

ラット肝臓および血清中の葉酸とその誘導体の定量
奈良女大家政 ○中田理恵子 塚本幾代

〔目的〕葉酸は生体内で還元型となり、プリン、ピリミジンなどの生合成に関与している重要なビタミンである。しかしながら、葉酸はその誘導体の種類が多く、かつ化学的に不安定であるために定量が困難で、葉酸の代謝については十分に明らかにされていない。そこで今回、HPLCにより分離し電気化学的に検出する我々が確立した方法にて、ラット肝臓中および血清中の葉酸類を定量した。

〔方法〕 μ Bondasphere phenylカラムを用いて、0.1mMEDTAと10%メタノールを含む50mMKH₂PO₄(pH3.5)を移動相とし、電気化学検出器(加電圧+750mV)にて検出し、8種類の葉酸およびその誘導体を定量した。肝臓と血清は、窒素置換した20mMメルカプトエタノール(β -SH)を含む0.2%アスコルビン酸Na溶液(pH7.8)中で10分間加熱後、破碎、遠心分離し葉酸を抽出した。これに塩化メチレンを加え脱脂後、ラット腎より部分精製したコンジュガーゼによりモノグルタミン酸型に加水分解した後に、HPLCに適用した。

〔結果〕ラット肝臓中には、1gあたり約8.5 μ gの葉酸類が存在しており、10-CHO-テトラヒドロ葉酸(THF)が60%、THFが21%、5-CH₃-THFが12%、5-CHO-THFが4%検出された。また、これまでラット肝臓中の検出が報告されていないプテロイルグルタミン酸(PteGlu)、ジヒドロ葉酸(DHF)、5,10-CH₂-THFは、本法によりそれぞれ0.3%、0.6%、1.6%存在することが判明した。血清中には、モノグルタミン酸型の5-CH₃-THFのみが検出され、12.4ng/ml存在していた。