[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

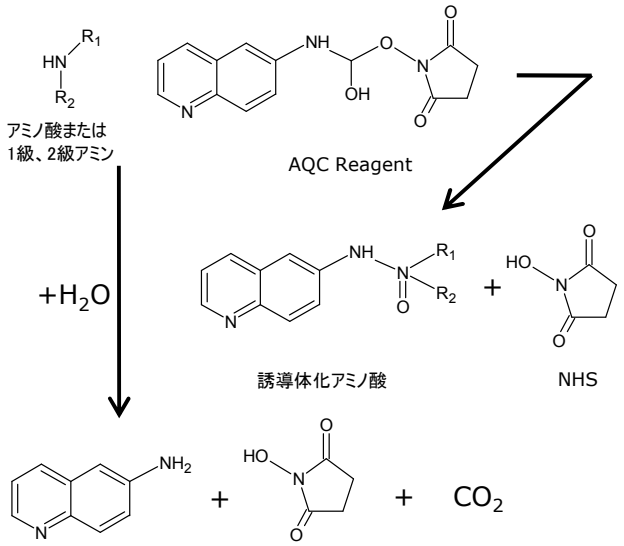
ACQUITY UPLC® H-Class システムによる誘導体化アミノ酸の分析

No. 2010060027J

概要

アミノ酸の分析にはプレカラム誘導体化法やポストカラム誘導体化法などがありますが、6-Aminoquinolyl-N Hydroxy Succinimidyl Carbamate (Waters AccQ･Tag™試薬)を用いるプレカラム誘導体化法は操作が簡便で反応後の誘導体化物も安定です。
また、誘導体化アミノ酸の分析もAccQ･Tag™ Ultraカラムを用いることにより、高速･高感度分析が可能となります。
今回は、誘導体化アミノ酸のAccQ･Tag™ Ultraカラム、ACQUITY UPLC® H-Class TUVシステムを用いた高速･高感度分析について検討しましたので、ご紹介いたします。

AccQ･Tag™ Ultraアミノ酸誘導体化



AccQ･Tag™ Ultra誘導体化試薬(AQC試薬)の反応プロセスを示します。AQC試薬は1級、2級アミンと迅速に反応し、非常に安定した誘導体化アミノ酸を生成します。その後、過剰な試薬は反応液中の水によって速やかに加水分解され、妨害成分とならない副生成物6-aminoquinoline (AMQ)、N-Hydroxy Succinimide (NHS)および二酸化炭素を生成します。

AccQ･Tag™ Ultra
UPLC™ Amino Acid Analysis

ACQUITY UPLC® H-Class

分析条件

UPLC条件
LC システム:Waters ACQUITY UPLC® H-Class TUVシステム
カラム:AccQ･Tag™ Ultra Column (2.1×100 mm 1.7 μm)
カラム温度:60℃
サンプル温度:15℃
注入量:1 μL(ACQUITY UPLC ® スタビライザー使用)
移動相A:AccQ･Tag Ultra Eluent A2
移動相B:AccQ･Tag Ultra Eluent B
洗浄溶媒:95%-アセトニトリル水溶液
パージ溶媒:5%-アセトニトリル水溶液
シール洗浄溶媒:5%-アセトニトリル水溶液
プレインジェクタ容量:850 μL
流速:0.7 mL/min
グラジエント:

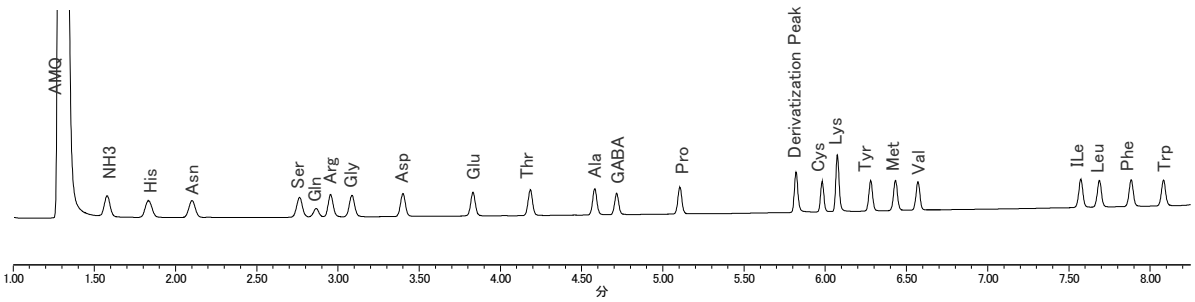
時間 (min)	A%	B%	Curve
0.00	99.9	0.1	Initial
0.54	99.9	0.1	6
5.74	90.9	9.1	7
8.74	78.8	21.2	6
9.04	40.4	59.6	6
9.67	40.4	59.6	6
9.73	99.9	0.1	6

検出波長:260 nm
タイムコンスタント:0.4
データポイント:20 point/sec
分析時間:11分

対象化合物

1. His
2. Asn
3. Ser
4. Gln
5. Arg
6. Gly
7. Asp
8. Glu
9. Thr
10. Ala
11. GABA
12. Pro
13. Cys
14. Lys
15. Tyr
16. Met
17. Val
18. ILe
19. Leu
20. Phe
21. Trp

クロマトグラム(100 pmol/μL)



検量線(5～500 pmol/μL)

アミノ酸	R^2
His	0.9997
Asn	0.9998
Ser	0.9999
Gln	1.0000
Arg	1.0000
Gly	1.0000
Asp	0.9992
Glu	0.9994
Thr	0.9998
Ala	0.9997

アミノ酸	R^2
GABA	0.9992
Pro	0.9999
Cys	0.9999
Lys	0.9996
Tyr	0.9999
Met	0.9999
Val	0.9999
ILe	0.9999
Leu	0.9999
Phe	1.0000
Trp	1.0000

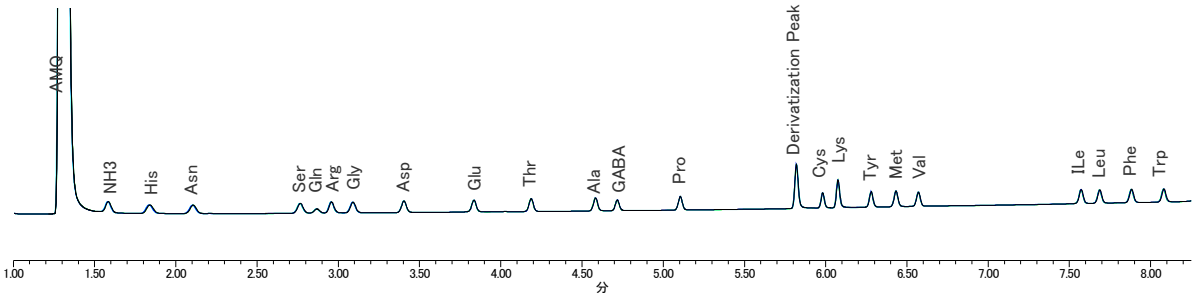
検量線　5、10、50、100、500 pmol/μL

繰り返し再現性(50 pmol/μL×4回インジェクション)

アミノ酸	%RSD	
	保持時間	面積
His	0.17	0.48
Asn	0.13	0.22
Ser	0.07	0.25
Gln	0.06	0.56
Arg	0.06	0.50
Gly	0.05	0.48
Asp	0.02	0.99
Glu	0.02	0.36
Thr	0.02	0.18
Ala	0.02	0.45

アミノ酸	%RSD	
	保持時間	面積
GABA	0.02	0.91
Pro	0.01	0.33
Cys	0.02	0.44
Lys	0.02	0.54
Tyr	0.02	0.97
Met	0.01	0.16
Val	0.01	0.19
ILe	0.02	0.26
Leu	0.02	0.54
Phe	0.02	0.37
Trp	0.02	0.33

繰り返し測定クロマトグラム(50 pmol/μL×4回インジェクション重ねがき)



結論

AccQ・Tag™ Ultra試薬を用いることにより、簡便、迅速かつ正確にアミノ酸の誘導体化を行うことができます。さらに ACQUITY UPLC® H-Class TUVシステムとAccQ・Tag™ Ultraカラムの使用による高速・高分離なデータにより、信頼性の高い定量結果をもたらします。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社　www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001　東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル
TEL 03-3471-7191　FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011　大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル 11F
TEL 06-6304-8888　FAX 06-6300-1734
ショールーム　東京　大阪
テクニカルセンター　東京　大阪　名古屋　福岡　静岡