

AttractSPE® Disks Tips C18 による効果的なタンパク解析 (他社製との比較)

PISSARO Proteomic Facility, IRIB, FRANCE の Mohamed Amine BEN MLOUKA, Julie HARDOUIN, Pascal COSETTE と AFFINISEP 社との共同研究の抄訳ダイジェスト編です。
比較試験方法や製品版のプロトコルなどの詳細は別途、お問合せください。



AttractSPE®Disks Tips は、柔軟なメンブランに微細粒子を濃密均質に格納した Stage Tips (ステージチップ) です。ディスク形状なのでフリットによるデッドスペースがなく、溶出液量も小さくできるので回収率も高めることが可能です。タンパクやペプチドの精製、分画、脱塩や医薬品分析など、幅広い領域でとても有益といえます。

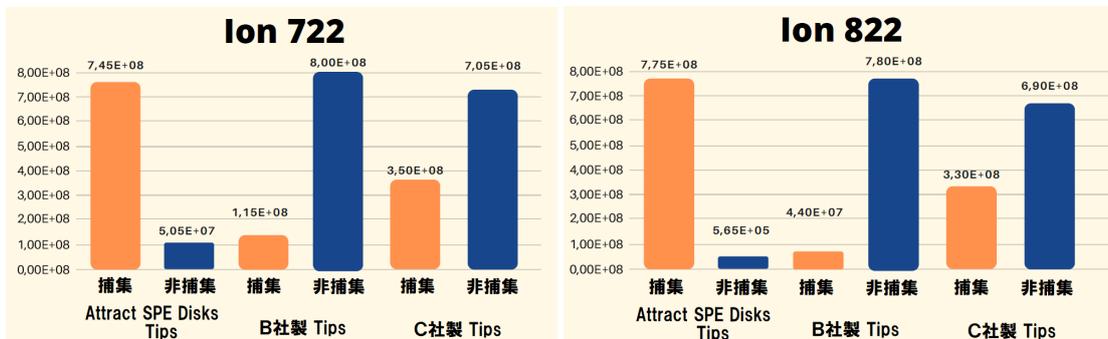
ペプチド精製における性能について、BSA をトリプシンでペプチドに分解、AttractSPE®Disks Tips C18 と他2社製の SPE チップを用いて、脱塩・精製し、nano LC-MS/MS で分析・集計しました。

配列カバー率とペプチドスペクトラムマッチ (PSM) の比較

画分	AttractSPE®Disks Tips		B社製		C社製	
	捕集分	非捕集分	捕集分	非捕集分	捕集分	非捕集分
配列カバー率	75±2%	63.0±0.2%	69±3%	72±1%	75±3%	71±4%
ペプチドスペクトラム マッチ (P S M)	161±9	70±4	125±19	167±9	146±6	166±1

捕集分において、ペプチドスペクトラムマッチ PSM は最も高く、また配列カバー率も高いので、極めて効率的な捕集が出来たことを示しています。一方、非捕集分において、PSM は最も低く、情報ロスが少ないことがわかります。

イオン強度

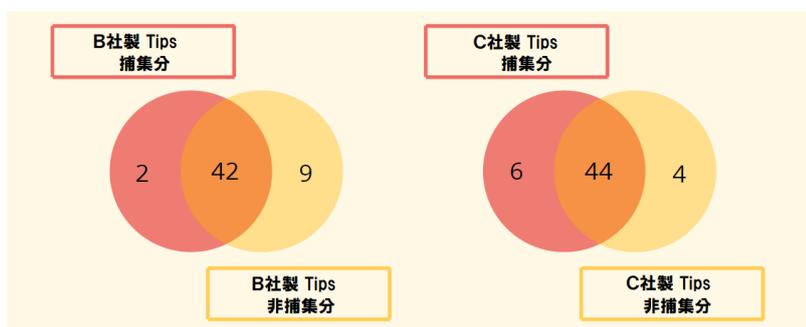
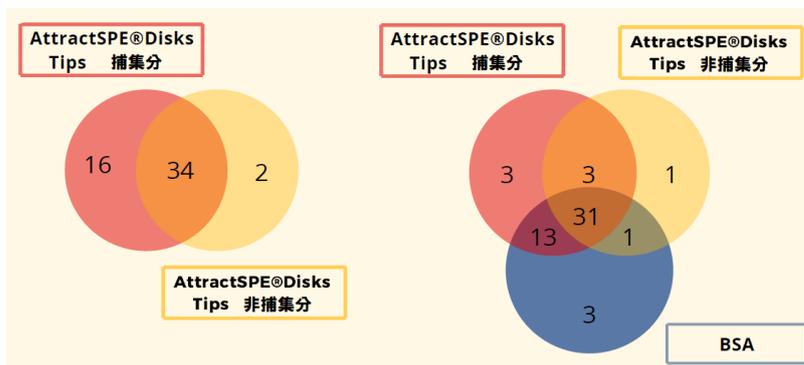


AttractSPE®Disks のみが、二つの主要イオンにおいて高い強度すなわち捕集能を有しており、このことは低濃度のペプチドでも検知して、より多くの情報が得られる可能性を示しています。

ペプチド解析

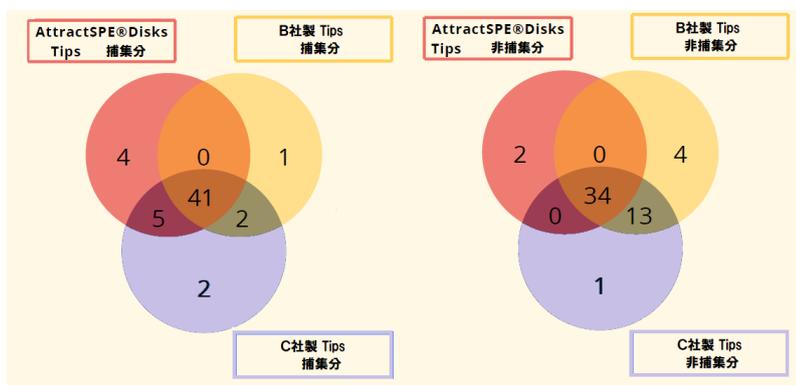
AttractSPE®Disks Tips でのペプチド解析

捕集分から 50 のペプチドが確認されましたが、捕集されなかったのは 2 つにとどまりました(左図)。これは殆どすべてのペプチドが保持されて、タンパク同定に資することを示しています。また、BSA からの直接解析 (48 以上のペプチドを確認) と比較すると、44 のペプチドが共通でした(右図)。従って多くの殆どのペプチドが効率的に捕集されたことがわかりました。



他社製チップでのペプチド解析

B 社製では捕集分から 44 を確認し 9 が非捕集、C 社製で 50 を確認し 4 が非捕集でした。



3社製チップにおけるペプチド解析の比較

捕集分を解析すると、B 社製は他と共通するペプチドが少ないことがわかりました。

結論

AttractSPE®Disks Tips の性能

ペプチド解析のデータ集計により、AttractSPE®Disks Tips はペプチド精製に優れた性能を有することがわかりました。捕集分においては高い配列カバー率とスペクトラムマッチ PSM を持ち、さらには主要イオンの強度から、ほとんどのペプチドが捕集され、重要な情報がほぼ収集されていたと考えられました。

他社製との比較

B 社製は、他の 2 つと比較して PSM や配列カバー率が低く、解析でも他と共通するペプチドが少ないことがわかりました。また、AttractSPE®Disks Tips を C 社製と比較すると、配列カバー率やペプチド解析結果はほぼ同等ですが、PSM は 10% 高く、イオン強度も倍以上でした。これは AttractSPE®Disks Tips の捕集能力が高く、低濃度のペプチドでも保持できることによるものと考えられました。

以上のことから、AttractSPE®Disks Tips C18 は、ペプチドを効率よく捕集・精製出来るので、タンパク消化物の LC-MS 解析を最も容易かつ信頼性の高いものにします。AttractSPE®Disks Tips C18 は、被験チップ製品の中で最も高い性能を有し、最良のペプチド精製を行うことが出来ました。