

質量分析のための試薬ガイド

トリプシンとトリプシン消化キット	2
その他プロテアーゼと消化促進剤	5
NEW Arg-C Ultra、ProAlanase	6
NEW rChymoSelect™	7
サンプル調整・リファレンス試薬	10
NEW Magnetic Proteomics Sample Prep Kit	10
グリコシダーゼ	12

トリプシンとトリプシン消化キット

トリプシンは、質量分析用サンプル前処理において最も広く使用されているプロテアーゼです。リジンおよびアルギニン残基のカルボキシ末端側を切断する、高い特異性を有するセリンプロテアーゼです。トリプシンによるタンパク質消化では、質量分析に最適なサイズ（7～20 アミノ酸、0.5～3 kDa）のペプチドが生成されます。トリプシン消化ペプチドは C 末端に強い電荷を持つため、効率的にイオン化されます。

トリプシンは、ゲル内消化、溶液内消化、オンビーズ消化など、さまざまな消化手法に使用されます。消化後に得られたペプチドはペプチドマスフィンガープリンティングまたはタンデム質量分析 (MS/MS) により同定されます。この手法はボトムアッププロテオミクスと呼ばれ、タンパク質の検出および特性解析を行います。

トリプシンの厳密な切断特異性は、質量分析によるタンパク質解析に不可欠です。プロメガの高品質トリプシンは、最大限のプロテアーゼ活性と切断特異性を実現するように修飾されています。

製品名	切断部位	特長	容量	カタログ番号
トリプシン (酵素)				
3 ページ Trypsin Platinum, Mass Spectrometry Grade		特異性と自己消化耐性が極めて高い。リコンビナントであり、動物由来タンパク質の混入がない。 特異性 自己消化耐性	100 µg	VA9000
3 ページ Trypsin/Lys-C Mix, Mass Spec Grade		トリプシンと Lys-C の両方の作用で切れ残りを低減し、サンプル間の再現性が向上。 消化効率	20 µg 100 µg	V5071 V5072
	Lys-C、Arg-C		5 x 20 µg	V5073
Trypsin Gold, Mass Spectrometry Grade		質量分析グレード。特異性が向上し (TPCK 処理)、自己消化を予防 (リジンの還元メチル化)。	100 µg	V5280
Sequencing Grade Modified Trypsin		シーケンシンググレード。特異性が向上し (TPCK 処理)、自己消化を予防 (リジンの還元メチル化)。V5111、V5117 は凍結乾燥粉末、V5113 は凍結溶液 (0.5 mg/ml : in 50 mM acetic acid)	5 x 20 µg 5 x 20 µg 100 µg	V5111 V5113 V5117
トリプシン (キット)				
Rapid Digestion Kit -Trypsin	4 ページ	70°C で処理することでトリプシン消化が 60 分で完了。ヒートブロックがあれば実施でき、多検体分析にも◎	100 µg (100 回反応分)	VA1060
Rapid Digestion Kit -Trypsin/Lys-C	4 ページ	70°C で処理することでトリプシン/Lys-C 消化が 60 分で完了。ヒートブロックがあれば実施でき、多検体分析にも◎	100 µg (100 回反応分)	VA1061
	Lys-C、Arg-C			
AccuMAP® Low pH Protein Digestion Kit	4 ページ	低 pH でサンプル調製を行うことにより、人為的な非酵素的修飾を抑制。還元・非還元どちらの条件下でも、変性剤存在下でも使用可能。サンプル調製は 4.5-5 時間で完了。	10 回反応分* 100 回反応分**	VA1040 VA1050

*500 µg のタンパク質を消化するのに十分な試薬が含まれます。
**5 mg のタンパク質を消化するのに十分な試薬が含まれます。

トリプシン製品特長比較

	Trypsin Gold	Trypsin Platinum	Trypsin/Lys-C	Rapid Trypsin	AccuMAP®
消化効率	★	★	★★★★	★	★
切断特異性	★	★★★★	★	★	★
スピード消化	★	★	★	★★★★	★
人為的修飾の無い サンプル調製	★	★	★	★	★★★★
自己消化耐性	★	★★★★	★	★	★
主な用途	<ul style="list-style-type: none"> 一般的なプロテオミクス ゲル内消化 	<ul style="list-style-type: none"> ペプチドマッピング 最も高い特異性 	<ul style="list-style-type: none"> 困難なタンパク質 定量解析 	<ul style="list-style-type: none"> 迅速な結果取得 ハイスループット / 自動化 	<ul style="list-style-type: none"> ペプチドマッピング アーティファクト低減

ペプチドマッピングに理想的! 最も正確で再現性のある新トリプシン

Trypsin Platinum, Mass Spectrometry Spec Grade

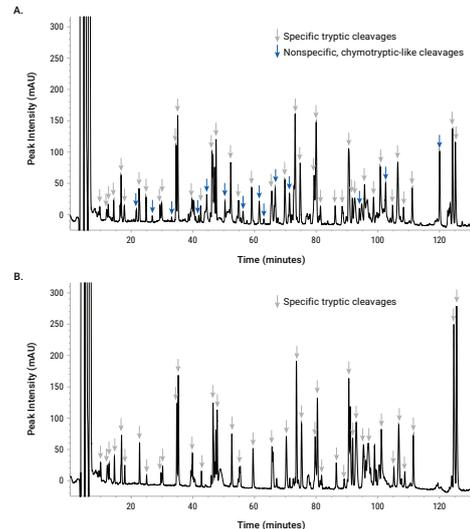


Trypsin Platinum は、マスマスペクトロメトリーや RP-HPLC-UV を用いた正確なタンパク質解析のために開発されたリコンビナントのトリプシンです。検出可能なレベルの**非特異的な消化活性は認められず**、また新しい化学修飾法により**最大限の自己消化耐性**を有します。タンパク消化効率が高く、リコンビナントであるため動物由来のタンパクを含みません。

特長

- 非特異的な消化の低減
- 極めて高い自己消化耐性
- 高純度精製品
- 優れた消化効率
- リコンビナント品による高いロット一貫性
- 動物由来成分不含

Trypsin Platinum の特異性 Trypsin Platinum と Panitumumab (Vectibix®, Amgen 社) を 1:10 の比率で消化し、生じたペプチドを RP-HPLC-UV で分析した。ペプチドのピークを LC-MS で解析し、特異的な切断を受けたペプチドと非特異的な切断を受けたペプチドを区別した結果、既製品の MS グレードのトリプシンには顕著な非特異的なタンパク質分解活性があることがわかった (**パネル A**)。詳細な分析により、キモトリプシン様の非特異的な切断パターンが生じていることが示された。対照的に Trypsin Platinum は特異的なトリプシン切断断片のみを生成した (**パネル B**)。



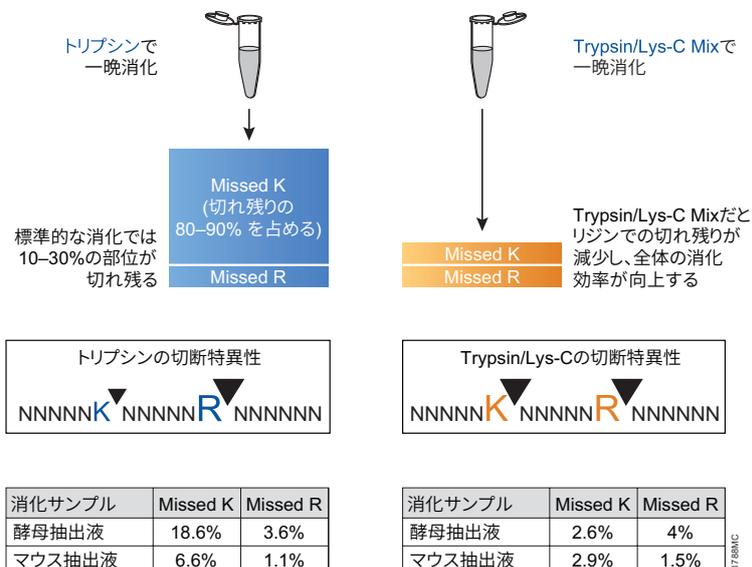
ダブルの力で切れ残り激減

Trypsin/Lys-C Mix, Mass Spec Grade



Trypsin/Lys-C Mix は Trypsin Gold, Mass Spectrometry Grade と rLys-C, Mass Spec Grade の混合物であり、**トリプシン単独で消化するよりも消化効率を向上させ、MS によるペプチド同定率を向上させます**。

トリプシンは Arg と Lys のカルボキシル側、Lys-C は Lys のカルボキシル側のエステル結合を加水分解する活性を持ちます。トリプシン単独ではタンパク質が完全に消化されない場合が多く、切断部位の 10~30% がミスクリバージュとして残りますが、Lys-C を組み合わせることで全体的な分解効率・再現性が向上します。標準的なプロトコールに加え、難分解性タンパク質の場合は 6-8M 尿素存在下での変性と消化を行う 2 ステップ法があります。



トリプシン単独と Trypsin/Lys-C Mix での切れ残り部位の比較

消化は標準的なプロトコールに従って実施した。

高速トリプシン消化キット

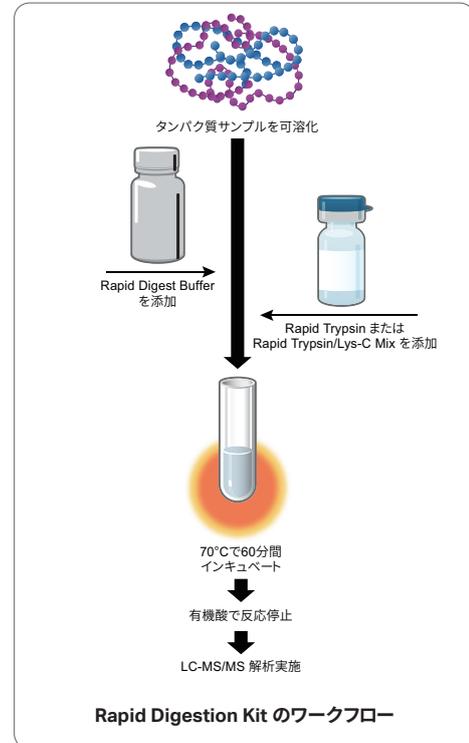
Rapid Digestion Trypsin, Rapid Digestion Trypsin/Lys-C



酵素の修飾とバッファーの最適化により、一般的に4～18時間のインキュベートを行っていたトリプシン消化（またはトリプシン/Lys-C消化）を、70度での処理を可能としたことで60分に短縮できます。ほとんどのタンパク質では還元やアルキル化は必要なく、処理ステップを大幅に省略できるため多検体分析のサンプル調製や短時間で分析結果を求める方の前処理に最適です。還元、アルキル化後や変性状態でも使用可能です。

特長

- トリプシン処理時間を劇的に短縮
- 変性剤が不要のためオフラインのサンプルクリーンアップも不要、サンプルロス機会も減少
- 還元剤、アルキル化剤存在下で使用可能
- サンプルボリュームの制限がなく、自由に実験系の設計が可能
- ヒートブロックの他に特別な機器を必要とせず、オートメーション化も可能



トリプシン処理中に起こる人為的修飾を防ぐ

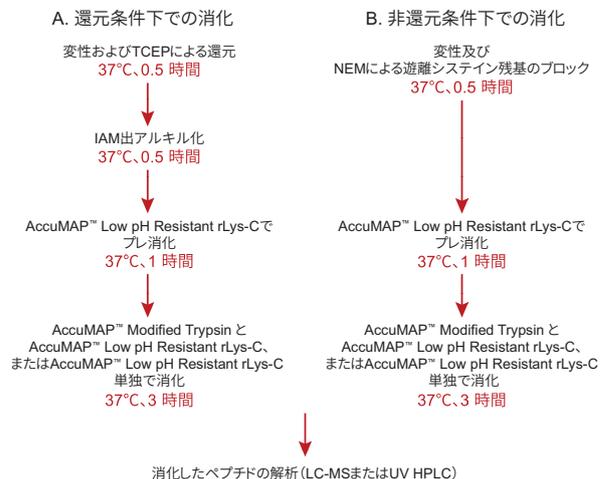
AccuMAP® Low pH Protein Digestion Kit



一般的にペプチドマッピングのサンプル調製で用いるトリプシンやプロテアーゼはアルカリ性で効率の良いタンパク質消化が可能です。しかしアルカリ性での処理は脱アミド化などの人為的な非酵素的翻訳後修飾を引き起こすことが知られており、解析を困難にします。本製品はすべての処理ステップを低 pH 条件下で行い、消化効率は維持しながら質量分析用サンプル調製で生じる人為的修飾を抑制します。タンパク質の修飾状態を詳細に分析する抗体医薬品やタンパク製剤など、品質管理分析のサンプル調製に最適です。

特長

- 低 pH で消化するため、サンプル調製時に生じる脱アミド化、ジスルフィド結合スクランブリング、酸化を抑制
- rLys-C は変性条件下でも活性があり、リジンサイトでの切断効率を最大化
- メリットを活かせる標準的なシーケンスカバレッジ
- トリプシン消化条件を最適化することで、過消化によるベースラインノイズを最小化
- 還元条件、非還元条件、変性剤存在下（グアニジン塩酸塩、尿素など）で使用可能



AccuMAP® Low pH Protein Digestion Kit のサンプル調製概要

その他プロテアーゼと消化促進剤

製品名	切断部位	特長	容量	カタログ番号
特異性の高いプロテアーゼ				
rLys-C, Mass Spec Grade	Lys-C	8M urea のような変性条件に耐性があり、プロテアーゼに抵抗性のあるタンパク質の消化に使用。リコンビナントでネイティブタイプより安価。	15 µg	V1671
Lys-C, Mass Spec Grade		ネイティブタイプの Lys-C	20 µg	VA1170
6 ページ				
NEW Arg-C Ultra, Mass Spec Grade	Arg-C	極めて高い特異性。プロリンに隣接するアルギニン (Arg-Pro 配列) にも対応。6M urea 存在下および pH 5 ~ 9 の範囲で高い活性。	5 µg 20 µg	VA1831 VA1832
Arg-C, Sequencing Grade	Arg-C、Lys-C	ヒストン修飾の解析などに。活性には DTT、システインなどの還元剤と CaCl ₂ が必要。	10 µg	V1881
Asp-N, Sequencing Grade	Asp-N、Cys-N	ネイティブタイプの Asp-N。urea (3.5M まで)、guanidine HCl (1M)、SDS (0.028% まで)、ProteaseMAX™ Surfactant (0.026% まで)、acetonitrile (60% まで)、EDTA (2mM まで)、DTT または β-mercaptoethanol 存在下で 100% 活性残存。	2 µg	V1621
rAsp-N, Mass Spec Grade	Asp-N、Cys-N	リコンビナントでネイティブタイプより安価。超純水で溶解後 4°C で 8 週間は保存可能。治療用モノクローナル抗体など精製タンパク質のペプチドマッピングに好適。	10 µg	VA1160
Glu-C, Sequencing Grade	Glu-C、Asp-C	シークエンスカバー率向上のためトリプシン以外の選択肢として使用 (In gel 消化には推奨しません)。	5 x 10 µg	V1651
6 ページ				
ProAlanase, Mass Spec Grade	Pro-C、Ala-C	至適 pH 1.5 (1 ~ 5.5)、短い消化時間 (1 ~ 2 時間)。酸性条件下での処理は人為的な非酵素的翻訳後修飾を防ぐ。	5 µg 15 µg	VA2161 VA2171
7 ページ				
NEW rChymoSelect™ MS Grade Protease Kit	Tyr、Phe、Trp の C 末端	高い切断特異性。自己消化に対して高い耐性を持ち、安定性を維持するためにカルシウムを必要とせず、リコンビナントタイプのためトリプシンの混入もない。トリプトファン残基の後で切断しない。	25 µg 100 µg	CS333204 CS333205
特異性の低いプロテアーゼ				
Chymotrypsin, Sequencing Grade	芳香族アミノ酸 (Tyr、Phe、Trp) の C 末端	膜タンパク質など疎水性タンパク質の消化などに。urea (1M まで) または guanidine HCl (1M まで) 存在下で 80% 活性残存、ProteaseMAX™ Surfactant (0.025% まで) では活性低下が見られない。	25 µg 4 x 25 µg	V1061 V1062
非特異的なプロテアーゼ				
Elastase	Ala-C、Val-C、Ser-C、Gly-C、Leu-C、Ile-C を優先的に切断	シークエンスカバー率向上のためトリプシン以外の選択肢として使用。	5 mg	V1891
Pepsin	Phe-C、Leu-C、Tyr-C、Trp-C を優先的に切断	タンパク質の構造研究 (水素重水素交換質量分析など)、抗体の解析に。プロテアーゼに抵抗性のあるタンパク質の消化に使用。	250 mg	V1959
抗体消化用プロテアーゼ				
IdeS 8 ページ		ヒト (IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、サル、ヒツジ、ウサギ、ヒト化抗体、キメラ IgG 抗体、Fc 融合タンパク質を消化。30 分で消化完了、特異性・再現性が高く、原則 100% 完全消化。除去を容易にするためヒスチジンタグを含む。	5000 u 5 x 5000 u	V7511 V7515
	IgG ヒンジ部直下			
IdeZ 8 ページ		IdeS からさらにマウス IgG2a および IgG3 サブクラスに対する活性が飛躍的に向上。30 分で消化完了、特異性・再現性が高く、原則 100% 完全消化。除去を容易にするためヒスチジンタグを含む。	5000 u 5 x 5000 u	V8341 V8345
プロテアーゼ消化促進剤				
ProteaseMAX™ Surfactant, Trypsin Enhancer	—	タンパク質を可溶化し、分解効率およびゲル内消化後のペプチド回収率が向上。1 時間で消化完了。	1 mg 5 x 1 mg	V2071 V2072

ProteaseMAX™ Surfactant はトリプシン以外の酵素にも使用できます。各種プロテアーゼとの適合性はホームページをご覧ください。

www.promega.co.jp/promega_resources/selection/protein/



迅速かつ極めて高い特異性と消化効率 Arg-C Ultra, Mass Spec Grade



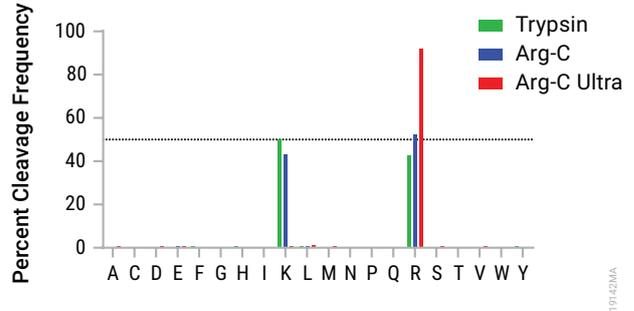
従来型の Arg-C (クロストリペイン) は、アルギニンだけでなくリジン残基も切断し、Arg-Pro 結合を切断できないため、消化が不完全になることがあります。これに対し、Arg-C Ultra は厳密なアルギニン特異性を持ち、Arg-Pro 部位でも効率的に加水分解できるように設計された酵素です。Arg-C Ultra は、リジン活性が検出されず、広い pH 範囲で高い触媒効率を維持し、高濃度尿素条件下でも活性を保ちます。これにより、ペプチドマッピング用途において一貫した消化性能を提供します。

特長

- アルギニン残基の C 末端でのみ切断
- 最適な消化条件下での未切断残基の最小化
- 30 分～ 2 時間で完了する迅速な消化反応
- Lys-C やトリプシンとの併用によるトリプシン様ペプチドの生成
- 6M 尿素存在下および pH 5 ～ 9 の範囲での高い活性
- 幅広い酵素：基質比に対応し、サンプル量や条件に応じたコスト効率を実現

参考文献

Ryzhaya P, et al. (2025) Arg-C Ultra Simplifies Histone Preparation for LC-MS/MS. Anal Chem. 97, 24, 12486-12492.



Arg-C Ultra は、従来の Arg-C およびトリプシンプロテアーゼと比較して、優れた切断特異性と消化効率を示す ヒト K562 細胞抽出物を 1:50 の酵素：基質比で、37 °C で一晩消化した。得られたペプチドは、Orbitrap Exploris™ 240 (Thermo Fisher Scientific) を用いた LC-MS/MS により分析した。データ解析は、酵素指定なしの条件で Byonic ソフトウェア (Protein Metrics) を用いて実施した。

酸性条件でプロリン / アラニンの C 末端を切断 ProAlanase, Mass Spec Grade



ProAlanase はプロリンやアラニン残基 C 末端側を優先的に切断するエンドプロテアーゼです。真菌 (*Aspergillus niger*) から分離・精製され、An-PEP や EndoPro とも呼ばれています。ボトムアッププロテオミクスで使用されるプロテアーゼの多くが中性から弱アルカリ性の pH でタンパク質を切断するのに対し、ProAlanase は酸性の pH (～ 1.0 - 5.5) で活性を示します。消化時間は 1 ～ 2 時間です。

酸性条件下で消化を行うメリット

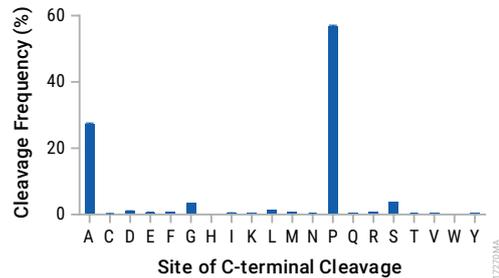
- 中性や塩基性の条件下で生じる脱アミド化やジスルフィド結合のスクランブル化など、サンプル調製に起因するアーティファクトを抑制
- 強酸性 pH (1.5 など) が変性剤として作用し、タンパク質のアンフォールディングを促進
- 重水素の逆交換が制限されるため、水素 - 重水素交換 (HDX) 質量分析に使用可能

用途

- パレオプロテオミクス
- ヒストンなどトリプシンでは消化に偏りが生じるサンプルの解析
- de-novo シーケンシング
- リン酸化プロファイリングなどの翻訳後修飾解析
- ジスルフィド結合マッピング

アプリケーションセミナー (US HUPO 2021 より)

ProAlanase を用いた上記アプリケーションに関するユーザー様の発表をご覧ください。



ProAlanase の C 末端切断特異性 ヒト K562 抽出液を、酵素：基質を 1：100 の割合で用い、pH1.5 で 37°C で 2 時間、ProAlanase で消化した。ペプチドは Q-Exactive Plus を用いた LC-MS/MS で分析した。データは Byonic™ ソフトウェアを用い酵素を指定せずに検索した。主にプロリンとアラニンの C 末端側で切断された。

参考文献

Samodova, D. et al. (2020) ProAlanase is an effective alternative to trypsin for proteomics applications and disulfide bond mapping. Mol Cell Proteomics 19(12), 2139–56.

キモトリプシンの常識を変える高特異性 rChymoSelect™, MS Grade Protease Kit



rChymoSelect™ は、抗体やその他のバイオ医薬品タンパク質のペプチドマッピングを改善するために開発された組換えキモトリプシンです。従来のキモトリプシンは、小さくかつ非特異的に切断されたペプチドを多数生成してしまうのに対し、rChymoSelect™ はチロシン、フェニルアラニン、ロイシン残基に対して劇的に改善された切断特異性を示します。さらに、自己消化に対しても高い耐性を持っています。これらの特性により、従来のキモトリプシンに比べて、よりシンプルで解析しやすいペプチドマップを得ることができます。

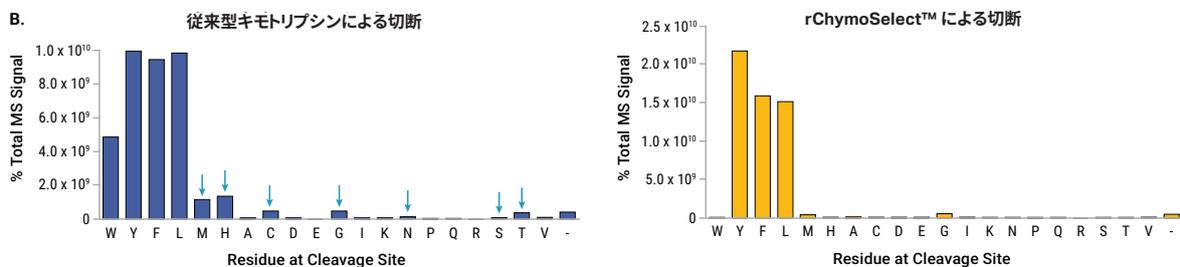
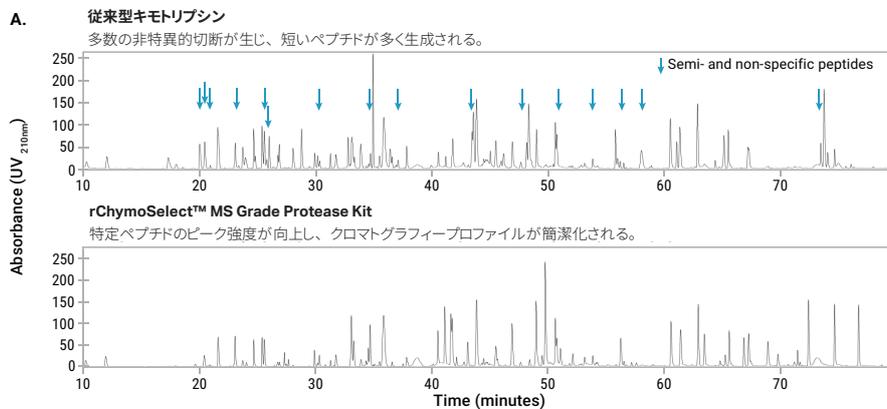
特長

- チロシン (Tyr)、フェニルアラニン (Phe)、ロイシン (Leu) に対する高い切断特異性
- 非特異的切断の排除
- トリプシンの混入なし
- 自己消化に対する高い耐性によるクリアなペプチドマップ
- ロット間での一貫したパフォーマンス
- 安定性維持にカルシウムを必要としない
- ペプチドマッピングワークフロー向けに設計・最適化された酵素

rChymoSelect™ と従来型キモトリプシンとの主な違い

	rChymoSelect™ MS Grade Protease Kit	従来型キモトリプシン (ウシ由来)
由来	<i>Pichia pastoris</i> (リコンビナント)	ウシ膵臓 (動物由来)
切断特異性	Tyr, Phe, Leu, (Met*)	Tyr, Phe, Trp + 非特異的部位
Trp での切断	なし	あり
自己消化	なし **	高い
カルシウム依存性	なし	あり
トリプシン混入	なし	起こり得る
ロット間再現性	高い	中程度
MS 適合性	クリーンなペプチドマップに最適化済み	ばらつきあり ペプチド品質が低い傾向あり

* タンパク質に依存 ** 推奨される消化条件下での結果



rChymoSelect™ MS Grade Protease Kit は、非特異的切断を低減し、ペプチド解析の精度を向上させる。パネル A. モデル基質を用いた従来のキモトリプシンと rChymoSelect™ MS Grade Protease Kit による消化の UV クロマトグラムを比較した従来のキモトリプシンでは、多数のセミ特異的および非特異的な切断産物 (青矢印) を含む複雑なペプチド混合物が生成された。これに対し、rChymoSelect™ MS Grade Protease Kit は特異的切断によるピーク強度が増加し、単純化されたペプチドプロファイルを示した。パネル B. 質量分析に基づく切断特異性の定量結果を示す。従来のキモトリプシンは複数の意図しない部位で切断を行ったのに対し、rChymoSelect™ MS Grade Protease Kit はフェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、ロイシン (L) に対して高い忠実性を示し、トリプトファン (W) での切断を回避した。

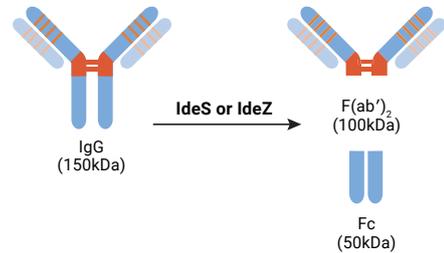
最適化不要、30分以内に IgG を切断 IdeS Protease, IdeZ Protease



IdeS および IdeZ プロテアーゼはイムノグロブリン G (IgG) をヒンジ領域下部の 1 か所を特異的に切断し、F(ab)₂ と Fc 断片を生じます。どちらもヒト IgG1、IgG2、IgG3 および IgG4、サル、ヒツジ、ウサギ、ヒト化および キメラ IgG、Fc- 融合タンパク質を効率的に切断します。また、IdeZ プロテアーゼのみマウスの IgG2a および IgG3 を切断できます。

特長

- 迅速かつ簡便：最適化なしでも 30 分で消化完了
- 非常に特異性が高く、抗体を一貫して F(ab')₂ フラグメントおよび Fc フラグメントへ切断
- His タグが付加されているため反応液中から除去が可能
- 幅広い生物種に使用可能な高い汎用性
- 優れたコストパフォーマンス



IgG1 Hinge sequence: S-C-D-K-T-H-T-C-P-P-C-P-A-P-E-L-L-G-G-P-S-V

IdeS or IdeZ cleavage site

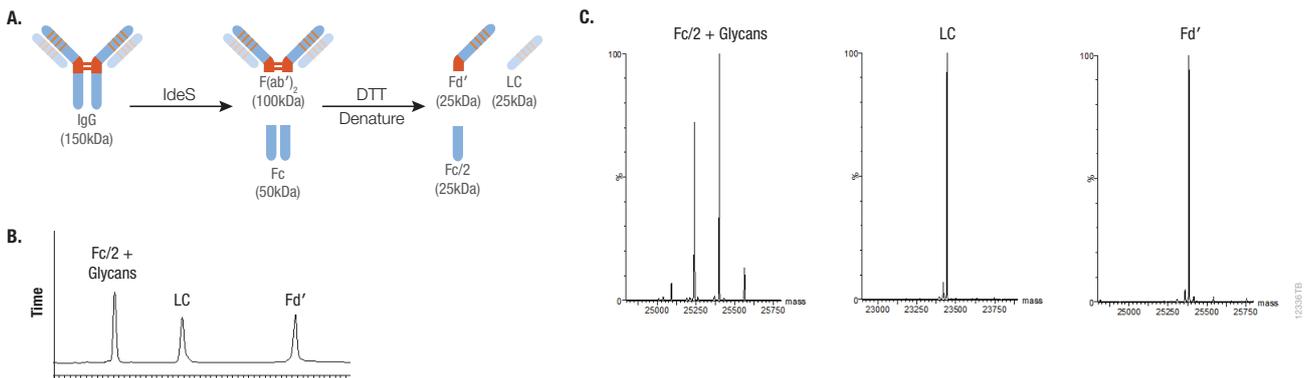
用途

- Fc 融合タンパク質や抗体薬物複合体 (ADC) など、抗体医薬の特性解析
- F(ab)₂、Fc 断片の生成
- 高い特異性を要する切断

IdeS および IdeZ プロテアーゼの切断特異性 IdeS プロテアーゼは *Streptococcus pyogenes* 由来の改変組換えプロテアーゼであり、IgG のヒンジ領域の下の単一サイトを切断し、F(ab)₂ と Fc 断片を生じる。IdeZ プロテアーゼは *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* 由来の改変組換えプロテアーゼであり、IdeS と同様に IgG のヒンジ領域の下部を切断し、F(ab)₂ と Fc 断片を生じる。IdeZ プロテアーゼはマウス IgG2a および IgG3 サブクラスに対する活性が IdeS プロテアーゼよりも著しく改良されている。

LC-MS による治療用抗体の特性解析

IgG を IdeS プロテアーゼで消化した後に還元処理を行うことで、約 25 kDa の 3 つのフラグメント (Fd', Fc/2、LC) が生成され、LC/MS による特性解析に最適です。これらの小さなフラグメントにより高精度な質量測定が可能となり、翻訳後修飾 (PTM) の検出を可能にします。



IdeS および IdeZ プロテアーゼの切断特異性 IdeS による消化後、還元および変性処理を行うことで、HPLC による分離性が向上し、質量分析に理想的なフラグメントが得られる。パネル A：IgG を IdeS で消化後、還元処理することで、約 25 kDa の 3 種類のフラグメントが生成される。パネル B：HPLC により分離された IdeS 消化産物の一例を示す。パネル C：IdeS 消化により得られた 3 種類のフラグメントの質量分析結果を示す。

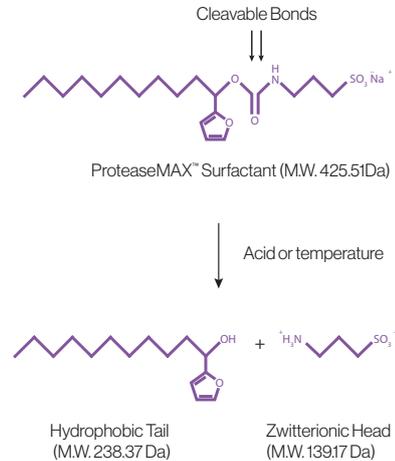
タンパク質の溶解性を高めて消化効率・再現性を向上 ProteaseMAX™ Surfactant, Trypsin Enhancer



ProteaseMAX™ Surfactant は膜タンパク質の様なタンパク質であっても可溶化し、トリプシン、Lys-C やキモトリプシンなどのプロテアーゼによる分解効率を向上させます。また、タンパク質のゲル内消化では、消化時間の短縮とペプチドの回収率が改善されます。本試薬は消化反応中に分解されるため除去処理は不要であり、分解物は質量分析や液体クロマトグラフィーに影響を与えません。

特長

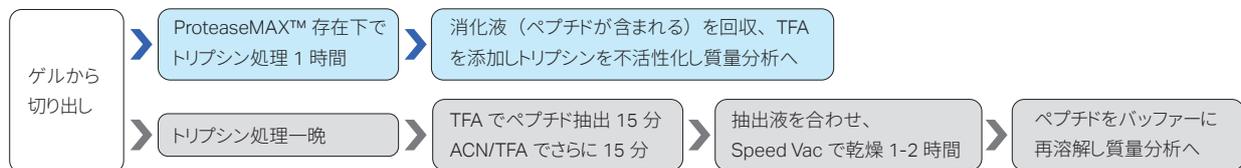
- タンパク質を変性し、プロテアーゼによる消化時間を3時間にまで短縮
- ゲルからのペプチド回収率が増加し、タンパク質同定精度が向上
- 室温で1時間以内に疎水性タンパク質を可溶化
- Urea と同時に使用して可溶性を向上
- 消化後に加熱や酸などによる不活性化処理が不要、そのまま質量分析に使用可能



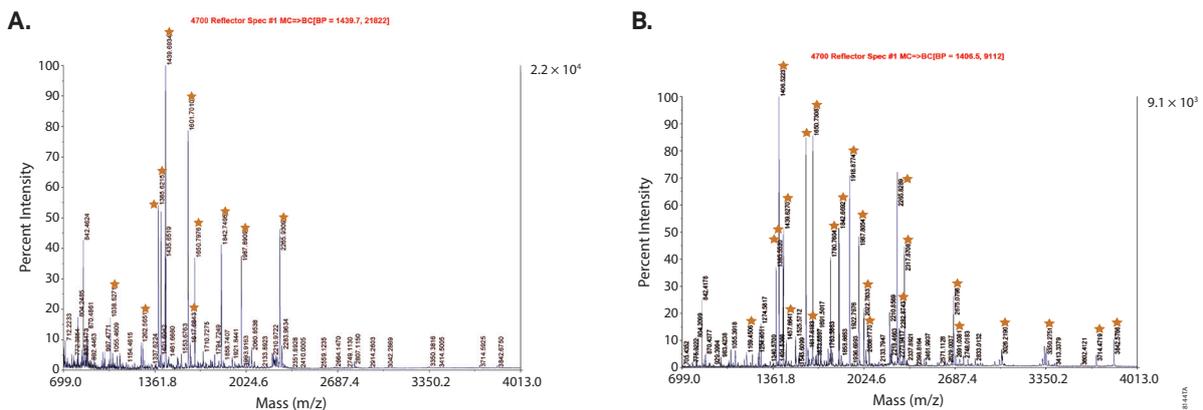
参考文献

Saveliev SV, et al. (2013) Mass Spectrometry Compatible Surfactant for Optimized In-Gel Protein Digestion. Anal Chem. 85, 2, 907-914.

ProteaseMAX™ Surfactant の物理的特性 陰イオン界面活性剤である ProteaseMAX™ Surfactant は 1% ストック溶液であれば -20°C で安定である一方、消化条件下 (例: 50°C で 1 時間、ProteaseMAX™ Surfactant 濃度 0.025%) で分解し、界面活性剤様の特性を失う。



ProteaseMAX™ Surfactant と従来法の作業フローの比較



ProteaseMAX™ Surfactant を用いた効果的な In-gel タンパク質消化 (MALDI-TOF 解析) タンパク質の In-gel 消化において ProteaseMAX™ Surfactant を使用した場合と未使用の場合の MALDI-TOF マススペクトルを示す。マウス心臓から抽出した膜タンパク質を 4-20% SDS-PAGE に供し、Coomassie® R-250 で染色した。56 kDa の位置にあるバンドを切り出し、タンパク質を ProteaseMAX™ Surfactant 有り、または無しの場合で消化した。 **パネル A.** 従来の一晩消化の後、TFA / acetonitrile でペプチドを抽出した。 **パネル B.** ProteaseMAX™ Surfactant を用いて 1 時間消化した。どちらの場合でも得られたペプチドは 10 µl C18 ZipTip® pipette tips (Millipore 社) で精製し、OptiBeam™ on-axis laser 搭載 4800 MALDI-TOF/TOF Mass spectrometer (Applied Biosystems) で解析した。バンド内の主要なタンパク質は H+ トランスポーターミトコンドリア F1 複合体由来 ATP 合成酵素のβサブユニットとして同定された(アサインされたペプチドをアスタリスクで示す)。シーケンスカバレッジ、MASCOT スコア、ランダムマッチの確率は従来法においてそれぞれ 50%、828、 1×10^{-76} であったのに対し、ProteaseMAX™ Surfactant を用いた場合は 75%、920、 3.2×10^{-87} であった。ProteaseMAX™ Surfactant を用いると長いペプチド (2,300-4,000 Da) が効率的に回収された。

サンプル調製・リファレンス試薬

製品名	特長	容量	カタログ番号
サンプル調整キット			
NEW Magnetic Proteomics Sample Prep (MPSP) Kit	SP3 法に基づく磁気ビーズを含むキットで、サンプルのクリーンアップおよび濃縮が可能	100 回反応分	CS3325A04
タンパク質			
MS Compatible Yeast Protein Extract, Digest	酵母タンパク質、酵素処理済みタイプ	100 µg (凍結乾燥品)	V7461
MS Compatible Human Protein Extract, Digest	ヒトタンパク質、酵素処理済みタイプ	100 µg (凍結乾燥品)	V6951
MS Compatible Yeast Protein Extract, Intact	酵母タンパク質、酵素未消化タイプ	1 mg (溶液タイプ*)	V7341
MS Compatible Human Protein Extract, Intact	ヒトタンパク質、酵素未消化タイプ	1 mg (溶液タイプ*)	V6941
ペプチドミックス			
6x5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix	LC-MS のダイナミックレンジ・感度評価用ペプチドミックスで、フリーソフトウェアにより手計算不要	50 µl** 200 pmol***	V7491 V7495

* 溶媒組成：6.5M Urea/50 mM Tris-HCl (pH 8) 濃度：10 mg/ml

** 溶液タイプ、500 fmol のインジェクション 50 回分に相当

*** 凍結乾燥品、5 pmol のインジェクション 40 回分に相当

SP3 磁気ビーズでタンパク質サンプル調製を簡素化

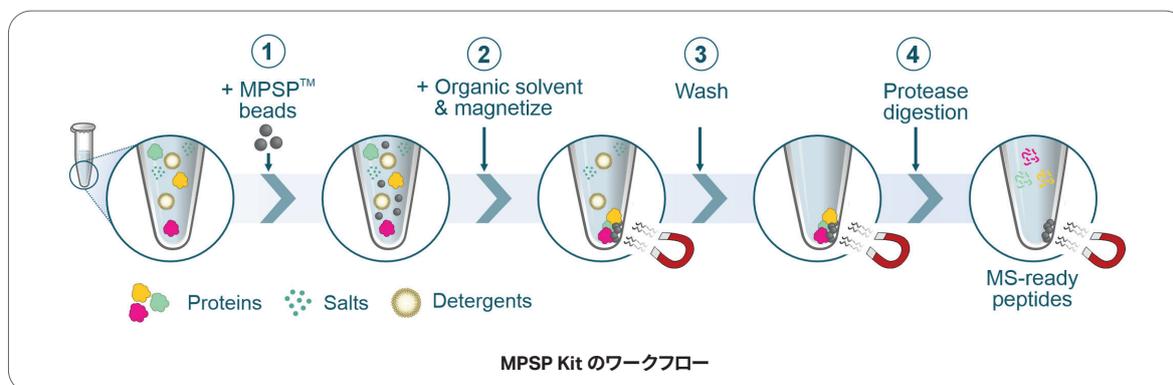
Magnetic Proteomics Sample Prep (MPSP) Kit



本製品には Single-Pot, Solid-Phase-enhanced Sample Preparation (SP3) 法に基づく磁気ビーズを含まれ、ボトムアッププロテオミクスワークフローにおいて、効率的かつ信頼性の高いタンパク質サンプルの前処理が可能です。界面活性剤や変性剤を含むバッファーを含め、さまざまな条件に高い互換性を示します。自動化に対応しスケールアップであるため、沈殿法、FASP、S-Trap といった従来法に代わる合理的な選択肢として、手動および自動プラットフォームの双方に適しています。

特長

- 多様な界面活性剤、塩、変性剤に対応
- 高い磁気応答性で容易なハンドリングとクリーンな分離を実現
- 0.5 ~ 2 mg のインプット量に対応し、手動および自動ワークフローにシームレスに適合
- オンビーズ消化可能、作業時間とサンプルロスを最小化
- サンプル間およびラン間で信頼性の高い結果を提供



LC-MS 性能評価用タンパク質消化物&抽出物 Mass Spec-Compatible Protein Extracts



質量分析装置のパフォーマンスチェックやサンプル調製の最適化、手法開発を行うための酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) ならびにヒト (K562 細胞株) のタンパク質抽出物です。酵母抽出液は比較的コンパクトでよく研究されたプロテオームを研究する方に、ヒト抽出液は広いダイナミックレンジを有する複雑なプロテオームの研究に適しています。抽出液は、液体クロマトグラフィー / 質量分析 (LC-MS) にすぐ使用できるようトリプシン処理後固相抽出したものと、質量分析用のサンプル調製を最適化するためのテストマテリアルに使用できるトリプシン未消化タイプがあります。

特長

- 細胞培養条件から製造工程におよぶ厳重な管理により一貫性のあるタンパク質構成を保証
- 抽出液のロット間の安定性は、LC-MS およびアミノ酸分析を含む様々なタンパク質 / ペプチド定量 / 定性分析によりモニタリング
- 非特異的断片化や非生物学的な翻訳後修飾および最小限の未消化ペプチドのモニタリングにより、LC-MS との適合性を確認
- 安定したペプチド保持時間、シグナル強度、その他重要なパフォーマンスパラメーター

保存条件

Digest タイプは -20°C 保存。0.1% TFA またはギ酸で溶解後は 4°C で 3 週間、-20°C または -70°C で 6 ヶ月まで保存可能。複数回の凍結融解を避けるため、溶解後に小分けにし、ドライアイスで瞬間凍結して冷凍保存することが望ましい。

Intact タイプは -70°C 保存。複数回の凍結融解を避ける。

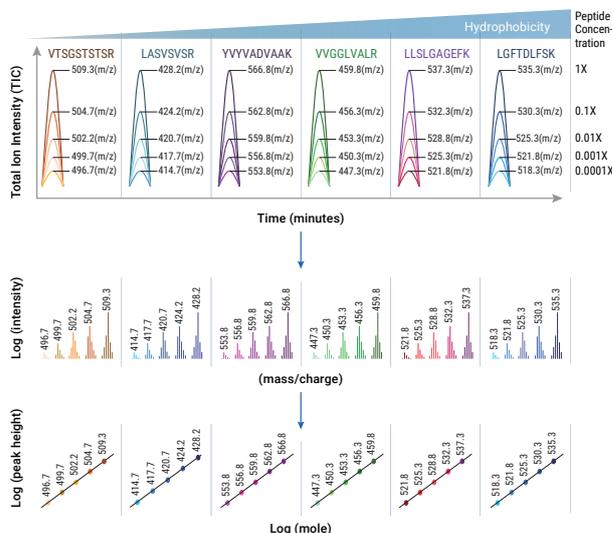
品質管理項目の比較

MS-Compatible Human Protein Extract Digest (V6951)	他社 HeLa protein Digest Standard
非酵素的翻訳後修飾	
脱アミド化ペプチドスペクトル	≤ 12 % / Not tested
酸化ペプチドスペクトル	≤ 5 % / < 10 %
カルバミル化ペプチドスペクトル	≤ 5 % / < 10 %
切断ミス	
切断ミス	≤ 10 % / < 10 %
ペプチドクオリティ	
サンプル中のアミノ酸を定量	A280
タンパク質の断片化	1 % 以下 / Not tested
マッチングスペクトル	> 65 % / Not tested
ロット間安定性	
総タンパク質	> 1,805 / -
ユニークペプチド	> 12,463 / LC-MS クロマトグラムがリファレンスに一致
1,194 のヒトのコアペプチドの 85% 以上同定	リファレンスとのペプチドエリアの比 = 0.75 ~ 1.125
10 個のリファレンスタンパク質の相対存在量をモニターすることにより再現性を定量	Not tested

LC-MS 性能評価用ペプチドミックス 6 x 5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix



本製品は同じペプチド配列のアイソトポログ 5 種類 × 6 セットからなる 30 種のペプチドの混合物であり、液体クロマトグラフィー (LC) と質量分析装置 (MS) のパフォーマンスのモニタリング、手法の開発や最適化などに使用できます。アイソトポログは配列中に組み込まれた安定重同位体標識アミノ酸の数のみが異なります。標識は ¹³C と ¹⁵N 原子からなります。各アイソトポログはクロマトグラフィーで分離できませんが、質量が異なるため質量分析装置では明瞭に分離されます。各ペプチドのアイソトポログは 10 倍段階希釈されています。これらの特長により機器のダイナミックレンジや感度の評価が 1 回のランで可能となります。



6 × 5 LC-MS/MS Peptide Reference Mix の標準的なワークフローおよび対応する特長 6 種類のペプチドセットからなる混合物は、合計 30 種類のペプチドで構成されている。各ペプチドセットは、安定同位体で重標識されたアミノ酸を配列中に組み込むことにより質量のみが異なる、5 種類のアイソトポログの混合物である。

グリコシダーゼ

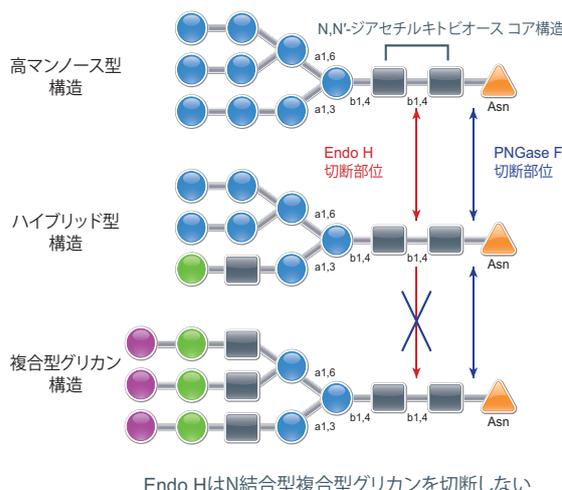
製品名	切断部位	特長	容量	カタログ番号
N 結合型糖鎖除去				
PNGase F	N- 結合型糖鎖の最も内側の N- アセチルグルコサミンとアスパラギン残基間	ほとんどの N- 結合型糖鎖をタンパク質から切断。リコンビナントで低コスト、ProteaseMAX™ と併用も可能。2 時間で反応完了。	500 u	V4831
Endoglycosidase H	ジアセチルキトビオースコア内 N- アセチルグルコサミン残基間	N- 結合型糖鎖のうち、高マンノース型糖鎖、ハイブリッド型糖鎖	10,000 u	V4871
		をタンパク質から切断。	50,000 u	V4875
コントロール基質				
Fetuin	—	O 結合型および N 結合型の糖鎖付加部位を持つ、グリコシダーゼ用コントロール基質。	500 µg	V4961

PNGase F

- *Elizabethkingia miricola* よりクローニングされ、大腸菌で発現させた組換えグリコシダーゼで、分子量は 36 kDa
- N 結合型糖タンパク質から高マンノース、ハイブリッド型オリゴ糖、複合型オリゴ糖の最も内側の GlcNAc 残基とアスパラギン残基間の切断を触媒

Endoglycosidase H (Endo H)

- *Streptomyces plicatus* 由来のグリコシダーゼで、大腸菌で発現させた組換え型酵素
- 高マンノース型構造のキトビオースコアあるいは N 結合型糖タンパク質からハイブリッドオリゴ糖を切断
- ジアセチルキトビオースコア内の 2 つの N- アセチルグルコサミン残基間を切断し、アスパラギン上に 1 個の N- アセチルグルコサミン残基を残す



PNGase F と Endo H の切断部位

ユニット定義

1 ユニットは、トータルボリューム 10 µl の反応系で 37°C、1 時間で 10 µg の変性 RNase B から 95% 以上の糖を除去するために必要な酵素量です。

日本語 Web site : www.promega.jp

テクニカルサービス • Tel. 03-3669-7980 • E-mail : prometec@jp.promega.com

プロメガ株式会社

本社 〒103-0001
東京都中央区日本橋小伝馬町 1-5 PMO日本橋江戸通
Tel. 03-3669-7981

大阪事務所 〒541-0051
大阪市中央区備後町 4-1-3 御堂筋三井ビルディング
Tel. 06-6202-4581

*製品の仕様、価格については 2026 年 3 月現在のものであり予告なしに変更することがあります。

販売店