

## 研究タイトル: 選択的蛍光誘導体化を用いる生理活性アミン類の HPLC 定量法の開発



氏名: 館田 尚弘 / TATEDA NAOHIRO E-mail: tateda@asahikawa-nct.ac.jp

職名: 創造開発グループ長 学位: 修士(地球環境科学)

所属学会・協会: 日本分析化学会

キーワード: 高速液体クロマトグラフィー(HPLC), ヒスタミン, メラトニン

技術相談

提供可能技術:

- ・アミノ酸の分離分析
- ・生体アミンの分析

### 研究内容:

簡易で高感度なアミノ酸および生体アミン類の定量法の開発を目的とし、主に選択的蛍光誘導体化反応とその高速液体クロマトグラフィー(HPLC)への応用に関して研究を行っている。生体試料中のアミノ酸やアミン類の測定にはアミノ酸分析計に代表されるクロマトグラフ法やイムノアッセイ法が汎用されているが、前者はその高い分離能を生かして複数成分の定量が可能であり、後者は特異性の高い抗原抗体反応を原理とするため分離を要しない手法が多く、多検体処理に適するのが特徴である。HPLCの検出法には、紫外・可視吸収、屈折率、電導度、電気化学および蛍光法などが簡易な検出法として用いられるが、中でも蛍光法は感度と選択性に優れている。測定対象が発色団や発蛍光団を持たず、十分な感度と選択性が得られない場合には誘導体化反応が用いられるが、前述したアミノ酸分析計で常用されているニンヒドリン反応も可視吸収体へのポストカラム誘導体化反応であり、これにより20種以上のアミノ酸の一斉分析が可能となっている。

筆者らが先に開発したヒスチジン(His)やヒスタミン(Hm)の HPLC 定量法は、オルトフタルアルデヒド(OPA)と His および Hm の蛍光反応をポストカラム検出反応に利用するものであるが、これは、前述したアミノ酸などの高感度検出に汎用される手法、すなわちチオール化合物共存下で OPA と反応して発蛍光する一級アミンに選択的な反応とは異なり、分子内にイミダゾール骨格を有する His および Hm に対する選択性が高いのが特徴であり、ヒト全血、血清、尿および皮膚角質中 His については分離を要しないフローインジェクション法による定量も可能である。また、高度な前処理を行わずにヒト血清・血漿中の微量(His の  $10^{-4}$  以下)Hm の定量も可能である。このように、選択的蛍光誘導体化反応と HPLC を組み合わせた分析法には、分析時間の短縮のみならず、交差反応が本質的弱点とされるイムノアッセイとは異なる次元の選択性と感度を提供できる点がメリットであり、アレルギーなどヒスタミンに関わる疾患の研究などに有力な手段を提供できると考えられる。

また、さらに微量なホルモンであるメラトニンの高感度な HPLC 定量法の開発も行っている。脳の奥にある松果体からの分泌されるメラトニンは生体リズムの指標の一つとしてのみならず、生体内における様々な作用が注目されているが、その血中濃度は数 pg/mL(昼間値)と極めて低値であるため、実用測定法は限られている。近年、筆者らは OPA がメラトニンと発蛍光する反応をプレカラム誘導体化に用いたヒト血中メラトニンの HPLC 定量法を開発した。さらにヒト唾液試料への適用を図り、本法が非侵襲な生体リズム計測法として利用可能であることを報告した。

< 科研費採択 >

平成12年度奨励研究: 血清中ヒスタミンの高速液体クロマトグラフィーによる定量法の開発

平成14年度奨励研究: 尿中ビオシチンの簡易定量法の開発

平成19年度奨励研究: ヒト血中メラトニンの簡易測定法の開発

平成22年度奨励研究: メラトニン受容体作動薬の睡眠障害治療効果判定に利用可能なヒト唾液メラトニン測定法開発

### 提供可能な設備・機器:

名称・型番(メーカー)	
高速液体クロマトグラフ	
イオンクロマトグラフ	
紫外可視分光光度計	