アミノ酸分析法

タンパク質の加水分解の方法6及び方法7の項を次のように改める.

方法６

システイン／シスチンの酸化はジメチルスルホキシドで行われる.

加水分解液　0.1 ～ 1.0%のフェノールを含む6 mol/L塩酸にジメチルスルホキシドを最終濃度2 vol%になるように加える.

気相加水分解　試料タンパク質又はペプチドを約110℃で24時間加水分解する．この加水分解中に，試料中のシステイン／シスチンは加水分解液に含まれるジメチルスルホキシドによってシステイン酸に変換される．ばらつきを少なくし，部分破壊を補正する方法として，タンパク質1 mol当たり1 ～ 8 molのシステインを含む標準タンパク質を酸化的加水分解して得られるシステイン酸の回収率を調べることが推奨される．タンパク質又はペプチドの加水分解物からの回収率は，加水分解していないシステイン酸標準品からの回収率より一般に約30%低い．ヒスチジン，メチオニン，チロシン及びトリプトファンも修飾されるので，本法では完全なアミノ酸組成分析は行えない.

方法７

システイン／シスチンの還元及びアルキル化は気相ピリジルエチル化反応で行われる.

還元液　ピリジン83.3 µL，4－ビニルピリジン16.7 µL，トリブチルホスフィン16.7 µL及び水83.3 µLを適当な容器にとり，混和する.

操作法　試料タンパク質又はペプチド(1 ～ 100 µg)を加水分解管にとり，この管をより大きなガラス管の中に入れる．大きいガラス管の中に還元液を入れ，減圧(約0.0067 kPa)下で密封し，約100℃で5分間放置する．次に，加水分解管を取り出し，減圧デシケーター中で15分間乾燥し，残留する試薬を除く．ピリジルエチル化したタンパク質又はペプチドは前記の方法で酸加水分解する．このピリジルエチル化反応をタンパク質1 mol当たり1 ～ 8 molのシステインを含む標準タンパク質について同時に行い，ピリジルエチル化システインの回収率を補正する．ピリジルエチル化反応を長時間行うと，タンパク質中の末端α－アミノ基及びリシンのε－アミノ基が修飾される可能性がある.