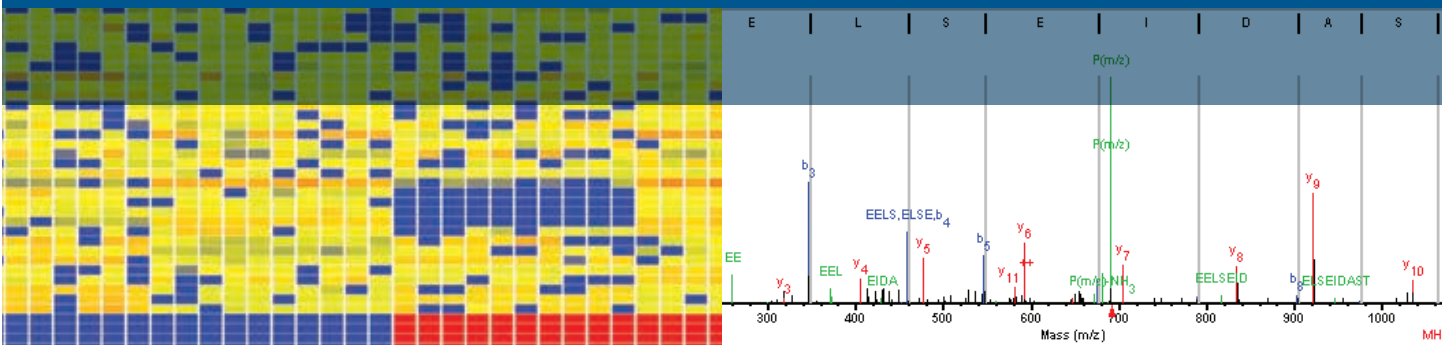


Améliorez vos recherches en protéomique

Protéomique Agilent



Solutions protéomiques pour vos applications

La protéomique est devenue un outil essentiel pour répondre à des questions biologiques dans un large éventail de disciplines et de domaines d'étude. , Partout où les protéines jouent un rôle, la protéomique offre un potentiel d'informations qu'il est souvent impossible d'obtenir autrement.



Recherche fondamentale et clinique

Identifier et vérifier les biomarqueurs peptidiques/protéiques qui apportent une compréhension essentielle des processus biologiques.

Agriculture et optimisation des cultures

Identifiez et comprenez les voies protéiques pour optimiser le développement des cultures, augmenter le rendement et améliorer la résistance aux pesticides et herbicides.

Analyse agroalimentaire

Identifiez les protéines associées à des caractéristiques majeures telles que la qualité, l'authenticité, l'immunogénicité, le goût et la valeur nutritionnelle des aliments.

Recherche pharmaceutique

Identifiez les protéines marqueurs de la toxicité d'origine médicamenteuse lors de la découverte et du développement pharmaceutique.

Biocarburants et biologie de synthèse

Vérifiez la synthèse des protéines pour maximiser le rendement du produit final souhaité.

Outils essentiels à la découverte et à la protéomique ciblée

Le champ de la protéomique s'est rapidement étendu jusqu'à couvrir à peu près tous les aspects de la recherche sur les protéines, depuis l'identification à la caractérisation des modifications post-traductionnelles et de découverte et à la quantification des biomarqueurs. L'analyse protéomique présentant de nombreux défis spécifiques, vos objectifs de recherche nécessitent des méthodes complètes, optimisées et pratiques afin d'obtenir des résultats précis et reproductibles.

Les différentes approches des études protéomiques peuvent

être classées dans les deux catégories suivantes :

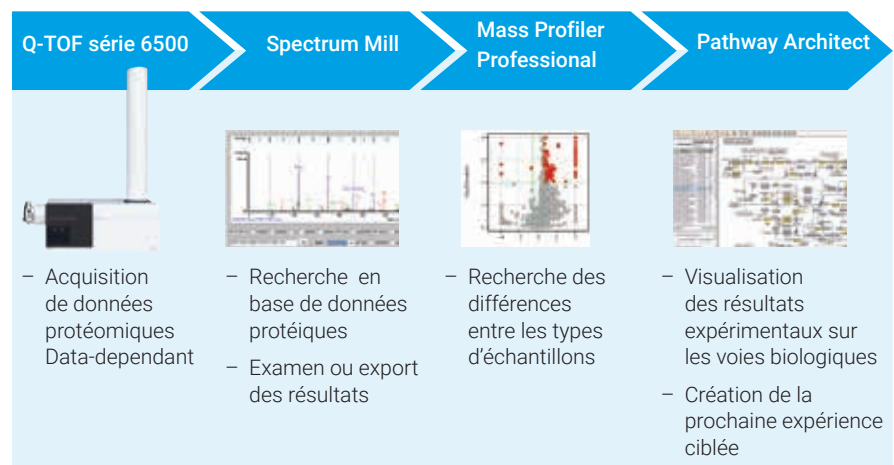
La protéomique de découverte

Identification des protéines sans aucune connaissance préalable des protéines susceptibles d'être présentes. Pour cela, les spectres MS/MS obtenus sont comparés à une base de données de protéines. La protéomique de découverte peut aussi être utilisée pour rechercher les différences entre des types d'échantillons (contrôles par rapport aux échantillons traités, par exemple).

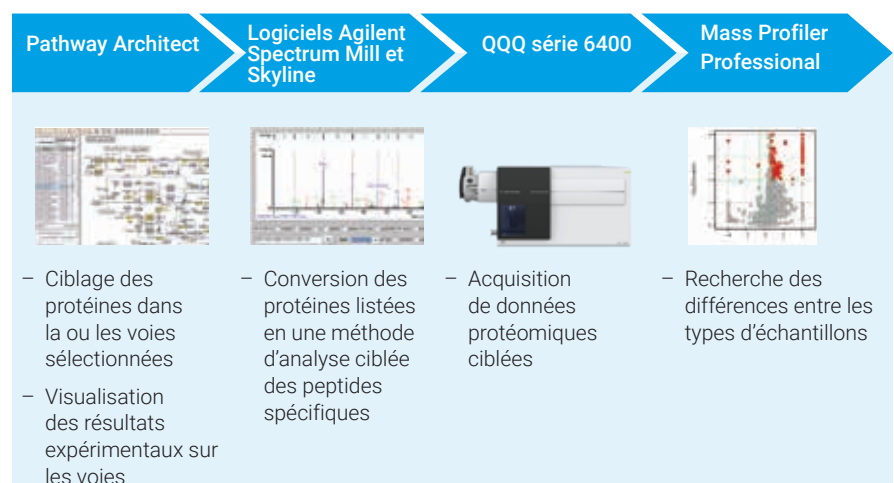
La protéomique ciblée

Confirmation des protéines d'après les connaissances préalables tirées des publications, des études génomiques ou des analyses des voies biologiques. La protéomique ciblée peut aussi inclure la quantification précise de protéines d'intérêt.

Agilent fournit les outils dont vous avez besoin pour la protéomique de découverte et ciblée en proposant une gamme de produits compatibles avec la nanoHPLC et l'HPLC conventionnelle, ainsi que des spectromètres de masse permettant l'identification et la quantification précises des protéines.



Protéomique de découverte



En Protéomique ciblée, les informations issues des voies biologiques permettent d'orienter la prochaine expérience

Protéomique de découverte

L'abondance des protéines d'un échantillon d'intérêt peut varier de plusieurs ordres de grandeur. Les protéines les plus intéressantes sont souvent présentes qu'en très faibles concentrations. La protéomique de découverte impose un niveau d'exigences particulièrement élevé en matière de séparation, de sensibilité analytique et de système informatique.

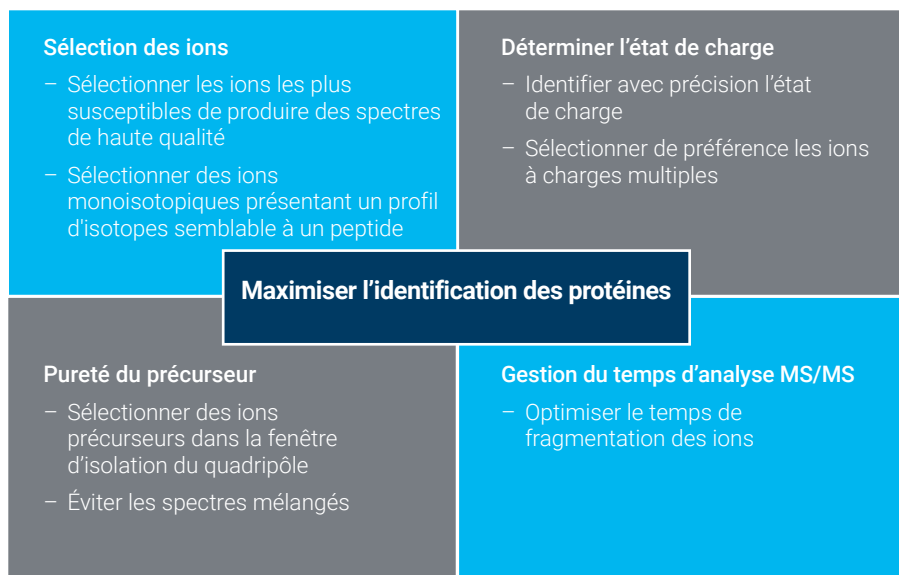
Les échantillons protéiques sont généralement analysés par LC-MS/MS en mode data-dépendant. Un mode d'acquisition données-dépendant (DDE) robuste est donc une fonctionnalité essentielle de l'instrument de MS. Bien menée, cette approche délivre des spectres MS/MS de haute qualité permettant l'identification d'un plus grand nombre de peptides et la cartographie la plus complète des protéines présentes dans l'échantillon.

L'efficacité du DDA dépend de l'algorithme de sélection des ions précurseurs les plus susceptibles d'être des peptides pour l'obtention des spectres MS/MS de haute qualité. Le graphique ci-dessous met en évidence les critères nécessaires à l'efficacité de la sélection des ions peptidiques

Le LC/MS Q-TOF 6550 iFunnel Agilent améliore considérablement la sensibilité analytique et donc la détection des peptides peu abondants.

Il comporte également un algorithme de DDA avancé incorporant tous les éléments nécessaires à la sélection des ions peptidiques, pour une identification des protéines avec plus de confiance. Lors d'une analyse complète, le mode d'acquisition MS/MS itératif entièrement automatisé réalise des injections séquentielles avec exclusion automatique des ions précurseurs préalablement sélectionnés.

La capacité de l'HPLC à séparer les peptides peut aussi avoir un impact significatif sur l'identification des protéines. Une meilleure séparation donne des pics plus fins, ce qui simplifie la tâche du DDA et permet d'identifier un plus grand nombre de protéines.



Logique données-dépendante utilisée pour maximiser l'identification des protéines.

Protéomique ciblée

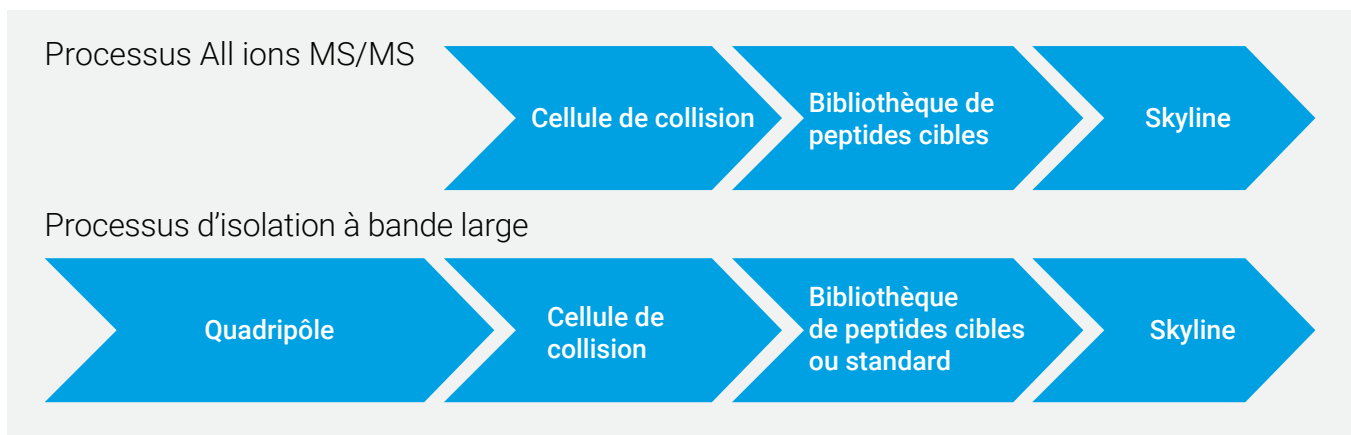
Contrairement à la Découverte, la protéomique ciblée permet de détecter les peptides des protéines susceptibles d'être présentes compte tenu des connaissances préalables (publications, études génomiques, analyse des voies de signalisation, etc.).

Les instruments masse exacte Q-TOF sont les outils de choix pour le criblage simultané d'un nombre important de protéines. En protéomique ciblée les spectres MS/MS des peptides sont acquis dans un mode Data-indépendant (DIA). Les peptides des protéines d'intérêt spécifiques sont identifiés en comparant les spectres MS/MS acquis par rapport à une bibliothèque de spectre MS/MS de peptides.

L'analyse Data-indépendante est possible par la méthodologie All Ions MS/MS ou par l'isolation de la bande large. La méthodologie All Ions MS/MS n'utilise pas l'isolation du quadripôle et fragmente les ions dans la cellule de collision avec deux ou plusieurs énergies de collision. L'isolation large bande réduit la complexité des données en isolant et en fragmentant une série de gammes de masse restreintes (~10 Da). Ces approches analytiques Data- indépendantes sont possibles grâce à l'exactitude des mesures de masse du Q-TOF iFunnel Agilent 6550. La précision des spectres MS et MS/MS des peptides réduit considérablement les fausses correspondances accidentelles lors de la comparaison avec une bibliothèque spectrale de peptides.

L'autre approche utilisée dans la protéomique ciblée est l'analyse quantitative de protéines connues. Le Q-TOF est un instrument très flexible et polyvalent qui peut aussi être utilisé pour la protéomique quantitative. Toutefois, la plupart des scientifiques utilisent la spectrométrie de masse triple quadripôle pour les analyses quantitatives en routine en raison de sa sensibilité analytique et de sa gamme dynamique supérieures.

Quelle que soit votre approche, les données ne représentent que la première étape : un logiciel de traitement des données sophistiqué est indispensable pour tirer le maximum d'informations de vos résultats expérimentaux.



Flux de travail Data-Indépendant pour la protéomique ciblée.

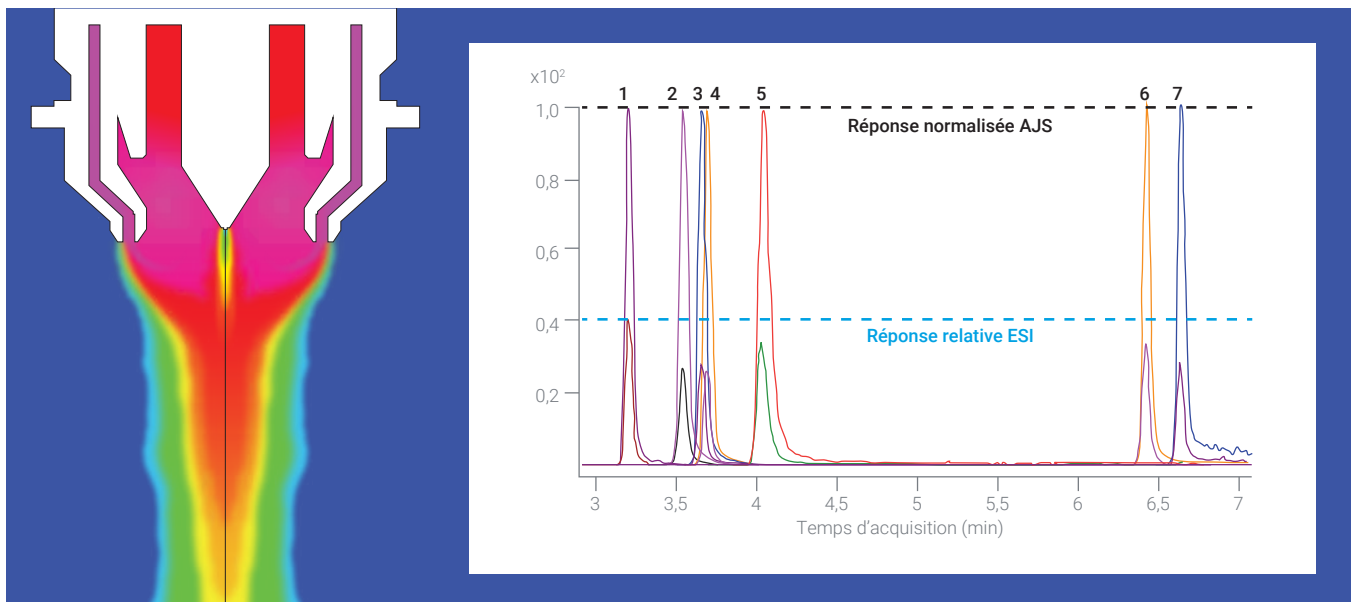
Protéomique Jet Stream

Il est aujourd'hui possible d'utiliser l'UHPLC pour effectuer des analyses LC/MS à haut débit, robustes et reproductibles d'échantillons protéomiques complexes en découverte et en ciblées. Cette option repose sur la technologie exclusive de source d'ionisation Agilent Jet Stream.

Dans le passé, les chercheurs en protéomique avaient du mal à détecter de faibles concentrations de protéines en utilisant la chromatographie à débit ordinaire. La LC/MS à nanodébit a donc été largement adoptée en raison de sa meilleure sensibilité analytique, mais cette augmentation de sensibilité se fait au détriment de la robustesse, de la reproductibilité et de la facilité d'utilisation.

Grâce à la technologie innovante Agilent iFunnel, qui comprend la source d'ionisation Agilent Jet Stream, vous pouvez obtenir une sensibilité analytique proche de la nanoHPLC en utilisant un instrument de HPLC à débit standard. La solution protéomique Jet Stream offre une cadence d'analyse plus élevée, une plus grande robustesse et une meilleure reproductibilité.

Lorsque vous n'êtes pas limité par quantité d'échantillons, la solution protéomique Jet Stream permet de gagner sur les deux tableaux : sensibilité analytique et qualité des données.



Agilent Jet Stream fournit un signal 3 à 5 fois plus élevé pour les peptides que l'ionisation electrospray.

Protéomique à nanodébit

Si vous recherchez la meilleure sensibilité analytique possible, la LC/MS à nanodébit avec des colonnes à très petit diamètre et une source nanoelectrospray (nanoES) donne les meilleurs résultats. Agilent propose une source nanoESI flexible et un kit Nanodaptor pour adapter une Agilent 1290 Infinity II aux nanodébits

NanoESI Agilent

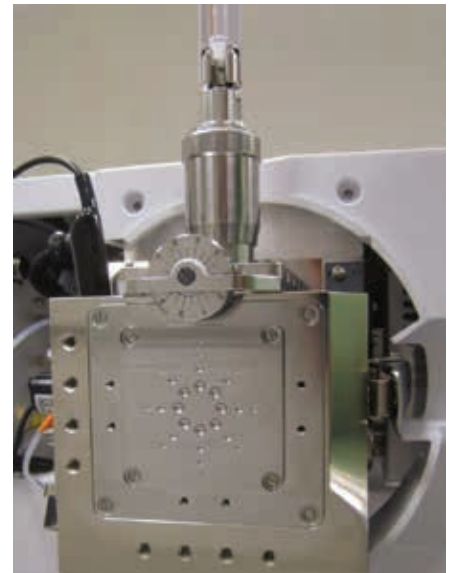
Flexible et simple à configurer, la source nanoESI Agilent G1992A est conçue pour offrir une flexibilité maximale aux utilisateurs expérimentés. De par sa conception, elle s'adapte facilement à des colonnes de longueurs et diamètres internes différents, ainsi qu'à des configurations chromatographiques multidimensionnelles afin d'obtenir des performances optimales pour une grande variété d'échantillons. La source fermée améliore la sécurité et réduit le bruit de fond analytique. La source nanoESI d'Agilent peut être utilisée hors ligne ou en ligne et prévoit des raccords simples pour les nanocolonnes avec des émetteurs intégrés (pointes sorties) ou séparés.

Nanodapter Infinity UHPLC

Pour les échantillons en quantité limitée, la LC/MS à nanodébit est l'option à privilégier. Le Nanodapter Agilent Infinity UHPLC transforme une pompe à haut débit 1290 Infinity II pour lui permettre de fournir des débits optimisés pour les nanoséparations. L'association du Nanodapter à une pompe à haut débit 1290 Infinity II assure des débits précis de 100 à 900 nL/min pour les séparations sur des colonnes de 75 à 150 µm de diamètre interne à des pressions pouvant atteindre 1 300 bars. Cette solution est compatible avec une large gamme de colonnes nanoLC couplées à la source nanoESI d'Agilent, ce qui permet de passer du débit standard de l'Agilent Jet Stream

Solutions nanodébit Agilent

Si vous recherchez une sensibilité analytique maximale pour des analyses d'échantillons en quantité limitée, Agilent propose une solution nanodébit flexible :



Source nanoESI Agilent



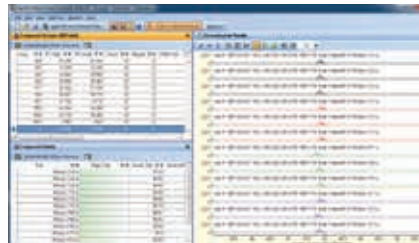
Nanodapter Agilent Infinity UHPLC

Pathway Architect Agilent



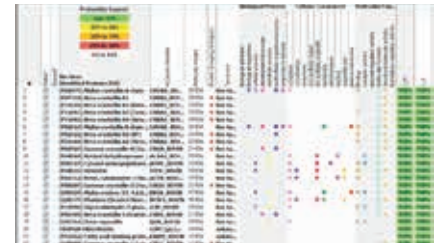
Pathway Architect, le module optionnel de MPP, offre une plate-forme intégrée obtenir des informations plus détaillées sur les données. Ce module vous permet de prendre les résultats d'expériences simples ou multi-omiques et de les cartographier sur les voies biologiques canoniques, afin d'analyser, de visualiser et d'interpréter simultanément les informations. Cette méthode centrée sur les voies biologiques raccourcit le délai entre découverte et validation et permet également aux chercheurs de planifier et d'exécuter efficacement leur prochaine série d'expériences.

Agilent Profinder



Extrait rapidement les signatures peptidiques ou protéiques à partir de données MS label free ainsi que l'extraction automatisée des éléments caractéristiques de larges jeux de données complexes. Profinder utilise les informations obtenues sur un grand nombre d'échantillons pour extraire des composantes fiables pour des analyses statistiques de haute qualité. Les résultats du traitement des données de Profinder sont facilement transférables sur le logiciel d'analyse statistique Agilent Mass Profiler Professional.

Scaffold



Utilise les fichiers de résultats d'un ou plusieurs moteurs de recherche de protéines MS/MS (y compris Spectrum Mill) pour évaluer, organiser et interpréter les résultats recherches en de spectrométrie de masse. Le logiciel Scaffold (de Proteome Software) vous permet de gérer plus facilement d'importantes quantités de données et de comparer les échantillons ou les résultats de plusieurs moteurs de recherche.

Instruments et outils de LC/MS pour la protéomique

Séparation chromatographique

LC Agilent 1290 Infinity II

Offre des performances chromatographiques et une flexibilité sans équivalent. Tirant des phases stationnaires inférieures à 2 µm, la 1290 assure d'excellentes séparations chromatographiques des échantillons de protéines complexes. Associée à la technologie Agilent Jet Stream, elle produit des résultats d'analyse des protéines rapides, reproductibles et sensibles.

Nanodapter Agilent Infinity UHPLC

Le passage de la LC à débit standard à la nano LC n'a jamais été aussi simple. L'utilisation d'un Nanodapter Agilent Infinity UHPLC pour modifier la pompe haute pression Agilent 1290 Infinity II permet d'obtenir des débits précis de 100 à 900 nL/min. apportant robustesse et facilité d'utilisation pour l'analyse LC/MS protéomique en nanodébit.

Préparation des échantillons

Station automatique de pipetage Agilent AssayMAP Bravo

Automatise les méthodes de purification des protéines/peptides, de digestion des protéines et de purification par affinité. D'une conception conviviale, la station augmente systématiquement la reproductibilité et le débit analytique

Système d'immunoaffinités Agilent

Conçue pour éliminer efficacement jusqu'à 99 % des 14 protéines les plus abondantes des échantillons de sérum humain ou murin. Disponible en formats HPLC réutilisables et filtres à centrifuger.



LC Agilent 1290 Infinity II



Station automatique de pipetage Agilent AssayMAP Bravo

Analyse par LC/MS

LC/MS Agilent à triple quadripôle série 6400

Le choix éprouvé pour les applications quantitatives nécessitant une sensibilité analytique, une fiabilité et une robustesse supérieures. Doté de la technologie iFunnel intégrant la source Agilent Jet Stream, le 6495 améliore considérablement la désolvatation et la transmission des ions, abaissant ainsi les limites de détection. Si vous n'êtes pas limité par la quantité d'échantillon, la solution protéomique Jet Stream offre la meilleure combinaison de sensibilité, de reproductibilité et de débit analytique pour la quantification des peptides.

LC/MS Q-TOF Agilent série 6500

Une solution polyvalente pour la protéomique qualitative ou quantitative. Ces instruments offrent des mesures de masse exacte avec une gamme dynamique linéaire étendue, permettant la détection simultanée des peptides fortement et faiblement abondants dans les mélanges complexes. Grâce à la technologie Agilent iFunnel, le Q-TOF 6550 offre les limites de détection les plus basses de tous les instruments de LC/MS/MS masse exacte.



LC/MS Agilent à triple quadripôle série 6400

Sources d'ionisation pour la protéomique

Technologie Agilent Jet Stream

Repose sur la technique de focalisation du spray par gradient thermique avec de l'azote surchauffé pour une meilleure intensité du signal peptidique et un bruit réduit. La technologie Agilent Jet Stream est conçue pour une séparation par UHPLC à débit standard. Comparée aux sources d'ionisation électrospray conventionnelle, elle améliore la sensibilité pour les peptides de 3 à 5 fois.

Source nanoESI Agilent

Une source d'ionisation électrospray à nanodébit qui apporte aux utilisateurs expérimentés une flexibilité maximale. Ce modèle s'adapte facilement aux différentes longueurs et diamètres internes des colonnes afin d'obtenir des performances optimales sur une grande variété d'échantillons.



LC/MS Q-TOF Agilent série 6500

Étalons de LC/MS

Kits MRM

Développés par MRM Proteomics et disponibles auprès de Cambridge Isotope Laboratories, ces kits sont conçus pour évaluer les performances de l'instrument pour la protéomique plasmatique quantitative dans le plasma. Les kits contiennent des échantillons de plasma digérés par la trypsine et dopés avec des étalons de peptides marqués de concentration connue. Utilisez-les pour normaliser la méthode de préparation des échantillons ou pour évaluer les performances quotidiennes des instruments afin d'assurer des résultats de qualité constante sur plusieurs jours. Des kits PeptiQuant sont également disponibles pour quantifier de larges panels de protéines dans les échantillons de découverte et d'évaluation des biomarqueurs.

Kit d'étalons protéomiques complexes Agilent

Ce kit contient un extrait de protéines de Pfu (*Pyrococcus furiosus*). Cet étalon est utilisé dans les applications de protéomique basées sur la spectrométrie de masse afin de comparer ou d'évaluer les performances des méthodes et de faciliter les comparaisons des données entre les expériences, instruments ou laboratoires.

Pour en savoir plus :

www.agilent.com/chem/proteomics

Pour acheter en ligne :

www.agilent.com/chem/store

Pour contacter le centre d'assistance à la clientèle
d'Agilent de votre pays, rendez-vous sur :

www.agilent.com/chem/contactus

France

0810 446 446

customercare_france@agilent.com

États-Unis et Canada

agilent_inquiries@agilent.com

Europe

info_agilent@agilent.com

Asie et Pacifique

inquiry_lsca@agilent.com

Destiné à la recherche uniquement.
Ne pas utiliser à des fins de diagnostic.
Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Publié aux États-Unis, le 1^{er} octobre 2019
5991-5249FR

