

# 26W-pm06

新規パークル型光学分割カラムのマイクロ化とキラルアミノ酸の高感度分析  
○前田 佑樹<sup>1</sup>, 鬼ヶ原 弘久<sup>1</sup>, 三次 百合香<sup>1</sup>, 門田 靖彦<sup>2</sup>, 西尾 康弘<sup>2</sup>, 三田 真史<sup>3</sup>,  
浜瀬 健司<sup>1</sup> (<sup>1</sup>九大院薬, <sup>2</sup>資生堂医理化テクノロジー, <sup>3</sup>資生堂)

【目的】分析技術の進歩により、ヒトを含む高等動物にも D-アミノ酸の存在が確認され、生理機能や疾患との関連が明らかにされている。しかし哺乳類体内における D-アミノ酸含量は極めて微量であり、更なる高感度キラルアミノ酸分析法が切望されている。我々は全タンパク質構成アミノ酸の光学分割を可能とする新規パークル型キラル固定相として KSAACSP-001S を開発しており、本固定相はキラルアミノ酸メボロミクスの強力なツールである。そこで本研究では KSAACSP-001S のマイクロ化を行い、キラルアミノ酸の分離および検出感度を評価した。

【実験】N-(3,5-Dinitrophenylaminocarbonyl)-L-leucine を粒径 5  $\mu\text{m}$  のアミノプロピルシリカに結合させ、内径 1.5 または 1.0 mm、全長 250 mm のステンレス管に充填した。アミノ酸は 4-Fluoro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F)により誘導体化し、検出は励起波長 470 nm、蛍光波長 530 nm で行った。

【結果・考察】分析対象として Ala、Glu、Phe、Pro および Ser を用い、両カラムにおける NBD 誘導体の光学分割を検討した。その結果、移動相の線流速を同一としてほぼ同等の保持と分離が得られ、いずれのアミノ酸も 25 分以内で分離係数 1.1 以上の良好な光学分割を達成した。また内径 1.0 mm のカラムにおける検出限界は Ala、Glu が約 500amol、Phe、Pro、Ser が約 1 fmol であり、1.5 mm のカラムにおける結果と比較して約 2 倍高感度であった。カラム作製における再現性を N=5 で確認した結果、保持時間の相対標準偏差は約 5%、分離係数の相対標準偏差は 1%以下であった。以上の結果は、キラルアミノ酸の高感度分析を可能にする高性能なマイクロ光学分割カラムが再現的に作製できることを示しており、今後は本マイクロカラムの臨床試料への適用が期待される。