

～【基礎DG】LC-MS/MS分析に必要な知識・経験・疑問～

DG2024-75

IS variability

畑岡 侑里¹, 近藤 優美香², 星野 匡彦¹,
中谷 奈央子³, 安井健人⁴, 奥園 剛⁵

メディフォード株式会社¹, シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社²,
シミックファーマサイエンス株式会社³, 小野薬品工業株式会社⁴, 積水メディカル株式会社⁵



Discussion Group members

Name	Company
畑岡 侑里 <i>Yuri Hataoka</i>	メディフォード株式会社 <i>Mediford Corporation</i>
近藤 優美香 <i>Yumika Kondo</i>	シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社 <i>Shionogi TechnoAdvanceResearch Co., Ltd.</i>
星野 匡彦 <i>Masahiko Hoshino</i>	メディフォード株式会社 <i>Mediford Corporation</i>
中谷 奈央子 <i>Naoko Nakatani</i>	シミックファーマサイエンス株式会社 <i>CMIC Pharma Science Co., Ltd.</i>
安井 健人 <i>Kento Yasui</i>	小野薬品工業株式会社 <i>Ono Pharmaceutical Co., Ltd.</i>
奥菌 剛（オブザーバー） <i>Takeshi Okuzono</i>	積水メディカル株式会社 <i>Sekisui Medical Co., Ltd.</i>



DGの背景

医薬品開発におけるLC-MS技術の標準化により、
測定自体のハードルは下がった

一方で「測定対象の幅広さ」「企業内でも分業化」等により
教育に時間をかけにくい状態

低分子, 抗体, 核酸, バイオマーカー...



探索段階はグループA
非臨床TKと臨床PKはグループB
高分子はグループC...

Bioanalysis分野における LC-MS初学者にとって、
基礎的な内容を身に着けるだけでもハードルが高い



DGの目的：初学者への教育効果

【DGにおける取り組み】

- ・ 各社で発生したトラブル事例や日頃抱いている疑問を共有・相談する
- ・ LC-MS/MSの経験が5年以下のメンバーのみに絞ることで、
議論への積極的な参加を促す

【初学者への教育効果】

- ✓ 参加メンバーの基礎的な知識や科学的な理解度を向上させる
- ✓ 社外メンバーとの交流によって人脈を広げる



活動内容

○ May 2024 : メンバー募集

○ 13 June 2024 : Kick-off MTG

○ 11 July 2024 : MTG

- ✓ 業務で発生した疑問点や不明点を共有し、MTGごとの議題を決定

○ August 2024 ~

- ✓ 基礎的事項を中心に教育効果を期待して議論
- ✓ 各自調査してきた情報を共有
- ✓ 意見や情報の整理・まとめ

○ November 2024~ : 「IS variability」の作成

○ 27 September 2024 : F2F MTG

各MTGごとの議題

	議題	8	9	10	11	12	1	2	3
実検体測定時の トラブル シューティング	ピーク形状不良		1						
	バックグラウンド上昇				1				
	キャリーオーバー原因の効率の良い特定方法					1			
	夾雑ピーク			1					
	MSの校正の頻度(装置のメンテナンス頻度) MS洗浄の程度、移動相の使用期限	1							
	ISレスポンスが安定しないときの対処法	1			(2)	(3)	(4)		(5)
検討段階のトラブル シューティング	カラム使用後にカラムの中の溶媒置換	1							
	吸着の影響の改善方法		1	2					
	マトリックス効果						1		
業務上のお困りごと その他	LC/MS技術・知識(装置構造・機構含む)の 身に着け方、教え方				1	2			
	M10の解釈							1	2

<http://bioanalysisforum.jp/>

DG内で最も議論が多かった "IS variability" に関して、
アンケート結果とDG内での議論をまとめた

- * 1 “Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis”, ICH-M10 (2022)
- * 2 “Evaluation of Internal Standard Responses During Chromatographic Bioanalysis: Questions and Answers Guidance for Industry”, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (2019)
- * 3 Stephen White *et al.* “European Bioanalysis Forum: Recommendation for Dealing with Internal Standard Variability”, *Bioanalysis* 6(20), 2767-74 (2014)
- * 4 “Scientific Validationについて考える”, JBF DG2016-20 (2017)
- * 5 Yunlin Fu *et al.* “Evaluation, identification and impact assessment of abnormal internal standard response variability in regulated LC–MS bioanalysis”, *Bioanalysis* 12(8) (2020)
- * 6 “LCMS分析における前処理のオートメーション”, JBF DG2018-37 (2019)
- * 7 移動相（溶離液）の脱気：分析計測機器（分析装置），島津製作所
<https://www.an.shimadzu.co.jp/service-support/technical-support/analysisbasics/hplc/faq/tips1/lctalk-s5/index.html>
- * 8 II章－6 溶離液の脱気について | HPLCの上手な使い方 | ジーエルサイエンス
https://www.gls.co.jp/technique/technique_data/lc/usage_of_hplc/P2_6.html

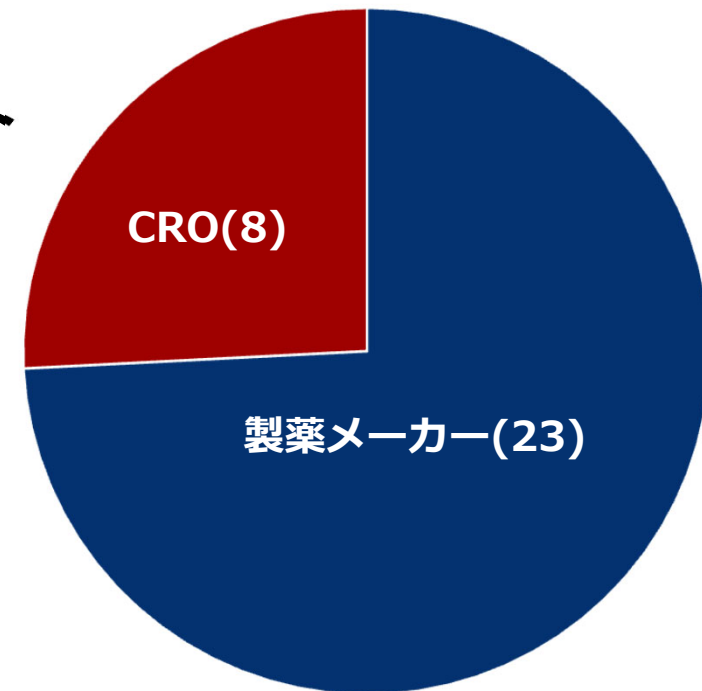


アンケート調査



アンケート実施状況

- ・ 時期：2025年2月3日～14日
- ・ 方法：QuestantによるWebアンケート
- ・ 配信先：DGサポーター
- ・ 回答数：32名



Q. 貴社の業務形態を教えてください。
(有効回答数：31)

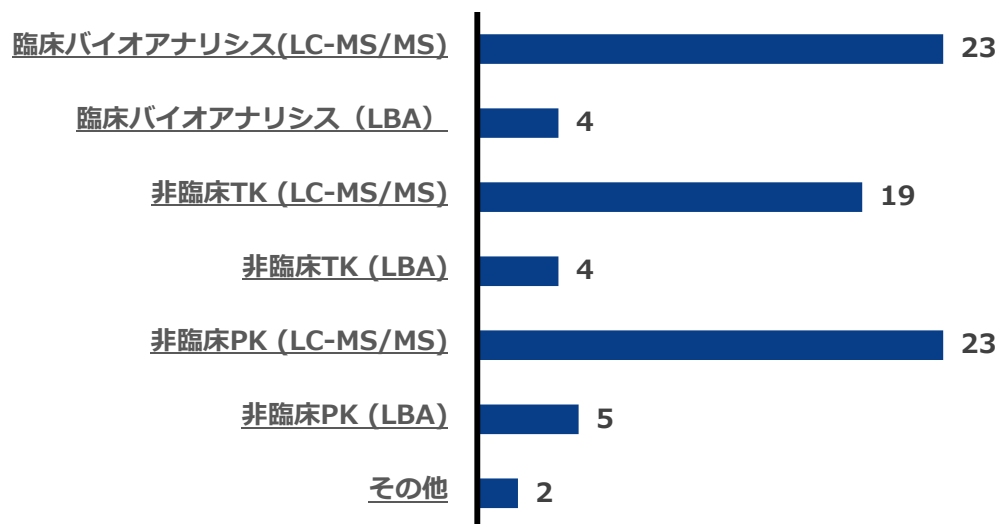
所属先を確認したアンケートより、製薬メーカーから約7割、
CROから約3割の回答が得られた。

お忙しいところ多くの皆さまのご協力をいただき、
ありがとうございました。

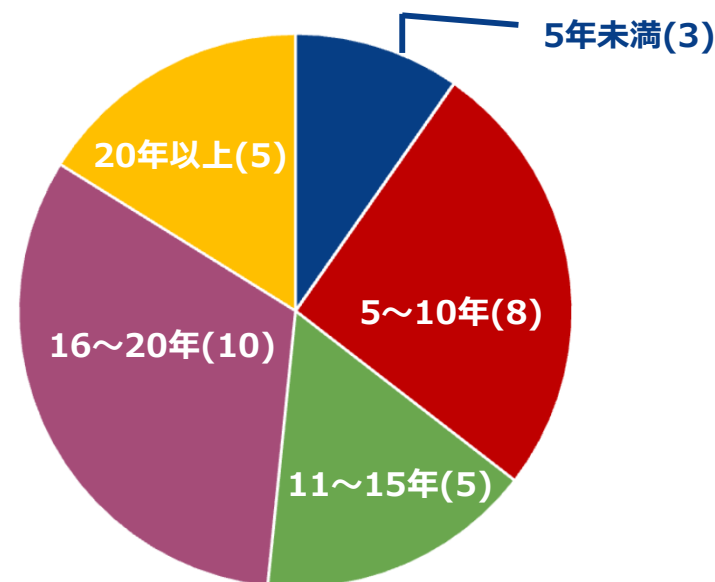


担当業務とLC-MS経験年数

Q. 主な業務内容を教えてください
(複数回答可)



Q. LC-MSの経験年数を教えてください (有効回答数 : 31)



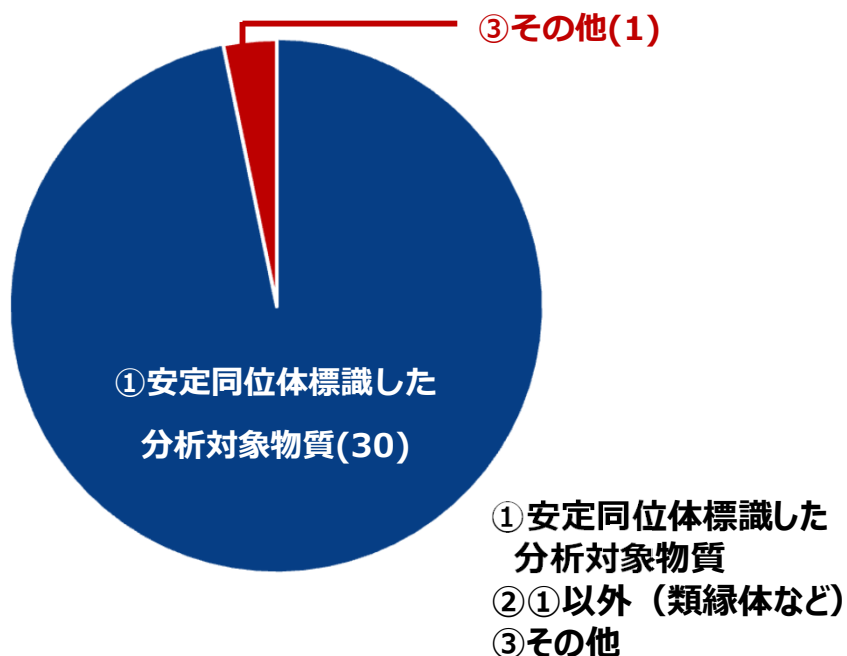
業務内容としては主にLC-MS/MSを担当する方からの回答が多かった。

またLC-MSの使用経験年数においては、16～20年が最多であり、若手・中堅からの回答が比較的少ない傾向にあった。



安定同位体標識ISの使用状況

Q. 非臨床TK, 臨床PK試験用分析法について、ISの種類を選択してください（有効回答数：31）



安定同位体標識のメリット・デメリット 〈メリット〉

- ・分析対象物質のレスポンスを正確に追跡し、以下のばらつきを補正できる（*3）
 - 回収率
 - 注入量
 - マトリックス効果
 - 装置の性能

〈デメリット〉

- ・合成が困難な場合がある
- ・コストが高い

安定同位体標識した分析対象物質の回答がほぼ100%であった。

その他の回答として「選択肢①②をどちらも使用する」との回答があった。



ICH-M10 : Internal Standard

“Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis”

(* 1 ICH-M10, 原文より一部抜粋)

“When MS detection is used, the use of the stable isotope-labelled analyte as the IS is recommended whenever possible. However, it is essential that the labelled standard is of high isotope purity and that no isotope exchange reaction occurs. The presence of unlabelled analyte should be checked and if unlabelled analyte is detected, the potential influence should be evaluated during method validation. ”

検出器としてMSを使用する場合には、可能な限り安定同位体標識された分析対象物質を内部標準 (IS) として使用することが推奨されている。ただし、安定同位体標識された分析対象物質を使用する場合は高純度であり、同位体交換反応が発生しないことが重要である。

DGメンバーでも半数以上が同位体標識された分析対象物質をISとして使用している。

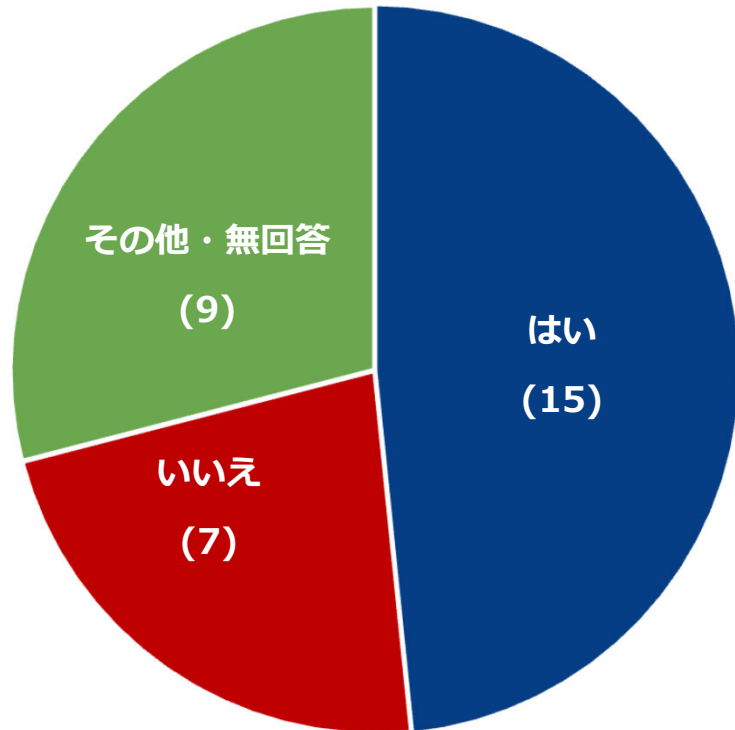
また実際に関連性のない物質を内標準物質として使用した場合に、ばらつきの補正ができず、データを不採用としたという意見もあった。

アンケートからもほぼ全回答で同位体標識された分析対象物質をISとして使用しているという結果が得られており、ICH-M10に基づいた安定同位体標識がスタンダードとなっている。



ISのトレンド評価 1

Q. 利用しているISのトレンド評価を実施する必要があると
考えますか（有効回答数：31）



ISのトレンド評価実施の必要性については、約半数（15/31）から必要であるとの回答が得られた。

また、「ISのトレンド評価とは何か」「具体的に何を実施するのが不明である」との理由で無回答を選択されている方もいた。そのため次項にISのトレンド評価に関する説明を記載した。

前問「使用しているISの種類」において、選択肢②「①以外（類縁体など）」を選択した回答者に向けての質問であったが、回答数は0であった。しかし、多くの回答があったことから、ISの種類に限らずトレンド評価の実施が必要であるとの意見があることが推察される。



ISのトレンド評価 2

【ISのトレンド評価とは？】

ISレスポンスのばらつき評価のこと。

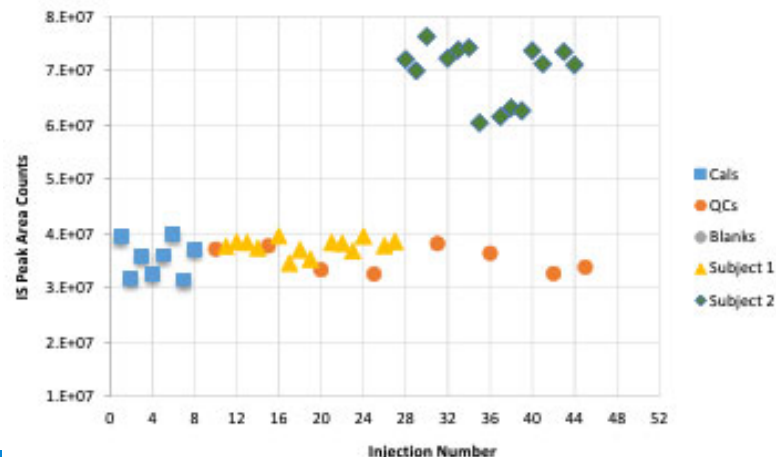
実試料におけるISレスポンスのばらつきは、大きく分けて2種類あると考えられる。

- ① 散発的なばらつき→未知サンプル群における、既知サンプル群と同等レベルのばらつき
- ② 系統的なばらつき→未知サンプル群と既知サンプル群でISレスポンスのばらつきが異なるケース

これらのISレスポンスの変動はデータの精度に影響を及ぼす可能性がある。

根本原因のさらなる調査が必要であるかどうかを判断するために、FDAガイダンス（*2）では、ISのピークエリアをプロットしたグラフを作成し、挙動をモニタリングする手法がとられている。

この散布図を確認することで、データの精度に影響を与える可能性のある変動傾向（Variability Trend）をつかむことができる。



【ばらつきが許容されないケース】

“Example 3: IS responses for subject samples are consistently lower or higher than IS responses for Cals/QCs (see Figure 5).”

“Figure 5. Plot of IS responses in an analytical run, exemplifying IS responses for subject 2 samples that are consistently higher than IS responses for Cals/QCs”

（右図，*2 FDAガイダンス，2019より抜粋）

“IS Variability” 評価

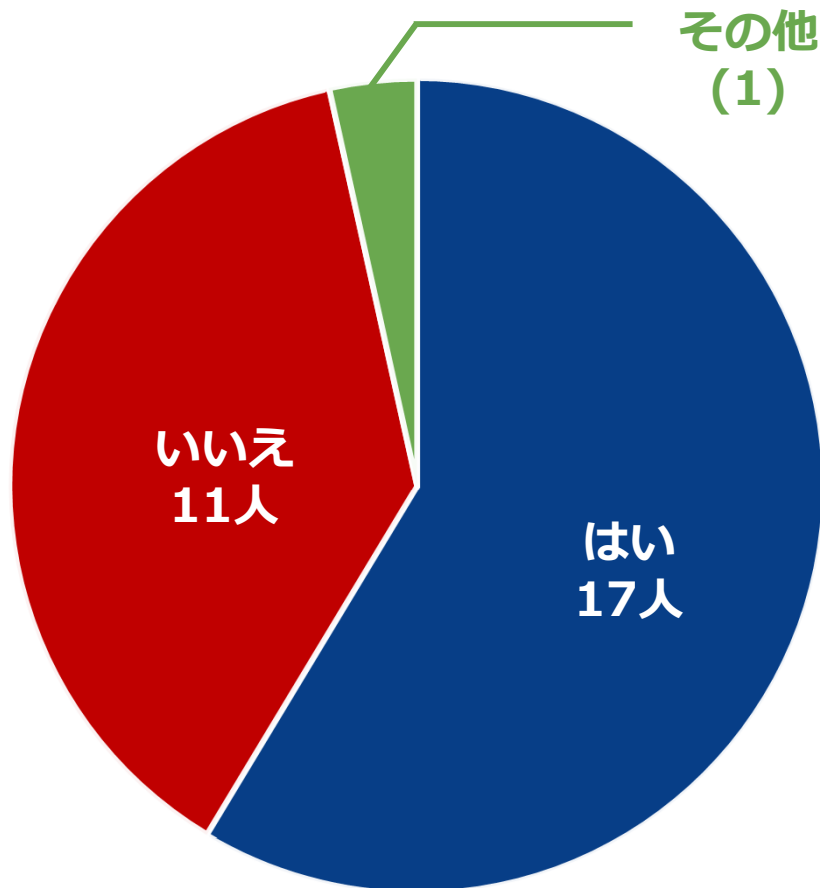
“IS Variability”評価に関する記載について、各国の状況を以下に示した。

- *1 “Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis” (ICH-M10)
「The IS responses of the study samples should be monitored to determine whether there is systemic IS variability. Refer to Table 1 for expectations regarding documentation. 」 (3.3 Study Sample Analysis より引用)
- *3 “European Bioanalysis Forum: Recommendation for Dealing with Internal Standard Variability”
「Conversely, a large variability in the IS response throughout a run may indicate issues with the assay’s resilience to subtle changes in matrix composition and may raise questions about the trueness of the results. Clearly something is required, but we should not lose sight of common sense. 」
- *4 “JBF DG2016-20: Scientific Validationについて考える”
ISレスポンス変動幅の許容値に関して、「8割以上でIS responseの変動幅に許容値設定していない。設定している場合もEBFのWPとは違なり、50%が一つの目安となっている。」との記載があり、当時は「IS response変動幅の許容値設定までは至っていない。」状況であった。



“IS Variability” 許容値 1

Q. IS response の変動幅に許容値を設定しているか
(有効回答数 : 29)



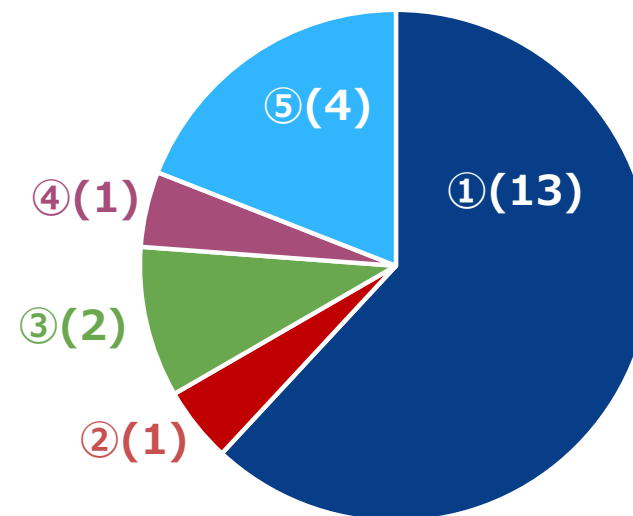
ISレスポンスの変動幅に許容値を設定している回答が過半数を占めた。

その他の回答として、「今後する可能性がある」との回答が得られた。

“IS Variability” 許容値 2

Q. 許容値の設定方法に関して (有効回答数：21)

- ① 200, 180, 150, 50, 10%等の基準値からの乖離幅で設定
- ② EBF提唱の経験的方法
(Bioanalysis (2014) 6(20), 2767-2774)
- ③ バリデーション時のデータを基に個別に設定
- ④ 統計的な解析手法
- ⑤ その他



また、その他の回答を以下に記載した。

- ・ なんとなく2倍以上違う場合は再測定をかけている
- ・ まだ具体的な許容値は決めてはないが、大きく異なるときには、再測定を考慮
- ・ LLOQ付近では正確に定量できないので、そこまでISのシグナルが落ちるときはデータ不採用にできるようにしておく

Q. 上記許容値の設定方法を採用している理由を教えてください (自由記述)

「ISのスパイクエラーを検知できる値としている」というスパイクエラーの検出のためや、「SOPで定めている」という恣意性を除くためといった回答が見られた。

“IS Variability” 許容値の基準 1

“IS Variability” 許容値設定の基準値に関する記載について、
ガイドライン等における記載を以下に示した

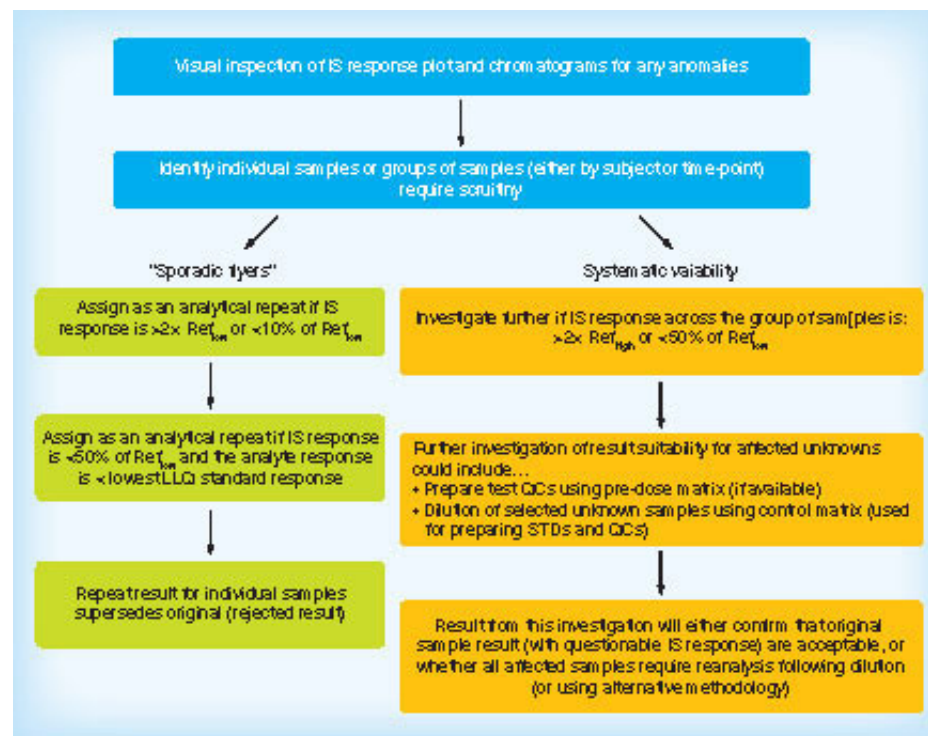
* 1 “Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis” (ICH-M10)

「IS response significantly different from the response for the calibration standards and QCs (as predefined in an SOP)」 (3.3.4 Reanalysis of Study Samples より引用)

⇒予めSOPで定義しておく必要性

* 3 “European Bioanalysis Forum: Recommendation for Dealing with Internal Standard Variability”

EBFからは、Whitepaper (Bioanalysis (2014) 6(20), 2767–2774) 内で経験的方法が推奨されていた。

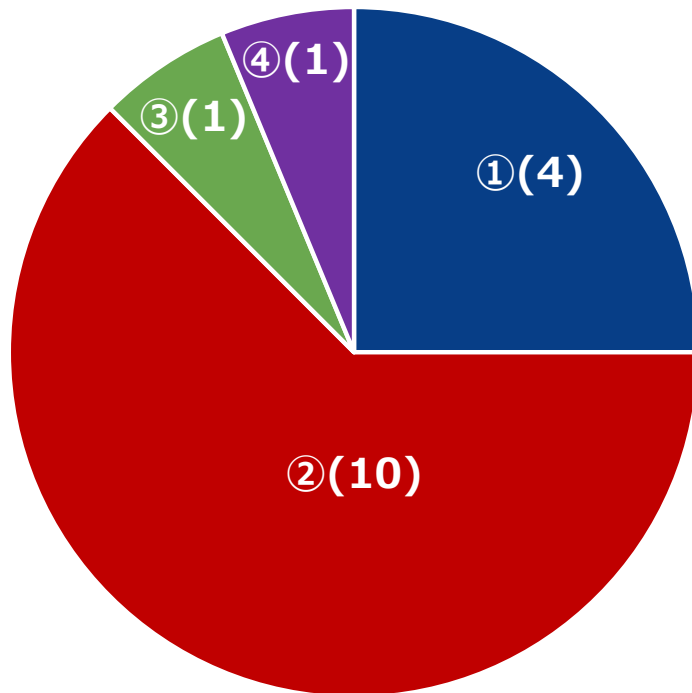


* 3より引用, Figure 4. Rule of thumb schematic.



“IS Variability” 許容値の基準 2

Q. “IS Variability”の許容値設定において、基準とする値は何ですか
(有効回答数：16)



① バッチ全試料の平均値

② 検量線とQC試料の平均値

③ ISに異常があったサンプルの前後のサンプルの平均値

④ その他

②が回答の半数以上（10/16）を占めていた。

その他「現状はバッチ全試料の平均値を基準としているが、既知濃度の試料の平均値を基準とすることも検討している」との回答が得られた。

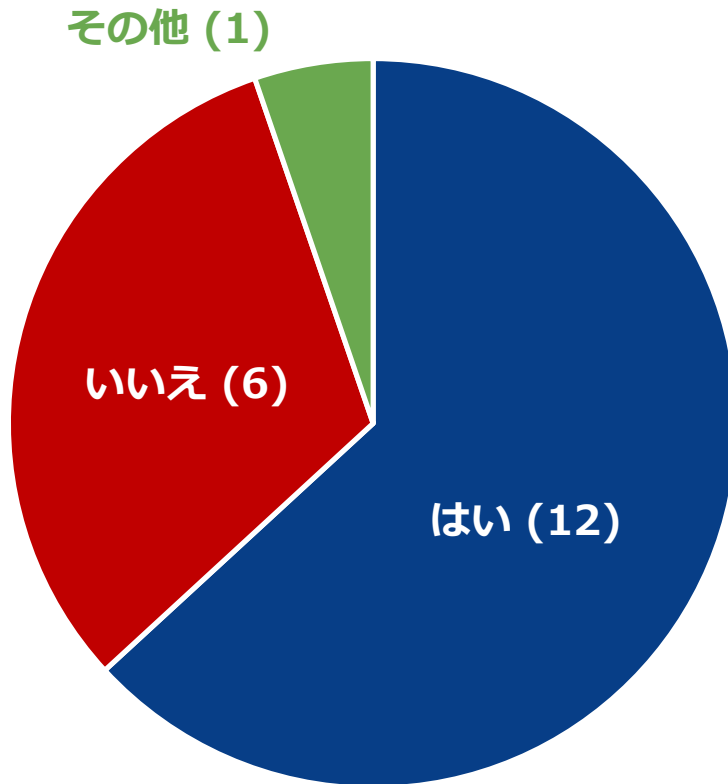
Q. 上記理由を教えてください
(自由記述)

「実サンプルは未知の代謝物等の影響で、レスポンスが変動する可能性があるため」や「ICH M10やICH M10のトレーニングマテリアルを参考」といった意見が得られた。



“IS Variability” 許容値外への対応

Q. IS変動が許容値外だった場合、再注入（再測定）は必須としていますか
(有効回答数：19)



半数以上が再注入（再測定）を必須としていた

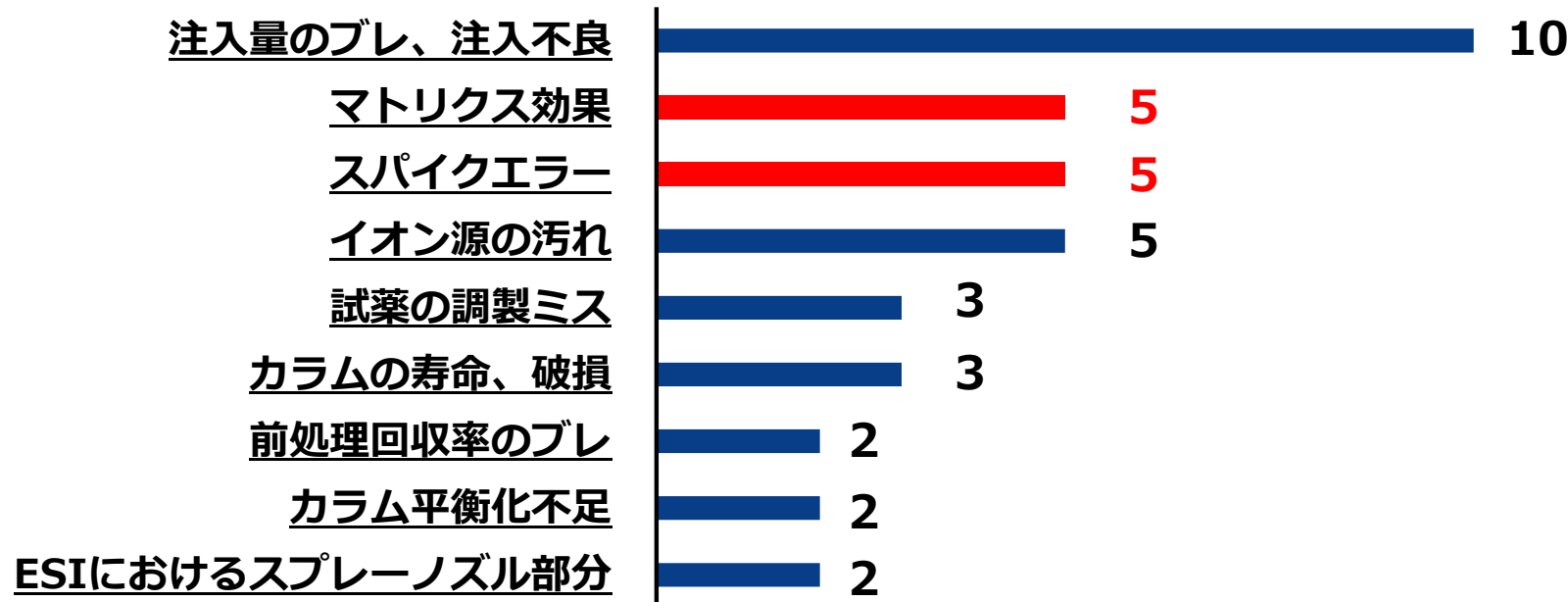
同一サンプルの再注入によって再現性を確認し、原因が装置側なのか、サンプル調製時のエラーなのかを判別することを目的とする。

測定値が再現された場合はサンプル調製時のエラー、再現されなければ装置側が原因で起こっている可能性が高い。



“IS Variability” 許容値外の理由

Q. IS変動が許容値外だった原因に関して、経験上最も多かったものを3つ教えてください（複数回答可）



「注入量のブレ、注入不良」の回答が最も多く、次いで「マトリクス効果」「スパイクエラー」「イオン源の汚れ」との回答が多かった。

次項以降のスライドには、実試料分析時における“IS Variability” 許容値外サンプルの原因と解決策に関して、DG内での議論をまとめた。

さらに「マトリクス効果」「スパイクエラー」の2項目に関して、DG内での議論とそれに伴うアンケート結果をS26-27, S28-38 にそれぞれまとめた。

DG Discussion : 原因と解決策

【実試料分析時における IS Response : 低下傾向】

原因	解決策
イオン源の汚れ	イオン源の洗浄
イオン源の温度	ターボヒーターの色を目視で確認 温度が安定するまで待つ 故障の場合は交換対応
注入不良	LC装置ごと交換する 数十回Injectionしてサンプルの減り具合を確認する 詰まりの解消やニードルの交換

【実試料分析時における IS Response : 上昇傾向】

原因	解決策
平衡化不足 カラムが馴染んでいない	平衡化用のサンプルを測定し、安定するまで待つ 同一試料を連続注入することで、カラム内部をある程度汚す 別ロットのカラムを使用する

DG Discussion : 原因と解決策 2

【実試料分析時における IS Response : 不安定、散発的なばらつき ①】

原因	解決策
注入不良	同じバイアルの試料を連続注入し、前後の重さを比較 LC装置を交換し再注入
エレクトロード	エレクトロードが曲がっていたり、詰まっている場合 ハウジングを外した状態で高流速で送液し、 まっすぐにスプレーできていることを目視で確認する エレクトロードの交換
カラムの寿命や破損	カラムの交換
送液ポンプの脈動や液漏れ	送液ポンプの流速や圧力変動を確認 故障個所の部品交換
流路溶媒の脱気不良	測定前にパージ処理
吸引時の負圧による吸引不要	バイアル中のサンプル量を減らす
検出器の異常	部品交換
ストロークの設定不良	ニードルストローク値の変更

DG Discussion : 原因と解決策 3

【実試料分析時における IS Response : 不安定、散発的なばらつき ②】

原因	解決策
ベースライン補正の設定不良 ピーク検出点の設定不良	波形処理設定の確認
溶出位置のブレ	移動相の混和または脱気不十分 送液ポンプの流速や圧力変動を確認 故障個所の部品交換
MSとLCの分析時間の設定の齟齬	測定Methodの確認
ベースラインの安定化	装置の洗浄 移動相の再調製
ハウジング	装置の洗浄
カーテンプレート	装置の洗浄
スキャンポイント数不足	クロマトグラムの確認 最適なスキャンポイントを設定

DG Discussion : 原因と解決策 4

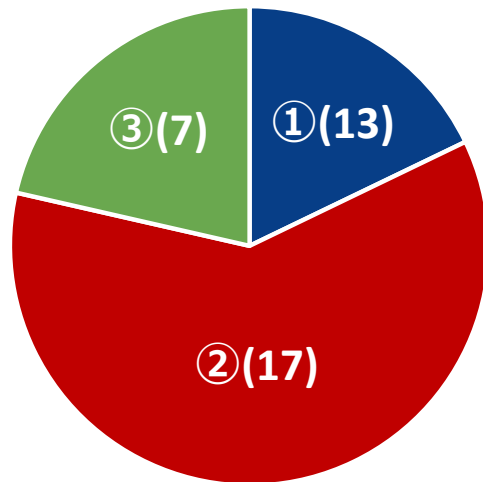
【実試料分析時における IS Response : 前処理後サンプル由来原因】

原因	解決策
マトリクス効果	pre検体にて再現性を確認 * カラムへのマトリクス成分の蓄積（次サンプルへの影響）の可能性もある * Trendを見て判断する必要がある場合もある（濃度依存や検量線QCまたは特定の検体で傾向がある等） 適切な前処理法への変更 ブランクマトリクスで希釈して再分析
前処理	IS添加忘れ, ダブルスパイク等々 再分析 前処理ロボットの導入（⇒S33-S38）
試薬の調製	再調製 再分析
回収率のばらつき	資材等のロット変更
その他、手技等	静電気でISが散っていないかを確認 （電動ピペットを使用する場合、）チップの傾きで添加量が変わる （有機溶媒100%の場合、）チップ先端に液だまが発生する 前処理ロボットの導入（⇒S33-S38） 1回あたりの最少スパイク量を上げる（⇒S28） ピペットマンの変更（⇒S29-S30）



マトリクス効果と検証方法 1

Q. IS変動の原因がマトリクス効果にある場合検証方法として第一選択は
(有効回答数：28)



- ① preサンプルを利用したQC試料の評価
- ② プールマトリクスによる希釈
- ③ その他

“プールマトリクスによる希釈”との回答が約6割
(17/28)であった。

その他の回答として、①②の選択肢を行う前に再
測定を行い、再現性を確認する等の意見があった。

【DG内での議論】

マトリクス効果はIS variabilityの原因の1つであり、分析法の再構築が必要となる場合もある。そのため、マトリクス効果の検証を行うことが重要である。

またIS Responseが許容値内でも正しく定量できていない場合もあり、許容値に盲目的に従うのではなく、サンプル間（検体-検量線・QC試料間、被験者/時点間など）における IS Responseの傾向を確認することが望ましい。



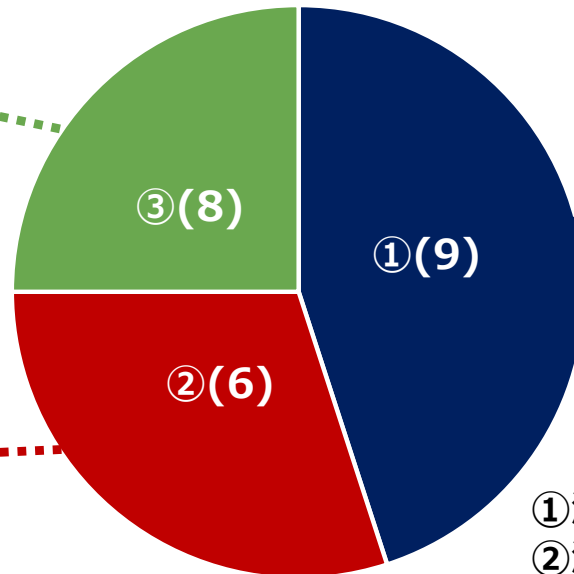
マトリクス効果と検証方法 2

Q. マトリクス効果を検証する際に、希釈前後のブレ幅の許容値はどのように設定していますか（有効回答数：20）

Q. 上記の理由を教えてください（有効回答数：8）

- ・ ケースバイケース
- ・ 再分析値を採用

・ IS変動幅を判断に含めない場合、マトリクス効果によりISが変動しているのではなく、添加ミスも考えられるので、IS変動幅も考慮した方が良いと思う



- ・ 真度が同じであれば、変動を受けておらず正しく定量できていると考えている
- ・ バリデーションでのマトリクス効果の基準に合わせている

- ①測定対象の真度精度が希釈前試料の15%以内
- ②測定対象の真度精度が希釈前試料の15%以内かつIS変動幅が許容値内
- ③その他

①希釈前後の真度精度のみで判断するという回答が約半数（9/20）を占めた。一方で、②IS変動幅も考慮する必要があるとの回答は3割（6/20）であった。

希釈前後のIS変動幅に関しては、対応が分かれており、統一されていない。



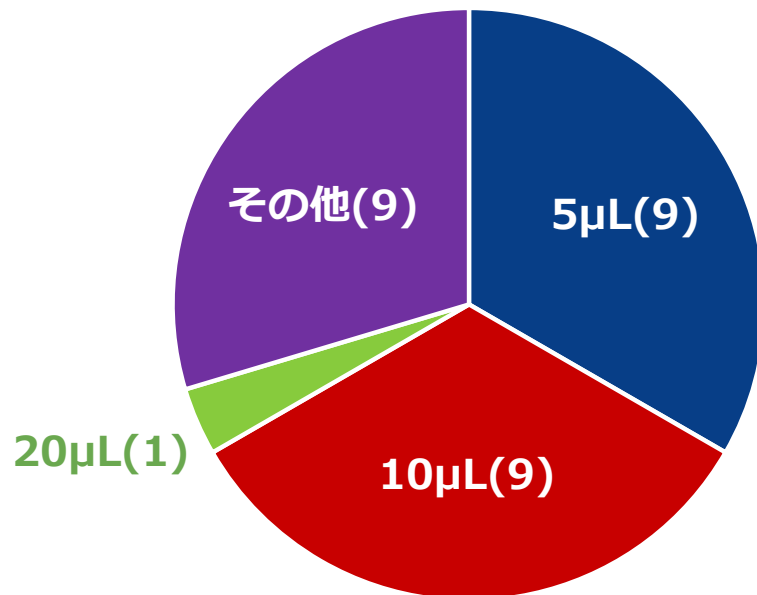
スパイクエラー：最少スパイク量

【DG内での議論】

スパイクエラーを防止する方法として、「最少スパイク量の規定」「ピペットマンの種類」「液だれの対策」「自動化ロボットの利用」等が選択肢に挙げた。

それぞれについてのアンケート結果を以降に記載する。

Q. 1回あたりの最少スパイク量をいくつに設定しているか (有効回答数 27)



最少スパイク量の規定を行っているとの回答は多かった (22/27) が、その数値は異なっていた。

5μLまたは10μLを選択した方が半数以上を占めた。 (18/27)

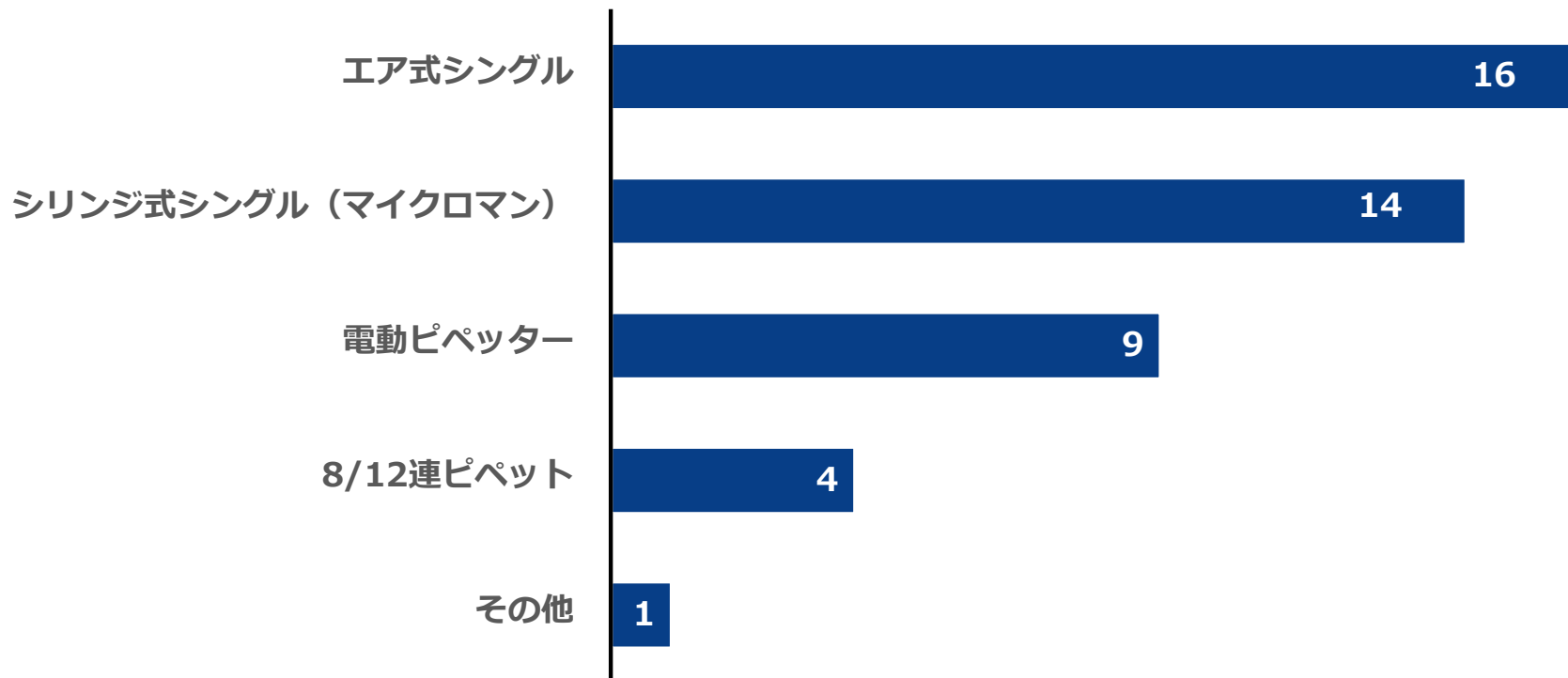
その他の回答としては、「50μL」「2μL」「1μL」「試験による」等の回答が得られた。

DGメンバー内では、「最少量の設定自体はしていないが実際は10uL以上で実施」とするメンバー多かった。



スパイクエラー：ピペットマン 1

Q. 使用しているピペットの種類を教えてください
(複数回答可)



エア式シングルが最多（16）、次いでマイクロマン（14）との回答が多かった。
次項ではこれら4種の特徴を簡単にまとめた。



スパイクエラー：ピペットマン 2

	メリット	デメリット
エア式 シングル	高い正確度・精度で分取できる	大気圧や溶液の比重、粘度などの影響を受けやすい (液だれや高粘性溶媒の過少分注等)
シリンジ式 シングル	粘性、密度、揮発性の高い液体を正確に分取できる	取扱いに慣れが必要 チップが高価
8連/12連 ピペット	複数のサンプルに対し同時に分取できる	複数サンプルに対し同時に分取するため、シングルピペットよりも（等量分取という点では）難易度は高い
電動ピペッター	手動ピペットよりも高い正確度・高精度で分取できる 作業者の負担が少ない	導入コストが高い 事前に充電が必要 吸い戻し・吐き戻し時にエラーが起こる

<http://bioanalysisforum.jp/>

⇒液性や用途に合わせてピペットを選択することで、スパイクエラー減少につながる



スパイクエラー：液だれ対策 1

Q. 有機溶媒添加時にチップの先から液だれしてしまう場合の対処法があれば教えてください

(有効回答数：18) (1/2)

- ・ ISの希釈溶媒に水との混合溶媒を使用する（有機溶媒単液の場合はシリンジ式のピペットを使用し、分取前にピペッティングを複数回行うことで改善する）
- ・ 添加量を検討する
- ・ 先の細いチップを使用する
- ・ 分取のスピードを速くする
- ・ IS溶液を冷却した状態で分取する

手技に関する工夫のほか、液性に適した器具・資材の選択等の回答が得られた。
また、ISの希釈溶媒や添加量など、分析法開発時から考慮すべき対処法も挙げられた。

回答の1つである「溶液の冷却」に関しては、容器への吸着や溶解度等への配慮が必要となる。

これらの対処法についてはスパイクエラー以外の面における分析系への影響を考慮する必要がある。



スパイクエラー：液だれ対策 2

Q. 有機溶媒添加時にチップの先から液だれしてしまう場合の対処法があれば教えてください
(有効回答数：18) (2/2)

- ・ 注入回数が表示される連続分注機を使用し、添加回数が正しいか確認する
- ・ IS添加後の液量を目視で確認する
- ・ 人の手を介する場合、エラー頻度に関しては限度がある
ロボット化するなどの自動化の方向しかないのではないと思われる

手技や器具・資材以外に、モニター付きの連続分注機や自動化ロボットを使用するという対処法も挙げられた。

スパイクエラーを防止し、分析の精度を上げるために自動化ロボットを導入することも選択肢の一つに挙げられる。

次項以降に自動化ロボットに関するアンケート結果を記載した。



スパイクエラー：自動化ロボット 1

【自動化ロボット利用のメリット】

スパイクエラーの防止における選択肢の1つとして、自動化ロボットの利用が挙げられる。
一般的な自動化ロボット導入のメリットを以下に記載した。

- ・作業の効率化
- ・作業の高速化
- ・ヒューマンエラーの減少
- ・コンタミネーションのリスクの軽減
- ・繰り返し作業の正確な実行
- ・研究者の負担軽減（前処理タスクの軽減，トレーニング時間の削減など）
- ・担当者の手技レベルに対する依存度軽減

これらのことから、自動化ロボットは以下の状況における利用が適している。

- ・多検体を同時に処理する場合
- ・高い精度と再現性が求められる作業

【参考文献】

*6 “LCMS分析における前処理のオートメーション”，JBF DG2018-37（2019）

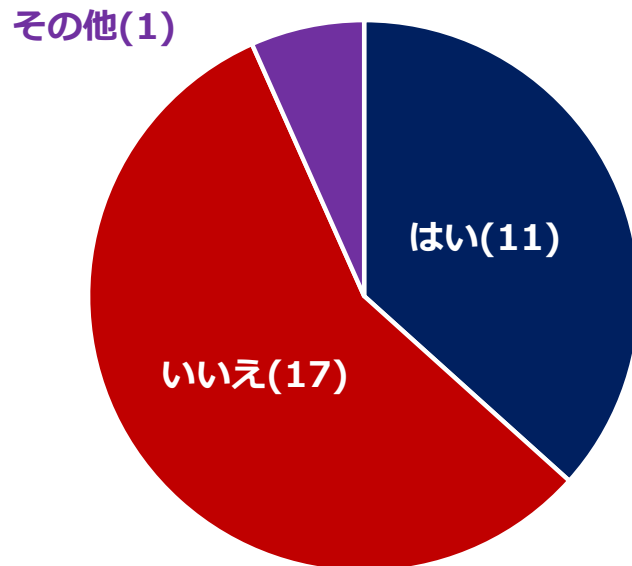


スパイクエラー：自動化ロボット 2

実試料測定時は「多検体を同時に処理する」「高い精度と再現性が求められる」状況にあり、自動化ロボットの活躍できる状況の1つでもある。

以降では、各社の自動化ロボットの導入状況等に関するアンケート結果を記載した。

Q. 前処理等に自動化ロボットを使用していますか（有効回答数：30）



前処理以外の使用例として

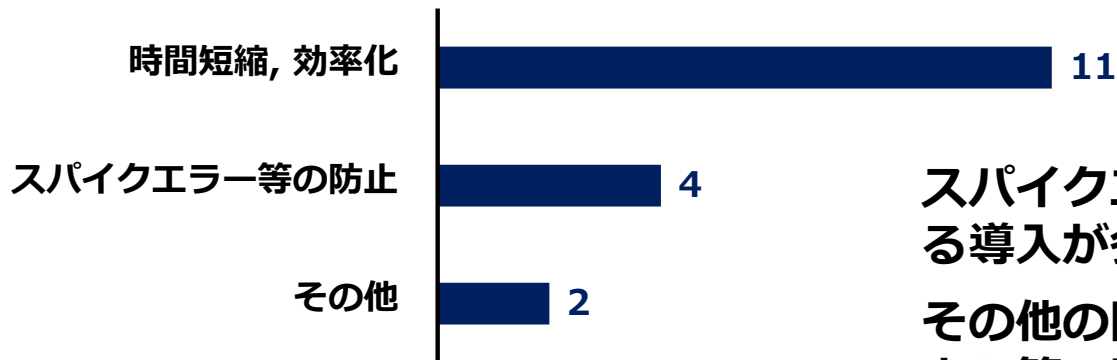
- ・ 探索ADME試験
- ・ 分注や試料採取などの単純操作
- ・ 試料や標準溶液の希釈操作

等の回答が得られた。



スパイクエラー：自動化ロボット 3

Q. 自動化ロボットの導入目的（複数回答可）

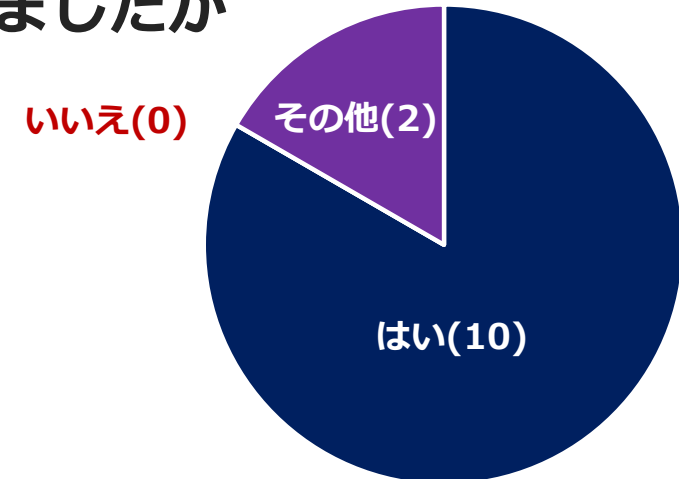


スパイクエラーの防止よりも効率化を目的とする導入が多かった。

その他の回答として、「確実性と効率化の両方」等の回答が得られた。

Q. 自動化ロボットを導入した目的は達成できましたか (有効回答数：12)

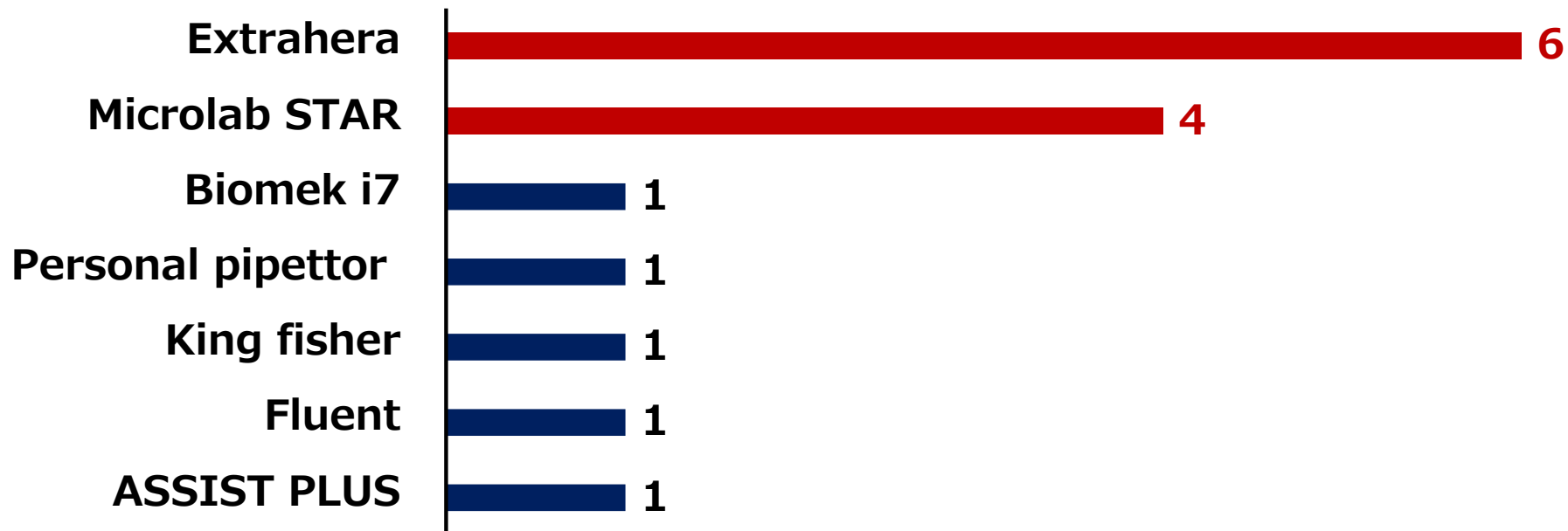
回答者ほぼ全て（11/12）において導入目的は達成された。





スパイクエラー：自動化ロボット 4

Q. 使用している自動化ロボットの名称を教えてください
(複数回答可、回答者数：9)



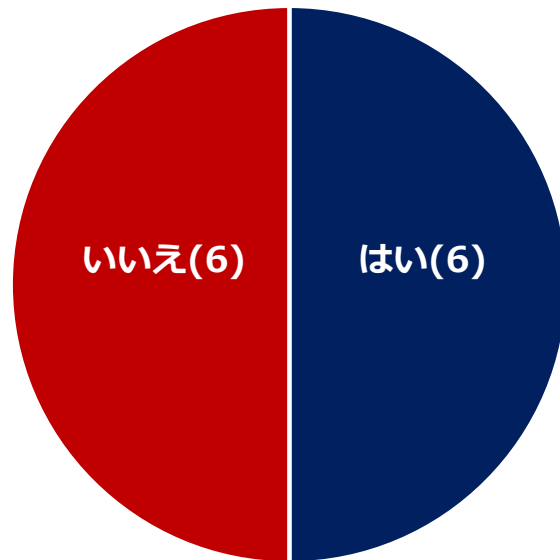
<http://bioanalysisforum.jp/>

Extrahera (Biotage社) 及びMicrolab STAR (Hamilton社) との回答が多かった。(9/11)



スパイクエラー：自動化ロボット 5

Q. 自動化ロボットを導入した際の弊害（デメリット）はありましたか
（自由記述あり、有効回答数：12）



【自動化ロボット導入のデメリット】（自由記述欄より）

- ・ 導入時後本稼働まで時間がかかり、業務が混乱
- ・ 使用前準備に時間を要し所要時間増
- ・ （サンプルの種類によっては）吸引不良が多発
- ・ エラー対応のためにプログラムの複雑化
- ・ チップからの液だれ
- ・ チューブなどの資材に制限

【自動化ロボット利用による作業への弊害】
（自由記述欄より）

- ・ 前処理や試験目的などに対する理解度低
- ・ 手技（テクニック）の低下

アンケートに記載された意見の他に、一般的なデメリットを以下に記載しました。

- ・ 導入後の定期的なメンテナンスなどにかかるコストやタスク
- ・ 故障・消耗品の廃番等により継続利用が不可になるリスク（バックアップの維持・確保）
- ・ 定型外の操作に対応できない（前処理方法が限定される）



試薬の調製ミス：移動相の脱気

【DG内での議論】

DG内で送液不良等を起因とするISエラーを防止する措置として“移動相の脱気”があがった。そこで、移動相の脱気の実施頻度について調査した。

Q. 移動相の脱気は毎回実施していますか (有効回答数：29)

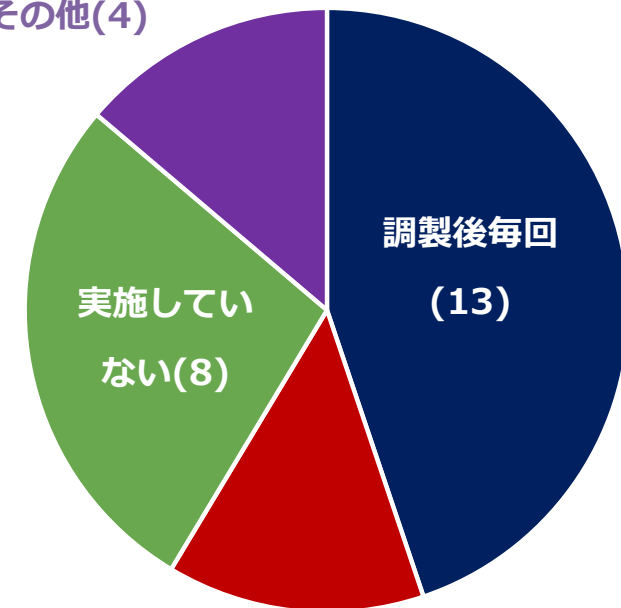
移動相中の気泡によっておこるエラーを
以下に記載した。

- ・ 送液不良（ピーク保持時間面積値の変動）
- ・ ピーク形状不良
- ・ ベースライン変動
- ・ ノイズピーク
- ・ 検出感度の低下

【参考文献】

- *7 移動相（溶離液）の脱気：分析計測機器（分析装置），島津製作所
- *8 II章－6 溶離液の脱気について | HPLCの上手な使い方 | ジーエルサイエンス

その他(4)



水系と有機溶媒系の混液時のみ(4)



その他：初学者の“悩み” 1

Q. (分析歴5年目以内の時に、) 理解するのに苦労したこと、分からないまま放置していたことを教えてください

Q. (分析歴5年目以内の時に、) 自分に不足していたと思う能力を教えてください

本DGはLC-MS使用経験年数が5年未満の若手を中心としたメンバーで構成されており、LC-MSを扱っていく中で初歩的な悩みや疑問について議論を重ねてきた。そこでアンケートの最後に、回答していただいた先輩方が「過去にどんな悩みを抱えていたか」「自分に不足していたと感じる能力は何か」を質問した。多くの声が集まったなかで、内容を大きく3つに分類した。

- ① LCやMSの機器トラブル対応やメンテナンス方法
- ② 分析法の構築
- ③ 業務への理解 (有機化学の反応や装置の仕組み等)

一部抜粋したものを次項以降で紹介した。



その他：初学者の“悩み” 2

①機器トラブル対応やメンテナンス

- ・装置のトラブルが発生した時にユーザーが交換できる部品であれば、メーカー担当を呼ばずに自分で交換することが多く、機器の扱いに慣れるまでは交換に時間がかかり大変だった（19年）
- ・分析上の問題が発生した場合の迅速な解決力（19年）

②分析法の構築

- ・分析法検討にあまり時間をかけられないことが多く、測定対象の構造や物性を見て適切な分析法を短期間で設定できるセンスを身に付けるのが難しかった（19年）
- ・複数化合物の同時分析条件の設定（23年）
- ・モニターイオンの選択眼（9年）



その他：初学者の“悩み” 3

③業務への理解（有機化学の反応や装置の仕組み等）

- ・ LCやMSの細かな構造、原理（例えばLCの注入機構）などの資料だけではイメージが難しく理解するのに時間がかかった（4年）
- ・ 有機化学、反応性、フラグメント理論などの知識不足
トラブルに直面しないと気づかないことは多いと思います
（20年）
- ・ ガイドラインの許容基準値の背景（6年）
- ・ バリデーションで合格基準に適合しなかったときの原因調査能力
（19年）
- ・ 出てきたデータの数字に対する読解力
この高低で、対処方法や行動が異なってきますが、能力を定型で上げること
は難しい（20年）



その他：初学者の“悩み” 4

【DGとしての意見】

メンバーが「理解するのに苦労していること」「自身に不足していると思う能力」について以下に記載した。

- ・装置構造の理解、メンテナンス方法
- ・トラブルへの対処法や原因究明力
- ・ガイドラインについての理解（数値的根拠など）

メンバーでは、①機器トラブル対応やメンテナンス、③業務への理解 の観点で不安に思う部分があった。

この点はアンケートでも類似する意見が多かった。

冒頭で示したように、アンケート回答者の6割はLC-MS経験歴10年以上のベテランであるが、LC-MS経験歴の浅い人が思い悩む部分は現在も変わっていないと考えられる。

LC-MSを使用するにあたって、今後初学者がどんなことから学ぶべきか、また教える側になったときにどうすべきかを考えるきっかけとなった。

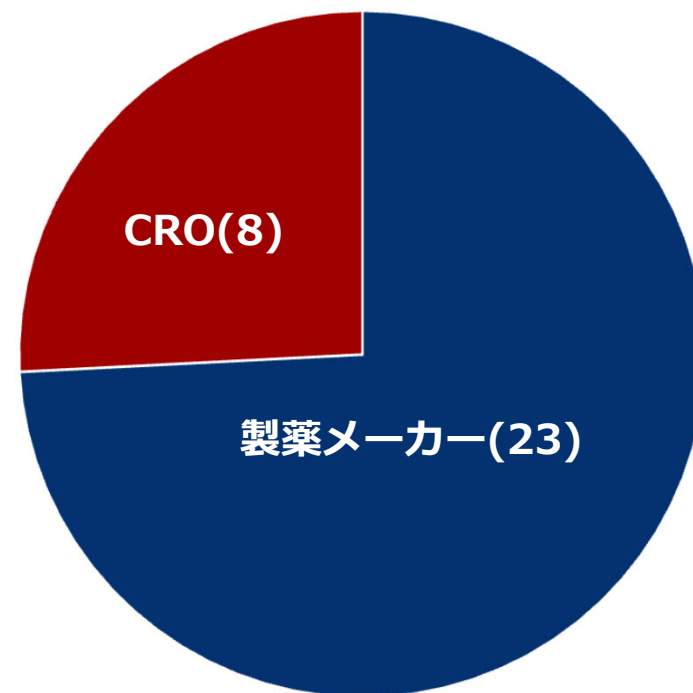
【アンケート結果】

1. 回答者背景

- ・有効回答数 31
回答者は広範囲な経験年数
- ・皆様、ご回答ありがとうございました

2. “IS variability” と許容値設定

- ・許容値設定の有無はまだまだ各社対応が分かっている
- ・スパイクエラーを検知することを目的に、基準値からの乖離幅で許容値を設定するとの回答が多数であった。（13/21）





まとめ 2

【アンケート結果】

3. “IS variability” 許容値外サンプルの原因と対応策

- ・ 許容値外サンプルの原因としては「注入不良」が最多（10）
- ・ 次いで、「マトリクス効果」「スパイクエラー」「イオン源の汚れ」（5）
- ・ マトリクス効果の検証方法として、半数以上で「プールマトリクスによる希釈」が第一選択（17/28）

4. スパイクエラーへの対応策

- ・ 数値に差はあれど半数以上が1回あたりの最少スパイク量を規定していた（22/27）
- ・ 自動化ロボットの利用は3割程度にとどまった（11/30）

以上

*** 本資料の内容はあくまでDGとしての意見であり、JBFとしての総意ではありません。**