

## ラン藻産生有毒ペプチド・ミクロシスチン類のLC-MS分析

LC-MS Analysis for toxic peptide microcystins produced by cyanobacteria

河川や湖沼など水源地に発生する“アオコ”は、野生動物の大量死の原因として、また飲料水の水質に影響を与えることなどから、しばしばマスコミなどで社会問題として取り上げられています。浮遊性の藻類が水面に群生している様子が、“青い粉”をちりばめたように見えることからアオコと呼ばれていますが、厳密には植物プランクトンであるシアノバクテリア（ラン藻）の異常増殖した状態を指します。アオコは悪臭を発生し景観を損ねるばかりでなく、アナトキシンやサキシトキシンなどの神経毒やミクロシスチン、ノジュラリンなどの肝臓毒を

生産することが知られています。

日本では主にミクロシスチンを生産するシアノバクテリアが各地で確認されていることや、ミクロシスチンはプロテインフォスファターゼを阻害する強力な発ガンプロモータであることから、飲料水中ミクロシスチンのモニタリングやミクロシスチン類の代謝や動態解明のために、機器分析によるモニタリングの必要性が高くなっています。ここでは、エレクトロスプレーLC-MSによるミクロシスチン類分析について紹介します。

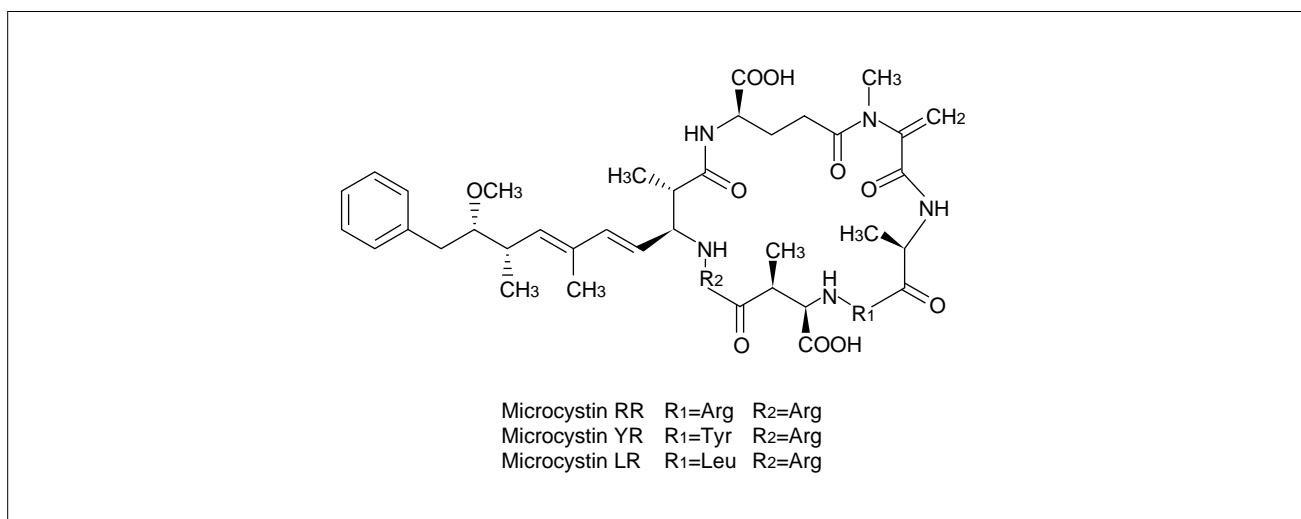


Fig.1 ミクロシスチンRR, YRおよびLRの構造  
Structures of microcystins RR, YR and LR

ミクロシスチンはAddaと呼ばれる異常アミノ酸を含む環状ペプチド化合物 (Fig.1) です。一般的にはUV254nmまたはフォトダイオードアレイ検出器で分析されますが、ジエンの吸収を利用しているため選択性は期待できません。また、構成するペプチドの違いによりミクロシスチンRR, YR, LRなどのような類縁体が数十種存在しているため、質量分析計が与える分子量情報はミクロシスチンの同定に効果を発揮します。

Fig.2にはミクロシスチンRR, YR, LRのエレクトロスプレーによるマスペクトルを示します。ミクロシスチンYRとLRはプロトン化分子 ( $M + H$ )<sup>+</sup> が確認できますが、

ミクロシスチンRRのように塩基性アミノ酸を2個含有する化合物は2価イオン ( $M + 2H$ )<sup>2+</sup> が検出されます。

Fig.3には選択イオン検出 (SIM) によるLC-MS分析結果を示します。液体クロマトグラフィーによる分離能力とマスペクトルメトリーによる定性能力を合わせ持つLC-MSにより、確実な分別定量が可能となります。また、他の成分の質量数を設定することで他のミクロシスチン類の分析にも利用可能です (今回使用した分析条件は、Addaのジエン部分の幾何異性体である無毒なミクロシスチンも分離できる移動相条件を利用しています)。

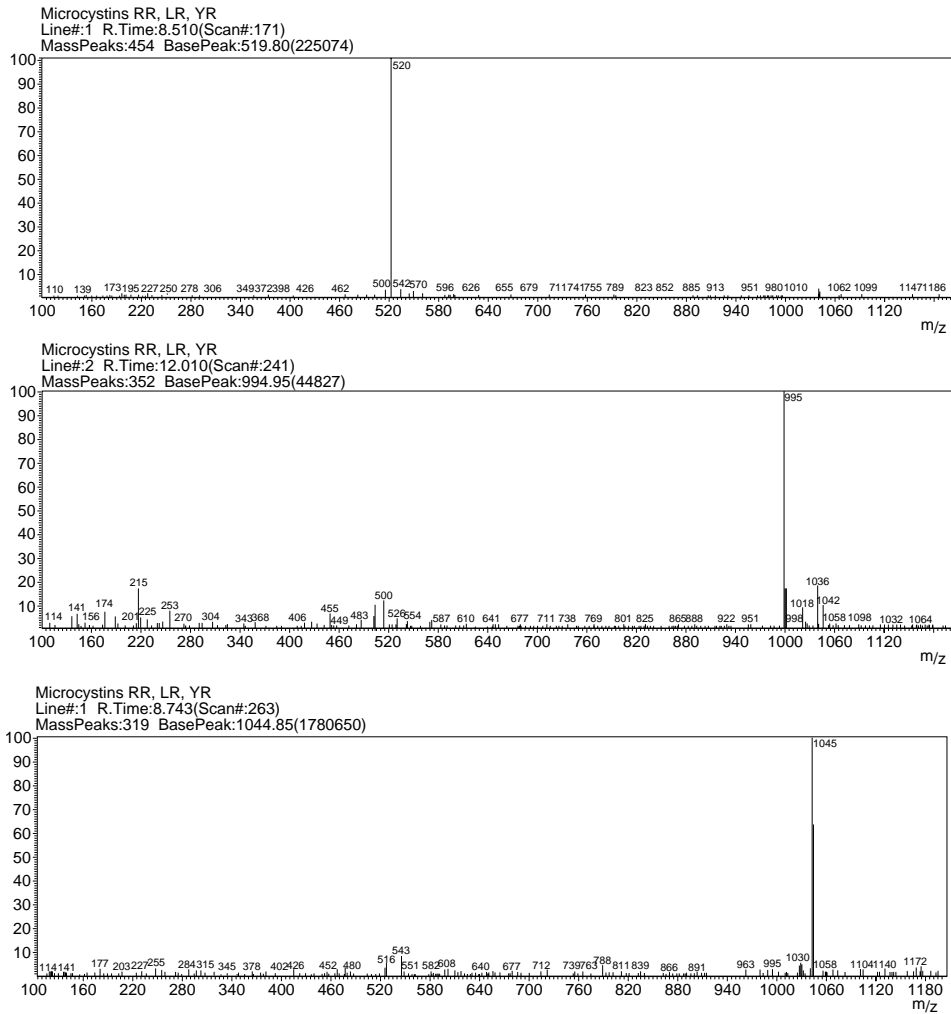


Fig.2 ミクロシチンRR(上)LR(中)およびYR(下)のマススペクトル  
Mass spectra of microcystins RR (upper), LR (middle) and YR (lower)

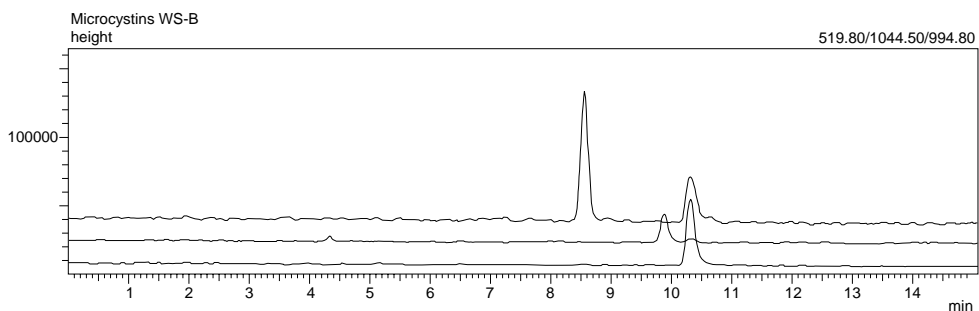


Fig.3 ミクロシチンRR LRおよびYRのSIMクロマトグラム  
SIM chromatograms of microcystins RR, YR and LR

Table 1 分析条件  
Analytical conditions

Column	: Inertsil ODS-II (2.1 mmI.D. × 150 mmL)	Column temperature	: 40
Mobile phase A	: 0.05% trifluoroacetic acid-water	Probe voltage	: +4.0 kV (ESI-positive mode)
Mobile phase B	: methanol	Nebulizing gas flow	: 4.0L/min
Flow rate	: 0.2 mL/min	CDL voltage	: -45V
Gradient program	: 40%B (0-1 min) - 90%B (10-15 min)	DEFs voltage	: +30V

**島津製作所** 分析機器事業部  
応用技術部

島津分析コールセンター ●東京 ☎(03)3219-1691  
●京都 ☎(075)813-1691

**SHIMADZU CORPORATION**  
INTERNATIONAL MARKETING DIVISION

3, Kanda-Nishikicho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8448, Japan  
Phone : (03) 3219-5641 FAX : (03) 3219-5710  
Cable Add. : SHIMADZU TOKYO