

## LC-MS専用アミノ酸分析カラム

世界初のLC-MS専用 非ラベル化(インタクト)アミノ酸専用分析カラム

汎用LC-MSで簡単・高速にアミノ酸分析が可能

イントラダー

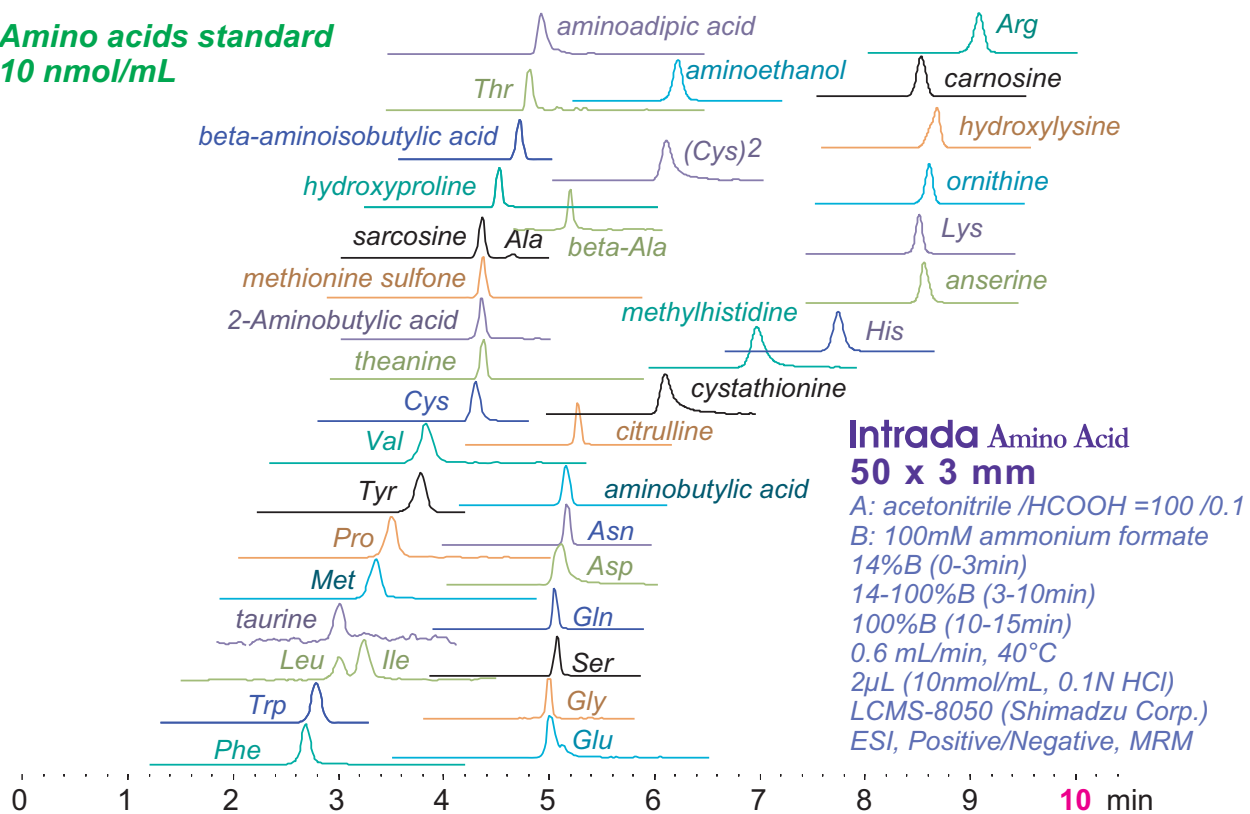
# Intrada Amino Acid

アミノ酸をラベル化することなくLC-MS分析ができます  
 Leu, Ile などの異性体分離も可能です  
 タンパク質構成アミノ酸は5-10分で測定ができます  
 アミノ酸や関連化合物, シペプチドなどに適用できます  
 アミノ酸の組合せによっては1分以下のハイスループット分析ができます

高純度球状シリカ / 3 $\mu$ m 粒子 / アミノ酸分離専用固定相(イオン交換+順相モード)

## LC-MS(/MS)で10分以内に分析が可能

**Amino acids standard**  
 10 nmol/mL



質量分析装置(MS)は質量の異なるアミノ酸を選択的に検出できる汎用検出器です。この汎用MS検出器を活用するために、インタクトはカラム専門メーカーとして世界で初めてアミノ酸分離専用固定相を開発しました。

Intrada Amino AcidカラムとLC-MSの組合せにより、ラベル化の煩雑さがなく、短時間分析が可能になりました。しかも従来法にはなかったカラムサイズバリエーションにより、アミノ酸の組合せによっては1分というハイスループット分析が実現できる革新的な製品です。ロイシン/インロイシンが分離できるだけでなく、 $\beta$ -、 $\gamma$ -アミノ酸異性体やジペプチドなど、アミノ酸関連化合物への適用範囲が広いことも特長です。

遊離アミノ酸分析, タンパク質構成アミノ酸組成分析, アミノ酸代謝系, アミノ酸バイオマーカーなどの研究分野への応用が期待されます。

## 55種類のアミノ酸を10分でLC-MS分析

Intrada Amino Acid の固定相は、アミノ酸の保持や分離のために特別に設計されています。従来のプレラベル化法のような煩雑さがなく、しかも汎用のLC-MSを用いてハイスループット分析が可能となりました。現時点で55種類のアミノ酸および類縁物質の分析が可能となりました。

### 55種アミノ酸(標準試料)

**Intrada Amino Acid, 50 x 3 mm**

**A: acetonitrile /tetrahydrofuran /25mM ammonium formate /formic acid = 9 / 75 / 16 / 0.3**

**B: acetonitrile / 100mM ammonium formate = 20 / 80**

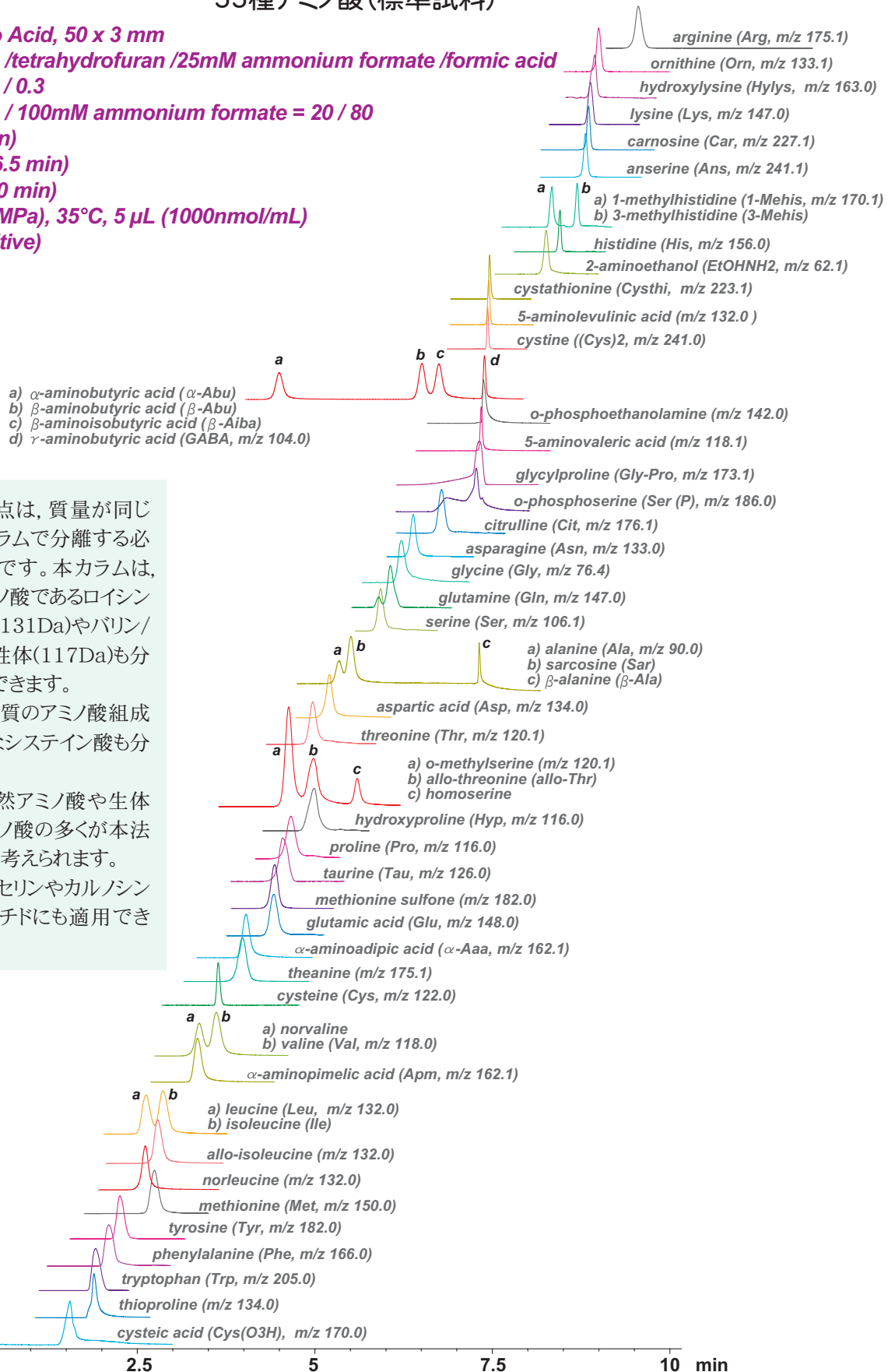
**0 %B (0-2.5min)**

**0-17 %B (2.5-6.5 min)**

**100 %B (6.5-10 min)**

**0.6 mL/min (6MPa), 35°C, 5  $\mu$ L (1000nmol/mL)**

**ESI (SIM, positive)**



LC-MSの難点は、質量が同じ化合物は、カラムで分離する必要のあることです。本カラムは、基本的なアミノ酸であるロイシン/イソロイシン(131Da)やバリン/ノルバリン異性体(117Da)も分離することができます。

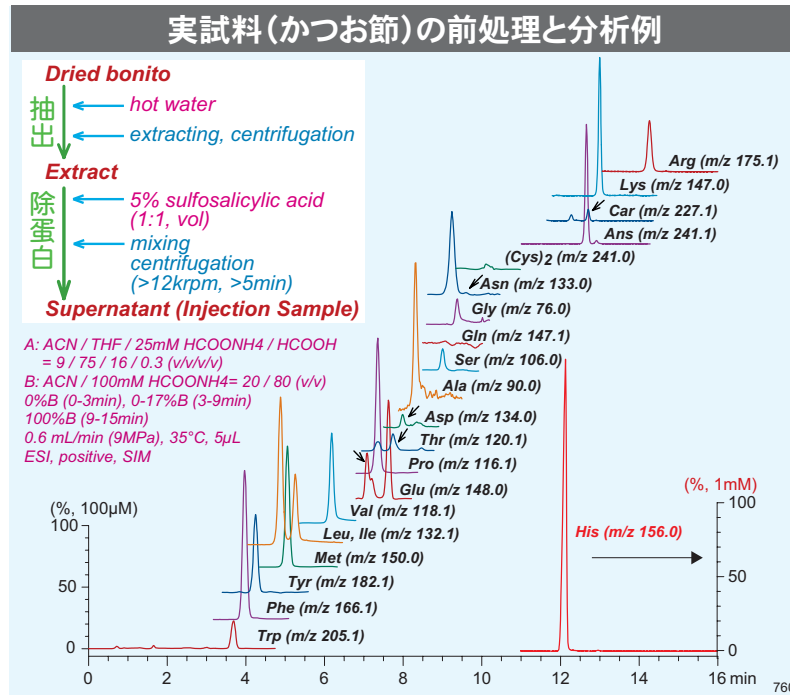
また、タンパク質のアミノ酸組成分析で重要なシステイン酸も分析できます。

この他、非天然アミノ酸や生体中の遊離アミノ酸の多くが本法で分析可能と考えられます。

さらには、アンセリンやカルノシンなどのジペプチドにも適用できます。

## ♪ 拡張性の高い豊富なカラムサイズと柔軟な分析条件

従来のアミノ酸分析法に比べて、本法は自由度の高い分析法です。移動相組成をアミノ酸の種類や分析感度などに応じて変更することもできます。また、カラムサイズを変更することにより、精密分離や超高速分析も可能にしました。異性体を含まないアミノ酸であれば1分以内の分析も可能です。さらには、高極性ジペプチドなど、通常の逆相モードでは困難なアミノ酸系化合物にも適用できます。



実試料を分析する場合、アミノ酸の抽出と除蛋白操作が必要となります。

アミノ酸抽出には試料に応じて水もしくは酸性水溶を用います。除蛋白操作は、5%スルホサリチル酸もしくは0.4N過塩素酸を等量添加することでタンパク質が速やかに凝集するので、遠心により簡単に処理できます。得られた酸性の上清液はそのままカラムに注入することができます。

左図はかつお節を熱水で抽出し、スルホサリチル酸で除蛋白したものをカラム注入した分析例です。ロイシンとイソロイシン(異性体)も短時間で分離できており、さらに塩基性のヒスチジン含有量が特異的に多いこともわかりました。

定量性と感度は、アミノ酸固有の構造やMS性能に依存します。高感度分析にはトリプル四重極MSやTOF-MS, FT-MSなどが推奨されます。また高精度定量が必要な場合は、対象アミノ酸の同位体を内部標準として使用する必要があります。

## 20種標準遊離アミノ酸の推奨分析条件と分離メカニズム

**Intrada Amino Acid, 100 x 3 mm**

**A: acetonitrile / formic acid = 100 / 0.3**

**B: acetonitrile / 100mM ammonium formate = 20 / 80**

**20%B (0-4 min), 20-100%B (4-14 min), 100%B (14-16 min)**

**0.6 mL/min (5MPa), 37°C, 5 μL (acidic solution)**

**MS: SingleQ /TripleQ/ TOF-MS / FT-MS (ESI. positive)**

アミノ酸種類が多い場合には100x3mmが推奨されます

陽イオン化したアミノ酸を酸性下、順相・イオ的に吸着

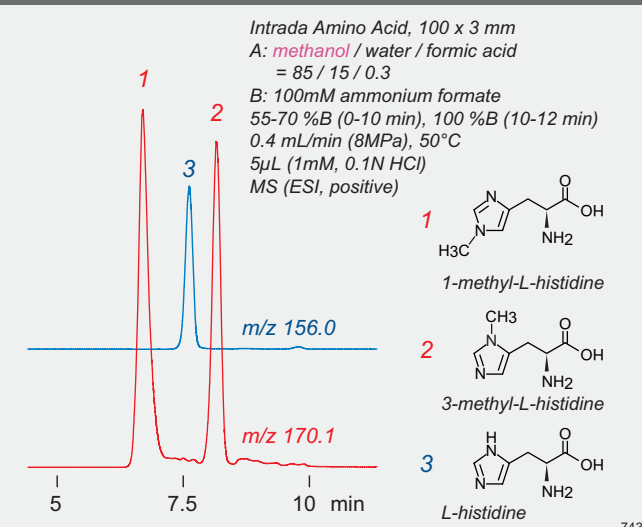
pH・イオン強度を上げ、有機溶媒濃度を下げて溶出

100%Bはカラム洗浄も兼ねています

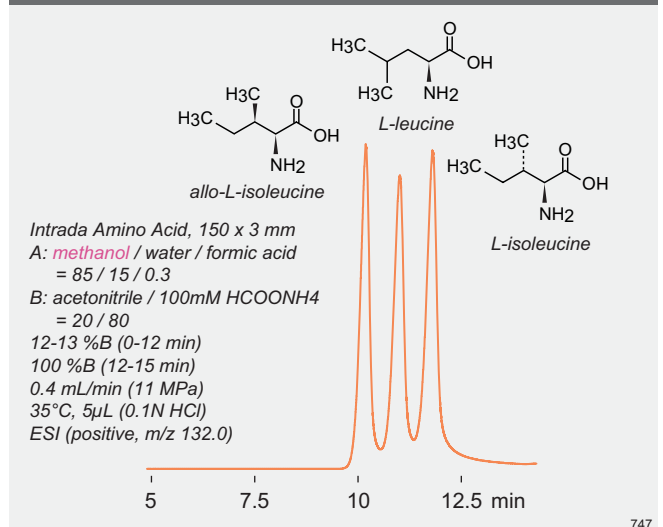
注入試料溶液は酸性条件下でアミノ酸を陽イオン化(2%酢酸, 0.2N 過塩素酸, 0.1N 塩酸などの注入溶媒)

夾雑物が多い場合や高感度が必要なときはMS/MS, TOF-MS, FT-MSが推奨されます

### ヒスチジンのメチル化異性体の分析例



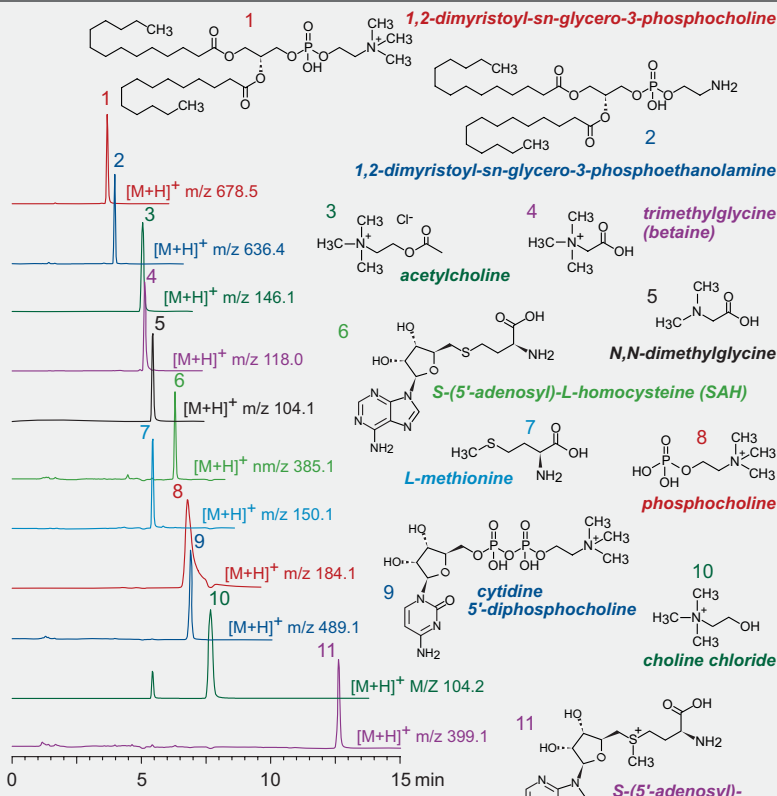
### ロイシン異性体 (131Da) の分析例



異性体の分離には100mm以上の長いカラムが推奨されます。さらに本カラムの分離原理である「順相+カチオン交換」に則り、初期溶媒を選択性の異なるメタノールに替え、順相+pH+イオン強度グラジエントの勾配を最適化することで異性体分離が容易になります。

本法は、汎用LC-MSを用いるため、従来のアミノ酸分析専用システムよりも自由度が高くなる利点があります。また質量分析装置の難点である異性体の分析に関しても、アミノ酸を誘導体化することなくカラム本来の役割である「分離」を容易に実現できます。

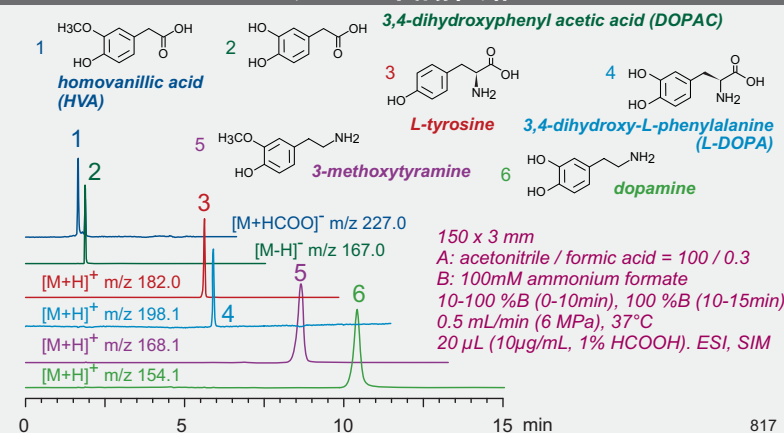
## コリン代謝物と関連アミノ酸



Intrada Amino Acid, 100 x 3 mm  
 A: acetonitrile / formic acid = 100 / 0.3  
 B: acetonitrile / 100mM ammonium formate = 20 / 80  
 10-100%B (0-10min), 100 %B (10-15min)  
 0.4 mL/min (3 MPa), 37°C, 10  $\mu$ L (5 $\mu$ g/mL, 2% HCOOH), ESI (positive, SIM)

816

## チロシン代謝経路



150 x 3 mm  
 A: acetonitrile / formic acid = 100 / 0.3  
 B: 100mM ammonium formate  
 10-100 %B (0-10min), 100 %B (10-15min)  
 0.5 mL/min (6 MPa), 37°C  
 20  $\mu$ L (10 $\mu$ g/mL, 1% HCOOH). ESI, SIM

817

## ご注意

- 本製品は、LC-MS専用のアミノ酸・関連化合物分析用カラムです。UVやELSDなどによる検出方法は、ピークの同定が不確実となりますのでおすすめできません。
- 分析感度は、使用される質量分析装置に依存しますので、分析目的や必要感度に適したLC-MSをご用意ください。
- 本製品をご使用の際には一般化合物と同様に、前処理方法、カラムサイズ、グラジエント条件、検量線など、HPLC分析条件の最適化をそれぞれのメソッドごとに実施する必要があります。
- アミノ酸組成分析など、試料の前処理方法は一般的な加水分解法をご参照ください。

## 製品情報 Intrada Amino Acid

カラム内径	カラム長 (内径により異なります)
3mm, 2mm, 1mm	10mm, 20mm, 30mm, 50mm, 75mm 100mm, 150mm, 250mm

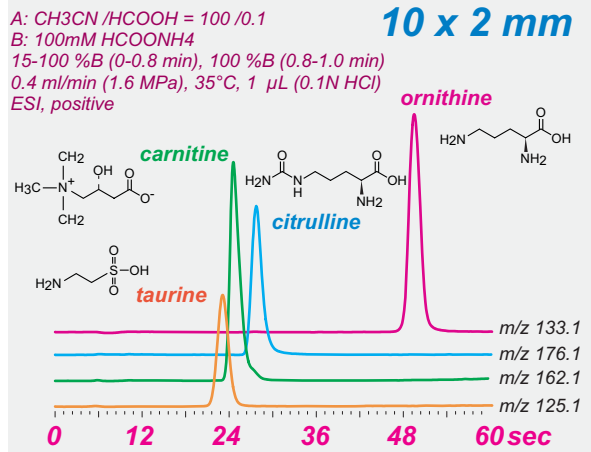
本製品にはガードカラムはございません。適切な試料前処理方法をご検討ください  
 「マイクロ/ナノカラム」のラインアップについてはお問い合わせください。

**Imtakt** インタクト株式会社 ホームページにおいてください。  
 最新情報があります。

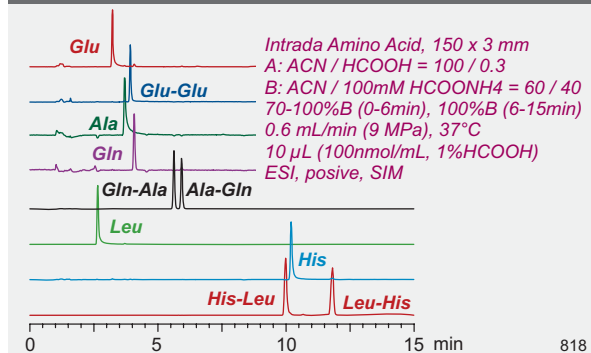
[www.imtakt.com](http://www.imtakt.com)

〒600-8813 京都市下京区中堂寺南町 京都リサーチパーク  
 PHONE:075-315-3006 FAX:075-315-3009 E-mail: info@imtakt.com

## 超高速分析例

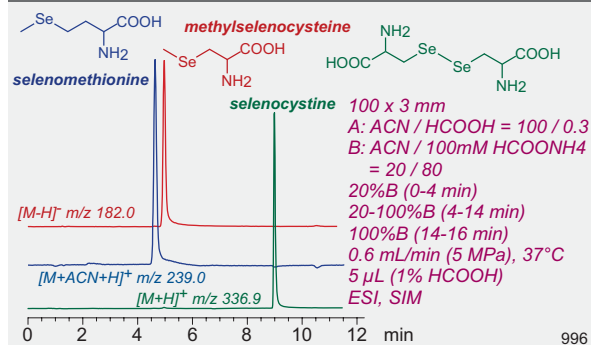


## レトロペプチド



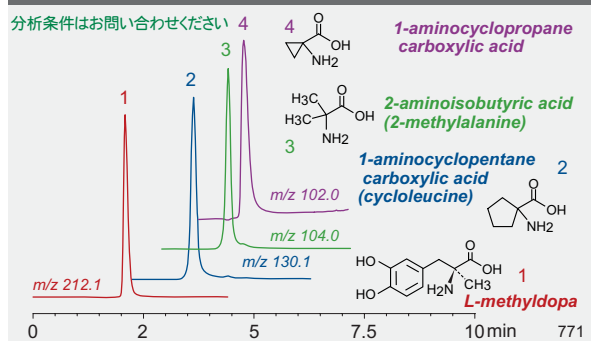
818

## セレンアミノ酸



996

## 非天然型アミノ酸



771