

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	<ul style="list-style-type: none">MS/MS 스펙트럼을 추출 및 여과정량 분석을 위해 precursor 영역을 확인	<ul style="list-style-type: none">precursor 이온의 단일동위원소 (monosotopic) m/z 지정을 최적화
MS/MS 검색	<ul style="list-style-type: none">다수의 검색 결과를 연결CID, ETD 및 HCD에 대한 Scoring 최적화	<ul style="list-style-type: none">ppm 단위의 product ion 오차(tolerances)를 사용예기치 않은 단백질 변형을 고려
자동 검증	<ul style="list-style-type: none">오발견율(FDR)을 이용하여 펩타이드 스펙트럼 매칭을 검증	<ul style="list-style-type: none">FDR을 기준으로 단백질 수준에서 필터링을 실행
품질 척도	<ul style="list-style-type: none">크로마토그래피 분석, 시료 처리, 화학적 레이블링(chemical labeling)과 연관된 문제해결(Troubleshoot) 효율성	<ul style="list-style-type: none">최적화된 MS/MS 데이터 수집의 효율성 측정
보고서	<ul style="list-style-type: none">PSM, 특정 펩타이드, 단백질 또는 변형위치에 의거한 분류label-free, SILAC, iTRAQ, TMT를 이용한 정량분석	<ul style="list-style-type: none">시료간의 차이점 비교자동으로 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 추진기에, 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 유ти리티를 이용하면 proteomics 분석 실험을 설계하고 실행하는 과정에서 부딪칠 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 목록 생성 등 유ти리티를 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

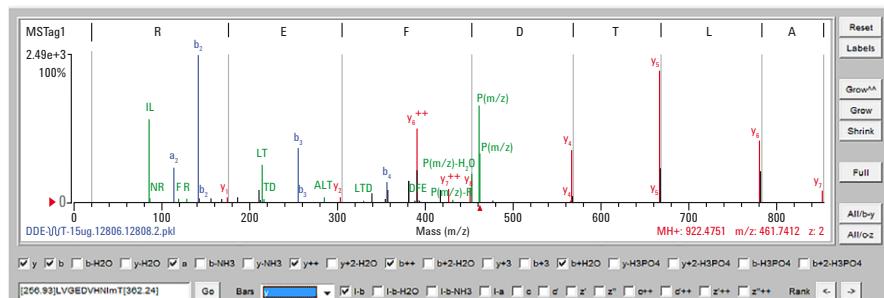
생산성 향상

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 FDR를 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	#	#	#	Variable Sites	Sequence	Accession #	Protein Name
					sty	Loc	Ambig		VML Sequence		
					Sites	sty	sty	Sites			
4	4.79	2.89e+004	0.000	7	2	0	2	Y542y Y548y	(K) VNLSDyIGEYSyLGGTLR (Q) VNLSDy(0.0) IGEY(0.50) Sy(0.50) LGTTLR	Q9CUL5	IQ and AAA domain-containing protein 1
3	13.48	2.42e+006	99	5	1	1	0	Y849y	(K) LCDFGSASHVAANDITPyLVSR (F) LCDFGSASHVAANDITPyLVSR	Q61136	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
3	10.31	3.02e+006	99	5	1	1	0	Y849y	(K) LCDFGSASHVAANDITPyLVSR (F) LCDFGSASHVAANDITPyLVSR	Q61136	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
3	14.55	6.75e+005	99	5	1	1	0	Y849y	(K) LCDFGSASHVAANDITPyLVSR (F) LCDFGSASHVAANDITPyLVSR	Q61136	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
4	8.47	9.11e+003	0.000	3	1	0	1	Y127y	(K) yEGYSGDyIRQLRFAAHKPEK (L) Y (0.50) EGy (0.50) SGDyIRQLRFAAHKPEK	Q8BZ6	Dedicator of cytokinesis protein 10
2	15.40	3.92e+005	99	5	1	1	0	Y359y	(K) TVCSTyQSR (Y) TVCSTy(1.0) QSR	Q9ERH7	Homeodomain-interacting protein kinase 3
2	13.66	4.17e+005	99	5	1	1	0	Y359y	(K) TVCSTyQSR (Y) TVCSTy(1.0) QSR	Q9ERH7	Homeodomain-interacting protein kinase 3
3	9.46	1.22e+005	99	3	1	1	0	Y279y	(K) QLVRGSEENVNSyICSR (Y) QLVRGSEENVNSy(1.0) ICSR	Q2NL51	Glycogen synthase kinase-3 alpha
3	9.53	1.01e+006	99	1	1	1	0	Y288y	(K) MGLINKEEVLLFLDNPyGK (I) MGLINKEEVLLFLDNPyGK (I)	P25688	Uricase
2	8.75	3.43e+005	99	1	1	1	0	Y699y	(K) AADGyVVPQIK (Q) AADGy(1.0) VVPQIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 5B
2	13.16	5.42e+005	99	1	1	1	0	Y699y	(K) AADGyVVPQIK (Q) AADGy(1.0) VVPQIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 5B
2	8.52	2.70e+005	99	1	1	1	0	Y699y	(K) AADGyVVPQIK (Q) AADGy(1.0) VVPQIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 5B
2	7.29	5.37e+005	99	4	1	1	0	Y182y	(R) HTDDEMtyVAIR (W) HTDDEMtyVAIR (W)	P47811	Mitogen-activated protein kinase 14

Spectrum Mill의 변동 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 펩타이트 식별을 통해 정확한 질량값 및 머무름 시간 목록을 생성할 수 있습니다.

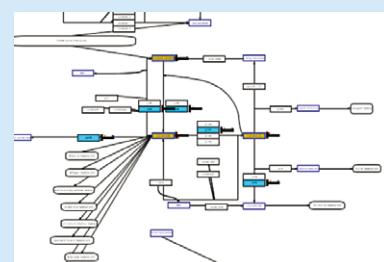
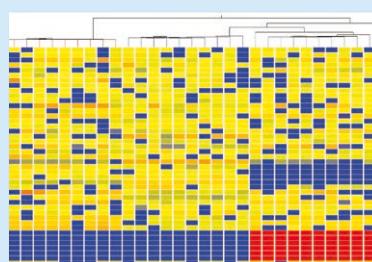
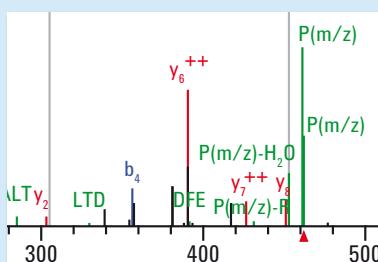
애질런트의 MassHunter Profinder 소프트웨어는 이러한 펩타이드 Target 목록을 이용하여 여러 시료 파일에서 특정된 펩타이드를 찾을 수 있습니다. Profinder는 자동화 처리, 데이터 검토 및 수동 큐레이션을 위한 광범위한 도구를 갖추고 있습니다.

Spectrum Mill은 결과를 여러 형식으로 내보내기 할 수 있어 다른 소프트웨어 프로그램을 사용하여 사용자가 원하는 방식으로 실험을 검토하고 해석 할 수 있습니다.

발견

통계 분석 및 시각화

Pathway 분석



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

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

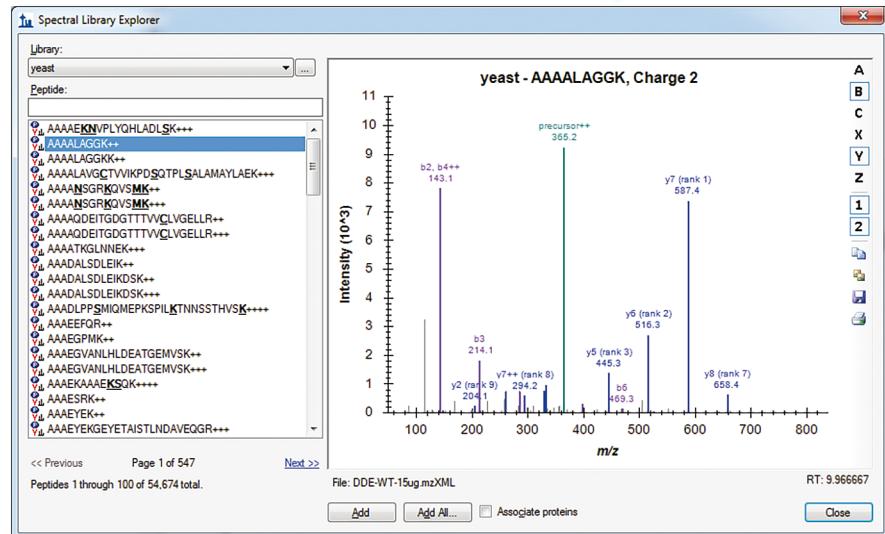
- 단백질을 Pathway에 맵핑
- Pathway 정보를 이용하여 생물학적 효과 규명
- 후속 표적 분석을 위해 단백질 Pathway를 내보내기

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 내보내기한 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 모니터링 하려는 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 유ти리티도 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

Pathway Architect

Mass Profiler Professional

Scaffold Software

Spectrum Mill

Skyline Software

Agilent 6400 Series QQQ

Agilent 6500 Series Q-TOF

Spectrum Mill은 믿을 수 있는 과학을 기반으로 하고 수년 간의 개발을 거치였으며 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 해 줍니다. 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

5991-5250KO

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