

29amL-010

高性能先端分析法と質量分析計を組み合わせたタンパク結合分析システムの条件検討

○稲垣 万里菜¹, 大高 泰靖¹, 杉本 幹治¹, 澁川 明正¹(¹千葉科学大薬)

【目的】高性能先端分析 (HPFA) 法は HPLC システムを利用する薬物 - 血漿タンパク結合分析法であり、検出器として質量分析器 (MS) を組み合わせることで、より高感度な測定が可能となる。しかし、移動相条件に制限があるため、保持時間は HPFA 用カラムサイズや移動相流速を変化させることで調整する。本研究では、定量性向上のための検量線作成条件の改善と、HPFA 用カラムの短縮化による測定濃度領域への影響について検討した。【方法】ヒト血清アルブミン (HSA) と phenylbutazone (PB) の混合試料 (pH7.4) をモデル試料として使用した。HPFA 用カラム Develosil 100Diol-5 (8.0 i.d. × 100mm, NOMURA CHEMICAL Co. Ltd.), ODS 濃縮カラム (4.0 i.d. × 10mm, 自製)、分析カラム Cosmosil packed column 5C18-MS-II (2.0 i.d. × 150mm, Nacalai Tesque Inc.) を 2 つのスイッチングバルブで連結した HPLC システムに、四重極型 MS 4000QTRAP (AB Sciex Pte. Ltd.) を接続した。HPFA カラムから溶出されたプラトー状の薬物ピークをハートカットし、濃縮カラムで濃縮後、分析カラムに溶出して定量を行った。このプラトー部の薬物濃度は試料中の非結合型薬物濃度に等しい。HPFA カラム用移動相はリン酸緩衝液 (pH7.4, I=0.17)、分析カラム用移動相は 70% MeOH (1%酢酸) 溶液を用い、カラム温度は 37°C に設定した。定量は MS/MS による親イオン選別後の娘イオン検出を行った。検量線はオートサンプラーを用いた自動プログラム運転を行い、毎週作成した。【結果】検量線作成の自動化により、PB 2.02pmol ~ 717pmol の範囲で高精度な検量線が得られた。また、HPFA カラムの短縮化により、混合試料の PB が 500 μM と高濃度の場合でもプラトーピークが観察され、広範囲の試料濃度領域で薬物 - 血漿タンパク結合の高感度分析が可能であることが示された。