

## 安定同位体製品の精密分析技術

## Precise Analysis Technologies for Quality Assurance of Stable Isotope Products

吉田 秀俊\*

YOSHIDA Hidetoshi

坂田 晋\*

SAKATA Susumu

毛塚 佳代\*

KEDUKA Kayo

佐藤 哲也\*

SATO Tetsuya

中川 克広\*

NAKAGAWA Katsuhiko

菊地 勉\*

KIKUCHI Tsutomu

## 1. はじめに

安定同位体標識化合物は、医療分野をはじめ、バイオ、化学、理工学、原子力など多くの先端研究分野で利用されている<sup>1)</sup>。当社は安定同位体メーカーとして同位体分離、標識化合物製造、さらには受託合成サービスに積極的に取り組んでおり、米国 Isotec 社からの輸入品を含めた取り扱い商品数は3,000種以上に及ぶ。

これら製品の品質保証上、分析技術、特に安定同位体純度の分析技術の高精度化はきわめて重要である。当社は産業ガスのトップメーカーとして高純度ガス中の ppb レベルの極微量不純物分析において培った質量分析法を中心に安定同位体分析法の確立を進めてきた。同分析法を確立するに当たっては、高精度かつ多岐にわたる分析項目が求められる。さらに、製品が高価で分析に使用できる試料量は非常に少量であり、かつ、同位体濃度が天然存在比から大きく乖離した試料に対する信頼性の高い標準物質が存在しないため、(1) 特殊な前処理および装置を使用すること、(2) 定量精度向上のためのノウハウとなる技術を駆使することが重要となる。

ここでは、これまでに確立した安定同位体製品の分析技術の代表例として、(1) ライフサイエンス分野：2例、および(2) エネルギー・原子力分野：1例の合計3事例について紹介する。

2. ライフサイエンス分野1：Water-<sup>18</sup>O

Water-<sup>18</sup>O は、がんの診断に有効とされる PET (Positron Emission Tomography：ポジトロン断層撮影法) 検査の際、患者に投与される診断薬 <sup>18</sup>FDG (2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-d-glucose) の原料として利用されているものである<sup>2)</sup>。(製品外観は、図1参照。)

\*開発・エンジニアリング本部つくば研究所分析技術センター



図1 Water-<sup>18</sup>O 製品外観

当社は、窒素、アルゴンといった化学不純物を極限まで低減した超高純度酸素を出発原料とした独自の深冷分離による <sup>18</sup>O 濃縮と、それに続く超高純度水素添加による H<sub>2</sub><sup>18</sup>O 製造という世界初・最高水準の方法で <sup>18</sup>O が高濃度(保証値：>98 atom%)に濃縮された Water-<sup>18</sup>O を生産している<sup>3)</sup>。同製品の品質保証の重要項目である同位体純度の分析は、前処理としての電気分解により発生させた酸素ガスに質量分析法を適用して実施している。この質量分析法の特徴は、環境大気中の酸素の影響を極限まで除くため、前処理である電気分解装置も含め、リークタイトに設計・製作されている点にある。製品を使用した分析精度(室内再現精度)の検証においては、表1に示すように、<sup>18</sup>O 濃度(atom%)の相対標準偏差は、0.0175%と良好な結果が得られている。

製品の品質を保証する分析は、上記同位体純度分析だけでなく、金属・イオン分析をはじめ pH、電気伝導度測定など21項目にも及んでおり、あらゆる角度から高品質であることを検証した製品をユーザーへ提供している。また、使用する分析計の多くは、極微量の試料量で分析できる特殊仕様の分析計に各種

表1 酸素同位体分析の室内再現精度

測定番号	測定日	電気分解セル	<sup>18</sup> O 濃度 (atom%)	<sup>17</sup> O 濃度 (atom%)	<sup>16</sup> O 濃度 (atom%)
1	2006/6/15	A	99.252	0.189	0.559
2	2006/7/5	B	99.275	0.185	0.540
3	2006/7/13	C	99.233	0.182	0.585
4	2005/7/14	C	99.252	0.186	0.562
平均値			99.2531	0.1854	0.5615
標準偏差			0.0173	0.00307	0.0187
相対標準偏差 (%)			0.0175	1.655	3.334

外乱が入らないよう当社独自の工夫を加えた。なお、Water-<sup>18</sup>O の品質を保証する分析は、すべてGMP (Good Manufacturing Practice：医薬品製造品質管理規範) に準拠した厳格な管理を行っていることも、製品分析の特徴の1つである。代表的な製品の試験成績書を図2に示す。

分析項目	単位	分析値	保証値	分析方法
<sup>18</sup> O	atom%	99.3	≥98	電気分解-質量分析計
<sup>17</sup> O	atom%	0.2	<2	電気分解-質量分析計
<sup>16</sup> O	atom%	0.5	<2	電気分解-質量分析計
外觀検査	-	試験適合	無色透明、異物を認めない	目視
化学純度	%	>99.99	>99.99	*
Na	mg/L	0.06	<2	ICP質量分析計
Mg	mg/L	<0.01	<1	ICP質量分析計
K	mg/L	<0.03	<1	ICP質量分析計
Ca	mg/L	<0.05	<1	ICP質量分析計
Fe	mg/L	<0.05	<0.1	ICP質量分析計
Cu	mg/L	<0.03	<1	ICP質量分析計
Zn	mg/L	<0.05	<1	ICP質量分析計
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg/L	<0.3	<1	イオンクロマトグラフ
F <sup>-</sup>	mg/L	<0.1	<1	イオンクロマトグラフ
Cl <sup>-</sup>	mg/L	<0.1	<1	イオンクロマトグラフ
Br <sup>-</sup>	mg/L	<0.1	<1	イオンクロマトグラフ
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/L	<0.1	<1	イオンクロマトグラフ
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	mg/L	<0.5	<1	イオンクロマトグラフ
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	mg/L	<0.3	<1	イオンクロマトグラフ
I <sup>-</sup>	mg/L	<0.6	<1	イオンクロマトグラフ
TOC(全有機炭素)	mg/L	<1	<5	TOC計
電気伝導度	mS/m	0.11	<0.3	導電率計
pH	-	6.1	5.5-8.0	pHメーター
生菌数	個/mL	0.0	<1	メンブレンフィルター法
バイोजェン	EU/mL	<0.031	<0.25	LALテスト

\*純度は金属、イオン、TOCの測定成分の合計を100%から差し引いた値です

図2 Water-<sup>18</sup>O の試験成績書

3. ライフサイエンス分野2：標識アミノ酸

安定同位体標識アミノ酸はNMR (Nuclear Magnetic Resonance：核磁気共鳴) によるタンパク質構造解析や機能解明等のプロテオーム分野で幅広く利用されており<sup>4)</sup>、大型国家プロジェクトでの研究推進等により需要は急速に拡大している。アミノ酸の種類は全部で20種類であり、1つのアミノ酸に対して、4パター

ンの標識方法 (<sup>15</sup>N シングルラベル<sup>\*1</sup>、<sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N ダブルラベル<sup>\*2</sup>、<sup>2</sup>H,<sup>15</sup>N ダブルラベル<sup>\*3</sup>、および<sup>2</sup>H,<sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N トリプルラベル<sup>\*4</sup>) を適用すると、標識アミノ酸の数は、80種類となる。当社では、標識アミノ酸やその原料の開発を市場ニーズに応じて実施している。

一方、標識アミノ酸の同位体純度保証分析においては、アミノ酸前駆体(最終製品の原料および中間体)の同位体純度をアミノ酸の同位体純度とするケースが多いが、当社ではアミノ酸前駆体の分析法確立はもとより、最終製品である安定同位体標識アミノ酸自体の同位体純度分析法確立にも取り組んでいる。すなわち、(1) <sup>15</sup>N シングルラベル品についてはイオン化法としてEI (Electron Ionization：電子イオン化) 法やFAB (Fast Atom Bombardment：高速原子衝突) 法<sup>5)</sup>を用いた質量分析法の適用、(2) <sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N ダブルラベル、(3) <sup>2</sup>H,<sup>15</sup>N ダブルラベル、および(4) <sup>2</sup>H,<sup>13</sup>C,<sup>15</sup>N トリプルラベル品については、NMR 測定により<sup>13</sup>C、<sup>2</sup>Hの同位体純度を求め、その結果と上記の質量分析法を組み合わせた方法にて<sup>15</sup>N 同位体純度を含むすべての同位体純度を決定する方法の確立に取り組んでいる。この中でFAB法は、一般的には分子量を求めるために用いられるイオン化の方法である。しかし、当社では、測定条件の最適化により、高精度な同位体純度の決定に利用できるまでに、FAB法にて得られるマスペクトルの質を高めるに至った。

具体的には、アミノ酸前駆体であるインドールおよび乳酸の質量分析では、イオン化方法としては前者がEI法、後者はFAB法で、検出イオンの電荷は前者が陽イオン(+)、後者が負イオン(-)により分析手法を確立した。その際得られたマスペクトル(いずれも非標識品：N.A.品)を図3および図4に示す。

一方、製品であるアミノ酸の質量分析では、イオン化法としてはFAB法を、検出イオンの電荷は陽イオン(+ )として分析法を確立した。製品アミノ酸の代表例として、セリンおよびアスパラギン(共に非標識品)のマスペクトルを図5および図6に示す。

製品等がユニホームラベル(均一標識)品の場合、これらのマスペクトルデータから同位体濃度を算出するには、分子全体の情報を有するイオンのピー

- \*1 <sup>15</sup>N シングルラベル：分子内の全ての窒素原子を均一かつ高純度に<sup>15</sup>Nにて標識すること
- \*2 <sup>13</sup>C、<sup>15</sup>N ダブルラベル：同炭素原子および窒素原子を上記同様に<sup>13</sup>Cおよび<sup>15</sup>Nにて標識すること
- \*3 <sup>2</sup>H、<sup>15</sup>N ダブルラベル：同水素および窒素原子を上記同様に<sup>2</sup>Hおよび<sup>15</sup>Nにて標識すること
- \*4 <sup>2</sup>H、<sup>13</sup>C、<sup>15</sup>N ダブルラベル：同水素、炭素および窒素原子を上記同様に<sup>2</sup>H、<sup>13</sup>Cおよび<sup>15</sup>Nにて標識すること

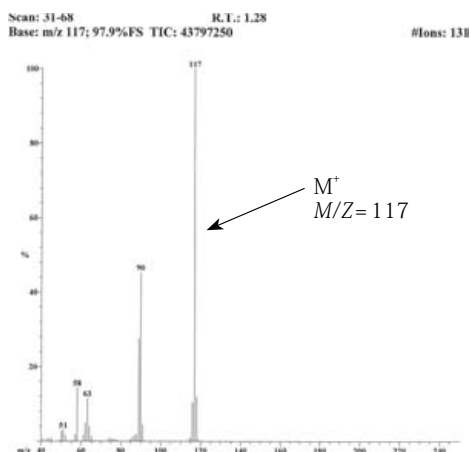


図3 インドールのマススペクトル

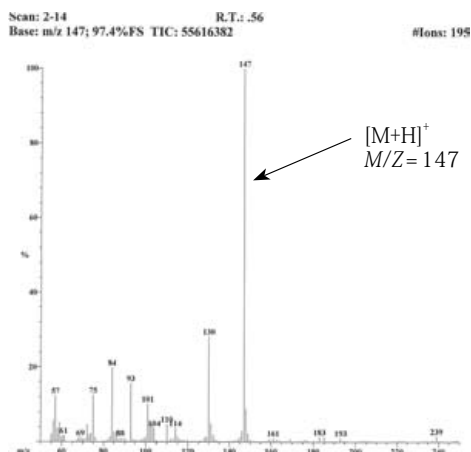


図6 グルタミンのマススペクトル

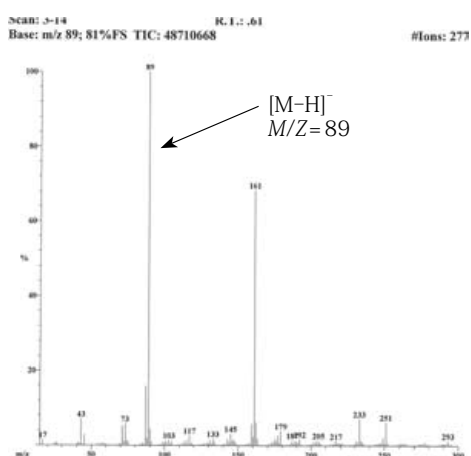


図4 乳酸のマススペクトル

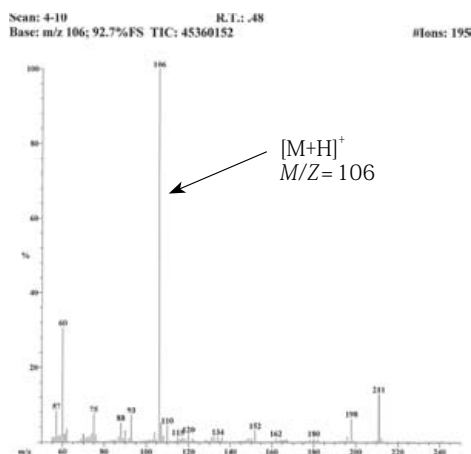


図5 セリンのマススペクトル

ク強度を大きくすることが重要となる。当社では特に FAB 法において、適切なマトリックスの選定およびそれと試料との適切な混合比を見出すことにより、分子に由来するピーク ( $M^+$ ,  $[M+H]^+$  や  $[M-H]^-$ ) の強度を非常に大きく、かつ、高精度に測定できる技術を開発した。これら 4 物質のマススペクトルを 5 日間

取得し、そのデータから算出した  $^{12}C$  同位体純度の分析精度 (室内再現精度) は、0.0209 (インドール) ~ 0.0775 % (乳酸) と Water- $^{18}O$  同様に良好な結果が得られている (表 2 および表 3 参照)。

表 2 アミノ酸前駆体 (N.A.) 分析の室内再現精度

測定番号	測定日	インドール中 $^{12}C$ 濃度 (atom %)	乳酸中 $^{12}C$ 濃度 (atom %)
イオン化方法		EI	FAB
検出イオンの電荷		+	-
1	2006/6/29	98.644	98.577
2	2006/7/7	98.622	98.718
3	2006/7/12	98.588	98.769
4	2006/7/14	98.618	98.719
5	2006/7/19	98.629	98.637
平均値		98.6202	98.6840
標準偏差		0.0206	0.0765
相対標準偏差 (%)		0.0209	0.0775

\*表の値は取得したマススペクトルより算出した  $^{12}C$  濃度。計算にあたり炭素以外の元素は天然存在比とした。

表 3 アミノ酸 (N.A.) 分析の室内再現精度

測定番号	測定日	セリン中 $^{12}C$ 濃度 (atom %)	グルタミン中 $^{12}C$ 濃度 (atom %)
イオン化方法		FAB	FAB
検出イオンの電荷		+	+
1	2006/5/22	98.399	98.488
2	2006/5/23	98.483	98.467
3	2006/5/24	98.524	98.431
4	2006/5/25	98.469	98.445
5	2006/5/29	98.496	98.486
平均値		98.4742	98.4633
標準偏差		0.0468	0.0250
相対標準偏差 (%)		0.0475	0.0254

\*表の値は取得したマススペクトルより算出した  $^{12}C$  濃度。計算にあたり炭素以外の元素は天然存在比とした。

#### 4. エネルギー・原子力分野：タグガスカプセル

タグガスとは、Kr と Xe が 1:1 で混合された混合ガスであり、高速増殖炉「もんじゅ」に対する3つの破損燃料検出システムの1つで使用されるガスである。本システムでは、Kr および Xe の安定同位体組成比を少しずつ変えたタグガスが充填されたカプセル（タグガスカプセル）を炉内のすべての燃料集合体毎に封入後、カプセルを開封し、それぞれの燃料集合体内に同ガスを拡散させる。いずれかの燃料集合体に亀裂等の破損が生じた際には、タグガスが放出され、このガスの組成分析により燃料集合体の破損検知と位置の特定が行える<sup>6)</sup>。使用されるカプセルの種類は、Kr (<sup>78</sup>Kr, <sup>80</sup>Kr, <sup>82</sup>Kr) と Xe (<sup>126</sup>Xe, <sup>129</sup>Xe) の組成比の組み合わせによって約200種類に及ぶ。本カプセルの外観を図7に示す。



図7 タグガスカプセル

カプセルに充填するガスは、複数個の同位体を濃縮した原料ガスを混合することで、目的の同位体組成とし、その後、レーザーを用いたカプセル封止装置（自社製）にてカプセル内に封止される。タグガスが封止されたタグガスカプセル内の同位体組成分析は、独自のカプセル開封装置にてカプセルを開封後、高精度希ガス同位体分析用質量分析計（単収束磁場型）を用いて行った。その結果、図8に示すように原子力分野での厳しい仕様（混合+分析精度：±2%以内）を満足する結果が得られた。

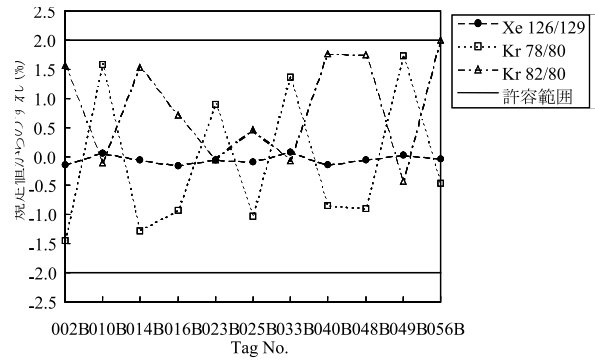


図8 タグガスカプセルの分析結果

#### 5. まとめ

安定同位体製品の精密分析技術として(1) Water-<sup>18</sup>O, (2) 標識アミノ酸, および(3) タグガスカプセルの分析例を質量分析計による同位体純度の分析を中心に紹介した。Water-<sup>18</sup>O 同位体分析は、環境大気中の酸素の影響を極限まで除いた電気分解と質量分析法を独自に組み合わせた方法の採用, (2) 標識アミノ酸は、最適化したイオン化法を用いた質量分析と NMR 法を組み合わせ、最後に(3) タグガスカプセルは、独自のカプセル開封装置と高精度希ガス同位体分析用質量分析計を組み合わせることにより、いずれのケースにおいても高精度な同位体分析技術を確立することができた。

当社は、今回紹介した分野に限らず、今後とも様々な分野で利用される安定同位体製品の内製化および分析技術の確立を進めていく。

#### 参考文献

- 1) 日本化学会編. 化学総説23 同位体の化学. 東京, 学会出版センター, 1979, 1-10.
- 2) 日本核医学協会・PET 核医学ワーキンググループ編. PET 検査 Q&A. 東京, 日本核医学協会, 日本アイソトープ協会, 2000, 16p.
- 3) 神辺貴史, 木原均, 林田茂, 川上浩. 大陽日酸技報. (23), 20-25 (2004).
- 4) 寺内勉, 小野明. 化学と工業. 58 (12), 1426-1429 (2005).
- 5) 日本質量分析学会用語委員会編. マススペクトロメトリー関係用語集. 東京, 日本質量分析学会, 1999.
- 6) 小林孝良, 秋山孝夫, 溝尾宣辰. 動燃技報. 56, 77-81 (1985).