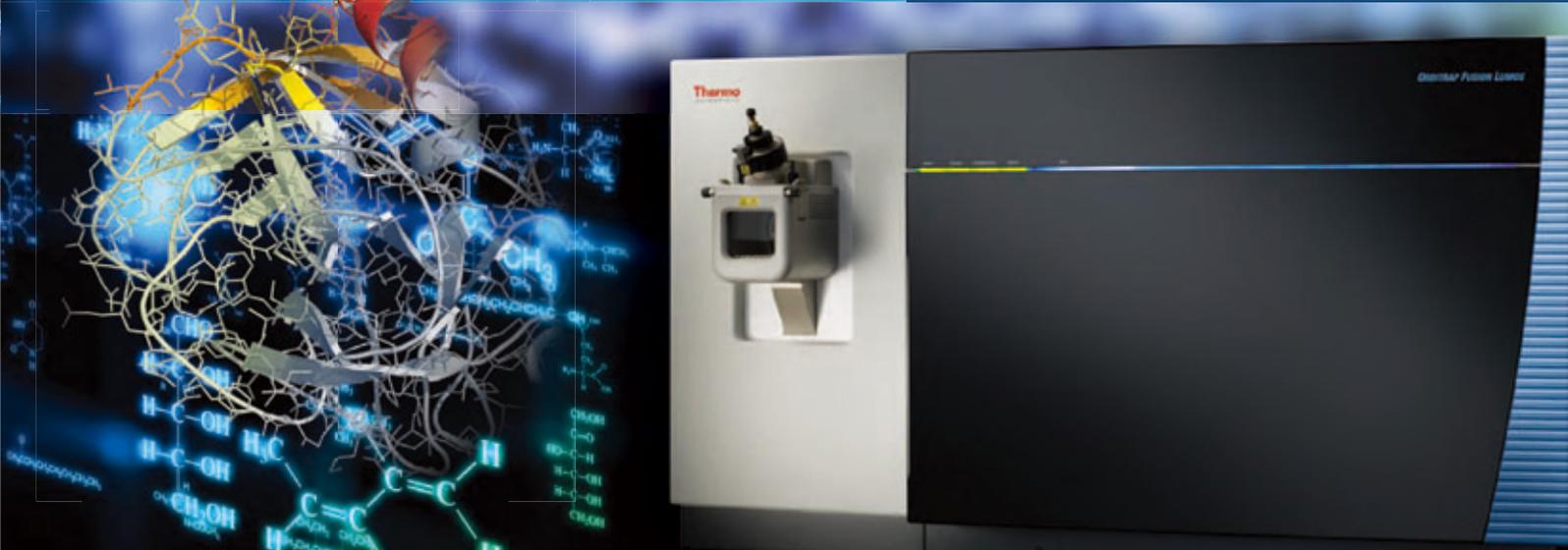




Thermo Scientific Orbitrap Fusion Lumos  
Tribrid Mass Spectrometer



# 定量生物学のためのブレイクスルー 革新的な高感度

挑戦的な分析を乗り越えるために設計された

# 最先端技術を搭載した 質量分析計



非常に困難な分析結果から得られる優れた結果は、生物学の新たな知見の獲得に直結します。  
ここに示す質量分析計の革新は、研究者が抱える困難な分析を可能とすでしょう。

Thermo Scientific™ Orbitrap Fusion™ Lumos™は、

- 複雑なマトリックス中の atto molレベルのペプチド定量
- インタクトタンパク質の修飾部位（位置）の異なるアイソフォーム同定
- アイソバリックの代謝物の分離・検出
- クロスリンカーを使用したタンパク質構造解析

などの挑戦的な分析を乗り越えるため、そして生物学研究の制限を打破するために設計されました。

革新的なトライブリッド構造を持った新モデル Orbitrap Fusion Lumos質量分析計は、生命システムの解明に前例のない発展をもたらします。最新技術と改善された既存技術を組み合わせることで、これまでにない高いレベルの感度・選択性・多様性を達成しています。

## トリプル四重極質量 分析計と同等の感度

- > 優れたイオン源
- > 最先端の四重極テクノロジー
- > 高感度の検出器

## Orbitrapの 選択性

- > 超高分解能
- > 高精度
- > より低い検出限界

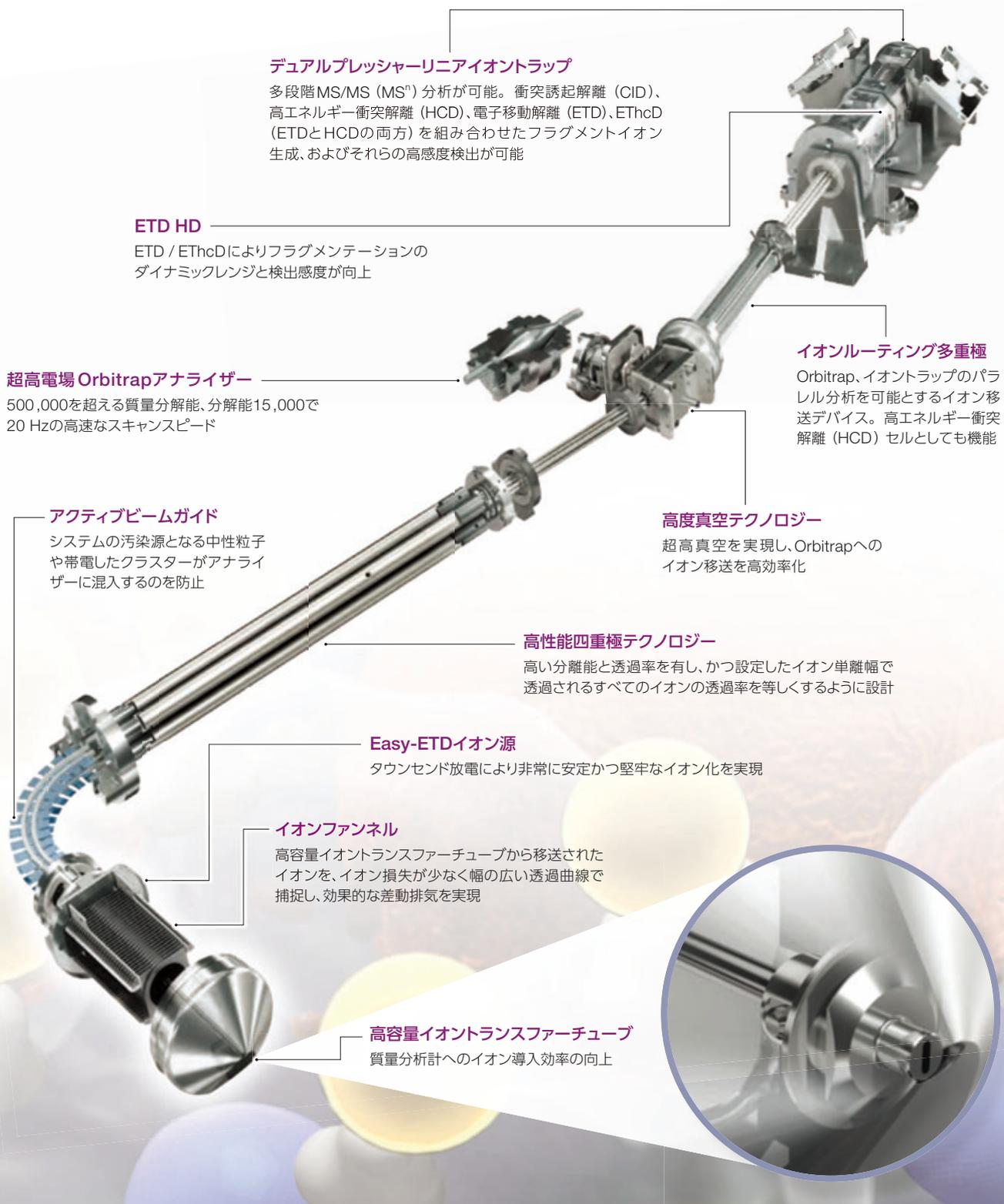
## トライブリッドの 多様性

- > 四つの開裂技法
- > 弊社独自のトライブリッド構造
- > あらゆる実験に対応できる柔軟性



# 革新的なトライブリッド構造

Orbitrap Fusion Lumostトライブリッド質量分析計は、新しい大気圧インターフェイス、改良された四重極テクノロジー、超高電場 Orbitrapアナライザー、そしてデュアルプレッシャーリニアイオントラップを搭載した業界をリードする高性能質量分析計です。独自のトライブリッド構造により、Orbitrapとリニアイオントラップのどちらでもイオンの検出が可能で、かつ並列実行による高速なデータ取得によって目的に応じた柔軟性の高い解析を実現します。



## デュアルプレッシャーリニアイオントラップ

多段階MS/MS ( $MS^n$ ) 分析が可能。衝突誘起解離 (CID)、高エネルギー衝突解離 (HCD)、電子移動解離 (ETD)、EThcD (ETDとHCDの両方) を組み合わせたフラグメントイオン生成、およびそれらの高感度検出が可能

## ETD HD

ETD / EThcDによりフラグメンテーションのダイナミックレンジと検出感度が向上

## 超高電場 Orbitrapアナライザー

500,000を超える質量分解能、分解能15,000で20 Hzの高速なスキャンスピード

## イオンルーティング多重極

Orbitrap、イオントラップの平行分析を可能とするイオン移送デバイス。高エネルギー衝突解離 (HCD) セルとしても機能

## アクティブビームガイド

システムの汚染源となる中性粒子や帯電したクラスターがアナライザーに混入するのを防止

## 高度真空テクノロジー

超高真空を実現し、Orbitrapへのイオン移送を高効率化

## 高性能四重極テクノロジー

高い分離能と透過率を有し、かつ設定したイオン単離幅で透過されるすべてのイオンの透過率を等しくするように設計

## Easy-ETDイオン源

タウンセンド放電により非常に安定かつ堅牢なイオン化を実現

## イオンファンネル

高容量イオンランスファーチューブから移送されたイオンを、イオン損失が少なく幅の広い透過曲線で捕捉し、効果的な差動排気を実現

## 高容量イオンランスファーチューブ

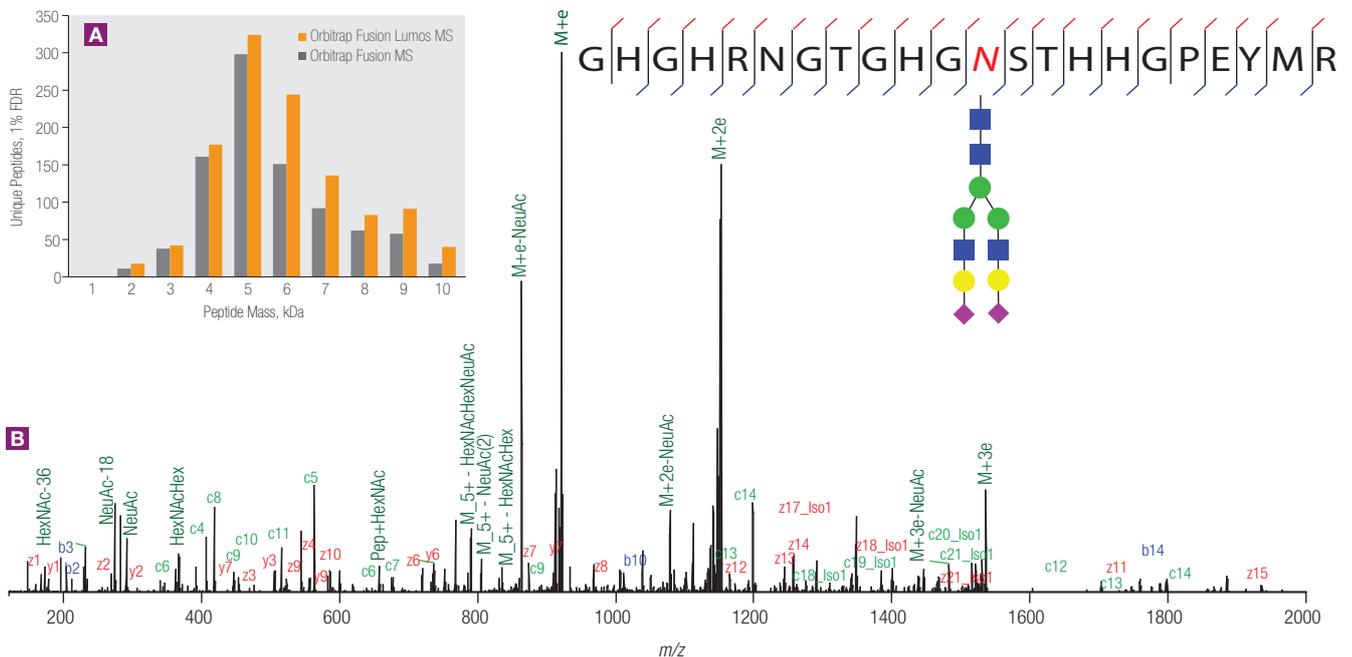
質量分析計へのイオン導入効率の向上

# ペプチド定量と同定における革新

## PTM解析：高分解能とETD HDのメリット

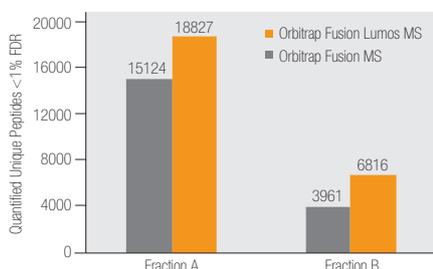
翻訳後修飾 (PTM) は、細胞機能や病態に対し重要な役割を果たすため、しばしば中核的な研究対象となります。Orbitrap Fusion Lumos 質量分析計は、糖鎖修飾のように解析が困難なPTMの同定をサポートする機能を搭載しています。

ETDではペプチド骨格のフラグメンテーションが得られ、ペプチド配列とPTM部位が特定できます。ETHcDでは、相補的な糖鎖構造のフラグメンテーションが得られます。これらの開裂手法を組み合わせると、複数の糖鎖修飾部位を含むネイティブなN-結合型糖ペプチドの構造を総合的に解読できます。低いシグナル強度のプロダクトイオンが検出できるため、MS/MSスペクトルの質が向上し、配列カバレッジが高まります。Thermo Scientific Proteome Discoverer™を用いて、自動同定できます (p8)。



### Orbitrap FusionとOrbitrap Fusion Lumos質量分析計によるHeLa細胞からSAX分画した糖ペプチドの分析比較

- A** Orbitrap Fusion Lumosのイオン源とイオン導入系の改良により、感度が上昇したため、高い質量を持つ糖ペプチドの同定数が向上
- B** Orbitrap Fusion Lumosで取得したETHcDスペクトルの例：より広範囲の糖ペプチドのフラグメンテーション情報が得られる



### DMSOあるいはBortezomibで処理したHTC-116細胞から精製・濃縮したユビキチン化ペプチドの同定数

精製・濃縮したペプチドを、Thermo Scientific TMT10plex™ 試薬でラベル化し、Thermo Scientific Pierce™ High pH Reversed Phase Peptide Fraction Kitにより分画後、Orbitrap Fusion/Orbitrap Fusion Lumosで分析。ユビキチン化ペプチド含有量の少ないFraction Bにおいて、二つのプラットフォーム間で大きな差が見られた。

## ペプチドの比較定量： TMT10plex試薬による正確なタンパク質量

アイソバリック mass tagを用いたマルチプレックス解析は、さまざまな実験条件におけるタンパク質含量や翻訳後修飾量の比較に広く活用されています。近年、TMT® MS3 SPSワークフローという、共溶出するタグ化された夾雑ペプチドの影響を削減し、正確な定量を可能とする強力なメソッドが発表され、比較定量解析がますます洗練されてきています。Orbitrap Fusion Lumosの革新的な高感度化は、この比較定量にも利益をもたらします。

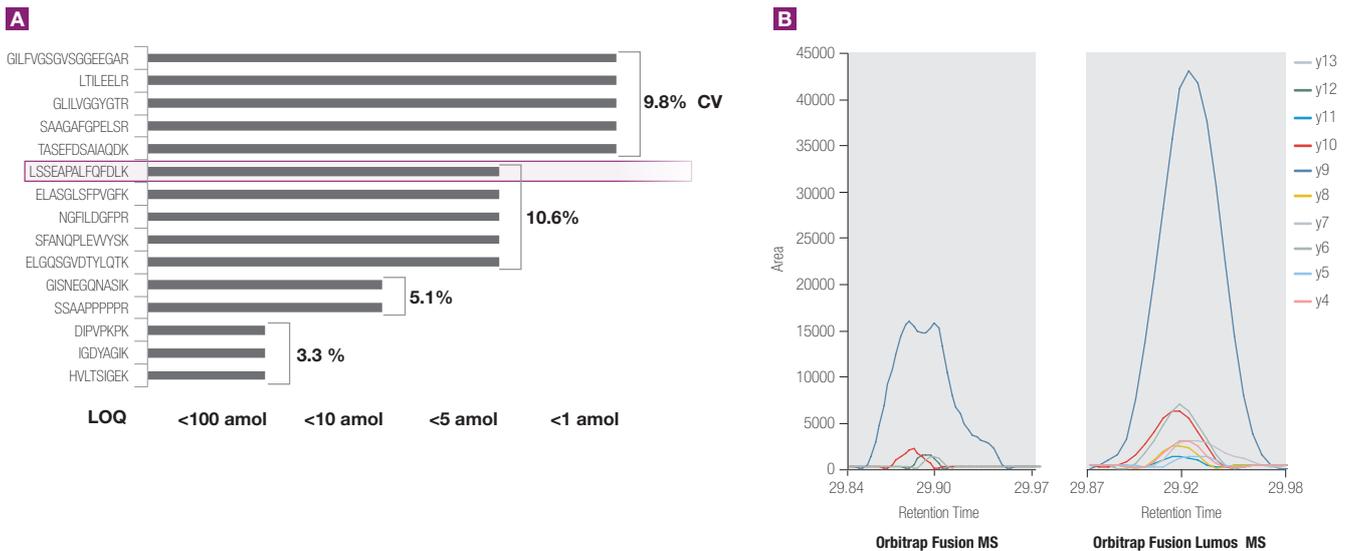
また、イオン源および四重極が改良され、感度が高くなったことに伴い、より微量のペプチドを、より多く定量できるようになりました。

※ TMT10plex 試薬、タンパク質前処理試薬についてはP8をご覧ください。

出典 Data courtesy C. Rose and S. Gygi, Harvard Medical School, Cambridge, MA.

## ペプチドの高感度定量：信頼性のある atto molレベルのペプチド定量

複雑なマトリックス中の数百の標的ペプチドを定量するために設計されたパラレル反応モニタリング (PRM) (Peterson *et al.* 2012, Mol Cell Proteomics)は、プリカーサーイオンを単離・開裂し、その結果生じたプロダクトイオンをOrbitrap質量分析計で検出する手法です。Orbitrap Fusion Lumosのイオン源のイオン導入効率と、四重極のイオン透過率の高効率化によって、マトリックス中の atto molレベルのペプチドをルーチン定量できます。



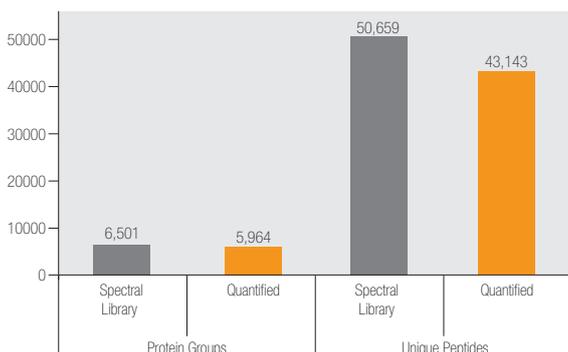
### HeLa細胞のタンパク質消化物に15のPRTCペプチドを各200 ngスパイクし、LC-MS (30 min) で分析

- A** Orbitrap Fusion Lumosは15のPRTCペプチドをすべて正確に定量でき、ペプチドによっては1 atto molレベルまで定量可能。定量には、**B**のLSSEAPALFQFDLKのマスクロマトグラムに示すように複数のフラグメントイオンを利用。
- B** Orbitrap FusionとOrbitrap Fusion Lumosのペプチド定量の比較。Orbitrap Fusion LumosはS/Nが良好で、より多くのフラグメントイオンを検出。

## Data Independent Acquisition (DIA)：ペプチドの大規模な標的定量

DIAは生体試料中のタンパク質を網羅的かつ正確に定量する強力なスクリーニング技術です。Orbitrap質量分析計を用いたDIAは、設定した  $m/z$  windowごとに段階的にイオンを単離・開裂し、サンプル中のすべての構成成分のMSとMS/MSデータを超高分解能で取得する手法です。この手法により、精度の良いペプチド定量に加えて、未同定成分や分析後に新たに注目した標的を測定後でも振り返ることができる“回顧的”な解析が可能です。

圧倒的なスキャンスピード、超高分解能による選択性、イオン源と四重極の改良による高い感度を持つOrbitrap Fusion Lumosは、DIAのパフォーマンスを最大限に生かすための機能を兼ね備えており、低濃度の標的イオンを再現性高く測定することができます。



### Orbitrap Fusion Lumosを用いたDIA測定により同定された protein groupとユニークペプチド

独立した6回のData Dependent Acquisition (DDA)解析により、カバレッジの高いスペクトルライブラリを作成。そのライブラリを用いてDIA解析 (質量分解能30,000、質量範囲  $m/z$  400 ~ 1,000、単離幅15  $m/z$ )を行った結果、500 mgのHeLa細胞の酵素消化物に対してDIA分析を行ったところ、DDAにより作成したライブラリに対し、92%の protein group、85%のユニークペプチドを検出し、平均6.9%CVで定量できた。

# インタクトタンパク質解析の新標準

## インタクトタンパク質の解析：タンパク質アイソフォームのトップダウン解析

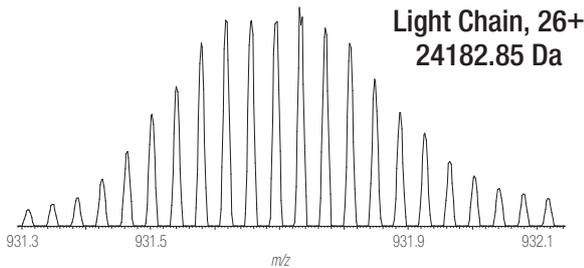
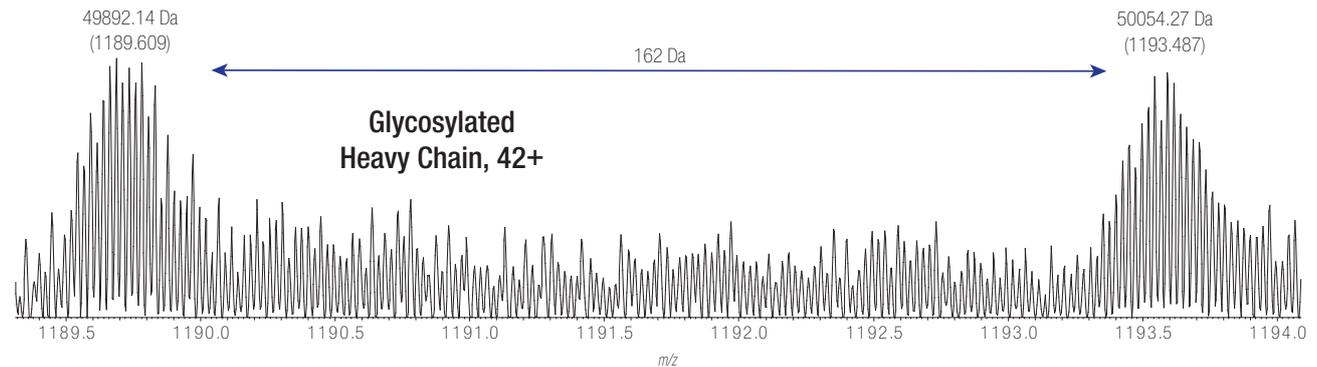
トップダウン質量分析は、一般的にインタクトタンパク質とその修飾体を同定するために行われます。Orbitrap Fusion Lumosには、インタクトタンパク質解析で最善のパフォーマンスを発揮するための技術が搭載されています。

真空システムの改良により、インタクトタンパク質のような高分子が効率よく検出器へ導入されます。さらに四重極テクノロジーの革新により高分子のプリカーサーイオンを高効率で単離・開裂し、その結果生じたフラグメントイオンを高分解能で検出できます。

これらの技術を組み合わせることで、タンパク質アイソフォームやそれらの翻訳後修飾を同定するための質の高いデータが得られます。

### ETD HD によるPTMの解析例

$m/z$  854.2のプリカーサーイオンを単離し、ETD HDにより開裂。広いダイナミックレンジにより、広範囲な配列カバレッジを示し、結果として、トリメチル化サイトが異なる二つの histone H3 の位置異性体を同定 (K9 vs K27)。



CID, HCD, ETD HD  
63% bond coverage



CID, HCD, ETD HD  
91% bond coverage



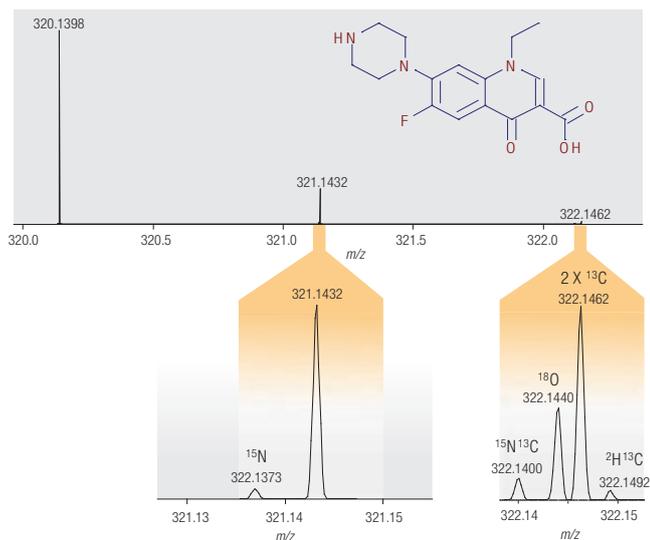
### インタクトモノクローナル抗体の網羅的同定

重鎖と軽鎖を同位体イオンが識別できるレベルで分析することで、精度の高いインタクトモノクローナル抗体の解析可能。ETD HD、CID、HCDの開裂手法を組み合わせることで、アミノ酸配列カバレッジは軽鎖の91%、重鎖の63%と広範囲に評価できる。

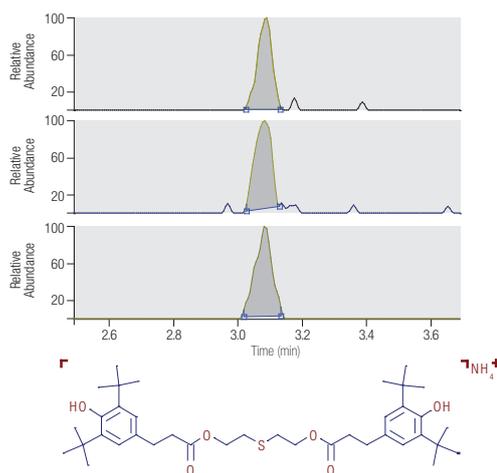
# 低分子化合物研究のためのブレイクスルー

## 低分子化合物の同定・定量: アイソバリックな夾雑イオンとの分離

質量の近接した夾雑イオンを分離できる質量分解能は、低分子の同定・定量に非常に効果的です。Orbitrapアナライザーは超高分解能なため、標的化合物を選択的に検出できます。さらに理論通りの同位体分布が観測され、正確に分子式を決定できます。元素特有の同位体が分離検出されるため、推測の同位体パターンマッチを行う必要が無く、不明瞭な分子式候補を削減できます。一連の解析は Thermo Scientific Compound Discover™ により自動化できます (p8)。



Norfloxacinの高分解能MS<sup>2</sup>スペクトル。超高分解能により、窒素や酸素特有の同位体イオンを識別でき、かつ理論通りの強度比で同位体パターンを観測できるため、信頼性の高い分子式の同定が可能。



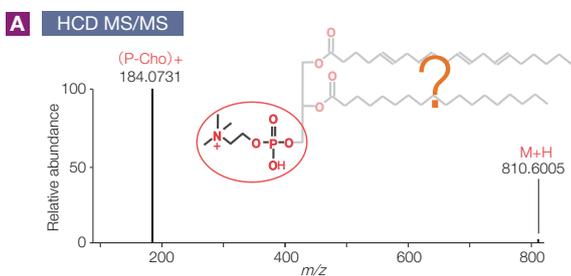
	Orbitrap Fusion	Orbitrap Fusion Lumos
LOQ	500 fg	100 fg

## m/z 660.439のIrganox 1035 (M+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)の抽出イオンクロマトグラム

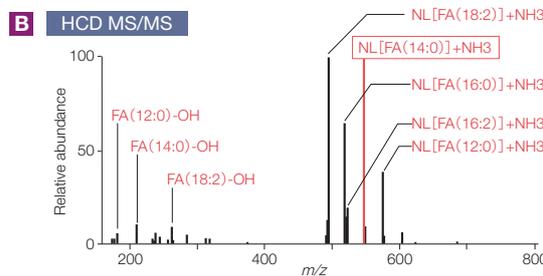
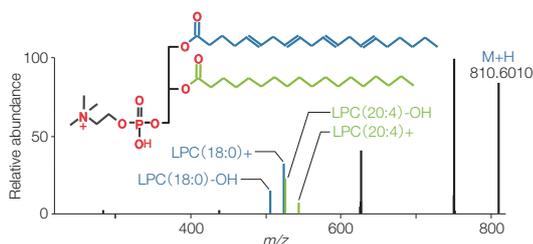
Irganox 1035はプラスチック容器からの溶出物としてよく知られており、低レベルまでの定量が求められる。Orbitrap Fusion Lumos質量分析計を用いたSIM測定では、食品マトリックス中から100 fgの低濃度のIrganoxを検出でき、5桁のダイナミックレンジ (<10%CV、Orbitrap Fusionの5倍の感度)が得られる。

## 脂質同定: 網羅的な脂質プロファイリング

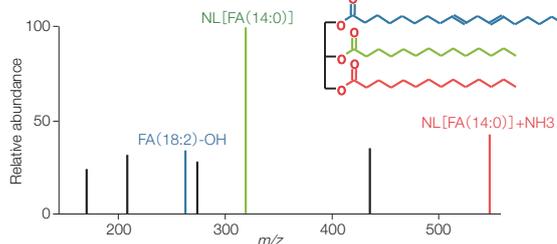
HCD MS/MSは脂質分子種の同定に広く使われています。たとえばホスファチジルコリン (PC) を完全に同定するには、ポジティブとネガティブの両極性のHCD MS/MSデータが必要です。CIDとHCDを組み合わせて段階MS<sup>n</sup>データを取得すれば、ポジティブモードのデータのみで、PCの分子種や、共溶出トリアシルグリセロール (TG) の異性体を同定できるフラグメント情報が得られます (下図)。その結果、よりハイスループットかつ高感度で、信頼性高い脂質解析が可能となります。得られたデータは Thermo Scientific LipidSearch™ により自動同定が可能です (p8)。



### Product Ion-triggered CID MS<sup>2</sup>



### Fatty Acid NL-triggered CID MS<sup>3</sup>



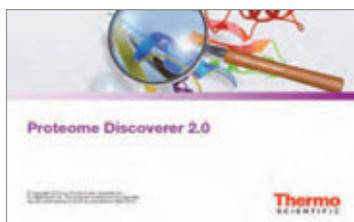
## 網羅的な脂質プロファイリング

A HCD MS<sup>2</sup>トリガーCID-MS<sup>3</sup>によるPC脂質分子種の同定

B HCD MS<sup>2</sup>トリガーCID-MS<sup>3</sup>によるTGの同定

## 関連製品

## ソフトウェア



### タンパク質解析プラットフォーム Proteome Discoverer

Proteome Discovererは新時代のタンパク質解析プラットフォームです。解析のワークフローを柔軟にカスタマイズできるだけでなく、タンパク質データベース検索エンジンとしてSEQUEST、ETD解析用のZ-coreを標準搭載しており、オプションでMascotもサポートしています。またTMTなどのラベル化試薬による定量解析にも対応しています。

多様な解析を支援するために、その他のソフトウェアが持つ解析機能をProteome DiscovererのプラットフォームにBuild-inできる“node”機能が搭載されています。



### 糖ペプチド同定エンジン Byonic™ node



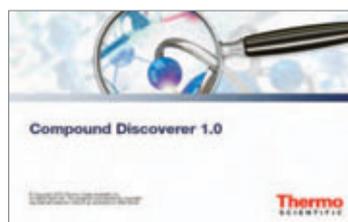
### トップダウン プロテオミクス解析ソフトウェア ProSightPD™ node

### 脂質解析プラットフォーム LipidSearch



分子種が150万を超える脂質の仮想MS/MSデータベースを搭載し、脂質の同定から定量までを支援する脂質解析の統合プラットフォーム

### 低分子解析プラットフォーム Compound Discoverer



低分子化合物の代謝解析からメタボロミクスまで、ピークピッキング、関連イオンのグルーピング、精密質量およびMS/MSスペクトルのデータベース検索をカバーする低分子解析の統合プラットフォーム

## タンパク質前処理試薬



### TMTラベル化試薬

製品名	包装	製品コード
TMTzero Label Reagent, 5 rxn	Kit	90067
TMTduplex Mass Tagging Kit, 5 rxn Kit	Kit	90063
TMTsixplex Mass Tagging Kit, 5 rxn Kit	Kit	90064
TMT10plex Isobaric Mass Tag Labeling Kit, 3 rxn Kit	Kit	90113



### Peptide Retention Time Calibration mixture

製品名	容量	製品コード
Pierce Peptide Retention Time Calibration Mixture, 0.5 pmol/ul	50 µL	88320
Pierce Peptide Retention Time Calibration Mixture, 5 pmol/ul	200 µL	88321

©2015 Thermo Fisher Scientific K.K. 無断複写・転載を禁じます。  
ここに記載されている会社名、製品名は各社の商標、登録商標です。  
ここに記載されている内容は、予告なく変更することがあります。  
ここに記載されている製品は研究用機器であり、医療機器ではありません。

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社  
分析機器に関するお問い合わせはこちら

LCMS054\_A1511CE

TEL 0120-753-670 FAX 0120-753-671  
〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町3-9

E-mail: Analyze.jp@thermofisher.com  
www.thermoscientific.jp

**Thermo**  
SCIENTIFIC  
A Thermo Fisher Scientific Brand