

独立行政法人 産業技術総合研究所
計量標準総合センター 標準物質認証書



認証標準物質

NMIJ CRM 6901 - a
No. +++

C-ペプチド

C-peptide

本標準物質は、ISO GUIDE 34:2000 および ISO/IEC 17025:2005 に適合するマネジメントシステムに基づき生産された、ヒトC-ペプチドと同一の配列をもつ合成ペプチドの凍結乾燥品である。コンピュータビリティのあるC-ペプチドの各種定量分析における分析機器の校正、精度管理及び分析試薬の値付けに用いることができるほか、アミノ酸分析における分析方法や分析装置の妥当性確認に用いることができる。

【認証値】

本標準物質は合成ペプチドの凍結乾燥品であり、「使用方法」に従い調製することで、C-ペプチド類（C-ペプチドおよびC-ペプチドの脱アミド体、ピログルタミル体の混合物）を含む10 mmol/L リン酸緩衝液(pH 6.6)が得られる。この溶液の20℃におけるC-ペプチドあるいはC-ペプチド類の各濃度は下記の認証値のとおりである。認証値の不確かさは、合成標準不確かさと包含係数 $k=2$ から決定される拡張不確かさで、約95%の信頼の水準をもつと推定される区間を示す。

物質名	CAS 番号	認証値 濃度 (mg/L)	拡張不確かさ 濃度 (mg/L)
C-ペプチド	33017-11-7	80.7	5.0

「使用方法」に従って本標準物質を精製水に溶解して得られた溶液に対する認証値である。

	認証値 濃度 (mg/L)	拡張不確かさ 濃度 (mg/L)
C-ペプチド類 (C-ペプチド、およびC-ペプチドの 脱アミド体、ピログルタミル体の混合物)	81.7	5.1

「使用方法」に従って本標準物質を精製水に溶解して得られた溶液に対する認証値である。

【認証値の決定方法】

認証値は、本標準物質に精製水1.00 gを加えて得た溶液に対し、同位体希釈質量分析法を用いたアミノ酸分析と高速液体クロマトグラフィーにより得られた測定値に、密度と分子量による換算を行い決定した。

アミノ酸分析は、試料溶液に安定同位体標識アミノ酸を添加し、130℃、48時間気相での塩酸加水分解を行ったのち、下記の2つの方法による測定を行った。

1) プレカラム誘導体化法による逆相クロマトグラフィー/質量分析法：

N-ブチルニコチン酸スクシンイミドエステルをプレカラム誘導体化試薬として用い、グリシン、グルタミン酸、プロリン、アラニン、バリン、ロイシンを定量した。

2) 親水性相互作用クロマトグラフィー/質量分析法：

誘導体化を行うことなく、プロリン、バリン、ロイシン、アラニンを定量した。

C-ペプチド1分子に含まれる各アミノ酸の個数をもとに、ペプチド濃度を算出した。この濃度がC-ペプチド類の濃度（C-ペプチド、脱アミド化C-ペプチドおよびピログルタミル化C-ペプチドの濃度の和）である。

C-ペプチドの濃度は、高速液体クロマトグラフィーによりC-ペプチド類に対するC-ペプチドの含量を求め

ることで算出した。

【計量計測トレーサビリティ】

本標準物質の認証値は、NMIJ L-アラニン標準物質 (NMIJ CRM 6011-a)、L-ロイシン標準物質 (NMIJ CRM 6012-a)、L-バリン標準物質 (NMIJ CRM 6015-a) L-プロリン標準物質 (NMIJ CRM 6016-a)、および純度を評価したグリシン、L-グルタミン酸を基準とし、一次標準測定法である同位体希釈質量分析法によるアミノ酸分析により求めたものであり、国際単位系 (SI) にトレーサブルである。

【安定性】

約半年間安定性試験を行い、安定性を確認している。NMIJにおいては-80℃で保管し、約半年に1回安定性のモニタリングを実施する。

【有効期限】

本標準物質の有効期限は、下記の保存条件のもとで出荷日の3ヶ月後である。

【形状等】

本標準物質は白色の凍結乾燥物でC-ペプチド (約80 µg) とりん酸塩が10 mL ガラスバイアルに封入されている。

【均質性】

小分けした109本の試料からランダムに9本取り出し、安息香酸を内標準として、逆相液体クロマトグラフィーによりC-ペプチドを定量した。測定値について分散分析から均質性に起因する不確かさを求めた。求めた不確かさは認証値の不確かさに含めた。

【保存に関する注意】

本標準物質は到着後、-20℃以下の冷凍庫で保管すること。

【使用方法】

注意：凍結乾燥物が飛散する恐れがあるので、水に溶解する前にセプタムキャップを外さないこと。

以下の指示に従い、溶液を調製すること。

1. アルミ袋に封入されたバイアルを冷凍庫より取り出し、そのまま室温で1時間放置して室温に戻す。
2. アルミ袋よりバイアルを取り出しバイアル内の白色の凍結乾燥物を確認する。管壁からはがれている場合はバイアルを垂直に立てて軽くたたき、凍結乾燥物を底に落とす。
3. ゴム製のセプタムキャップを外さないよう注意して、アルミキャップを開ける。
4. 感量0.1 mg以下の天秤を用いてバイアルを秤量する。
5. シリンジを用いて、セプタムを通して精製水を1.00 g注入する*。精製水を加えたバイアルの秤量値と4での秤量値との差が0.99 g~1.01 gであること。
6. 軽く振盪して凍結乾燥物を完全に溶解させ、そのまま20分静置する。
7. 溶解後は12時間以内に使用する。

* 精度誤差、再現精度±1%以内のマイクロシリンジの使用を推奨する。あらかじめ、精製水を用いてシリンジに表示されている目盛と天秤でのほかりとり量を確認しておくことよい。また、精製水の注入は、数回に分けて秤量値を確認しながら行ってもよい。

【使用に関する注意】

C-ペプチドは実験器具類に吸着しやすい性質があるため、必要に応じて、低吸着性の器具の使用や希釈時にキャリアタンパク質等を含む緩衝溶液の使用を推奨する。

アミノ酸分析や免疫化学的方法など、C-ペプチドとその脱アミノ体、ピログルタミル体を区別できない分析に使用する場合は、C-ペプチド類としての認証値を使用する。

本標準物質は試験研究用であり、生体には使用しないこと。

【製造方法等】

本標準物質は株式会社ペプチド研究所で合成、精製されたC-ペプチドをりん酸緩衝液に溶解後小分けし、凍結乾燥後、窒素雰囲気下セプタムで封止したものである。

【参考情報】

本標準物質を「使用方法」に従って調製した溶液は、 (0.46 ± 0.08) mg/L のC-ペプチドの脱アミド体、 (0.57 ± 0.04) mg/L のC-ペプチドのピログルタミン体を含む（±以下の数値は包含係数 $k=2$ とする拡張不確かさを示す）。この溶液の20℃での密度は0.9994 g/mLである。

10 mmol/L りん酸緩衝液は6.24 mmol/L NaH_2PO_4 および3.76 mmol/L Na_2HPO_4 を含む。

C-ペプチドのアミノ酸配列は以下の通りである。

EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ

C-ペプチドの分子量は、3020.26 であり、高分解能の質量分析で得られるモノアイソトピック質量に相当する値は、3018.52 である。

【生産担当者】

本標準物質の生産に関する技術管理者は高津章子、生産責任者は絹見朋也、値付け担当者は絹見朋也、加藤愛、山崎太一、後藤麻里、恵山栄である。

【情報の入手】

本標準物質に関して認証値の変更等、重要な改訂があった場合は購入者に通知する。購入者は下記ホームページから「標準物質ユーザー登録」を行うことにより、上記の通知を入手できる。なお、本標準物質に関する技術情報は、下記連絡先より入手できる。

【認証書の複製について】

本認証書を複製する場合は、複製であることが明瞭にわかるようにしなければならない。

2011年4月13日

独立行政法人 産業技術総合研究所
理事長 野間口 有

本標準物質に関する質問等は以下にご連絡ください。

独立行政法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター
計量標準管理センター 標準物質認証管理室
〒305-8563 茨城県つくば市梅園 1-1-1

電話：029-861-4059、ファックス：029-861-4009、ホームページ：<http://www.nmij.jp/service/C/>