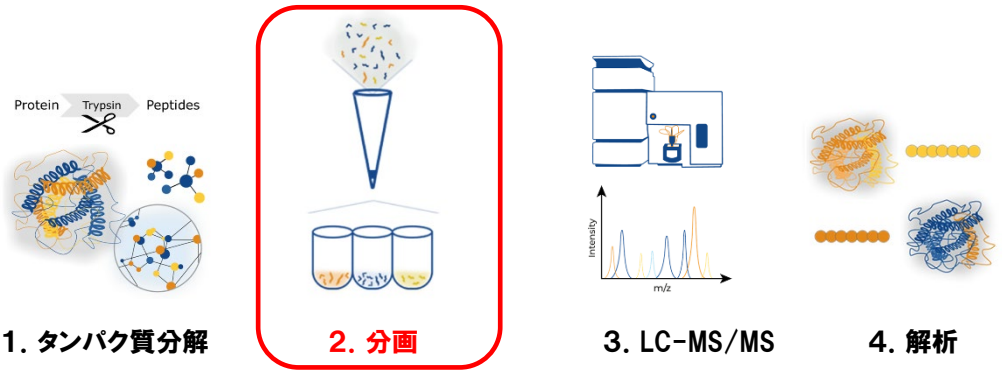
Affinisep 社 Poster Presentation より（抄訳）

BioSPE™ PepFrac
革新的な SPE Tips 技術によるプロテオミクス研究における高速・高効率なペプチド分画

Kaynoush Naraghi (1), Mana Shafaei (2), Michel Arotçarena (1), Florine Hallez (1), Cerina Chhuon (3), Chiara Guerrera (3), Sami Bayoudh (1)
Affinisep, Le Houlme, France (2) Affinisep USA LLC, FL (3) INSERM – US24 SFR Necker Proteome, Paris, France

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。

はじめに



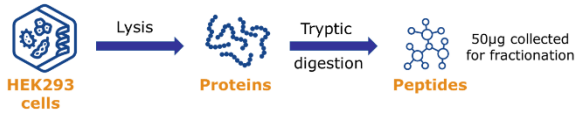
塩基性 pH における逆相ペプチド分画 の原理とメリット ～ プロテオーム解析の最適化

- サンプルの複雑性を軽減し、深層プロテオームシーケンシングおよび定量分析を向上。
- 高 pH 分画により、低 pH 逆相液体クロマトグラフィーとの直交性を確保。
- 分画することで、同定可能なタンパク質の数が増加し、解析の精度向上。
- LC-MS/MS 分析前の脱塩ステップ不要で、効率的なプロセスを実現。

BioSPE™ PepFrac 塩基性 pH 逆相ペプチド分画の性能評価

BioSPE™ PepFrac は、Affinisep ディスク技術を基盤とした新しい逆相吸着剤であり、プロテオミクス研究におけるペプチド分画のために特別に開発されました。本研究では、BioSPE™ PepFrac 200µL Tips を用い、HEK293 細胞溶解物に由来するペプチドの分画性能を評価し、競合他社の分画カラムと比較しました。

① HEK 細胞の溶解とタンパク質消化



② アセトニトリル勾配による分画プロトコル

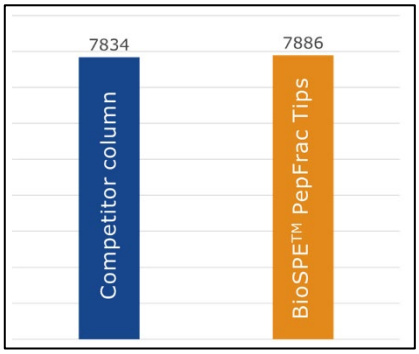
Processing step	BioSPE™ PepFrac Tips	Competitor column
Conditioning	2x 150µL ACN - 1,500g – 2min	2x 300µL ACN - 5,000g – 2min
Equilibration	2x 150µL 0.1% TFA - 1,500g– 2min	2x 300µL 0.1% TFA - 5,000g– 2min
Loading of sample	150µL - 1,500g– 2min	300µL - 3,000g– 2min
Washing	150µL H_2O - 1,500g– 2min	300µL H_2O - 3,000g– 2min
Fraction 1	150µL ACN/TEA 0.1% (2/98) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (5/95) - 3,000g– 2min
Fraction 2	150µL ACN/TEA 0.1% (4/96) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (7.5/92.5) - 3,000g– 2min
Fraction 3	150µL ACN/TEA 0.1% (6/94) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (10/90) - 3,000g– 2min
Fraction 4	150µL ACN/TEA 0.1% (8/92) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (12.5/87.5) - 3,000g– 2min
Fraction 5	150µL ACN/TEA 0.1% (10/90) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (15/85) - 3,000g– 2min
Fraction 6	150µL ACN/TEA 0.1% (12/88) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (17.5/82.5) - 3,000g– 2min
Fraction 7	150µL ACN/TEA 0.1% (15/85) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (20/80) - 3,000g– 2min
Fraction 8	150µL ACN/TEA 0.1% (50/50) - 1,500g– 2min	300µL ACN/TEA 0.1% (50/50) - 3,000g– 2min
Evaporation	SpeedVac (2h)	SpeedVac (3h30)
Resuspension	13µL 0.1%FA	13µL 0.1%FA

③ 分析機器条件

NanoLC separation: **Column:** IonOpticks C18 packed emitter column (25cm x 75µm, 1.6µm) **Injected volume:** 1µL
Gradient: 2% to 95% buffer B over 30min at a flow rate of 200 nL/min Buffer A: 0.1% FA in H2O Buffer B: 0.1% FA in ACN
MS detection (timsTOF Pro): **Acquisition method :** Parallel Accumulation Serial Fragmentation (PASEF) Data Dependent Acquisition (DDA) **m/z range:** 100 to 1700 Th
Data analysis : **Software:** MaxQuant version 2.0.1.0 **Database:** UniProtKB/Swiss-Prot Homo sapiens

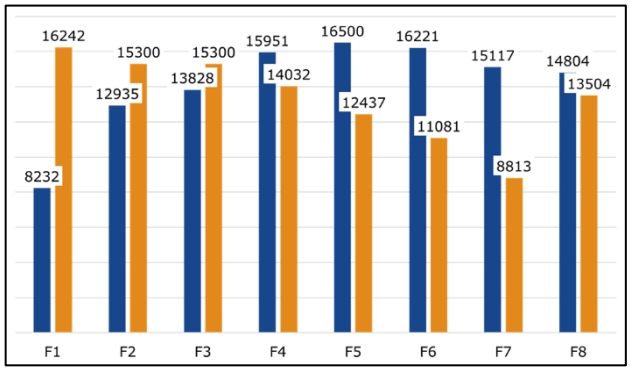
BioSPE™ PepFrac Tips を使用したペプチド分画の結果と競合他社の分画カラムとの比較

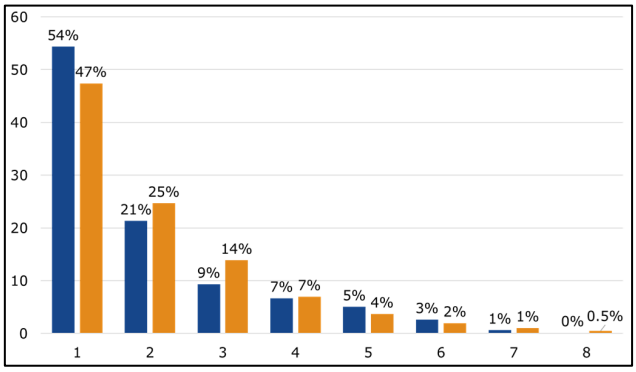
タンパク同定総数
やや多く同定されました



他社製カラム

Affinisep BioSPE™ PepFrac Tips

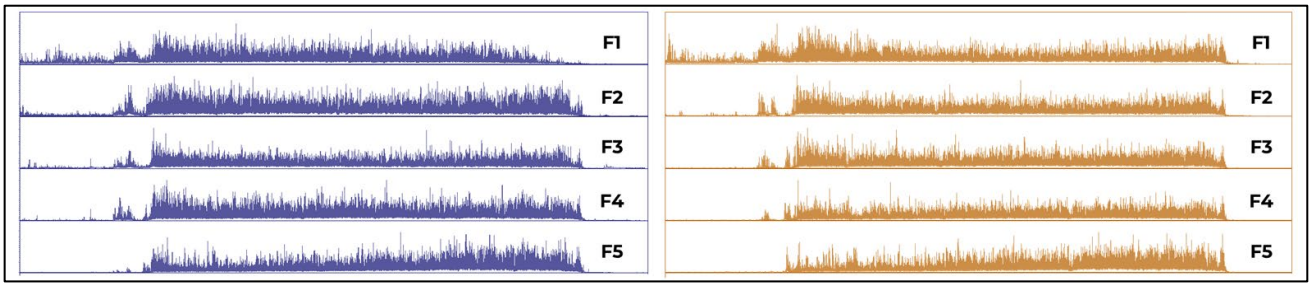




各分画におけるペプチドの分布（数）
8 画分にわたって良好に分布しました

各分画におけるペプチドの分布（％）
重複を極小化して効率的に分画されました

スペクトル密度　ペプチドの均等な分布が確認できます



その他の利点

- BioSPE™ PepFrac は室温で数年間乾燥状態を維持可能。（バッファ内冷蔵管は不要）
- 各分画の蒸発にかかる時間はほぼ半減。
- BioSPE™ PepFrac 200µL Tips では 10～50µg のペプチドを分画できるほか、より多くのペプチド量に対応するスピンカラムや、高スループット 96 ウェルプレートなど、フォーマットと容量の多様性がある。

本アプリケーションノートで使用された製品

BioSPE™ PepFrac Tips