



TIMS-QTOF MS

timsTOF HT

Expanding the capabilities of
high-throughput, 4D-Proteomics™

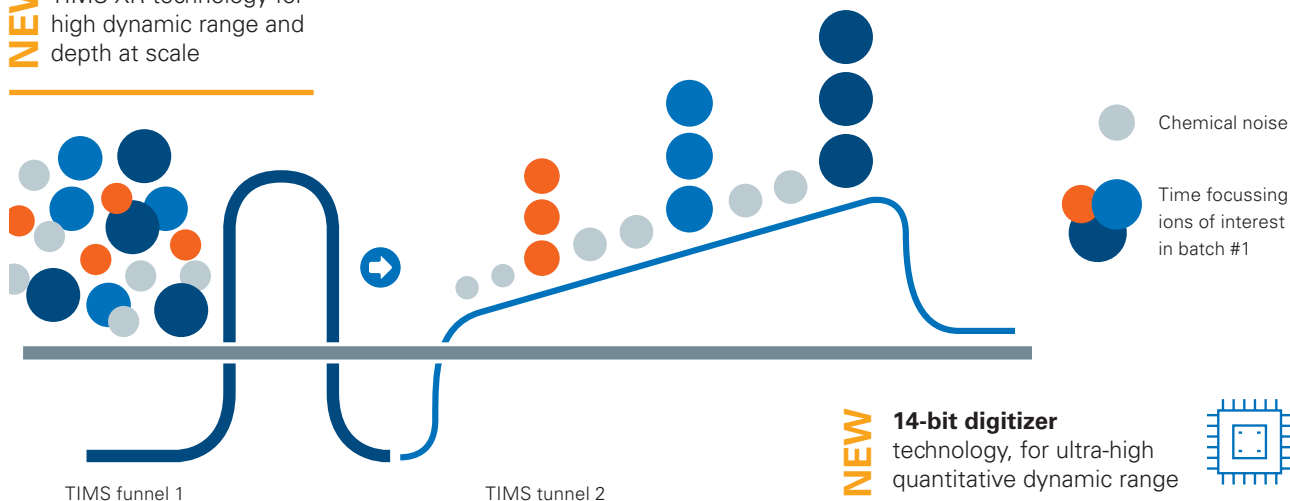
Innovation with Integrity

TIMSの利点

Expanding the capabilities of high-throughput, 4D-Proteomics™

第4世代大容量TIMS-XRアナライザーおよびアドバンスドデジタイザーテクノロジー(ADT)を搭載したtimsTOF HT質量分析計をご紹介します。timsTOF HTは、ハイスループットなプロテオミクス実験において、比類のない分析深度および定量化に向けた高いダイナミックレンジを提供します。timsTOF HTはCCSに完全対応しており、PASEF、dia-PASEF®、prm-PASEF®を含むすべてのPASEF®取り込みモードをサポートし、4D-Proteomics™の柔軟性を実現しています。プロテオミクスの深度をスケールアップすることができます！

NEW TIMS-XR technology for high dynamic range and depth at scale



デュアルTIMSおよびCCSに対応した分析

トラップド・イオンモビリティ・スペクトロメトリー(TIMS)は、LC-MSIに気相分離の次元を追加することによりサンプルの複雑さを解決します。TIMSにより、質量電荷比および衝突断面積に基づくモビリティによってイオンを集積・濃縮します(時間フォーカス効果)。これにより、信号およびノイズをより忠実に分離できるようになり、高速化および高感度化を実現しています(TIMSのデューティーサイクル100 Hz以上)。第4世代デュアルTIMS-XRTIMSは、TIMS funnel 1にイオンを蓄積し、TIMSトンネル2のイオンを順次放出することにより、ほぼ100%のデューティーサイクルを実現しています(>150 Hz)。このパラレル・アキュミュレーション・シリアル・フラグメンテーション(PASEF®)により、高速の衝突断面積(CCS)分析が可能になりました。

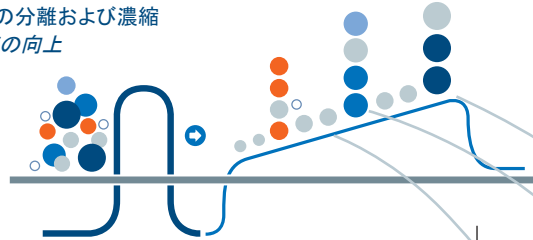
dia-PASEFによる同定の信頼性向上

PASEFのスピードおよびTIMS由来の衝突断面積(CCS)の比類なき特異性でデータ非依存型の分析を強化



1 TIMSの分離および濃縮

- 感度の向上

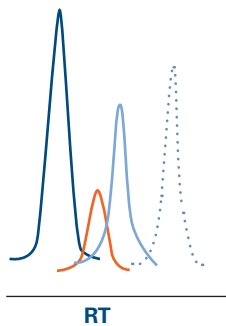
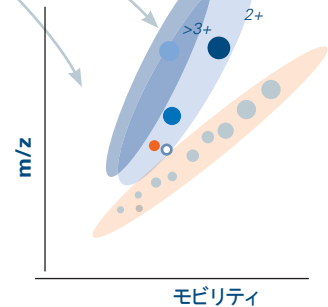


2 rt, m/zおよびモビリティによる分離

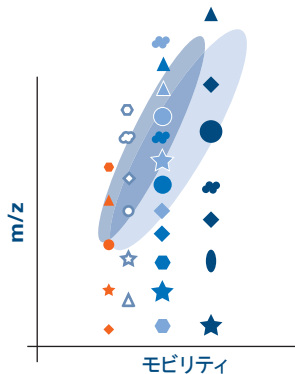
選択性の向上 サンプルの複雑さを明らかにするシグナルクリーンアップ

3 CCSコード化された測定対象物の増加

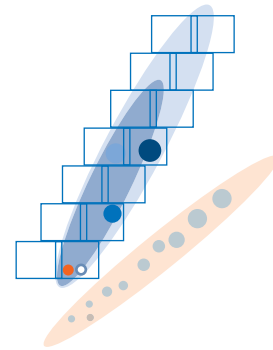
- 同定の信頼性
- 定量分析精度の向上
- MOMA同定および定量分析



RT



モビリティ



6 精度 - 選択性 - 感度 堅牢性 - 信頼性 - スピード

5 MS:MSベース、CCS対応

- 定量精度
- 究極の選択性
- 信頼性の高い結果

4 2次元dia-PASEFウィンドウ

- イオン使用の改善: 高感度化
- サイクルタイムの短縮: ハイスルーブット
- 1価イオンの除去: スペクトル品質

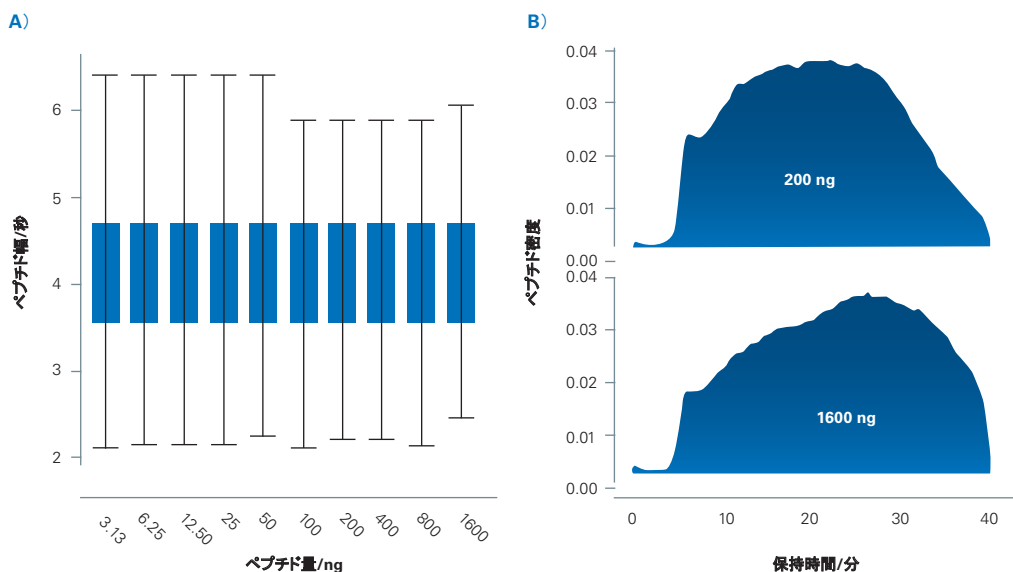
- ケミカルノイズ
- イオン1(高CCS)
- イオン2(中間型CCS)
- イオン3(中間型CCS)
- 同重体イオン4(MOMA)
- 同重体イオン5(MOMA)

データ非依存型取り込みdia-PASEFは、PASEFの原理を応用し、DIAの利点とPASEF固有のイオン効率を組み合わせることにより、従来のDIAアプローチよりも感度および選択性の両方が改善しています。液体クロマトグラフィー質量分析(LC-TIMS-MS)/MS dia-PASEFの実行全体にわたって、m/z、イオンモビリティ(CCS)、保持時間および強度を含む完璧なデータキューボイドが作成されます。TIMS分離により選択性が高まり、一価のプリカーサーをフラグメンテーションから排除し、ノイズからシグナルを濃縮してサンプルがクリーンアップされます。デュアルTIMSファンネルから得られる分子量およびCCSコード化された情報の相関性を利用し、dia-PASEFでは信頼性の高い同定が可能になります。

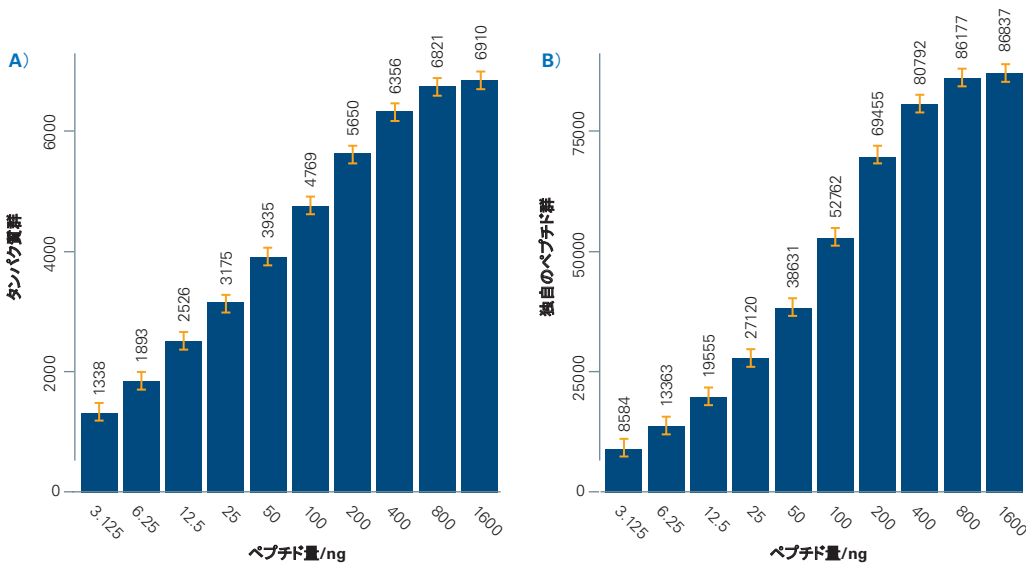
nano LC-MS/MSに適した より高いサンプルキャパシティ

高サンプルロードに対応するペプチド検出能力を最大限に発揮

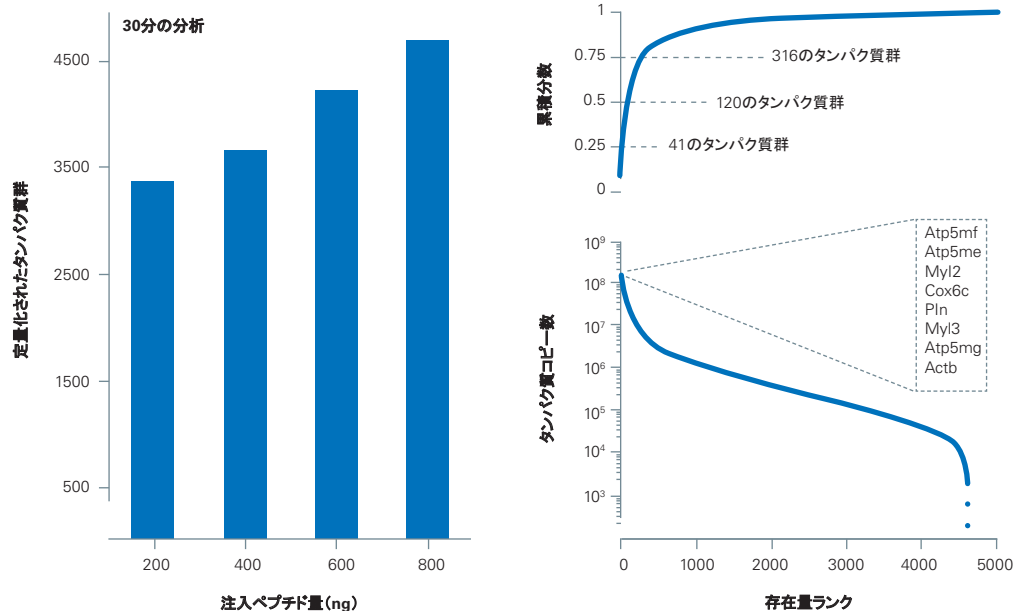
nanoEluteシリーズは、堅牢で信頼性の高いグラジエント分離を実現し、狭いピーク幅および優れたピークキャパシティを実現します。PepSep Twenty-fiveシリーズカラム(内径150 μm、粒子径1.5 μm)を使用し、K562トリプシン消化物(Promega)のサンプルロード量1600 ngまで平均ピーク幅5秒未満を達成しました。合計41分のランタイムは、効率的なペプチド分離に十分であり、高いペプチドロード量においてもグラジエント全体で均一なペプチド溶出が実現されました。



優れた分離は、質量分析による検出を成功させるための前提条件です。イオン蓄積容量の向上により、timsTOF HTは溶出ペプチド検出のためのダイナミックレンジを拡大する手段を提供します。これにより、1600 ngのK562トリプシン消化物に対して、41分間のグラジエントで6900以上のタンパク質グループおよび86,000以上のユニークなペプチドが、データ依存型取り込みのPASEF (DDA)によって同定されました。



dia-PASEFによる迅速な組織 プロテオーム解析の実現



迅速な心臓組織プロテオミクス。新たな timsTOF HTは、有名なdia-PASEFテクノロジーを搭載し、わずか30分のLC-MSグラジエントタイムで組織中のプロテオームを堅牢かつ正確に定量化することが可能です。異なる量のマウス心臓プロテオーム消化物を、ショートグラジエント液体クロマトグラフィーおよびdia-PASEFを用いて3反復で分析しました。

最も高いサンプル量では、相対的存在量が5桁以上に及ぶ合計4700のタンパク質群を同定しました。ローデータはDIA-NN 1.8およびUniProt fastaのライブラリフリーモードで処理し、タンパク質のコピー数は「プロテオミックスルーラー」アプローチで推定しました。



Professor Dr. Florian Meier-Rosar

Independent Research Group Functional Proteomics, Jena University Hospital, Jena, Germany

「組織解析は臨床プロテオミクスにおいて重要な分野ですが、組織切片や生検は極めて不均一な細胞集団で構成されているため、非常に困難な作業です。timsTOF HTのdia-PASEF®取得モードは、スループットや感度を犠牲にすることなく、心臓組織のような困難なサンプルでも、広いダイナミックレンジでタンパク質を定量化します。」

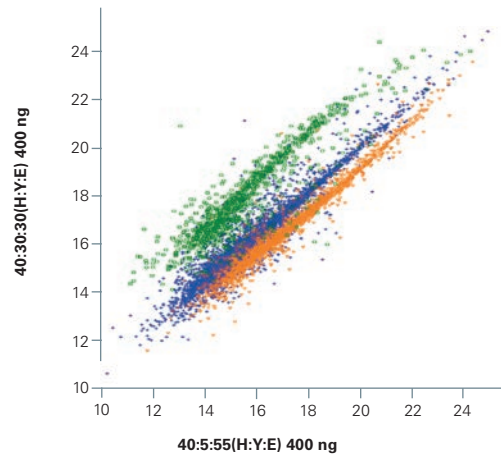


最も正確な定量化を達成

LC-MSで測定した10,000以上のタンパク質の同定および定量

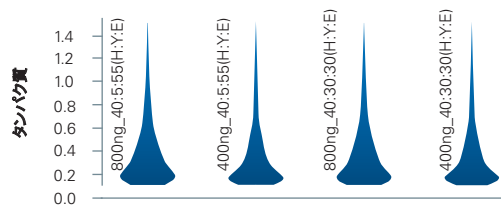
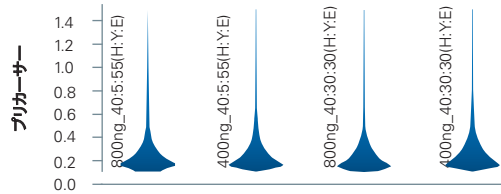
究極の定量性能を実現する14ビットデジタイザーを搭載した新たなtimsTOF HTは、3つの異なる生物種(ヒト、酵母、大腸菌)のタンパク質分解消化物を用いて、2種類の混合比で定量精度および直線性が検証されました。dia-PASEFとMS2ベースの定量結果は、5桁以上のダイナミックレンジで正確な比率決定を示しています。

HeLa、酵母および大腸菌のタンパク質分解消化物を2種類の比率で混合し、それぞれの実験混合物をtimsTOF HT質量分析計に適用し、60分のLC-MSグラジエントでdia-PASEF分析を行いました。**A)** PaSERプラットフォームでTIMS DIA-NNを用いたデータ解析では、サンプル混合から得られる期待値に近いタンパク質強度分布が得られ、存在量範囲にわたって非常に正確な定量ができることが明らかになりました。**B)** ペプチドプリカーサー強度およびタンパク質強度のCV分析では、それぞれ12%および5%と低いCV値が示されました。

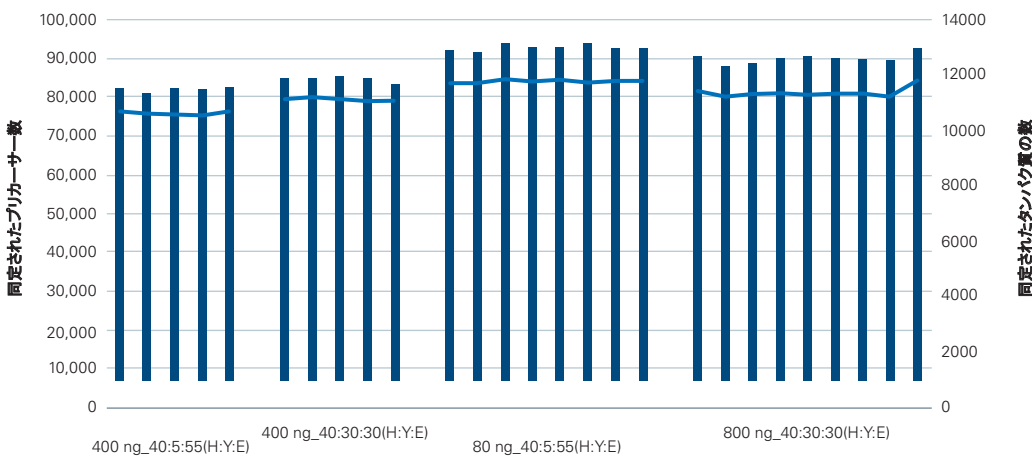


ヒト、酵母、大腸菌 (H:Y:E) を40:30:30または40:5:55の2つの割合で混合し、400 ngまたは800 ngをtimsTOF HTにロードしました。

- 酵母
- + ヒト
- ▼ 大腸菌



TIMS DIA-NNで処理されたデータは、予想されるタンパク質強度分布と、タンパク質およびプリカーサーレベルでの低いCV値を示します。



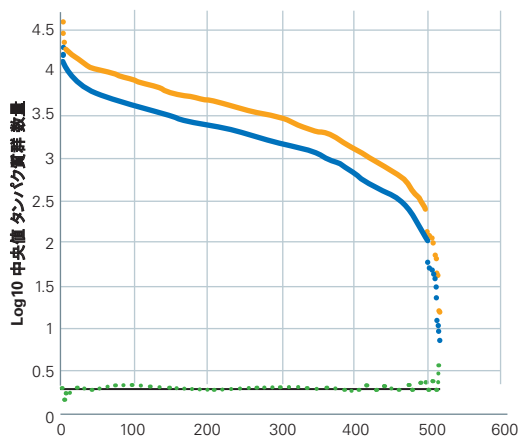
タンパク質およびプリカーサーは複数の反復で確実に同定され、装置の堅牢性が示されています。

dia-PASEFを用いた ターゲット血漿プロテオミクス

500種類以上の血漿タンパク質の標的定量を、高い信頼度で簡単に設定

非脱血ヒト血漿バックグラウンドにスパイクされた異なる量のSIS PQ500ペプチドに対するランク付けされたタンパク質群の表示。全ダイナミックレンジで、実測比率(緑の点)は理論比率(黒の線)と優れた一致が示されました。

- 平均 0.1IE
- 平均 0.2IE
- 実測比率
- 理論比率

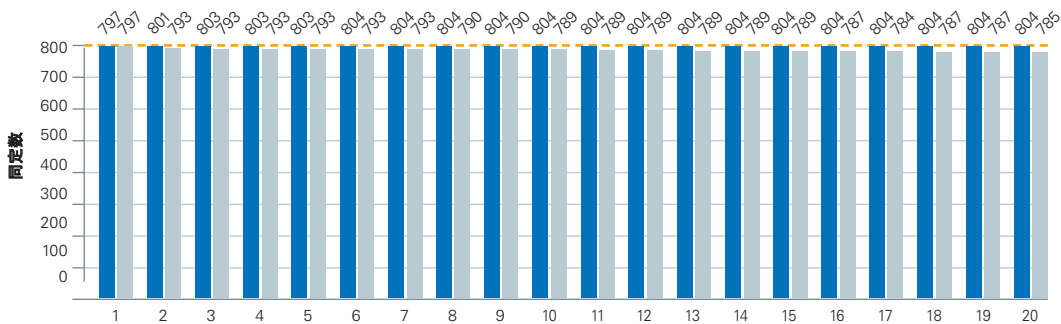


新たなリファレンスキットの開発により、血漿サンプル中の500以上のタンパク質の絶対定量が可能になりました。SRMやMRMのような古典的な標的アプローチで知られている感度および特異性を損なわない、使いやすい方法が強く求められています。新しいtimsTOF HTは、有名なdia-PASEFテクノロジーを搭載し、Biognosys社のPQ500TMキットから804種類のペプチドおよび578種類のタンパク質をすべて30分のグラジエントで堅牢かつ正確に定量することが可能です。非枯渇性ヒト血漿バックグラウンドにスパイクされた2つの異なる濃度のPQ500からなるサンプルを分析したところ、完全なダイナミックレンジで正確な定量が可能であることがわかりました。測定された比率(1:1.98(±0.15))は、理論比率(1:2)と極めて高い相関性があります。

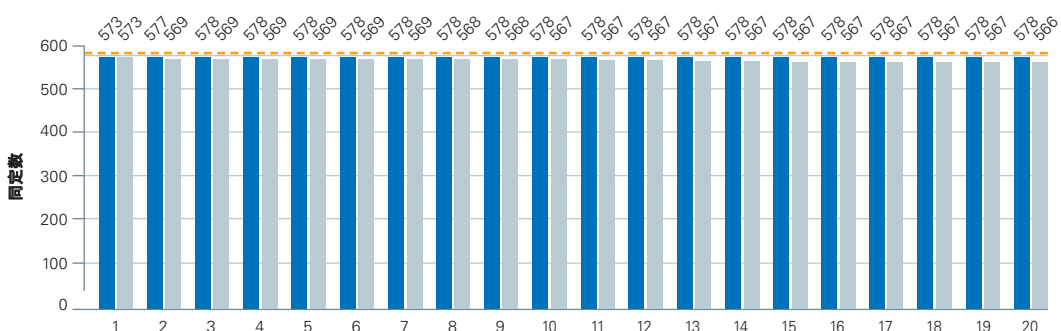
ストリップシーケンスプロフィール 100%リカバリー

20種類の非脱血ヒト血漿サンプル中の全SIS PQ500ペプチド804個および578個のタンパク質を堅牢に同定。データ処理は、Spectronautソフトウェア(Biognosys)を用いて行われました。

- 累積スパースプロフィール
- 累積フルプロフィール
- ライブラリ/実験サイズ



タンパク質群プロフィール 100%リカバリー

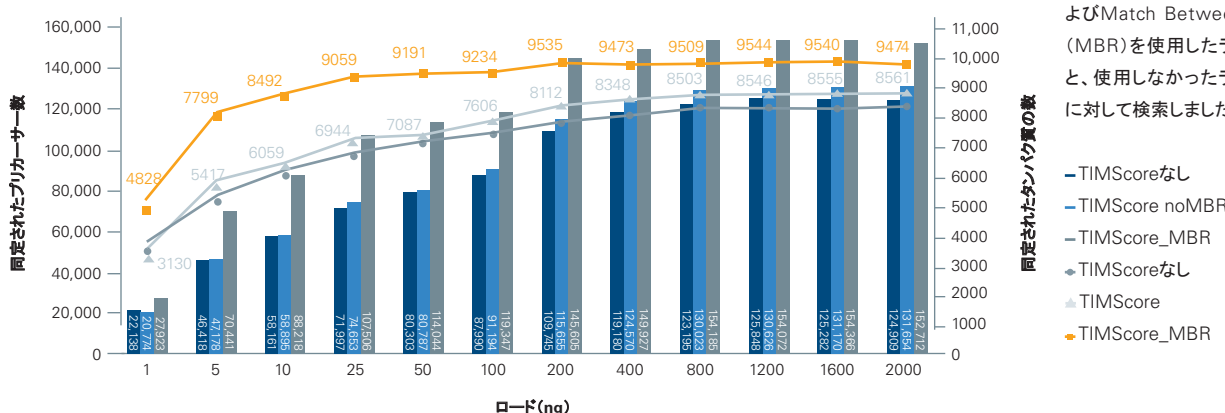


dia-PASEF、TIMS DIA-NNおよびPaSERによる、これまでにない細胞株の深い理解

timsTOF HTおよびPaSERでサンプルを最大限に活用

プロテオーム深度をさらに促進するために、グラジエントを拡張することで、さらに同定率が向上します。ヒト細胞株K562 (Promega) のトリプシン消化物を、nanoEluteシステムを用いて、Auroraカラム (25 cm、内径75 μm、IonOpticks) 上で250 nL/分、60分での分離時間で分析しました。timsTOF HTは、100msのTIMS分離を行い、dia-PASEFモードで動作しました。PaSERを用い、50万以上のペプチド配列を含むK562およびMOLT-4細胞株から作成したTIMScoreライブラリを用いて、TIMS DIA-NNでデータ処理を行いました。

1 ngから2000 ngのK562サンプルをtimsTOF HTにロードしてdia-PASEFモードで測定し、TIMS-DIA NNでTIMScoreおよびMatch Between Runs (MBR)を使用したライブラリと、使用しなかったライブラリに対して検索しました。



Professor Dr. Markus Ralser

Director of the Institute of Biochemistry, Group Leader Biochemistry and Systembiology of Metabolism, Charité, Berlin

「DIA-NNをCCSIに焦点を当てたdia-PASEF®データ用の合理的な処理ツールに調整するためのブルカーとの継続的なコラボレーションは、実りあるものでした。これは、非常に短いグラジエントで何千ものタンパク質の同定と定量を単純化し、加速するものです。ブルカーとの緊密な協力関係の中で、TIMS DIA-NNというDIA-NNのベンダー統合版がPaSERバイオインフォマティクス・プラットフォームの一部となったことを嬉しく思います。」



本製品は研究用です。臨床診断目的には使用できません。

ブルカー・ジャパン株式会社 ダルトニクス事業部

横浜営業所

〒221-0022

神奈川県横浜市神奈川区守屋町3-9

TEL: 045-440-0471

FAX: 045-453-1827

www.bruker.com

大阪営業所

〒532-0004

大阪府大阪市淀川区西宮原1-8-29

テラサキ第2ビル2F

TEL: 06-6396-8211

FAX: 06-6396-1118

JP_LS 01_07-2022

オンライン情報

bruker.com/timstof

