

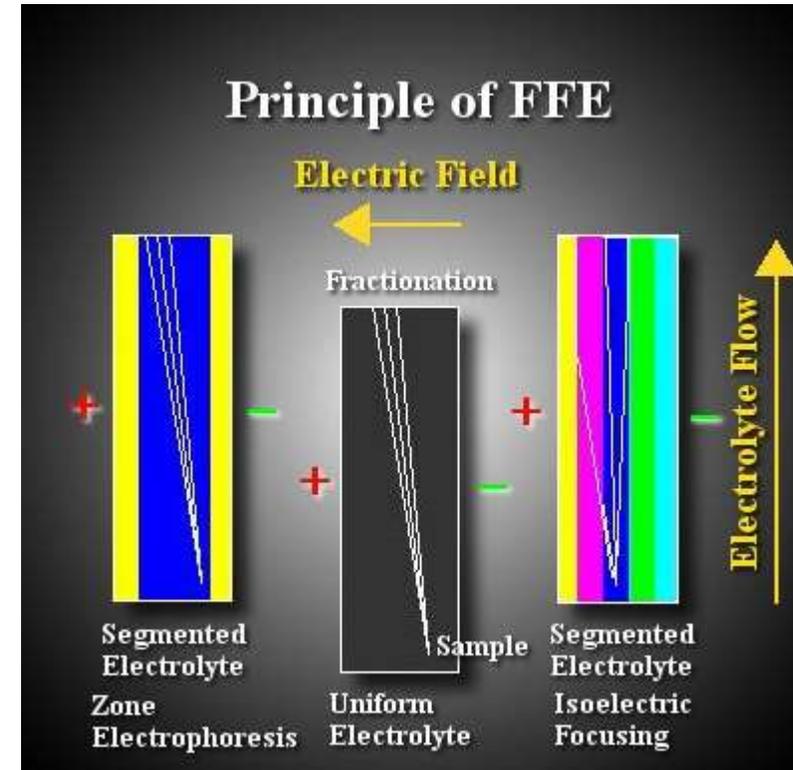
Free Flow Electrophoresis (FFE)のご紹介



FFE技術とは・・・？

- FFE: Free Flow Electrophoresis (フリーフロー電気泳動法)
- ゲルなどの分離素材なしで電気泳動技術を利用した粒子分離技術
- 電場のかけ方によって、粒子荷電、粒子サイズ、粒子密度などの違いによって分離可能
- 代表的な測定対象物は
 - タンパク質
 - ペプチド
 - 核酸
 - リポソーム
 - 細胞

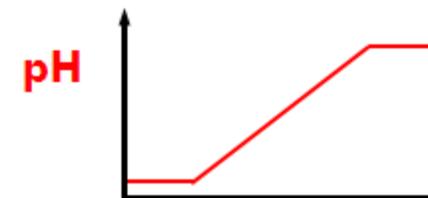
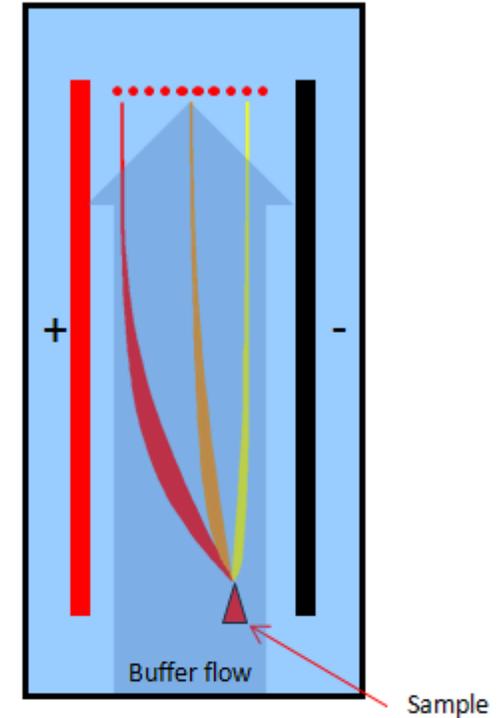
など



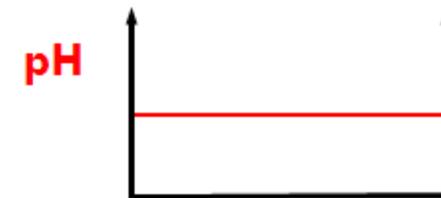
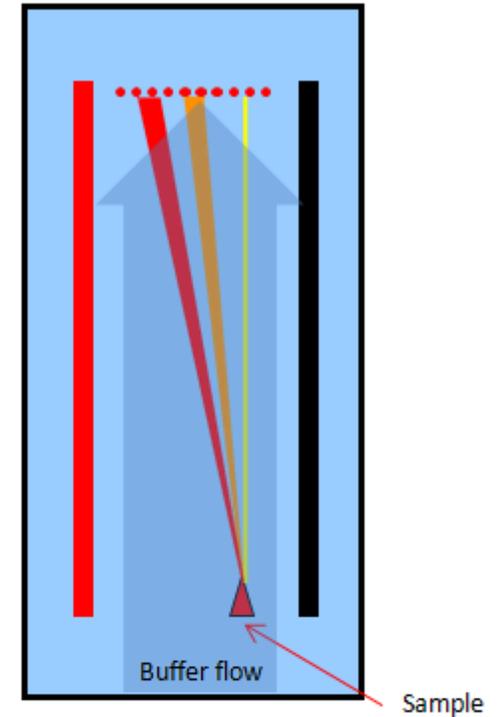
<http://www.aesociety.org/areas/ffe1.php>

分離手法－IEF－

- Isoelectric Focusing (IEF)法
- 等電点(pI)の違いによって分離する手法
- 測定専用のSeparation Buffer (両性イオン物質、グリセロール入り) を流し、予めpHグラディエントを形成し、その後サンプルをインジェクション
- 等電点領域にサンプルが入ると電気泳動しなくなるため、そのpHが等電点であると考えられる
- pH幅はWide mode (e.g. pH3-10, pH4-11など)と、Narrow mode (e.g. pH3-5, 5-8, 6-7, など多数)から選択可能
- 主に、タンパク質のNative/Denatureの違い、あるいはpeptideなどによく使用される

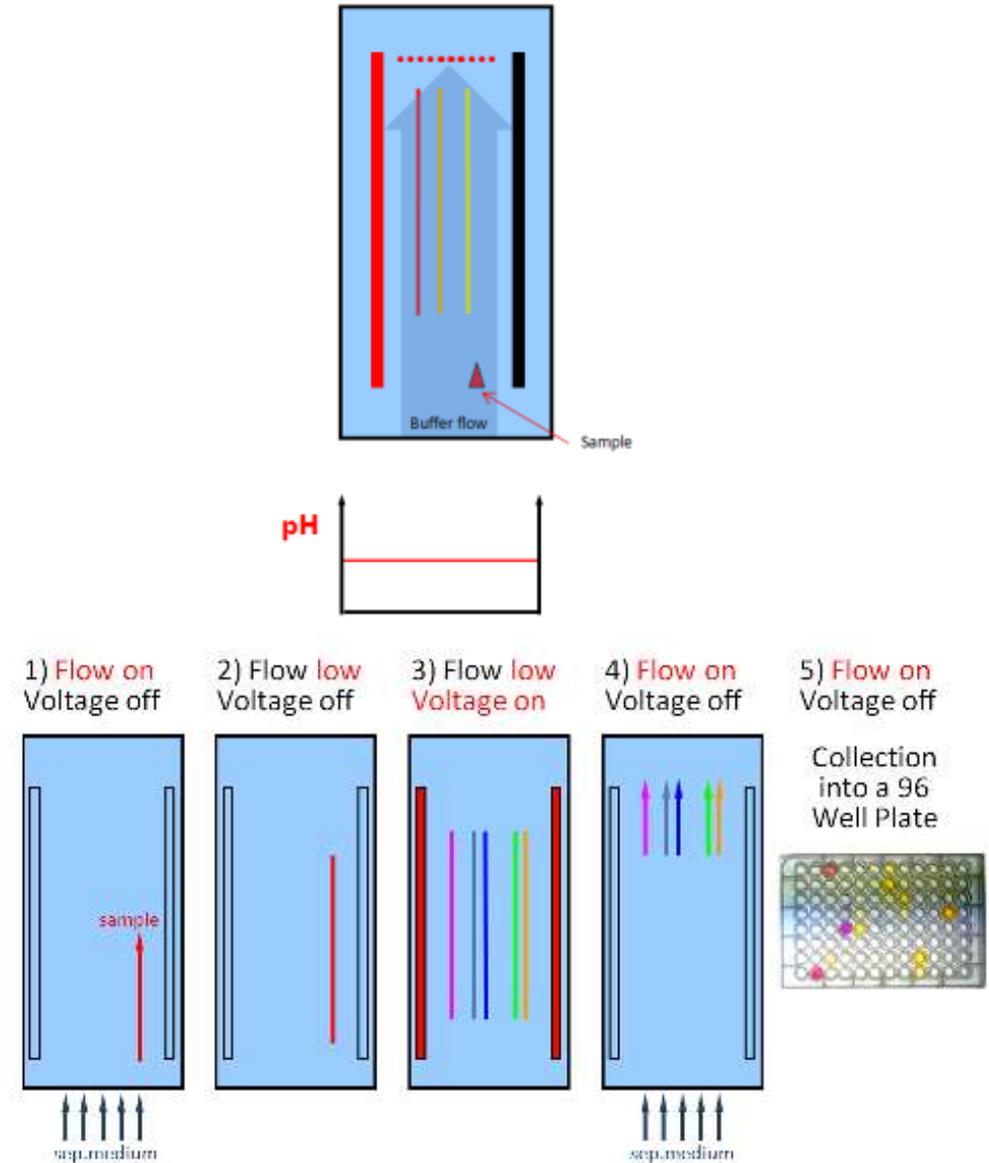


- Zone Electrophoresis (ZE)法
- 粒子の表面チャージの違い手法
- 任意のSeparation Bufferを流し、その後サンプルをインジェクション (最もシンプルな分離方法)
- 主に大きな粒子、例えば細胞やオルガネラなどに適している



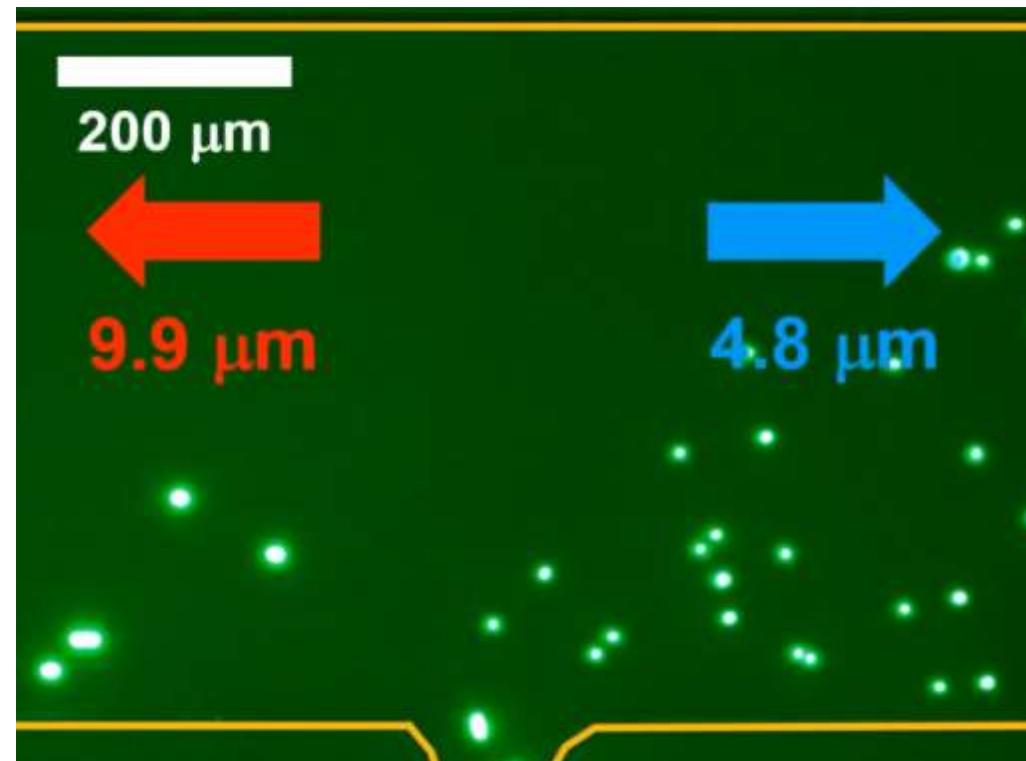
分離手法－IZE－

- Interval Zone Electrophoresis (IZE)法
- 粒子の表面チャージの違い手法で、基本的にZE法とくらべ分解能がさらに向上
- 任意のSeparation Bufferを流し、いったん電気泳動させない状態でサンプルを投入、Flowを低速にした後電気泳動を開始、その後サ電気泳動をやめてからFlowを通常流速に変え分離
- ZE法でできた大きな粒子だけでなく、もっと小さな粒子、例えばタンパク質、複合体（凝集も含む）、Isoform解析にも適応する



アプリケーション事例 – 数 μm の粒子分離 –

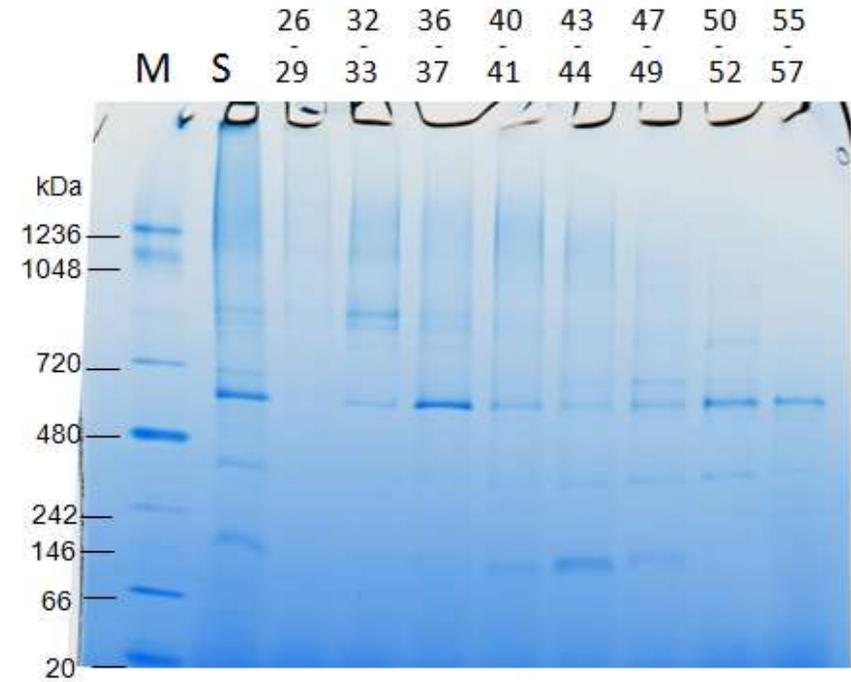
- 粒子荷電密度が均一である場合、粒子重量（粒子密度が同一であれば粒子サイズ）の違いによって分離が可能



<https://www.youtube.com/watch?v=LNUGcq1M4LI>

アプリケーション事例 – タンパク質凝集の定量 –

- IZE法にて分離
- 43-44のフラクションで最もMonomerが多く、それ以外は複合体を形成していることがわかる
- さらに大きな粒子も形成している可能性があるため、このフラクションをDLSなどの手法で確認すれば、さらに解析が前進することが期待される



Blue Native PAGE

アプリケーション事例 – Isoform解析 –

- IEF法にて分離
- 酸性pIのタンパク質をIEF法で分離してみると、Isoformが存在していることがわかる
- Buffer交換などを実施して、Mass分析などで詳細を確認してみるのも有用だと思われる

