

利用 ZenoTOF 7600 系统的速度、灵敏度和准确性提升集成式喷针色谱柱的蛋白质鉴定数量。



作者

Sri H Ramarathinam¹、Aaron G Poth²、Mohammadreza Dorvash¹、Patricia T Illing¹、Jarrod J Sandow²、Anthony W Purcell¹
 所属机构：¹ 蒙纳士大学 Purcell 实验室，² IonOpticks Pty Ltd

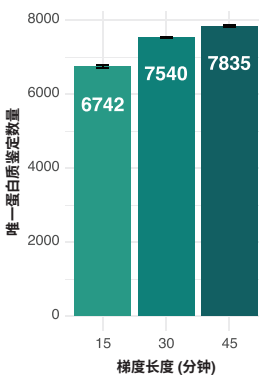
介绍

蛋白质组学领域需要高性能的质谱工具来实现全面的蛋白质鉴定、灵敏的分析和可靠的定量。IonOpticks 的 Aurora Series SX 集成式喷针色谱柱专为优化 ZenoTOF 7600 质谱仪上的肽段和蛋白质分析而设计，使研究人员能够达到全新水平的灵敏度。增强的灵敏度使得研究人员能够以前所未有的准确度从复杂样品中鉴定和定量蛋白质，显著扩展了蛋白质组覆盖的深度。研究人员现在可以自信地探索复杂的蛋白质组学图景，并发现以前难以识别的新型生物标志物或蛋白质相互作用。

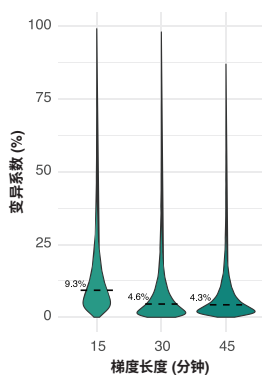
此外，IonOpticks Aurora Series SX 色谱柱与 ZenoTOF 7600 质谱仪的结合确保了在多个样品间的稳定定量。Aurora 系列 SX 色谱柱具有出色的重现性，可提供一致的结果，并将定量分析中的变异性降至最低。由 Aurora Series SX 色谱柱在 ZenoTOF 7600 质谱仪上实现的高灵敏度分析，能够进行可重现的定量，为全面的蛋白质组学研究提供了强有力的途径。从 200 ng 的样品中，我们能够在 45 分钟的梯度下稳定地鉴定出超过 7300 种蛋白质，其中大多数蛋白质的变异系数 (CV) 小于 10%。最大化蛋白质鉴定、准确量化蛋白质表达并保持分析重现性的能力，使科学家能够分析复杂的生物过程，并更深入地了解疾病机制、药物反应和细胞信号通路。

在 45 分钟内从 200 ng 样品中鉴定出超过 **7,300** 种蛋白质。

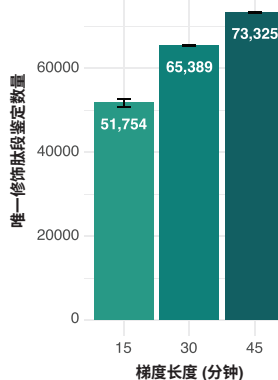
(A) 不同梯度长度下的唯一蛋白质鉴定数量



(B) 不同梯度长度下的变异系数 (CV)



(A) 不同梯度长度下的唯一肽段鉴定数量



(B) 平均峰宽 - FWHM

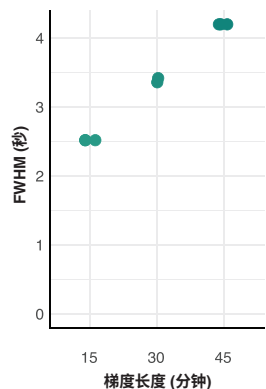


图 1: (A) 使用 IonOpticks Aurora Elite SX 15 cm x 75 μm 色谱柱，在 SCIEX ZenoTOF 7600 系统上以 Zeno SWATH DIA 模式，进样 200 ng K562 细胞胰蛋白酶酶解物，采用不同梯度长度得到的唯一蛋白质鉴定数量 (n = 3)。分析使用 DIA-NN 1.8.1 进行无库检索。(B) 小提琴图显示了在 (A) 中使用的梯度长度下，唯一蛋白质的 CV 分布。虚线和相关文字表示每组的中位 CV 值。

图 2: (A) 使用 IonOpticks Aurora Elite SX 15 cm x 75 μm 色谱柱，在 SCIEX ZenoTOF 7600 系统上以 Zeno SWATH DIA 模式，进样 200 ng K562 细胞胰蛋白酶酶解物，采用不同梯度长度得到的唯一肽段鉴定数量 (n = 3)。分析使用 DIA-NN 1.8.1 进行无库检索。(B) 每个上样样品的平均肽段 FWHM (秒) 汇总。每个重复由一个点表示。



方法

LC-MS

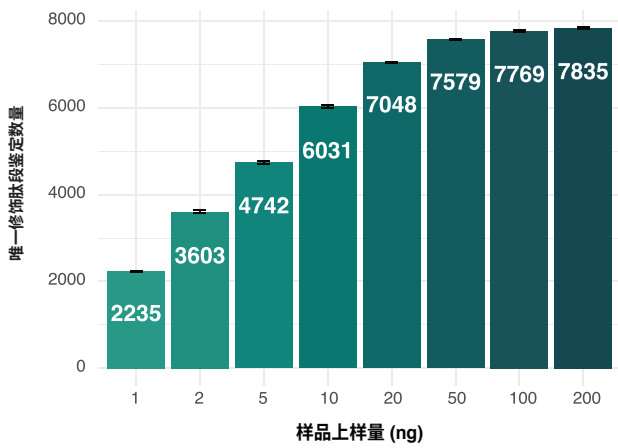
将 K562 胰蛋白酶酶解物 (Promega) 重悬于含 2% ACN 和 0.1% FA 的水溶液中。使用 Waters M-Class UPLC 注入所需量的样品。样品梯度在多种梯度长度下以 300 nL/min 的流速运行。UPLC 与 IonOpticks Aurora Elite SX 色谱柱 (图 2, 15 cm x 75 µm) 连接。ZenoTOF 7600 系统在纳升级流速配置下, 使用 OptiFlow Turbo V 离子源, 以 Zeno SWATH DIA 模式运行。

使用了包含 85 个可变宽度窗口的 Zeno SWATH DIA 方法, MS/MS 累积时间为 18 ms。使用了 CID 碎裂方式, 具有动态碰撞能量, 并开启了 Zeno 离子阱脉冲。离子喷雾电压为 2200 V。

数据处理

Zeno SWATH DIA 数据使用 DIA-NN 软件 (1.8.1) 进行处理, 使用了一个高 pH 等级的 HeLa 和 K562 细胞系谱图库 (包含 11,269 个蛋白质组和 169,395 条肽段)。使用 pg.matrix.tsv 和 pr.matrix.tsv 表来计算唯一蛋白质和肽段的鉴定数量。

(A) 不同上样量下的唯一蛋白质鉴定



(B) 蛋白质 CV

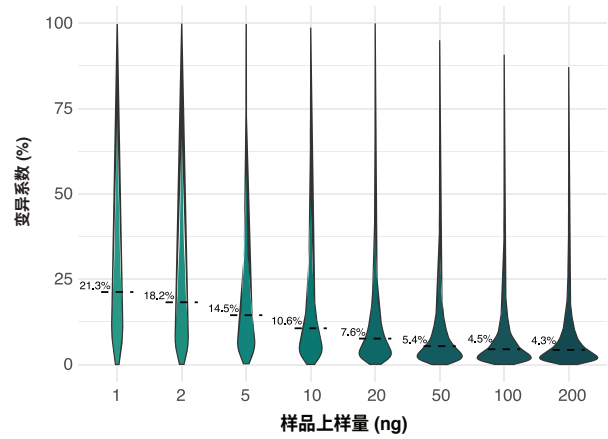
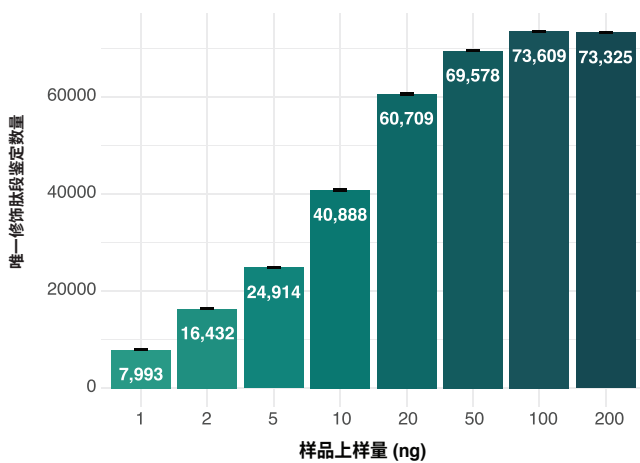


图 2 (A) 使用 IonOpticks Aurora Elite SX 15 cm x 75 µm 色谱柱, 在 SCIEX ZenoTOF 7600 系统上以 Zeno SWATH DIA 模式, 采用 45 分钟梯度, 分析不同上样量的 K562 细胞胰蛋白酶酶解物得到的唯一蛋白质鉴定数量 (n = 3)。分析使用 DIA-NN 1.8.1 进行无库检索。(B) 小提琴图显示了在 (A) 中使用的上样量下, 唯一蛋白质的 CV 分布。虚线和相关文字表示每组的中位 CV 值。

(A) 不同上样量下的唯一肽段鉴定



(B) 平均峰宽 - FWHM

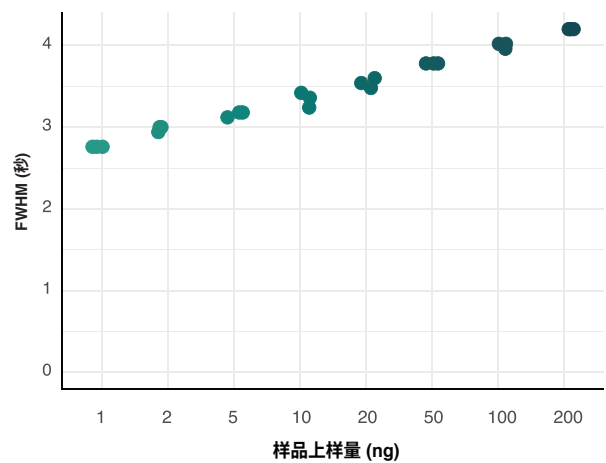
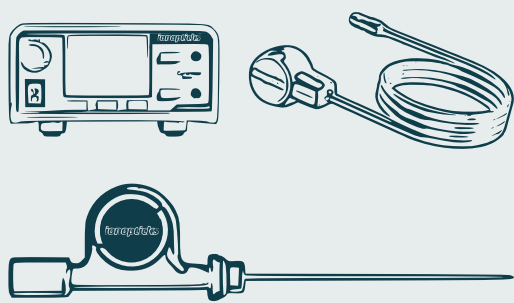
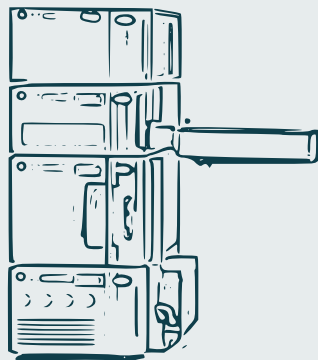


图 3 (上图): (A) 使用 IonOpticks Aurora Elite SX 15 cm x 75 µm 色谱柱, 在 SCIEX ZenoTOF 7600 系统上以 Zeno SWATH DIA 模式, 采用 45 分钟梯度, 分析不同上样量的 K562 细胞胰蛋白酶酶解物得到的唯一肽段鉴定数量 (n = 3)。分析使用 DIA-NN 1.8.1 进行无库检索。(B) 每个上样样品的平均肽段 FWHM (秒) 汇总。每个重复由一个点表示。

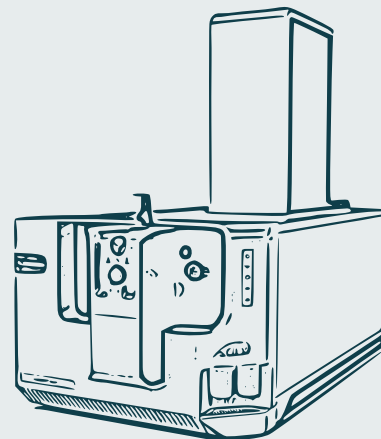
使用设备



Aurora Elite SX. IonOpticks 色谱柱加热器和 IonOpticks 加热器控制器



Waters Acquity M-Class UPLC



SCIEX ZenoTOF 7600 质谱仪

结论

IonOpticks Aurora Series SX 集成式喷射色谱柱与 SCIEX ZenoTOF 7600 质谱仪的整合, 为最大化蛋白质鉴定、实现高灵敏度分析和确保蛋白质组学中的稳定定量提供了一个变革性的解决方案。这一强大的组合增强了质谱分析的能力, 并为蛋白质研究领域的突破性发现奠定了基础。

为 OptiFlow Turbo V 离子源打造的“一体化”纳升级流速解决方案。



轻松安装。

目前市面上最用户友好的纳升级流速色谱柱现已可供 SCIEX 用户使用。借助我们随附的适配器和精密安装工具, Aurora SX 系列让您轻松将离子源转换为纳升级流速模式。



内置 nanoZero®。

通过我们著名的 nanoZero 接头和集成式喷嘴, 消除柱前和柱后的死体积。Aurora SX 可节省时间和成本, 使研究资源更高效地投入科研之中。



无缝, 优雅。

在离子源处进行加热从未如此简单。结合我们的加热器控制单元, IonOpticks 色谱柱加热器可置于 Aurora SX 色谱柱顶部, 实现在纳升级喷雾探针正前方的精确温度管理。



关于 PURCELL 实验室

Purcell 实验室隶属于蒙纳士大学的生物医学发现研究所, 专注于对复杂生物样品进行靶向和全局定量蛋白质组学研究。其主要兴趣在于识别人类免疫应答的靶点以及理解宿主-病原体相互作用。该实验室参与了与免疫和癌症相关的各种项目, 并隶属于生物化学与分子生物学系。

其研究将先进的蛋白质组学与人类免疫学、分子病毒学以及结构和功能免疫学相结合。这种多学科方法有助于解决基础免疫学、转化医学、疫苗接种和免疫疗法中的各种问题。

该实验室由 Anthony (Tony) Purcell 教授领导, 他是免疫蛋白质组学实验室的负责人。Purcell 教授的专业知识与领导力在推动实验室在蛋白质组学领域取得突破性发现方面发挥了关键作用, 他的工作极大地影响了我们对免疫应答的理解, 尤其是在复杂生物系统的背景下。