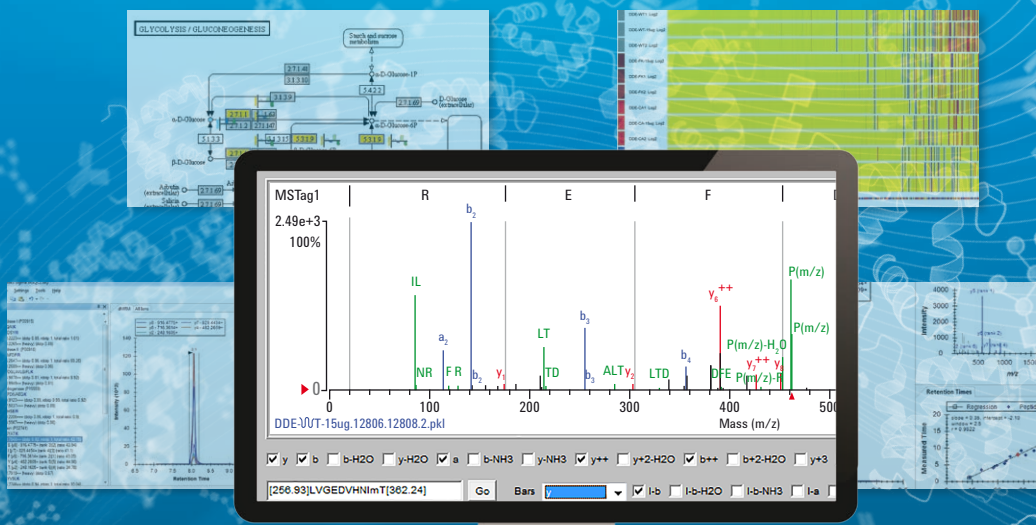




Agilent Spectrum Mill Proteomics 소프트웨어

뛰어난 PROTEOMICS 결과 생산

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

PROTEOMIC 궁금증에 대한 해답 확보

Spectrum Mill 소프트웨어는 분석 작업에서 효율성과 생산성을 증대시킵니다

추출	- MS/MS 스펙트럼을 추출 및 여과 - 정량 분석을 위해 precursor 영역을 확인	precursor 이온의 단일동위원소 (monoisotopic) m/z 지정을 최적화
MS/MS 검색	- 다수의 검색 결과를 연결 - CID, ETD 및 HCD에 대한 Scoring 최적화	- ppm 단위의 product ion 오차(tolerances)를 사용 - 예기치 않은 단백질 변형을 고려
자동 검증	오발견율(FDR)을 이용하여 펩타이드 스펙트럼 매칭을 검증	FDR을 기준으로 단백질 수준에서 필터링을 실행
품질 척도	크로마토그래피 분석, 시료 처리, 화학적 레이블링(chemical labeling)과 연관된 문제해결(Troubleshoot) 효율성	최적화된 MS/MS 데이터 수집의 효율성 측정
보고서	- PSM, 특정 펩타이드, 단백질 또는 변형위치에 의거한 분류 - label-free, SILAC, iTRAQ, TMT를 이용한 정량분석	- 시료간의 차이점 비교 - 자동으로 결과 내보내기

Spectrum Mill은 다중 접근법으로 데이터 검색을 진행하기에 모든 단계에 유연성을 제공합니다. 또한 각 단계의 파라미터 설정을 연결해 주는 워크플로를 생성하여 자동화를 실현합니다.



“Spectrum Mill은 제가 UCSF의 대학원생이었을 때와 그 이후 밀레니엄사(Millennium Pharmaceuticals Inc.)의 연구 과학자로 일하게 되었을 때를 비교해 보면, 처음 개발된 소프트웨어에서 지금의 규모로 성장했습니다. 애질런트가 2002년에 처음 Spectrum Mill을 상품화한 이후로 우리는 훌륭한 협력 개발 관계를 유지해오고 있습니다. 제 연구 분야에서 활용하는 새로운 장비와 기술의 추진하에, 저는 Spectrum Mill 내에서 실행되는 도구 및 알고리즘을 지속적으로 개발하고 있습니다.”

KARL CLAUSER, MIT 및 Harvard Broad Institute의 책임 연구 과학자

Agilent Spectrum Mill 소프트웨어는 proteomics 연구의 다양한 목표를 충족시킬 수 있는 편리성을 제공합니다. 소프트웨어의 수많은 유틸리티를 이용하면 proteomics 분석 실험을 설계하고 실행하는 과정에서 부담칠 수 있는, 모든 유형의 “만약의 문제(what if)”에 대한 해답을 찾을 수 있습니다.

Spectrum Mill 소프트웨어가 제공하는 도구:

- 단백질 식별, 통계 해석과 Pathway 분석 결과 보내기 등을 포함한 **Discovery Proteomics**
- label-free, SILAC, iTRAQ 및 TMT 분석법을 이용한 **단백질 정량 분석**
- MRM Selector, Peptide Selector, QQQ 또는 Q-TOF 실험을 위한 목록생성 등 유틸리티를 포함한 **표적 분석 proteomics**
- 펩타이드 및 단백질 식별(FDR 포함)에 대한 **품질 평가 및 검증**
- 복잡한 데이터를 쉽게 분석하기 위한 **단백질 및 펩타이드 보고서 요약의 시각화 및 생성**

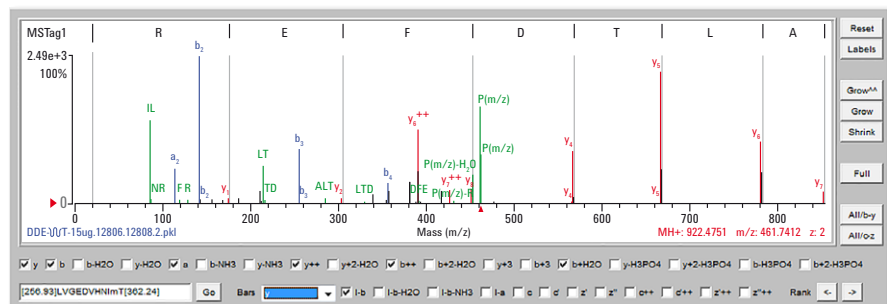
생산성 향상

데이터 처리로 인해 분석 업무에 장애가 생기지 않도록 하십시오. Spectrum Mill은 신속한 결과를 획득하고 서버의 멀티코어(multicore) 마이크로프로세서를 충분히 활용할 수 있도록 설계되었습니다. Spectrum Mill 소프트웨어는 여러 처리 단계에서의 파라미터 세트를 맞춤화하고 저장할 수 있기에 일관된 데이터 처리를 위한 간편한 메커니즘을 제공합니다. 이러한 파라미터 세트는 연결을 통해 맞춤화된 워크플로를 생성하여 무인 배치 처리를 실행할 수 있습니다. Spectrum Mill 소프트웨어는 작업 대기열을 관리함으로써 서버 성능을 최적화하며 Thermo사 질량 분석기로 수집한 데이터도 지원합니다. 이는 실험실의 효율성과 생산성 향상을 의미합니다.

믿을 수 있는 과학을 기반으로 한 정확한 결과 확보

Karl Clauser와 협력하여 지속적으로 개선된 Agilent Spectrum Mill 소프트웨어는 그동안 Proteomics 연구자들이 1,000여편 이상의 과학 논문에 발표했던 결과를 생성하는데 사용되었습니다. 전 세계 많은 과학자들은 Spectrum Mill을 Proteomics 분석 작업의 중요한 부분으로 간주하고 있습니다.

Spectrum Mill은 FDR을 이용해 자동으로 펩타이드 스펙트럼 매칭을 검증하며 단백질 수준에서의 FDR 필터링을 수행할 수 있습니다. 확인된 펩타이드 및 단백질의 수를, 설정된 신뢰 임계치(confidence threshold) 이상으로 제한하여 위양성(false positives)을 줄입니다. 이제 잘못된 단백질 식별 결과 생산에 대한 걱정 없이 데이터를 분석할 수 있습니다.



MS/MS 스펙트럼 주석

중요한 단백질 변형의 정확한 위치 확인

변형된 단백질의 검출 및 식별은 생물학적 프로세스를 이해하려고 노력하는 연구자들에게는 매우 중요한 업무입니다. 자주 사용되는 검색 엔진을 이용하면 변형되지 않은 단백질과 변형된 단백질 모두를 찾을 수 있습니다. 하지만 Spectrum Mill 소프트웨어는 단백질의 변형에 대한 더 많은 정보를 제공합니다.

2개 이상의 단백질 변형 가능성이 존재할 때, 이 소프트웨어의 **변동 변형 위치확인(Variable modification localization)** 기능을 통해 시퀀스 특정 위치의 다양한 변형을 설정 할 수 있습니다. 또한, 지정된 위치의 변형에 대한 신뢰도 지수를 제공하기에 개별 스펙트럼을 검사하지 않고도 변형 위치를 확인할 수 있어 생산성이 향상됩니다. Spectrum Mill만의 강력한 고유 기능은 바로 시료에서 Phosphosite 차이를 비교하고 시각화할 수 있는 기능입니다.

그 이외에도 Spectrum Mill은 **지정되지 않은 단일 질량 간극 검색(single mass gap search)**을 수행합니다. 이러한 기능은 정확한 질량 데이터를 이용하여 미지의 또는 예기치 않은 단백질 변형을 자동으로 확인합니다.

z	Score	Spectrum Intensity	Score VML	# STY	# sty Sites	# Loc sty Sites	# Ambig sty Sites	Variable Sites	Sequence VML Sequence	Accession #	Protein Name
4	4.79	2.89e+004	0.000	7	2	0	2	Y542y Y548y	(K) VNLSDYIGEYSyLGTTLR (Q) VNLSDY (0.0) IGEY (0.50) ST (0.50) LGTTLR	Q9CUL5	IQ and AAA domain-containing protein 1
3	13.48	2.42e+006	99	5	1	1	0	Y849y	(K) LCDFGSASHVAINDITPyLVSR (F) LCDFGSASHVAINDITPy (1.0) LVSR	Q61136	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
3	10.31	3.02e+006	99	5	1	1	0	Y849y	(K) LCDFGSASHVAINDITPyLVSR (F) LCDFGSASHVAINDITPy (1.0) LVSR	Q61136	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
3	14.55	6.75e+005	99	5	1	1	0	Y849y	(K) LCDFGSASHVAINDITPyLVSR (F) LCDFGSASHVAINDITPy (1.0) LVSR	Q61136	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
4	8.47	9.11e+003	0.000	3	1	0	1	Y127y	(K) YEQYSQDITROLFRAEHKPEK (L) Y (0.50) EQY (0.50) SQDITROLFRAEHKPEK	Q8BZN6	Dedicator of cytokinesis protein 10
2	15.40	3.92e+005	99	5	1	1	0	Y359y	(K) TVCSTYLQSR (Y) TVCSTY (1.0) LQSR	Q9ERH7	Homeodomain-interacting protein kinase 3
2	13.66	4.17e+005	99	5	1	1	0	Y359y	(K) TVCSTYLQSR (Y) TVCSTY (1.0) LQSR	Q9ERH7	Homeodomain-interacting protein kinase 3
3	9.46	1.22e+005	99	3	1	1	0	Y279y	(K) QLVKGEFNVSYICSR (Y) QLVKGEFNVSY (1.0) ICSR	Q2NL51	Glycogen synthase kinase-3 alpha
3	9.53	1.01e+006	99	1	1	1	0	Y288y	(K) MGLINKEEVLLDNFyGR (I) MGLINKEEVLLDNFy (1.0) GR	P25688	Uricase
2	8.75	3.43e+005	99	1	1	1	0	Y699y	(K) AADGyVKFGIK (Q) AADGy (1.0) VKFGIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 5B
2	13.16	5.42e+005	99	1	1	1	0	Y699y	(K) AADGyVKFGIK (Q) AADGy (1.0) VKFGIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 5B
2	8.52	2.70e+005	99	1	1	1	0	Y699y	(K) AADGyVKFGIK (Q) AADGy (1.0) VKFGIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 5B
2	7.29	5.37e+005	99	4	1	1	0	Y182y	(R) HTDDENTGyVAIR (W) HTDDENTGy (1.0) VAIR	P47811	Mitogen-activated protein kinase 14

Spectrum Mill의 변동 변형 위치확인(VML)은 특정 변형 위치에 대한 정확한 정보를 제공합니다. 이 예에서, Phosphosite는 MS/MS 스펙트럼의 정보를 바탕으로 score(VML score)를 계산하여 신뢰성(VML score > 1.1) 있는 위치와 신뢰성이 낮은 모호한 위치를 구별하여 나타냅니다. 시퀀스 맵은 관찰된 이온의 cleavage 위치를 보여주어 score 평가에 대한 추가 정보를 제공합니다.

“저희 실험실은 세포 신호 및 바이오마커 발견에 대한 연구의 일환으로 지난 5년 동안 Spectrum Mill을 사용해 왔습니다. Spectrum Mill은 매우 직관적인 시각화 옵션과 맞춤형 요약 파일이 있어 사용하기 편합니다. 현재 저희는 여러 사용자가 액세스할 수 있도록 host Spectrum Mill을 내부 서버에 설치하였으며 이러한 구성이 저희 요구에 매우 적합함을 알게 되었습니다. 저희는 애질런트가 Spectrum Mill을 계속 개발하여 연구를 용이하게 하는 새로운 기능을 제공할 수 있기를 바랍니다.”

Michelle Hill 박사, Australia Brisbane, Queensland 대학, Queensland Diamantina 대학 연구소, Cancer Proteomics Group의 책임자

더 의미 있는 결과 생산

Spectrum Mill은 다른 분석 도구와 쉽게 통합하여 Proteomics discovery 연구 데이터를 더 향상시킬 수 있습니다. Spectrum Mill 검색 결과를 Proteome 소프트웨어에서 자주 사용하는 Scaffold 세트로 업로드하여 다른 검색 엔진으로 검색한 결과와 비교할 수 있습니다.

또한 검색 결과에서 얻은 단백질 정량 데이터를 애질런트의 Mass Profiler Professional(MPP)에 입력하여 통계 해석하고 시각화할 수 있습니다. 이 새로운 워크플로는 Spectrum Mill 소프트웨어가 자동으로 이온 면적값을 추출하여 확인한 펩타이드로 지정하기 때문에 가능합니다. 이 소프트웨어는 단백질에 속한 펩타이드 영역을 합하여 단백질 질량 데이터를 계산하여 보고합니다. 단백질 grouping과 관련 단백질 수준의 정량분석은 여러 단백질 간 공유 펩타이드의 존재 여부를

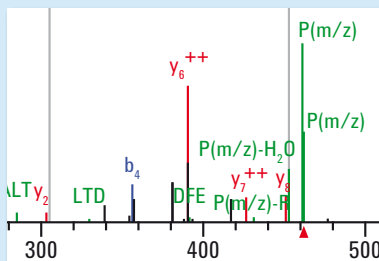
확인합니다. 시료 그룹 간 차이는 MPP에서 빠르게 시각화할 수 있고 Pathway Architect를 이용하여 생체회로에 맵핑할 수 있습니다. 진행 중인 실험과 관련된 생체회로를 발견함으로써 Spectrum Mill을 통해 생물학적 결론에 좀 더 빨리 접근할 수 있습니다.

Spectrum Mill은 MS 전용 단백질 프로파일링 작업을 위해 MS/MS 펩타이드 식별을 통해 정확한 질량값 및 머무름 시간 목록을 생성할 수 있습니다.

애질런트의 MassHunter Profinder 소프트웨어는 이러한 펩타이드 Target 목록을 이용하여 여러 시료 파일에서 특정된 펩타이드를 찾을 수 있습니다. Profinder는 자동화 처리, 데이터 검토 및 수동 큐레이션을 위한 광범위한 도구를 갖추고 있습니다.

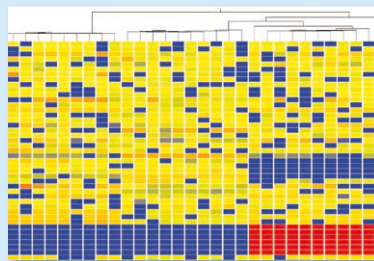
Spectrum Mill은 결과를 여러 형식으로 내보내기할 수 있어 다른 소프트웨어 프로그램을 사용하여 사용자가 원하는 방식으로 실험을 검토하고 해석할 수 있습니다.

발견



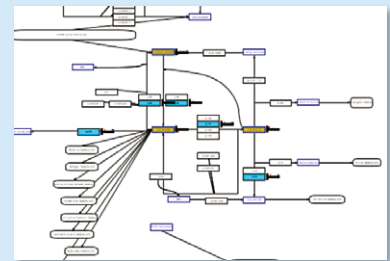
- 데이터 의존적(data-dependent)인 데이터 획득
- Spectrum Mill 데이터 검색 수행
- 여러 시료 그룹에서의 단백질 존재도(abundance) 비교

통계 분석 및 시각화



- Spectrum Mill 결과 가져오기
- 차등 조절된 단백질 확인
- 상관관계 분석 수행

Pathway 분석



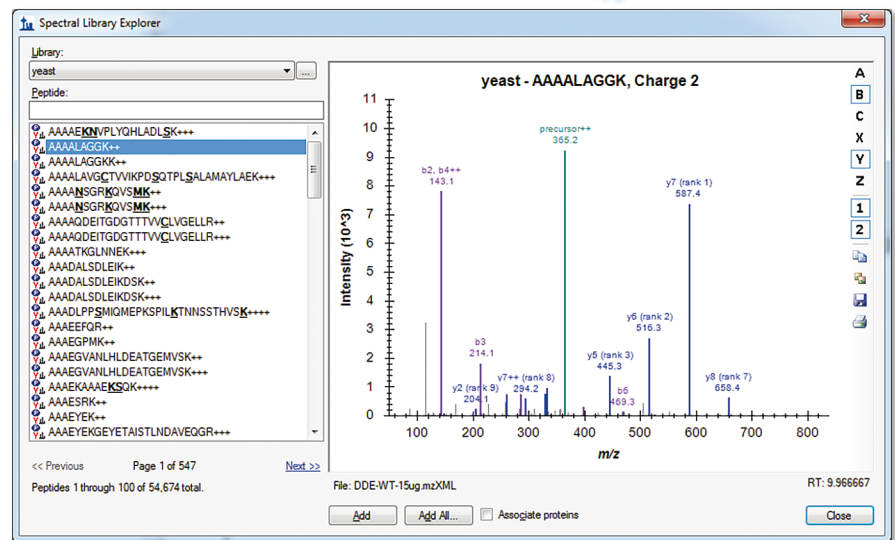
- 단백질을 Pathway에 맵핑
- Pathway 정보를 이용하여 생물학적 효과 규명
- 후속 표적 분석을 위해 단백질 Pathway를 내보내기

Spectrum Mill 검색 결과는 Mass Profiler Professional 및 Pathway Architect를 이용하여 그 생물학적 프로세스를 신속히 이해할 수 있습니다. 처리군 간의 데이터 의존적(data-dependent) 실험법 결과가 영향을 받은 생체회로의 모든 단백질을 포함하지 않았다면, 이 차등 발현된 생체회로는 검사해볼 필요가 있으며 후속 표적 분석에서 이에 대해 확인해야 합니다.

표적 PROTEOMICS로 분석 업무 주력

표적 단백질을 확인하면 다음 단계는 특정 펩타이드에 대한 표적 분석 설정이 될 수 있습니다. Spectrum Mill에서 확인한 펩타이드 스펙트럼을 보내기한 다음, Seattle Washington 대학의 MacCoss 그룹에서 개발한 Skyline 소프트웨어를 사용하여 분석할 수 있습니다.

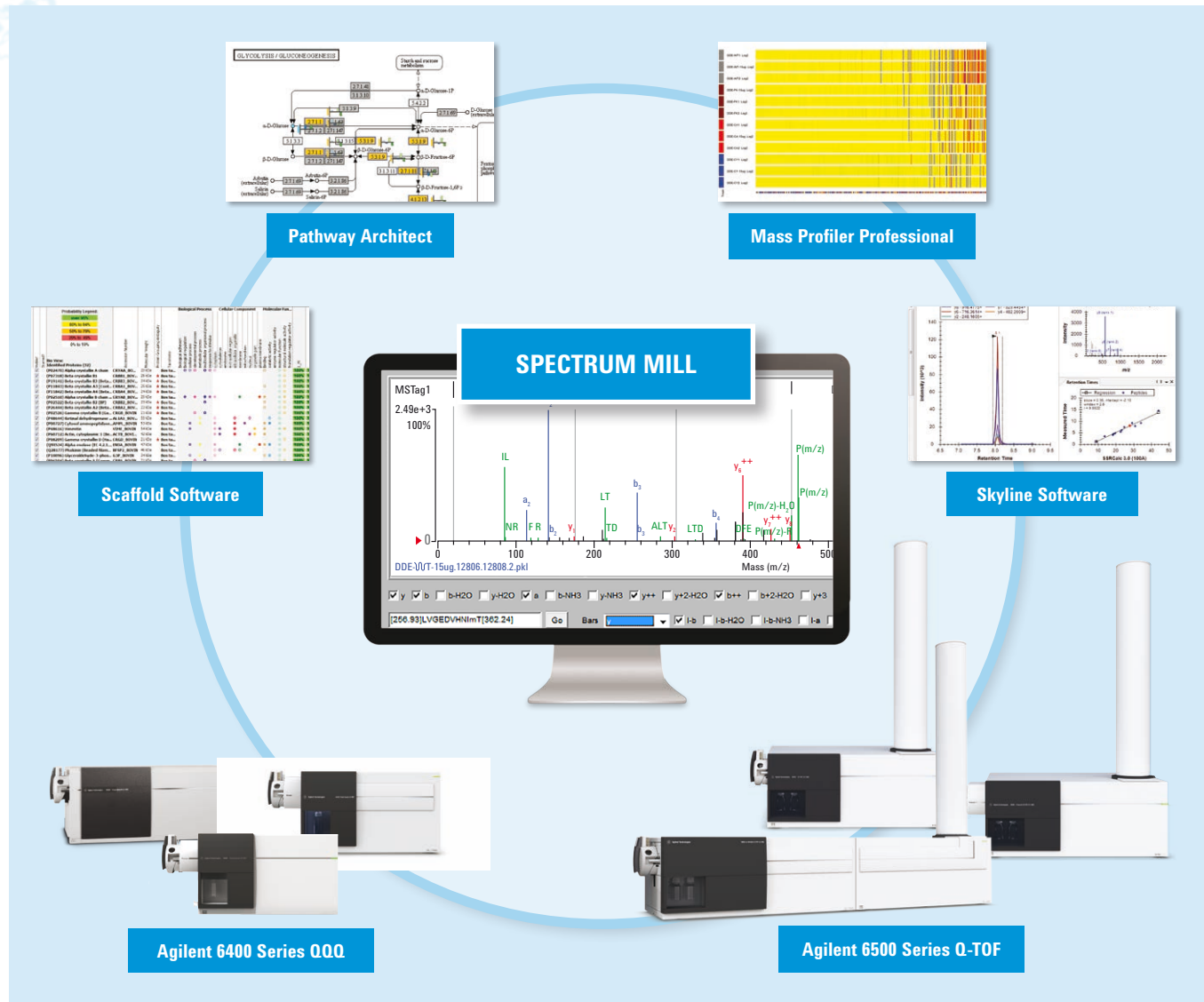
표적 정량 분석에는 최대 수백 개의 단백질을 분석할 수 있는 Triple Quadrupole 질량 분석기가 주로 사용됩니다. Skyline에서 Spectrum Mill 결과를 펩타이드 라이브러리로 사용하여 Agilent Triple Quadrupole LC/MS 시스템에 사용되는 MassHunter Multiple Reaction Monitoring (MRM) 분석법을 제작할 수 있습니다. 반면에, 더 많은 단백질을 모니터링하려는 경우, Q-TOF 질량 분석기는 표적 MS/MS proteomics에 적합한 기기입니다. 표적 MS/MS Proteomics는 데이터 독립적인(data-independent) 모드로 펩타이드 MS/MS 스펙트럼을 수집합니다. Spectrum Mill 펩타이드 MS/MS 라이브러리는 획득한 스펙트럼을 라이브러리와 매칭하여 표적 단백질에서 펩타이드를 확인할 수 있습니다.



Spectrum Mill 데이터베이스 검색 결과와 매칭하는 펩타이드 스펙트럼은 Skyline Spectral Library Explorer를 통해 Skyline 기반 작업에 사용하기 위한 사용자 지정 라이브러리(custom library)로 쉽게 만들 수 있습니다.

Spectrum Mill은 표적 분석을 위한 유틸리티도 포함하고 있습니다. 예를 들면, Peptide Selector는 단백질에 대해 이론적인 분해를 실행한 후 자동으로 유사 표적 펩타이드를 선택합니다. 그 반면에, MRM Selector는 데이터 의존적(data-dependent) 수집 실험 기간에 discovery 모드로 수집된 실험 데이터에 근거하여 MRM transition 목록을 생성하고 추출합니다. Agilent 또는 AB SCIEX triple quadrupole 기기에 사용되는 transition 목록을 추출할 수 있습니다.

SPECTRUM MILL – PROTEOMICS 연구의 핵심



Spectrum Mill은 믿을 수 있는 과학을 기반으로 하고 수년 간의 개발을 거치었으며 수백 편의 과학 논문이 그 성능을 증명합니다. Spectrum Mill은 단백질 데이터베이스 검색 기능뿐만 아니라 품질 평가, PTM 위치확인, 단백질 정량 분석, 시각화 및 보고 기능을 제공합니다. Spectrum Mill 결과는 애질런트 소프트웨어(Mass Profiler Professional, Pathway Architect, MassHunter Profinder)는 물론 타사 소프트웨어(Skyline 및 Scaffold)에서도 사용할 수 있습니다. Spectrum Mill의 연결성은 기존 결과를 새로운 실험에 활용할 수 있게 해줍니다. Spectrum Mill은 Proteomics 데이터를 생물학적 이해로 바꾸는 분석 작업의 핵심입니다.

추가정보

www.agilent.com/chem/spectrum_mill

애질런트 고객 센터 찾기

agilent.com/chem/contactus

미국 및 캐나다

1-800-227-9770

agilent_inquiries@agilent.com

유럽

info_agilent@agilent.com

아시아태평양

inquiry_lsca@agilent.com

이 발행물은 연구용으로만 사용하시기 바랍니다. 이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다. 애질런트 테크놀로지스는 이 발행물에 포함된 오류나, 이 발행물의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2015
2015년 2월 4일 한국에서 발행
5991-5250K0

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