

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-c  
No. +++

C-ペプチド

C-peptide

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20℃で調製することで、C-ペプチド類（C-ペプチド及び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。

化合物	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	104	5

化合物	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、及びC-ペプチドの 脱アミド体、ピログルタミル体の混合物)	105	5

## 【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。不純物ペプチドについては高分解能質量分析により評価を行った。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、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。

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-ペプチド及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。振動式密度計はJCSS密度標準液を用いて校正した。従って、本標準物質の認証値は国際単位系 (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0.1 mg) とりん酸塩が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112個の試料から調製順に層別化し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に安息香酸ナトリウム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。

#### 【保存に関する注意事項】

本標準物質は到着後、 $-20^{\circ}\text{C}$ 以下の冷凍庫に保管すること。

#### 【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30分以上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。底部からはがれて管壁やセプタムキャップに付着し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 $5^{\circ}\text{C}$ 以下に保存し24時間以内に使用すること。

\*許容誤差 $\pm 1\%$ 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。

#### 【使用に関する注意事項】

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)に従って使用すること。

**【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、窒素雰囲気下セブ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 °Cにおける密度は0.9993 g/mLである。5 °Cでの密度は1.001 g/mLである。
- 2) 本標準物質を「使用方法」に従って調製した溶液中の10 mmol/Lりん酸緩衝液は6.2 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>及び3.8 mmol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>の混合物と同等である。
- 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イオンの濃度は(6.6±0.1) mg/L (±以下の数値は測定の標準偏差を示す)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、3018.51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加藤愛、生産責任者は絹見朋也、値付け担当者は絹見朋也、七種和美、水野亮子、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、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/>