



プロテオミクス研究の多様な課題を解決

Spectrum Mill はより効率的かつ生産的なワークフローを提供します

抽出

- ・ MS/MS スペクトルの抽出とフィルタリング
- 定量のためのプリカーサイオンの決定
- プリカーサイオンのモノアイソトピック m/z 割り当ての改良

MS/MS 検索

- ・ 複数の検索から得られる結果の連結
- CID、ETD、HCD に最適化したスコア付け
- ppm ベースのプロダクトイオンの採用
- ・ 可能性のある修飾に対応

自動検証

- ペプチドスペクトルの整合の偽発見率 (FDR) を 使用した評価
- FDR に基づいたタンパク質レベルでの フィルタリング

品質指標

- クロマトグラフィー、サンプルハンドリング、 化学的ラベル化による効率問題のトラブル シューティング
- 最適化された MS/MS データ取り込みの 効果の測定

レポート

- PSM、特徴的なペプチド、タンパク質、 修飾サイトによる編成
- ラベルフリー、SILAC、iTRAQ、TMT を使用した 定量化
- ・サンプル全体の比較
- 結果の自動エクスポート

Spectrum Mill は、データベース検索に多段階アプローチを使用しているため、各段階で柔軟に対応することができます。 各段階にパラメータ設定とリンクするワークフローを作成することによって、自動化を実現しています。



「Spectrum Mill は、私が UCSF の大学院生のときに開発し、その後は Millennium Pharmaceuticals Inc. の科学者としてこのソフトウェアを発展させてきました。アジレントが 2003 年に初めて Spectrum Mill を商品化し、それ以来、我々は良好な共同開発関係を維持しています。新しい機器と私の研究の中で利用した手法で、Spectrum Mill のツールおよびアルゴリズムを今後も発展させていきます」

Karl Clauser 氏

PRINCIPAL RESEARCH SCIENTIST, BROAD INSTITUTE OF MIT AND HARVARD



アジレントの Spectrum Mill ソフトウェアは、プロテオミクス研究における多様な課題を解決できる汎用性を備えています。このソフトウェアは多くのプロテオミクス解析ユーティリティを備えており、プロテオミクス実験の計画と実行において生じる仮定や疑問の答えを見つけ出す強力なデータ解析ソリューションです。

Spectrum Mill ソフトウェアは、 以下の機能を提供します。

- ディスカバリプロテオミクス: タンパク質同 定と、統計解析およびパスウェイ解析への 同定結果のエクスポート
- タンパク質定量: ラベルフリー、SILAC、 iTRAQ、TMT 手法に対応
- ターゲットプロテオミクス: MRM メソッド設定サポート、ペプチド選別、000 または 0-T0Fシステム用エクスポートリスト作成などのユーティリティを含む
- 品質評価と検証: ペプチドとタンパク質の同定 (FDR を含む)
- タンパク質とペプチドの視覚化とサマリレポートの作成:複雑なデータを容易に探索

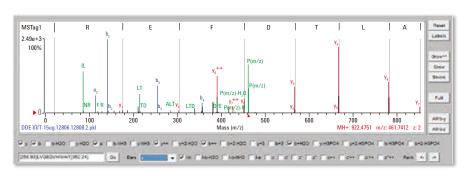
生産性の向上

データ処理がワークフローのボトルネックに なることは避けなければなりません。Spectrum Mill は、サーバのマルチコアマイクロプロセッ サの能力を最大限に活用できるように設計さ れており、短時間で確かな結果が得られます。 このソフトは、処理ステップごとにパラメータ セットをカスタマイズして保存できます。この ことによって、簡単な操作で一貫したデータ処 理が行えます。必要なパラメータセットを関連 付けて、自動バッチを実行するようにカスタム 仕様のワークフローを作成することができま す。また、ジョブキューを管理することで、サー バの性能を確実に最適化します。Spectrum Mill は、Thermo 社の質量分析計のデータもサポー トしています。つまり、ラボでの作業はシンプ ルになり、効率と生産性が向上します。

確かな科学で確かな結果を獲得

Karl Clauser 氏との共同開発により一層の改良が加えられてきたアジレントの Spectrum Mill ソフトウェアは、プロテオミクス分野の研究者に使用され、1,000 以上の科学論文で発表されてきました。世界中の多くの科学者から、Spectrum Mill はプロテオミクスのワークフローにおいて重要な部分を担うものであると認識されています。

Spectrum Mill は FDR を使用してペプチドのスペクトルの整合性を自動的に評価しており、タンパク質レベルでの FDR を使用したフィルタリングも適用できます。これにより、同定されるペプチドとタンパク質の数を信頼度のしきい値以上に制限することによって、偽陽性率の大幅な改善が可能です。つまり、誤同定を恐れずに、データを解析することができます。



アノテーションが付けられた MS/MS スペクトル

重要なタンパク質修飾の正確な特定

修飾タンパク質の検出および同定は、生物学的プロセスの理解を目的とする研究者にとって重要な作業です。一般に使用される検索エンジンでは、未修飾タンパク質も修飾タンパク質も検索できますが、Spectrum Millは、固有のタンパク質の修飾について、より詳細な情報を提供します。

Spectrum Mill の可逆的修飾の局在化機能は、複数の可能性がある場合、修飾をシーケンス内の特定の場所に割り当て、さらに、示唆された場所にある修飾の信頼性を示すインジケータを提供します。個々のスペクトルを調査しなくても修飾サイトを決定できるため、生産性が向上します。サンプル全体のリン酸化部位の違いを比較して表示できる、独自の強力な機能もあります。

さらに、Spectrum Mill では、割り当てられていない単一の質量ギャップも検索できます。この機能は正確な質量データを使用して、未知の修飾または予期しない修飾を自動的に同定しハイライトします。

	Score	Spectrum Intensity		STY	sty Stars	4464	Ambig sty Sites	Variable Sites	Sequence VML Sequence	Accession	Protein Name
4	4.79	2.8544004	0.000	ž	2		1	YS42y YS48y	(E) VHLBOYDGEYBYLGTTLR (Q) VHLBOY (D. 0) DETY(D. 80) SY (D. 80) DETTLR	01003	IQ and AAA domain-containing protein 1
9	13.48	2.42e+606	39	1	. 3		- 1	Y849y	(F) LODFORESHYRESDITFYLVER (F) LODFORESHIPLOSTOTFY (1.0) LYSE	Q61136	Serine/threonine-protein lanuse PRP4 homolog
9	1031	3.62×+006	99	5	-	1		1849y	(F) LCDFGSASHVADHDITFyLVSR.(F) LCDFGSASHVADHDITFY(1.0) LVSR	Q61136	Serine/theorine protein kinase PRP4 homolog
3	14.55	6.75e+005	36	4	- 1	1	- 1	1949y	(E) LCDFOSASHVADHDITPyLVER (F) LCDFOSASHVADHDITPY (1.0) LVER	061136	Servachivecrine-protein kinasa PEP4 homolog
á	5.17	9.114+003	0.000	1	,	0		Y127y	(E) YECTSGETROLINGER(E) T(0.50) SQT(0.50) BODDSGLERAERSER	0002945	Dedicator of cytokinesis protein 15
2	15.40	3.52e+035	99	5		1	- 6	1259y	(W)TVCSTyLQSR(I) TVCSTI(1-0)LQSR	QSERH?	Homeodomain-interacting protein kinase 3
2	13.66	4.17++605	59			1	- 6	Y259y	(E) TYCHTYLGER(Y) TYCHTY11-0:108	Q9ERH7	Noneodomain-interacting protein kinase 3
3	9.46	1,224+006	99	2	. 1	,		¥279y	CENSORBANANCES (E)	GZNLS1	Glycogen synthase kinase-3 atyna
2	9.53	1.014+005	99		,			Y288y	(K-MOLINGEVLLSLDMFy6x(I) MSCINNEXVLLSLDMFY(L.5)9K	P29688	Urcase
2	8.75	3.4344005	- 59	1		1		1099y	(K) AADOYYKPQIK(G) AADOX (1.0) YKPQIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 58
2	13.16	5 42++105	99		1	1		1090y	(E) BADGYFERGIK(G) BADGE(1-2) YKEGIK	P42212	Signal transducer and activator of transcription 58
2	8.52	2.70×+005	99	1	,	1		Y099y	(K) AADRYYKROIK (D) BADOT (1.0) YKROIK	P42232	Signal transducer and activator of transcription 58
2	7.29	5.37++105	99	4	1	1		Y182y	(R) HTCODICTR/VATR (N) HTCODISTOY (1,0) VATR	P47911	Milogen-extivated protein kinase 14

Spectrum Mill の可逆的修飾の局在化では、修飾の局在化に関する明確な情報が得られます。この例ではリン酸化部位は採点されて (VML スコア) 信頼性を示し (VML スコア > 1.1) そして不確定なサイトが MS/MS スペクトルの情報を基に示されます。シーケンスマップは、観察されたペプチドイオンの切断場所を示し、スコアリングの追加情報を提供します。

「細胞シグナル伝達やバイオマーカー探索の研究の一部として、私のラボではここ 5 年間 Spectrum Mill を使用しています。Spectrum Mill は使いやすく、分かりやすい表示オプションとカスタマイズ可能なサマリファイルを備えています。複数のユーザアクセスを快適にし、私たちのニーズに最適な設定を確認するために、Spectrum Mill を社内のサーバで動かしています。アジレントが Spectrum Mill を継続して進化させ、私たちの研究を快適にする新しい機能が提供されることを期待しています」

MICHELLE HILL 博士

HEAD OF THE CANCER PROTEOMICS GROUP, UNIVERSITY OF OUEENSLAND DIAMANTINA INSTITUTE, UNIVERSITY OF OUEENSLAND, BRISBANE, AUSTRALIA

より有意性の高い結果の取得

Spectrum Mill は他の分析ツールと簡単に統合でき、プロテオミクス研究の検出データをさらに探ることができます。Spectrum Mill の検索結果をプロテオームソフトウェアの Scaffold スイートにアップロードして、他の検索エンジンの結果と比較することができます。

検索結果からタンパク質のアバンダンスを Agilent Mass Profiler Professional (MPP) にインポートし、統計的に分析および視覚化することができます。Spectrum Mill はプリカーサイオンを自動的に抽出して同定済みのペプチドに割り当てるため、この革新的なワークフローを実現できます。レポート作成中に、あるタンパク質に属するペプチドのクロマトエリアを合算することによって、そのタンパク質のアバンダンスが計算されます。タンパク質のグループ化および関係するタンパク質レベルの定量化に より、複数のタンパク質問で共有されるペプチドの包含または除外が可能です。サンブルグループの違いは、即座に MPP で視覚化され、Pathway Architect を使用してパスウェイにマッピングされます。実験に関連したパスウェイを見つけられるため、生物学的解釈が容易になります。

Spectrum Mill は、MS 専用のタンパク質プロファイリングワークフローのために MS/MS ペプチド同定から正確な質量およびリテンションタイム

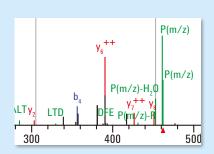
のリストを生成します。Agilent MassHunter Profinder ソフトウェアでは、ペプチドターゲットリストを使用して、複数のサンプルファイル全体からペプチドを見つけ出すことができます。Profinder には自動処理、データレビュー、マニュアルキュレーション用の拡張ツールがあります。

Spectrum Mill には、さまざまな手法による結果をエクスポートする機能が備えられているため、他のソフトウェアプログラムを使用して適切な方法で実験をレビューし、解析できます。

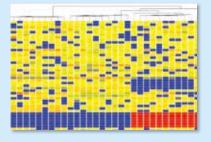
発見

統計解析と視覚化

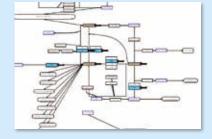
パスウェイ解析



- ・ データ依存型データの採取
- Spectrum Mill のデータ検索の実行
- 各種サンプルグループに含まれる タンパク質アバンダンスの比較



- Spectrum Mill の結果のインポート
- ・ 差次的に調節されるタンパク質の 決定
- ・ 相関解析の実行



- パスウェイへのタンパク質のマッピング
- 生物学的効果を照らすための パスウェイ情報の使用
- その後のターゲット分析のための パスウェイタンパク質のエクスポート

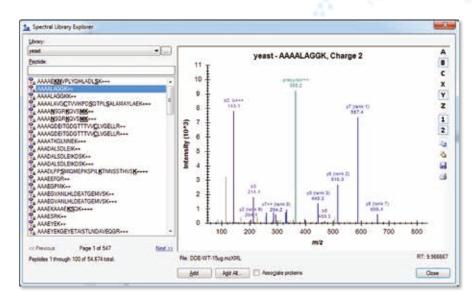
Spectrum Mill の検索結果を使用し、結果を Mass Profiler Professional および Pathway Architect にエクスポートすることによって、より短時間で生物学的プロセスを理解することができます。処理グループ間のデータに依存する結果には、影響を受けたパスウェイに各タンパク質は含まれませんが、差次的に調節されるパスウェイが検出され、次の分析でターゲットとされます。

ターゲットプロテオミクスによる分析の推進

目的のタンパク質の同定が終わると、次のステップは特定のペプチドのターゲット分析です。同定済みのペプチドのスペクトルを Spectrum Mill からエクスポートして、シアトルのワシントン大学 MacCoss グループの Skyline ソフトウェアで使用することができます。

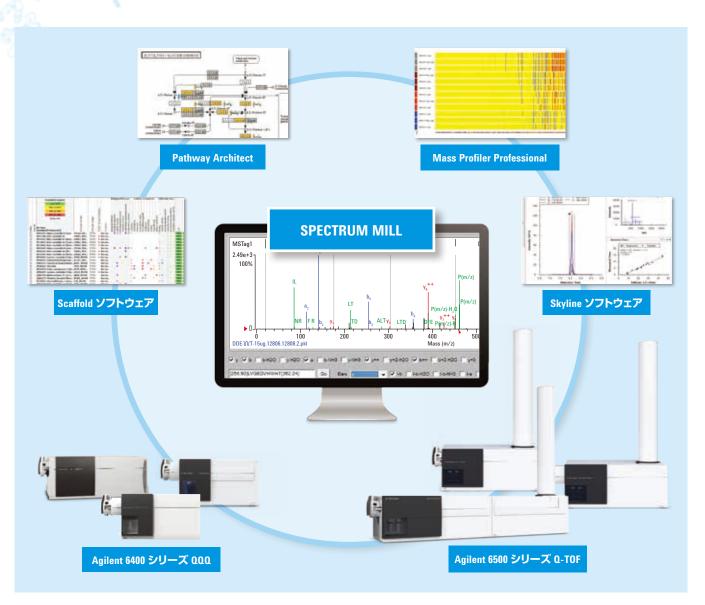
ターゲット定量分析には、最大数百種類 のタンパク質をサポートできるトリプル 四重極質量分析計が最適です。Spectrum Mill の結果をペプチドライブラリとして Skyline で使用し、MassHunter MRM メソッド を作成して Agilent トリプル四重極 LC/MS システムで使用することができます。一 方、複数のタンパク質をモニタリングす る場合、ターゲット MS/MS プロテオミク ス分析には Q-TOF 質量分析計が最適で す。ターゲット MS/MS プロテオミクスは、 ペプチド MS/MS スペクトルをデータ独立 型モードで収集します。Spectrum Mill のペ プチド MS/MS ライブラリは、ライブラリ に収集されたスペクトルと整合すること によって、目的のタンパク質からペプチド を同定するために使用可能です。

Spectrum Mill はターゲット分析のためのユーティリティも備えています。たとえば、ペプチド選別ユーティリティを使用すると、タンパク質の理論的分解を実行した後、ターゲットと思われるペプチドを自動的に選択します。一方、MRM メソッド設定サポートは、データ依存型取り込み実験中に探索的モードで生成された実験データを基に MRM トランジションリストを構築してエクスポートします。トランジションリストはエクスポートして アジレントまたは AB サイエックスのトリプル四重極で使用することができます。



Spectrum Mill データベースの検索結果と整合したペプチドススペクトルは、カスタムライブラリとして簡単にエクスポートし、Skyline スペクトルライブラリエクスプローラ経由で Skyline ベースのワークフローで使用できます。

プロテオミクスの研究の軸となる、SPECTRUM MILL



Spectrum Mill は、確かな科学に基づき、何年もの開発実績に支えられ、数百の科学論文で使われてきました。Spectrum Mill は、タンパク質のデータベース検索以上のものを提供します。品質評価、PTM の局在化、タンパク質の定量化、視覚化、レポート作成の機能も備えて

います。Spectrum Mill の結果は、アジレントの ソフトウェア (Mass Profiler Professional、Pathway Architect、MassHunter Profinder) およびサードパー ティのソフトウェア (Skyline および Scaffold) で 使用できます。そのコネクティビティにより、 以前の結果を新しい実験で使用することも可

能です。Spectrum Mill は、プロテオミクスのデータを生物学の理解に変換するワークフローの中核ソフトウェアです。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カストマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

研究目的にのみ使用できます。本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は 予告なしに変更されることがあります。アジレントは、本文書に誤りが発見 された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害 について一切免責とさせていただきます。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2015 Published in Japan, February 4, 2015 5991-5250JAJP

