

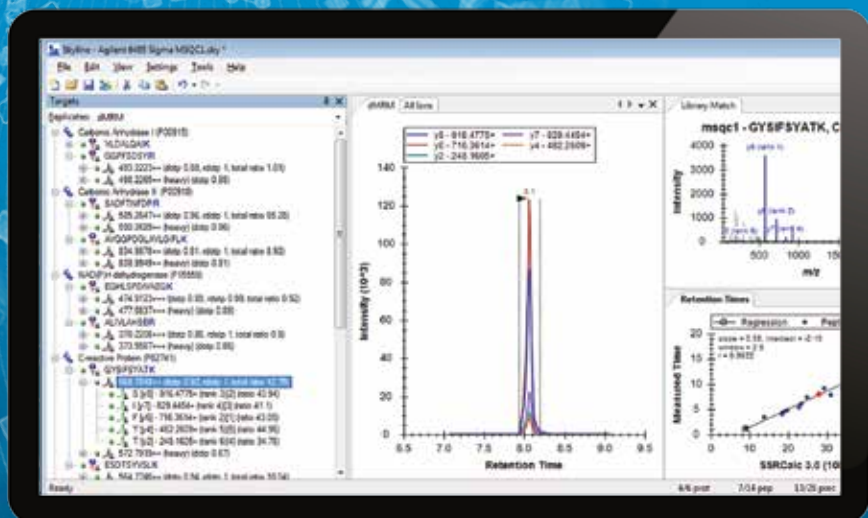


Do Grupo MacCoss da Universidade de Washington

SOFTWARE DE PROTEÔMICA ALVO SKYLINE

DESCUBRA NOVAS TRAJETÓRIAS COM AS SOLUÇÕES DA AGILENT

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

ESCOLHA DAS FERRAMENTAS CORRETAS PARA A SUA PESQUISA

Para a análise e quantificação de proteína alvo, as ferramentas corretas podem fazer toda a diferença. Os instrumentos adequados com o software correto podem acelerar sua pesquisa e facilitar a sua vida. Considere, por exemplo, os instrumentos de LC/MS Agilent e o software Skyline do grupo MacCoss da Universidade de Washington em Seattle.

Amplamente usado e altamente conceituado (graças à contribuição dos principais laboratórios do mundo), o Skyline é um aplicativo cliente Windows disponível gratuitamente. Ele também se integra excepcionalmente bem aos instrumentos e softwares da Agilent.

Recursos personalizados

O software Skyline foi projetado especificamente para pesquisa proteômica. A interface leva você das proteínas e peptídeos às transições de MRM, uma progressão muito intuitiva para qualquer pessoa que trabalha com proteômica.

Sabemos que você valoriza isso. E a Agilent também!

Adepta de longa data do Skyline, a Agilent desenvolveu uma relação estreita com os cientistas do laboratório MacCoss, que resultou em recursos personalizados para os instrumentos da Agilent. Juntos, criamos recursos no Skyline para unir o software de automação da Agilent com este software de fonte aberta.

Integração perfeita

A Agilent desenvolveu um software exclusivo chamado Agilent Automation que simplifica o desenvolvimento de métodos de MRM, aumentando sua produtividade. O Agilent Automation conecta um sistema triplo quadrupolo Agilent e o Skyline para criar um método de MRM com tempo de retenção programado totalmente otimizado, tudo isso sem a intervenção do usuário.

Uma história de dois programas

O foco na quantificação atende à necessidade de concentrar-se nas proteínas:

MassHunter

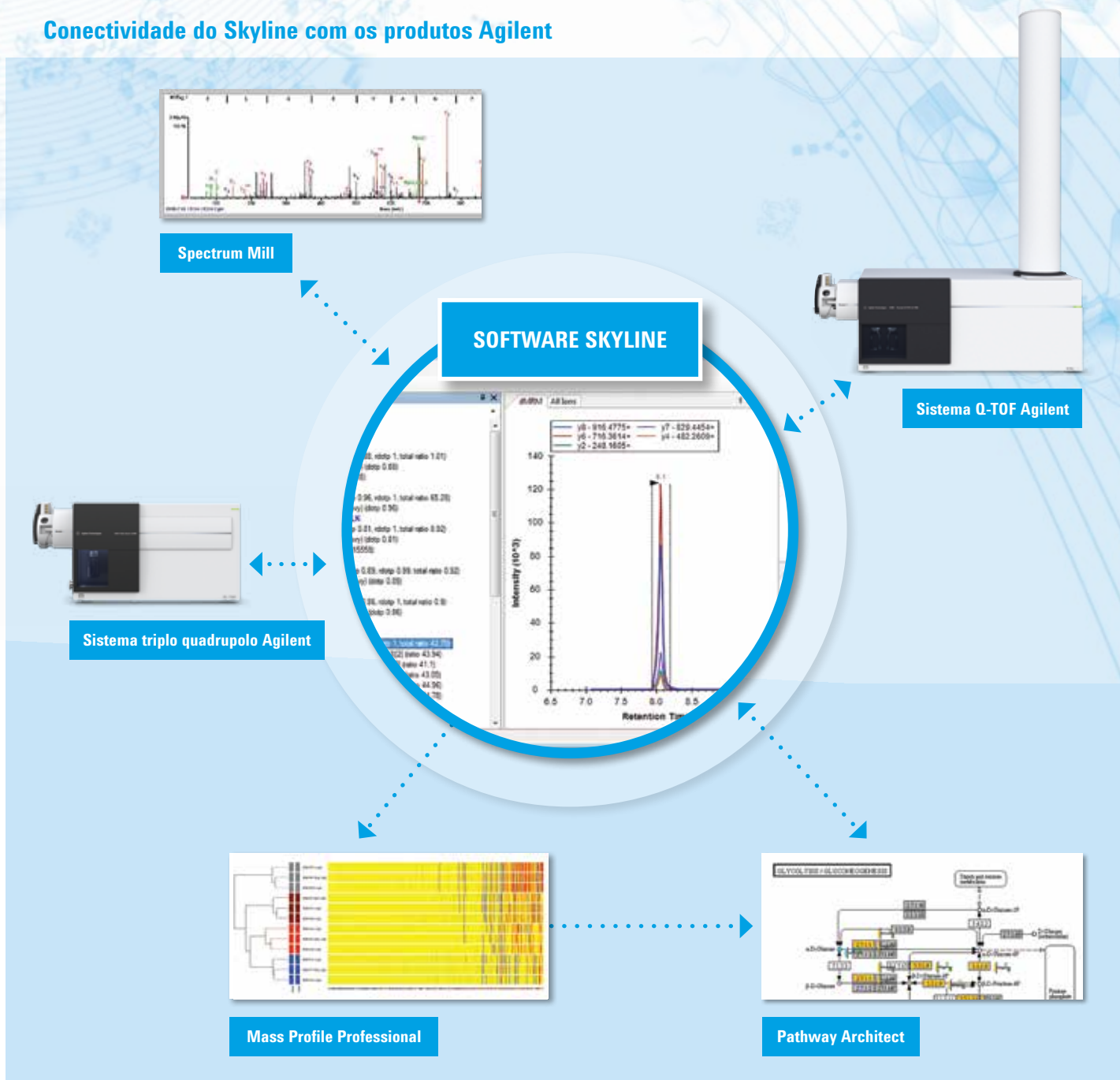
- Quantificação de rotina
- Ferramentas de identificação e visualização úteis para detectar divergências
- Confirmar peptídeos ao corresponder espectros tMRM com a biblioteca

Skyline

- Organização centrada em proteínas
- Ferramentas de visualização excelentes para a análise de dados
- Previsão valiosa de MRM de peptídeos
- Ferramentas eficientes para prever o tempo de retenção e para fornecer espectros correspondentes
- Aprimoramento constante com base no feedback do usuário

O Skyline oferece um ambiente excelente para desenvolver métodos de peptídeos e análise de dados centrada em proteínas. O software MassHunter Quant é ideal para a quantificação de peptídeos absoluta de rotina.

Conectividade do Skyline com os produtos Agilent



SUPERAÇÃO DOS LIMITES DE MRM CONVENCIONAL

Para a análise quantitativa de proteínas conhecidas, os cientistas têm usado com frequência a espectrometria de massas de triplo quadrupolo. Entretanto, com o aumento da complexidade da amostra, a habilidade de adquirir os sinais quantificador e qualificador desejados atingiu os limites práticos do monitoramento de reações múltiplas (MRM).

Como resultado, os pesquisadores de proteômica têm abordado o problema de diversas maneiras, frequentemente com o auxílio dos instrumentos da Agilent e o software Skyline.



Dois modos

O Skyline suporta os dois modos que a Agilent desenvolveu para superar os limites de MRM convencional em nossos sistemas triplo quadrupolo:

A primeira é a aquisição de MRM dinâmica, que adquire transições de MRM apenas quando o peptídeo está eluindo. Isso permite que você lide com grandes ensaios com vários peptídeos e quantifique picos estreitos de forma precisa. O MRM dinâmico produz resultados melhores, visto que o número de transições que é monitorado em qualquer ponto é

significativamente reduzido em relação aos métodos de segmento de tempo, permitindo tempos de ciclo de varredura de MS muito mais rápidos e tempos de permanência maiores.

O segundo é a aquisição do MRM triggered, que adiciona lógica dependente de dados para medir transições adicionais para confirmação de peptídeos. O MRM triggered é mais rápido e mais sensível que a varredura MS/MS dependente de dados convencional e produz um pseudo-espectro de MS/MS que o MassHunter Quant pode usar uma biblioteca correspondente.

Otimização automatizada

A ferramenta de automação do Skyline torna a criação de novos métodos muito mais simples ao automatizar o desenvolvimento de métodos importantes e o processo de otimização. O Skyline e o MassHunter trabalham juntos para fornecer uma solução simples: apenas coloque a amostra em um vial, defina os parâmetros e deixe o software fazer o resto. Volte algumas horas depois e o método estará pronto para executar amostras.

Ao modificar colunas ou métodos, ajustar os tempos de retenção em métodos complexos pode ser demorado. A ferramenta de calibração do tempo de retenção no Mass Hunter foi projetada para ajustar métodos com facilidade para abordar as mudanças no tempo de retenção. O Skyline também conta com recursos de iRT para armazenar e prever o tempo de retenção do peptídeo.

O Agilent MassHunter e o software Skyline trabalham juntos para tornar a análise de quantificação de peptídeo mais rápida, fácil e produtiva.

MRM automatizado em três etapas fáceis usando a ferramenta Agilent Automation

1 Determinar RT

- Criar o documento do Skyline
- Adicionar proteínas/peptídeos
- Exportar método MRM
- Executar análise de MRM

2 Otimizar CE

- Importar resultados de MRM
- Exportar método de otimização CE
- Executar otimização CE

3 Criar o método final

- Importar resultados de otimização CE
- Exportar método MRM final dinâmico
- Executar método final



A ferramenta Agilent Automation permite que os usuários selecionem as etapas e os parâmetros para o desenvolvimento de métodos de MRM.

COMO TRANSFORMAR DADOS EM RESPOSTAS

Um espectrômetro de massas triplo quadrupolo é o instrumento preferencial para a proteômica alvo e quantitativa de um pequeno número de proteínas. Por outro lado, se você desejar monitorar um grande número de proteínas, um espectrômetro de massas Q-TOF é o instrumento ideal para proteômica MS/MS alvo. A proteômica MS/MS alvo reúne espectros de MS/MS de peptídeos em um modo independente de dados.

Ele identifica peptídeos de proteínas específicas de interesse ao verificar os espectros adquiridos em relação à biblioteca de MS/MS de peptídeos.

Aquisição flexível de dados

O Skyline e o MassHunter suportam a análise independente de dados, inclusive o isolamento de banda larga, que pode ajudá-lo a reduzir a complexidade ao isolar e fragmentar uma série de faixas de massa estreitas. Além disso, a análise independente de dados também conta com todos os íons MS/MS, que não usam o isolamento de quadrupolo e fragmenta os íons na cela de colisão com duas ou mais energias de colisão. As duas abordagens funcionam bem por causa das medições de massa exatas produzidas pelo Agilent Q-TOF, que facilita a exploração precisa e a correspondência de dados espectrais. Além disso, o Skyline é capaz de usar as bibliotecas de MS/MS de peptídeos públicas ou privadas, como as geradas pelo software Spectrum Mill da Agilent.

O Skyline também suporta a filtragem com varredura completa no MS1 de aquisição de dados dependentes no Agilent Q-TOF e em instrumentos Q-TOF.

Neste caso, os dados do MS1 são usados para quantificar peptídeos específicos de interesse e uma biblioteca espectral de espectros de MS/MS é usada para identificar o peptídeo.

O Agilent Q-TOF é um instrumento muito versátil que pode ser usado para a proteômica de descoberta e a proteômica de MS/MS alvo. Embora o triplo quadrupolo no modo MRM forneça a melhor sensibilidade, a capacidade do Q-TOF de identificar e quantificar pode ser mais importante para o seu laboratório. O software Skyline foi projetado para processar dados de Q-TOF perfeitamente quando operado no modo de quantificação de alvo.

Obtenção de conhecimentos

Independentemente de sua abordagem, os dados são apenas o começo. Quando você precisa transformar os dados em respostas, o software Agilent Mass Profiler Professional (MPP) permite a análise multivariada de experimentos de proteínas complexas para apontar as principais proteínas que estão correlacionadas à diferença biológica. O software Skyline exporta facilmente resultados da Agilent para o MPP. Como o Skyline concentra-se na proteína, os resultados exportados contêm números de catálogos de proteínas que permitem a visualização de proteínas em trajetórias biológicas no módulo Pathway Architect do MPP.

Os modos diferentes de aquisição do Agilent Q-TOF são todos suportados no Skyline

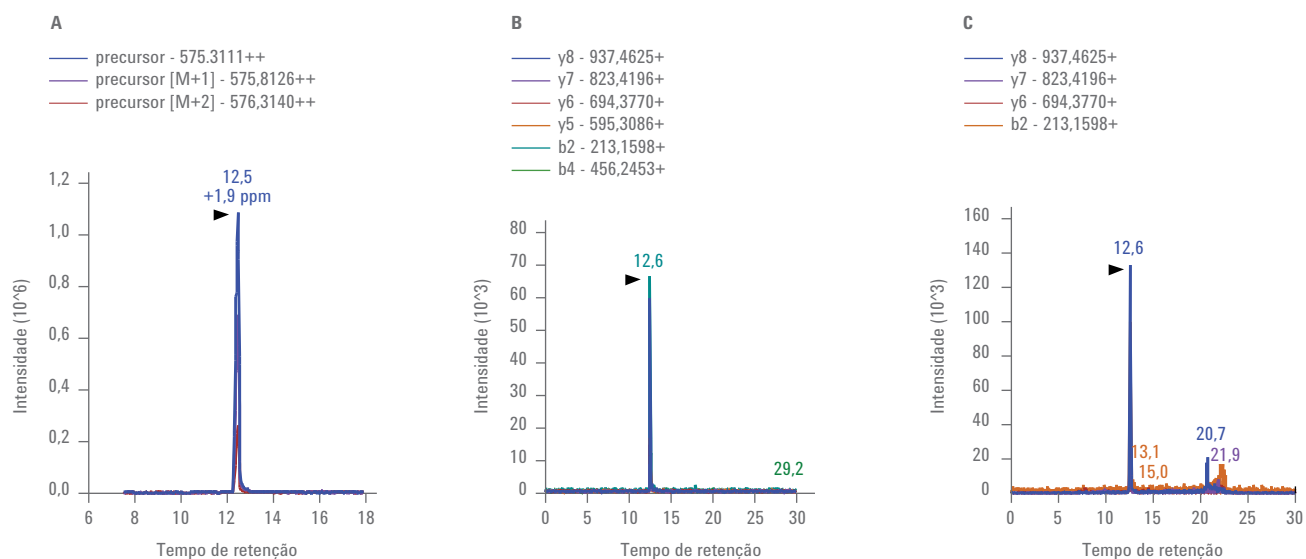
Filtragem de varredura completa de MS1 dependente de dados



Isolamento de banda larga



Todos os íons MS/MS



Processamento do Skyline de um peptídeo de A) resultados dependentes de dados com filtragem de varredura completa de MS1, B) análise independente de dados usando isolamento de banda larga e C) análise independente de dados usando todos os íons MS/MS da Agilent.

Saiba mais

www.metabolomics-lab.com

Encontre um centro de atendimento local ao cliente Agilent

agilent.com/chem/contactus

Brasil

0800 7281405

chem_vendas@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Ásia-Pacífico

inquiry_lsca@agilent.com

Somente para uso em pesquisas. Não devem ser usados em procedimentos de diagnóstico.
Essas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc., 2014
Impresso nos EUA, 22 de outubro de 2014
5991-5248PTBR



Agilent Technologies