

Orbitrap Exploris 480とAurora Frontier UHPLCカラムによるタンパク質同定の最大化



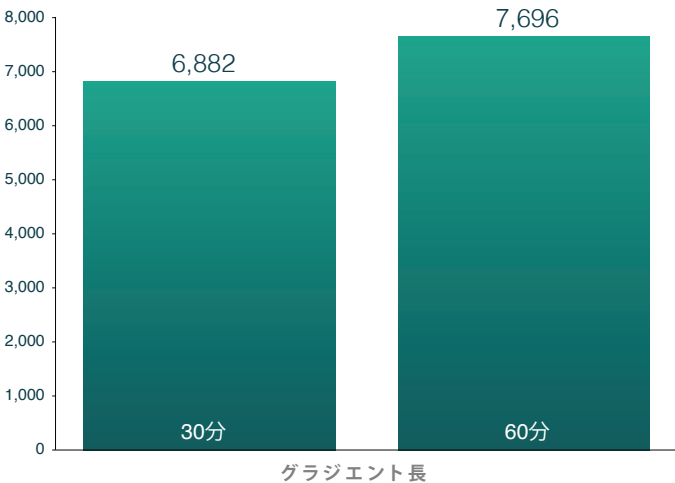
はじめに

IonOpticksのAuroraシリーズエmitter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ブットプロテオミクスを可能にします。Auroraシリーズカラムは、最先端の質量分析システムと組み合わせることで、卓越した性能を発揮します。特に、IonOpticksのAurora Frontier 60 cm x 75 μm XTカラムとThermo Fisher ScientificのOrbitrap Exploris 480質量分析計の組み合わせは、強力な分析プラットフォームを構築し、プロテオミクス研究における詳細な分析を可能にします。このシステムの能力を実証するために、3つの複製を用いて異なるグラジエント長(30分と60分)で実験を行った結果、様々な分析条件下でのカラムの性能を評価することができました。

ペプチドとタンパク質の同定を最大化

IonOpticksのAurora Frontier 60 cm x 75 μm XTカラムは、プロテオミクスアプリケーションにおいて卓越した性能を発揮します。これらの結果は、高分解能分離を実現する、より長いカラムを使用することの利点を実証するものであり、これにより研究者は自身の研究においてより深いプロテオームカバレッジを得ることができます。

(A) 特異的タンパク質群



(B) 特異的ペプチド

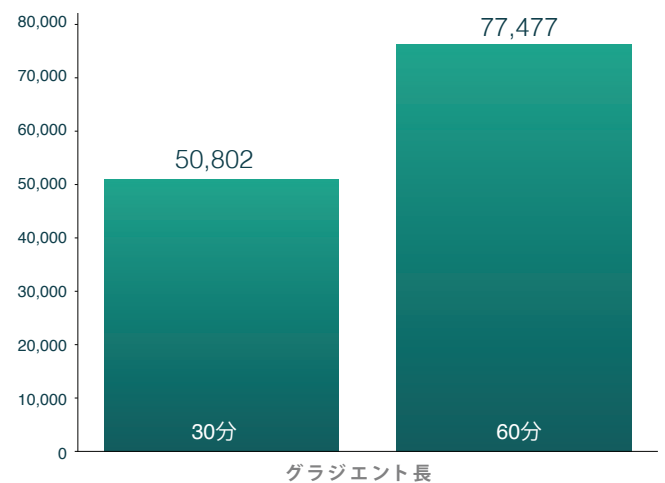


図1: (A) グラジエント別のタンパク質群の平均同定数(B) グラジエント別の特異的ペプチドの平均同定数HeLa細胞トリプシン消化物(200ng)をAurora Frontier 60 cm x 75 μm XTカラムで分離。各条件につき3つの複製で実験を行った。サンプルはThermo Fisher ScientificのVanquish Neo LCおよびOrbitrap Exploris 480質量分析計とFAIMS Pro Duoを用いて実行した。FAIMSのCVは30分のグラジエントで-45V、60分のグラジエントで-45/-65Vのものを使用。データ分析はSpectronaut 18 (Biognosys AG)を用いて行った。

30分のグラジエントで

5万

超の特異的ペプチドを同定

60分のグラジエントで

7万

超の特異的ペプチドを同定

30分のグラジエントで
半値全幅

3.0秒

30分のグラジエントで
半値全幅

5.5秒



ピックアップ製品

EASY-SprayおよびNanospray Flex用Aurora Frontier 60x75 XTエミッター一体型充填カラム
(60 cm x 75 μm ID、1.7 μm C18) 部品番号AUR3-60075C18A-TS

狭いピーク幅

Aurora Frontier 60 cm x 75 μm XTカラムは、様々なグラジエント時間にわたって狭いピーク幅を実現し、卓越したクロマトグラフィー性能を発揮します。ピーク幅 (FWHM) は30分のグラジエントで平均3.0秒、60分のグラジエントで平均5.5秒です。

図2: Aurora Frontier 60 cm x 75 μm XTカラムでHeLa細胞トリプシン消化物注入 (200ng) から同定された全ペプチドの平均半値全幅 (FWHM)。各条件につき3つの複製で実験を行った。各点は個々の複製における平均FWHMを表す。サンプルはThermo Fisher ScientificのVanquish Neo LCおよびOrbitrap Exploris 480質量分析計とFAIMS Pro Duoを用いて実行した。FAIMSのCVは30分のグラジエントで-45V、60分のグラジエントで-45/-65Vのものを使用。データ分析はSpectronaut 18 (Biognosys AG) を用いて行った。

図2 平均半値全幅

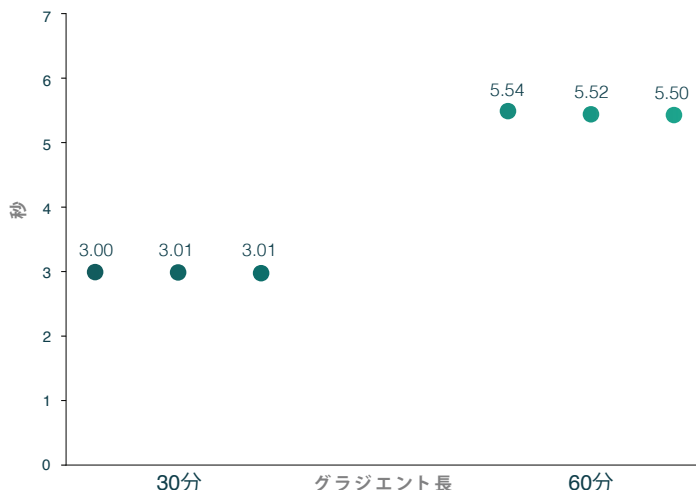
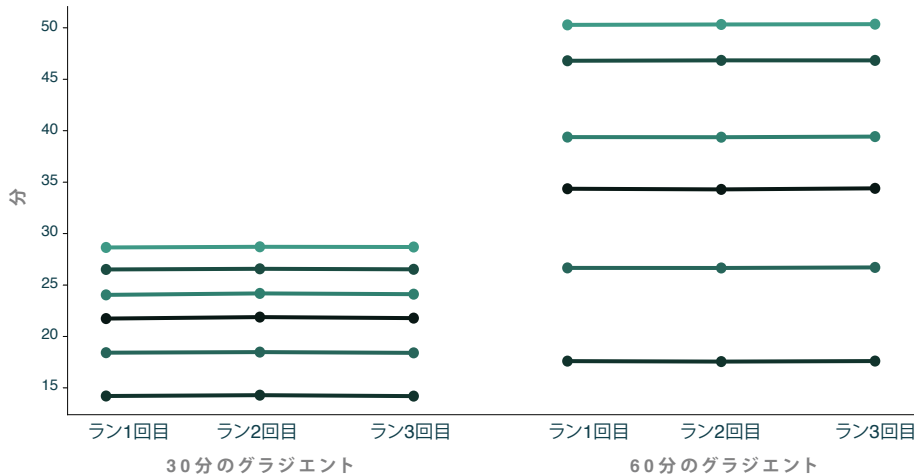


図3 選択したペプチドの保持時間



安定した保持時間が結果の信頼性を保証

Aurora Frontierカラムは、30分と60分のどちらのグラジエントでも、複数回のランにわたって一貫して極めて安定した保持時間を示します。この高いレベルの再現性は、様々な実験条件下での信頼できるペプチド同定を保证するものであり、プロテオミクスにおいて極めて重要です。

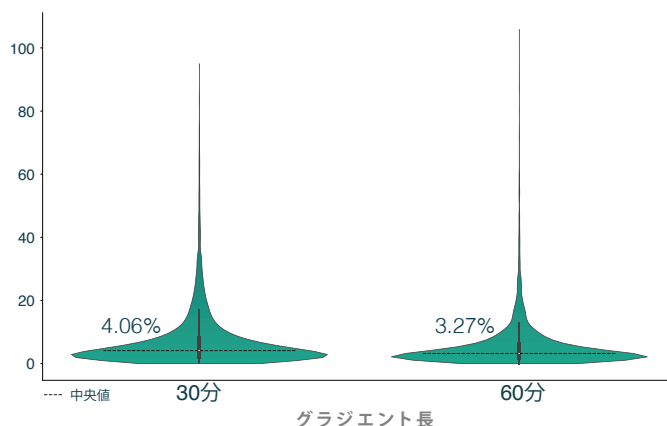
図3: すべてのランにわたって安定しているペプチドの保持時間。6種類のペプチドを選択し、Aurora Frontier 60 cm x 75 μm XTカラムでHeLa細胞トリプシン消化物を注入し (200ng)、すべてのランにおける保持時間を評価した。サンプルはThermo Fisher ScientificのVanquish Neo LCおよびOrbitrap Exploris 480質量分析計とFAIMS Pro Duoを用いて実行した。FAIMSのCVは30分のグラジエントで-45V、60分のグラジエントで-45/-65Vのものを使用。データ分析はDIA-NNソフトウェア (バージョン1.9) を用いて行った。

低いCV値

変動係数 (CV) を用いてタンパク質強度の再現性を分析したところ、様々なグラジエント長にわたるAurora Frontierカラムの卓越した一貫性が明らかになりました。30分と60分のどちらのグラジエントでも、低いCV中央値を示しており、それぞれ4.06%と3.27%でした。これらの結果は、一貫した性能を発揮するAurora Frontierカラムの頑健性を浮き彫りにするものです。

図4: グラジエント別の低いCV値。Aurora Frontier 60 cm x 75 μm XTカラムでHeLa細胞トリプシン消化物注入 (200ng) から全複製にわたって同定された全タンパク質強度の変動係数を示すバイオリンプロット。各条件につき3つの複製で実験を行った。サンプルはThermo Fisher ScientificのVanquish Neo LCおよびOrbitrap Exploris 480質量分析計とFAIMS Pro Duoを用いて実行した。FAIMSのCVは30分のグラジエントで-45V、60分のグラジエントで-45/-65Vのものを使用。データ分析はSpectronaut 18 (Biognosys AG) を用いて行った。

図4 変動係数 (CV %)



おわりに

IonOpticksのAuroraシリーズカラムとThermo Fisher ScientificのVanquish Neo LCおよびOrbitrap Exploris 480質量分析計の組み合わせにより、タンパク質およびペプチド同定の最大化が可能になりました。この強力な組み合わせにより、分析能力が強化され、プロテオミクス研究において頑健かつ正確な結果が得られます。これらの先進技術を統合することで、研究者は、最先端のプロテオミクス研究を実施し、複雑なサンプルに対するより深い洞察を引き出すための信頼性の高い正確なプラットフォームを手にすることができます。