特集：MSによる生体分子の異性体分離と分析

COMMENTARY

高速SRMによるジアシルリン脂質の分析手法の開発と異性体分析について

Lipid Isomer Analysis on the Development of SRM Based Method for Diacylphospholipids Profiling

山田真希

Masaki YAMADA

株式会社島津製作所分析計測事業部グローバルアプリケーション開発センター *Global Application Development Center, Analytical & Measuring Instruments Division, Shimadzu Corporation*

Lipids are the molecules in charge of physiological functions such as membrane structure, energy storage or bioactive lipids themselves. Molecular weight of lipid is at most 2000, which is not so larger than that of DNA or proteins. Over 40,000 lipid species are registered in LIPID MAPS (<http://www.lipidmaps.org/>). It means that dozens of isomeric and isobaric lipid species are condensed in 1 mass unit. Lipidomics is a technology to analyze comprehensive lipid molecules quantitatively using mass spectrometer. Accurate MS such as time of flight or orbital trap type MS coupled with database search is major platform in lipidomics. Recent study using accurate MS based comprehensive lipidomics shown that over 1000 lipids were identified in biological sample. Widely targeted lipidomics using selected reaction monitoring (SRM) with triple quadrupole MS (TQ-MS) is the other platform. Ultra-fast TQ-MS enables to set 500 SRM transition per second including polarity switching. Here we present that development of SRM based lipidomics methods for phospholipids using TQ-MS coupled with reversed phase chromatography. Over 200 phospholipids were identified using the SRM based method from the lipid extracts of mouse tissues. Also we would like to discuss how to identify lipid isomers and isobaric species in the SRM based lipidomics focused on diacylphospholipids analysis.

(Received July 20, 2018; Accepted August 24, 2018)

1. はじめに

脂質は、細胞膜構成、エネルギー貯蔵、あるいはそれ自体が生理活性脂質として働くなど、さまざまな生理機能を担う生体分子である。脂質の分子量は、大きいもので2000程度である。核酸やタンパク質ほど大きくないが、LIPID MAPS (<http://www.lipidmaps.org/>) には4万種以上の脂質分子が登録されている。これは、分子量「1」という範囲内に、数十種の異性体と isobaric 成分（整数質量が同じで組成式が異なる成分）が含まれることを意味する。本稿で取り上げるジアシルリン脂質は、グリセロールに2種の脂肪酸がアシル結合したものであり、1. 脂肪酸の組み合わせ異性体、2. 二重結合の位置異性体、3. シス・

トランス異性体、4. 光学異性体など、さまざまな異性体がある。

このような異性体を含む多様な脂質分子の分析および包括的な研究を、リポミクスと言う。近年の質量分析計の高速化と高感度化およびさまざまなフラグメンテーション技術開発が、この分野の発展を牽引してきた。リポミクスにおいては、Quadrupole time-of-flight (Q-TOF) 型やOrbital trap型のような高精度質量分析計が主に利用されている¹⁾。高精度MSは、isobaric成分の同定には有効であるが、組成式が同じ異性体の同定にはMS/MSによるフラグメンテーションが必須である。Data dependent analysis (DDA) は、ある強度以上のイオンについてMS/MSを行い、プロダクトイオンスペクトルを取得するシステムであり、網羅性という点で優れている²⁾。一方、三連四重極型質量分析計 (TQ-MS) によるワイドターゲットリポミクスと呼ばれる手法が報告されている^{3), 4)}。近年のTQ-MSの高速化により、毎秒500以上のselected reaction monitoring (SRM) を、極性切り替えを含めて設定できるようになった。ワイドターゲットリポミクスは、網羅性

Correspondence to: Masaki YAMADA, *Global Application Development Center, Analytical & Measuring Instruments Division, Shimadzu Corporation, Nishinokyo, Kuwabara-cho 1, Nakagyo-ku, Kyoto 604-8511, JAPAN*, e-mail: yamada@shimadzu.co.jp
山田真希, 株式会社島津製作所分析計測事業部グローバルアプリケーション開発センター, 〒604-8511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1

という点では高精度MSシステムに劣る。しかし、SRMは、感度の高さとダイナミックレンジの広さから、高精度MSシステムでは検出できないような低濃度の脂質成分を同定・定量できると期待される。

筆者らは、逆相クロマトグラフィーとTQ-MSによる高速SRMを用いたワイドターゲットリポミックスの手法を開発した⁵⁾。この手法により、200以上のリン脂質成分を生体試料から検出した⁶⁾。本稿では、ジアシルリン脂質に焦点を絞り、リポミックス分析法の開発において課題である異性体分析とisobaric成分の分離について解説する。高速SRMによるワイドターゲットリポミックスがどの程度の脂質異性体を分析できるのかを実例を交えて紹介し、高精度MSによるリポミックス手法と比較してどのような利点があるのかも解説する。

2. ジアシルリン脂質の構造と質量分析

2.1 ジアシルリン脂質の構造

ジアシルリン脂質PC 18:0-18:2 (9Z, 12Z)の構造を図1に示した。sn-1位にステアリン酸 (C 18:0, 脂肪酸の炭素数: 二重結合の数), sn-2位にリノール酸 (C18:2) がアシル結合し, sn-3にフォスファチジルコリン (極性基) が結合している。このように, グリセロールのsn-1とsn-2に両方に脂肪酸がアシル結合し, リン酸を含む極性基が結合したものをジアシルリン脂質という。脂肪酸とグリセロールとの結合はアシル結合だけでなく, アルキル結合とアルケニル結合がある。LIPID MAPSの表記法に従うと, 脂肪酸表記の頭にo-あるいはp-をつける (図1)。アルキルアシル型, アルケニルアシル型のリン脂質とも言う。結合様式にかかわらず, グリセロールに脂肪酸が結合したリン脂質を総称して, グリセロリン脂質という。

脂肪酸の二重結合の位置は, カルボニル炭素から数えた炭素原子の順番で表記する。あるいは, EPAやDHAは ω 3脂肪酸と言われるように, ω とメチル末端から数えた炭素原子の順番で示す。二重結合のシス体をZ, トランス体をEで表記する。

ジアシルリン脂質には, 脂肪酸の組み合わせ異性体 composition isomerがある。フォスファチジルコリンPC 36:2 (脂肪酸の総炭素数: 脂肪酸の二重結合の総数) で

は, 図1で示したPC 18:0 (ステアリン酸)/18:2 (リノール酸) という組み合わせだけでなく, PC 18:1/18:1 (オレイン酸), PC 16:0 (パルチミン酸)/20:2, PC 14:0 (ミリスチン酸)/22:2, といったように, 複数の組み合わせが考えられる。これらはすべて同じ組成式 $C_{44}H_{84}NO_8P$, 同じ分子量785.5935 (monoisotopic mass) である。LIPID MAPSでは, PC 36:2について14種の脂肪酸が考慮されており, 二重結合の位置異性体, シス・トランス異性体, およびsn-1とsn-2が入れ替わったreverse isomerを含めて, 40種の異性体が登録されている。

2.2 MS/MSによるジアシルリン脂質のフラグメンテーション

ジアシルリン脂質はその極性基により, フォスファチジルコリン (PC), フォスファチジルエタノールアミン (PE), フォスファチジルイノシトール (PI), フォスファチジルグリセロール (PG), フォスファチジルセリン (PS), フォスファチジン酸 (PA) に分類される。MS/MSにより検出される極性基のプロダクトイオンを図2に示した。極性基の脱離によるイオンは, PI以外についてはポジティブモードで検出される。図には示さなかったが, PSについてはネガティブモードで87のニュートラルロスを生じる⁷⁾。PC, PIに関してはプリカーサーイオンスキャンで, PE, PG, PSについてはニュートラルロススキャンで網羅的にリン脂質成分を分析することができる。例えば, ポジティブイオンモードで検出されるプロダクトイオン m/z 184.1に対するプリカーサーイオンスキャンにより, m/z 786.6にイオンが検出されれば, その成分はPC 36:2であると推測される。さらに, ネガティブイオンモードで脂肪酸のプロダクトイオンが検出できれば, 脂肪酸の組み合わせが同定できる。したがって, 極性切り替えはジアシルリン脂質の定性に極めて有効である。Brownらは, プリカーサーイオンスキャンとニュートラルロススキャンによるリポミックス解析により, グリセロリン脂質97成分の組み合わせ異性体を同定した⁸⁾。

ここで, isobaricな成分の分析について説明するため, 図1のPC 36:2を再度取り上げたい。LIPID MAPSにはPC 36:2に対するisobaricなリン脂質として, PE 40:9; $C_{45}H_{72}NO_8P$, monoisotopic mass 785.4996, PS 36:3;

図1. PC 18:0/18:2, 1-octadecanoyl-2-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-sn-glycero-3-phosphocholineの構造。アルケニルタイプとアルキルタイプの結合様式を下に示した。アシル, アルケニル, アルキル部位の質量を付記した。

図2. リン脂質のポーラーヘッド構造と、プロダクトイオン。FA1とFA2は脂肪酸を示す。(+)はポジティブモード、(-)はネガティブイオンモードを示す。

炭素数

		二重結合数												
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
14	14:0	14:1												
16	16:0	16:1												
18	18:0	18:1	18:2	18:3										
20	20:0	20:1	20:2	20:3	20:4	20:5								
22	22:0	22:1					22:6							
28	28:0	28:1	28:2											
30	30:0	30:1	30:2											
32	32:0	32:1	32:2	32:3	32:4									
34	34:0	34:1	34:2	34:3	34:4	34:5	34:6							
36	36:0	36:1	36:2	36:3	36:4	36:5	36:6	36:7						
38	38:0	38:1	38:2	38:3	38:4	38:5	38:6	38:7	38:8					
40	40:0	40:1	40:2	40:3	40:4	40:5	40:6	40:7	40:8	40:9	40:10			
42	42:0	42:1	42:2	42:3	42:4	42:5	42:6	42:7	42:8	42:9	42:10	42:11		
44	44:0	44:1	44:2				44:6	44:7					44:12	

PC 36:2

786.6 > 184.1 (+)

PC(14:1/22:1) 830.6 > 225.2 (-), > 337.3 (-)

PC(16:0/20:2) 830.6 > 255.2 (-), > 307.3 (-)

PC(16:1/20:1) 830.6 > 253.2 (-), > 309.3 (-)

PC(18:0/18:2) 830.6 > 283.2 (-), > 279.3 (-)

PC(18:1/18:1) 830.6 > 281.2 (-)

図3. 考慮した脂肪酸17種と、ジアシルリン脂質の64種。右には、PC 36:2の5つの脂肪酸の組み合わせと、組み合わせを同定するために必要な9個のSRMを示した。ポジティブモード(+)のプリカーサーイオン m/z 786.6はプロトン付加体。ネガティブモード(-)のプリカーサーイオン m/z 830.6はギ酸アダクト。

$C_{42}H_{76}NO_{10}P$, monoisotopic mass 785.5207, などが登録されている。質量分解能が5万を越えるような高精度質量分析計であればこれらのプリカーサーイオンを分離することができる。分解能が低い三連四重極型質量分析計でも、上記3種の isobaric な分子種は極性基が異なるため、極性基のプロダクトイオンを検出することで判別できる。脂肪酸の組み合わせを同定するためには上述のとおり脂肪酸由来のプロダクトイオンを検出する必要があり、これは高精度質量分析計でも三連四重極型でも同じである。極性基が同じでも isobaric なリン脂質は生じる。アシル基とアルケニル基の質量差16あるいはアルキル基との差14を二重結合の数で相殺されるパターンがあり、例えば、PC 36:7; $C_{44}H_{74}NO_8P$, monoisotopic mass 775.5152とPC 36:0; $C_{44}H_{90}NO_7P$, monoisotopic mass 775.6455, が挙げられる。このパターンの isobaric 成分の同定には、後述する逆相ク

ロマトグラフィーでの分離が有効である。

3. 高速SRMによるジアシルリン脂質分析手法の開発

3.1 ジアシルリン脂質のSRM設定と逆相クロマトグラフィー

筆者らは、逆相クロマトグラフィーとリン脂質構造に特異的なプロダクトイオンをSRMでモニターすることで、ジアシルリン脂質の脂肪酸組み合わせ異性体765成分を分析できるメソッドを開発した⁵⁾。まず、極性基については、PC, PE, PG, PI, PSの5種を考慮することとした。考慮する脂肪酸は、17種類に絞ることとした(図3)。ジアシルリン脂質の「総炭素数:総二重結合数」の種類が各極性基について64種となり、計320種のSRMを作成した。この320種のSRMは、プリカーサーイオンの m/z と極性基の脱離によるプロダクトイオンの m/z から成る。次に、

SRMで脂肪酸の組み合わせを決定するため、脂肪酸そのもののプロダクトイオンの m/z から成るSRMを作成した。例えば、PC 36:2について、脂肪酸のプロダクトイオンを含むSRMが9個必要となる(図3)。765成分に対して1445個のSRMが必要となり、極性基のプロダクトイオンのSRM(320個)と合わせ、計1765個のSRMを作成した。使用したTQ-MS(LCMS-8060, 島津製作所)は5ミリ秒で切り替えながらモニターできる。しかし、1765個のSRMを同時にモニターすると、秒速500個の高速SRMでも、ループ時間(1成分についてのプロット間隔)が3秒以上になる。クロマトグラフィーで得られるピーク幅は、半値幅で3秒程度であるため、ループ時間は1秒以内が望ましい。そこで、最初に極性基をモニターする320個のSRMで1度分析し、検出された成分について脂肪酸の組み合わせを決定するSRMを融合し、2回目の分析で脂肪酸の組み合わせを決める手法をとった。320個のSRM分析のループ時間は、極性切り替えを含めて0.65秒となる。脂肪酸決定用のSRMを融合した際にループ時間が1秒を超えるような場合は、メソッドを分割して測定することとした。

逆相系クロマトグラフィー条件について、カラムはPhenomenex社のコアシエルカラム(Kinetex™ C8)を用い、移動相Aに20 mMギ酸アンモニウム水溶液を、移動相Bにアセトニトリル:イソプロパノール=1:1を用いた。「二重結合の数の違い」による分離を良くするため、直線的なグラジエントではなく、カーブドグラジエントを用いた。リン脂質が溶出する付近においてできるだけ勾配を緩やかにすることで、同じ総炭素数のジアシルリン脂質について、二重結合が1個増えると溶出時間が0.5分から1分速くなることを確認した(図4)。リポドミクスにおいて、二重結合1個違いで生じる同位体の区別は難題である。図4の★印で示したピークは、PC 38:6とPC 38:4に対して+2の同位体が、それぞれPC 38:5とPC 38:3のSRMクロマトグラムで検出されていることを示している。PC 38:4のmonoisotopic massは809.6であり、この強度を100%としたときの+2の同位体存在比は約15%ある。図4では、PC 38:4の強度が強いため、PC 38:3よりもPC 38:4+2のピーク強度が大きく検出されており、ピークの

図4. 血清試料のSRMクロマトグラム。PC 38:1~PC 38:6について、極性基のプロダクトイオン m/z 184.1(+)をモニターした。★で示したピークは、二重結合が1個多い成分の+2の同位体が検出されたもの。

帰属を誤る可能性が高い。脂肪酸のプロダクトイオンを検出することで、このような誤同定を減らすことができる。さらに、二重結合差による分離度を良くすることで溶出時間を予想しやすくなり、より確度の高いピーク帰属が可能となる。前項で述べたPC 36:7とPC α -36:0については5分程度の保持時間差が生じると予測できる。筆者らは、同じ総炭素数のリン脂質について、ジアシル型よりアルケニル型(p -)の溶出時間のほうが遅いことを確認している。

3.2 マウス組織のリン脂質プロファイリング

本手法によりマウスの4つの組織(脳、脾臓、肺、肝臓)におけるリン脂質プロファイリングを行った。まず、極性基をモニターするSRMで分析し、検出された成分について脂肪酸同定用のSRMを融合したところ、970個のSRMが作成された(スフィンゴミエリン(SM)とリゾリン脂質のSRMも含む)。ループ時間が1秒を越えたため、メソッドをPCとSMの407個のSRMと、PE, PG, PIおよびPSの563個のSRMの2つに分けて分析した。計188成分のジアシルリン脂質を検出した。すべて脂肪酸の組み合わせ異性体を区別して同定しており、その内訳は、PCが88種、PEが63種、PGが10種、PIが18種、PSが9種であった(付属表1)。PE 36:5について、各組織で得られたSRMクロマトグラムを図5に示した。PE 16:1/20:4を13.0分に、PE 16:0/20:5を13.1分に検出した。肝臓組織の抽出液においては、PE 18:2/18:3が僅かながら検出された。極性基のニュートラルロスによるプロダクトイオンは両異性体で検出されるため、738.5>597.5(+)のSRMクロマトグラムにおいてはピークが分離しなかったが、脂肪酸のプロダクトイオンをモニターしたSRMクロマトグラムでは、アラキドン酸(20:4)とEPA(20:5)を含むピークが分離した(図5)。PE 16:0/18:3, PE 16:0/20:3, PE 16:1/20:3, PE 18:0/20:3, PE 18:1/20:3の5成分については、溶出時間の異なる2つのピークをそれぞれに検出した(付属表1)。これらは sn -1と sn -2が入れ替わったreverse isomerであると考えている。以上のように、極性基のプロダクトイオンと脂肪酸のプロダクトイオンをほぼ同時に検出することで、信頼性の高い同定が可能である。また、リン脂質に含まれるアラキドン酸やEPAの相対量を検体間において比較することも可能である。

Gazos-Lopesらは、高精度MSシステムにより1000以上の脂質成分を生体試料から検出した⁹⁾。このうちグリセロリン脂質が434成分検出され、ジアシルリン脂質は294成分同定されていた。isobaricな成分については、PC 18:1/18:2($C_{44}H_{82}NO_8P$, 783.5778)とPE p -18:1/22:1($C_{45}H_{86}NO_7P$, 783.6142)など、極性基が異なるパターンが同定された。このように、網羅性の高さが高精度MSシステムのメリットであるが、「脂肪酸組み合わせが決まったジアシルリン脂質」に限れば、上記文献では156成分が同定されており、筆者らが高速SRMで同定した成分数(188成分)より少なかった。これは、極性基のプロダクトイオンだけ検出でき、脂肪酸のプロダクトイオンは検出できなかったためと考えられる。分析した生体試料が異な

図5. マウスの組織（脳，脾臓，肺，肝臓）からの脂質抽出液について，PE 36:5の極性基のニュートラルロスによるSRMクロマトグラム >597.5 (+)と，脂肪酸組み合わせ同定に用いたSRMクロマトグラム >301 (20:5)， >255 (16:0)， >303 (20:4)， >253 (16:1)， >279 (18:2)， >277 (18:3)。

るため同定数だけで比較することはできないが，DDAよりもSRMの方が感度的に有利であり，低濃度でマイナーな脂肪酸組み合わせ異性体を同定できると考える。

3.3 リピドミクスにおける二重結合位置の解析

冒頭で挙げた脂質異性体に対して，上述の高速SRMによる分析手法で同定できる異性体は，脂肪酸の組み合わせの違いによる構造異性体までといえる．Orbital trap型のDDAにおいても，脂肪酸のプロダクトイオンが検出されない状況では，C-C結合の切断によるプロダクトイオンは検出されない．脂肪酸のプロダクトイオンが検出されている場合でも，二重結合位置の決定に至るほどの感度で検出できるケースは稀であると推測する。

脂質二重結合位置の同定が可能なフラグメンテーションとして，Paternò-Büchi反応 (PB反応)¹⁰⁾，EIEIO¹¹⁾，オゾン分解法¹²⁾，などが開発されている．PB反応は，二重結合位置をアセトンとの反応でラベル化し，CIDによるラベル化部位特異的な開裂を起こす手法である．アセトンとの反応はオンラインでUV照射することで行える．この手法により，リン脂質中のオレイン酸の二重結合の9位と11位の比を，正常とがんの組織において網羅的に解析した¹⁰⁾．EIEIOは二重結合位置に加え，シス・トランス異性体の区別にも応用されている¹¹⁾．イオンモビリティによる二重結合とシス・トランス異性体の区別は，リピドミクスのスループットを落とさずに情報が得られる点で魅力的である¹²⁾．高橋らは，水素引き抜き開裂Hydrogen abstraction dissociation (HAD)を開発し，脂肪酸の二重結合位置を決めた例を報告している¹³⁾．HADは，1価のイオンについてフラグメンテーションが行えるため，脂質分子の解析に有効である。

このように，脂質二重結合位置の解析は，リピドミクスの新しい切り口として急展開している。

4. ま と め

本稿では，高速SRMによるワイドターゲットリピドミクスにより，脂質異性体とisobaric成分がどの程度分析できるのかを，ジアシルリン脂質にフォーカスして解説した．脂肪酸組み合わせ異性体の同定については，高精度MSシステムと比較して，SRMのほうが深彫りして同定できることを示した．isobaric成分については，脂質分子で生じる2つのパターンを示し，これらはSRMでも分離・同定がおおむね可能であることを示した．上述のジアシルリン脂質と同じクロマトグラフィー条件で，コレステリルエステルやトリアシルグリセロールを高速SRMでモニターする手法を検討した血清あるいは全血からChEが11成分，TAGに関しては26成分について脂肪酸の組み合わせを同定した¹⁴⁾．今後，ジアシルグリセロールやセラミドなど著者が未開発の脂質成分について，ターゲットを拡大したいと考えている。

LIPID MAPSに登録されているリン脂質の異性体を見ると，半数以上は二重結合位置とシス・トランス異性体である．今後，二重結合位置解析手法の開発と生体試料の解析が進み，その生理学的意義が解明されていだろう。

本稿で垣間見たように，脂質の種類は多様である．生物はこの多様な脂質分子を巧妙に操り，生命維持に利用している．一方，そのバランスが崩れて脂質異常が生じると，各種疾患の原因となる．リピドミクスの手法がさらに発展し，生命現象を紐解き，疾患メカニズムの解明や創薬研究の一助となることを期待する。

謝 辞 東京大学リポミクス社会連携講座の徳岡涼美先生、北芳博先生より、高速SRMによるリン脂質の分析法開発において多くのご助言を賜り、また、マウス組織からの脂質抽出液をご提供いただきました。この場をお借りしまして御礼申し上げます。

文 献

- 1) T. Cajka and O. Fiehn, *Trends Analyt. Chem.*, **61**, 192 (2015).
- 2) B. S. Breitkopf, *et al.*, *Metabolomics*, **13**(3), 30 (2017).
- 3) H. Tsugawa, *et al.*, *Anal. Chem.*, **85**, 5191 (2013).
- 4) H. Takeda, *et al.*, *J. Lipid Res.*, **59**, 1283 (2018).
- 5) T. Nakanishi, *et al.*, WP-526, 64th Annual Meeting of the American Society for Mass Spectrometry Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (2016).
- 6) M. Yamada and T. Nakanishi, MP-422, 65th Annual Meeting of the American Society for Mass Spectrometry Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (2017).
- 7) R. Taguchi, *et al.*, *J. Mass Spectrom.*, **35**, 953 (2000).
- 8) S. H. J. Brown, *et al.*, *PLOS ONE*, DOI:10.1371/journal.pone.0163972 (2016).
- 9) F. Gazos-Lopes, *et al.*, *PLOS Pathogen*, **13**(12), e1006800 (2017).
- 10) X. Ma, *et al.*, *PNAS*, **113**, 2573 (2016).
- 11) T. Baba, *et al.*, *J. Lipid Res.*, **57**, 2015 (2016).
- 12) B. L. J. Poad, *et al.*, *Anal. Chem.*, **90**, 1292 (2018).
- 13) H. Takahashi, *et al.*, *Anal. Chem.*, **90**, 7230 (2018).
- 14) M. Yamada and T. Nakanishi, ThP-540, 66th Annual Meeting of the American Society for Mass Spectrometry Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (2018).

Keywords: lipidomics, SRM, isomer identification

高速SRMによるジアシルリン脂質の分析手法の開発と異性体分析について

付属表1. マウス組織から検出されたジアシルリン脂質とピーク強度（高さ）。ピーク高さはマウス5匹のデータの平均値（ $n=5$ ）。NDは非検出。

	Brain	Spleen	Lung	Liver		Brain	Spleen	Lung	Liver		Brain	Spleen	Lung	Liver			
1	PC (28:0_14:0/14:0)	604	1687	10852	ND	1	PE (32:0-16:0/16:0)	8472	45552	20596	5341	1	PG (32:0-16:0/16:0)	39670	7019	760394	3737
2	PC (30:0_14:0/16:0)	30295	55379	246984	4698	2	PE (32:1-16:0/16:1)	6262	7382	17968	14486	2	PG (32:1-14:0/18:1)	ND	ND	2811	ND
3	PC (30:1_14:0/16:1)	ND	2035	11785	1010	3	PE (32:2-14:0/18:2)	ND	761	1460	850	3	PG (32:1-16:0/16:1)	ND	ND	61669	2069
4	PC (32:0_14:0/18:0)	6420	3382	3338	ND	4	PE (32:2-14:1/18:1)	950	2575	1300	500	4	PG (34:1-16:0/18:1)	65448	36431	315103	61644
5	PC (32:0_16:0/16:0)	1775896	1277887	2672019	217861	5	PE (34:1-16:0/18:1)	228147	72382	102069	72454	5	PG (34:2-16:0/18:2)	ND	3527	260079	17170
6	PC (32:1_14:0/18:1)	6571	10009	7206	3050	6	PE (34:1-16:1/18:0)	16155	11514	14526	16980	6	PG (34:2-16:1/18:1)	998	650	7359	1167
7	PC (32:1_16:0/16:1)	61790	72980	385432	46018	7	PE (34:2-16:0/18:2)	9850	65984	88043	330269	7	PG (36:4-16:0/20:4)	9376	1734	58208	ND
8	PC (32:2_14:0/18:2)	ND	6307	4949	5113	8	PE (34:2-16:1/18:1)	19648	4679	12834	18954	8	PG (38:5-18:1/20:4)	2343	ND	2264	ND
9	PC (32:2_16:1/16:1)	1230	3730	22568	10255	9	PE (34:3-16:0/18:3) sn2	ND	633	1201	3471	9	PG (38:6-16:0/22:6)	1789	ND	54464	666
10	PC (34:0_16:0/18:0)	287852	73134	81094	12438	10	PE (34:3-16:0/18:3) sn1	ND	400	667	4061	10	PG (38:6-18:2/20:4)	ND	12785	3177	1451
11	PC (34:1_14:0/20:1)	533	871	ND	ND	11	PE (36:1-16:0/20:1)	22168	6446	10333	8139						
12	PC (34:1_16:0/18:1)	1411372	325606	351410	400864	12	PE (36:1-18:0/18:1)	292041	69561	122635	31773						
13	PC (34:1_16:1/18:0)	19856	7784	18096	12542	13	PE (36:2-18:0/18:2)	15807	127066	92624	328608						
14	PC (34:2_14:0/20:2)	ND	890	ND	ND	14	PE (36:2-18:1/18:1)	1155121	112112	173236	102347						
15	PC (34:2_16:0/18:2)	53566	216256	280453	762767	15	PE (36:3-16:0/20:3) sn2	8974	8361	10322	46742						
16	PC (34:2_16:1/18:1)	16561	13603	16113	33991	16	PE (36:3-16:0/20:3) sn1	14071	32107	37734	136130						
17	PC (34:3_14:0/20:3)	ND	722	ND	ND	17	PE (36:3-18:0/18:3)	ND	900	ND	1500						
18	PC (34:3_16:0/18:3)	1202	2874	8579	34944	18	PE (36:3-18:1/18:2)	19408	40183	54924	241877						
19	PC (34:3_16:1/18:2)	675	18936	21082	136788	19	PE (36:4-16:0/20:4)	165376	125919	149719	645055						
20	PC (34:4_14:0/20:4)	ND	1629	713	2012	20	PE (36:4-16:1/20:3) sn2	ND	ND	ND	2801						
21	PC (36:0_16:0/20:0)	1245	1340	1327	ND	21	PE (36:4-16:1/20:3) sn1	ND	1400	2451	8469						
22	PC (36:1_16:0/20:1)	107561	23944	16152	4849	22	PE (36:4-18:1/18:3)	974	600	931	2267						
23	PC (36:1_18:0/18:1)	296025	28675	52153	60336	23	PE (36:4-18:2/18:2)	975	22457	17301	87275						
24	PC (36:2_16:0/20:2)	15813	35771	33195	32207	24	PE (36:5-16:0/20:5)	1920	3879	14227	51505						
25	PC (36:2_16:1/20:1)	1983	618	ND	572	25	PE (36:5-16:1/20:4)	6301	2901	5561	40221						
26	PC (36:2_18:0/18:2)	36223	197084	207542	1018576	26	PE (36:5-18:2/18:3)	ND	598	ND	4621						
27	PC (36:2_18:1/18:1)	313904	80253	67645	170612	27	PE (36:6-14:0/22:6)	950	ND	ND	1580						
28	PC (36:3_16:0/20:3)	26669	24246	27277	109994	28	PE (36:6-16:1/20:5)	ND	ND	ND	2100						
29	PC (36:3_16:1/20:2)	ND	1143	ND	630	29	PE (38:1-16:0/22:1)	12807	3443	3105	1054						
30	PC (36:3_18:0/18:3)	ND	883	2378	5558	30	PE (38:1-18:0/20:1)	56134	7418	12950	17056						
31	PC (36:3_18:1/18:2)	10617	57177	38986	198996	31	PE (38:1-18:1/20:0)	142039	12645	23989	24039						
32	PC (36:4_16:0/20:4)	216201	160725	141606	427630	32	PE (38:2-18:0/20:2)	10730	21926	16429	11573						
33	PC (36:4_16:1/20:3)	400	1664	ND	3634	33	PE (38:2-18:1/20:1)	118758	10466	12982	25577						
34	PC (36:4_18:1/18:3)	ND	ND	ND	4404	34	PE (38:2-18:2/20:0)	2491	8078	8913	26662						
35	PC (36:4_18:2/18:2)	3040	52271	27666	193148	35	PE (38:3-18:0/20:3) sn2	76982	39951	30758	95900						
36	PC (36:5_16:0/20:5)	1825	7347	12556	50733	36	PE (38:3-18:0/20:3) sn1	98857	141131	134699	219820						
37	PC (36:5_16:1/20:4)	2056	4916	3100	15908	37	PE (38:3-18:1/20:2)	4745	12097	7208	11240						
38	PC (36:5_18:2/18:3)	ND	1059	ND	13865	38	PE (38:3-18:2/20:1)	1991	7781	4849	33655						
39	PC (36:6_14:0/22:6)	327	ND	1034	1603	39	PE (38:4-18:0/20:4)	1239252	680180	448103	1830661						
40	PC (36:6_16:1/20:5)	ND	ND	ND	1682	40	PE (38:4-18:1/20:3) sn2	12185	5066	4151	25894						
41	PC (38:1_16:0/22:1)	2751	1953	2057	ND	41	PE (38:4-18:1/20:3) sn1	26813	21493	23574	113391						
42	PC (38:1_18:0/20:1)	30756	1425	3691	2653	42	PE (38:4-18:2/20:2)	ND	10746	1935	9534						
43	PC (38:1_18:1/20:0)	14079	1001	1064	2004	43	PE (38:5-18:0/20:5)	2902	10746	8453	95011						
44	PC (38:2_18:0/20:2)	5991	7071	9277	12757	44	PE (38:5-18:1/20:4)	227742	94001	73176	520606						
45	PC (38:2_18:1/20:1)	37639	7227	4585	7431	45	PE (38:5-18:2/20:3)	ND	2431	2400	7689						
46	PC (38:2_18:2/20:0)	1046	1211	1560	23199	46	PE (38:6-16:0/22:6)	509213	138477	177324	1226000						
47	PC (38:3_18:0/20:3)	25095	31310	45153	186692	47	PE (38:6-18:1/20:5)	3881	3781	4521	40533						
48	PC (38:3_18:1/20:2)	4045	7968	4032	4521	48	PE (38:6-18:2/20:4)	4841	13138	11524	28412						
49	PC (38:3_18:2/20:1)	1455	10732	4494	36203	49	PE (38:7-16:1/22:6)	5021	2165	4795	38901						
50	PC (38:4_18:0/20:4)	300499	218649	153344	500173	50	PE (38:7-18:2/20:5)	ND	ND	ND	3821						
51	PC (38:4_18:1/20:3)	6676	14488	13195	60344	51	PE (38:7-18:3/20:4)	ND	ND	ND	4565						
52	PC (38:4_18:2/20:2)	ND	15275	3542	14245	52	PE (40:2-18:1/22:1)	11149	3734	9972	4154						
53	PC (38:5_18:0/20:5)	705	5027	3881	24001	53	PE (40:2-20:0/20:2)	ND	ND	ND	1546						
54	PC (38:5_18:1/20:4)	127645	90683	31957	214402	54	PE (40:2-20:1/20:1)	15758	1420	1075	2385						
55	PC (38:5_18:2/20:3)	714	3911	1676	12814	55	PE (40:4-20:0/20:4)	4201	1880	3641	30043						
56	PC (38:6_16:0/22:6)	208905	44192	108156	623998	56	PE (40:5-20:1/20:4)	12826	9503	4801	33035						
57	PC (38:6_18:1/20:5)	596	3523	1638	16379	57	PE (40:6-18:0/22:6)	2475824	310552	226066	746232						
58	PC (38:6_18:2/20:4)	4747	33960	14258	94739	58	PE (40:6-20:1/20:5)	10284	1660	1750	3161						
59	PC (38:7_16:1/22:6)	ND	737	2219	18528	59	PE (40:7-18:1/22:6)	164803	71367	76026	405818						
60	PC (38:7_18:2/20:5)	ND	676	ND	7289	60	PE (40:8-18:2/22:6)	6233	15383	10528	24131						
61	PC (38:7_18:3/20:4)	ND	ND	ND	1782	61	PE (40:8-20:4/20:4)	4341	4441	13185	7762						
62	PC (40:1_18:1/22:0)	9877	408	949	ND	62	PE (42:4-20:4/22:0)	1155	2453	6155	2634						
63	PC (40:2_18:1/22:1)	9623	895	1187	ND	63	PE (42:5-20:4/22:1)	1625	4103	11945	4190						
64	PC (40:2_20:1/20:1)	3119	ND	ND	ND	64	PE (42:6-20:0/22:6)	2449	1025	1499	7182						
65	PC (40:3_18:2/22:1)	365	891	1031	1461	65	PE (42:7-20:1/22:6)	13922	4661	3832	15904						
66	PC (40:3_20:0/20:3)	ND	ND	ND	3000	66	PE (42:8-20:2/22:6)	2683	5379	2425	3841						
67	PC (40:4_20:0/20:4)	2377	2332	1626	10027	67	PE (42:10-20:4/22:6)	17022	9895	8730	14385						
68	PC (40:4_20:1/20:3)	904	2643	1116	5307	68	PE (44:12-22:6/22:6)	68033	5245	3385	5148						
69	PC (40:5_20:1/20:4)	9375	14935	4505	13579												
70	PC (40:5_20:2/20:3)	ND	3547	758	2566												
71	PC (40:6_18:0/22:6)	157633	19803	28578	162976												
72	PC (40:6_20:1/20:5)	ND	ND	ND	771												
73	PC (40:6_20:2/20:4)	1283	18239	3257	4369												
74	PC (40:6_20:3/20:3)	ND	450	ND	1853												
75	PC (40:7_18:1/22:6)	55751	8409	5749	87167												
76	PC (40:7_20:3/20:4)	1754	2230	1396	5610												
77	PC (40:8_18:2/22:6)	1549	5702	5988													