

Aurora Rapidカラムを用いた複雑なサンプルに対するDDA法によるハイスループットプロテオミクス

ピックアップ製品:



CaptiveSpray Insert (CSI)を備えた、5cmのAuroraシリーズエミッター一体型充填カラム (5cm x 150μm ID, 1.6μm C18) 部品番号AUR2-50150C18A-CSI



5cmのAuroraシリーズエミッター一体型充填カラム (5cm x 150μm ID, 1.6μm C18) 部品番号AUR2-50150C18A

はじめに

超高感度、ハイスループットプロテオミクス

IonOpticksの5cm Auroraシリーズエミッター一体型充填カラムは、画期的なnanoZero®フィッティングを採用しており、シンプル化されたプラグアンドプレイのハイスループットプロテオミクスを可能にします。このカラムは5分のグラジエントで1日180のサンプルを分析できます。トリプシンで消化したHeLa細胞溶解物を注入し、PASEFを使用して、180 SPD法とデータ依存的取得法により分離した結果、3,600のタンパク質同定 (16,000の特異的ペプチド同定) が得られ [図1]、ラン間で非常に再現性の高いペプチド保持時間が示されました [図2]。

図1 特異的ペプチドおよびタンパク質の同定数

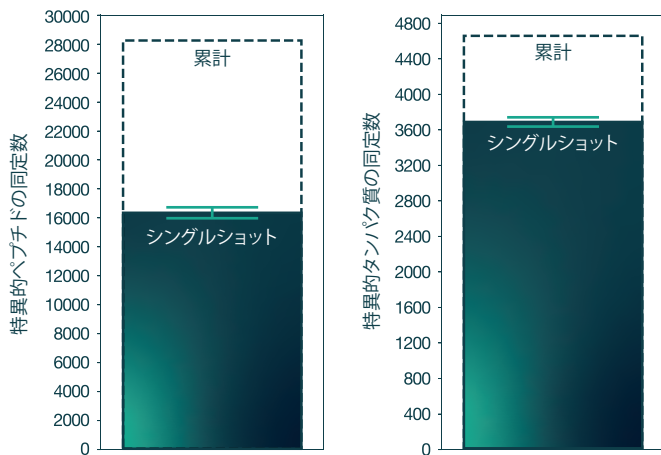


図2 180のサンプルにおける9種類のペプチドの保持時間の比較

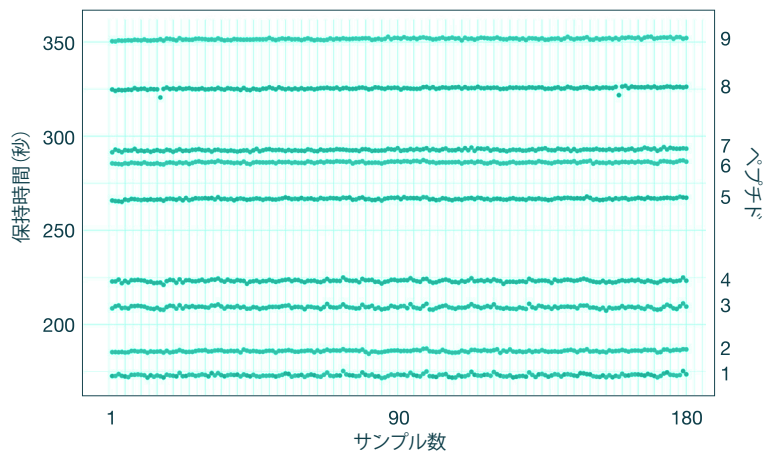


図3 ペプチド強度のピアソン相関プロット

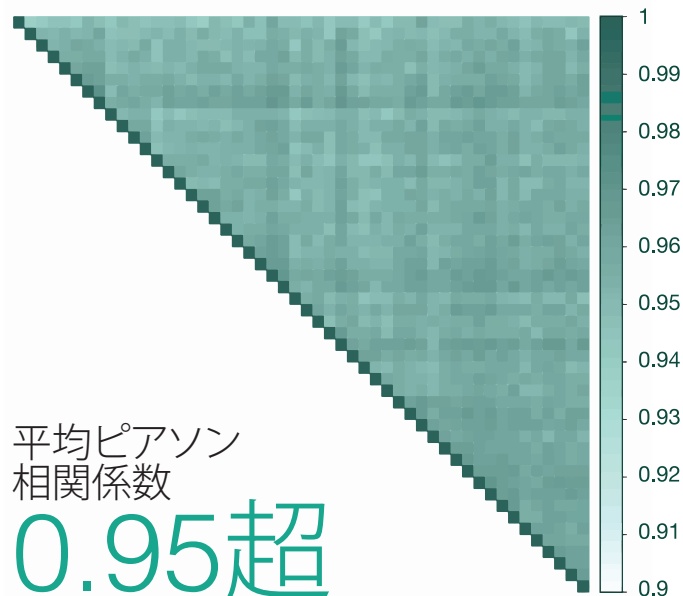
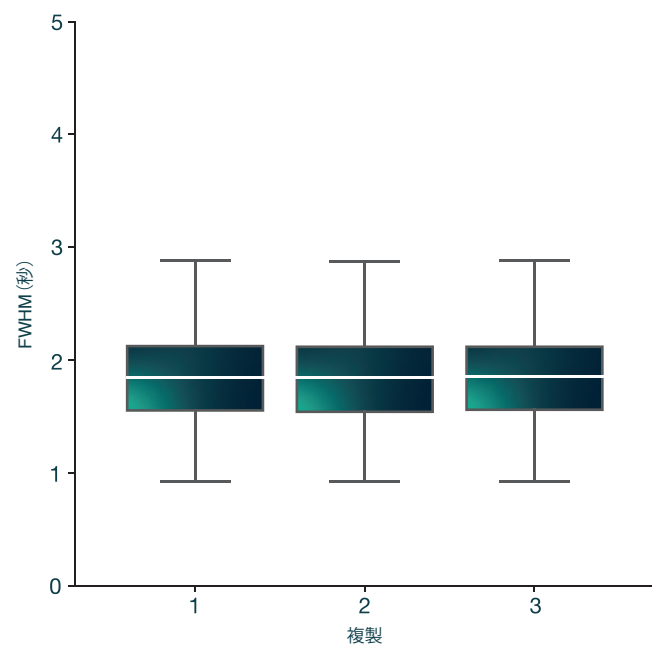


図4 ペプチドのFWHMの中央値と標準偏差



DDA-PASEFで
の1ランあたり
3600
超のタンパク
質同定


1日あたり
180

内蔵された
nanoZero
高圧フィッ
ティング


半値全幅
1.9秒

メソッド

HeLa細胞タンパク質トリプシン消化標準試料 (Pierce, Thermo Fisher) を、2%アセトニトリル、1%ギ酸のMilliQ水溶液で80ng/μLの濃度に再構成しました。サンプルを、CaptiveSprayソースを搭載したtimsTOF Pro (Bruker) にM-class (Waters, 米国) を連結して分析。80ng (1 μl) のペプチドを、5cm X 150 μm Auroraカラムを用いて、2 μl/minの一定流速で分離。カラムは室温に維持。約0.5分かけてサンプルをサンプルループに注入しました。この間、バッファA 100%の移動相を分析カラムに流し続け、カラムの平衡化を促進。サンプルループをバッファA 100%で1分間オンラインに切り替えました。推奨されるサンプルグラジエントを図6に示しています。

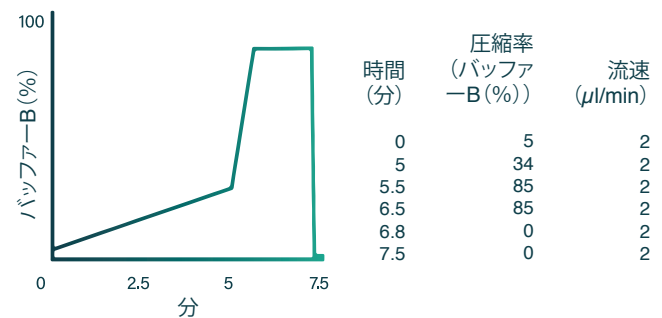
それとは別に、Hela細胞トリプシン消化物20 μg (Pierce, Thermo Fisher) を10mMのギ酸アンモニウム (pH10) に再懸濁しました。ペプチドを、4 X C18プラグを備えたステージチップを用いて12のフラクションに分離。フラクションはCentriVap (Labconco) を用いて凍結乾燥した後、2%ACN、1%FAで再構成した後分析を行いました。フラクションの分析にはシングルショットサンプルと同様のLC-MS法を採用しています。

生データの処理と分析。データは、統合されたAndromeda検索エンジンを使ってMaxQuantソフトウェアで分析された後、ヒトUniprot参照プロテオームに対する検索が行われ、Match-Between-Runs機能を使って高pH分画ライブラリと照合されました。

Aurora Rapid 5x150、 5分のグラジエント

(5cm x 150 μm ID, 1.6 μm C18) 部品番号AUR2-50150C18A

グラジエントの例



頑健な再現性

- ハイスループット分析
- 最大のタンパク質同定数
- 最小ピーク幅
- 大規模なサンプルコホートにおける一貫した性能

詳細情報

詳しいリソースおよび技術サポートについては、当社のヘルプセンターのWebページ (helpcentre.ionopticks.com) をご覧ください。

その他のアプリケーションノートやAuroraシリーズカラムに関する最新の出版物、IonOpticksの全製品をご覧になりたい方は、当社Webサイト (www.ionopticks.com) をご確認ください。

ヘルプセンターでこれらの追加資料をお探しいただけます。



AuroraシリーズUHPLCエミッター
体型充填カラム・ユーザーガイド

IonOpticksについて

IonOpticksは、グローバルな研究コミュニティ向けに高性能のクロマトグラフィーソリューションを製造しています。当社は、液体クロマトグラフィー-質量分析法 (LC-MS) およびハイエンドプロテオミクスにおける分析アプリケーション用カラムの開発・製造を専門としています。当社の再現性の高い手法により、質量分析によるサンプル分析の感度を高める独自の能力が得られ、これにより科学者や臨床医はサンプルからより多くの発見をすることができます。IonOpticksのチームは多岐にわたるLC-MSプラットフォーム技術のエキスパートであり、全く新たなスケールでデータ品質と深いプロテオームカバレッジを実現するため、クロマトグラフィー性能を向上させる必要性に突き動かされています。