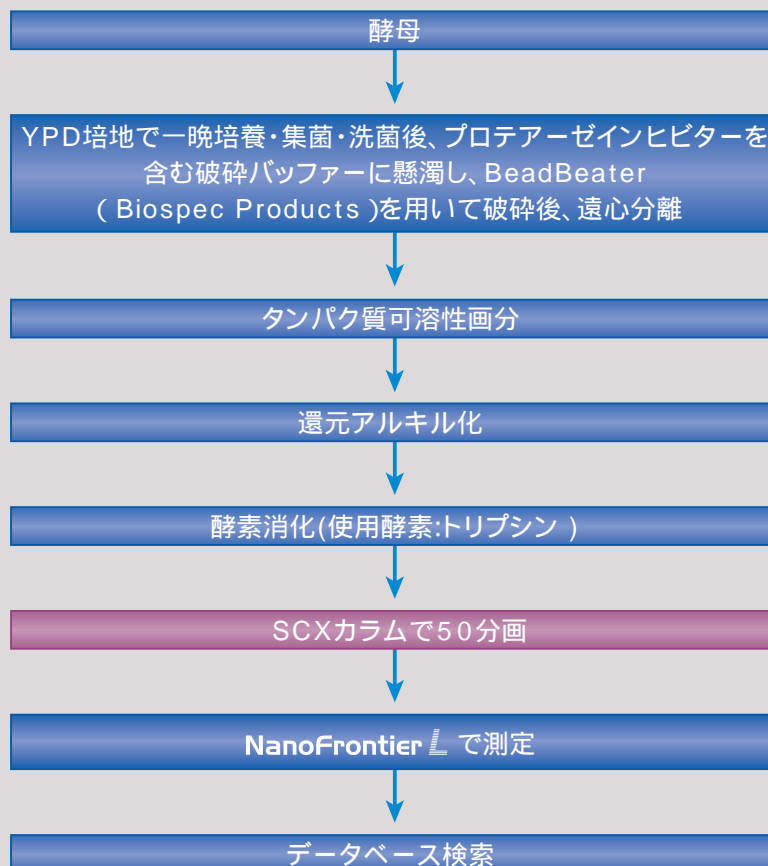


酵母 (B-8032) の網羅的解析を行うことを目的として、トリプシン消化した酵母タンパク質を、強陽イオン交換 (SCX) カラムで分画後、NanoFrontier Lで分析することで、2785種類のタンパク質がヒットしました。

分析フローチャート



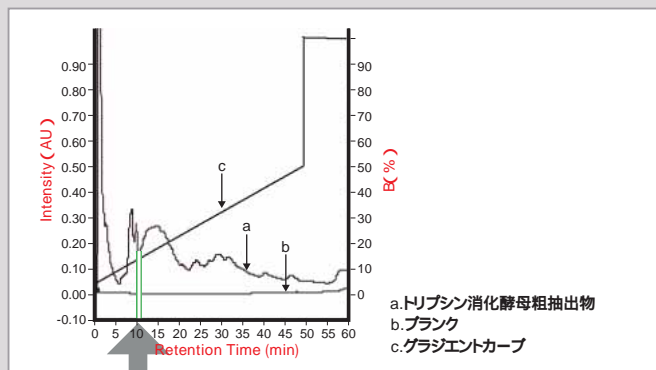
オフラインSCXカラムクロマトグラフィーによる分離条件

機種: L-2100形 低圧グラジエントポンプ、L-2400形 UV検出器 (日立)、フラクションコレクター (Bio-Rad)
 分離カラム: BioX-SCX (90、粒径5 μm、1.0 mm ID × 150 mm L、LC Packings)
 移動相: A; 20% CH₃CNを含む10mM NaH₂PO₄溶液 (pH 3.0)、B液; 500mM NaClを含むA液
 グラジエント: B比率; 2% (0 min) 50% (50 min) 100% (50-70 min)
 流量: 100 μL/min
 サンプル注入量: 200 μg
 分画方法: 1分ごとに50分画

NanoFrontier L 測定条件

分離カラム: MonoCap for nanoflow (0.05 mm ID × 150 mm L、GL Science)
 移動相: A; 0.1% HCOOHを含む2% CH₃CN溶液 B; 0.1% HCOOH を含む98% CH₃CN溶液
 グラジエント: B比率; 2% (0 min) 45% (120 min) 100% (120-140 min)
 流量: 100 nL/min、サンプル注入量: 2 μL
 スプレー電圧: 1400 V、AP1温度: 140
 カーテンガス流量: 1.0 L/min、スキャン範囲: m/z 100-2000
 検出器電圧: 2250 V

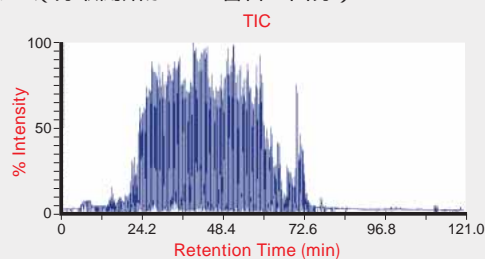
SCX カラムによるサンプルの分離



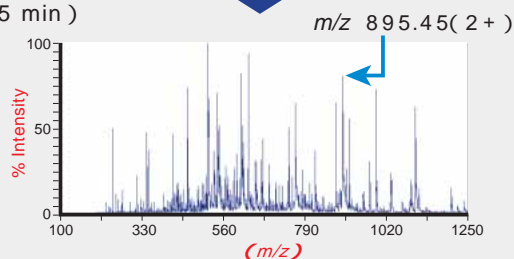
0分～50分までを50分画

LC/MS/MS分析

トータルイオンクロマトグラム(分取開始から10番目の画分)

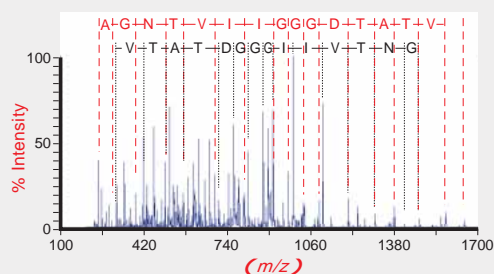


MSスペクトル (RT 41.5 min)



MS/MSスペクトル (Target Ion m/z 895.45)

Phosphoglycerate kinase (EC_2.7.2.3) complex with ATP
ペプチド配列: SSAAGNTVIIGGGDTATVAK



データベース 検索

50画分すべてについて同様に解析を行った。

結果

*SCXカラムを用いたオフラインLC法を用いて酵母を網羅的に解析することにより2785種類のタンパク質がヒットしました。

データベース検索条件
(m/z 値誤差範囲 ± 0.3 Da、プロテインスコア値 30)