

DIAプロテオーム解析

CERIのDIA（データ非依存性解析）法を用いたプロテオーム解析は、5年間に渡って同一の装置、測定条件でDDA（データ依存性解析）法で蓄積した500万を超えるスペクトル及びクロマトグラムの内部データベースを参照することで、信頼性の高いDIA法による定量比較解析が可能です。

これまでのDIAプロテオーム解析

長所：ピーク強度に依存せず（データ非依存的）にMS1で検出された全てのピークのMS/MSデータがサイクルタイム（2秒）毎に取得可能

短所：MS/MSデータが極めて複雑になるので、正確な解析を行うためには、事前にプールサンプルでのデータベースを構築する必要あり。データベースを作成しない場合には同定数や精度が低下

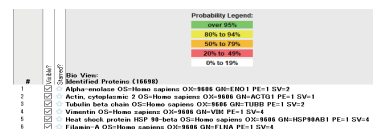


CERIのDIAプロテオーム解析

分画を駆使し同一装置、条件を用いてDDA法で取得した500万を超える内部スペクトル及びクロマトグラムデータベースを参照します。サンプル量が少なくプールサンプルを用いたデータベースを構築出来ない場合に、定量比較解析の精度を向上させるための有力なツールになります。

DDA法で作成したデータベース例：

HeLa Protein Digest Standard (Thermo社) 100 µg を強カチオン交換（SCX）+ High pH RPLCによる分画で作成した32画分の各々の画分を6時間グラジエントで計192時間測定



転写因子384種を含む16,698種のタンパク質を同定

解析例：

E. coli Digest Standard 100 ng (Waters社) にHeLa Protein Digest Standardを1、5、10 ngスパイクしたサンプルを調製しDIA法（サイクルタイム：2s、Q1Window：20Da、Overlapping：0.5Da）で測定を実施。DDA法で作成した内部データベースを参照して解析。

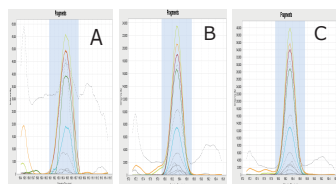


図1 DIA法で取得したMS/MSスペクトルの解析例

ヒトアネキシンA1 由来のペプチド断片 "SEDFGVNEDLADSDAR"
 A: HeLa Protein Digest Standard 1 ng添加
 B: HeLa Protein Digest Standard 5 ng添加
 C: HeLa Protein Digest Standard 10 ng添加

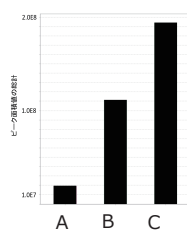


図2 アネキシンA1 由来のペプチド断片のフラグメントイオン面積値の総計

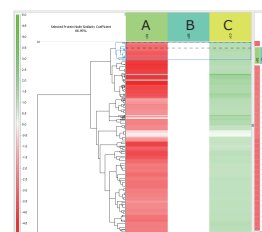


図3 HeLa由来のタンパク質のサンプルBを基準にした量比のクラスターリング結果

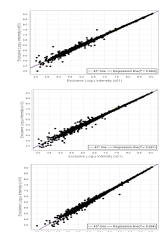


図4 E-Coli由来のタンパク質の各測定間のScatter Plot

結果： HeLa由来のタンパク質の例として、アネキシンA1のDIA法による解析結果を図1及び2に示した。アネキシンA1をはじめHeLa由来として検出された373種のタンパク質の殆どで理論値と一致する量比が得られることが確認された（図3）。また、検出された3613種のE. coli由来タンパク質について、定量値の相関係数は各測定間で全て0.99以上であった（図4）。

結論： プールサンプルを用いたデータベースを作成しない場合でも、DDA法で作成したクロマトグラムデータベースを参照することで正確なDIA解析が可能であることが確認された。

使用装置： QExactive Plus (Thermo Scientific社)

使用カラム： L-column2 micro (CERI)