

Q Exactive在蛋白质鉴定和定量中的应用

李静 叶芳挺

赛默飞世尔科技(中国)有限公司色谱质谱部 201206

1 前言

Q Exactive是赛默飞世尔科技在2011年ASMS上推出的新型四极杆和轨道阱杂交高分辨质谱仪,它将高选择性四极杆的离子过滤与Orbitrap高分辨准确质量数(HR/AM)测量技术相结合,在分辨率、扫描速度和灵敏度性能上进一步提升,并提供各种高分辨扫描功能,适应不同的应用需要。

Q Exactive作为蛋白质组学的一个通用质谱平台,可以同时涵盖蛋白质组学的定性和定量要求,并能够在一台仪器上同时达到高灵敏度、高分辨率、高质量准确度和高质谱图采集速度。

同量异位化学标签(如Thermo Scientific串联分子量标签, TMT)是目前常用的一种同位素标记相对定量技术,在MS/MS水平依据报告离子的强度进行定量。Q Exactive所采用的高能碰撞诱导解离(HCD)非常适宜TMT定量研究,高达12HZ的采集速度也大大提高了蛋白质鉴定的效率。本实验

考察了Q Exactive在蛋白质鉴定和TMT定量方面的具体应用,从鉴定数目、谱图质量、定量结果等方面进行评价。

2 实验部分

2.1 实验样品

来源不同的两组小鼠膜蛋白采用胰蛋白酶(Trypsin)进行酶解后,用TMT-2plex进行标记后进行一比一混合,离线分离,共收了十个馏分,本实验分析了其中一个馏分。

2.2 HPLC方法

高效液相色谱仪: Thermo Scientific EASY-nLC System (Nano HPLC)

预柱: EASY-Column C18 (2cm, ID100 μ m, 5 μ m)

色谱柱: EASY-Column C18 (10cm, ID75 μ m, 3 μ m)

样品量: 5 μ L

流动相: A: 0.1% Formic acid in water; B: 0.1% Formic acid in acetonitrile

梯度:

| Time | Composition |
|-------------|-----------------|
| 0.00(min) | A=100.0% B=0.0% |
| 80.00(min) | A=65.0% B=35.0% |
| 95.00(min) | A=0.0% B=100.0% |
| 100.00(min) | A=100.0% B=0.0% |
| 120.00(min) | A=100.0% B=0.0% |

流速: 300 nL/min

2.2 质谱方法

质谱仪: Q Exactive

喷雾电压: 1.8 kV

毛细管温度: 200 ° C

全扫描分辨率: 70,000

MS/MS分辨率: 17,500

母离子扫描范围: 300-1800 m/z

碰撞能量: 30% HCD

2.3 数据库检索

数据采用Proteome Discoverer1.3进行检索,搜索使用的蛋白质数据库ipi.MOUSE.v3.82.fasta。

数据库搜索时的参数设置:

Precursor ion mass tolerance: \pm 15 ppm;

Fragment ion mass tolerance: \pm 20 mmu

Static Modification: C carboxyamidomethylation (57.021 Da)

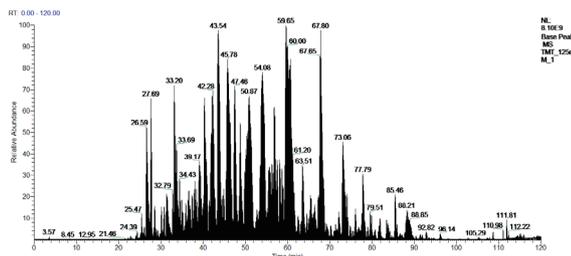
Dynamic Modification: M Oxidation (15.995Da); N-terminal, K, TMT 2-plex(225.156Da)

Missed cleavage site: 2.

False discovery rate (FDR) of all peptide and protein identifications: <1%,

3 结果与讨论

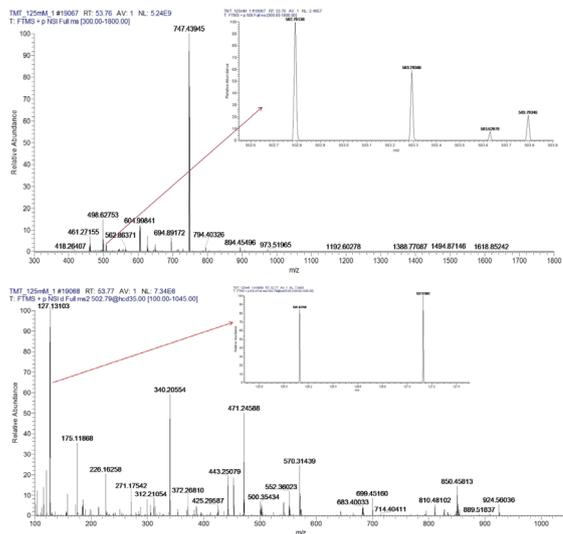
3.1 TIC谱图



关键词:

- Q Exactive
- Orbitrap
- TMT
- Proteome Discoverer

3.2 一级二级质谱图



如图所示，二级谱图中报告离子强度高，适宜定量。

3.3 蛋白质鉴定结果

表1 采集谱图和鉴定蛋白肽段数目

| | |
|-------------------------|-------|
| MS/MS spectra triggered | 25325 |
| PSM | 19797 |
| Success rate | 78.2% |
| Identified peptides | 7380 |
| Identified proteins | 3282 |

3.4 部分肽段定量结果展示

4 结论

Q Exactive从鉴定数目、谱图质量、定量能力等方面都具有出色的性能，在蛋白质组学的研究中具有很大潜力，尤其适于蛋白质组学复杂样品中深入信息的挖掘。

赛默飞世尔科技

上海
上海浦东新金桥路27号6号楼
电话: 021-6865 4588
传真: 021-6445 7830

北京
北京市东城区安定门东大街28号雍和大厦西楼七层
电话: 010-8419 3588
传真: 010-6621 0851

广州
广州东风中路410-412号时代地产中心3003-04室
电话: 020-8314 5188
传真: 020-8314 5288

服务热线
800 810 5118
400 650 5118

analyze.cn@thermofisher.com
www.thermo.com.cn



Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA USA is ISO Certified.

ANCM0072 12/21