

医療・生命 先天性代謝異常症の診断にも有用な低コストのアミノ酸分析システム

アミノ酸は生体の構成要素の一つであるので、その分析は臨床分析や食品分析など多くの分野で重要視されている。アミノ酸の分離定量には、従来高価なアミノ酸分析計が利用されていた。本研究では、新たに低交換容量の陽イオンカラムを調製し、これを用いた低コストのアミノ酸分析計を作製して、目的としたアミノ酸の分離定量ができるようにした。この方法は、クレアチニンも同時に測定できる利点があるので、フェニルケトン尿症などの先天性代謝異常症の診断に有用と考えられる。

【2D05】 パーマネントコーティング陽イオン交換クロマトグラフィーによる尿中有機陽イオンのUV検出定量

(横浜国大工) 横山幸男・高橋朋子・佐藤寿邦

アミノ酸の分析は、臨床化学や食品化学など幅広い分野で日常的に行われており、陽イオン交換クロマトグラフィー/ポストカラム誘導体化蛍光検出法が一般的であるが、複雑な溶離液のプログラミングが要求されることなどから、専用のアミノ酸分析計として市販され、また、高価でもある。アミノ酸を定量する目的は多岐にわたり、場合によって必ずしも全アミノ酸を分離し高感度に検出する必要はないと考えられる。最近では、種々の分析法のダウンサイズ化が望まれていることから、我々は、汎用の液体クロマトグラフィー/多波長UV検出システムと、低交換容量の陽イオン交換カラムを用いて、目的を限定した低コストのアミノ酸分析システムを開発した。

市販の無機陽イオン分離用のカラムは、アミノ酸の分離には適していないので、市販のODSシリカ逆相カラムにヘキサデシルスルホン酸塩を吸着させて調製した低交換容量の陽イオン交換カラムを用いた。5mM エチレンジアミン-15mM リン酸 (pH2.5) を溶離液とし、UV感度の高いアミノ酸やクレアチニンなどの有機陽イオンを分析対象とした。なお、廃液となる溶離液濃度は、アミノ酸分析計で使われるものに比べて1/10以下なので、環境にやさしいといえる。今回検討した10種の目的化合物の相互分離は良好で、保持時間の変動係数は2%以内、ピーク面積値のそれは4%以内で、パーマネントコート型のカラムでも溶離条件が一定なら、長期間安定に使えることを示した。定量可能範囲は、0.2 ~ 1000 μ M ないし 0.5 ~ 2000 μ M で、検出感度も十分と考えられる。

フェニルケトン尿症 (PKU) などの先天性代謝異常症は、アミノ酸や有機酸など尿中代謝物を分析することによって、化学診断が行われている。尿の濃度はばらつきが大きいので、測定された代謝物の濃度を尿中クレアチニンの濃度で補正する必要があり、一般には、別法でクレアチニンを測定して用いられる。一方、本法では、目的代謝物とクレアチニンを同時に定量できる利点がある。何種類かのPKU尿を測定したところ、いずれも高い濃度のフェニルアラニン(診断対象アミノ酸)が検出・定量され、クレアチニンとの濃度比は0.167 ~ 0.623mM / mM となり、正常尿のそれと比べて、30倍以上の高値を示した。タイロシネミアでも同様に、タイロシン/クレアチニン比は、正常の10倍程度の高値を示し、Lowe症候群では、フェニルアラニン、タイロシン、3-メチノレヒスチジンなどが高値を示した。これらの検出成分は、保持時間とUV吸収スペクトルにより同定され、結果の信頼性は十分と考えられる。単純な装置構成と溶離系を用いた本法は、先天性代謝異常症の化学診断などに利用することも可能な、実用的な方法と考えられる。