

※タイトル左のこちらの

枠内は、講演番号欄です

(書込厳禁)

LC-MS/MS によるヒト母乳中ピロロキノリンキノン (PQQ) と PQQ アミノ酸付加体の測定

(¹ 東北大院・農・機能分子解析学, ² 雪印ビーンスターク(株))

○加藤主税¹, 河合笑子¹, 小林俊二郎², 仲川清隆¹

【目的】ピロロキノリンキノン(PQQ)は、バクテリア由来の補酵素として知られる水溶性キノン物質であり、マウスを用いた試験で PQQ 欠乏症状や PQQ を補酵素とする酵素の存在が報告されたことから、新規ビタミン B 様物質と考えられるようになった。さらに、牛乳にはほとんど含まれない PQQ がヒト母乳中に存在し、その生理的意義に注目が集まっている。但し、ヒト母乳の PQQ 分析例は未だ数法に限られ、かつ PQQ は容易に各種アミノ酸と反応して付加体(IPQ-R: R=アミノ酸側鎖)を形成すると言われていたが、IPQ-R の定量分析例はない。我々はこれまでに PQQ 高含有食品の探索¹⁾を進めており、本研究では、PQQ に加えてヒト母乳中に存在する IPQ-R 定量分析を目指した。

【方法】ヒト母乳に内部標準物質[U-¹³C]-PQQ(三菱ガス化学より恵与)を添加して Oasis WAX に供して抽出した。LC-MS/MS 分析では、PQQ2Na 標品と IPQ-R リファレンス化合物(PQQ2Na と各種アミノ酸の混合物をインキュベートして調製)を用いて、MS/MS のイオン化条件と LC 分離条件を最適化し、選択的解析が可能な MRM モードで分析した。

【結果】PQQ と IPQ-R(Cys、Pro、Trp 由来を除く 17 種)の検出に成功し、外部標準法による ng/mL レベルの PQQ 定量、および IPQ-R の定性分析が可能となった。本法で PQQ を確実に含むサンプル(PQQ 生産菌培地上清; 三菱ガス化学より恵与)を分析したところ、PQQ と IPQ-R のピークを検出でき、本法の有用性が確認された。続いて、泌乳期 1 カ月目のヒト母乳を分析した結果、PQQ の測定に成功し、その濃度は 1-3 ng/mL であった。さらに、少なからずグリシン由来の IPQ を含むヒト母乳も確認された。そこで、IPQ 標品作成のために、IPQ リファレンス化合物を分取 HPLC に供して精製し、IPQ ジブチルアンモニウム塩を作成した。現在は、Q-TOF MS や ¹H-NMR で構造を確認すると共に、分娩後 2 カ月ごとに 1 年間母乳を採取(n=10)し、本法により測定している。こうした研究により、PQQ のヒト母乳における生理的意義の関係解明に繋がると期待している。

1) C. Kato et al., *PLoS One*, 21, e0209700 (2018)