

**1P-261 超臨界流体クロマトグラフィー三連四重極型質量分析による残留農薬の高感度迅速一斉分析法の開発**

和泉 自泰<sup>1,2</sup>, 中尾 素直<sup>1</sup>, 福崎 英一郎<sup>2</sup>, ○馬場 健史<sup>1,2</sup>  
 (1)九大・生医研, (2)阪大院・工)  
 bamba@bioreg.kyushu-u.ac.jp

現在、800種を超える農薬が規制の対象となっており、多種多様の農作物や加工食品について広範囲な農薬成分を効率的に検査する方法が必要となっている。我々はこれまでに、超臨界流体CO<sub>2</sub>(臨界温度31℃、臨界圧力7.4MPaを超えた状態の物質)の低粘性、高拡散性という性質がクロマトグラフィーの移動相として好ましいことを見出し、超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)の装置開発を行ってきた。本研究では、網羅性、高感度、ハイスループットを兼ね備えた新たな残留農薬一斉分析法の開発を目的として超臨界流体クロマトグラフィー三連四重極型質量分析(SFC/MS/MS)法の適応を試みたので報告する。SFC分離条件、イオン化条件、質量分離条件を詳細に検討することで、幅広い化学構造を持つ509種の農薬成分(MW: 99.0-913.5, logP<sub>ow</sub>: -4.6-8.1)の分離分析をわずか20分で達成した(72 samples/day)。さらに、農作物(トマト、キャベツ)粗抽出液の標準添加試験によるマトリックス効果を検証した結果、多くの化合物は、日本国内の一律残留基準値(0.01 mg/kg)以下の検出感度を保ったことから、実用性は十分であると結論付けた。最終的に、開発したSFC/MS/MS分析手法と既存技術であるLC/MS/MS法との性能を比較した結果、当該分析手法は、クロマト分離性能を落すことなくハイスループット分析が可能であり、さらに、検出感度が高い点において有意性があることが示された。

**Supercritical fluid chromatography/triple-quadrupole mass spectrometry-based method for highly sensitive and high-throughput analysis of multiresidue pesticides**

Yoshihiro Izumi<sup>1,2</sup>, Motono Nakao<sup>1</sup>, Eiichiro Fukusaki<sup>2</sup>, ○Takashi Bamba<sup>1,2</sup>  
 (1)Med. Inst. Bioreg., Kyushu Univ., (2)Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

**Key words** supercritical fluid chromatography, mass spectrometry, pesticide residue analysis

**1P-262 データ駆動型アプローチによる環境水プロファイリング**

大島 高裕<sup>1</sup>, ○伊達 康博<sup>1,2</sup>, 坪井 裕理<sup>2</sup>, 守屋 繁春<sup>1,2</sup>, 菊地 淳<sup>1,2,3</sup>  
 (1)横市院・生医, (2)理研・CSRS, (3)名大院・生命農学)  
 yasuhito.date@riken.jp

日本は水資源の豊かな国であり、我々は水圏環境より様々な生態系サービスの恩恵を享受している。このような水圏環境を持続的に利用・開発していくためには、その環境“恒常性”を維持することが重要となる。そこで我々は環境恒常性評価技術の確立を目指し、これまでに河口底泥(1)や魚類(2)、海藻類(3, 4)および水田環境生態系(5)等の代謝プロファイリング技術を報告してきた。本研究では、水棲生物を取り巻く水に着目し、荒川水田地帯や印旛沼、東京湾奥および関東・東北の河口域等からサンプリングを行い、データ駆動型アプローチ等のデータマイニング技術により、地理的・時系列的変動に基づく環境水中の代謝プロファイルについて評価した。本会では特に藻類の急速な増殖で“恒常性破綻”の起こる東京湾奥のデータを中心に議論したい。

Ref.: (1) Asakura, et al. (2014) Anal. Chem., 86, 5425-5432, (2) Yoshida, et al. (2014) Sci. Rep., 4, 7005, (3) Wei, et al. (2015) Anal. Chem., 87, 2819-2826, (4) Ito, et al. (2014) Anal. Chem., 86, 1098-1105, (5) Ogawa, et al. (2014) PLoS ONE, 9, e110723.

**Metabolic, mineral, and microbial profiling of environmental water based on data-driven approach**

Takahiro Oshima<sup>1</sup>, ○Yasuhito Date<sup>1,2</sup>, Yuuri Tsuboi<sup>2</sup>, Shigeharu Moriya<sup>1,2</sup>, Jun Kikuchi<sup>1,2,3</sup>  
 (1)Grad. Sch. Med. Life Sci., Yokohama City Univ., (2)RIKEN CSRS, (3)Grad. Sch. Bioagric., Sci., Nagoya Univ.)

**Key words** NMR metabolomics, data mining, ionomics, aquatic ecosystem

**1P-263 残留農薬分析に資する新規スプリット方式オンライン超臨界流体抽出クロマトグラフシステムの開発**

○酒井 美穂<sup>1,2</sup>, 安部 秋晴<sup>2</sup>, 市来 弥生<sup>3</sup>, 寺田 英敏<sup>4</sup>, 服部 考成<sup>4</sup>, 舟田 康裕<sup>4</sup>, 和泉 自泰<sup>5</sup>, 安藤 孝<sup>2</sup>, 福崎 英一郎<sup>1</sup>, 馬場 健史<sup>1,5</sup>  
 (1)阪大院・工, (2)宮崎農試, (3)宮崎産振機構, (4)島津製作所, (5)九大・生医研)  
 bamba@bioreg.kyushu-u.ac.jp

**【背景と目的】**抽出部と分離・検出部を結合したオンライン分析システムは、全自動での閉鎖系測定を可能とするため、測定中の成分揮発や分解、試料汚染のリスクが低く、その有用性は高い。しかし、食品などを対象とする場合、試料導入前に希釈することが困難であるため、分離・検出部でのオーバーローディングや汚染を生じてしまう。解決法として抽出後の固相抽出が提案されているが、溶出成分が制限されるなど欠点がある。そこで我々は、超臨界流体二酸化炭素を用いて、超臨界あるいは亜臨界状態のまま抽出物をスプリットし、分離・検出部へ直接導入する新規オンライン超臨界流体抽出クロマトグラフシステムを提案した。本発表では、農薬成分を対象としてそのスプリット挙動を検証したので報告する。

**【方法】**幅広い性質の農薬成分9種を5ml容量の抽出管に添加し、抽出圧力を一定に保ったまま、検出器側および廃棄側の2つの背圧弁の圧力を変動させることで、抽出物を検出部へ一部導入した。

**【結果と考察】**圧力変動に応じて検出部導入割合が変化した。また、モディファイアを添加した抽出条件において、試験に用いた成分の検出部導入割合は同程度となった。

**Development of online supercritical fluid extraction - supercritical fluid chromatography system with a new split system for pesticide residue analysis**

○Miho Sakai<sup>1,2</sup>, Akiha Abe<sup>2</sup>, Yayoi Ichiki<sup>3</sup>, Hidetoshi Terada<sup>4</sup>, Takanari Hattori<sup>4</sup>, Yasuhiro Funada<sup>4</sup>, Yoshihiro Izumi<sup>5</sup>, Takashi Ando<sup>2</sup>, Eiichiro Fukusaki<sup>1</sup>, Takashi Bamba<sup>1,5</sup>  
 (1)Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., (2)Miyazaki Agric. Res. Inst., (3)Miyazaki Enter. Prom. Org., (4)Shimadzu Corp., (5)Med. Inst. Bioregulation., Kyushu Univ.)

**Key words** supercritical fluid extraction, supercritical fluid chromatography, pesticide

**1P-264 SELEX-Seq 法による糸状菌転写因子 AmyR 結合部位ゲノムワイドスクリーニング**

○兒島 孝明<sup>1</sup>, 小林 哲夫<sup>2</sup>, 中野 秀雄<sup>1</sup>  
 (1)名大院・生命農・生命技術, (2)名大院・生命農・生物機構)  
 hnakano@agr.nagoya-u.ac.jp

**【目的】**SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) は標的分子に対して結合性を有する核酸を *in vitro* で濃縮選択する手法である。このSELEXと高速DNAシーケンズ解析を組み合わせることで、膨大なDNAライブラリーを用いた転写因子結合配列の網羅的解析を可能とする。本研究では、この手法を用いて *Aspergillus nidulans* における糖代謝遺伝子群の転写活性化因子 AmyR の結合部位をゲノムワイドで解析し、AmyR による転写制御機構の解明を目的とした。

**【方法・結果】**平均長約100bpに剪断化された *A. nidulans* ゲノムライブラリーを調製し、このライブラリーに対して MalE-AmyR 融合タンパク質を加える。これにより、AmyR 結合部位を保持する DNA と MalE-AmyR との複合体が形成される。この複合体はアミロースレジンを用いて分離され、選択された DNA は PCR によって回収される。この操作を3ラウンド実施後、各選択ラウンド DNA プールをマイクロビーズ上に固定化し、MalE-AmyR 及び蛍光標識抗体を用いてフローサイトメトリーによる AmyR 結合能の評価を行ったところ、各選択ラウンドにおける結合シグナルの増加を確認した。そこで各選択プールの配列を高速DNAシーケンサーによって解析し、得られた配列データを用いてバイオインフォマティクス解析を行ったところ、AmyR の既知の結合モチーフである CGGN<sub>8</sub>CGG が抽出された。また、AmyR 結合活性を示すプロモーター配列が多数検出され、現在詳細な解析を行っている。

**Genome-wide screening of DNA binding sites for a fungal transcription factor, AmyR, by using SELEX-Seq**

○Takaaki Kojima<sup>1</sup>, Tetsuo Kobayashi<sup>2</sup>, Hideo Nakano<sup>1</sup>  
 (1)Dept. Bioeng., Grad. Sch. Bioagr. Sci., Nagoya Univ., (2)Dept. Biol. Mech. Funct., Grad. Sch. Bioagr. Sci., Nagoya Univ.)

**Key words** AmyR, *Aspergillus nidulans*, SELEX-Seq, bioinformatics