

# 28P-pm05

タンパク質認証標準物質開発のための新規アミノ酸分析

○坂口 洋平<sup>1</sup>, 絹見 朋也<sup>1</sup>, 高津 章子<sup>1</sup>(<sup>1</sup>産総研・計測標準)

【目的】近年、臨床検査分野において、測定結果が測定機器や臨床検査薬、検査機関によらない結果を得られるよう、認証標準物質(CRM)の開発が求められている。タンパク質を対象とした臨床検査も例外でなく、各国の計量標準機関において、タンパク質のCRM開発に注力している。タンパク質CRM開発に際し、標準物質の濃度を値付けする測定技術として、安定同位体標識希釈質量分析法とアミノ酸分析法を組み合わせた手法が用いられている。しかし、より正確な濃度を求めるには高精度な測定法、また低濃度タンパク質を値付けするには高感度な測定法が必要とされる。そこで本研究では、アミノ酸分析の高感度化及び高精度化を目的とする、新規誘導体化 LC-MS 法について検討した。

【方法】加水分解: 試料に対し、安定同位体標識アミノ酸、濃塩酸を加え Microwave 加熱による加水分解を行い、加水分解後、蒸発乾固した。誘導体化法: 得られた試料を CH<sub>3</sub>CN で溶解し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、18-crown-6 及び 1-bromobutane を加え、加熱し、反応後蒸発乾固し、水により再溶解した。LC 条件: カラムは Capcell pack C<sub>18</sub> ACR (150×2.0 mm I.D., SHISEIDO) を使用し、水-CH<sub>3</sub>CN-CH<sub>3</sub>COOH の混液によるグラジエント溶離(0.2 mL/min, 40°C)を行った。MS/MS 条件: 装置はタンデム四重極型 MS(Quattro Ultima, Waters) を用い、ESI ポジティブ検出を行い、MRM モードで測定した。

【結果・考察】本誘導体化法により、アミノ酸のアミノ基及びカルボキシル基がアルキル化され、逆相カラムによる保持・分離の改善、MS に対する応答性の向上が確認された。従来の誘導体化法と比べ、容易に試薬の除去が可能であり、簡便な操作かつ複雑な LC 条件を必要としないため、高精度な測定が期待できる。現在、既存のタンパク質 CRM 濃度測定に適用中であり、この結果について本会にて報告する。