

■在生物药品分析中的应用 (肽制剂降钙素的氨基酸组成分析)

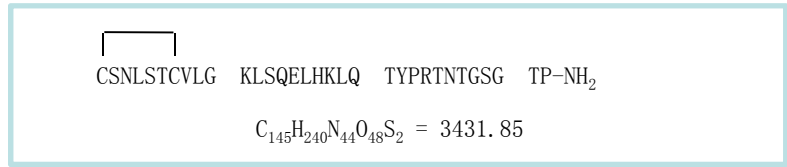
AS/AAA-006

降钙素是由32个氨基酸组成的分子量为3432的多肽。作为此类肽制剂的一种品质评价方法,可以进行氨基酸组成鉴别。
此次,使用L-8900型 日立高速全自动氨基酸分析仪,以日本药典(*)规定的分析方法(使用3 μm的色谱柱)得到了降钙素的氨基酸组成。本次试验所用降钙素(鲑鱼)为市售试剂。

(*) : 日本药典第16版(2011年4月1日起执行)

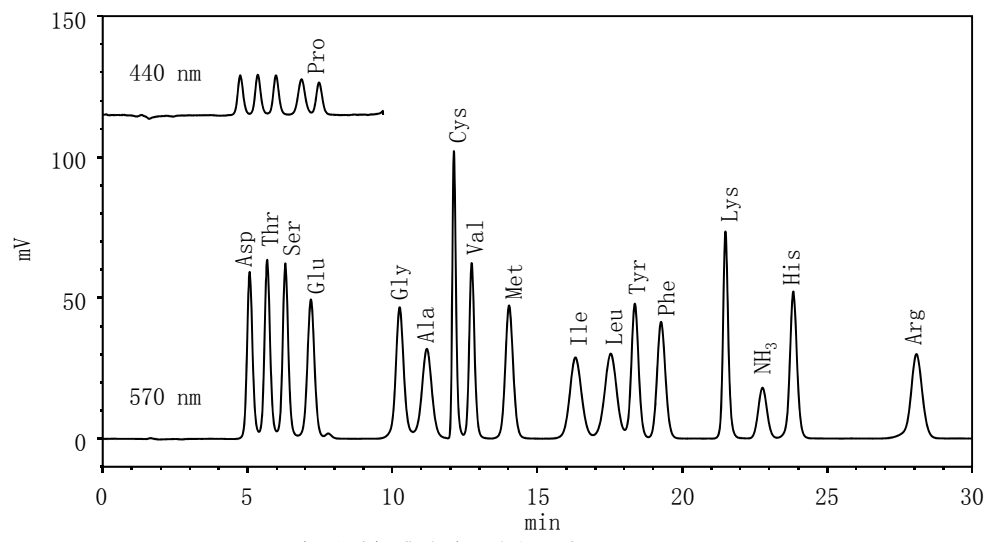


【 L-8900高速全自动氨基酸分析仪】



【降钙素的结构式】

■标准样品测定例 (系统适用性的确认)



【氨基酸标准溶液测定例 (各 2 nmol/10 μL)】

(色谱图中标记的Cys表示胱氨酸(半胱氨酸的二聚体)。)

<标准分析法色谱条件>

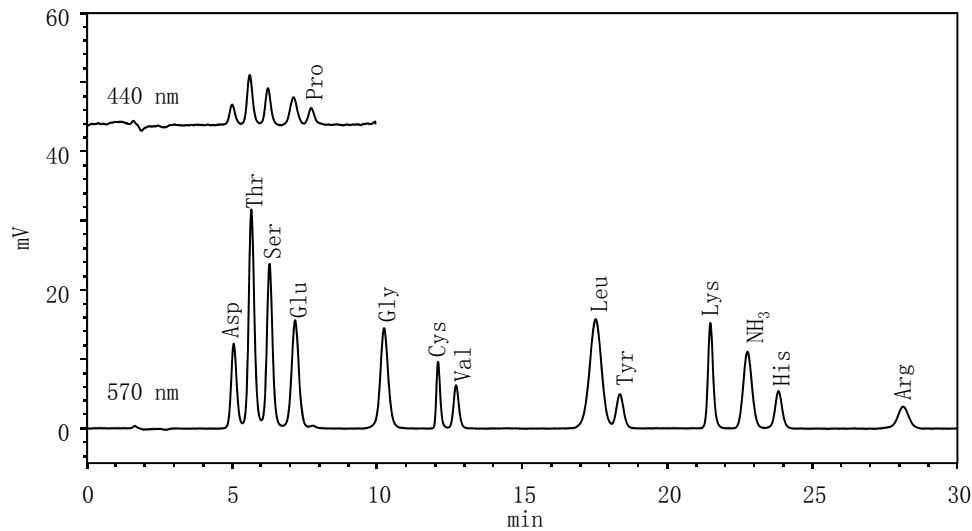
分析柱 : #2622PH 4.6 mm I.D. × 60 mm	反应液 : Ninhydrin coloring solution kit for HITACHI
除氨柱 : #2650L 4.6 mm I.D. × 40 mm	反应液流速 : 0.35 mL/min
流动相 : PH-Buffer Kit	反应温度 : 130 °C
流速 : 0.4 mL/min	检测波长 : VIS 440 nm、570 nm
柱温 : 57 °C	进样量 : 10 μL

(注) 已对流动相的梯度程序进行部分调整。

系统适用性项目		规定值	测定结果
系统性能	氨基酸洗脱顺序	依序为天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、胱氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸	如左侧所示
	分离度 (苏氨酸-丝氨酸)	1.2 以上	1.79
	分离度 (甘氨酸-丙氨酸)	1.0 以上	1.68
	分离度 (异亮氨酸-亮氨酸)	1.2 以上	1.59
系统的重现性	天冬氨酸、脯氨酸、缬氨酸、精氨酸的各峰面积的相对标准偏差 (n = 3)	均在 2.0 % 以下	0.23 %、0.63 % 0.13 %、0.30 %

【系统适用性】 洗脱顺序、分离度、面积值的相对标准偏差均得到了完全符合规定值的结果。

■降钙素测定例 (组成氨基酸的鉴别)



【降钙素测定例】

(色谱图中标记的Cys表示胱氨酸(半胱氨酸的二聚体)。)

<组成氨基酸的鉴别>

成分名称	规定值 (相对于Leu的摩尔比)	测定结果
天冬氨酸 (Asp/D)	1.9 ~ 2.1	2.0
苏氨酸(Thr/T)	4.5 ~ 4.9	4.9
丝氨酸 (Ser/S)	3.2 ~ 3.8	3.7
谷氨酸 (Glu/E)	2.8 ~ 3.1	3.1
甘氨酸 (Gly/G)	2.7 ~ 3.3	3.0
1/2 胱氨酸 (Cys/C)	1.5 ~ 2.5	1.9
缬氨酸 (Val/V)	0.9 ~ 1.0	1.0
亮氨酸 (Leu/L)	定为5	定为5
酪氨酸 (Tyr/Y)	0.8 ~ 1.0	1.0
赖氨酸 (Lys/K)	1.9 ~ 2.3	2.0
组氨酸 (His/H)	0.8 ~ 1.1	1.0
精氨酸 (Arg/R)	0.9 ~ 1.1	1.0
脯氨酸 (Pro/P)	1.9 ~ 2.4	2.3

<样品前处理 (水解)>

样品 1 mg
 | ← 6 mol/L 盐酸 0.5mL
 脱气
 |
 加热 110 °C、24 hr
 |
 真空干燥
 |
 使用 5mL 0.02 mol/L 的盐酸溶解
 |
 过滤 孔径 0.2 μm
 |
 氨基酸分析样品 (10 μL)

<肽含量>

项目	规定值	测定结果
肽含量	80 % 以上	87.9 %

其他氨基酸相对亮氨酸 (Leu) 的摩尔比均在规定值的范围内, 得到了良好的结果。
 肽含量也得到了符合规定值的结果。

仪器配置 : L-8900高速全自动氨基酸分析仪

注意: 本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。
 仪器只是研究用仪器, 而不是诊断、治疗或预防人或动物疾病的医疗仪器。