

# Aurora® Rapid™ 8x75により、微量プロテオミクスにおいて高い感度とスループットを実現

Thomas Isele<sup>1</sup>, Manuel Matzinger<sup>1</sup>, Greta Briedytė<sup>2</sup>, Karl Mechtler<sup>1</sup>.  
 所属: <sup>1</sup>分子病理学研究所, ウィーン, <sup>2</sup>IonOpticks, オーストラリア.

## ピックアップ製品:



CaptiveSpray用Aurora® Rapid™ 8x75エミッター一体型充填カラム  
 (8 cm x 75 μm ID, 1.7 μm C18) 部品番号AUR4-8075C18A-CSI



EASY-SprayおよびNanospray Flex用Aurora® Rapid™ 8x75エミッター  
 一体型充填カラム (8 cm x 75 μm ID, 1.7 μm C18)  
 部品番号AUR4-8075C18A-XT

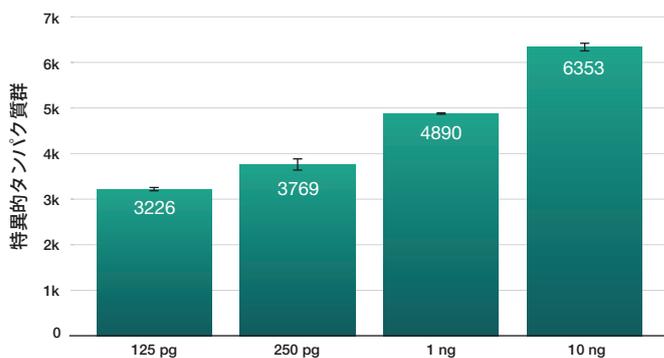
## はじめに

質量分析ベースのプロテオミクスの進歩により、少量サンプルから何千ものタンパク質を同定できるようになりました。しかし、微量サンプルから深いプロテオームカバーレッジと高い再現性を実現することは、いまだ重要な課題のままです。本書では、感度、スループット、頑健性を評価するために、様々なSPD (samples per day) 法を用いて、幅広いサンプル投入量におけるLC-MSワークフローのパフォーマンスを評価します。

## わずか125 pgのサンプルから3,200以上のタンパク質を同定。

右に示すのは、125 pgから10 ngまでのHeLa細胞消化物サンプルから同定された特異的タンパク質群の数です。最も少ない投入量 (125 pg) でも、3,200以上の特異的タンパク質群が一貫して同定され、10 ngでは、その数は6,300以上に増加しました。これにより、深いプロテオームカバーレッジを可能にするワークフローの卓越した感度が明らかになっています。

図1: サンプル負荷量別の特異的タンパク質群の同定数。HeLa細胞トリプシン消化物を、Bruker timsTOF Ultra 2質量分析計と連結したVanquish Neoシステムにて、80 SPD法を用いてAurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムで分離。生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。



## 複数のカラムにわたる高い再現性

図2と図3は、4つのカラムにわたる特異的タンパク質群および特異的ペプチド同定の再現性を示しています。特異的タンパク質群の同定は一貫性が非常に高く、すべてのカラムで平均3,934のタンパク質群が同定されました。ペプチドの同定も同様の傾向を示し、平均25,308の特異的ペプチドが同定され、頑健な性能が実証されました。



図2: カラム別の特異的タンパク質群の同定数。HeLa細胞トリプシン消化物 (250 pg) を、Bruker timsTOF Ultra 2質量分析計と連結したVanquish Neoシステムにて、80 SPD法を用いてAurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムで分離。カラムあたり3回のランを行った。生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。

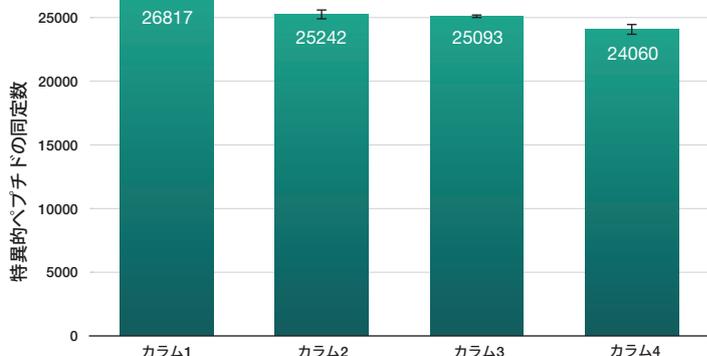


図3: カラム別の特異的ペプチドの同定数。HeLa細胞トリプシン消化物 (250 pg) を、Bruker timsTOF Ultra 2質量分析計と連結したVanquish Neoシステムにて、80 SPD法を用いてAurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムで分離。カラムあたり3回のランを行った。生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。

## タンパク質強度のCV

図4は、各サンプル投入量におけるタンパク質定量に関する変動係数(CV)を示すバイオリンプロットです。CV中央値は12.9%から15.8%で、サンプル投入量範囲全域で優れた定量精度を示しています。

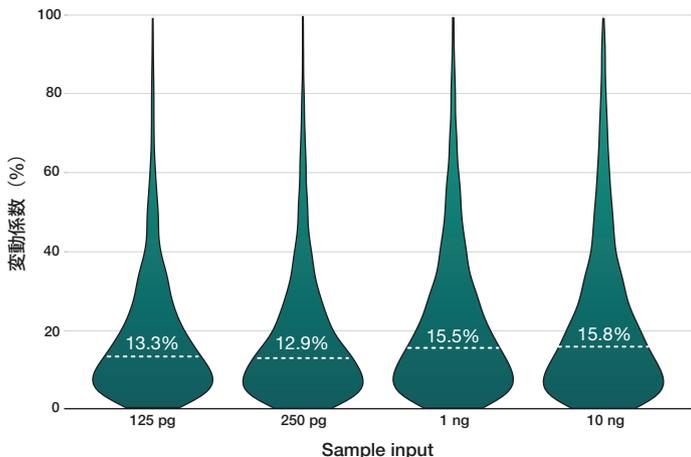


図4: サンプル負荷量別の低いCV値。80 SPD法を用いた、Aurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムでのHeLa細胞トリプシン消化物のQCサンプル注入から同定された全タンパク質強度の変動係数を示すバイオリンプロット。各サンプル投入量に対して、3回のランを行った。サンプルはVanquish NeoとBruker timsTOF Ultra 2質量分析計で分析。破線は、各カラムの中央値を示す。生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。

## 狭いピーク幅

このプロットは、各SPD法における半値全幅(FWHM)の平均値を表したもので、すべての条件において一貫して狭いピーク幅を示しています。この安定した性能は、信頼性の高いハイスループットプロテオミクスに不可欠な高い再現性を持つカラムを明確に示すものです。

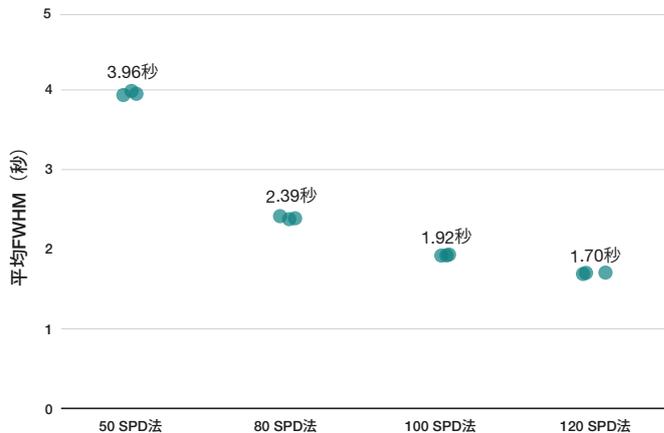


図5: 様々な手法におけるピーク幅:Aurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムでのHeLa細胞トリプシン消化物(250 pg)のQCサンプル注入から同定された全ペプチドの平均半値全幅(FWHM)。サンプルはVanquish NeoとBruker timsTOF Ultra 2質量分析計で分析。生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。

## 極めて安定した保持時間

図6は、複数のカラムと注入にわたる保持時間の安定性を示しています。保持時間は非常に安定しており、最小限のドリフトしか観察されませんでした。大規模で縦断的な研究には、このレベルのクロマトグラフィーの再現性が不可欠です。

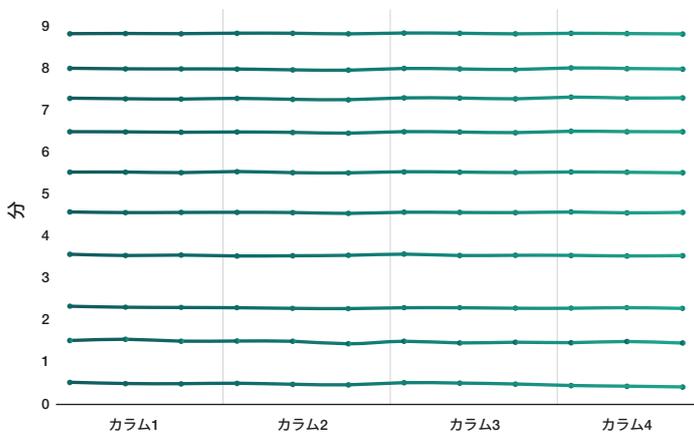


図6: 様々なカラムにわたって安定しているペプチドの保持時間。10種類のペプチドを選択し、80 SPD法を用いて、Aurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムで3回のHeLa細胞トリプシン消化物注入(250 pg)を行うことにより、すべてのカラムにおける各種ペプチドの保持時間を評価した。サンプルはVanquish NeoとBruker timsTOF Ultra 2質量分析計で分析。生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。

## 長期使用にわたるカラムの背圧安定性とタンパク質群の同定数

図7は、60 SPD法を用いた650回以上のQCランにわたる8分間の背圧を示したものです。その値は130 barから175 barへと漸増するのみで、特異的タンパク質群の同定数は一貫して高いままです。複雑なサンプルをQCランの間に分析した結果、カラムの頑健性とハイスループットプロテオミクスへの適合性が明らかになりました。

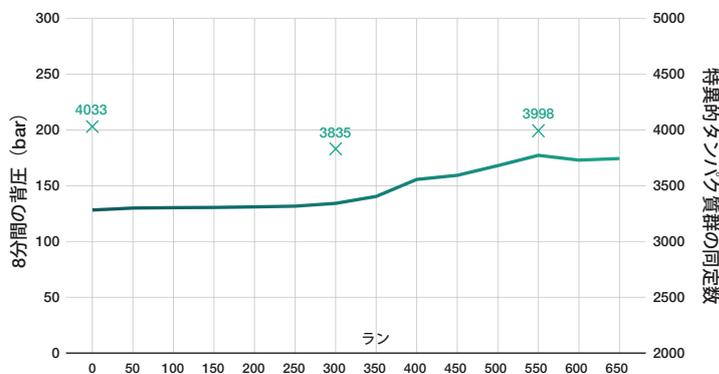


図7: 60 SPD法を用いた、Aurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムでのHeLa細胞トリプシン消化物のQCサンプル注入(250 pg)による、長期間のカラム使用にわたる背圧の安定性とタンパク質群の同定数。サンプルはVanquish NeoとBruker timsTOF Ultra 2質量分析計で分析。生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。

## メソッド

### LC-MS分析

HeLa細胞トリプシン消化物サンプルを投入量別に、様々なSPD (samples per day) 法を用いて、Aurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムで分離。クロマトグラフィー分離は、Bruker timsTOF Ultra 2質量分析計と連結したThermo Fisher Vanquish Neoシステムにて実施。

### データ処理

生データは「Match between runs」機能を無効にしたSpectronaut/バージョン19.8を用いて分析した。

## おわりに

以上の結果から、SPD法を変えて操作したとしても、Aurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムは微量プロテオミクスにおいて頑健で再現性のある性能を発揮することが明らかになりました。このカラムは、何百回ものランにわたって、安定した背圧、狭いピーク幅、タンパク質とペプチドの高い同定率を維持していました。つまり、Aurora Rapid 8 cm x 75 μmカラムが大規模でハイスループットなプロテオミクスアプリケーションに適していることが証明されたのです。

## 詳細情報

詳しいリソースおよび技術サポートについては、当社のヘルプセンターのWebページ ([helpcentre.ionopticks.com](http://helpcentre.ionopticks.com)) をご覧ください。その他のアプリケーションノートやAuroraシリーズカラムに関する最新の出版物、IonOpticksの全製品をご覧ください。なりたい方は、当社Webサイト ([www.ionopticks.com](http://www.ionopticks.com)) をご確認ください。