

アミノ酸とカテコールアミンの分析

Application Note: AN 2.002-V3

このアプリケーションノートでは、NDAで標識した20種類の主要アミノ酸とカテコールアミンのCE/LEDIF分析とキャピラリー LC/LEDIF分析の比較を示します。これにより、分析者のニーズに最も適した分析法を見出すことができます。

NDA (ナフタレン-2,3-ジカルボキシアルデヒド) を使用したのは、第一級アミンを含む分子を100ピコモルという低濃度で誘導体化できるためであり、この方法が簡単で感度の高い検出に最適な標識方法であるためです。

CE-LEDIF 分析

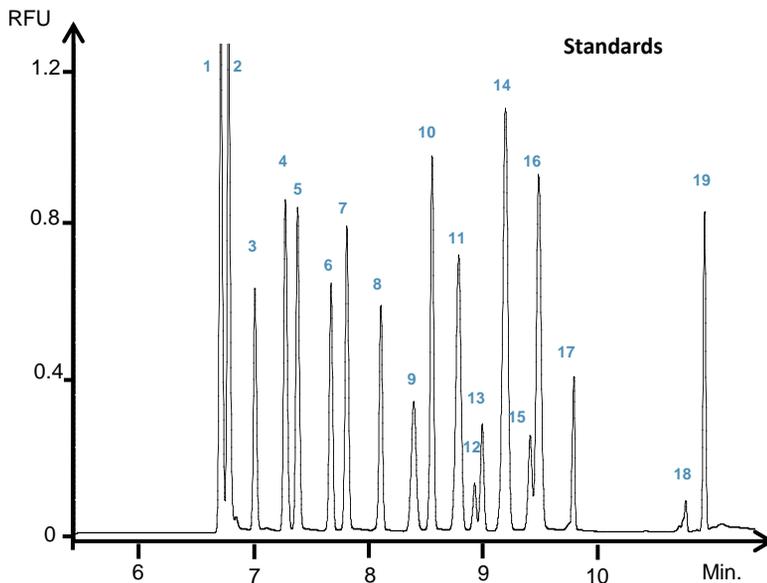


Figure 1 : CE-LEDIFによるアミノ酸およびカテコールアミンの分析

1 Glutamine/Threonine	7 Asparagine	13 Norepinephrine
2 Histidine/Serine	8 Gaba	14 Leucine
3 Tyrosine	9 Valine	15 Glutamate
4 Alanine	10 Methionine	16 Aspartate
5 Glycine	11 Tryptophane	17 Dopamine
6 Phenylalanine	12 Isoleucine	18 Lysine
		19 Arginine

装置 :

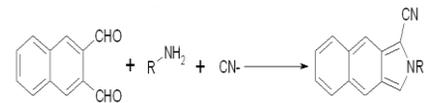
キャピラリー電気泳動 : Agilent Technologies CE7100
 検出器 : Picometrics ZETALIF LED with LED 450 nm/30 nm

サンプル :

標準品 : 10^{-7} M (10^{-6} Mで標識し注入前に10倍希釈したもの)

標識 :

NDA は、天然状態では弱い蛍光を発する蛍光色素ですが、CN- および第一級アミンと反応すると優れた蛍光収率が得られます。このような誘導体は、LED を使用して450 nmで励起できます。



メソッド :

キャピラリー : 65 cm x 50 μ m ID
 分析時間 : 16 minutes
 注入 : 10 seconds at 50 mbar

Table 1 : CE-LEDIFによるアミノ酸およびカテコールアミンの分析パラメータと検出限界 (LOD)

	CE-LEDIF
Run Time	16 min
Injection volume	32 nL
LOD Glutamate	8.8×10^{-10} mol/L
LOD Gaba	8.4×10^{-10} mol/L

Capil.LC - LEDIF 分析

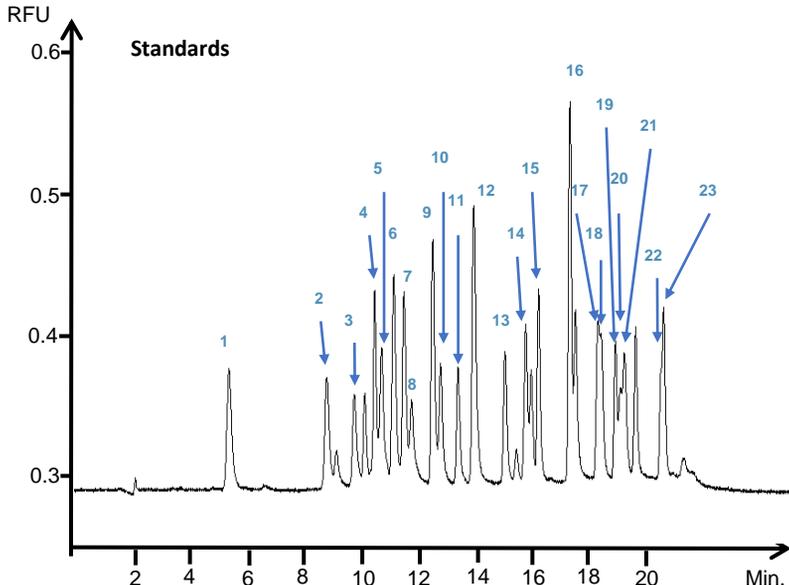


Figure 2 : Capil.LC-LEDIFによるアミノ酸およびカテコールアミンの分析

- | | | | |
|--------------|--------------|-------------------|------------------|
| 1 Histidine | 7 Serine | 13 Tyrosine | 19 Dopamine |
| 2 Arginine | 8 Aspartate | 14 Alanine | 20 Valine |
| 3 Asparagine | 9 Taurine | 15 Norepinephrine | 21 Phenylalanine |
| 4 histamine | 10 Glutamate | 16 GABA | 22 Isoleucine |
| 5 Glutamine | 11 Threonine | 17 Methionine | 23 Leucine |
| 6 Citrulline | 12 Glycine | 18 Tryptophane | |

装置:

キャピラリー-HPLC : Ultimate LC Packing system
検出器 : Picometrics ZETALIF LED with LED 450 nm/30 nm

サンプル:

標準品 : アミノ酸 10⁻⁸ M

標識:

NDAで標識したアミノ酸

メソッド:

移動相 : A : クエン酸ナトリウム; B: アセトニトリル

緩衝液 : 5mM pH=3.2

流量 : 5 μL/min

注入量 : 1 μL

カラム : Inertsil ODS3, 3 μm 150 mm x 300 μm

分析時間 : 22分

Table 2 : Capil.LC-LEDIFによるアミノ酸およびカテコールアミンの分析パラメータとLOD

	Capil.LC-LEDIF
Run Time	22 min
Injection volume	1 μL
LOD Glutamate	5.5 x 10 ⁻¹⁰ mol/L
LOD Gaba	2.4 x 10 ⁻¹⁰ mol/L

結論:

このアプリケーションでは、キャピラリー-LC-LEDIFとCE-LEDIFを用いてアミノ酸とカテコールアミンを同時に検出することができます。これらの方法は、分析者にマイクロダイアリセートの分析感度の最も強力なツールの一つを提供します。

CE-LEDIFでは、サンプルの注入量が32 nLであるため、分析者は同じサンプルでの検査回数を増やすことができ、補完的な方法で他の分析データを提供することができます。

※マイクロダイアリレート : 微小透析法 (マイクロダイアリシス) を使用して得られるサンプル

参考文献:

- [I] Siri N, Lacroix M, Garrigues JC, Poinsot V, Couderc F. Electrophoresis. 2006, 27, 4446-55
- [II] Poinsot V, Rodat A, Gavard P, Feuer B, Couderc F. Electrophoresis, 2008, 29, 207-223
- [III] Lacroix M, Garrigues JC, Couderc F. J Am Soc Mass Spectrom. 2007, 18, 1706-13.