

国立研究開発法人 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 6209-a
No. +++

ヒトインスリン溶液

Human Insulin Solution

本標準物質は、ISO 17034及びISO/IEC 17025の要求事項に適合するマネジメントシステムに基づき生産された、ヒトインスリン溶液である。アミノ酸分析、クロマトグラフィー、吸光光度分析等の機器分析によるヒトインスリンの定量分析における分析機器の校正、精度管理、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。また、ヒトインスリンの免疫化学的測定法では、使用者によってコミュニティが確認された場合に分析機器の精度管理や分析値の確認に用いることができる。

【認証値】

本標準物質の25℃における認証値は以下の通りである。認証値の不確かさは、合成標準不確かさと包含係数 $k=2$ から決定された拡張不確かさであり、約95%の信頼の水準をもつと推定される区間の半分の幅を表す。

物質名	CAS番号	認証値 質量濃度 (mg/L)	拡張不確かさ 質量濃度 (mg/L)
ヒトインスリン	11061-68-0	77.9	2.3

【認証値の決定方法】

試料を塩酸加水分解し同位体希釈質量分析法を用いたアミノ酸分析を行った。本標準物質の認証値はアミノ酸分析の結果に密度と分子量による換算を行い決定した。

タンパク質の加水分解とアミノ酸分析は、下記の2つの方法によりアスパラギン酸、グルタミン酸、バリン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニンを定量した。

(1)液相加水分解と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：

液相による150℃48時間塩酸加水分解を行ったのち、*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、各アミノ酸を定量した。

(2) 気相加水分解と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：

気相による130℃48時間塩酸加水分解を行ったのち、1-ブロモブタンにより誘導体化し、各アミノ酸を定量した。

【計量計測トレーサビリティ】

本標準物質の認証値は、L-アスパラギン酸認証標準物質 (NMIJ CRM 6027-a)、L-グルタミン酸認証標準物質 (NMIJ CRM 6026-a)、L-バリン認証標準物質 (NMIJ CRM 6015-a)、L-イソロイシン認証標準物質 (NMIJ CRM 6013-a)、L-ロイシン認証標準物質 (NMIJ CRM 6012-a)、L-フェニルアラニン認証標準物質 (NMIJ CRM 6014-a) を用いて調製した標準液を用い、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。

【有効期間】

本標準物質が未開封で下記の【保存に関する注意事項】の条件で保存された場合、本認証書は出荷日から1年間有効である。

【形状等】

本標準物質は、常温では無色透明液体で、約 1 mL がガラスアンプルに封入されている。このアンプルはさらにプラスチック容器に封入されている。

【均質性】

小分けした 189 個の試料について調製順に層化したものからランダムに 10 個取り出し、各アンプルから 0.1 g の溶液を用いて逆相液体クロマトグラフィーによりヒトインスリンのピークを測定し均質性を確認した。評価した均質性に起因する不確かさは、認証値の不確かさに含まれており、本標準物質は認証値の不確かさの範囲内で均質である。

【安定性】

-20 °Cでの安定性試験を行い、安定性を確認している。評価した安定性に起因する不確かさは認証値の不確かさに含まれている。

【保存に関する注意事項】

本標準物質は-20 °C程度の冷凍庫に保管すること。

【使用に関する注意事項】

本標準物質は試験研究用である。生体には使用しないこと。使用2-3時間前に冷凍庫から取り出し、室温において解凍し、転倒混和し十分均質化したのちに使用すること。開封後はすみやかに使用すること。希釈して用いる際は実験器具への吸着に注意すること。

【取り扱いにおける注意事項】

保護マスクや保護手袋等を着用すること。安全データシート（SDS）を参考にして取り扱うこと。

【製造等】

本標準物質の原料として用いたヒトインスリンは和光純薬工業株式会社製遺伝子組換えヒトインスリンを株式会社ペプチド研究所にてさらに精製したものである。NMIJにおいてこれをりん酸緩衝液に溶解し、溶液をガラスアンプルに小分け、封入した。

【参考情報】

- (1) 本標準物質の溶液組成は、20 mmol/Lりん酸緩衝液（pH7.4、21 °C）である。
- (2) 本標準物質の25 °Cにおける密度は0.9995 g/cm³である。
- (3) ヒトインスリンの分子量は5807.6である。質量分析によって得られた本標準物質の相対分子質量は、分子量近傍の値であった。
- (4) 本標準物質の分子量、密度を参照しない濃度は(13.4 ± 0.4) nmol/g（±以下の数値は包含係数k=2とする拡張不確かさを表す。）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、生産責任者は坂口洋平、値付け担当者は坂口洋平、絹見朋也、水野亮子、吉岡真理子である。

【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、下記ホームページから「標準物質ユーザー登録」を行った購入者に通知する。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。

2020年4月1日
国立研究開発法人 産業技術総合研究所
理事長 石村 和彦

本標準物質に関する質問等は以下にご連絡ください。

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター
計量標準普及センター 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：<https://unit.aist.go.jp/qualmanmet/refmate/>

