



Quantification iTRAQ™ : Etude de l'influence des paramètres de traitement des spectres MS/MS pour une analyse optimale

Marjorie LEDUC

Plate-forme Protéomique Paris 5 (3P5)

Université Paris Descartes

<http://3p5.medecine.univ-paris5.fr/>

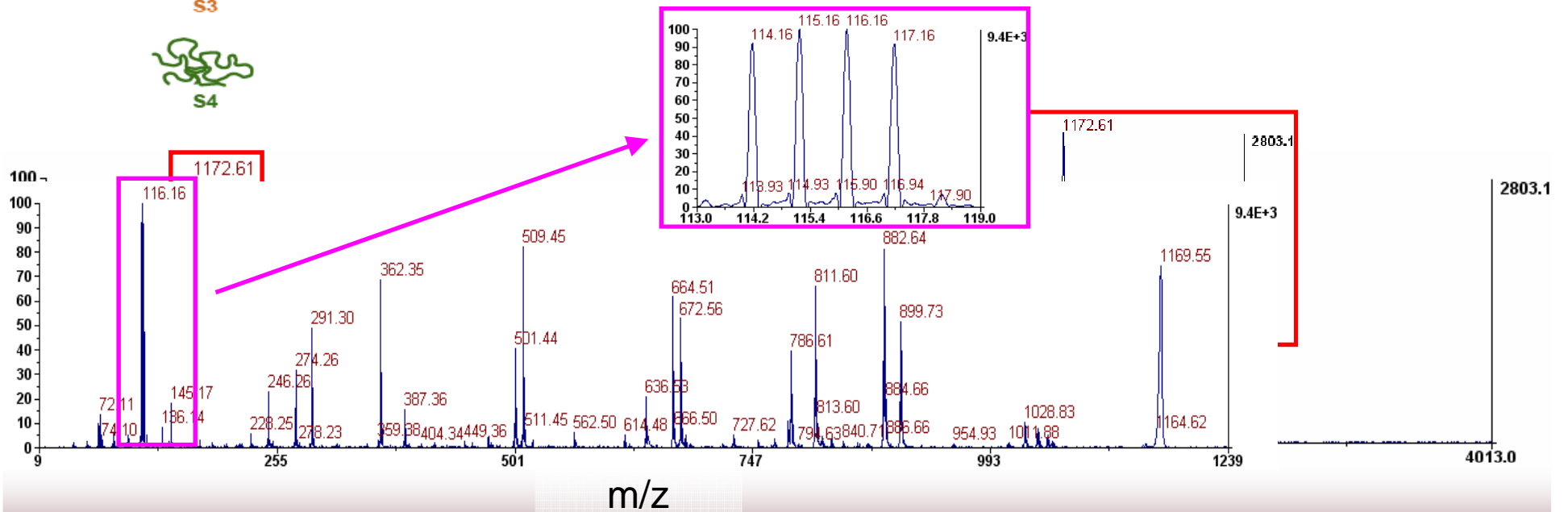
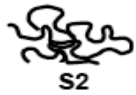


Plan

- **Marquage iTRAQ™ et déroulement d'une analyse**
- Paramètres de traitement des spectres et critères de sélection
- Optimisation des paramètres de processing
- Conclusions & perspectives

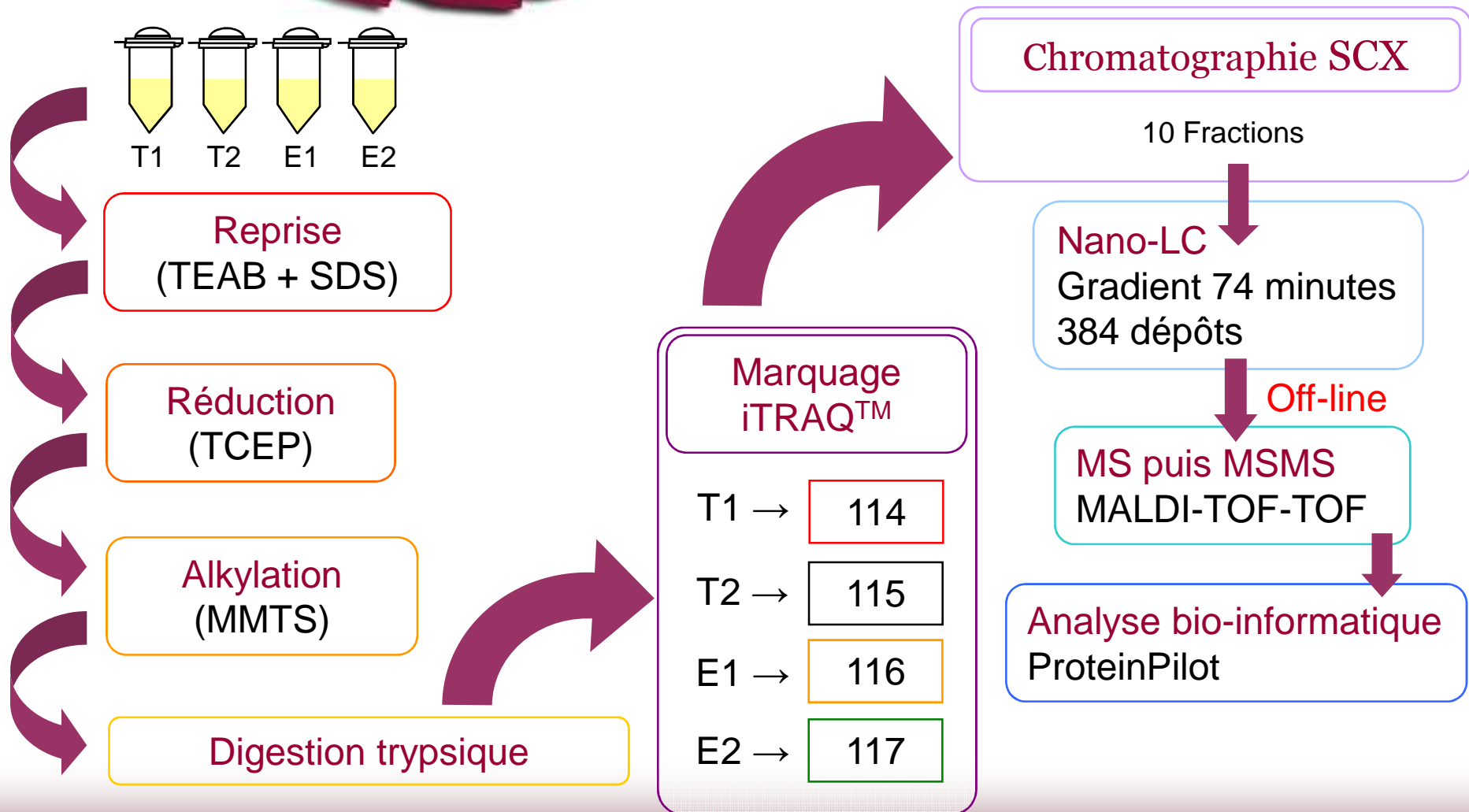


Principe du marquage iTRAQ™



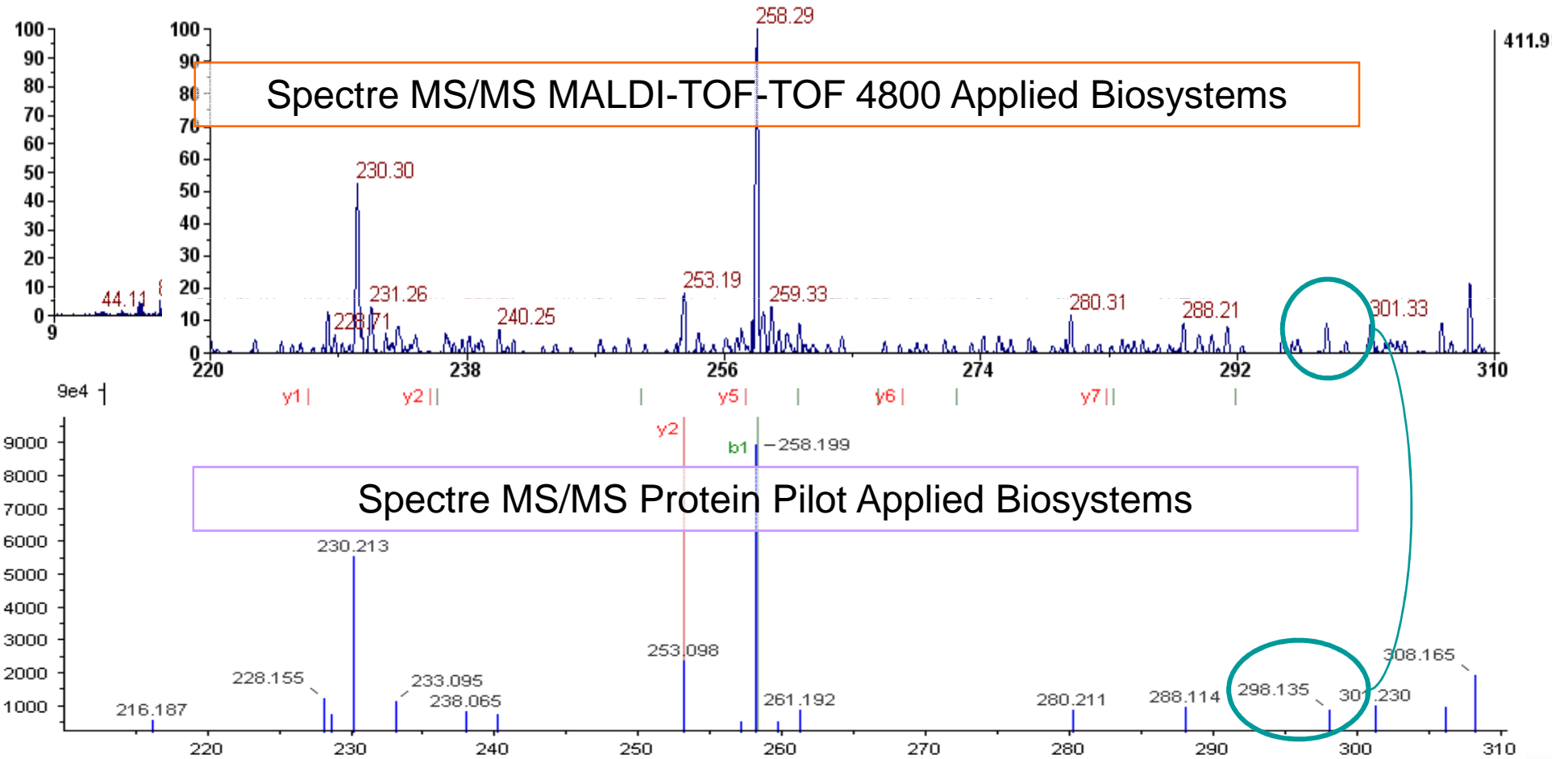


Échantillon de référence



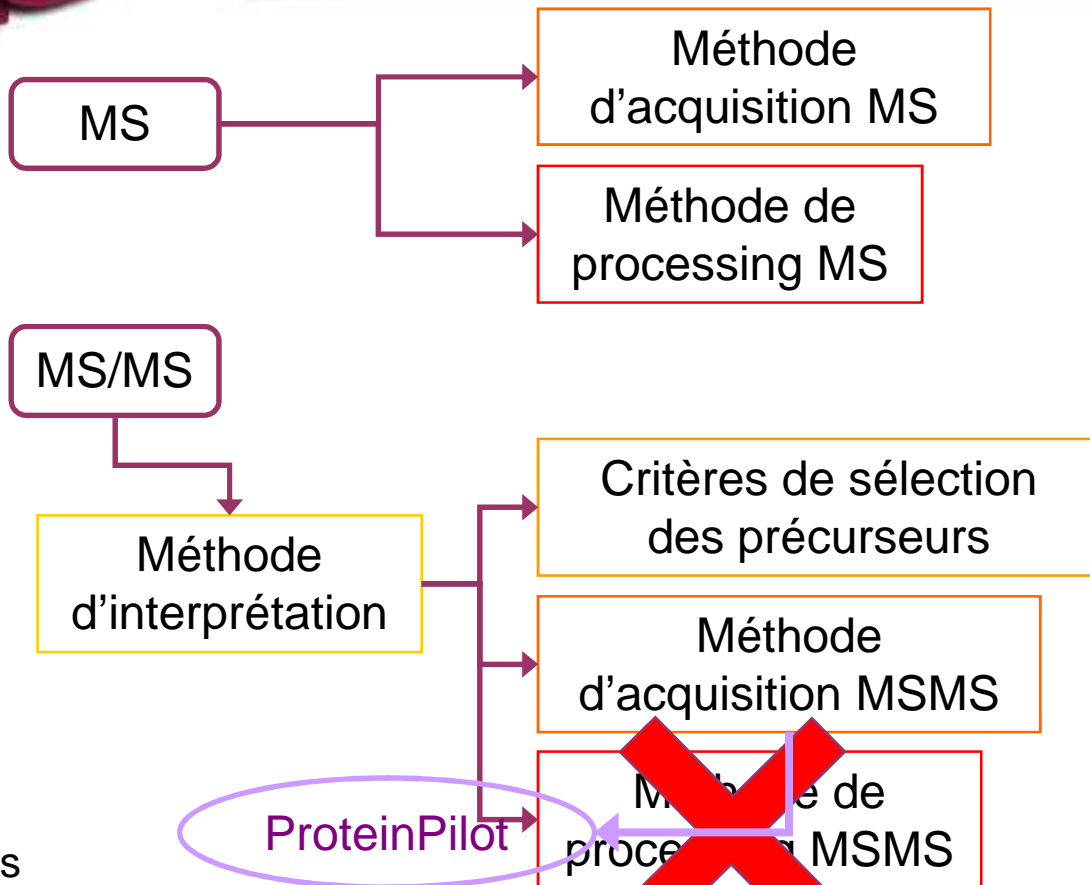


Problématique





Problématique



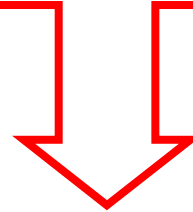
- Intensité LASER
- Nombre de tirs par dépôts
- Règles d'accumulation des spectres
- Fenêtre de masses détectées
- Détecteur

- Règles de traitement des spectres
- Résolutions attendues
- Détermine l'annotation des spectres



Problématique

Dépendance de ProteinPilot
vis-à-vis de la méthode de processing



Optimisation de la
méthode de Processing

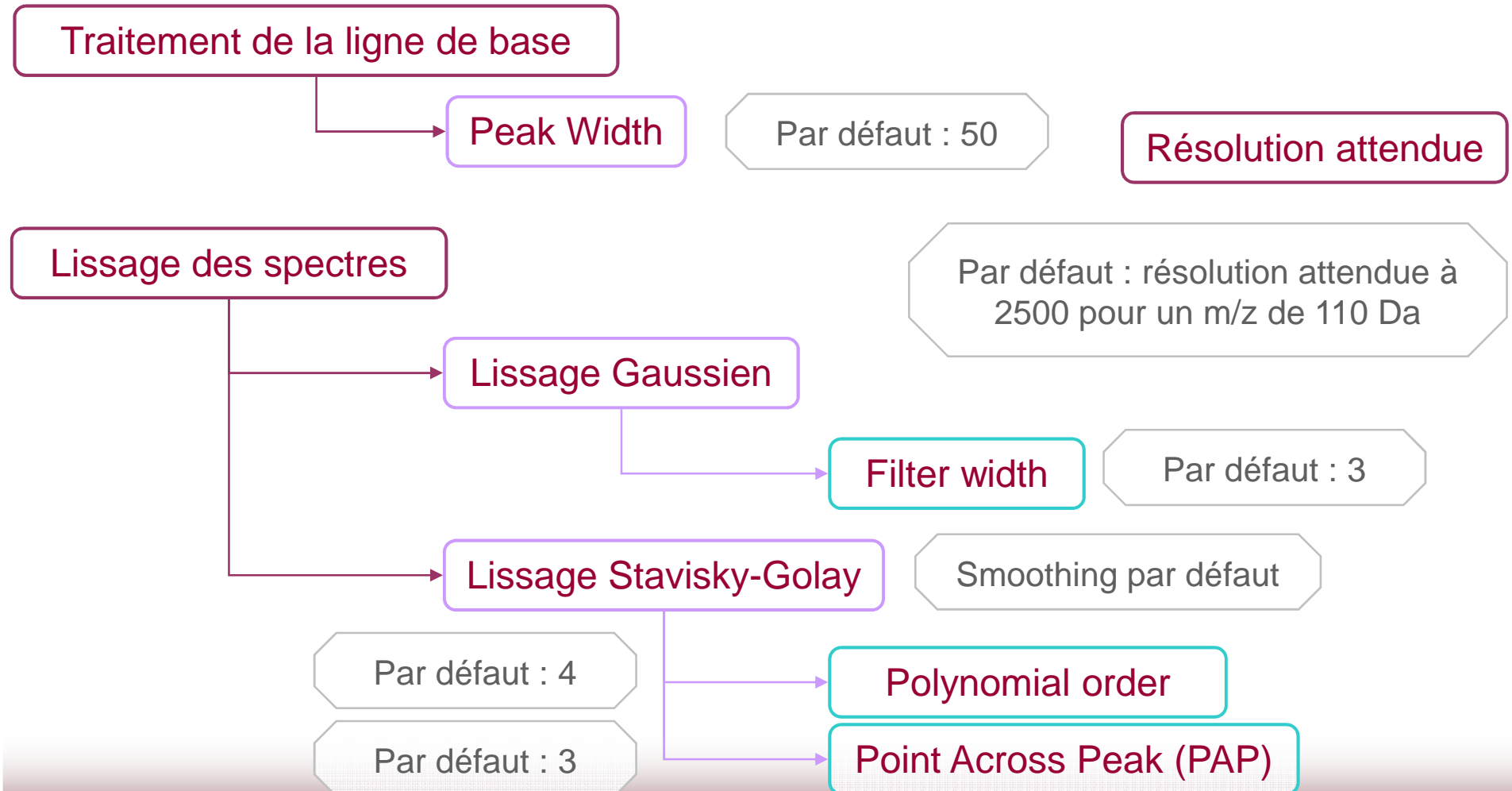


Plan

- Marquage iTRAQ™ et Déroulement d'une analyse
- **Paramètres de traitement des spectres et critères de sélection**
- Optimisation des paramètres de processing
- Conclusions & perspectives



Paramètres d'une méthode de Processing





Critères d'optimisation

		Résultats avant optimisation
Identification :	Nombre de Protéines identifiées	314
	Nombre de Peptides identifiés	1730
	% de spectres MS/MS exploités	53
	Nombre de protéines identifiées pour un taux de faux positif (FDR) à 1%	182
Quantification :	Écart type pour le ratio Témoin 1 / Témoin 2	0.4



Plan

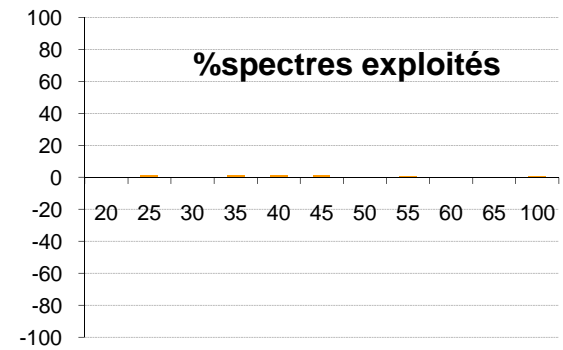
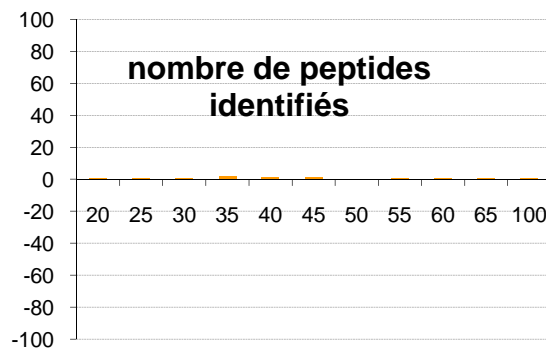
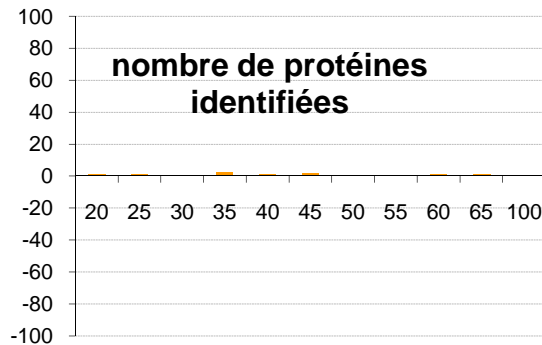
- Marquage iTRAQ™ et Déroulement d'une analyse
- Paramètres de traitement des spectres et critères de sélection
- **Optimisation des paramètres de processing**
- Conclusions & perspectives



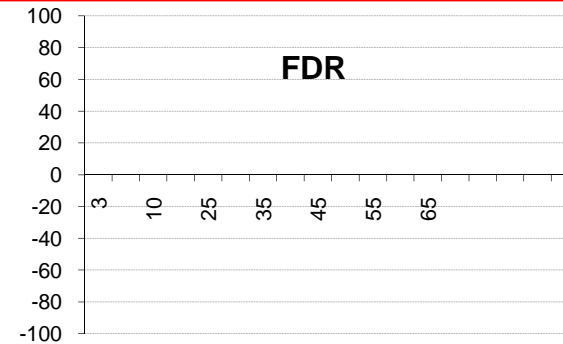
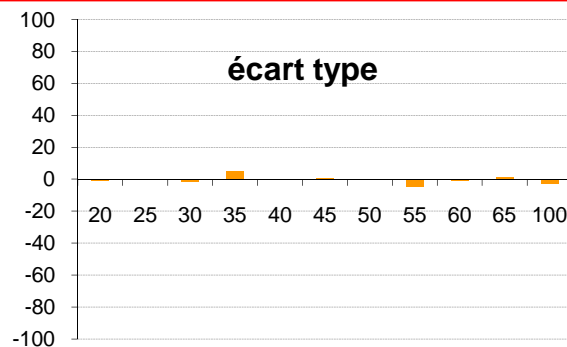
Traitement de la ligne de base : Peak Width

Etude de l'influence du Peak Width sur :

Pourcentage de variation



Ce n'est pas un paramètre influant

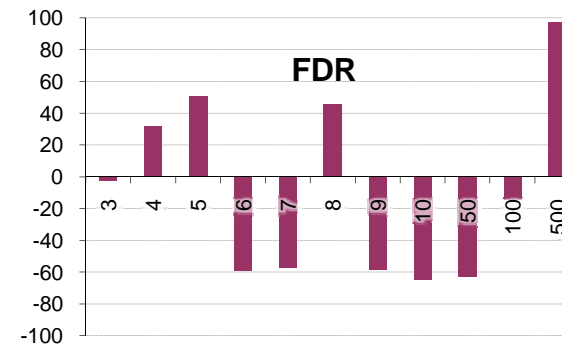
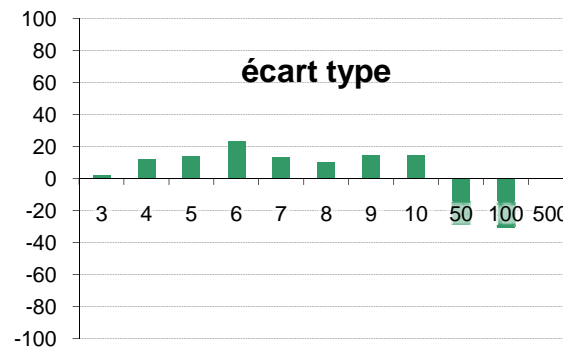
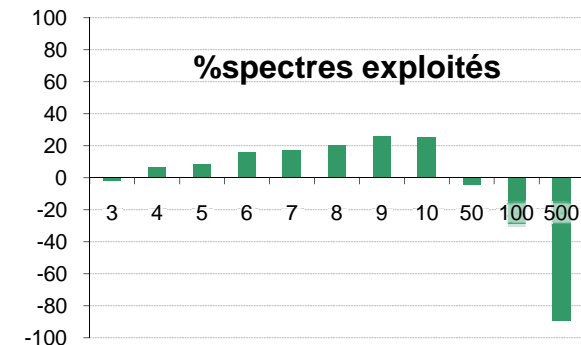
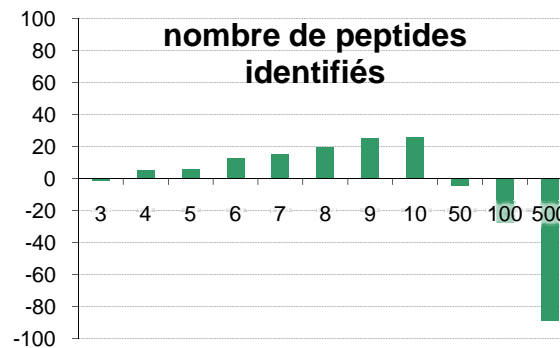
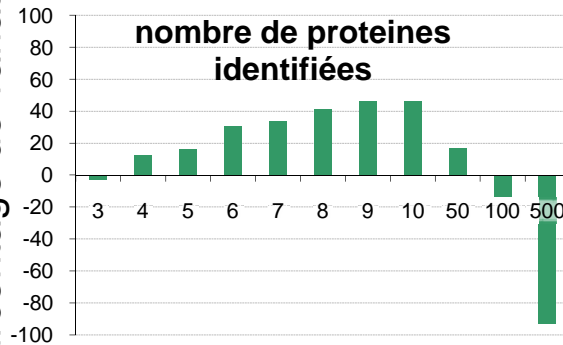




Optimisation du lissage: Smoothing Gaussien

Etude de l'influence du Filter Width sur :

Pourcentage de variation

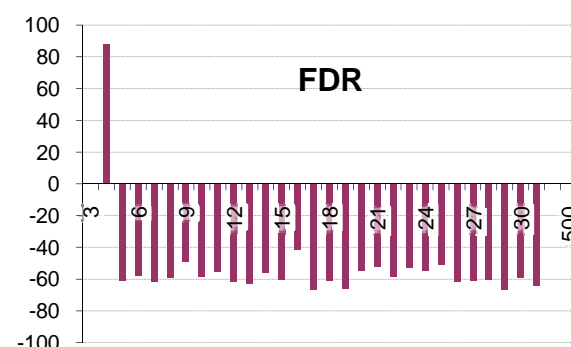
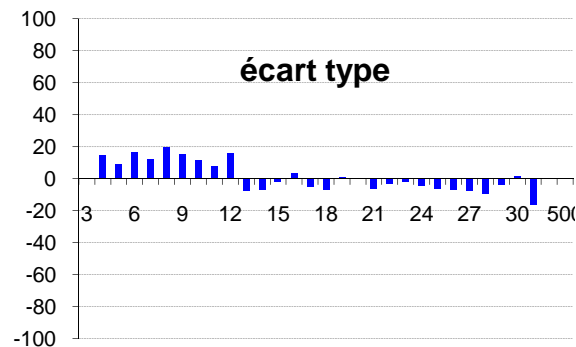
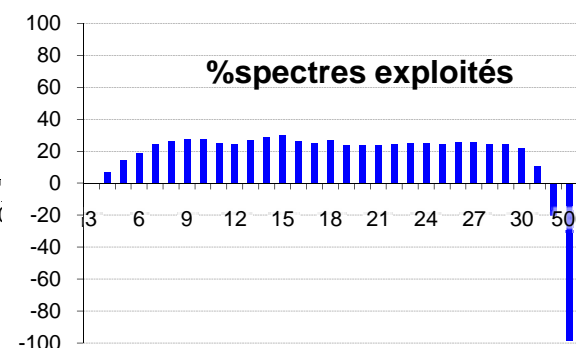
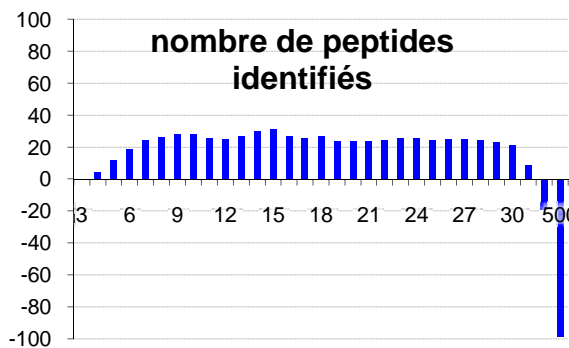
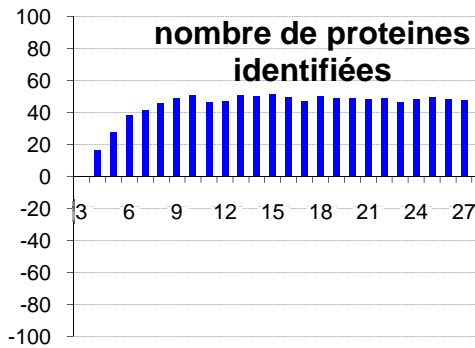




Optimisation du lissage: Smoothing Stavisky-Golay

Etude de l'influence du Point across peak (PAP) sur :

Pourcentage de variation



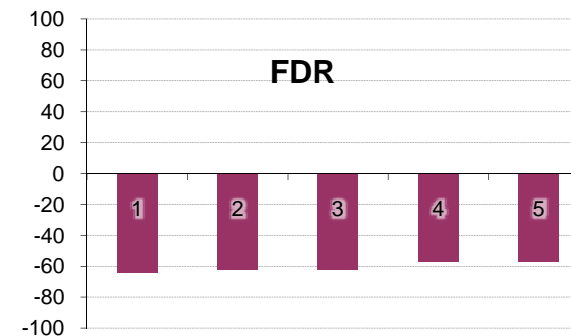
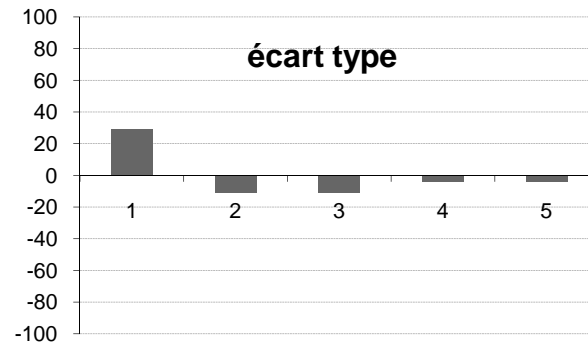
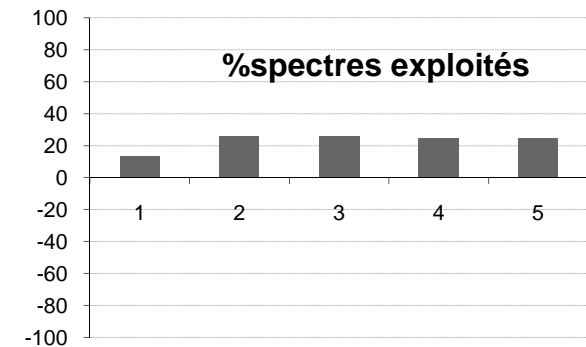
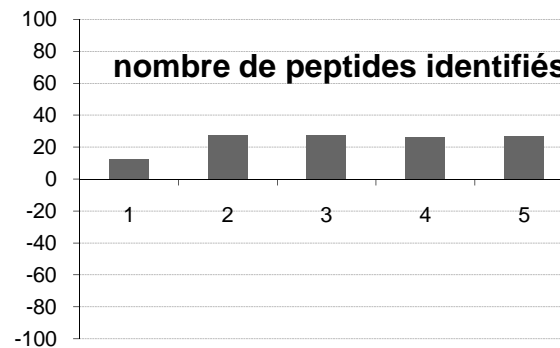
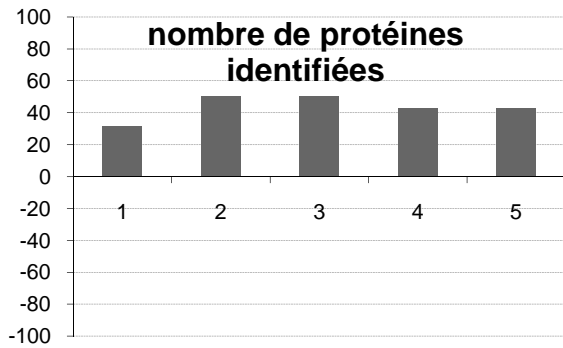
Point across peak de 16 pour une amélioration de l'identification et de la quantification



Optimisation du lissage: Smoothing Stavisky-Golay

Etude de l'influence du Polynomial Order sur :

Pourcentage de variation

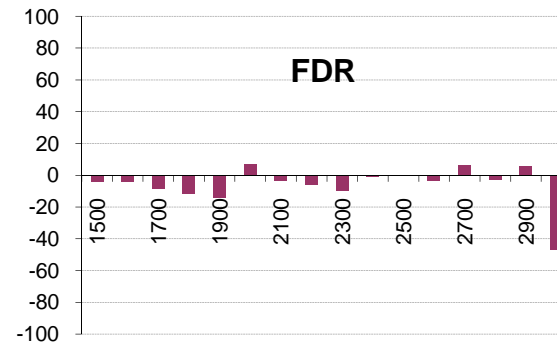
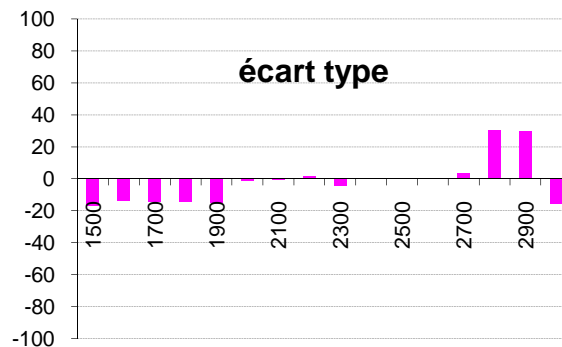
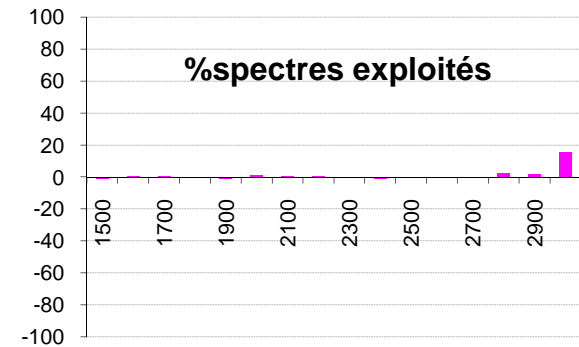
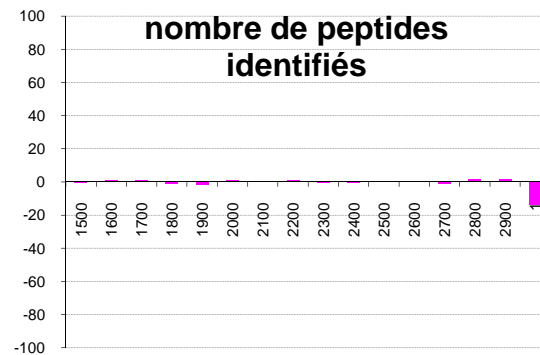
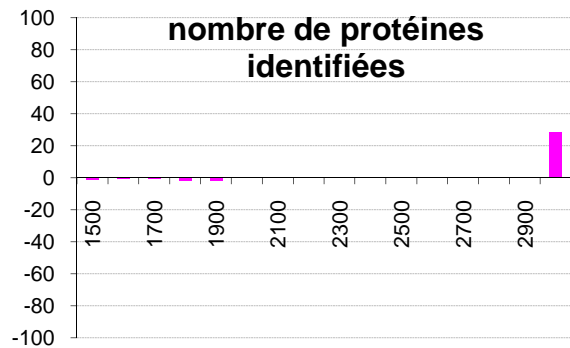




Optimisation de la résolution

Etude de l'influence de la Résolution à 110 Da sur :

Pourcentage de variation

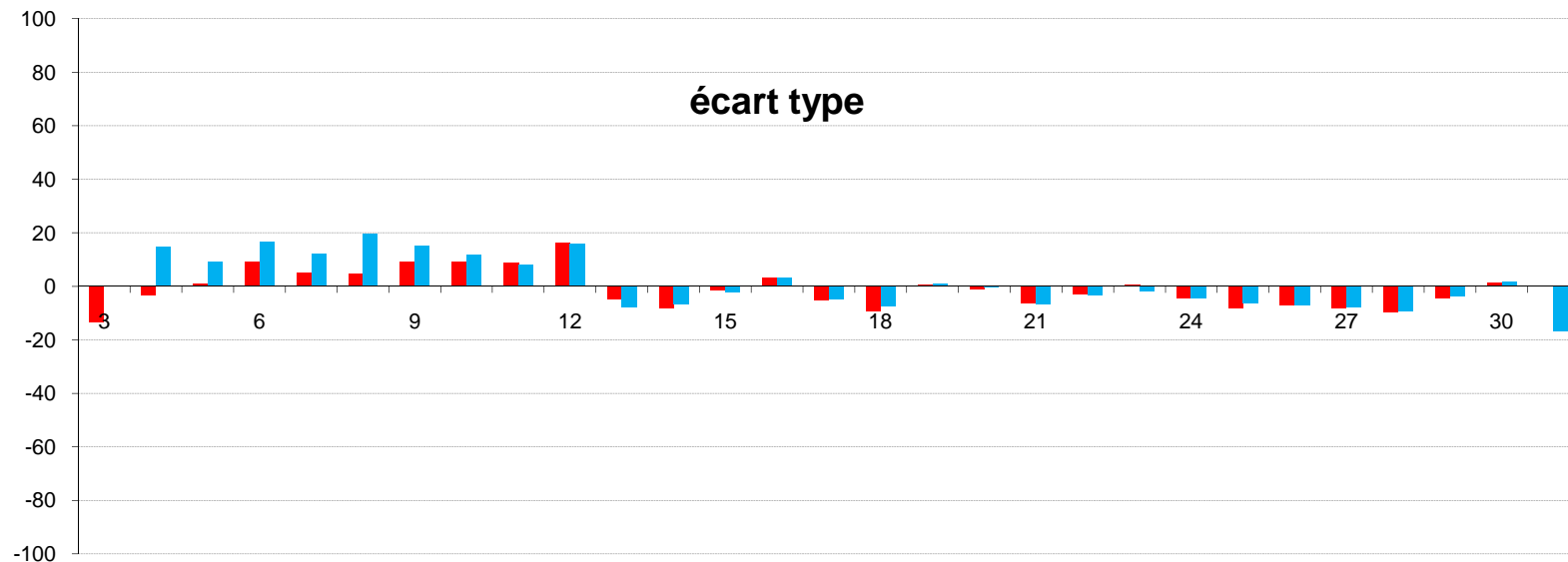


Résolution inférieure à 1900



Optimisation de la résolution

- Résolution 2500
- Résolution 1600



Si on utilise un PAP supérieur à 10, la résolution à 110 Da semble inutile



Plan

- Marquage iTRAQ et Déroulement d'une analyse
- Paramètres de traitement des spectres et critères de sélection
- Optimisation des paramètres de processing
- **Conclusions & perspectives**



Conclusion

Identification :

- Nombre de Protéines identifiées
- Nombre de Peptides identifiés
- % de spectres MS/MS exploités
- Nombre de protéines identifiées pour un taux de faux positif (FDR) à 1%

Quantification :

- Écart type pour le ratio Témoin 1 / Témoin 2

Résultats avant optimisation	Résultats optimisés	
314	476	+ 50%
1730	2273	+ 30%
53	68.3	+ 30%
182	211	+ 20%
0.4	0.4	0%



Remerciements



Plate-forme Paris Descartes 3P5 :

Jérôme Laparre

François Guillonneau

Cédric Broussard

Patrick Mayeux

Luc Camoin

**La plate forme recherche un ingénieur
ayant une expérience en Orbi Trap**

Contactez : Patrick ou Luc

