

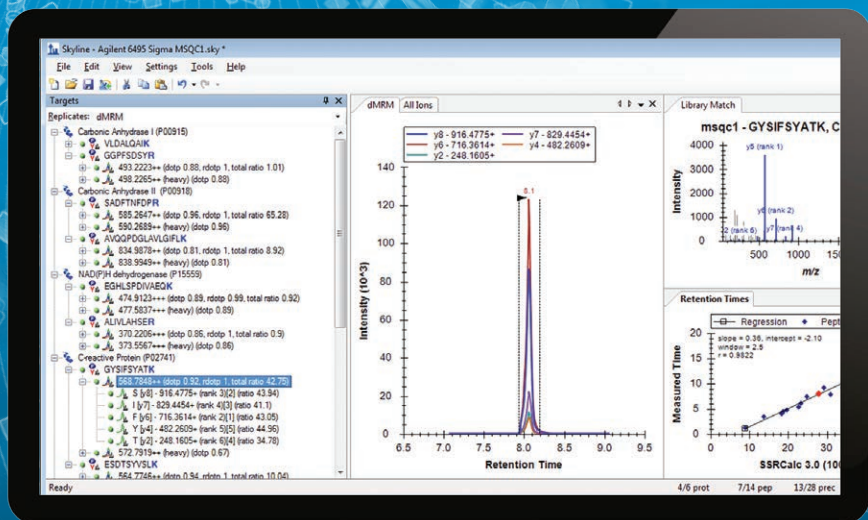


Washington 대학의 MacCoss 그룹 개발

SKYLINE 표적 PROTEOMICS 소프트웨어

새로운 생체회로의 발견을 위한 애질런트 솔루션

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

당신의 연구를 위한 올바른 도구 선택

표적 단백질 분석 및 정량 분석 연구에서 올바른 연구도구 선택은 분석 결과에 큰 영향을 줄 수 있습니다. 올바른 장비와 적합한 소프트웨어를 사용하면 연구 속도를 높이고 더욱 여유로운 생활을 즐길 수 있습니다. 애질런트의 LC/MS 기기와 Seattle Washington 대학의 MacCoss 그룹에서 개발한 Skyline 소프트웨어를 예로 들어봅시다.

널리 사용되고 높이 평가되는(전 세계 최고 실험실들의 의견을 통해) Skyline은 무료로 제공되는 Windows 클라이언트 어플리케이션입니다. 또한 애질런트의 장비 및 소프트웨어와 매우 잘 연동됩니다.

맞춤형 기능

Skyline 소프트웨어는 Proteomics 연구를 위해 특별히 설계되었습니다. Skyline은 단백질에서 펩타이드, 심지어 MRM transition까지 확인할 수 있어, 이는 Proteomic 분야에 종사하는 모든 사람에게 매우 직관적인 진행입니다.

고객들은 이러한 기능을 반기고 있으며, 애질런트 또한 마찬가지입니다!

장기간 Skyline을 지지해온 애질런트는 MacCoss 연구실 과학자들과의 긴밀한 협력을 통해 애질런트 장비를 위한 맞춤형 기능을 개발해 냈습니다. 또한, Skyline에 유틸리티를 생성하여, 이 오픈 소스 소프트웨어와 애질런트의 자동 소프트웨어를 연결할 수 있게 했습니다.

원활한 통합

애질런트는 Agilent Automation이라는 고유한 소프트웨어를 개발하여 MRM 분석법 개발을 간소화하고 생산성을 향상시켰습니다. Agilent Automation은 애질런트의 Triple Quadrupole 시스템과 Skyline을 연결하여 사용자의 추가 작업이 필요 없는 머무름 시간 보정 MRM 분석법(Dynamic MRM)을 생성합니다.

두 프로그램 이야기

정량 분석 중심의 프로그램과 단백질 분석 중심의 프로그램이 만났습니다.

MassHunter

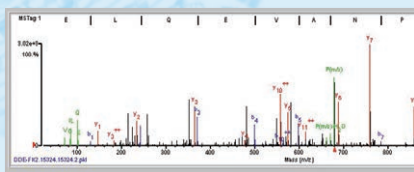
- 일반 정량 분석
- Outlier 검출을 위한 유용한 flagging 및 시각화 기능
- tMRM 스펙트럼을 라이브러리에 매칭하여 펩타이드 확인(Confirm)

Skyline

- 단백질 분석 중심 구성
- 데이터 검토를 위한 뛰어난 시각화 도구
- 유용한 펩타이드의 MRM 예측
- 머무름 시간 예측 및 스펙트럼 매칭을 위한 강력한 도구
- 사용자 피드백을 기반으로 한 지속적인 제품 향상

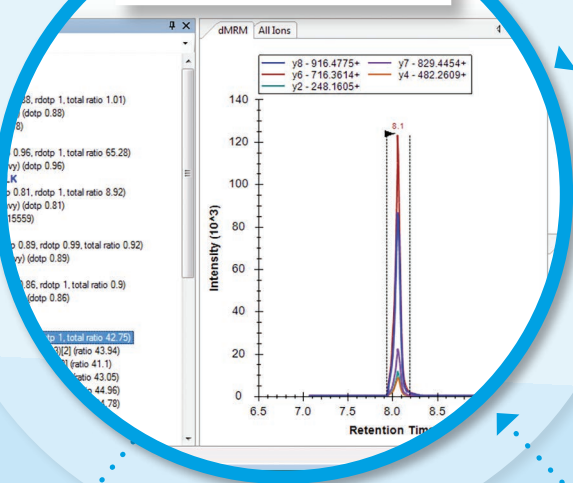
Skyline은 펩타이드 분석법 개발 및 단백질 분석 중심 데이터 검토를 위한 우수한 연구 환경을 제공합니다. MassHunter Quant 소프트웨어는 펩타이드의 일반적인 절대 정량 분석에 적합합니다.

애질런트 제품에 대한 Skyline 연결성



Spectrum Mill

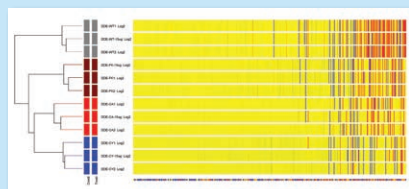
SKYLINE 소프트웨어



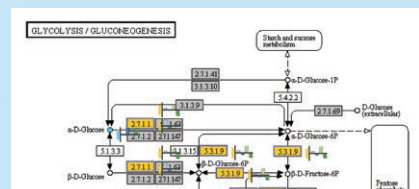
Agilent Triple Quadrupole 시스템



Agilent Q-TOF 시스템



Mass Profiler Professional

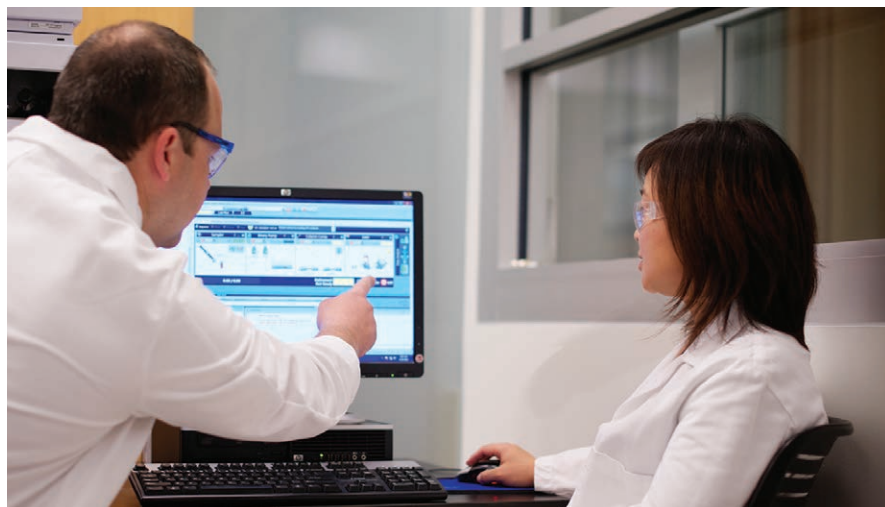


Pathway Architect

기존의 MRM 한계를 초월하는 기능

알려진 단백질의 정량 분석에 자주 사용되는 장비는 Triple Quadrupole 질량 분석기였습니다. 하지만 시료의 복잡성이 증가하면서 원하는 quantifier와 qualifier 시그널 확보 기능은 Multiple Reaction Monitoring(MRM)의 현실적인 한계에 도달했습니다.

하여 proteomics 연구자들은 애질런트 장비와 Skyline 소프트웨어를 비롯한 다양한 방식으로 이 문제에 대처하고 있습니다.



2가지 모드

Skyline은 애질런트에서 개발한 2가지 모드를 지원하여 Triple Quadrupole 시스템에서의 기존 MRM 한계를 초월합니다.

그 첫 번째는 펩타이드가 용출될 때에만 MRM transition을 수집하는 dynamic MRM 수집 모드입니다. 이를 통해 다량의 멀티 펩타이드(multi-peptide) 분석을 처리하고 좁은 피크를 정확하게 정량화할 수 있습니다. Dynamic MRM은 모든 시점에서 모니터링되는 transition의 수가 시간 분할(time segment) 분석법에

비해 현저히 적기 때문에 더 나은 결과를 산출하며, MS 스캔 주기가 훨씬 단축되고 개별 MRM transition당 데이터 획득 시간(dwell time)이 길어집니다.

그 두 번째는 펩타이드 확인을 위해 데이터 기반 로직을 더하여 추가 transition을 측정하는 트리거 방식 MRM 수집 모드입니다. 트리거 방식 MRM은 기존의 데이터 기반 MS/MS 스캐닝보다 더 빠르고 감도가 뛰어나며 가상(pseudo) MS/MS 스펙트럼을 생성하여 MassHunter Quant 소프트웨어로 라이브러리 매칭을 실행할 수 있습니다.

자동 최적화

애질런트의 Skyline 자동화 도구는 중요한 분석법 개발과 최적화 프로세스를 자동화하여 새로운 분석법을 생성하는 과정을 간소화합니다. Skyline과 MassHunter를 통합하여 사용이 간편한 솔루션을 제공합니다. 시료를 바이알에 넣고 파라미터를 설정하기만 하면 나머지는 소프트웨어가 알아서 처리합니다. 몇 시간 후에 돌아오면 분석법은 시료 분석을 실행할 준비가 되어 있습니다.

컬럼이나 분석법을 변경할 때, 복잡한 분석법의 경우에는 머무름 시간 조정에 많은 시간이 소모될 수 있습니다.

MassHunter의 머무름 시간 검교정(calibration) 도구는 머무름 시간의 변화에 대응하기 위해 분석법을 쉽게 조정하도록 설계되었습니다.

Skyline에도 펩타이드 머무름 시간을 저장하고 예측할 수 있는 iRT 기능이 있습니다.

애질런트의 MassHunter와 Skyline 소프트웨어를 같이 사용하면 신속하고 간편하며 보다 효율적인 펩타이드 정량 분석을 실행할 수 있습니다.

애질런트 자동화 도구를 사용한 3가지 간단한 자동 MRM 단계

1 RT 결정

- Skyline 문서 생성
- 단백질/펩타이드 첨가
- MRM 분석법 내보내기
- MRM 분석 실행

2 CE 최적화

- MRM 결과 가져오기
- CE 최적화 분석법 내보내기
- CE 최적화 실행

3 최종 분석법 생성

- CE 최적화 결과 가져오기
- 최종 dynamic MRM 분석법 내보내기
- 최종 분석법 실행



애질런트 자동화 도구를 통해 사용자는 MRM 분석법 개발을 위한 단계 및 파라미터를 선택할 수 있습니다.

데이터 결과 분석

Triple Quadrupole 질량 분석기는 소량의 단백질에 대한 표적 정량 proteomics 분석에 적합한 장비입니다. 반면에 다량의 단백질을 모니터링하려는 경우, 표적 MS/MS proteomics 분석에는 Q-TOF 질량 분석기가 주로 사용됩니다. 표적 MS/MS Proteomics는 데이터 비의존적(DIA) 모드로 펩타이드 MS/MS 스펙트럼을 수집합니다. 수집한 스펙트럼을 펩타이드 MS/MS 라이브러리와 비교하여 특정 표적 단백질에서의 펩타이드를 확인합니다.

유연한 데이터 수집

Skyline과 MassHunter 모두 광대역 분리(wideband isolation)를 포함한 데이터 비의존적 분석을 지원합니다. 광대역 분리는 좁은 질량 범위를 분리하고 조각화하여 분석의 복잡성을 감소시킬 수 있습니다. 또한 애질런트의 데이터 비의존적 분석에는 All Ions MS/MS도 포함됩니다. All Ions MS/MS는 quadrupole을 이용한 ion 분리를 하지 않으면서, 충돌 셀에서 2가지 이상의 충돌 에너지를 적용하여 조각 이온(fragment ions)을 만들어 냅니다. Agilent Q-TOF으로 측정된 질량값은 매우 정확하므로, 이 2가지 접근법 모두가 유용합니다. Agilent Q-TOF를 이용하면 스펙트럼 데이터의 정확한 마이닝과 매칭이 용이해 집니다. 또한, Skyline은 애질런트의 Spectrum Mill 소프트웨어에서 생성한 라이브러리를 비롯한 공개적 또는 비공개적으로 생성된 펩타이드 MS/MS 라이브러리를 사용할 수 있습니다.

Skyline은 Agilent TOF 및 Q-TOF 기기의 데이터 의존적 수집(data-dependent acquisition, DDA) MS1 전체 스캔 필터링을 지원합니다. 이러한 분석법에서, MS1 데이터를 사용하여 특정 표적 펩타이드를 정량화하고 MS/MS 스펙트럼 라이브러리를 이용하여 펩타이드를 확인합니다.

Agilent Q-TOF는 discovery proteomics와 표적 MS/MS proteomics에 사용될 수 있는 다용도 기기입니다. Triple Quadrupole이 MRM 모드에서 최상의 감도를 제공하지만, 실험실에서는 확인 및 정량화가 가능한 Q-TOF의 기능이 더 중요할 수 있습니다. Skyline 소프트웨어는 표적 정량화 모드에서 작동할 때 Q-TOF 데이터를 원활하게 처리할 수 있습니다.

심층적인 정보 습득

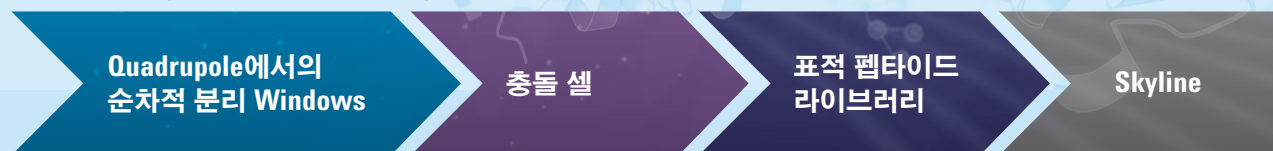
접근법과 상관없이 데이터는 단지 시작에 불과합니다. 데이터 결과를 분석 할 때, Agilent Mass Profiler Professional(MPP)은 복잡한 단백질 실험의 다변량 분석을 통해 생물학적 차이와 상관 관계가 있는 주요 단백질을 찾을 수 있습니다. Skyline 소프트웨어는 애질런트의 결과를 MPP로 쉽게 내보내기합니다. 단백질 중심 소프트웨어인 Skyline가 내보낸 결과에는 단백질 서열 번호를 포함하고 있어 MPP의 Pathway Architect 모듈 안의 생물학적 경로에서 단백질을 시각화할 수 있습니다.

Skyline에서 모두 지원되는 다양한 애질런트 Q-TOF 수집 모드

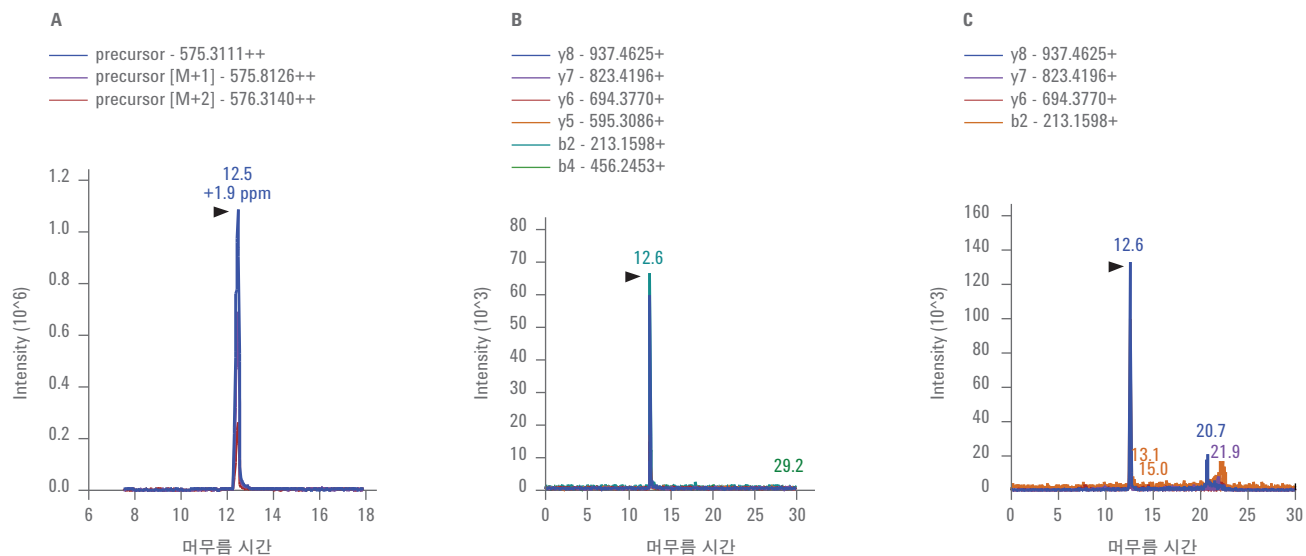
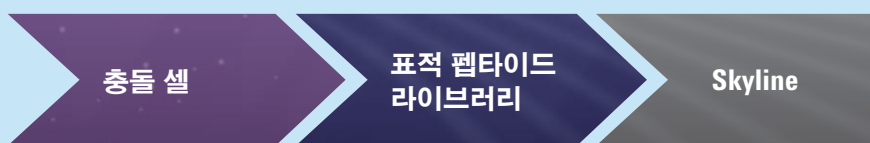
데이터 의존적 MS1 전체 스캔 필터링



광대역 분리(Wide-band isolation)



All Ions MS/MS



모 펩타이드의 Skyline 프로세싱으로, A) MS1 전체 스캔 필터링을 통한 데이터 의존적 분석 결과, B) 광대역 분리를 이용한 데이터 비의존적 분석, C) 애질런트의 All Ions MS/MS를 이용한 데이터 비의존적 분석

기타 정보

www.metabolomics-lab.com

애질런트 고객 센터 찾기

agilent.com/chem/contactus

미국 및 캐나다

1-800-227-9770

agilent_inquiries@agilent.com

한국

080-004-5090

agilent_inquiries@agilent.com

유럽

info_agilent@agilent.com

아시아 태평양

inquiry_lsca@agilent.com

이 발행물은 연구용으로만 사용하십시오.

진단용으로 사용하지 마십시오.

이 정보는 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2014

2014년 10월 한국에서 발행

5991-5248KO

경기도 수원시 영통구 광교로 109 9층 (KANC) 우)443-270

서울 강남구 역삼로 542 신사제2빌딩 2층 우)135-848

한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부

고객지원센터 080-004-5090

www.agilent.co.kr



Agilent Technologies