

全自動前処理 LC-MS/MS システムを用いた 血漿中のミコフェノール酸および代謝物の分析

LC-MS/MS による生体試料中の薬物分析では固相抽出や液-液抽出といった抽出操作を伴うケースがあり、試料濃縮や適切な溶媒による再調製といった煩雑な作業を伴います。また、これらの操作は時間を要するだけでなく、手技に由来する変動の要因になり得るといった課題もあります。

本報では、血漿中のミコフェノール酸 (MPA) およびグルクロン酸抱合体 (MPA-G) について、全自動 LCMS 前処理装置 CLAM™-2000 および高速液体クロマトグラフ質量分析計からなる全自動前処理 LC-MS/MS システムを用いて、多検体の高感度かつ全自動分析を実現した研究成果をご紹介します。

E. Imoto, D. Kawakami, T. Tsukamoto, T. Minohata

■ LC-MS/MS 用免疫抑制剤 (ミコフェノール酸) 分析キット DOSIMYCO™

血漿中の MPA および MPA-G の測定にあたっては、LC-MS/MS 用免疫抑制剤 (ミコフェノール酸) 分析キット DOSIMYCO を使用しました。

CLAM-2000 にセットした血漿試料は、抽出液を用いて除タンパクしたのち、フィルターろ過され、LC-MS/MS 部へ搬送されて分析に供されます。これらの一連のプロセスは全自動で行われ、手技による介入は発生しません。

LC-MS/MS へ注入した分析試料は DOSIMYCO キット付属のトラップカラムを用いてトラップした後、同様に付属の分析カラムにて分離します。(図 2)

Sample preparation for CLAM-2000

1. Take 20 μ L of IPA/H₂O(75/25) to sample cup
2. Add 10 μ L of samples/calibrators/controls
3. Add 180 μ L of Extraction buffer
4. Add 10 μ L of Internal Standard
5. Shake in 1 min at 1,900 rpm
6. Filtrate in 1 min

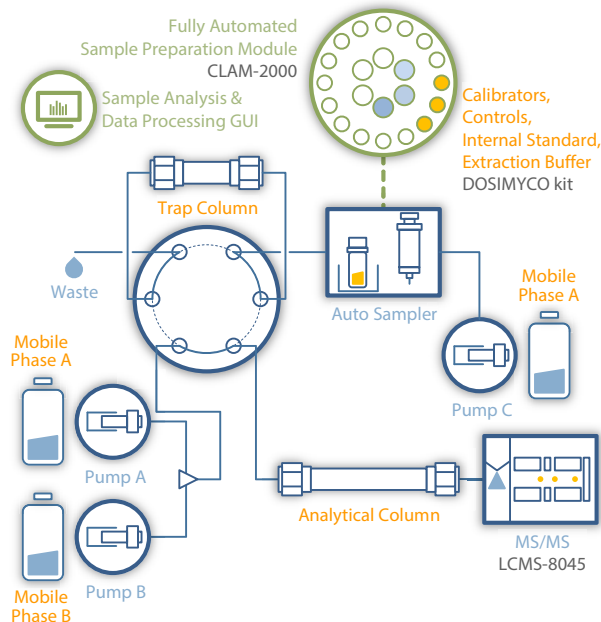


図 2 CLAM-2000 および LC-MS/MS による DOSIMYCO 分析の模式図

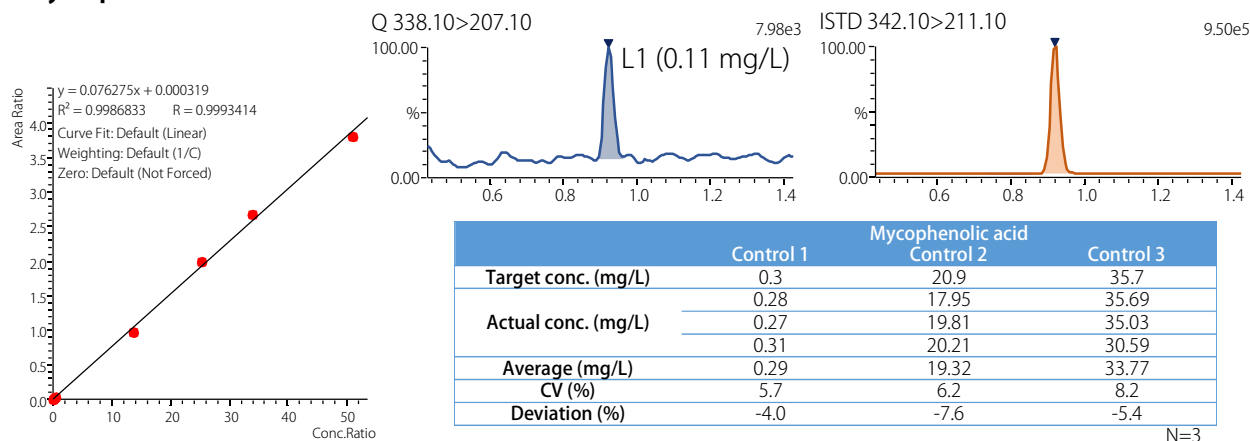


図 1 CLAM™-2000 - LC-MS/MS システム

■ 分析結果

DOSIMYCO キット付属の検量線試料および既知濃度のミコフェノール酸およびグルクロン酸抱合体を添加したコントロール血漿を用いて、全自動前処理 LC-MS/MS システムによる測定系の評価を行いました。検量線範囲 (ミコフェノール酸 0.1 – 50 mg/L、グルクロン酸抱合体 1 – 250 mg/L) にて、寄与率 $r^2 > 0.99$ となりました。コントロール試料の再現性 (N=3) はいずれも 15%以下と良好でした。(図 3)

■ Mycophenolic acid



■ Mycophenolic acid β-D-glucuronide

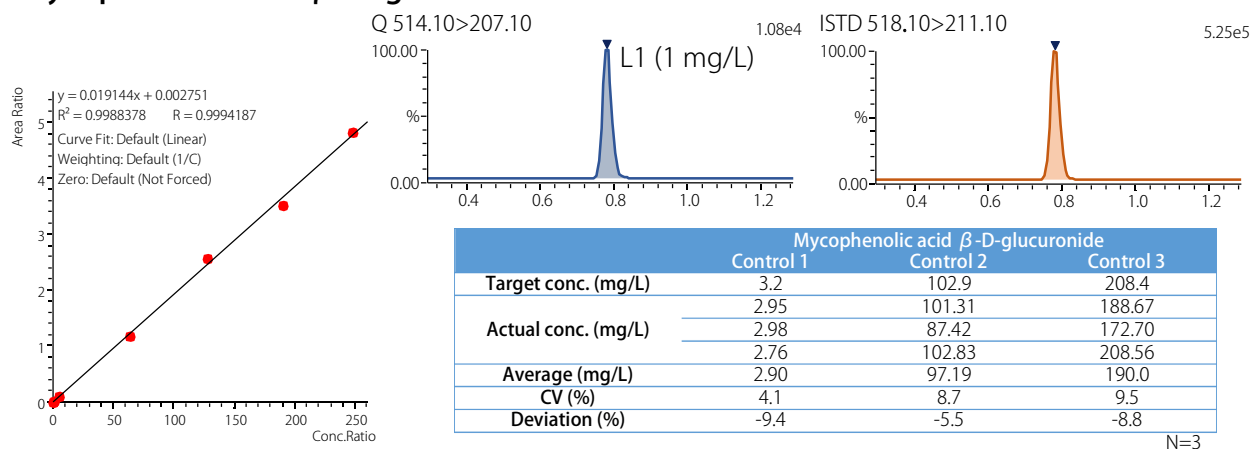


図3 ミコフェノール酸およびグルクロン酸抱合体の検量線、MRM クロマトグラム (L1: 検量線下限および内部標準物質) およびコントロール試料 (Control 1~3) の分析結果

■ まとめ

全自動前処理 LC-MS/MS システムおよび DOSIMYCO を用いたミコフェノール酸および代謝物分析では、手技に伴う誤差を排除でき、多数検体の連続測定において良好な正確さおよび精度が期待できることが示唆されました。

表1 分析条件

System	: CLAM-2000 + Nexera™ X2 + LCMS™-8045		
Protocol for CLAM-2000	: 2-Propanol/Water disp. 20 μL - Sample disp. 10 μL - Extraction buffer disp. 180 μL - IS solution disp. 10 μL - Mixing 1900 rpm, 60 sec - Filtration 60 sec		
Column	: DOSIMYCO trapping column, analytical column		
Mobile Phase	: DOSIMYCO mobile phase A, B		
Pump Flow	: A/B Flow: 0.8 mL/min (for analysis), C Flow: 2 mL/min (for trap)		
Column Temp.	: 65 °C		
Ionization	: ESI-positive		
Interface Temp.	: 200 °C	DL Temp.	: 100 °C
Block Heater Temp.	: 200 °C	Nebulizing Gas Flow	: 3 L/min
Heating Gas Flow	: 10 L/min	Drying Gas Flow	: 10 L/min

DOSIMYCO キットは LCMS による血中薬物濃度モニタリングに必要な標準品、移動相等を組み合わせたものです。(医薬品医療機器法に基づく体外診断用医薬品には該当しません。)

人に対する血中薬物濃度モニタリングにおいては、医師の指示等の下でお使いください。

CLAM, DOSIMYCO, Nexera, および LCMS は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

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：2020年5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。