生きた動物を用いない分析法」による検査が求められました。そこで、EU が要求する検査体制を整備する為に、「生きた動物を用いない分析法」である LC-MS/MS による麻痺性貝毒分析法を開発しました。既に、今年度の対 EU 輸出検査において我々が開発した LC-MS/MS 法の運用を開始しています。

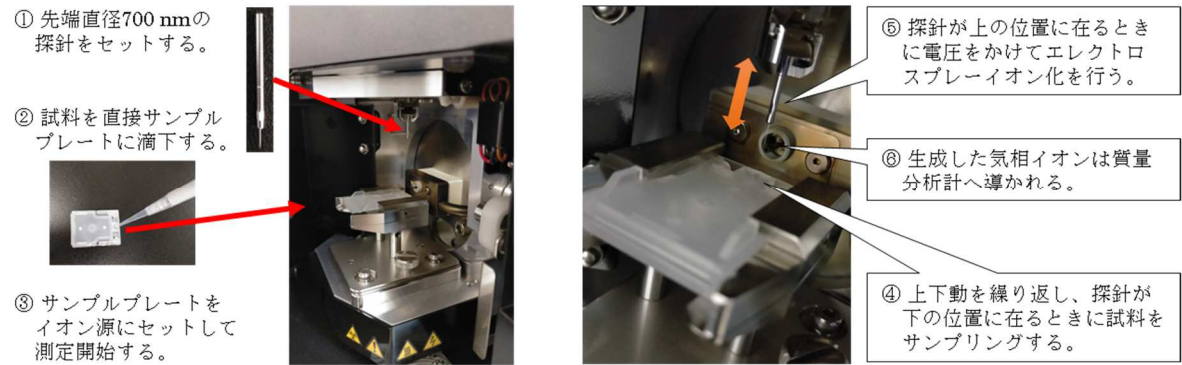


化合物名	R1	R2	R3	R4
カルバモイルトキシン群				
サキシトキシン (STX)	H	H	H	COCONH ₂
ネオサキシトキシン (NeoSTX)	OH	H	H	COCONH ₂
ゴニオトキシン 1 (GTX1)	OH	OSO ₃ ⁻	H	COCONH ₂
ゴニオトキシン 4 (GTX4)	OH	H	OSO ₃ ⁻	COCONH ₂
ゴニオトキシン 2 (GTX2)	H	OSO ₃ ⁻	H	COCONH ₂
ゴニオトキシン 3 (GTX3)	H	H	OSO ₃ ⁻	COCONH ₂
11α-ヒドロキシサキシトキシン (11α-hydroxy STX)	H	OH	H	COCONH ₂
11β-ヒドロキシサキシトキシン (11β-hydroxy STX)	H	H	OH	COCONH ₂
M4	H	OH	OH	COCONH ₂
N-スルホカルバモイルトキシン群				
ゴニオトキシン 5 (B1)	H	H	H	COCONHSO ₃ ⁻
ゴニオトキシン 6 (B2)	OH	H	H	COCONHSO ₃ ⁻
N-スルホカルバモイルゴニオトキシン 2 (C1)	H	OSO ₃ ⁻	H	COCONHSO ₃ ⁻
N-スルホカルバモイルゴニオトキシン 3 (C2)	H	H	OSO ₃ ⁻	COCONHSO ₃ ⁻
N-スルホカルバモイルゴニオトキシン 1 (C3)	OH	OSO ₃ ⁻	H	COCONHSO ₃ ⁻
N-スルホカルバモイルゴニオトキシン 4 (C4)	OH	H	OSO ₃ ⁻	COCONHSO ₃ ⁻
M1α	H	OH	H	COCONHSO ₃ ⁻
M1β	H	H	OH	COCONHSO ₃ ⁻
M3	H	OH	OH	COCONHSO ₃ ⁻
デカルバモイルサキシトキシン群				
デカルバモイルサキシトキシン (dcSTX)	H	H	H	CH ₂ OH
デカルバモイルネオサキシトキシン (dcNeoSTX)	OH	H	H	CH ₂ OH
デカルバモイルゴニオトキシン 2 (dcGTX2)	H	OSO ₃ ⁻	H	CH ₂ OH
デカルバモイルゴニオトキシン 3 (dcGTX3)	H	H	OSO ₃ ⁻	CH ₂ OH
デカルバモイルゴニオトキシン 1 (dcGTX1)	OH	OSO ₃ ⁻	H	CH ₂ OH
デカルバモイルゴニオトキシン 4 (dcGTX4)	OH	H	OSO ₃ ⁻	CH ₂ OH
デカルバモイルオキシサキシトキシン (doSTX)	H	H	H	CH ₃

図 2 代表的な麻痺性貝毒の構造

2.3 β-ニコチンアミドモノヌクレオチド及び関連物質の PESI-MS/MS 法

β-ニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) は体内に取り込まれると、サーチュイン遺伝子 (長寿遺伝子) を活性化させる機能をもつニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) に変換されますが、加齢とともに生体内の NAD 量は減少する事が明らかになっています。NMN はブロッコリー、枝豆などの生鮮野菜に含まれる事が知られていますが、その他食品中での含有量に係る報告は多く有りません。そこで、農産物、畜産物、水産物など種々食品中での NMN 定量分析法を開発しました。喫食時の酵素代謝や調理時の分解を考慮し、迅速簡便且つクロマトグラフィー分離が不要な探針エレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析法 (probe electrospray ionization tandem mass spectrometry, PESI-MS/MS) (図 3) による、NMN 及び関連物質の同時分析を開発しました。本法では 1 測定 1 分 20 秒以内で 7 化合物を定量する事が出来ます。



3. 最後に

これ迄日本食品検査が長きに渡って行って来た様々な試験や検査は、何れも食の安全・安心を脅かす事件及びお客様からの「困った」の声に応じて来たものでした。次に示すものはその一例です。

1954 年	第五福竜丸事件	マグロの放射能検査
1963 年	食用蛙サルモネラ汚染	サルモネラ検査
1983 年	焼却灰ダイオキシン検出	ダイオキシン検査
1986 年	チェルノブイリ原発事故	放射性セシウム検査
1996 年	O157 集団食中毒	O157 検査
2002 年	中国産農産物安全問題	残留農薬検査
2008 年	メラミン汚染問題	メラミン検査
2011 年	福島第一原発事故	放射性セシウム検査

本稿で紹介した事業本部試験部門が行っている分析法開発業務もその一環です。これからも公平公正な総合食品検査機関として、新たな時代のニーズに的確に対応した分析法の開発及び受託体制の整備に努めて行きます。

参考文献

- 1) アレルギー物質を含む食品の検査方法について(平成 22 年 9 月 10 日消食表第 286 号).
- 2) 第 114 回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集, 182 (2017).
- 3) 食品表示基準について 別添 アレルゲンを含む食品の検査方法 別添 3 標準品規格 (平成 27 年 3 月 30 日消食表第 139 号) .
- 4) 平成 30 年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書.
- 5) COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2021/1709, p.88, L 339, Official Journal of the European Union (2021).

<執筆者略歴> 橘田 規 (Tadashi KITTA)

- ・化学工業メーカーで品質管理業務などを経験した後、財団法人日本冷凍食品検査協会（現在の一般財団法人日本食品検査）に入会、理化学試験業務、試験法開発業務に従事。事業本部試験部門 副部長。
- ・分析士資格：LC 分析士二段、LC/MS 分析士四段。



【団体会員紹介】

製薬企業の歴史と変化

History and Changes in the Pharmaceutical Industry

合田竜弥／Ryoya GODA

第一三共株式会社／Daiichi Sankyo Co. Ltd.

(Received November 15, 2023 ; Accepted November 18, 2023)

キーワード 創薬；ブロックバスター；個別化医療；バイオマーカー；モダリティー

1. 第一三共の歴史

第一三共グループの創薬企業としての歴史は、前身である三共と第一製薬其の創業時まで遡ります。三共は、1899 年に設立された三共商店が消化酵素剤タカヂアスターゼを発売する所から始まります。1902 年には、世界で初めて抽出に成功した副腎髄質ホルモン剤アドレナリンを発売しています。一方、第一製薬は、1915 年に設立されたアーセミン商会が梅毒治療薬サルバルサンを国産化した所から始まり、1918 年に第一製薬株式会社と成ります。1980 年代からは、両社共、グローバルでの事業展開を行い、プラバスタチン、レボフロキサシン、オルメサルタン等のブロックバスターを上市しています。2007 年の両社統合後も引き続き革新的新薬の創出に向け研究開発を進めています。

現在、第一三共は、世界各地の拠点において、約 1 万 8 千人（日本の従業員が半数以上を占める）の社員が働いています。全世界でのグループ会社数は 52 社有り、26 箇国・地域に拠点を展開しています。研究開発は、10 箇国・地域、17 拠点で行っており、製造は、6 箇国・地域、13 拠点で行っています。

一方、日本での主要製品は、医療向け医薬品に加えて、ジェネリック医薬品、ワクチン、OTC 医薬品/ヘルスケア製品の 4 事業と成ります。

2. ブロックバスター

ここでは、ブロックバスターについて紹介させていただきます。ブロックバスターとは、画期的な薬効をもつ新薬のうち圧倒的な売り上げが有る製品の事を示し、明確な定義は存在していない様ですが、例えば、日本の場合ピーク時の売上が 1000 万円以上の製品を指す事が多い様です。従って、ブロックバスターの歴史がその製薬企業の歴史と言っても過言ではありません。

先ず、前出のプラバスタチンは、コレステロールを合成する酵素の働きを阻害する事によって血液中のコレステロール値を低下させる薬物です。こうした作用を有する薬物の総称

としてスタチンという用語が用いられますが、スタチンの始まりは、1970 年代に三共の研究者が見出したメバスタチンに成ります。残念ながら、メバスタチンは最終的に製品化されませんでした。この発見以降、8 種類のスタチンが日本及び海外の製薬会社から医薬品として販売されています。現在でも、スタチンは脂質異常症（高脂血症）の治療薬として広く使われていて、1989 年に発売されたプラバスタチンはピーク時に年間約 2000 億円を売り上げました。

次に、レボフロキサシンは、第一製薬によって発明されたニューキノロン系の合成抗菌薬であり、細菌の DNA 複製に関与する酵素を阻害する事によって抗菌活性を示す薬物です。ここで、キノロン系とは、キノロンの構造を原型として、人工的に合成・発展させた薬物群を示しており、そのうち、フルオロ基の有るキノロンがニューキノロンと呼ばれています。実は、レボフロキサシンが 1993 年に発売される前に、オフロキサシンが第一製薬から 1985 年に発売されています。オフロキサシンは、2 つの光学異性体（*S* 体と *R* 体）を含むラセミ体でしたが、これを光学分割するプロセスを見出し、活性本体が *S* 体のみである事実を明らかにしました。この活性体がレボフロキサシンと成ります。レボフロキサシンは、キノロン系薬のスタンダード薬として幅広い感染症領域において処方されていて、ピーク時に年間 2000 億円以上を売り上げました。

オルメサルタンは、三共が自社開発した血圧降下剤であり、血圧制御に関与する受容体を拮抗的に阻害する事で降圧作用を示す薬物です。同様の作用機序を有する薬物の総称として ARB という略称が用いられています。オルメサルタンは、通常、エステル形のプロドラッグとして経口投与され、吸収後に速やかに加水分解されて活性体のオルメサルタンと成り薬効を発揮します。三共が 1995 年に創製し、2002 年に発売されたオルメサルタンは、ピーク時に年間約 3000 億円を売り上げました。

統合後に発売されたブロックバスターとしては、2011 年に発売された経口抗凝固剤であるエドキサバンが有ります。活性化血液凝固第 X 因子を選択的、可逆的且つ直接的に阻害する事によって、血栓形成抑制作用を発現します。2022 年度に 2400 億円を売り上げています。

更に、2020 年に発売した抗体薬物複合体（antibody drug conjugate, ADC）である抗悪性腫瘍剤のトラスツズマブ デルクステカン[®]は、がん細胞表面に過剰発現している HER2 というタンパク質を標的としてがん細胞に結合して、殺細胞性化合物を放出する様に設計された抗体医薬です。発売から数年ですが、2022 年に 2500 億円を超える売り上げを達成しています。

これまで述べてきたブロックバスターの創製は、製薬企業の成長にとって必要不可欠ですが、一方で特許が切れると売り上げが急激に落ちる「パテントクリフ（特許の崖）の克服」と呼ばれる問題も引き起こします。又、1 つの薬が出来る迄に、少なくとも 10 年近くもの歳月を要しますので、ブロックバスター以外も含めた長期的な視点での継続的な新薬開発がとても重要と成って来ます。その為、常に新薬を作るプレッシャーと戦う必要が生まれて

来ます。

3. 個別化医療への変化

ここでは、治療法の変化について紹介させていただきます。以前は同じ病気と診断された患者に対して、一律に同じ治療、詰り同じ薬が投与されて来ました。但し、病気の原因や病態に関する遺伝子やタンパク質など分子レベルでの解明が進み、同じ病気と診断された患者の中でも、遺伝子やタンパク質などの分子の違いによって様々なタイプの患者さんが居る事が分かってきました。こうした背景の下、個々の患者の疾患の治療における選択において、個人差を重視する事を指す包括的な呼称として個別化医療という言葉が用いられています。詰り、患者とその疾患細胞のゲノム情報や遺伝子発現量、タンパク質発現量等の様々な情報を、患者層別や医薬品効果等の予測に用いた医療に変化しつつあります。

こうした個別化医療への変化は、医薬品が効果を発揮出来る対象患者を予め選別する事で、治療効果を確実なものとし、結果、新薬開発の成功確率を高める事が出来ます。一方で、医薬品が効果を発揮出来ない患者への無駄な投与を減らす事で、医療費の削減にも寄与する事も出来ます。ブロックバスターの項で紹介させて頂いたトラスツズマブ デルクステカン[®]は、投与対象は簡単に言えば HER2 陽性の患者であり、詰り個別化医療と言う事に成ります。

但し、実際に個別化医療を達成する為には、研究開発の段階でこうした個人差、詰り標的を把握してその妥当性及び有効性を確認する必要が有ります。医薬品の研究開発は年々難しく成っており、研究開発費用も上昇を続けています。その様な環境下、研究開発の効率化は創薬企業にとって大きな課題でもあります。その為、研究開発効率改善の方策としてバイオマーカー開発が特に注目されています。

バイオマーカーとは、「通常の生物学的過程、病理学的過程、若しくは治療的介入に対する薬理学的応答の指標として、客観的に測定され評価される特性」と定義されています。例えば、ヒトの体は数万種類にも及ぶ多種多様なタンパク質から構成されており、又血液内には数千種類のタンパク質が含まれています。こうしたタンパク質のうち、病気との深い繋がり示すタンパク質は疾患バイオマーカーとも呼ばれますが、その中で病気の診断が可能となるものは診断マーカーと呼ばれます。又、薬剤に関連した特定の分子を発現している患者を選別出来るものは患者層別マーカー、薬物の安全性、毒性を評価可能なものは安全性・毒性マーカーと呼ばれています。図 1 にバイオマーカーの使用目的別の分類を示しますが、バイオマーカーには、遺伝子情報、タンパク質濃度の他に、広義には日常診療で用いられる各種臨床検査値や画像診断データなども含まれています。

バイオマーカーの種類

- 診断マーカー (diagnostic marker)
 - ・疾患の診断に用いる
- 予後マーカー (prognostic marker)
 - ・特定の治療によらない疾患の経過を予測する
- 薬力学マーカー (pharmacodynamic marker)
 - ・薬剤の作用機序を見る
- 予測マーカー (predictive marker)
 - ・特定の治療による効果を予測する
- 代替マーカー (surrogate marker)
 - ・臨床試験の真のエンドポイントを代替する
- モニタリングマーカー (monitoring marker)
 - ・疾患の判断や、治療への反応を見る
- 患者層別マーカー (stratification marker)
 - ・薬剤に関連した特定の分子を発現している患者を選別する
- 安全性・毒性マーカー (safety/toxicity marker)
 - ・薬物の安全性、毒性を評価

図 1 バイオマーカーの使用目的別の分類

5. 最後に

入社時から 2000 年代にかけて、LC/MS の大きな技術的発展により低分子薬物濃度測定が容易と成り、LC/MS によるスクリーニング法を用いた薬物動態評価が創薬初期から実施される様に成る等、創薬研究開発に対するアプローチが大きく変化しました。近年は、従来の低分子化合物だけではなく、ペプチド、タンパク質、核酸、細胞等が創薬分子として活用され、医薬品モダリティに大きな変化が生まれています。こうした変化の激しい医薬品研究開発においては、必要とされる分析技術も常に大きく変化・発展しています。このような変化に取り残されない様に、常に最新技術に注目しつつ、場合によっては自ら技術開発する必要が有ります。従って、医薬品開発の分析業務に関わる者としては、柔軟な対応力と独創性を発揮出来るかが鍵だと考えられます。

<執筆者略歴>

合田竜弥 (Ryoya GODA)

- ・ 1996 年 3 月 東京大学大学院薬学系研究科薬学専攻修了
- ・ 1997 年 4 月 第一製薬株式会社代謝分析研究所
- ・ 2007 年 4 月 第一三共株式会社薬物動態研究所
- ・ 2009 年 4 月 博士 (薬学) 東京大学 (論文博士)
- ・ 分析士資格 : LC 分析士二段、LC/MS 分析士初段
- ・ E-mail : goda.ryoya.u4@daiichisankyo.co.jp



【新役員紹介】

運営委員心得に就任して

大貫隆史／Takashi ONUKI

味の素株式会社 バイオ・ファイン研究所／

Reserch Institute for Bioscience Products & Fine Chemicals,
Ajinomoto Co., Inc.

(Received November 6, 2023 ; Accepted November 8, 2023)

この度、運営委員心得に就任させて頂く事に成りました。私が初めて LC 研究懇談会に参加させて頂いたのは 2003 年頃だったと記憶しています。当時は研究所に配属されたばかりでしたので、勉強と情報収集を兼ねて扉を叩いたのを覚えております。

更に時を遡り、私が初めて HPLC 装置と出会ったのは新入社員として配属されたプロセス開発部門での事でした。当時の HPLC 装置は現在の様に洗練されたデザインではなく、ポンプヘッドや配管は剥き出しで、ロール型の感熱紙を使用しており、分析が進むと同時にクロマトグラムが少しずつ印字されて行くと言う代物でした。又、現在の様に保守サービスが充実していなかった事も有り、ちょっとした故障であれば自分達で直すのが当たり前でした。勿論、消耗品は全て自分達で交換していたので、ついでに他の部分も開けて装置内部を備に観察したものです。

今回このようなお役目を賜りましたので、微力ながら本研究懇談会のみならず、国内 LC 業界の更なる発展に貢献出来ればと思います。どうぞ宜しくお願い致します。

< 執筆者略歴 > 大貫隆史 (Takashi ONUKI)

- ・ 1992年 味の素株式会社入社 プロセス開発や品質管理業務を経て、バイオ・ファイン研究所で分析法の開発等に従事。
- ・ 分析士資格：LC分析士初段

E-mail: takashia.oonuki.u4x@asv.ajinomoto.com



【新役員紹介】

LC 研究懇談会運営委員心得に就任して

太田茂徳／Shigenori OTA

ジーエルサイエンス株式会社／GL Sciences Inc.

(Received November 17, 2023 ; Accepted November 18, 2023)

この度、前任の弊社松岡からの紹介を受け、LC 研究懇談会のお手伝いをさせて頂く事になりました。分析化学会、薬学会等、時折諸々の学会には参加させていただいておりました。主に生体試料の前処理に活用できるクロマト製品やカラムの開発に従事し、現在はアプリケーションを採集するための部署に所属しております。運営委員会のお手伝いをさせていただくことは初めての機会になります。毎回緊張しながら会に参加しております。

先日高校生の娘より、中島 敦の山月記について授業を受けたと言われ、内容について家で話しました。その後、「臆病な自尊心」、「尊大な羞恥心」この言葉について、今回の LC 懇談会と自身のかかわりについて考えました。会社に勤めて 20 年近くが経ち、新たなチャレンジにより失敗したくない、恥をかきたくなといった思いに駆られがちですが、今回のこのご縁をよい機会とし、失敗を恐れずに、積極的且つ謙虚な姿勢を大事にしながら取り組みたいと思います。また、自身だけではなく若手社員が学びの場として LC 研究懇談会と関われるよう、社内への周知や、会への参加を促していければと考えております。よろしくお願いいたします。

<執筆者略歴> 太田茂徳 (Shigenori OTA)

- ・ 2003 年 東京農工大学大学院工学研究科修士課程修了、同年ジーエルサイエンス株式会社入社、クロマトグラフィー用充填剤開発、アプリケーション開発に従事。現在に至る。
- ・ 2021 年 山口大学大学院創成科学科博士課程修了、博士 (生命科学)
- ・ 分析士資格 : LC 分析士初段



【新役員紹介】

LC 研究懇談会 運営委員心得に就任して

奥田愛未／Narumi OKUDA

花王株式会社／Kao Corporation

(Received November 15, 2023 ; Accepted November 23, 2023)

2023 年 6 月より、LC 研究懇談会の運営委員心得に就任させていただきました花王株式会社の奥田と申します。僭越ながら、自己紹介をさせていただきます。

花王は 1890 年に石鹼の製造から始まった会社であり、現在では衣料用洗剤以外にも食品やサニタリー製品、ケミカル製品まで幅広い製品やサービスを展開しています。私の所属する小田原事業場では主に化粧品の開発・製造を行っており、私は 2019 年の入社以来、化粧品の分析業務に一貫して携わり、主に製品規格及び試験法の作成を行って来ました。製品の試験法は出荷前検査や保存安定性試験の場面でも用いられる事から、分析再現性の高さや幅広いサンプルへの適用性が求められます。本目的を達成する上で HPLC は非常に強力なツールであり、殆どの分析に HPLC を活用しています。

HPLC 分析の世界は機器やソフトウェアの進歩等もあり、誰でも簡単に美しいクロマトグラムを得る事が出来る様に成って来ましたが、自身で分析条件の検討に挑戦した際には他成分との分離や検出感度に頭を悩ませる事が多く、日々分析の難しさを痛感しております。先人たちの技術に少しでも近づく為に、クロマトグラフィーに関する知識をより深めたいと考えていた所、運営委員心得としてお手伝いさせて頂く事に成りました。入社してから HPLC を触り始め、未だ未だ経験不足ではありますが、このような機会を頂き身が引き締まる思いです。

現在、私は 4 年間の製品分析の経験を活かし、次のステージとして製品や原料中の不純物分析業務にもチャレンジしています。ターゲット分析からノンターゲット分析へと、求められる分析技術の幅が広がりプレッシャーも感じますが、LC 研究懇談会で運営委員心得として引き続き勉強させて頂きながら、製品の品質を担保するというミッションを常に最優先に置き、業務に励んで参りたいと思います。

<執筆者略歴> 奥田愛未 (Narumi OKUDA)

- ・ 2019 年 花王株式会社入社
研究開発部門 解析科学研究所に所属
- ・ 分析士資格：LC 分析士初段
- ・ E-mail：okuda.narumi@kao.com



【閑話休題】

第 7 回 LC 懇パズル ～ 英単語尻取りクイズ (難易度 ★★☆☆☆)

(出題者: 中村 洋)

下の 49 マスには、反時計回りに色分けされた 7 個の英単語が入ります。前の番号の最後のアルファベットが次の略号の最初のアルファベットになります。使用出来るアルファベットは在庫表にあるモノだけです。ヒントから英単語を推定し、上手に 48 個のアルファベットを使って 7 個の英単語をマスに嵌めて下さい。在庫表に使われずに残ったアルファベットが、中心の X に対応する答えです。正解者には抽選の上、2 名に記念品を贈呈します。

スタート



1	↙				4	↖
↓		↙			↖	
		7	↙	↖		
			X			
	↓	↘		↗		
	5			→	6	3
↘	→	2				↗

ヒント

1. HPLC の創始者、2. OOOOO volume や OOOOO time などの使用例が有る、3. アルバート・アインシュタインによって提唱された技術、4. 飛行時間質量分析計の構成要素の一つ、5. 10 のマイナス 9 乗を示す SI 接頭語、6. キングドントラップと同義語の商標、7. ゲノムの支配を受け、特定の条件下で発現しているタンパク質の総称。

【アルファベット在庫表】

A	D	F	L	N	P	R
A	E	H	L	N	P	R
A	E	I	L	O	R	S
A	E	I	L	O	R	T
B	E	K	M	O	R	T
C	E	K	N	O	R	T
D	E	L	N	O	R	W

応募方法 ①LC 懇個人会員番号、②氏名、③記念品送付先住所、④答え、を明記し下記応募先に **2024 年 3 月 15 日 (金) 迄** にメールでご応募下さい。

正解と当選者の発表 LC 懇ホームページ (3 月中) と本誌第 8 号 (2024 年 6 月発行予定)

応募先 CWP 係 (E-mail: nakamura@jsac.or.jp)

前号の【閑話休題】

第 6 回 LC 懇パズル ～ 英単語完成クイズ

以下の 1～4 は英単語を示しています。ヒントを参考にして、平仮名のマスにアルファベットを 1 字ずつ入れて英単語を作り、答の英単語を完成させて下さい。正解者を抽選の上、2 名に記念品を贈呈します。

(出題者：中村 洋)

1	あ	い	き	い	V	こ	よ	こ	け	N				
2	か	H	く	け	M	さ	あ	け	G	く	さ	お	H	え
3	よ	お	い	か	あ	く	け	よ	か	け	お	え		
4	い	き	い	か	あ	く	け	き	え	よ	こ	よ		
答	さ	お	お	き	い	よ								

- ヒント
- 1 アルファベットの大文字 2 文字で略記される家電
 - 2 混合物を分離する技法の一つ
 - 3 光のスペクトルを研究する学問
 - 4 水から水素を取り出す事も出来ます

応募方法 ①記念品の送付先住所、②氏名、③LC 懇個人会員番号、④答え、を明記し下記応募先に **2023 年 9 月 15 日(金)迄**にメールでご応募下さい。

正解と当選者の発表 LC 懇ホームページ(9 月中)と本誌第 7 号(2023 年 12 月発行)

応募先 CWP 係(E-mail:nakamura@jsac.or.jp)

正解発表 第 6 回 LC 懇パズル ～ 英単語完成クイズ

ヒントと単語中のアルファベットなどを参考にとすると、英単語は以下の様に成ります。

1. テレビジョン

2. クロマトグラフィー

3. スペクトロスコープ (分光學)

4. 電気分解

従って、答えは「APPLES」です。残念ながら、正解者は居られませんでした。

1		あ	い	き	い	V	こ	よ	こ	け	N				
		T	E	L	E	V	I	S	I	O	N				
2		か	H	く	け	M	さ	あ	け	G	く	さ	お	H	え
		C	H	R	O	M	A	T	O	G	R	A	P	H	Y
3		よ	お	い	か	あ	く	け	よ	か	け	お	え		
		S	P	E	C	T	R	O	S	C	O	P	Y		
4		い	き	い	か	あ	く	け	き	え	よ	こ	よ		
		E	L	E	C	T	R	O	L	Y	S	I	S		
答		さ	お	お	き	い	よ								
		A	P	P	L	E	S								

「LC と LC/MS の知恵」 投稿規定 (2023 年 12 月 15 日)

本誌は、(公社)日本分析化学会・液体クロマトグラフィー研究懇談会 (LC 懇) が発行するオープンアクセス電子ジャーナル (掲載料無料) で、LC、LC/MS 或いは関連手法に関する有らゆる内容を対象とします。本誌に掲載される原稿は、投稿を募集するジャンルと投稿を募集しないジャンルに大別されますが、何れも 2 審制 (主査と副査) による審査を経る必要が有ります。当面は年間に 2 回 (秋季と春季) 発行しますが、軌道に乗り次第、年間発行回数を増やす予定です。

投稿を募集するジャンル

専門性が特に高い以下のジャンルの論文で、新しい知見を含み、且つ、速報を詳報として発表する場合を除き、ジャーナルに未発表のものに限ります (カッコ内は A4 サイズ 1 枚を 1 行 40 文字、36 行に設定した時の最大原稿枚数)。

- ・ **報文** (基礎又は応用に重点を置いた論文で、独創性・新規性が有り、且つ、価値有る事実或いは結論を含むもの。15 枚)
- ・ **ノート** (内容が断片的であるが、新しい知見を報告するもの。10 枚)。
- ・ **技術論文、ノウハウ** (技術又はノウハウに重点を置いた論文で、有用性を示す事実或いは結論を含むもの。10 枚)。
- ・ **速報** (速やかに報告すべき内容を含む論文。後に詳細を報告する事が出来る。6 枚)

投稿を募集しないジャンル

- ・ **総合論文** (著者の研究業績を体系的に記述した論文。20 枚)
- ・ **解説** (重要な装置、技術、手法等の基礎或いは応用についての要点を解説。10 枚)
- ・ **シリーズ「試料分析の定石とコツ」** (試料の取り扱い方、分析法等を具体的に解説。10 枚)
- ・ **トピックス** (学会・行政などの動向や新しい手法・技術に関する紹介。6 枚)
- ・ **先達に学ぶ** (学識経験者による教訓・人生訓、6 枚)
- ・ **提言** (建設的な主張や意見。6 枚)
- ・ **団体会員紹介** (LC 懇団体会員からの紹介記事。6 枚)
- ・ **会員動向** (LC 懇個人会員からの近況報告。6 枚)
- ・ **新会員・新役員紹介** (LC 懇個人会員・新任役員紹介。4 枚)
- ・ **閑話休題** (クロスワードパズルなど、2 枚程度)
- ・ **LC 懇事業カレンダー**、など

「LC と LC/MS の知恵」投稿規定

1. 代表著者は、LC 懇の個人会員又は LC 懇団体会員の所属である事。
2. 投稿原稿には、所定の**投稿カード (ppt)**を添付し、必要事項を明記する。
3. 投稿論文（速報を除く）には、要旨（日本語 400 字程度で必須。英語 200 語程度は任意）を本文の前に配置し、**要旨の下に 1 行空けてキーワード**（英文要旨の場合は **Keywords**）と記し、全角で 2 文字分空けてキーワードを 3～6 個セミコロンで区切って記載する。
4. 投稿原稿は、日本語で書き、その形式は「投稿の手引き」に従う。
5. 原稿は、本誌編集委員会宛にワード版で電子メール（nakamura@jsac.or.jp）への添付で送付する事とし、編集委員会到着の日を受付日とする。
6. 原稿の採否は、編集委員会が決定する。編集委員会は、字句その他の加除修正を行い、或いは著者にそれを要求する事が出来る。
7. 原稿の修正などの為に、編集委員会から原稿を返却された場合は、1 か月以内に編集委員会に返送する事とし、これより遅れた場合は新しい投稿として取り扱う。
8. 本誌に掲載された論文等についての著作権は、LC 懇に属する。

「LC と LC/MS の知恵」投稿の手引き

1. 日本語は MS 明朝、英数字は Century で入力し、フォントサイズ (FS) は原則として何れも 10.5 とする。
2. 1 枚目の左上に原稿のジャンルを【 】内に記す (**FS:12**、強調文字)。例【報文】
3. 表題（強調文字、FS : 14）、氏名（強調文字、FS : 12）、所属（FS : 12）は何れも日本語と英語で表記し、**要旨**（FS : 10.5）、本文（FS : 10.5）の順に配置する。
4. 和文には「句読点（、。）」、英文には「カンマとドット（, .）」を使用する。
5. 図表には夫々通し番号を付け、本文中に配置する。
6. 本文中の引用文献には算用数字に丸カッコの右側を付けて上付きとし、その全てを末尾に番号順に配置する。
7. 国際単位系 (SI) の単位を使用し、クロマトグラフィー、LC/MS 及び関連する分野の用語については JIS に準拠する。
8. 原稿末尾に、< **執筆者略歴** >を記載する。略歴には分析士資格を含める（例えば、分析士資格：LC/MS 分析士二段、無し、取得予定、〇〇分析士〇段手続き中等）。
9. 著者全員の顔写真（カラー、横 10 文字、縦 7 行が標準）を< **執筆者略歴** >に配置。
10. 投稿先：**投稿カード (ppt)**に必要事項を記入し、原稿と共に「LC と LC/MS の知恵」編集委員会宛、ワード版（5 MB 以内）で電子メール（nakamura@jsac.or.jp）に添付する。
11. その他については、「分析化学」誌の最新の「投稿の手引き」に準拠する。

原稿執筆に際しての注意点

1. 図表の内容は、略号 (*m/z* 等) 以外は化合物・溶媒名等も含め、**日本語で作成**する。
2. 図や表の番号とタイトルとの間は、ドットを記入せず全角で 1 文字分を空ける。
(誤) 図 1. 構造式 → (正) 図 1 構造式
(誤) 表 1. 周期表 → (正) 表 1 周期表
3. 本文中では化合物名、方法名などは日本語で表記し、英語表記が必要な場合は丸括弧内に全て小文字で記す。
(例) 液体クロマトグラフィー (liquid chromatography, LC)
質量分析 (mass spectrometry, MS)
クエン酸 (citric acid)
4. 略号は基本的には全体を大文字、固有名詞は第 1 文字のみ大文字とする。
 - ・ポリテトラフルオロエチレン (polytetrafluoroethylene, PTFE)
 - ・カーkland (Kirkland)
5. 本文中における式の記載方法は、以下の通りとする。
(正) $A + B = C$ (1)
(誤) $A + B = C$ 式 1
(誤) $A + B = C$ 式(1)
但し、本文中で引用する場合は、(1) 式や式 (1) ではなく、式 1 とする。
6. 物理定数を示すアルファベットは斜体とする。
(誤) pKa → (正) p*Ka*
(誤) N, W, R → (正) *N, W, R*
7. 数字と単位の間は半角空けて記述する。
(誤) 254nm → (正) 254 nm
(誤) pH2.5 → (正) pH 2.5
8. pH や p*Ka* の値にはイコール (=) を使用せず、半角を空けて数字を記入する。
(誤) pH=2.5 → (正) pH 2.5

9. m/z の表記においては、 m と z は斜体にし、 z と数値との間は半角を空ける。

(誤) m/z 254 → (正) m/z 254

(誤) $m/z=254$ → (正) m/z 254

(誤) $m/z254$ → (正) m/z 254

10. カラムの表記法は、カラム名 (内径、長さ ; 粒子径) とする。

(例) Sunflower ODS (内径 4.6 mm、長さ 100 mm; 粒子径 3 μm)

11. 移動相の組成表記法は、溶媒 A / 溶媒 B (40 / 60, v / v) の体裁とし、スラッシュの前後は半角スペースを空ける。

12. 混合溶媒の記載順序は、使用モードにおける強溶媒 / 弱溶媒の順とする。

(逆相分配クロマトグラフィーでは) アセトニトリル / 水 (30 / 70, v / v)

(順相分配クロマトグラフィーでは) 水 / アセトニトリル (20 / 80, v / v)

13. pH 緩衝液の表記法は、濃度と緩衝液名をこの順序で記載し、続けてカッコの中に pH 値を記載する。

(誤) 0.1 mol/L pH7.0 リン酸緩衝液

(正) 0.1 mol/L リン酸~~塩~~緩衝液 (pH 7.0)

14. 少ない数を数える場合も漢数字ではなく、アラビア数字で表記する。

(誤) みかんを一個 → (正) みかんを 1 個

(誤) タコ八匹 → (正) タコ 8 匹

(2022 年 6 月 22 日 文責 : 中村 洋)

平仮名／漢字の使い分け等

1. 漢字表記とする主な例

	平仮名		漢字
ア行	(例を)あげる	→	(例を)挙げる
	あてはめる	→	当て嵌める
	あらかじめ	→	予め
	あらわす	→	表す
	あらわれる	→	現れる
	(～が)ある	→	(～が)有る
	あるいは	→	或いは
	ある人が～	→	或る人が～
	いく	→	行く
	いずれ(も)	→	何れ(も)
	いただく	→	頂く
	いま	→	今
	いわゆる	→	所謂
	うまい	→	巧い、上手い
	うる、(～し)うる	→	得る、(～し)得る
	える、(～し)える	→	得る、(～し)得る
	おおむね	→	概ね
	おおよそ	→	大凡
	おこなう	→	行う
	およそ	→	凡そ
	および	→	及び
カ行	かつ	→	且つ
	かつて	→	嘗て
	きたす	→	来す
	切り替える	→	切り換える
	(～し)きる	→	(～し)切る

	ください	→	下さい
	こえる	→	超える
	こえる	→	越える
	(～の) こと	→	(～の) 事
	(～の) ごとく	→	(～の) 如く
	ことに	→	殊に
	ことのほか	→	殊の外
	ことにする	→	異にする
サ行	さしずめ	→	差詰め
	さまざまな	→	様々な
	さらす	→	曝す
	さらに	→	更に
	したがって	→	従って
	(～し) やすい	→	(～し) 易い
	しれない	→	知れない
	すなわち	→	即ち
	せいぜい	→	精精
タ行	たくさん	→	沢山
	ただし	→	但し
	たとえば	→	例えば
	たどる	→	辿る
	たまたま	→	偶々
	(～の) ため		(～の) 為
	近づく	→	近付く
	ちなみに	→	因みに
	つながる	→	繋がる
	できる	→	出来る
	(～の) とおり	→	(～の) 通り
	(～の) とき	→	(～の) 時

	(～の)ところ	→	(～の)所
	ところが、	→	所が、
	(～と)ともに	→	(～と)共に
	とりわけ	→	取り分け
ナ行	(事象)がない		(事象)が無い
	(～が)なくなる	→	(～が)無くなる
	なかんずく	→	就中
	なぜ	→	何故
	なにゆえ	→	何故
	ならびに	→	並びに
	(～から)なる	→	(～から)成る
	(～と)なる	→	(～と)成る
	(～し)にくい	→	(～し)難い
ハ行	(～の)ばあい	→	(～の)場合
	(～の)はず	→	(～の)筈
	はなはだ	→	甚だ
	(～の)ほうが	→	(～の)方が
	(～の)ほか	→	(～の)他
	ほとんど	→	殆ど
マ行	まさに	→	正に
	ますます	→	益々
	まず	→	先ず
	また	→	又
	まで	→	迄 ①
	まんざら	→	満更
	みなす	→	見做す
	みる、みられる	→	見る、見られる
	むろん	→	無論

	もしくは	→	若しくは
	もちろん	→	勿論
	(～を)もつ	→	(～を)持つ ②
	もつとも	→	最も
	もつとも	→	尤も ③
	もっぱら	→	専ら
	(～を)もとに	→	(～を)元に
	もともと	→	元元
ヤ行	(～し)やすい	→	(～し)易い
	(～の)ゆえん	→	(～の)所以
	(～して)よい	→	(～して)良い
	(～の)ように	→	(～の)様に
	(～と)よばれ	→	(～と)呼ばれ
ウ行			
ワ行	わが国	→	我が国
	わかる	→	分かる
	わけ	→	訳
	わたる	→	渡る

- 注釈
- ①次に漢字が続く場合は平仮名とする
 - ②化学では所有、存在などへの変換が適当
 - ③道理である。そうは言ってもの意味

2. 平仮名表記とする主な例

(～の)内、	→	(～の)うち、
毎に	→	ごとに
然し	→	しかし
然るに	→	しかるに

(～)し無い	→	(～)しない
(～では)無い	→	(～では)ない
尚、	→	なお、
(～を)持つ	→	(～を)もつ
良く(～する)	→	よく(～する) ①
(～に)依る	→	(～に)よる ②
(～に)拠る	→	
(～に)因る	→	
(～に)由る	→	

注釈

①しばしば～する意

②正確な使い分けが難しい為

3. その他

蛋白(質)	→	タンパク質
たんぱく(質)	→	
タンパク	→	
除タンパク質	→	除タンパク
バッファ(ー)	→	緩衝液
充てん(剤)	→	充填(剤)
充填(剤)	→	
充分	→	十分

(2022 年 6 月 22 日 文責:中村 洋)

LC懇・事業カレンダー (2023年12月～2024年度前半)		
Month	Date	Event
2023年		
12月	1日(金)～2日(土)	第2回LCシニアクラブ(琵琶レイクオーツカ)
	15日(金)	電子ジャーナル「LCとLC/MSの知恵」第7号発行
	18日(月)	第390回例会(オーガナイザー:大貫隆史) 講演主題:HPLCの分析法開発と改良
2024年		
1月	18日(木)19日(金)	第29回LC & LC/MS テクノプラザ(世話人:川口 研、横浜市金沢産業振興センター)
	27日(金)	第391回例会(オーガナイザー:村上祐子) 講演主題:材料分析における検出器の有効活用
2月	27日(火)	第392回例会(オーガナイザー:橋田 規) 講演主題:未定
3月		2024年度CERIKロマトグラフィー分析賞募集会告(締切:8月末日)
		2024年LC科学遺産認定推薦募集会告(締切:8月末日)
		2025年液体クロマトグラフィー努力賞募集会告(締切:9月末日)
		2024年POTY賞推薦募集会告(締切:9月末日)
	6日(水)	2024年度LC分析士五段試験(東京都品川区・日本分析化学会会議室)
	13日(水)	2024年度LC分析士四段試験(東京都品川区・日本分析化学会会議室)
	22日(金)	第393回例会(オーガナイザー:太田井重徳) 講演主題:未定
4月	未定	第394回例会(オーガナイザー:未定) 講演主題:未定
5月	8日(水)	2024年度LC分析士三段試験(東京都品川区・五反田文化会館)
	未定	第395回例会(オーガナイザー:未定) 講演主題:未定
	30日(木)	2024年度LC分析士二段試験(東京会場:島津製作所東京支社/京都会場:島津製作所本社)
6月	15日(木)	電子ジャーナル「LCとLC/MSの知恵」第8号発行
	未定	第396回例会(オーガナイザー:奥田愛未) 講演主題:未定
7月	4日(木)	第29回LC懇特別講演会・見学会(東京都農林水産振興財団・農業総合研究センター)
	未定	第397回例会(オーガナイザー:寺田明孝) 講演主題:未定
	24日(水)～26日(金)	LC懇2024年度講習会「HPLC & LC/MS講習会2023」

編 集 委 員 会

編集委員長	中村 洋	(東京理科大学)
編集委員	伊藤誠治	(東ソー株式会社)
	榎本幹司	(栗田工業株式会社)
	大塚克弘	(ムラタ計測器サービス株式会社)
	岡橋美貴子	(一般社団法人臨床検査基準測定機構)
	熊谷浩樹	(アジレント・テクノロジー株式会社)
	竹澤正明	(株式会社東レリサーチセンター)
	三上博久	(株式会社島津総合サービス)

編	集	後	記
伊藤誠治	榎本幹司	大塚克弘	岡橋美貴子
9月から対面形式の研究懇談会が戻って参りました。懇談会の両輪のもう一方である当ジャーナルへの投稿も宜しくお願い致します	例会の対面開催が再開しました。電子ジャーナルを見て頂いている方と例会でもお会い出来ると嬉しいです。	私は今号で編集委員最後になりました。本ジャーナルに携わる事が出来て幸いでした。有難うございました。	4年ぶりに開催されたLC-&LC/MS-DAYSは盛会でした。今後の行事への参加やジャーナルへの投稿も宜しくお願いします。
熊谷浩樹	竹澤正明	中村 洋	三上博久
本号が皆様のお仕事に役立てたら幸いです。LC懇の活動を盛り上げるためにも皆様の投稿をお待ちしています。	皆様のご協力により、第7号を発刊する事が出来、感謝申し上げます。次号に向けて読者の皆様奮って申し込みをお願いしま	我ら老人編集団、日本の為に頑張るぞ。8人合わせて超500歳、何処にも負けぬハイレベル。有機凛凛無機凛凛、続々投稿願います。	来年は辰年。例会や各行事の本格的な対面実施に加えて、創立50周年。昇り龍の如く、飛躍の1年を祈念します。

LC と LC/MS の知恵 2023 年第 2 号 (通巻第 7 号)

2023 年 12 月 15 日発行 (©2023, 無断複写・転載厳禁)

編集責任者 中村 洋 (E-mail: nakamura@jsac.or.jp)

発行所 〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社) 日本分析化学会・液体クロマトグラフィー研究懇談会

The Division of Liquid Chromatography

The Japan Society for Analytical Chemistry (JSAC)