

## “どこでも HPLC” のための 可搬型液体クロマトグラフ

従来、実験室だけで使用されてきたベンチトップ型分析装置が小型・可搬化され、試料を採取したその場で利用されつつある。この背景には、従来の分析機器によって得られる豊富で高精度な情報が現場で即時必要になるケースが多くなっていることがある<sup>1)</sup>。混合試料を成分ごとに分離して検出する液体クロマトグラフ<sup>うた</sup>もその一つであり、すでにどこでも使用できることを謳った可搬型液体クロマトグラフが発表されている<sup>2)3)</sup>。最近出版された可搬型液体クロマトグラフに関する総説<sup>4)</sup>からも一過性ではない可搬化の試みをうかがうことができる。液体クロマトグラフの小型・可搬化については1980～1990年代にすでに行われていたが、いずれも可搬性に優れているとは言い難かった。ここ5、6年に報告された可搬型液体クロマトグラフは片手で持ち運ぶことができ、そのために特に検出器およびポンプにおいて、軽量化とバッテリーで動作させるための省電力化が図られている。ほとんどの可搬型装置に採用されている吸光検出器では、光源に発光ダイオード、受光部にフォトダイオードまたは超小型分光器が用いられ、S/N比の向上が試みられている。なお、分離には、数cm～10cmのキャピラリーカラムなど小型のカラムが採用されている。Chatzimichailらは、移動相の送液に圧縮空気を利用し、電源不要の装置を提案している<sup>1)5)</sup>。装置全体はスーツケース様の筐体に組み込まれ、寸法は33cm×29cm×14cmで、質量は6.7kgである。圧縮空気は内蔵の小型ポンプから供給され、流量はフローセンサーを用いて制御される。最大15MPaで50～1000nL/minの範囲で設定でき、流量精度は0.2%未満であった。一方、Liらは、樹脂製小型チャンバーの中で水の電気分解を行い、それによって発生する気体の圧力で移動相を駆動する可搬型液体クロマトグラフ（寸法20cm×16cm×16cm、質量1.8kg）を報告している<sup>6)</sup>。流量は、電解電流と背圧とのバランスで決定し、最大20μL/minで流量精度は数%であった。

可搬型装置の性能についてはここでは触れないが、ベンチトップ型LC/MS/MSと比較すると分離性能や情報量の点で不足するところが多い。しかし、コンピューターが大型計算機からスマートフォンに形態を変えて広く普及したのと同様に、この装置も従来とは異なる場に低価格で供給され、徐々に受け入れられながら高性能化

するものと予想される。

- 1) S. Chatzimichail, F. Rahimi, A. Saifuddin, A. J. Surman, S. D. Taylor-Robinson, A. Salehi-Reyhani : *Commun. Chem.*, **4**, 17 (2021).
- 2) <https://www.axcendcorp.com/> (2021年6月閲覧).
- 3) <http://www.anywherehplc.co.uk/> (2021年6月閲覧).
- 4) F. Rahimi, S. Chatzimichail, A. Saifuddin, A. J. Surman, S. D. Taylor-Robinson, A. Salehi-Reyhani : *Chromatographia*, **83**, 1165 (2020).
- 5) S. Chatzimichail, D. Casey, A. Salehi-Reyhani : *Analyst*, **144**, 6207 (2019).
- 6) D. Li, H. Chen, S. Ren, Y. Zhang, Y. Yang H. Chang : *Sens. Actuators, B Chem.*, **305**, 127484 (2020).

〔北海道大学大学院工学研究院 石田晃彦〕

## 標的への酵素標識ではなく酵素活性付与に 基づくバイオセンシングシステム

ELISAなどの酵素標識免疫測定法は様々な成分の高感度分析に広く用いられているが、酵素標識抗体の調製の困難さや標識操作の煩雑さといった欠点が存在している。Huaらは標的タンパク質に酵素を標識するのではなく、化学反応によりタンパク質に酵素活性を付与してから分析する新たなバイオセンシングシステムを報告している<sup>1)</sup>。すなわち、アルブミンやグルコースオキシダーゼといったタンパク質に鉄-ポルフィリン錯体<sup>2)</sup>を添加して静置することで、これらのタンパク質にペルオキシダーゼ活性を付与する手法である。ペルオキシダーゼ活性を付与したタンパク質に西洋ワサビペルオキシダーゼ発色基質(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB)と過酸化水素を添加することでTMBの酸化に基づく青色の発色が生じ、波長652nmにおける吸光度の測定によりタンパク質の定量が可能であった。このペルオキシダーゼ活性は鉄-ポルフィリン錯体の鉄原子とタンパク質中のカルボニル基との間の配位結合が関与しているとされている。グルコースオキシダーゼのように既に酵素活性を有するタンパク質に対しても本来の活性を保ったままペルオキシダーゼ活性を付与でき、二重の酵素活性を有するタンパク質を調製できる。

このバイオセンシングシステムは血中糖化アルブミンの測定に応用されている。マイクロプレートのウェルに結合させたアプタマー（おそらく本法の原理的にタンパク質である抗体の利用は困難である）により血中の糖化アルブミンを単離してから、鉄-ポルフィリン錯体と反応させてペルオキシダーゼ活性を付与する。その後、過酸化水素及びTMBを添加して生じる発色をプレートリーダーにより測定する。本法で求めた定量値は市販のELISAキットにより求めた定量値とよく一致していた。さらに、ペルオキシダーゼ活性を付与したグルコースオキシダーゼを用いる血中グルコース濃度の測定についても報告されている。グルコースは二重の酵素活性に

より過酸化水素を経てヒドロキシラジカルまで変換され、これが TMB を酸化することで生じる発色に基づいてグルコースを定量可能となる。このとき、グルコースオキシダーゼに反応させる鉄-ポルフィリン錯体の供給源として血中に存在するヘモグロビンを利用する技術も提案されており、測定に必要な試薬の種類がより低減されている。

本法のように従来の酵素標識法とは異なるアプローチ

に基づく分析法はたいへん興味深く、今後も従来の概念にとらわれないユニークな分析法の出現に期待したい。

- 1) X. Hua, Z. Wang, Z. Wang, L. Chen, Z. Zhou, J. Ouyang, K. Deng, X. Yang, H. Huang : *Anal. Chem.*, **93**, 5291 (2021).
- 2) Y. Yang, F. Tan, X. Xie, X. Yang, Z. Zhou, K. Deng, H. Huang : *Anal. Sci.*, **35**, 691 (2019).

[長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 岸川直哉]

~~~~~

## 原稿募集

トピックス欄の原稿を募集しています

内容：読者の関心をひくような新しい分析化学・分析技術の研究を短くまとめたもの。

執筆上の注意：1) 1000 字以内（図は 1 枚 500 字に換算）とする。2) 新分析法の説明には簡単な原理図などを積極的に採り入れる。3) 中心となる文献は原則として 2 年以内のものとし、出所を明記する。

なお、執筆者自身の文献を主として紹介する

ことは御遠慮ください。又、二重投稿は避けてください。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2  
五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会  
[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]