

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成30年9月6日 (2018.9.6)

【公表番号】特表2017-524708(P2017-524708A)

【公表日】平成29年8月31日 (2017.8.31)

【年通号数】公開・登録公報2017-033

【出願番号】特願2017-505546(P2017-505546)

【国際特許分類】

C 0 7 F 9/10 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/92 (2006.01)

G 0 1 N 30/88 (2006.01)

G 0 1 N 30/90 (2006.01)

G 0 1 N 27/62 (2006.01)

C 0 7 C 69/30 (2006.01)

C 0 7 B 59/00 (2006.01)

C 0 7 C 53/126 (2006.01)

C 0 7 C 57/12 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 F 9/10 C

G 0 1 N 33/50 D

G 0 1 N 33/92 Z

G 0 1 N 30/88 E

G 0 1 N 30/90

G 0 1 N 27/62 V

G 0 1 N 27/62 C

G 0 1 N 27/62 X

C 0 7 C 69/30

C 0 7 B 59/00

C 0 7 C 53/126

C 0 7 C 57/12

【手続補正書】

【提出日】平成30年7月26日 (2018.7.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

対象サンプル中の 1 または 2 以上の対応する複合脂質クラスに存在する 1 または 2 以上の複合脂質分子種から構成される 1 または 2 以上の複合脂質分子混合物を含む、内部標準として使用するための組成物であって、

各複合脂質分子混合物は、

脂質骨格上の第 1 の位置に同位体標識された脂肪酸を有する脂質骨格であって、アシル基を少なくとも 2 つ有する脂質クラスのための脂質骨格；および、

脂質骨格上の別位置に存在する少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を含み、

複合脂質クラスは、トリアシルグリセロール、ジアシルグリセロール、リン脂質、ホス

ファチジルコリン、o - ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、p - ホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリン、カルジオリピン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、CDP - ジアシルグリセロール、セラミド、ラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、フィトセラミド、6 - ヒドロキシセラミド、セレブロシド、ガングリオシド、または、ワックスジエステルを含む、組成物。

【請求項 2】

対象サンプル中の 1 または 2 以上の対応する複合脂質クラスに存在する 1 または 2 以上の複合脂質分子種から構成される 1 または 2 以上の複合脂質分子混合物を含む、内部標準として使用するための組成物であって、

各複合脂質分子混合物は、

1 または 2 以上の同位体標識を有する脂質骨格であって、アシル基を少なくとも 1 つ有する脂質クラスのための脂質骨格；および、

脂質骨格上の単一位置に存在する少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を含み、

複合脂質クラスは、トリアシルグリセロール、ジアシルグリセロール、1 - モノアシルグリセロール、リン脂質、ホスファチジルコリン、o - ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、p - ホスファチジルエタノールアミン、コレステリルエステル、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルセリン、リゾホスファチジルイノシトール、リゾホスファチジルグリセロール、リゾホスファチジン酸、リゾ CDP - ジアシルグリセロール、CDP - ジアシルグリセロール、スフィンゴミエリン、カルジオリピン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、セラミド、ラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、フィトセラミド、6 - ヒドロキシセラミド、セレブロシド、ガングリオシド、ワックスエステル、または、ワックスジエステルを含む、組成物。

【請求項 3】

対象サンプル中の 1 または 2 以上の対応する複合脂質クラスに存在する 1 または 2 以上の複合脂質分子種から構成される 1 または 2 以上の複合脂質分子混合物を含む、内部標準として使用するための組成物であって、

各複合脂質分子混合物は、

脂質骨格上の単一位置に少なくとも 2 種類の同位体標識された脂肪酸の混合物を有する脂質骨格であって、アシル基を少なくとも 1 つ有する脂質クラスのための脂質骨格；

脂質骨格上の単一位置に少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を有する同位体標識された脂質骨格であって、アシル基を少なくとも 1 つ有する脂質クラスのための脂質骨格；および、

脂質骨格上の第 1 の位置に単一の同位体標識された脂肪酸を有し、かつ脂質骨格上の別位置に少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を有する脂質骨格であって、アシル基を少なくとも 2 つ有する脂質クラスのための脂質骨格；のうちの 1 または 2 以上を含み、

複合脂質クラスは、トリアシルグリセロール、ジアシルグリセロール、1 - モノアシルグリセロール、リン脂質、ホスファチジルコリン、o - ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、p - ホスファチジルエタノールアミン、コレステリルエステル、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルセリン、リゾホスファチジルイノシトール、リゾホスファチジルグリセロール、リゾホスファチジン酸、リゾ CDP - ジアシルグリセロール、CDP - ジアシルグリセロール、スフィンゴミエリン、カルジオリピン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、セラミド、ラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、フィトセラミド、6 - ヒドロキシセラミド、セレブロシド、ガングリオシド、ワックスエステル、または、ワックスジエステルを含み、

複合脂質クラスの 1 つは、

(a) ホスファチジルコリンまたは o - ホスファチジルコリンであって、第 1 の位置が s n - 1 位であり別位置が s n - 2 位であるか、あるいは、第 1 の位置が s n - 2 位であ

り別位置が $s_n - 1$ 位である、ホスファチジルコリンまたは o - ホスファチジルコリン；

(b) ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミンであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位である、ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミン；

(c) スフィンゴミエリンであって、第 1 の位置に同位体標識スフィンゴシンが存在し、別位置に脂肪酸の混合物が存在するスフィンゴミエリン；

(d) ジアシルグリセロールであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位であるジアシルグリセロール；

(e) トリアシルグリセロールであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位または $s_n - 3$ 位であるか、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位または $s_n - 3$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 3$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位または $s_n - 2$ 位であるトリアシルグリセロール；および

(f) コレステリルエステルであって、単一位置が水酸基であり、脂肪酸の混合物が当該水酸基に付着するコレステリルエステル、

からなる群から選択される、組成物。

【請求項 4】

同位体標識が ^2H 、 ^{13}C または ^{15}N を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

複合脂質クラスの 1 つは、

(a) ホスファチジルコリンまたは o - ホスファチジルコリンであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位であり、同位体標識ヘキサデカノイル (16 : 0) が第 1 の位置に存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、9 Z - ヘキサデセノイル (16 : 1 n 7)、9 Z - オクタデセノイル (18 : 1 n 9)、9 Z, 12 Z - オクタデカジエノイル (18 : 2 n 6)、9 Z, 12 Z, 15 Z - オクタデカトリエノイル (18 : 3 n 3)、8 Z, 11 Z, 14 Z - エイコサトリエノイル (20 : 3 n 6)、5 Z, 8 Z, 11 Z, 14 Z - エイコサテトラエノイル (20 : 4 n 6)、5 Z, 8 Z, 11 Z, 14 Z, 17 Z - エイコサペンタエノイル (20 : 5 n 3)、7 Z, 10 Z, 13 Z, 16 Z - ドコサテトラエノイル (22 : 4 n 6)、7 Z, 10 Z, 13 Z, 16 Z, 19 Z - ドコサペンタエノイル (22 : 5 n 3)、および、4 Z, 7 Z, 10 Z, 13 Z, 16 Z, 19 Z - ドコサヘキサエノイル (22 : 6 n 3) を含む、ホスファチジルコリンまたは o - ホスファチジルコリン；

(b) ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミンであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位であり、同位体標識オクタデカノイル (18 : 0) が第 1 の位置に存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、9 Z - オクタデセノイル (18 : 1 n 9)、9 Z, 12 Z - オクタデカジエノイル (18 : 2 n 6)、9 Z, 12 Z, 15 Z - オクタデカトリエノイル (18 : 3 n 3)、8 Z, 11 Z, 14 Z - エイコサトリエノイル (20 : 3 n 6)、5 Z, 8 Z, 11 Z, 14 Z - エイコサテトラエノイル (20 : 4 n 6)、5 Z, 8 Z, 11 Z, 14 Z, 17 Z - エイコサペンタエノイル (20 : 5 n 3)、7 Z, 10 Z, 13 Z, 16 Z, 19 Z - ドコサペンタエノイル (22 : 5 n 3)、および、4 Z, 7 Z, 10 Z, 13 Z, 16 Z, 19 Z - ドコサヘキサエノイル (22 : 6 n 3) を含む、ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミン；

(c) スフィンゴミエリンであって、第 1 の位置に同位体標識スフィンゴシンが存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル (16 : 0)、9 Z - オクタデセノイル (18 : 1 n 9)、テトラコサノイル (24 : 0)、および、15 Z - テトラコセノイル

(2 4 : 1 n 9) を含む、スフィンゴミエリン；

(d) ジアシルグリセロールであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位であり、同位体標識パルミテート (1 6 : 0) が第 1 の位置に存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル (1 6 : 0)、オクタデカノイル (1 8 : 0)、9 Z - オクタデセノイル (1 8 : 1 n 9)、9 Z , 1 2 Z - オクタデカジエノイル (1 8 : 2 n 6)、9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - オクタデカトリエノイル (1 8 : 3 n 3)、5 Z , 8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z - エイコサテトラエノイル (2 0 : 4 n 6)、5 Z , 8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z , 1 7 Z - エイコサペンタエノイル (2 0 : 5 n 3)、および、4 Z , 7 Z , 1 0 Z , 1 3 Z , 1 6 Z , 1 9 Z - ドコサヘキサエノイル (2 2 : 6 n 3) を含む、ジアシルグリセロール；または

(e) トリアシルグリセロールであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位または $s_n - 3$ 位であるか、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位または $s_n - 3$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 3$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位または $s_n - 2$ 位であり、同位体標識パルミテート (1 6 : 0) が第 1 の位置に存在し、オレエート (1 8 : 1 n 9) が 1 つの別位置に存在し、他の別位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル (1 6 : 0)、オクタデカノイル (1 8 : 0)、9 Z - オクタデセノイル (1 8 : 1 n 9)、9 Z , 1 2 Z - オクタデカジエノイル (1 8 : 2 n 6)、9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - オクタデカトリエノイル (1 8 : 3 n 3)、8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z - エイコサトリエノイル (2 0 : 3 n 6)、5 Z , 8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z - エイコサテトラエノイル (2 0 : 4 n 6)、および、4 Z , 7 Z , 1 0 Z , 1 3 Z , 1 6 Z , 1 9 Z - ドコサヘキサエノイル (2 2 : 6 n 3) を含む、トリアシルグリセロール

からなる、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

複合脂質クラスの 1 つは、コレステリルエステルであって、単一位置が水酸基であり、該水酸基に付着する脂肪酸の混合物は、ヘキサデカノイル (1 6 : 0)、9 Z - ヘキサデセノエート (1 6 : 1 n 7)、9 Z - オクタデセノイル (1 8 : 1 n 9)、9 Z , 1 2 Z - オクタデカジエノイル (1 8 : 2 n 6)、8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z - エイコサトリエノイル (2 0 : 3 n 6)、5 Z , 8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z - エイコサテトラエノイル (2 0 : 4 n 6)、5 Z , 8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z , 1 7 Z - エイコサペンタエノエート (2 0 : 5 n 3)、および、4 Z , 7 Z , 1 0 Z , 1 3 Z , 1 6 Z , 1 9 Z - ドコサヘキサエノイル (2 2 : 6 n 3) を含むコレステリルエステルからなる、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 7】

複合脂質クラスの 1 つは、

(a) ホスファチジルコリンまたは o - ホスファチジルコリンであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位であり、同位体標識ヘキサデカノイル (1 6 : 0) が第 1 の位置に存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、9 Z - ヘキサデセノイル (1 6 : 1 n 7)、9 Z - オクタデセノイル (1 8 : 1 n 9)、9 Z , 1 2 Z - オクタデカジエノイル (1 8 : 2 n 6)、9 Z , 1 2 Z , 1 5 Z - オクタデカトリエノイル (1 8 : 3 n 3)、8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z - エイコサトリエノイル (2 0 : 3 n 6)、5 Z , 8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z - エイコサテトラエノイル (2 0 : 4 n 6)、5 Z , 8 Z , 1 1 Z , 1 4 Z , 1 7 Z - エイコサペンタエノイル (2 0 : 5 n 3)、7 Z , 1 0 Z , 1 3 Z , 1 6 Z - ドコサテトラエノイル (2 2 : 4 n 6)、7 Z , 1 0 Z , 1 3 Z , 1 6 Z , 1 9 Z - ドコサペンタエノイル (2 2 : 5 n 3)、および、4 Z , 7 Z , 1 0 Z , 1 3 Z , 1 6 Z , 1 9 Z - ドコサヘキサエノイル (2 2 : 6 n 3) を含む、ホスファチジルコリンまたは o - ホスファチジルコリン；

(b) ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミンであって、第 1 の位置が $s_n - 1$ 位であり別位置が $s_n - 2$ 位であるか、あるいは、第 1 の位置が $s_n - 2$ 位であり別位置が $s_n - 1$ 位であり、同位体標識オクタデカノイル (1 8

：0）が第1の位置に存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、9 Z - オクタデセノイル（18：1 n 9）、9 Z，12 Z - オクタデカジエノイル（18：2 n 6）、9 Z，12 Z，15 Z - オクタデカトリエノイル（18：3 n 3）、8 Z，11 Z，14 Z - エイコサトリエノイル（20：3 n 6）、5 Z，8 Z，11 Z，14 Z - エイコサテトラエノイル（20：4 n 6）、5 Z，8 Z，11 Z，14 Z，17 Z - エイコサペンタエノイル（20：5 n 3）、7 Z，10 Z，13 Z，16 Z，19 Z - ドコサペンタエノイル（22：5 n 3）、および、4 Z，7 Z，10 Z，13 Z，16 Z，19 Z - ドコサヘキサエノイル（22：6 n 3）を含む、ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミン；

（c）スフィンゴミエリンであって、第1の位置に同位体標識スフィンゴシンが存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル（16：0）、9 Z - オクタデセノイル（18：1 n 9）、テトラコサノイル（24：0）、および、15 Z - テトラコセノイル（24：1 n 9）を含む、スフィンゴミエリン；

（d）ジアシルグリセロールであって、第1の位置が s n - 1 位であり別位置が s n - 2 位であるか、あるいは、第1の位置が s n - 2 位であり別位置が s n - 1 位であり、同位体標識パルミテート（16：0）が第1の位置に存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル（16：0）、オクタデカノイル（18：0）、9 Z - オクタデセノイル（18：1 n 9）、9 Z，12 Z - オクタデカジエノイル（18：2 n 6）、9 Z，12 Z，15 Z - オクタデカトリエノイル（18：3 n 3）、5 Z，8 Z，11 Z，14 Z - エイコサテトラエノイル（20：4 n 6）、5 Z，8 Z，11 Z，14 Z，17 Z - エイコサペンタエノイル（20：5 n 3）、および、4 Z，7 Z，10 Z，13 Z，16 Z，19 Z - ドコサヘキサエノイル（22：6 n 3）を含む、ジアシルグリセロール；

（e）トリアシルグリセロールであって、第1の位置が s n - 1 位であり別位置が s n - 2 位または s n - 3 位であるか、第1の位置が s n - 2 位であり別位置が s n - 1 位または s n - 3 位であるか、あるいは、第1の位置が s n - 3 位であり別位置が s n - 1 位または s n - 2 位であり、同位体標識パルミテート（16：0）が第1の位置に存在し、オレエート（18：1 n 9）が1つの別位置に存在し、他の別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル（16：0）、オクタデカノイル（18：0）、9 Z - オクタデセノイル（18：1 n 9）、9 Z，12 Z - オクタデカジエノイル（18：2 n 6）、9 Z，12 Z，15 Z - オクタデカトリエノイル（18：3 n 3）、8 Z，11 Z，14 Z - エイコサトリエノイル（20：3 n 6）、5 Z，8 Z，11 Z，14 Z - エイコサテトラエノイル（20：4 n 6）、および、4 Z，7 Z，10 Z，13 Z，16 Z，19 Z - ドコサヘキサエノイル（22：6 n 3）を含む、トリアシルグリセロール；または

（f）コレステリルエステルであって、単一位置が水酸基であり、該水酸基に付着する脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル（16：0）、9 Z - ヘキサデセノエート（16：1 n 7）、9 Z - オクタデセノイル（18：1 n 9）、9 Z，12 Z - オクタデカジエノイル（18：2 n 6）、8 Z，11 Z，14 Z - エイコサトリエノイル（20：3 n 6）、5 Z，8 Z，11 Z，14 Z - エイコサテトラエノイル（20：4 n 6）、5 Z，8 Z，11 Z，14 Z，17 Z - エイコサペンタエノエート（20：5 n 3）、および、4 Z，7 Z，10 Z，13 Z，16 Z，19 Z - ドコサヘキサエノイル（22：6 n 3）を含む、コレステリルエステル

からなる、請求項3に記載の組成物。

【請求項8】

1または2以上の複合脂質分子混合物は、表1に示される脂肪酸の組成に従って存在する、請求項1～3のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項9】

対象サンプルは生体サンプルであり、任意で、生体サンプルは血液、血漿、血清、単離リポタンパク質分画、唾液、尿、リンパ液、脳脊髄液、組織サンプル、細胞サンプル、皮

膚サンプルを含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 10】

対象サンプル中の 1 または 2 以上の対応する複合脂質クラスに存在する 1 または 2 以上の複合脂質分子種を含む 1 または 2 以上の複合脂質分子混合物の合成方法であって、

アシル基を少なくとも 2 つ有する脂質クラスについて、同位体標識された脂肪酸を脂質骨格上の第 1 の位置にアシル化反応を介して付着させるステップ；および、

少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を、脂質骨格上の別位置にアシル化反応を介して付着させるステップを含み、

複合脂質クラスは、トリアシルグリセロール、ジアシルグリセロール、リン脂質、ホスファチジルコリン、o - ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、p - ホスファチジルエタノールアミン、スフィンゴミエリン、カルジオリピン、ホスファチジルセリン、ホスファチジリンイノシトール、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、CDP - ジアシルグリセロール、セラミド、ラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、フィトセラミド、6 - ヒドロキシセラミド、セレブロシド、ガングリオシド、または、ワックスジエステルを含む、方法。

【請求項 11】

対象サンプル中の 1 または 2 以上の対応する複合脂質クラスに存在する 1 または 2 以上の複合脂質分子種を含む 1 または 2 以上の複合脂質分子混合物の合成方法であって、

アシル基を少なくとも 1 つ有する脂質クラスについて、少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を、同位体標識された脂質骨格上の単一位置にアシル化反応を介して付着させるステップを含み、

複合脂質クラスは、トリアシルグリセロール、ジアシルグリセロール、1 - モノアシルグリセロール、リン脂質、ホスファチジルコリン、o - ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、p - ホスファチジルエタノールアミン、コレステリルエステル、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルセリン、リゾホスファチジリンイノシトール、リゾホスファチジルグリセロール、リゾホスファチジン酸、リゾCDP - ジアシルグリセロール、CDP - ジアシルグリセロール、スフィンゴミエリン、カルジオリピン、ホスファチジルセリン、ホスファチジリンイノシトール、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、セラミド、ラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、フィトセラミド、6 - ヒドロキシセラミド、セレブロシド、ガングリオシド、ワックスエステル、または、ワックスジエステルを含む、方法。

【請求項 12】

対象サンプル中の 1 または 2 以上の対応する複合脂質クラスに存在する 1 または 2 以上の複合脂質分子種を含む 1 または 2 以上の複合脂質分子混合物の合成方法であって、

アシル基を少なくとも 1 つ有する脂質クラスについて、同位体標識された少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を、脂質骨格上の単一位置にアシル化反応を介して付着させるステップ；

アシル基を少なくとも 1 つ有する脂質クラスについて、少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を、同位体標識された脂質骨格上の単一位置にアシル化反応を介して付着させるステップ；および、

アシル基を少なくとも 2 つ有する脂質クラスについて、1 つの同位体標識された脂肪酸を脂質骨格上の第 1 の位置にアシル化反応を介して付着させ、かつ、少なくとも 2 種類の脂肪酸の混合物を脂質骨格上の別位置にアシル化反応を介して付着させるステップ；のうちの 1 または 2 以上を含み、

複合脂質クラスは、トリアシルグリセロール、ジアシルグリセロール、1 - モノアシルグリセロール、リン脂質、ホスファチジルコリン、o - ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、p - ホスファチジルエタノールアミン、コレステリルエステル、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルセリン、リゾホスファチジリンイノシトール、リゾホスファチジルグリセロール、リゾホスファチジン酸、リゾCDP - ジアシルグリセロール、CDP - ジアシルグリセロール、

スフィンゴミエリン、カルジオリピン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、セラミド、ラクトシルセラミド、グルコシルセラミド、フィトセラミド、6-ヒドロキシセラミド、セレブロシド、ガングリオシド、ワックスエステル、または、ワックスジエステルを含み、

複合脂質クラスの1つは、

(a) ホスファチジルコリンまたはo-ホスファチジルコリンであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位であるか、あるいは、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位である、ホスファチジルコリンまたはo-ホスファチジルコリン；

(b) ホスファチジルエタノールアミンまたはp-ホスファチジルエタノールアミンであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位であるか、あるいは、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位である、ホスファチジルエタノールアミンまたはp-ホスファチジルエタノールアミン；

(c) スフィンゴミエリンであって、第1の位置に同位体標識スフィンゴシンが存在し、別位置に脂肪酸の混合物が存在するスフィンゴミエリン；

(d) ジアシルグリセロールであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位であるか、あるいは、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位であるジアシルグリセロール；

(e) トリアシルグリセロールであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位またはsn-3位であるか、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位またはsn-3位であるか、あるいは、第1の位置がsn-3位であり別位置がsn-1位またはsn-2位であるトリアシルグリセロール；および

(f) コレステリルエステルであって、単一位置が水酸基であり、脂肪酸の混合物が当該水酸基に付着しているコレステリルエステル、

からなる群から選択される、方法。

【請求項13】

1または2以上の複合脂質クラスの少なくとも1つは、

(a) ホスファチジルコリンおよびo-ホスファチジルコリンであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位であるか、あるいは、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位であり、同位体標識ヘキサデカノイル(16:0)が第1の位置に存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、9Z-ヘキサデセノイル(16:1n7)、9Z-オクタデセノイル(18:1n9)、9Z,12Z-オクタデカジエノイル(18:2n6)、9Z,12Z,15Z-オクタデカトリエノイル(18:3n3)、8Z,11Z,14Z-エイコサトリエノイル(20:3n6)、5Z,8Z,11Z,14Z-エイコサテトラエノイル(20:4n6)、5Z,8Z,11Z,14Z,17Z-エイコサペンタエノイル(20:5n3)、7Z,10Z,13Z,16Z,19Z-ドコサペンタエノイル(22:5n3)、および、4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z-ドコサヘキサエノイル(22:6n3)を含む、ホスファチジルコリンおよびo-ホスファチジルコリン；

(b) ホスファチジルエタノールアミンおよびp-ホスファチジルエタノールアミンであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位であるか、あるいは、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位であり、同位体標識オクタデカノイル(18:0)が第1の位置に存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、9Z-オクタデセノイル(18:1n9)、9Z,12Z-オクタデカジエノイル(18:2n6)、9Z,12Z,15Z-オクタデカトリエノイル(18:3n3)、8Z,11Z,14Z-エイコサトリエノイル(20:3n6)、5Z,8Z,11Z,14Z-エイコサテトラエノイル(20:4n6)、5Z,8Z,11Z,14Z,17Z-エイコサペンタエノイル(20:5n3)、7Z,10Z,13Z,16Z,19Z-ドコサペンタエノイル(22:5n3)、および、4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z-ドコサヘキサエノイル(22:6n3)を含む、ホスファチジルエタノールアミンおよびp-ホスファチジルエ

タノールアミン；

(c) スフィンゴミエリンであって、第1の位置に同位体標識スフィンゴシンが存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル(16:0)、9Z-オクタデセノイル(18:1n9)、テトラコサノイル(24:0)、および、15Z-テトラコセノイル(24:1n9)を含む、スフィンゴミエリン；

(d) ジアシルグリセロールであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位であるか、あるいは、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位であり、同位体標識パルミテート(16:0)が第1の位置に存在し、別位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル(16:0)、オクタデカノイル(18:0)、9Z-オクタデセノイル(18:1n9)、9Z, 12Z-オクタデカジエノイル(18:2n6)、9Z, 12Z, 15Z-オクタデカトリエノイル(18:3n3)、5Z, 8Z, 11Z, 14Z-エイコサテトラエノイル(20:4n6)、5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z-エイコサペンタエノイル(20:5n3)、および、4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z-ドコサヘキサエノイル(22:6n3)を含む、ジアシルグリセロール；および

(e) トリアシルグリセロールであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位またはsn-3位であるか、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位またはsn-3位であるか、あるいは、第1の位置がsn-3位であり別位置がsn-1位またはsn-2位であり、同位体標識パルミテート(16:0)が第1の位置に存在し、オレエート(18:1n9)が1つの別位置に存在し、他の別位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル(16:0)、オクタデカノイル(18:0)、9Z-オクタデセノイル(18:1n9)、9Z, 12Z-オクタデカジエノイル(18:2n6)、9Z, 12Z, 15Z-オクタデカトリエノイル(18:3n3)、8Z, 11Z, 14Z-エイコサトリエノイル(20:3n6)、5Z, 8Z, 11Z, 14Z-エイコサテトラエノイル(20:4n6)、および、4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z-ドコサヘキサエノイル(22:6n3)を含む、トリアシルグリセロール

からなる群から選択される、請求項10に記載の方法。

【請求項14】

1または2以上の複合脂質クラスの少なくとも1つは、コレステリルエステルであって、単一位置が水酸基であり、該水酸基に付着する脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノエート(16:0)、9Z-ヘキサデセノエート(16:1n7)、9Z-オクタデセノエート(18:1n9)、9Z, 12Z-オクタデカジエノエート(18:2n6)、8Z, 11Z, 14Z-エイコサトリエノエート(20:3n6)、5Z, 8Z, 11Z, 14Z-エイコサテトラエノエート(20:4n6)、5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z-エイコサペンタエノエート(20:5n3)、および、4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z-ドコサヘキサエノエート(22:6n3)を含むコレステリルエステルからなる、請求項11に記載の方法。

【請求項15】

1または2以上の複合脂質クラスの少なくとも1つは、

(a) ホスファチジルコリンまたはo-ホスファチジルコリンであって、第1の位置がsn-1位であり別位置がsn-2位であるか、あるいは、第1の位置がsn-2位であり別位置がsn-1位であり、同位体標識ヘキサデカノイル(16:0)が第1の位置に存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、9Z-ヘキサデセノイル(16:1n7)、9Z-オクタデセノイル(18:1n9)、9Z, 12Z-オクタデカジエノイル(18:2n6)、9Z, 12Z, 15Z-オクタデカトリエノイル(18:3n3)、8Z, 11Z, 14Z-エイコサトリエノイル(20:3n6)、5Z, 8Z, 11Z、14Z-エイコサテトラエノイル(20:4n6)、5Z, 8Z, 11Z, 14Z, 17Z-エイコサペンタエノイル(20:5n3)、7Z, 10Z, 13Z, 16Z-ドコサテトラエノイル(22:4n6)、7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z-ドコサペンタエノイル(22:5n3)、および、4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z

- ドコサヘキサエノイル (22 : 6 n 3) を含む、ホスファチジルコリンまたは o - ホスファチジルコリン ;

(b) ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミンであって、第 1 の位置が s n - 1 位であり別位置が s n - 2 位であるか、あるいは、第 1 の位置が s n - 2 位であり別位置が s n - 1 位であり、同位体標識オクタデカノイル (18 : 0) が第 1 の位置に存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、9 Z - オクタデセノイル (18 : 1 n 9)、9 Z , 12 Z - オクタデカジエノイル (18 : 2 n 6)、9 Z , 12 Z , 15 Z - オクタデカトリエノイル (18 : 3 n 3)、8 Z , 11 Z , 14 Z - エイコサトリエノイル (20 : 3 n 6)、5 Z , 8 Z , 11 Z , 14 Z - エイコサテトラエノイル (20 : 4 n 6)、5 Z , 8 Z , 11 Z , 14 Z , 17 Z - エイコサペンタエノイル (20 : 5 n 3)、7 Z , 10 Z , 13 Z , 16 Z , 19 Z - ドコサペンタエノイル (22 : 5 n 3)、および、4 Z , 7 Z , 10 Z , 13 Z , 16 Z , 19 Z - ドコサヘキサエノイル (22 : 6 n 3) を含む、ホスファチジルエタノールアミンまたは p - ホスファチジルエタノールアミン ;

(c) スフィンゴミエリンであって、第 1 の位置に同位体標識スフィンゴシンが存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル (16 : 0)、9 Z - オクタデセノイル (18 : 1 n 9)、テトラコサノイル (24 : 0)、および、15 Z - テトラコセノイル (24 : 1 n 9) を含む、スフィンゴミエリン ;

(d) ジアシルグリセロールであって、第 1 の位置が s n - 1 位であり別位置が s n - 2 位であるか、あるいは、第 1 の位置が s n - 2 位であり別位置が s n - 1 位であり、同位体標識パルミテート (16 : 0) が第 1 の位置に存在し、別位置または単一位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル (16 : 0)、オクタデカノイル (18 : 0)、9 Z - オクタデセノイル (18 : 1 n 9)、9 Z , 12 Z - オクタデカジエノイル (18 : 2 n 6)、9 Z , 12 Z , 15 Z - オクタデカトリエノイル (18 : 3 n 3)、5 Z , 8 Z , 11 Z , 14 Z - エイコサテトラエノイル (20 : 4 n 6)、5 Z , 8 Z , 11 Z , 14 Z , 17 Z - エイコサペンタエノイル (20 : 5 n 3)、および、4 Z , 7 Z , 10 Z , 13 Z , 16 Z , 19 Z - ドコサヘキサエノイル (22 : 6 n 3) を含む、ジアシルグリセロール ;

(e) トリアシルグリセロールであって、第 1 の位置が s n - 1 位であり別位置が s n - 2 位または s n - 3 位であるか、第 1 の位置が s n - 2 位であり別位置が s n - 1 位または s n - 3 位であるか、あるいは、第 1 の位置が s n - 3 位であり別位置が s n - 1 位または s n - 2 位であり、同位体標識パルミテート (16 : 0) が第 1 の位置または単一位置に存在し、オレエート (18 : 1 n 9) が 1 つの別位置に存在し、他の別位置の脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノイル (16 : 0)、オクタデカノイル (18 : 0)、9 Z - オクタデセノイル (18 : 1 n 9)、9 Z , 12 Z - オクタデカジエノイル (18 : 2 n 6)、9 Z , 12 Z , 15 Z - オクタデカトリエノイル (18 : 3 n 3)、8 Z , 11 Z , 14 Z - エイコサトリエノイル (20 : 3 n 6)、5 Z , 8 Z , 11 Z , 14 Z - エイコサテトラエノイル (20 : 4 n 6)、および、4 Z , 7 Z , 10 Z , 13 Z , 16 Z , 19 Z - ドコサヘキサエノイル (22 : 6 n 3) を含む、トリアシルグリセロール ; および

(f) コレステリルエステルであって、単一位置が水酸基であり、水酸基に付着する脂肪酸の混合物が、ヘキサデカノエート (16 : 0)、9 Z - ヘキサデセノエート (16 : 1 n 7)、9 Z - オクタデセノエート (18 : 1 n 9)、9 Z , 12 Z - オクタデカジエノエート (18 : 2 n 6)、8 Z , 11 Z , 14 Z - エイコサトリエノエート (20 : 3 n 6)、5 Z , 8 Z , 11 Z , 14 Z - エイコサテトラエノエート (20 : 4 n 6)、5 Z , 8 Z , 11 Z , 14 Z , 17 Z - エイコサペンタエノエート (20 : 5 n 3)、および、4 Z , 7 Z , 10 Z , 13 Z , 16 Z , 19 Z - ドコサヘキサエノエート (22 : 6 n 3) を含む、コレステリルエステル

からなる群から選択される、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 16】

1 または 2 以上の複合脂質分子混合物は、表 1 に示される脂肪酸の組成に従って存在する、請求項 10 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 17】

(i) 請求項 1 ～ 3 に記載の組成物の 1 または 2 以上と；、

(i i) 対象サンプル中の複合脂質クラスに存在する複合脂質分子種を検出または定量するために、1 または 2 以上の複合脂質分子混合物を内部標準として使用するための指示と、を含むキット。