

リン酸化ペプチド Phosphopeptides

リン酸化ペプチドを、L-column3 メタルフリーカラムを用いて、酸性溶離液とアルカリ性溶離液で分析しました。

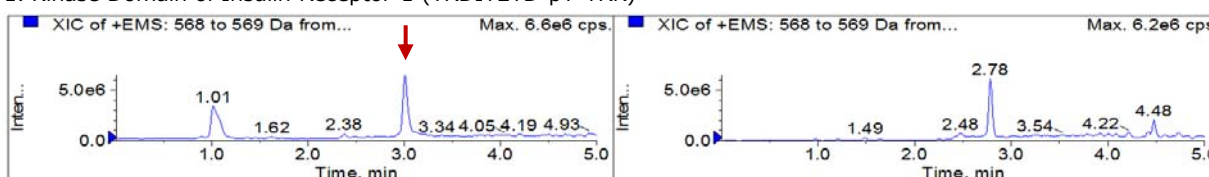
キーワード : C18, ODS, オクタデシルシリル化シリカゲル, ペプチド, リン酸化ペプチド, メタルフリーカラム
 Key words : Octadecyl silanized silica gel, Peptides, Phosphopeptides, Metal-free column
 Column : L-column3 C18 (USP category: L1)

[Analytical conditions]

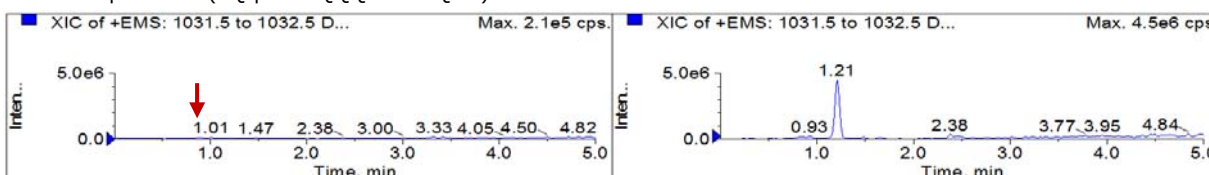
Column : L-column3 C18 (C18, 3 μ m, 12 nm); 2.0 mm I.D., 100 mm L.; Cat. No. 861170
 Eluent : A: CH₃CN; B: ① 5 mM HCOOH in H₂O, ② 5 mM NH₃ in H₂O
 A/B, 2/98-50/50 (0-5 min)
 Flow rate : 0.2 mL/min
 Temperature : 40 °C
 Detection : ESI-MS/MS(+)
 Injection volume : 1 μ L (1 pmol/ μ L, 0.1% HCOOH in H₂O)
 System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 QTRAP (SCIEX)
 Sample :

Name	R.T. (min) (n=3)		S/N (n=3)		
	HCOOH	NH ₃	HCOOH	NH ₃	Radio
1. Kinase Domain of Insulin Receptor-1	3.022	2.784	145	186	1.3
2. Bovine β -Casein	0.950	1.208	3	142	47.3
3. PKA Regulatory Subunit II Substrate	4.130	3.754	6	129	21.5

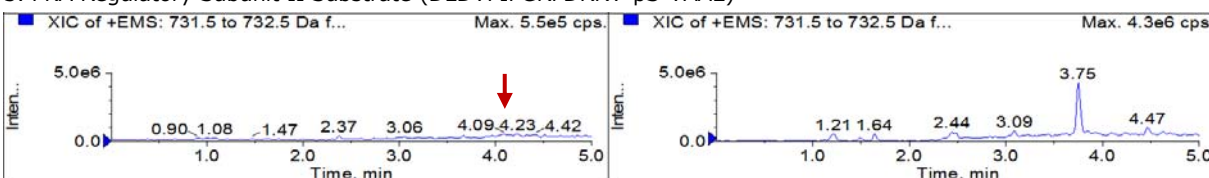
1. Kinase Domain of Insulin Receptor-1 (TRDIYETD-pY-YRK)



2. Bovine β -Casein (FQ-pS-EEQQQTEDELQDK)



3. PKA Regulatory Subunit II Substrate (DLDVPIPGRFDRRV-pS-VAEE)



① 酸性溶離液(ギ酸溶液)

② アルカリ性溶離液(アンモニア溶液)

Fig. リン酸化ペプチドのマスキロマトグラム(酸性溶離液 vs. アルカリ性溶離液)

アンモニア溶離液を用いると、ギ酸溶離液では検出できないリン酸化ペプチドも検出可能となります。このとき、リン酸基が解離するため、リン酸化ペプチドのS/Nの向上とピーク形状の改善ができます。