

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 6901-b
No. +++

C-ペプチド

C-peptide

本標準物質はISO GUIDE 34:2009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。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。免疫学的測定法に使用する場合、本標準物質のコミュタビリティの確認が必要である。

【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りん酸緩衝液(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)
C-ペプチド	33017-11-7	100	5

「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(20℃)での値である。

物質名	認証値 質量濃度 (mg/L)	拡張不確かさ 質量濃度 (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)	102	5

「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(20℃)での値である。

【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たのち、下記の2つの方法により行った。

1) マイクロ波加熱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：

マイクロ波加熱により165℃3時間塩酸による液相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、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) 気相加水分解と親水性相互作用クロマトグラフィー/質量分析法：

気相による130℃24時間塩酸加水分解を行ったのち、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求め、2種類のアミノ酸分析による結果の重み付き平均値をアミノ酸分析による定量結果とした。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-ペプチドの比率を求めることによって決定した。

【計量計測トレーサビリティ】

本標準物質の認証値は、L-アラニン認証標準物質（NMIJ CRM 6011-a）、L-ロイシン認証標準物質（NMIJ CRM 6012-a）、L-バリン認証標準物質（NMIJ CRM 6015-a）、L-プロリン認証標準物質（NMIJ CRM 6016-a）、グリシン認証標準物質（NMIJ CRM 6022-a）、L-グルタミン酸認証標準物質（NMIJ CRM 6026-a）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。

【有効期間】

本標準物質が下記の【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、白色の凍結乾燥物で、C-ペプチド（約100 µg）とリン酸塩が10 mLのガラスバイアルに封入されている。

【均質性】

小分けした120個の試料から調製順に層化し10本をランダムに取り出し均質性試験に用いた。各溶液0.1 gに安息香酸を内標準として添加し逆相液体クロマトグラフィーによりC-ペプチド、C-ペプチド類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】

安定性を確認し、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】

本標準物質は到着後、-20℃以下の冷凍庫に保管すること。

【使用に関する注意事項】

<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30分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10分静置する。
7. 溶解後は24時間以内に使用すること。

*許容誤差±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。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。

<注意事項>

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学的測定法など、C-ペプチドとその脱アミド体、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。

【取り扱いにおける注意事項】

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】

- 1) 本標準物質を「使用方法」に従って調製した溶液の20℃における密度は0.9993 g/mLである。溶液の温度を20℃から4℃に変化させたとき、密度は0.17%増加する。
- 2) 10 mmol/L りん酸緩衝液は6.2 mmol/L NaH_2PO_4 および3.8 mmol/L Na_2HPO_4 を含む。
- 3) 本標準物質はトリフルオロ酢酸塩を含む。【使用方法】にしたがって調製した溶液のトリフルオロ酢酸の濃度は $(7.0 \pm 0.1) \text{ mg/L}$ （±以下の数値は測定ばらつきを示す）であった。
- 4) ヒトC-ペプチドのアミノ酸配列は以下の通りである。
EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ
ヒト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、水野亮子である。

【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。

2015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 中鉢 良治

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://www.nmij.jp/service/C/>

改訂履歴

2015.04.01 組織名称等の変更に伴い、関連する記載内容を変更した。