Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

UPLCおよび Xevo TQ-Sを用いた血漿中のプロスタグランジンD2の高感度分析

利点

新しいタンデム四重極型質量分析計によって、プロスタグランジン類のネガティブイオン化モードでの定量感度が大幅に向上します。

ウォーターズのソリューション

Xevo® TQ-S

MassLynx™ および TargetLynx™

ACQUITY UPLC®

ACQUITY UPLC BEH カラム

キーワード

StepWave™、T-Wave™、

生体試料中医薬品分析

プロスタグランジン

はじめに

プロスタグランジン類は、五員環を含む炭素原子20個を有する化合物です。これらは、脂肪酸から酵素反応によって生成され、動物の体内で多くの重要な作用を担っています。例えば、血管で筋肉細胞を滑らかに拡張させたり、血小板の凝集、炎症の緩和、ホルモン調節、細胞増殖の制御、そして視床下部に作用して熱を発生させて体温調節などを行います。

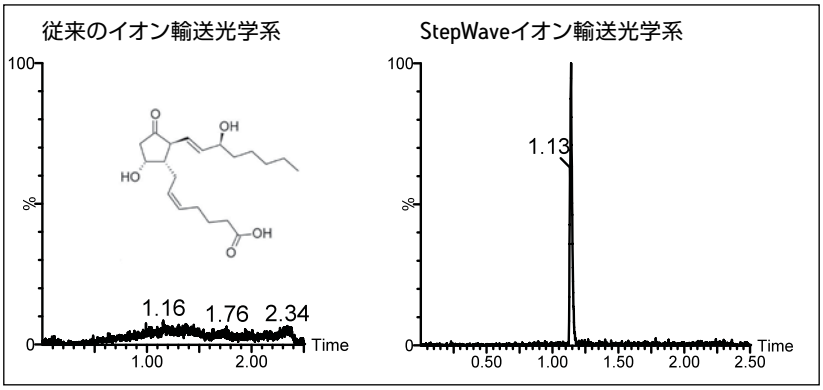

図1.従来のイオン輸送光学系（左）とStepWaveイオン輸送光学系（右）を用いて、UPLC/MS/MSのMRMモードでプロスタグランジンD2を分析したピーク強度の比較

これらプロスタグランジン類は、陣痛の促進やチアノーゼ心疾患のある新生児の動脈閉塞を抑制したり、消化性潰瘍の治療など、臨床での用途があります。治療時のプロスタグランジン類の濃度は非常に薄く、正確な生体試料中濃度測定には非常に高感度な実験系が必要とされます。このアプリケーションノートでは、新しい高感度タンデム四重極型質量分析計を用いた、血漿中のプロスタグランジンD2分析について、ご紹介いたします。

分析条件

LC条件

LCシステム: ACQUITY UPLC (バイナリソルベントマネージャ、サンプルマネージャ, カラムオーブン)

LCカラム: ACQUITY UPLC BEH C18, 1.7 µm、2.1 x 50 mm

グラジエント: 0.1%アンモニア水 5-95%メタノール (1.5 min)

流速: 0.6 mL/min

注入量: 10 µL

MS条件

MSシステム: Xevo TQ-S および Xevo TQ ESIネガティブモード MRM データ取り込み 351 >189 プロスタグランジンD2

電圧: キャピラリー、コーン電圧、コリジョンエネルギーおよびコーンガス流量は、システムごとに最適化した値を使用

イオン源温度: 140 ℃

脱溶媒ガス温度: 625 ℃

脱溶媒ガス流量: 1200 L/Hr

データ解析ソフト

MassLynx 4.1 (システムコントロール)

TargetLynxアプリケーションマネージャ (定量解析)

結果および考察

Xevo TQ-Sは、新しい高感度タンデム四重極型質量分析計で、革新的なoff-axisイオン源技術であるStepWaveを搭載しています。この新しいイオン源設計により、イオン源から四重極アナライザへのイオン輸送効率が向上、さらに図2に示すように、イオンの経路をずらすoff-axisによって中性の不要物質を排除します。この2つのファクターによって、LC/MS/MSシステムの感度が飛躍的に向上しています。また、リングイオン電極が積層された、T-Wave*イオン輸送光学系によって、感度を低下させることなく、10 ms以下のDwell timeでの高速MRM(multiple reaction monitoring)取り込みが可能となっていることから、Xevo TQ-Sタンデム四重極型質量分析計は、ACQUITY UPLCによって得られるシャープなピークの測定に適していると言えます。

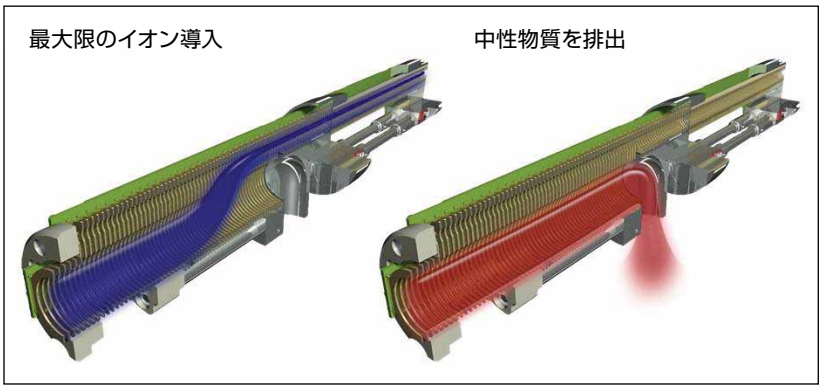

図2. StepWaveイオン輸送光学系の模式図。測定対象のイオンの経路 (左) および中性分子の排出経路。

プロスタグランジンD2は、哺乳類の脳や肥満細胞の中で見つかっており、CRTH2レセプターだけでなくPTGDRとも結合し、喘息などのアレルギー疾患の進行に関与しています。新しいタンデム四重極型質量分析計の評価をするために、Xevo TQおよび新製品Xevo TQ-SにそれぞれACQUITY UPLCを接続し、プロスタグランジンD2を分析しました。条件は、流速0.6 mL/min、アンモニア水およびメタノール5～95%の1.5分間のグラジエント溶出としました。その際、目的のピークは、1.14分で溶出しました。

図1では、StepWaveによる感度の向上を、従来のイオン源での結果と比較して示しています。新設計のイオン源を用いると、ピーク面積は400倍、S/N比(RMS)では34倍もの感度向上が認められます。

図3に示すデータは、縦軸を拡大して、両者のレスポンスを比較したものです。従来型の輸送光学系を用いたタンデム四重極型質量分析計ではプロスタグランジンのピークを検出することができませんが、新しいStepWaveを搭載したシステムでは、ベースラインレベルを大きく上回る良好なピークが検出されています。

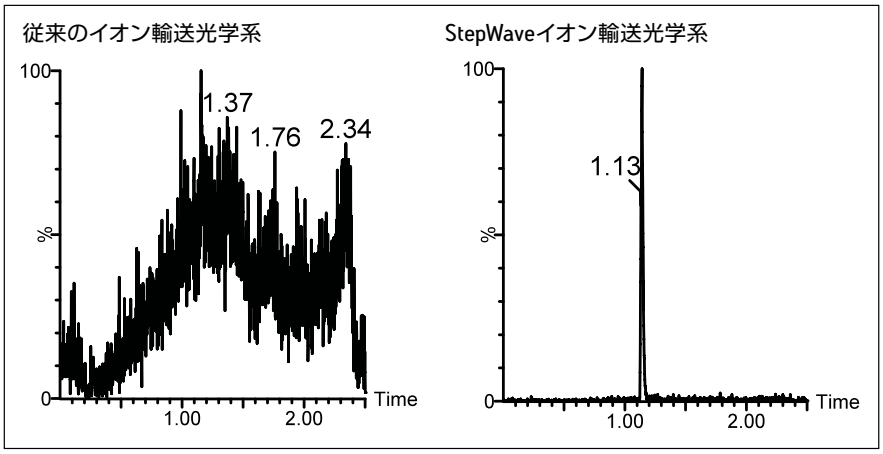

図3.従来のイオン輸送光学系(左)またはStepWaveイオン輸送光学系(右)によるプロスタグランジンD2のUPLC/MS/MS分析結果。検出下限が確認できるレベルにベースラインを拡大。

* traveling wave deviceは、Kirchner in U.S. Patent 5206506; 1993で述べられているものをご参照下さい。

結論

ACQUITY UPLCをインレットとした、新しいXevo TQ-Sを用いることで、ネガティブイオン化モードのプロスタグランジンの分析が、ピーク面積およびS/N比のいずれの場合でも30倍以上向上しました。イオンの経路をずらすという斬新なoff-axisイオン輸送により、不要な中性物質がMSアナライザ以降に導入されないように設計されています。一方イオンに対しては、T-Waveタイプのイオン輸送光学系およびコリジョンセルを用いることで、感度を損なうことなく、非常にシャープなUPLCのピークで12データポイント以上が確保できています。

これらを生体試料中医薬品分析に当てはめると、以下のように言い換えることができます:

- より低濃度のピーク検出を容易に実現
- より迅速なメソッド作成
- 容易なピーク検出
- より堅牢性の高い試験系の確立

適用規格：JISQ9001:2008(ISO9001:2008)
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・ データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

Waters、Xevo、ACQUITY UPLC および UPLC は Waters Corporation の登録商標です。RADAR、StepWave、T-Wave、MassLynx、TargetLynx および The Science of What's Possible は Waters Corporationの商標です。
その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 静岡

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

©2010 Waters Corporation. Printed in Japan.
2010年9月 720003418JA

720003418JA 09A