

# 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、230を超えるタンパク質同定(1,600を超える特異的ペプチド同定)結果が得られ[図1、図2]、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3]。

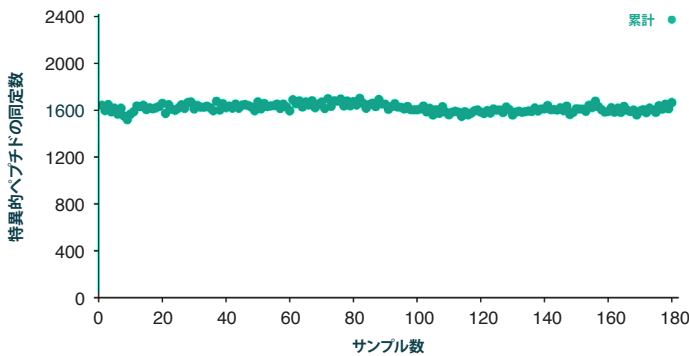


図1 特異的ペプチドの同定数

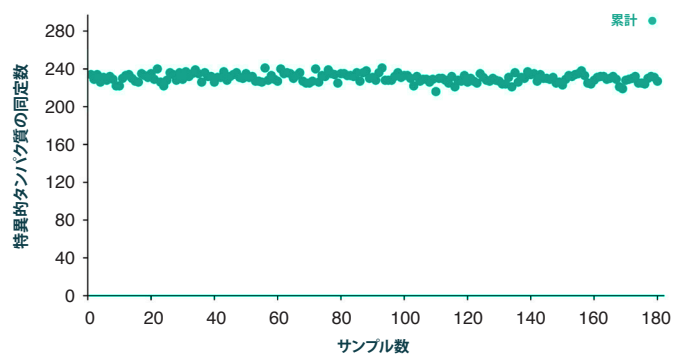


図2 特異的タンパク質の同定数

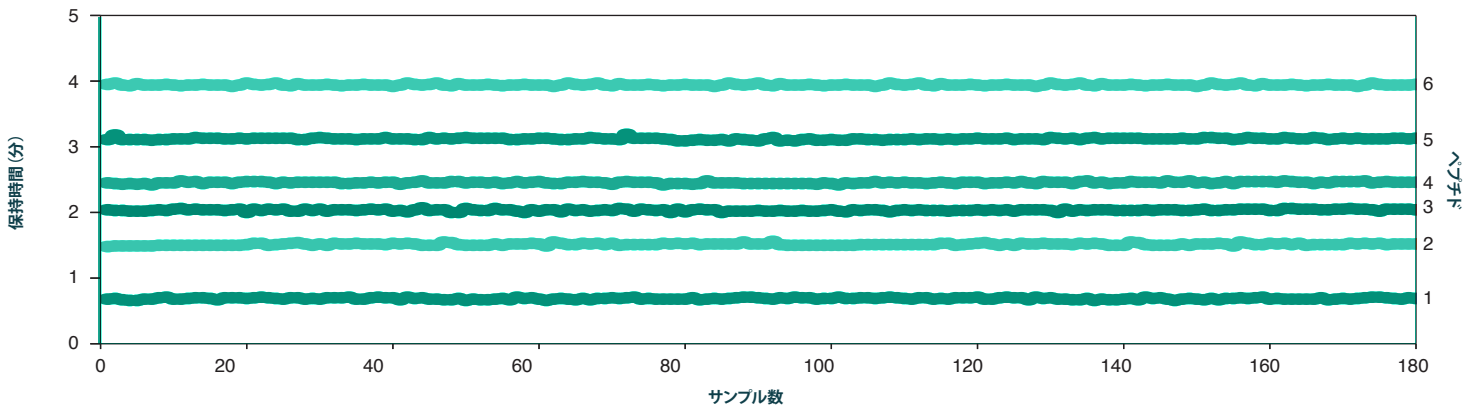


図3 180のサンプルにおける6種類のペプチドの保持時間の比較

DDA-PASEF  
での1ランあたり  
**230**  
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  
**1.3** 秒

図4 ペプチドのFWHMの中央値と標準偏差

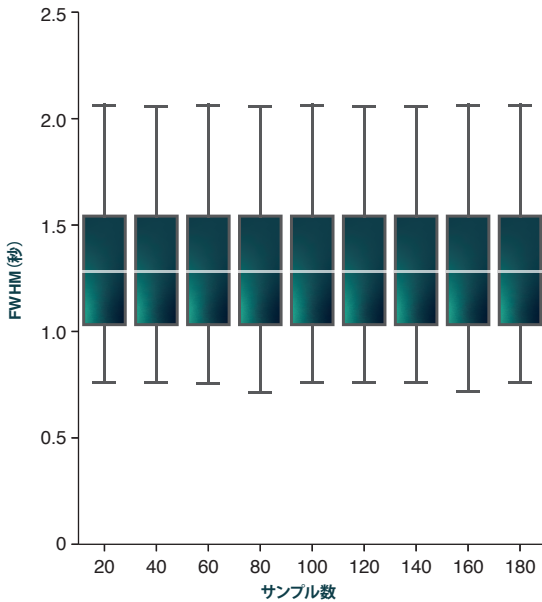
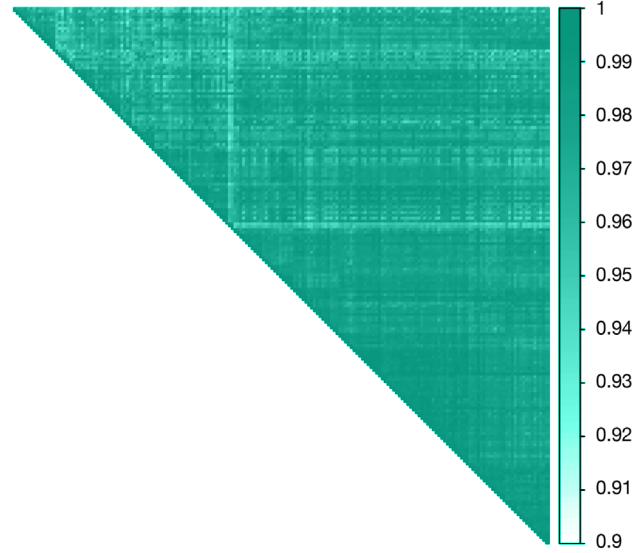


図5 ペプチド強度のピアソン相関プロット



180  
サンプル  
での平均ピアソン  
相関係数  
0.97 超

## メソッド

ヒト血漿トリプシン消化物を、2%アセトニトリル、1%ギ酸のMilliQ水溶液で50ng/ $\mu$ L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。50ng (1 $\mu$ L)のペプチドを、Auroraシリーズ5cm X 150 $\mu$ m RAPID UHPLCエミッター一体型充填カラムを用いて、2 $\mu$ L/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了。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ここに示しています。

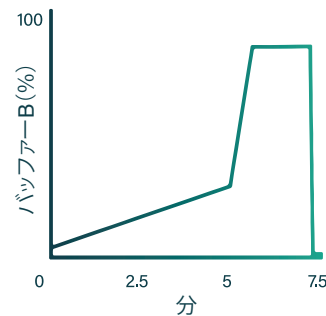
それとは別に、ヒト血漿トリプシン消化物20 $\mu$ gを10mMのギ酸アンモニウム(pH10)に再懸濁しました。ペプチドを、4 X C18プラグを備えたステージチップを用いて12のフラクションに分離。フラクションはCentriVap (Labconco)を用いて凍結乾燥した後、2%ACN、1%FAで再構成した後分析を行いました。フラクションの分析にはシングルショットサンプルと同様のLC-MS法を採用しています。

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した後、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しました。

## Aurora Rapid 5x150、5分のグラジエント

(5cm x 150 $\mu$ m ID、1.6 $\mu$ m C18) 部品番号AUR2-50150C18A

### グラジエントの例



時間 (分)	圧縮率 (バッファーB (%))	流速 ( $\mu$ L/min)
0	5	2
5	34	2
5.5	85	2
6.5	85	2
6.8	0	2
7.5	0	2

## 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](http://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](http://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エミッター一体型充填カラム・ユーザーガイド

## 頑健な再現性

- ハイスルーput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



## 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。