

# Application News

## No. C90

LC/MS  
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

### LCMS-8040 を用いた尿中の アデノシンデアミナーゼの酵素活性の測定

Measurement of Adenosine Deaminase Activity in Urine with LCMS-8040

アデノシンデアミナーゼ (ADA) は細胞内で核酸の代謝に関わる酵素であり、核酸塩基のアデノシン (ADO), デオキシアデノシン (dADO) をイノシン, デオキシイノシンに変換します (Fig. 1)。今回, ADA 酵素活性を確認するため, 指標としてアデノシン, デオキシアデノシンの測定を行いました。

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

尿をサンプルとして, 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。DBS (Dried Blood Spot) や血漿を対象とすることも可能であり, 参考までにその前処理方法も示しました。また, Table. 1 に LC および MS 条件を示しました。アデノシン, デオキシアデノシンを対象化合物とし, 内部標準試料として <sup>13</sup>C-アデノシン, <sup>13</sup>C<sub>5</sub>-デオキシアデノシンを使用して, MRM (Multiple Reaction Monitoring) 測定を行いました。

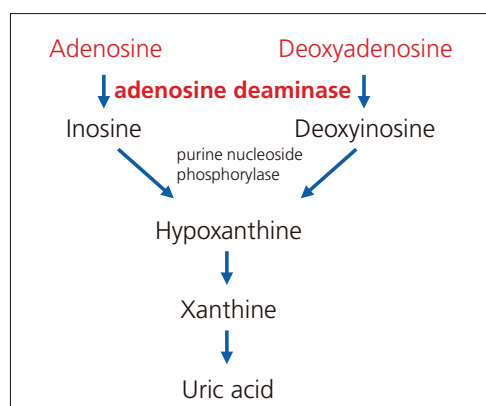


Fig. 1 代謝経路  
Metabolic Pathway

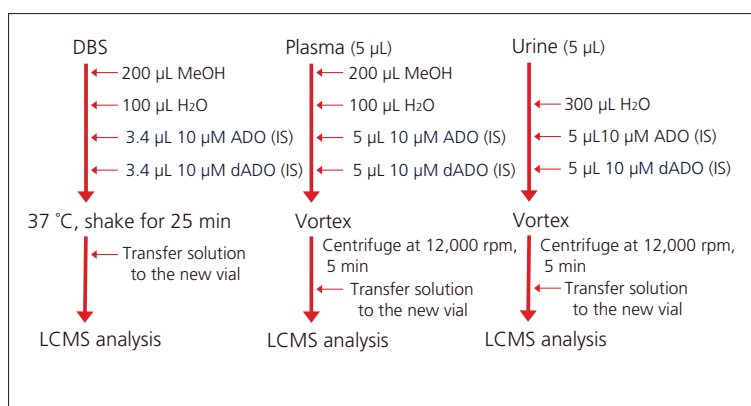


Fig. 2 前処理プロトコル  
Preparation Protocol

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

Column	: Synergi fusion RP (150 mm L. x 2 mm I.D., 4 µm)	Ionization Mode	: ESI(+)
Mobile Phase A	: 0.1 % HCOOH-H <sub>2</sub> O	Probe Voltage	: +4.5 kV
Mobile Phase B	: 0.1 % HCOOH-CH <sub>3</sub> CN	Nebulizing Gas Flow	: 3.0 L/min
Ratio	: 60 %B	Drying Gas Flow	: 15.0 L/min
Flow Rate	: 0.2 mL/min	DL Temperature	: 200 °C
Column Temperature	: 30 °C	Block Heater Temperature	: 400 °C
Injection Volume	: 3 µL	MRM	: adenosine (267.80>136.05)
Analysis Time	: 5 min		: deoxyadenosine (251.80>136.05)
MS	: LCMS-8040		: adenosine IS(268.80>136.05)
			: deoxyadenosine IS (256.80>136.05)

## ■測定結果

### Analysis Results

Fig. 3 に測定結果を示します。Sample は ADA 酵素活性を有しないサンプル，Control は酵素活性を有するサンプルです。Sample ではデオキシアデノシンが特異的に検出されました。対照的に，Control ではデオキシアデノシンが検出されませんでした。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。

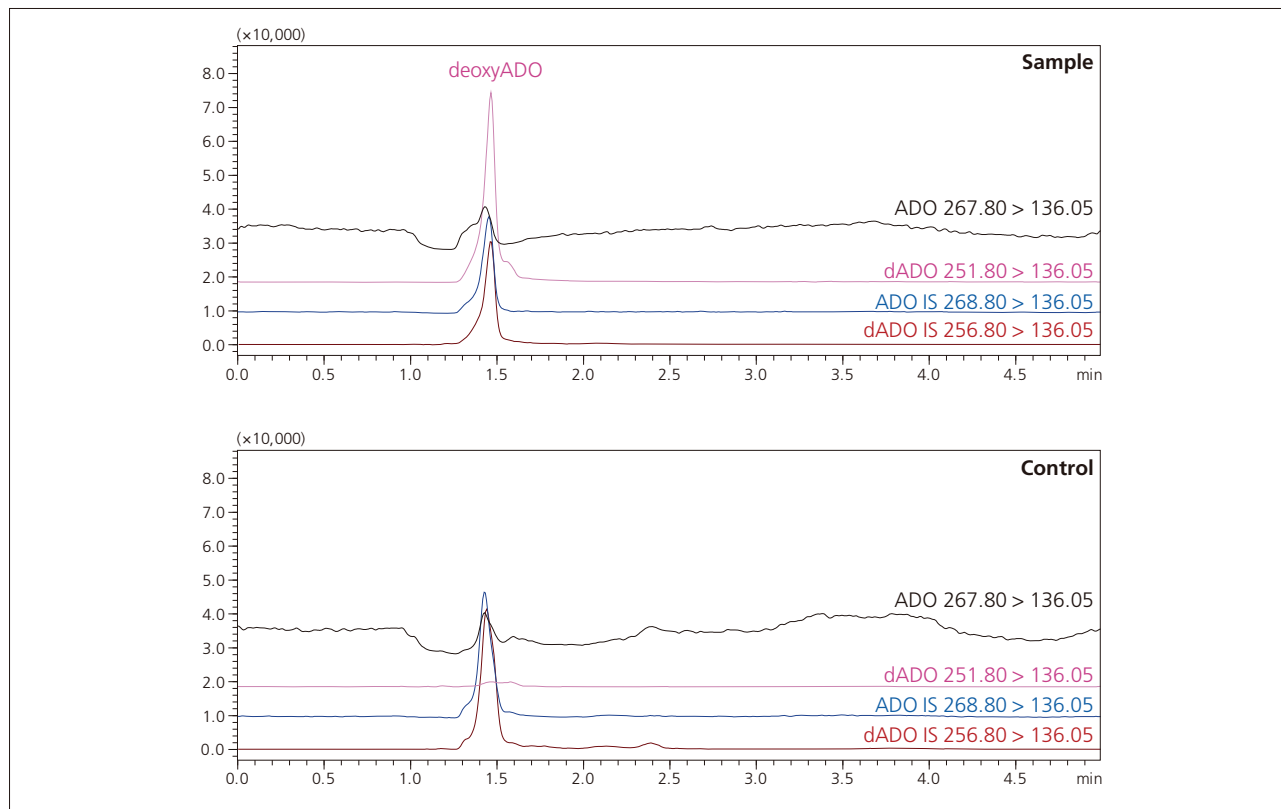


Fig. 3 各対象化合物の抽出イオンクロマトグラム  
Extract Ion Chromatograms of Each Target Compound

#### [参考文献]

G la Marca et al. The inclusion of ADA-SCID in expanded newborn screening by tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 88 (2014) 201-206  
G la Marca et al. Tandem mass spectrometry, but not T-cell receptor excision circle analysis, identifies newborns with late-onset adenosine deaminase deficiency. *J ALLERGY CLIN IMMUNOL VOLUME* 131, NUMBER 6 (2013) 1604-1610

#### [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せん。臨床診断目的での使用はできません。