

AHSTシステムによるペプチド/タンパク質の迅速アミノ酸組成分析

1. はじめに

ペプチドやタンパク質の特性を理解する上で、ペプチドやタンパク質を構成するアミノ酸情報は重要である。アミノ酸組成や配列を解析するためにはエドマン分解や標識など煩雑な操作が必要な場合が多い。

加水分解・化学誘導体化のための装置、AHST-16による迅速加水分解とアミノ酸分析カラム Intrada Amino acidを組み合わせた方法により、サンプル中のアミノ酸組成を迅速簡便に測定した。

2. 実験方法

迅速加水分解に供するサンプルとして、ペプチド試料(H-SVVFGLR-OH, 血管新生剤) 0.7 mgを使用した。秤量したサンプルを専用ガラスバイアル(H255, HiPep Laboratories)に入れ、TFA/5.7 N HCl = 2/1 100 μ Lに溶解し、シーリングプラグ(H500, HiPep)とバキュームベッセル(H815, HiPep)を用いて真空封管した。真空封管したバイアルはAHST-16にセットして165°Cで1時間加熱し、完全加水分解を行った。加熱処理後、シーリングプラグからバイアルを取り出し、ブロースタンド(AHST-8BS, HiPep)を用いてサンプルの濃縮を行った。濃縮後、得られた残渣は0.01 N HCl/ MeCNに溶解させ、不溶成分をフィルターで除いた後、LC-MS分析に供した。

3. 結果

迅速加水分解法により、サンプルとしたペプチドに含まれるアミノ酸を検出した。Glyについては、分子量が小さく、使用したイオントラップ型質量分析計ではピークとして検出出来なかったが、四重極型の質量分析計を用いると全てのアミノ酸は検出できた。

4. まとめ

シーリングプラグ・バキュームベッセルとAHST-16により、サンプルを簡便に封管し迅速な完全加水分解を行うことが出来た。サンプルを秤量から2時間程度で目的とするアミノ酸組成データが取得できた。ブロースタンドにより、加水分解後の濃縮操作、残存酸の除去も容易であった。

本システムの応用例

1. K. Nokihara, et al., *Amino acids*, 48, 2491-2499, 2016.
2. T. Sasaki, et al., *Chem. Biol. Drug. Des.*, 102, 1327-1335, 2023.
3. T. Kasama, et al., *Anal. Sci.*, 40, 1219-1223, 2024.

- 1: 複雑な操作無しでサンプルを封管することが可能です
- 2: 加熱処理と、加熱後サンプルの濃縮を1つの装置で行えます
- 3: 特別な標識処理を行わずにアミノ酸を検出できます

表1. LC条件

LC	Nexera™ XR
Flow	0.5 mL/min
Gradient	表2を参照
溶離液	A: 0.3%ギ酸 アセトニトリル B: 100 mM Ammonium formate/アセトニトリル = 8/2
Column	Intrada Aminoacid 3.0x150 mm
Oven	40 °C

表2. グラジエント条件

時間(分)	A(%)	B(%)
0	80	20
5	80	20
11	65	35
20	0	100
30	80	20

MS条件: Bruker HCTplus, Ion Trap (ESI, positive)

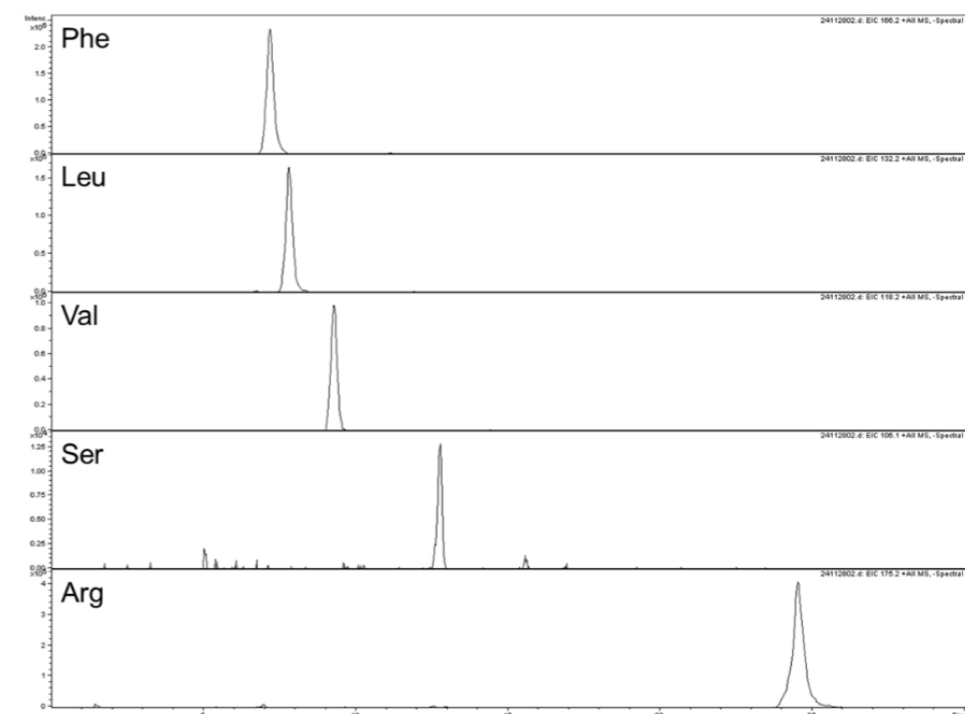


図1. AHST-16による完全加水分解産物の抽出イオンクロマトグラム(SIM)