

Application News

No. C92

LC/MS
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

LCMS-8040 を用いた 血漿中のホモシステインの測定

Measurement of Homocysteine in Plasma with LCMS-8040

メチオニンに関わる代謝経路においてメチオニン合成酵素、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素などの活性を測定する場合、ホモシステインが指標となりえます (Fig. 1)。

ここでは、Meyer Children's Hospital, Mass Spectrometry, Clinical Chemistry and Pharmacology Lab. (Florence, Italy) で実際に使用されているプロトコルを使用し、高速液体クロマトグラフ-トリプル四重極型質量分析計 LCMS-8040 でホモシステインの測定を行った例をご紹介します。

T. Tanigawa

■ サンプルの前処理および測定条件

Sample Preparation and Analytical Condition

血漿をサンプルとして、Fig. 2 に示した前処理方法にしたがって、サンプル抽出を行いました。また、Table 1 に LC および MS 条件を示しました。ホモシステインを対象化合物とし、内部標準試料として d8-homocysteine を使用して、MRM (Multiple Reaction Monitoring) 測定を行いました。

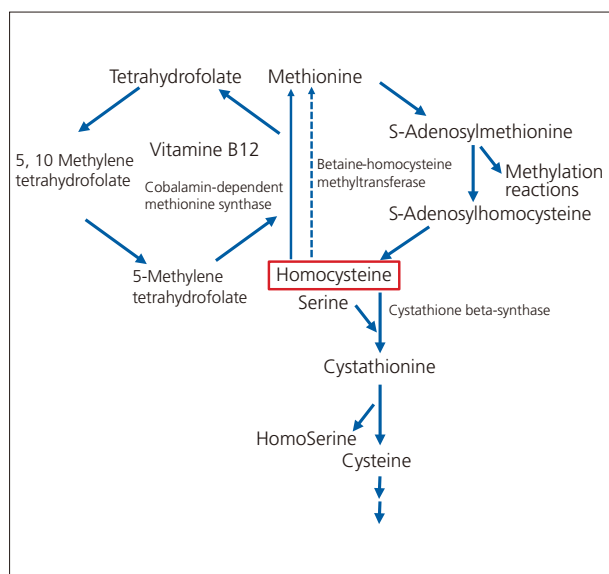


Fig. 1 代謝経路
Metabolic Pathway

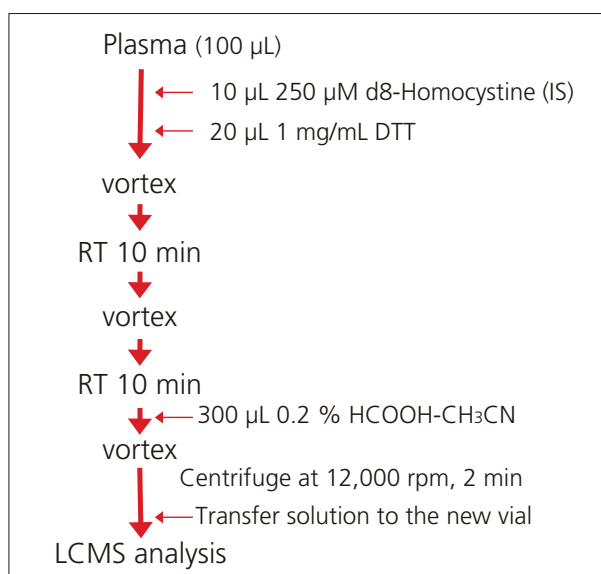


Fig. 2 前処理プロトコル
Preparation Protocol

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: SUPELCO SIL LC-CN (33 mm L. x 3.0 mm I.D., 3 µm)	Ionization Mode	: ESI (+)
Mobile Phase A	: 0.1 % HCOOH-H ₂ O	Probe Voltage	: +4.5 kV
Mobile Phase B	: CH ₃ CN	Nebulizing Gas Flow	: 3.0 L/min
Ratio	: 70 %B	Drying Gas Flow	: 15.0 L/min
Flow Rate	: 0.45 mL/min	DL Temperature	: 200 °C
Column Temperature	: 30 °C	Block Heater Temperature	: 350 °C
Injection Volume	: 1 µL	MRM	: Homocysteine (135.8 > 90.1) d4-Homocysteine (IS) (139.8 > 94.1)
Analysis Time	: 5 min		

■測定結果

Analysis Results

Fig. 2 に測定結果を示しました。Sample はメチオニン合成酵素もしくはメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素の活性を有しないサンプルです。Control はそれらの酵素活性を有するサンプルです。Positive Control はあらかじめホモシスチン

を添加した血漿を使用しました。測定の結果、Sample においてホモシスチンのピークが特異的に検出されました。この分析系により酵素活性の確認を行う事が可能となります。

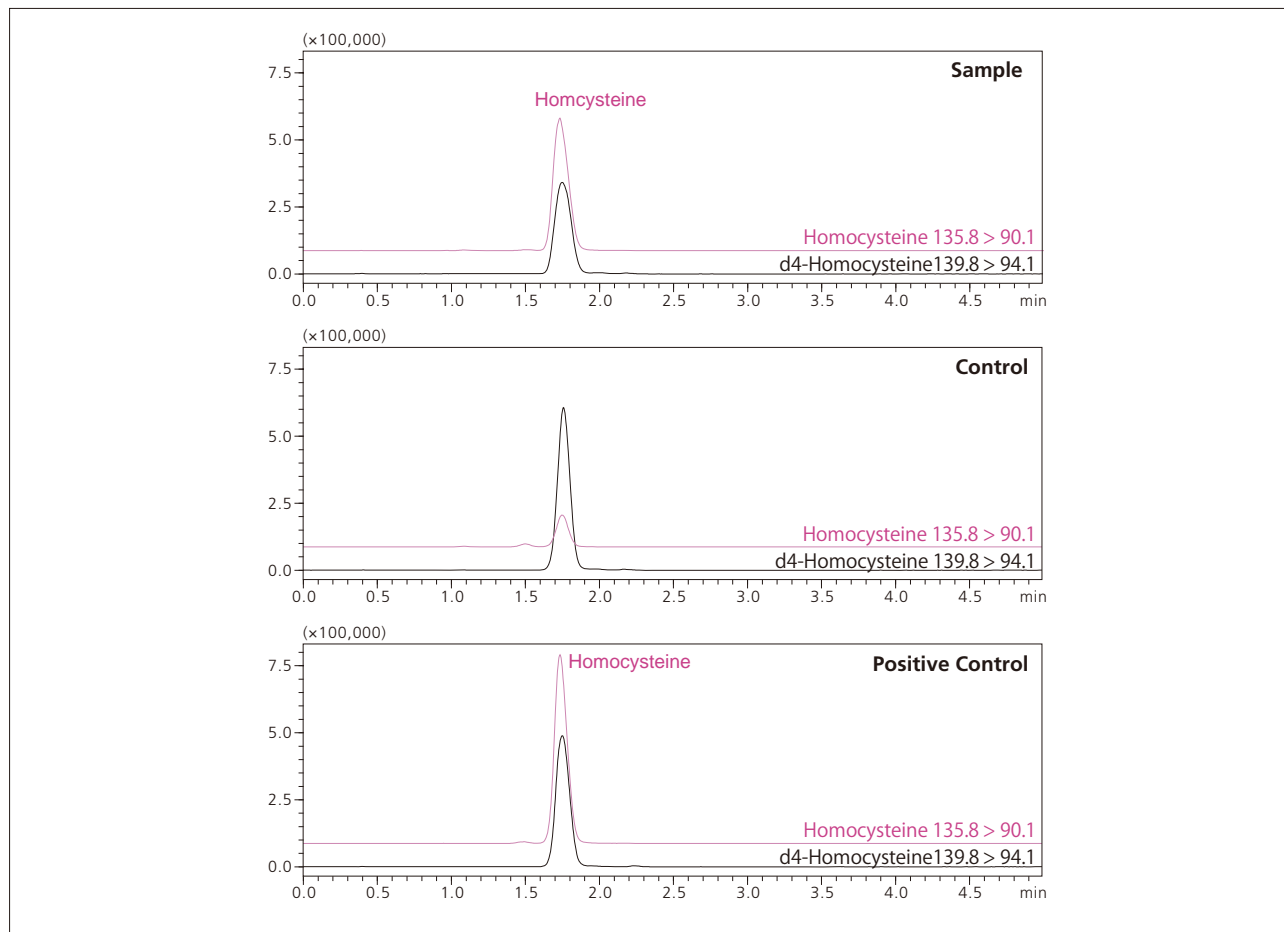


Fig.3 各対象化合物の抽出イオンクロマトグラム
Extract Ion Chromatograms of Each Target Compounds

[参考文献]

la Marca G, et al. Progress in expanded newborn screening for metabolic conditions by LC-MS/MS in Tuscany: Update on methods to reduce false positive. JIMD Short report #127 (2008)
J. Magera M, et al, Method for the determination of total homocysteine in plasma and urine by stable isotope dilution and electrospray tandem mass spectrometry. Clinical Chemistry 45:9 (1999) 1517-1522

[謝辞]

本アプリケーションニュースは、Dr. G. la Marca (Meyer Children's Hospital, Mass Spectrometry, Clinical Chemistry and Pharmacology Lab., Florence, Italy) のご指導と試料提供のもと作成いたしました。深く感謝申し上げます。

注：本システムの使用は研究用途に限ります。臨床診断目的での使用はできません。

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

初版発行：2014年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075)813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。

3100-03401-525-1K
2014.3