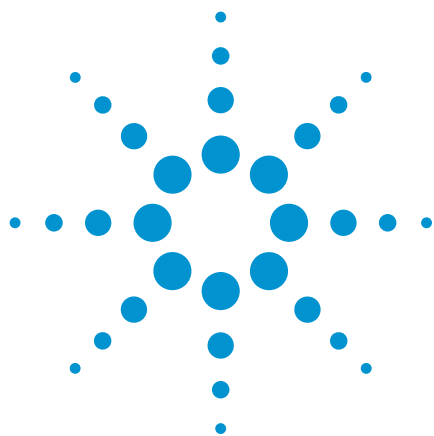




Agilent OpenLAB CDS MatchCompare для сравнения образцов картирования пептидов

Рекомендации по применению

Авторы

Боб Гюффри (Bob Giuffre)
и Джордж Рейнер (George Reiner)
Agilent Technologies, Inc.

Введение

Картирование пептидов — ключевой анализ, применяемый для определения биотерапевтических белков, он дает сложные хроматограммы, которые трудно обрабатывать. Ферментативная обработка, применяемая к белкам, хорошо воспроизводима, но при этом небольшие изменения в структуре белка могут вызвать незначительные изменения в количествах фрагментов белка. Следовательно, наложение хроматограмм для наглядного сравнения является распространенным подходом, применяемым в картировании пептидов.

Agilent OpenLAB MatchCompare является идеальным инструментом, используемым в исследовании образцов картирования пептидов. Разработанный для ГХ-анализа парфюмерии, он прекрасно справляется со сравнением хроматограмм образцов и эталонов с учетом пределов, устанавливаемых пользователем. Он превосходит метод поиска совпадений при анализе, используемом для сопоставления сложных образцов.

Вместо субъективной интерпретации MatchCompare создает объективные данные сравнения, позволяющие пользователю определить сходство/отличие проб. И хотя ПО MatchCompare изначально использовалось в газовой хроматографии, оно также может применяться в жидкостной хроматографии. В данном исследовании сравнивались сложные пептидные карты. Этот подход позволит, например, лаборатории контроля качества быстро определить, насколько схож образец со стандартом или другим образцом.

Метод использует пологий градиент, а также применяет функцию Agilent BlendAssist, позволяющую насосу осуществлять разведения подвижных фаз.

MatchCompare использовалась для обработки данных анализа Agilent OpenLAB CDS 2 DA.



Agilent Technologies

Учитывая сложность этих проб, очень полезно использование инструмента визуализации Peak Explorer в OpenLAB CDS 2. На рис. 2 представлено исследование первых нескольких наборов гидролизатов БСА с помощью Peak Explorer. Образцы сопоставлены, но хроматограммы являются слишком сложными для сравнения с помощью одного лишь инструмента Peak Explorer.

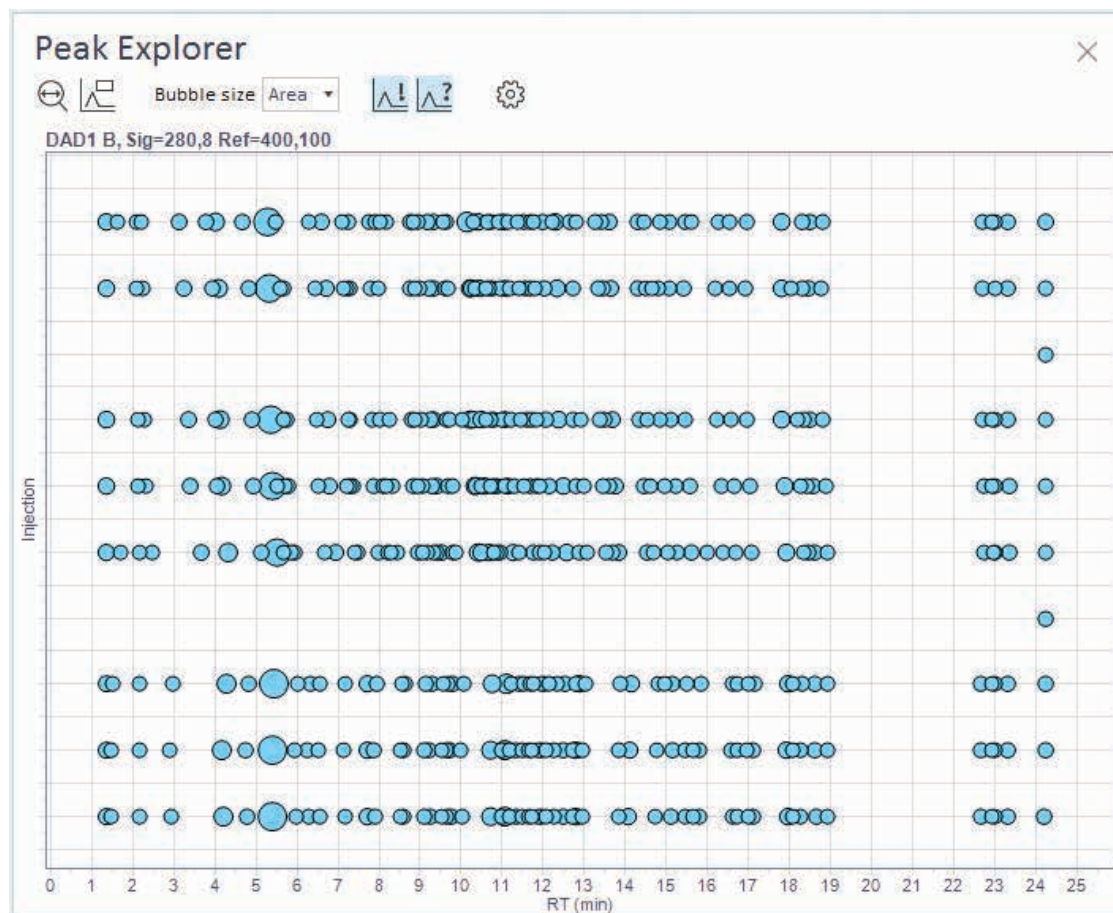


Рис. 2. Окно Peak Explorer, демонстрирующее сравнение трех наборов гидролизатов БСА.

В этом случае OpenLAB CDS MatchCompare может повысить эффективность благодаря подробному сравнению образцов. Мы установили первую хроматограмму в качестве эталона, как показано на рис. 3. Это действие выполняет импорт таблицы пиков (Название, RT, Площадь (%) и Высота) и добавляет столбец Предел. Пределы изначально установлены как значения по умолчанию. Их можно изменить, как показано в небольшой таблице справа. Также можно отредактировать пределы для отдельных пиков в основной таблице эталона.

Reference name: BSA Tryptic Digest - BLENDASSIST - 001.ref Nb of peaks: 63

Name	Rt [min]	% Area	Height	Tol [%]
Unknown	1.3336	3.7667	7	10.00
Unknown	1.6172	0.0886	0	30.00
Unknown	2.0937	0.3648	0	15.00
Unknown	2.1862	0.3536	0	15.00
Unknown	3.1045	2.3043	2	10.00
Unknown	3.7855	1.7716	2	10.00
Unknown	4.0259	5.6378	5	10.00
Unknown	4.6674	2.0068	3	10.00
Unknown	5.2905	22.6256	19	6.00
Unknown	5.4784	0.8912	1	15.00
Unknown	6.2944	0.3807	0	15.00
Unknown	6.5855	2.5041	2	10.00
Unknown	7.1044	0.1770	0	15.00
Unknown	7.2408	0.8181	1	15.00
Unknown	7.7551	0.6902	1	15.00
Unknown	7.8977	0.4840	1	15.00
Unknown	8.0277	0.1744	0	15.00
Unknown	8.1572	0.2523	0	15.00
Unknown	8.7348	0.8175	1	15.00
Unknown	8.8348	0.3442	0	15.00
Unknown	8.9610	0.4243	0	15.00
Unknown	9.1864	1.5911	1	10.00
Unknown	9.3191	1.6947	2	10.00
Unknown	9.5761	0.3441	0	15.00
Unknown	9.6349	0.3872	0	15.00
Unknown	10.1521	8.9962	8	10.00
Unknown	10.2743	0.4259	1	15.00
Unknown	10.3985	3.7573	4	10.00
Unknown	10.6437	0.8168	1	15.00

Default tolerances

% Area >=	% Area <	Tolerance (%)
0.00	0.10	30.00
0.10	1.00	15.00
1.00	10.00	10.00
10.00	100.00	6.00

OK Cancel

Success criterion: Tolerances

Рис. 3. Настройка параметров эталона в Agilent OpenLAB CDS MatchCompare.

После сохранения параметров эталона выбирается вторая хроматограмма и выполняется сравнение. Рис. 4 отображает результат сравнения первых двух хроматограмм, представленных на рис. 1. В этой таблице пики имеют цветовое обозначение.

- Зеленый цвет указывает на то, что пик был обнаружен в обеих хроматограммах эталона и образца, и сравниваемое значение его Площади (%) при этом находится в пределах выбранного диапазона для этого пика.
- Синий цвет означает, что пик был найден и в образце, и в эталоне, но значение его Площади (%) находится за пределами допуска.
- Серый — пики были обнаружены только в эталоне.
- Белый — пики были обнаружены только в пробе.

- Также представлено значение сходства, объединяющее все пики с помощью патентованного алгоритма и демонстрирующее в данном случае, что все образцы сходны примерно на 91%.

Рис. 5 отображает диаграмму сравнения площадей. Используются та же цветовая кодировка, что и в таблице сравнения, и можно убедиться, что присутствуют только два белых пика, обнаруженных в пробе, а также некоторые синие пики, с соответствующим значением времени удерживания, но имеющие отличные площади. Кроме того, в эталоне имеется несколько серых пиков, отсутствующих в пробе.

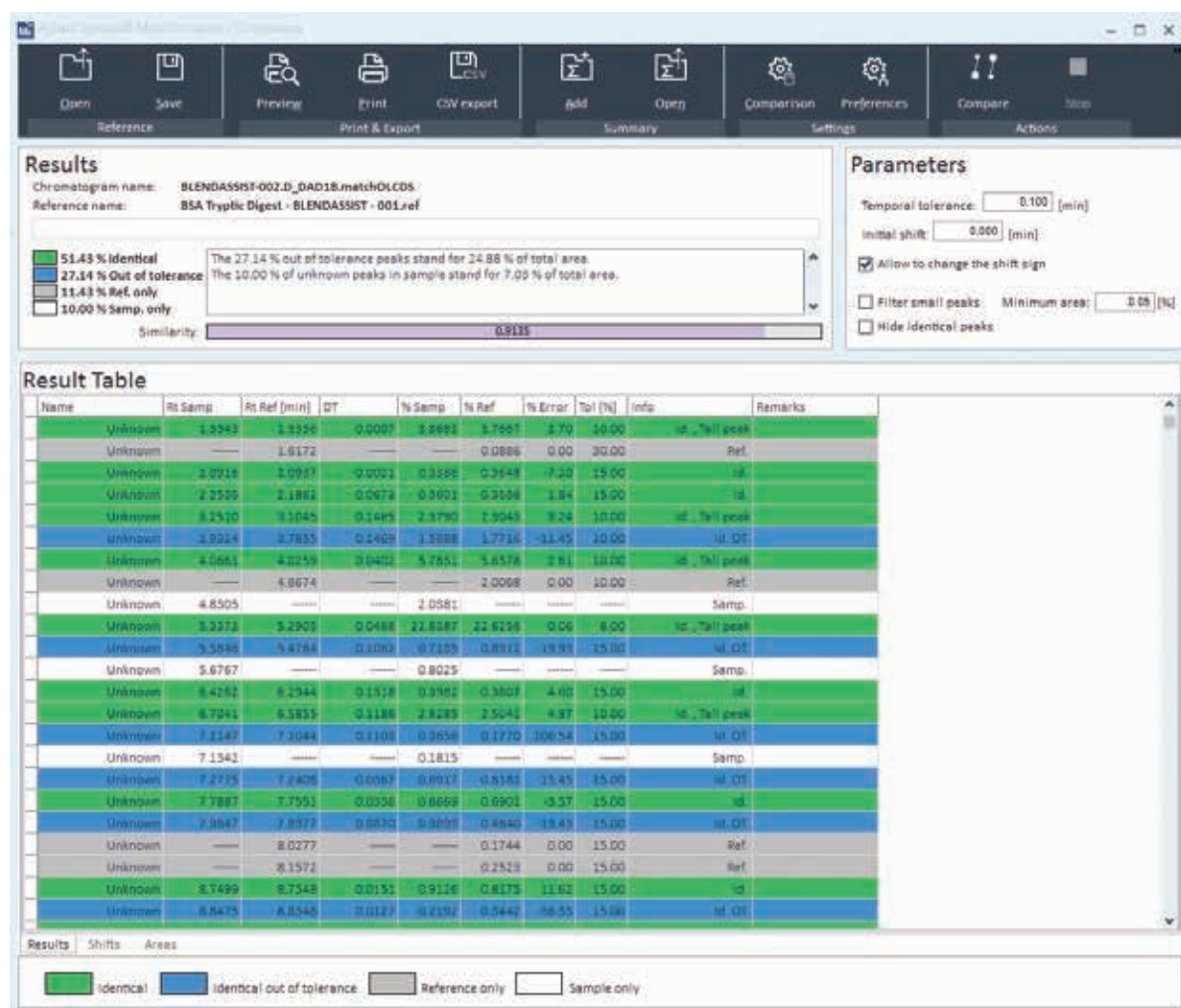


Рис. 4. Результат сравнения в Agilent OpenLAB CDS MatchCompare двух первых образцов гидролизата БСА, представленных на рис. 1.

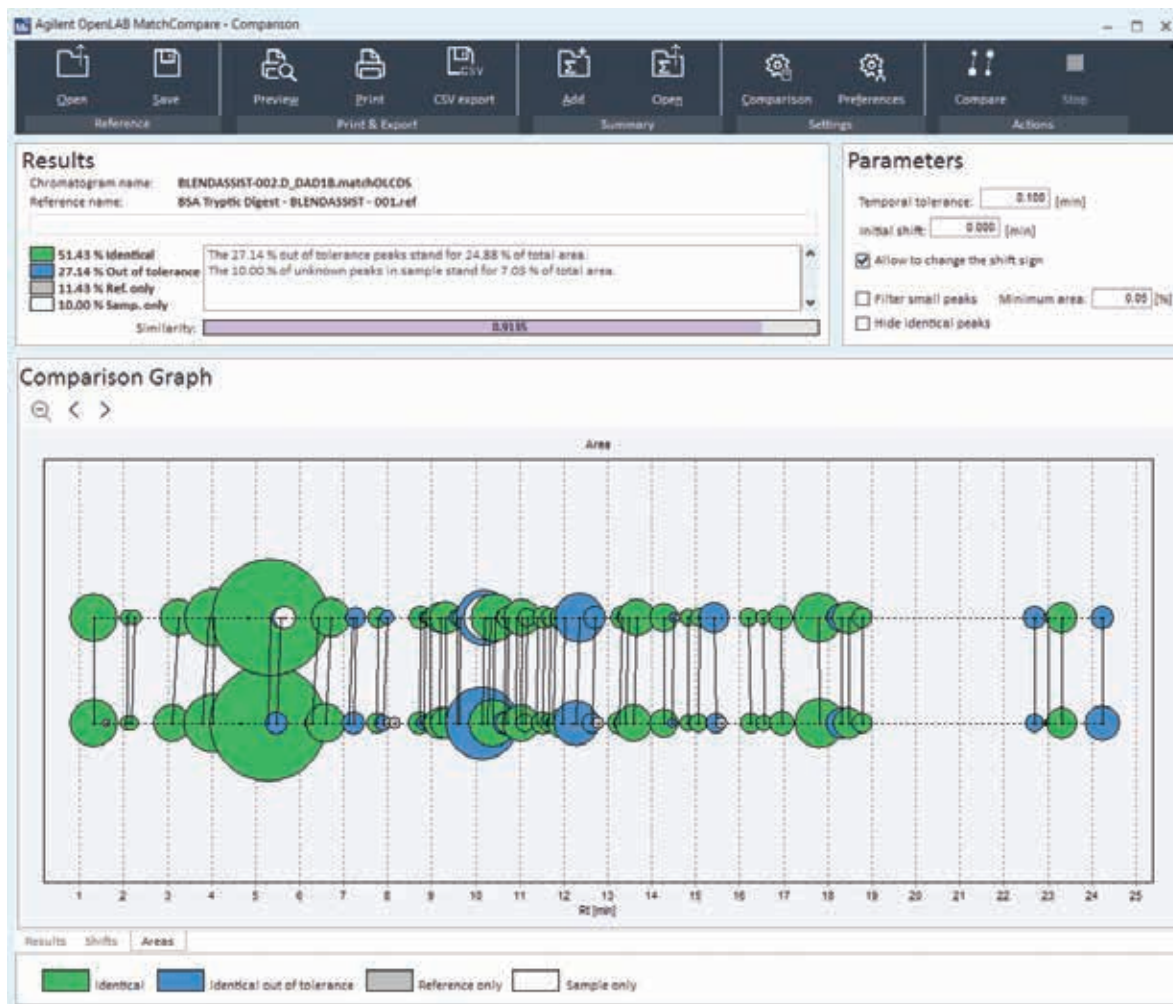


Рис. 5. Диаграмма сравнения площадей результата рис. 4.

Выводы

При картировании пептидов Agilent OpenLAB CDS MatchCompare обеспечивает базовый скрининг совпадений между здоровыми и зараженными образцами. Выполняя анализ множества образцов на простой системе ВЭЖХ и используя MatchCompare в качестве инструмента скрининга, можно высвободить более высокотехнологичные МС-системы для исследования случаев, где были обнаружены значительные отличия.

Дополнительная информация

Представленные данные отражают характерные результаты. Дополнительную информацию о продуктах и услугах нашей компании см. на веб-сайте www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные с получением настоящего документа, ознакомлением с ним, его использованием или являющиеся следствием иных подобных действий.

Информация, описания и спецификации в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2017.

Напечатано в США

19 июня 2017 г.

5991-8212RU



Agilent Technologies