

GC/MS代謝成分データベースを用いた アミノ酸高速分析法

Analysis of Amino Acids using Fast-GC/MS and Metabolite Database

GC/MSを用いて新たな分析を始めるには、誘導体化方法やキャピラリーカラム等を検討し最適な分析条件を決定する必要があります。また、データの解析では分析対象化合物名、保持時間、定量イオン、確認イオンやマススペクトル等の情報を登録した化合物テーブルを作成しなければなりません。GC/MS代謝成分データベースでは、これらの煩雑で手間のかかる作業を低減するために、分析対象化合物に応じたカラ

ムや消耗品情報と適切な分析条件および化合物情報が登録されたメソッドファイルと保持指標付きライブラリを提供します。

本アプリケーションニュースでは、GC/MS代謝成分データベースに含まれているアミノ酸分析用メソッドファイルと(株)島津ジーエルシー社から発売されているEZ:faast® (phenomenex)を用いたアミノ酸高速分析法についてご紹介いたします。

S.Kawana T.Kondo

EZ:faast®

EZ:faast®

EZ:faast®では、アミノ酸分析の前処理と誘導体化に使用する試薬類、アミノ酸標準溶液(33成分)、前処理器具と分析用キャピラリーカラムがキットになっています。試料の前処理と誘導体化作業は、7ステップ(約7分)で完了します。なお、本キットは上記33成分だけでなく50種以上のアミノ酸及び関連化合物にも適用できます。

詳細につきましては、(株)島津ジーエルシーにお問い合わせください。



Fig.1 EZ:faast® キット
EZ:faast®

GC/MS代謝成分データベース

GC/MS metabolites database

本製品は、アミノ酸、脂肪酸と有機酸を対象とし、それらの誘導体化物の保持指標とマススペクトルを登録した4種類のマススペクトルライブラリおよび分析条件とデータ解析条件が設定された4種類メソッドファイルからなります(Table 1)。

Table 1 本データベースに含まれるメソッドファイル・ライブラリ
Method files and libraries

メソッドファイル / マススペクトルライブラリ	誘導体化法	イオン化法	スペクトル数
アミノ酸 ^{注)}	EZ:faast®	電子イオン化(EI)	33
脂肪酸	メチル化	電子イオン化(EI)	50
脂肪酸	メチル化	化学イオン化(CI)	50
有機酸・アミノ酸	トリメチルシリル化	電子イオン化(EI)	178

注) EZ:faast®キットを用いた誘導体化メソッドファイルとライブラリを用いる場合はカラムオープンの上昇速度が速いため装置は230V仕様(ハイパワーオープン)で測定しています。

EZ:faast®キットを用いたアミノ酸分析

Analysis of amino acids using EZ:faast®

本アプリケーションニュースでは、GC/MS代謝成分データベースに含まれるEZ:faast®キット用メソッドファイルとマススペクトルライブラリを使用しました。分析条件とライブラリの登録内容をTable 2とFig.2にそれぞれ示します。

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

Model	: GCMS-QP2010, GCMS-QP2010 Plus (ハイパワーオープン)
Workstation	: GCMSsolution Ver2.5
Column	: ZB-AAA 10 m x 0.25 mm I.D.
-GC-	
Inj. Temp.	: 280
Column Temp.	: 110 (0min)-30 /min
	: -320 (0min)
Carrier Gas	: He
Flow control Mode	: Pressure
Pressure	: 15 kPa
Injection Method	: Split
Split Ratio	: 1 : 15
-MS-	
Interface Temp.	: 280
Ion Source Temp.	: 200
Scan Range	: m/z : 45 - 450
Scan Interval	: 0.15 sec

保持時間の自動修正(AART)機能

Prediction of retention times using AART function

GC/MS代謝成分データベースに含まれるメソッドファイルを初めて使用する場合、カラムを切断した場合やカラムを交換した場合には、化合物テーブルに登録されている保持時間(メソッドファイル)を使用する装置の保持時間に修正する必要があります。GCMSsolutionソフトの保持時間の自動修正機能(AART)は、Fig. 3に示す原理に基づきメソッドファイルに登録された保持指標とn-アルカン類の保持時間の実測値から分析対象化合物の保持時間を推測することが可能です。

本データベースに含まれるメソッドファイルにはあらかじめ分析対象化合物の保持指標が登録されていますので、n-アルカン混合標準液を分析し、AART機能を用いることにより保持時間を容易に推測することが可能です。更に精度の高い保持時間設定が必要な場合、上記手法により推測された保持時間のメソッドファイルをもとに、標準試料を分析し、修正ウィザードで保持時間を容易に確定することもできます。



Fig.2 登録情報 a)化合物テーブル, b)標準スペクトル
Contents of the method file a) Compound table
b) Mass spectra (obtained from authentic sample)

保持時間修正の精度

Reproducibility of retention time

EZ:faast®キットでアミノ酸33成分標準溶液を前処理し、GC/MS代謝成分データベースに含まれるEZ:faast®キット用メソッドファイルをもとに分析し、保持時間修正精度を検討しました。得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC) をFig.4に示します。また、n-アルカン混合標準液の分析データにより、EZ:faast®キット用メソッドファイルに登録されているアミノ酸33成分の保持時間を自動修正機能 (AART) を用いて推測した値と、アミノ酸33成分標準溶液を分析した実測値を比較した結果をTable 3に示します。実測値と推測値のずれは - 0.012 ~ + 0.008 minの範囲に収まりました。

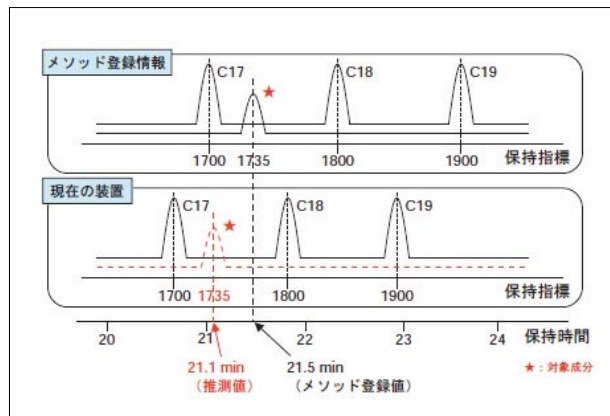


Fig.3 保持時間の自動修正 (AART) 機能
Automatic Adjustment of Retention Time (AART)

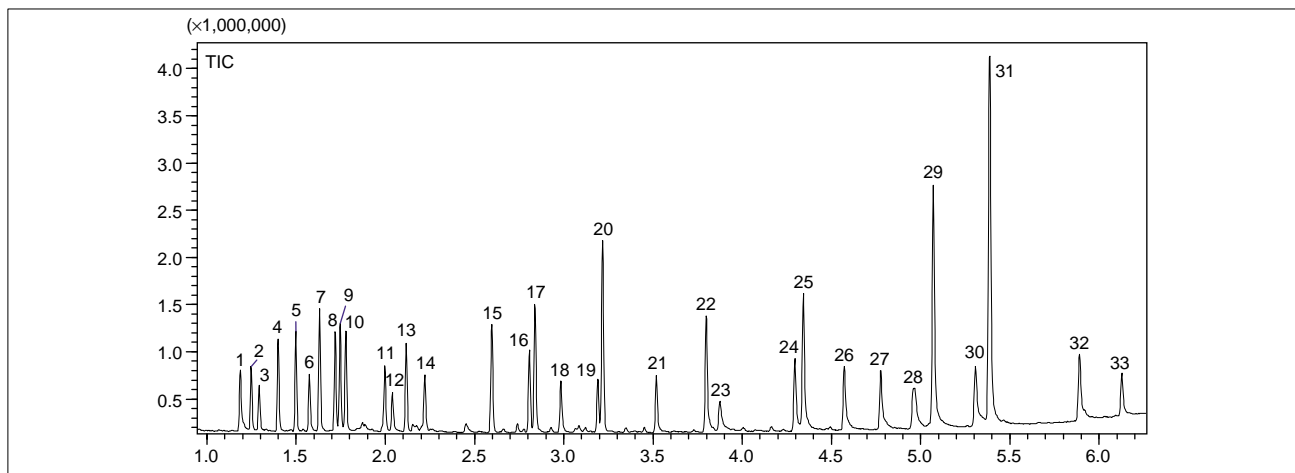


Fig.4 アミノ酸33成分標準溶液のトータルイオンクロマトグラム
Total ion chromatogram of 33 amino acids

Table 3 アミノ酸33成分における保持時間推測値と実測値
The predicted and measured retention times of 33 amino acids

ID	name	R.I.	保持時間			ID	name	R.I.	保持時間		
			推測値	実測値	差分				推測値	実測値	差分
1	Alanine	1675	1.189	1.187	-0.002	18	4-Hydroxyproline	2249	2.923	2.929	0.006
2	Sarcosine	1697	1.249	1.248	-0.001	19	Glutamic acid	2344	3.193	3.191	-0.002
3	Glycine	1712	1.294	1.293	-0.001	20	Phenylalanine	2352	3.215	3.217	0.002
4	alpha-aminobutyric acid	1748	1.401	1.4	-0.001	21	alpha-Amino adipic acid	2463	3.518	3.519	0.001
5	Valine	1781	1.5	1.498	-0.002	22	alpha-Aminopimelic acid	2569	3.797	3.798	0.001
6	beta-Aminoisobutyric acid	1806	1.575	1.574	-0.001	23	Glutamine	2598	3.872	3.875	0.003
7	Norvaline	1825	1.634	1.631	-0.003	24	Ornithine	2767	4.292	4.295	0.003
8	Leucine	1853	1.721	1.718	-0.003	25	Glycine-proline (dipeptide)	2785	4.335	4.343	0.008
9	allo-Isoleucine	1862	1.749	1.747	-0.002	26	Lysine	2885	4.57	4.572	0.002
10	Isoleucine	1872	1.78	1.779	-0.001	27	Histidine	2977	4.782	4.777	-0.005
11	Threonine	1943	2	1.998	-0.002	28	Hydroxylysine (2 isomers)	3059	4.965	4.958	-0.007
12	Serine	1956	2.04	2.04	0	29	Tyrosine	3107	5.071	5.072	0.001
13	Proline	1980	2.114	2.117	0.003	30	Proline-hydroxyproline (dipeptide)	3218	5.306	5.307	0.001
14	Asparagine	2014	2.219	2.22	0.001	31	Tryptophan	3252	5.376	5.386	0.01
15	Thiaproline	2137	2.594	2.597	0.003	32	Cystathionine	3509	5.901	5.89	-0.011
16	Aspartic acid	2209	2.807	2.807	0	33	Cystine	3626	6.14	6.128	-0.012
17	Methionine	2219	2.836	2.839	0.003						

まとめ

Conclusion

アミノ酸分析にEZ:faast® キットを用いることにより、短時間 (1検体: 約7 min) で効率的にサンプルの前処理・誘導体化が可能であり、また、本前処理キットと併せてGC/MS代謝成分データベースに含まれるアミノ酸分析用メソッドファ

イルを用いることにより、分析条件の検討、メソッドファイルへの化合物情報の登録等の煩雑な作業を省力化することができます。

初版発行：2008年3月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

☎0120-131691(携帯電話不可)
●携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は右に示す島津WEBで閲覧できます。

会員制情報提供サービス「Shim-Solutions Club」にご登録下さい。
<http://solutions.shimadzu.co.jp/>
いろいろな情報提供サービスが受けられます。

3100-03802-660-1K
2008.3