

トリプトファン / チロシン / HIAA / HMMA の自家蛍光分析

Application Note: AN 2.007

芳香族分子であるトリプトファンとチロシンは、自家蛍光でタンパク質を検出する上で主要な役割を持つアミノ酸です。5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA) とDL-4-ヒドロキシ-3-メトキシマンデル酸 (HMMA) はより大きな分子です。5-HIAAは筋肉を刺激し、トリプトファンから派生したホルモンであるセロトニンの主要代謝物です。HMMAはフルーツ酸の一種で、 α -ヒドロキシ酸 (AHA) とも呼ばれ、感染症の治療や、しわ、色素斑、にきびなど多くの皮膚の欠陥を治療する能力から化粧品に使用されています。

このアプリケーションノートでは、275 nm LED誘起蛍光検出器によるこれら4成分の分析をご紹介します。

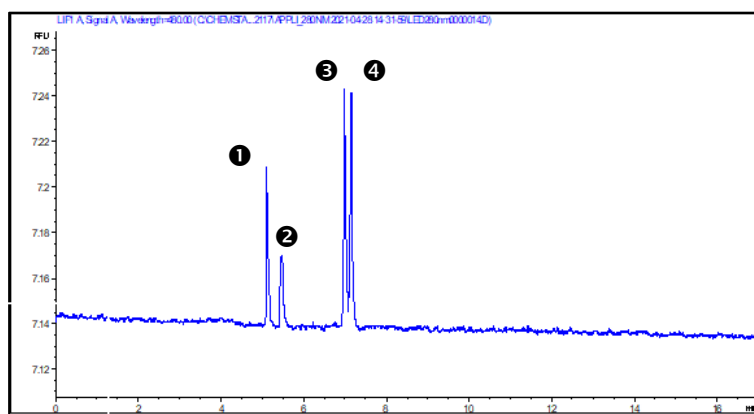
分離メソッド

メソッドの主な特徴：

- サンプル注入：50 mBar during 10 s
- 分離：16 kV during 17 min.
- 温度：25 °C
- バッファー：CAPS 10 mM, Sodium Tetraborate 15 mM
- 蛍光標識無し

装置：

- キャピラリー電気泳動：Agilent Technologies 7100 CE
- 検出器：ZETALIF LED 275
- フューズドシリカキャピラリー：75 μ m ID
- 全長 = 65 cm / 有効長 = 44 cm



- ① トリプトファン 1.10^{-7} M
- ② チロシン 1.10^{-6} M
- ③ 5-ヒドロキシインドール酢酸 (HIAA) 1.10^{-7} M
- ④ DL-4-ヒドロキシ-3-メトキシマンデル酸 (HMMA) 1.10^{-6} M

Figure 1 : CE-LEDIFによるトリプトファン、チロシン、HIAA、HMMAの分析

検量線と検出限界 (LOD)

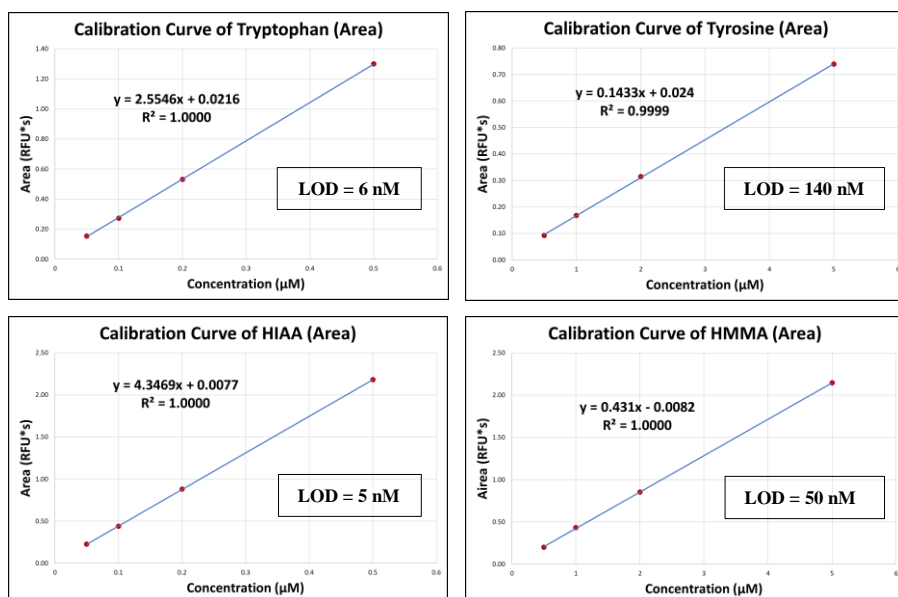


Figure 2 : トリプトファン、チロシン、HIAA、HMMAの検量線と検出限界

結論：

275 nm LEDは、自家蛍光の分子の検出において、266 nmレーザーに匹敵する感度を得られます。パルスレーザーとは異なり、直線的な検量線を得ることができます。

Table 1 : トリプトファン、チロシン、HIAA、HMMAの検出限界

Molecules	Minimum Concentration Tested (nM)	S/N Ratio	LOD (nM)
Tryptophan	50	23.6	6
Tyrosine	500	10.7	140
HIAA	50	30.7	5
HMMA	500	28.1	50