

Методология аминокислотного анализа: общие принципы

Существует множество методик аминокислотного анализа. Выбор конкретной методики зачастую определяется требуемой чувствительностью количественного определения. В целом, около половины применяемых методик аминокислотного анализа основаны на ионохроматографическом разделении свободных аминокислот с последующей пост-колоночной дериватизацией (например, нингидрином или о-фталевым альдегидом).

Методики, основанные на пост-колоночной дериватизации, могут быть использованы для образцов, содержащих небольшое количество буферных компонентов (таких как соли и мочевины) и обычно требуют от 5 до 10 мкг испытуемого образца белка для проведения одного анализа. Остальные методики аминокислотного анализа обычно используют предколоночную дериватизацию свободных аминокислот (например, фенилизотиоцианатом (ПТС, ФИТЦ); 6-аминохинолил-N-гидроксисукцинимидилкарбаматом (АКС, АХК) или о-фталевым альдегидом (ОПА, ОФА); 4-(диметиламино)азобензол-4'-сульфонилхлоридом (DABS-Cl, дабсилхлорид); 9-фторенилметилхлорформиатом (ФМОС-Cl, ФМОК-Cl); 7-фтор-4-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом (7-фтор-4-нитробензофуразан, НБФ)) с последующим определением полученных производных аминокислот методом обращенно-фазовой ВЭЖХ. Метод предколоночной дериватизации отличается высокой чувствительностью (обычно требуется от 0,5 до 1,0 мкг испытуемого образца белка для проведения одного анализа), однако его использование может быть ограничено за счет мешающего влияния компонентов солевого буфера, содержащихся в испытуемом образце. Предколоночная дериватизация в некоторых случаях приводит к образованию нескольких производных для одной аминокислоты, что может усложнить интерпретацию результатов. Методики, основанные на пост-колоночной дериватизации, показывают, как