

試料採取 2.5 g

添加：標準溶液 … ①

添加：抽出試薬 (A液 10 mL、B液 35 μ L) … ②

振とう抽出

遠心分離



添加：DTT、IAA、トリプシン
(還元、アルキル化、酵素消化)

添加：酢酸エチル

添加：TFA

③

手で振とう

遠心分離

固相抽出カラムなどで精製

濃縮乾固

定容後、マイクロフィルターでろ過

LC-MS/MS … ④

必要な試薬

- ・食物アレルギー分析用標準物質
「食物由来アレルギー抽出物※」
- ・LC-MS/MS分析用
「食物アレルギー抽出試薬※」
- ・ジチオトレイトール(DTT)
- ・ヨードアセトアミド(IAA)
- ・トリプシン
- ・酢酸エチル
- ・トリフルオロ酢酸(TFA)

※ 関東化学株式会社より販売中

操作の解説と注意点

①標準溶液

- 標準溶液の調製
標準物質を抽出試薬 (A液) で希釈し、必要な濃度に調整します。
余った希釈標準溶液は小分けにして冷凍保管し、お早めにご使用下さい。
- 標準溶液の添加
採取した試料へ、希釈標準溶液を添加します。

操作例：標準溶液を試料あたり10 μ g/g 添加する場合

(a)標準溶液の調製

抽出試薬 (A液) 200 μ L 添加
→5倍希釈標準溶液(2 mg/mL)



食物アレルギー分析用標準物質
(50 μ L, 10 mg/mL)

標準物質の容量・濃度は、
添付の製品規格書をご確認下さい。

(b)標準溶液の添加

5倍希釈標準溶液 12.5 μ L 添加
→試料当たり 10 μ g/g



試料 2.5 g

②抽出試薬

カカオ含有食品 (チョコレート) などポリフェノールの多い試料の場合は、
「食物アレルギー抽出試薬P」をご使用下さい。

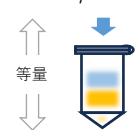
③界面活性剤の除去

抽出試薬に界面活性剤を含むため、LC-MS/MS測定前に除去をお勧めします。
(参照論文：Masuda et al., J Proteome Res. 2016;1:95-100.)

- 酢酸エチルを、試料溶液と等量添加します (添加後すぐ攪拌しない)。
- TFA を、終濃度0.5%となるように添加します。
- 手で振とう、遠心分離後、上層 (酢酸エチル層) を除去します。

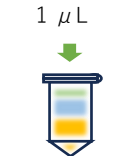
操作例：液液分配 (試料溶液が100 μ Lの場合)

(a)酢酸エチル添加
100 μ L



試料溶液
100 μ L

(b)TFA添加
1 μ L



酢酸エチル
100 μ L
試料溶液
100 μ L

$\times 0.5\% = 1 \mu\text{L}$

振とう、
遠心分離



上層 (界面活性剤)
を除去

下層を
次の操作へ

④LC-MS/MS

分析条件は提供していません。ご不明の際は、各機器メーカーへお問合せ
下さい。

- 紹介する使用法は一例であり、必ずしも分析結果を保証するものではありません。
- 本手法および抽出試薬は、特許第4831708号 を利用しています。

お問合せはこちら

前処理手法提供、受託分析も行っております。
お気軽にお問合せください。

一般財団法人 雑賀技術研究所

〒640-8341 和歌山市黒田二丁目1番20号

TEL 073(474)0860