



# 突破蛋白 分析极限

Thermo Scientific Q Exactive HF-X  
组合式四极杆 Orbitrap 质谱仪

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

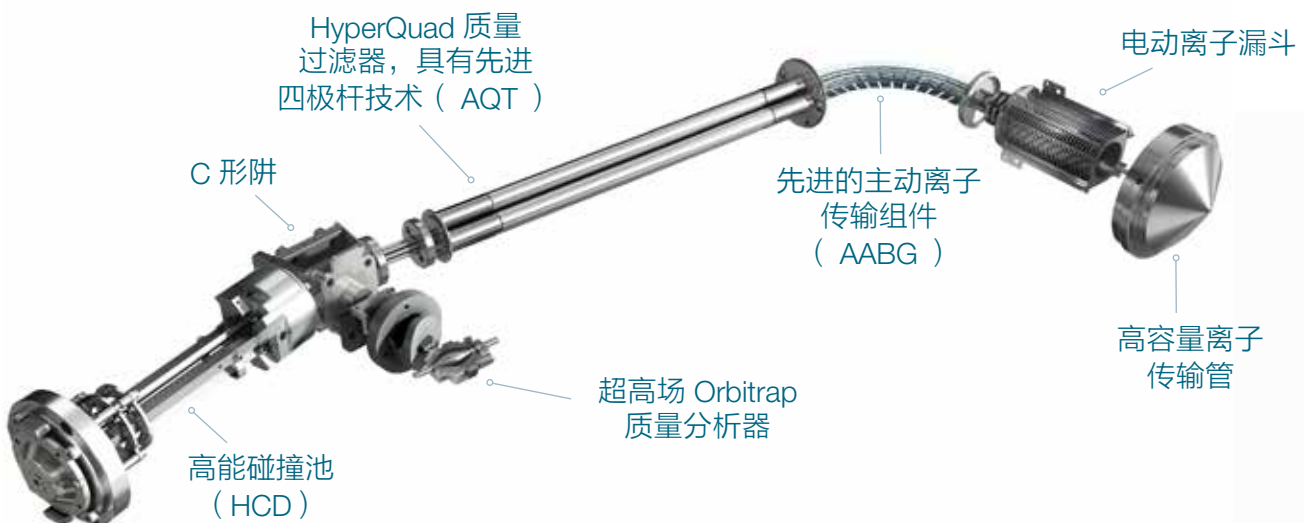
# 从研发到验证，加速分析

深入了解生物分子（例如药物靶点、疾病标记和治疗剂）需对复杂生物样品进行高灵敏度的分析，仪器在确保灵敏度的同时也不能牺牲耐用性和速度。作为一款多功能平台，Thermo Scientific™ Q Exactive™ HF-X 组合式四极杆Orbitrap™质谱仪专门应对超具挑战性的分析，为每个工作流程的灵敏度、性能和分析效率设置了新标准。

凭借Thermo Scientific™ Q Exactive™组合式四极杆Orbitrap™系列质谱仪的成熟性能，新款Q Exactive HF-X质谱仪将高场Thermo Scientific™ Orbitrap™质量分析器与高容量离子传输管 and 电动离子漏斗相结合，在极宽质量数范围内获得超高离子传输效率。

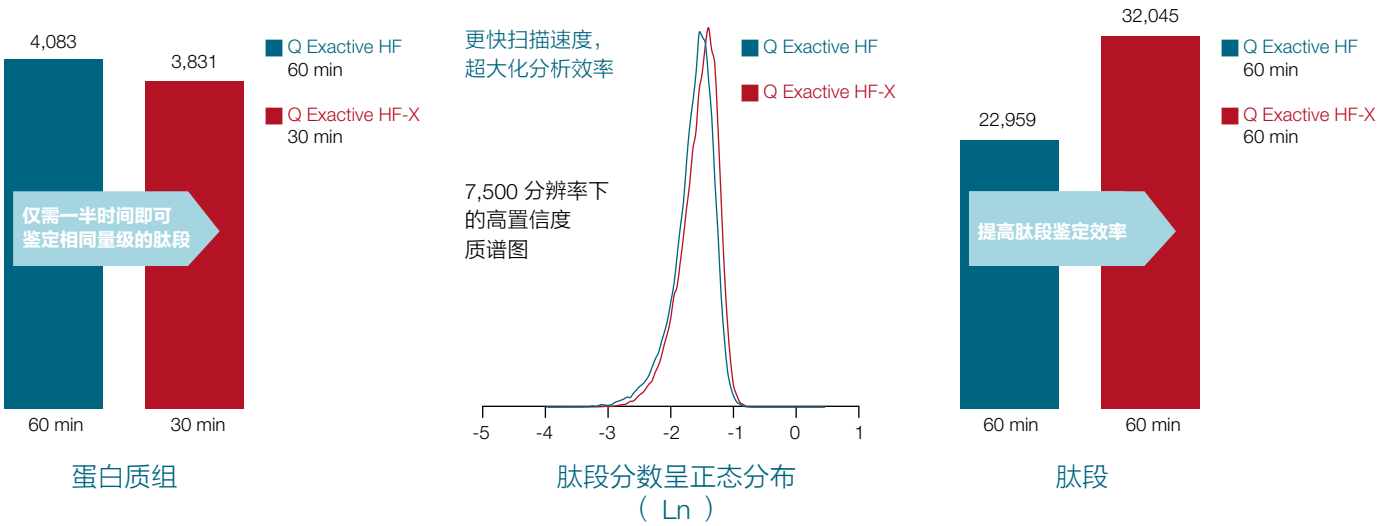
因此，该仪器能够传送高聚焦的高密度离子束，从而确保不同运行间的高灵敏度和稳定的分析质量。智能仪器控制特性将出色的离子传输性能与更高采集速度、甚至更复杂的数据依赖采集和分析策略匹配，以满足各工作阶段（从发现到验证和定量）的数据质量要求。

- 全新结构，采用高容量离子传输管（HCTT）和电动离子漏斗提高离子传输效率并提高对各分析物（从小分子到天然抗体）的灵敏度。
- 更高的采集速率和先进的母离子测定（APD）显著提高肽段测序的速度和深度。
- 强大的定量工作流程，包括平行反应监测（PRM）和高分辨数据依赖采集（HR-DIA）。
- 提供强大的BioPharma选项，在表征生物治疗药物的过程中以更高的灵敏度支持所有工作流程。
- 在对极具挑战性的蛋白质样品进行大规模研究时，出色的稳定性和分析性能在严格的研究工作流程中，为定量准确度、灵敏度和重现性设定了新标准。



# 前所未有的速度鉴定蛋白质

Q Exactive HF-X质谱仪可显著提高蛋白质鉴定效率，同时保持高场Orbitrap质量分析器的超凡精度。优良的离子传输效率以及高达40 Hz的扫描速率能够更高效地使用Orbitrap质量分析器。因此，与Thermo Scientific™ Q Exactive™ HF 组合式四极杆-Orbitrap™质谱仪相比，Q Exactive HF-X 质谱仪仅需前者一半时间即可完成典型蛋白质组学分析，在单位时间内鉴定的肽段数目最多可增加40%，在任何分析通量和分析深度下显著缩短分析时间。



## 在一半分析时间内完成相同的蛋白质鉴定任务

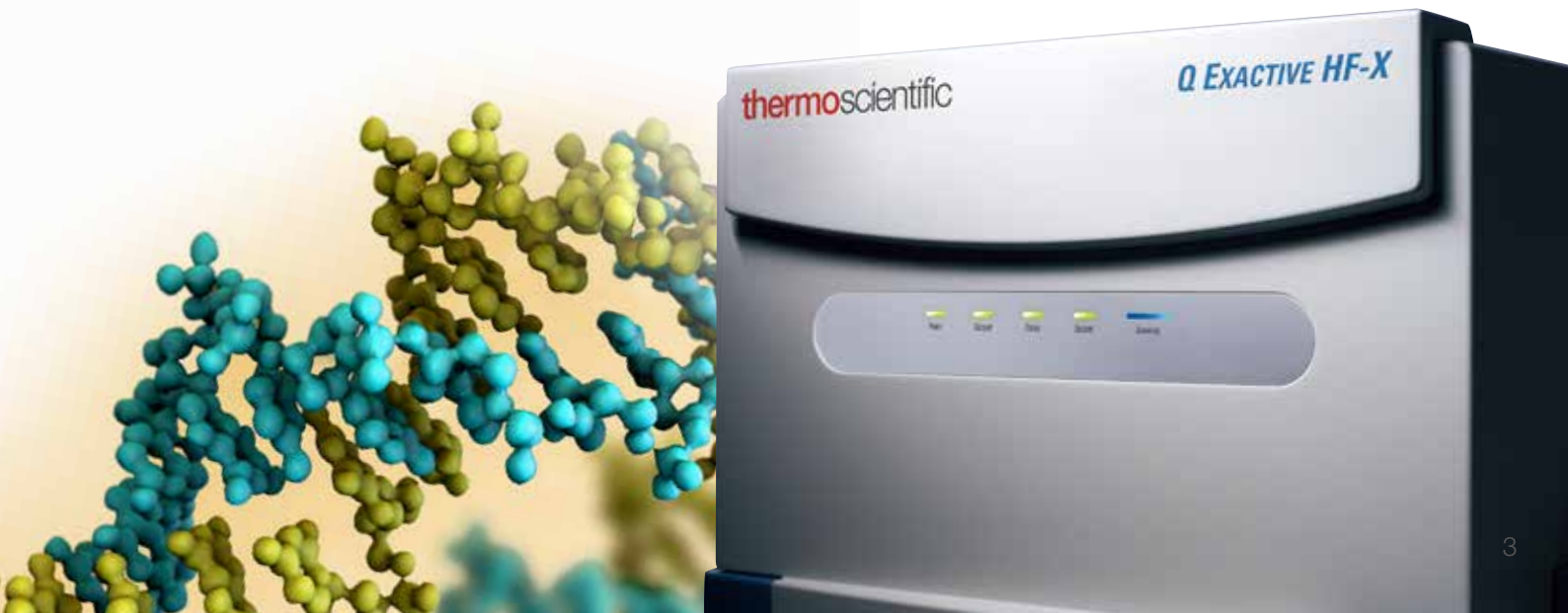
以相同的细胞系酶解为样品进行三次重复运行，在Q Exactive HF-X 和 Q Exactive HF 质谱仪上分别进行30分钟和60分钟的分析。Q Exactive HF-X 质谱仪可在一半时间内鉴定几乎相同数量的蛋白质组，分析时间几乎减半。这样的分析效率可能会使大规模蛋白质组学研究的分析通量得到显著提高。

## 更快速地获得相同的高质量结果

类似的，以不同MS<sup>2</sup>分辨率（7,500和15,000）在Q Exactive HF-X 质谱仪上运行细胞系酶解样品三次。肽段分数分布（>80,000个肽段）表明Q Exactive HF-X 质谱仪在分辨率和MS<sup>2</sup>质谱图可靠性之间达到完美平衡，对质谱图质量没有任何影响。

## 提高肽段鉴定效率

类似的，在Q Exactive HF-X和Q Exactive HF质谱仪上运行细胞系酶解样品三次，此次在两个系统上均进行60分钟分离。结果表明，Q Exactive HF-X 质谱仪能够在相同时间内鉴定更多肽段，从而提高蛋白质组的分析深度和蛋白质覆盖率。

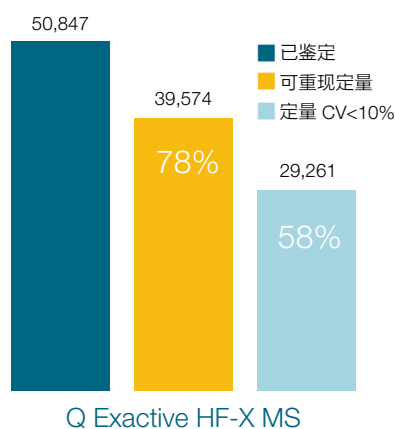


# 蛋白质检测和定量灵敏度达到更高水平

蛋白质生物标志物的验证需在大型队列研究中定量分析低水平蛋白质。样品之间和实验室之间分析的一致性对大规模研究获得可靠结果至关重要。基于母离子的MS<sup>1</sup>定量是一种非常成熟的方法，可提供高度可靠的蛋白质测定。借助Q Exactive HF-X 质谱仪的高分辨率准确质量数（HRAM）功能以及HR-DIA工作流程，不仅实现出色的肽段定量，而且可获得极高重现性。使用DDA +工作流程可超大程度减少遗漏的肽段数，超大化肽段分析的重现性并获得准确的蛋白质定量。



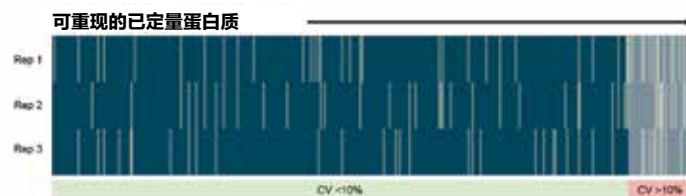
## 出色的肽段定量重现性



在连接了毛细管液相色谱系统的 Q Exactive HF-X 质谱仪上，用 HR-DIA 方法分析了 4  $\mu$ g Hela 细胞酶解。共鉴定出 50,847 个肽段，样品覆盖率高。120,000 分辨率下的 MS<sup>1</sup> 定量能够对所有实验中的 39,574 个肽段进行可重现定量。29,261 个已定量肽段的 CV < 10%。

## 获得超高蛋白质定量精度

Q Exactive HF-X 质谱仪与 Thermo Scientific™ Proteome Discoverer™ 软件相结合，可使用 DDA+ 工作流程提高蛋白质覆盖率和定量精度。在 120,000 分辨率下分析 1  $\mu$ g Hela 细胞酶解，使用 MS<sup>1</sup> 质谱图鉴定出 4,383 个蛋白质，其中 87% 的蛋白质定量 CV < 10%。



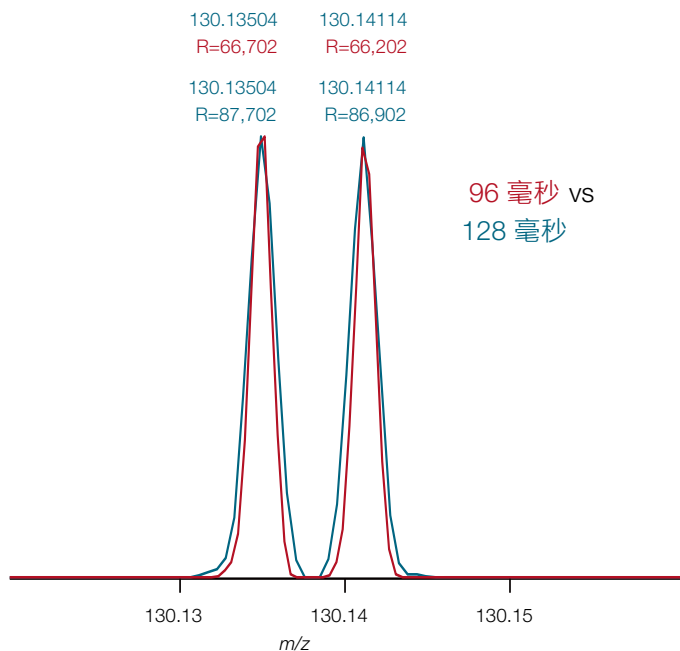
**消除蛋白质定量中的缺失信息。**在 Q Exactive HF-X 质谱仪上用 DDA + 工作流程进行三次样品分析。通过对重复样（浅绿色）进行图谱鉴定，在 Proteome Discoverer 软件中进行的蛋白质定量消除了缺失信息，从而使样品中 87% 的蛋白质达到 100% 的定量重现性（精度 < 10% CV）。

# 现代蛋白质组学的新水平

一个平台若要包含定量蛋白质组学完整工作流程，不仅必须具备高测序速率，而且具有超高灵敏度和选择性。非标、SILAC、或同位素标记的串联质量标签（TMT）定量策略帮助你信心十足地发现和定量目标蛋白质并通过平行反应监测（PRM）进行确认。Q Exactive HF-X质谱仪的超高灵敏度使其拥有无可比拟的工作流程多样性，适合各个阶段的蛋白质组学分析。

## TMT报告离子的超佳分离效果

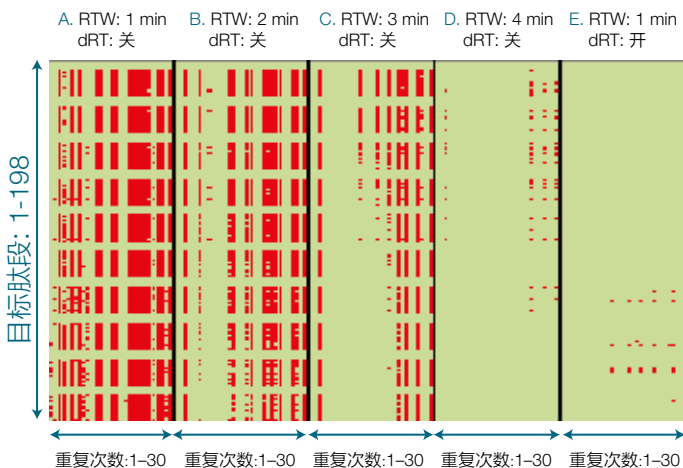
Q Exactive HF-X质谱仪的专用扫描模式以超佳设置（分辨率设置为45,000（FWHM）@m/z 200）解析Thermo Scientific™ TMT 10plex™同位素质量标签试剂盒的报告离子，且能够在发现实验中缩短扫描时间，使得定量肽段数目增加10-20%。



**提高的 TMT 性能。** MS<sup>2</sup> 质谱图显示 TMT10-130N 和 TMT10-130C 报告离子的基线分辨率。专用 TMT 扫描模式让 Q Exactive HF-X 质谱仪能够在 96 毫秒内有效解析 TMT 报告离子，而不需要 128 毫秒（之前方法的用时）。这个方法将确保准确的定量结果并允许每次运行完成更多扫描以进行更深层次的分析。

## 智能校正可定量更多肽段

全新动态保留时间校正技术（dRT）能够进一步提高平行反应监测（PRM）。Q Exactive HF-X质谱仪通过即时调整预期保留时间窗口（RTW）来补偿运行之间保留时间的变化。因此，质谱仪能够以更高准确度分配保留时间并在更窄的RTW内捕获母离子。因此，在一次运行中可以计划定量更多肽段，同时保持足够高的采集采样率以进行可靠和精确的定量。



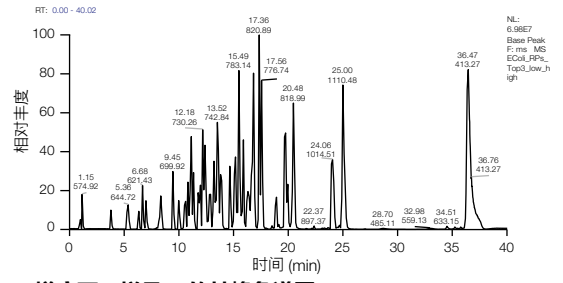
**用 4 种不同 RTW 重复进样 30 次并用动态保留时间校正（dRT）技术显著提高肽段靶向水平。** 分别用 3 个碎片离子监测 198 个预设的肽段母离子。为模拟纳流 HPLC 方法中的常见挑战，梯度将在 6 个略有不同的梯度中随机切换。dRT 关闭时（RTW 由 1 分钟增至 4 分钟）的结果，如图 A 至 D 所示。使用 1 分钟的窄 RTW，红色标记显示此位置有多个未被采样的目标肽段，这可能是由于保留时间的变化导致这些肽段在程序设定的 RTW 以外洗脱。当我们将 RTW 由 1 分钟增至 4 分钟时，更宽的 RTW 能够更好适应运行中的 RT 变化。最后一张图 E 表明，动态保留时间调整能够补偿保留时间变化，从而尽量减少信息缺失。

# 创新工作流程“聚焦” 完整蛋白质

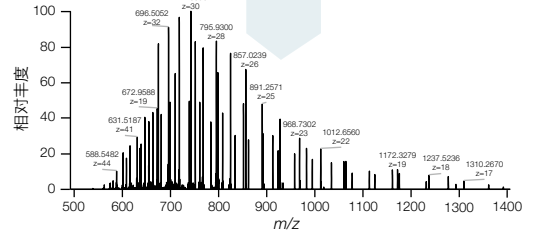
“Top-down”方法为蛋白质组学提供了多种机会：可定量跟踪目标蛋白质变体，并检测降解产物、序列变体和翻译后修饰。“Top-down”方法所面临的挑战是蛋白质变体表征的有限动态范围。高丰度的蛋白质变体往往被过度裂解，其检测会阻碍新物质的鉴定。Q Exactive HF-X质谱仪为完整蛋白质引入了一种新型智能数据依赖采集工作流程，有助于从“Top-down”蛋白质组学中获得更加深层次的信息。

## 蛋白质变体的动态选择至关重要

MS<sup>1</sup>扫描时，仪器利用先进的DDA算法对来自同一个蛋白质的不同电荷态母离子进行即时去卷积，选择丰度最高的离子，同时将冗余蛋白放置在排除列表上。类似地，智能算法自动确定每个所选母离子裂解的超佳碰撞能量，以生成用于MS<sup>2</sup>分析和蛋白质鉴定的高分辨率扫描。这种精简的top-down表征减少了冗余的工作并获得更加丰富的蛋白质样品信息。



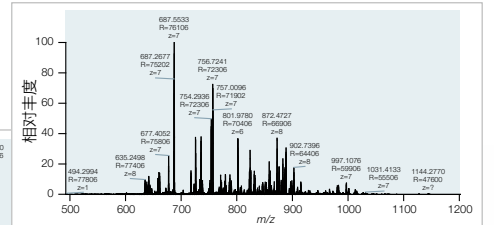
40 min 梯度下，样品 X 的基峰色谱图。



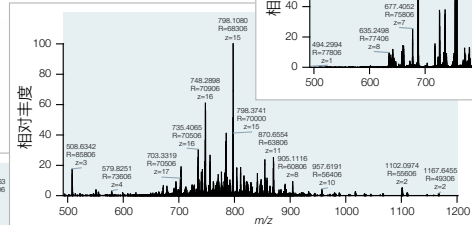
分辨率为 7,500 时，蛋白质模式下的全扫描质谱图。

基于电荷分布的即时去卷积  
用于选择主要蛋白质变体 (TopN)。

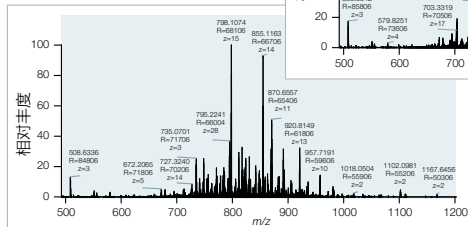
### MS<sup>2</sup> 蛋白质变体 3



### MS<sup>2</sup> 蛋白质变体 2



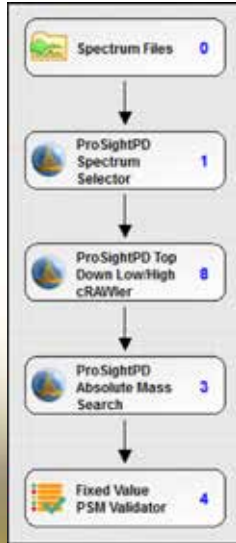
### MS<sup>2</sup> 蛋白质变体 1



在 120,000 的分辨率下，以超佳碰撞能量裂解每个蛋白质变体获得的 MS<sup>2</sup> 质谱图。

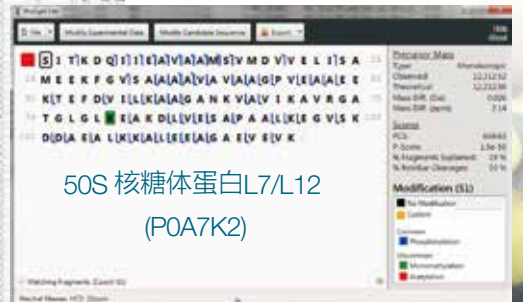


Thermo Scientific™  
ProSightPC™ 软件  
检索以鉴定每个待分析的蛋白质



强大的工作流程消除了过度裂解以鉴定更多蛋白质。

50S 核糖体蛋白L7/L12  
(POA7K2)



# 用于生物制药分析的强大平台

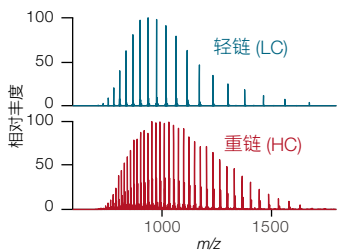
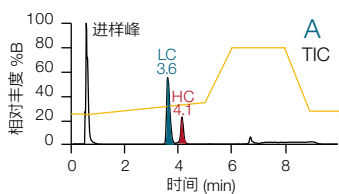
Q Exactive HF-X质谱仪在所有生物制药工作流程中提供更高灵敏度，为生物治疗蛋白的表征提供了一个完整的高性能分析平台。BioPharma 选项为天然条件下的异质mAb和ADC 的分析提供了更宽质量范围和更好的离子传输能力。此外，它还为亚基分析和 middle-down 测序提供了优化条件。

## 更高灵敏度带来更丰富蛋白质信息

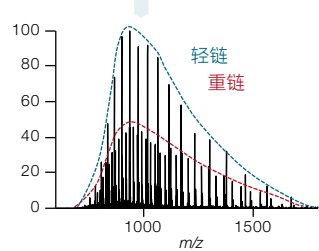
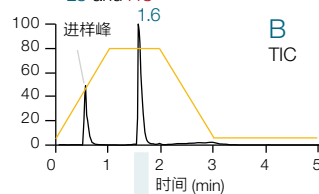
BioPharma 选项的 High Mass Range (高质量数范围) 模式可用于分析天然条件下的完整治疗蛋白质，在质荷比  $m/z$  6,000以上检测这些蛋白质并保持高传输效率。Q Exactive HF-X MS的超凡离子传输能力允许使用高分辨率设置来更好地解析蛋白质修饰，如糖基化和偶联物。使用该仪器在复杂的大分子分析中获得了前所未有的数据质量和细节。对于完整的抗体-药物偶联物 (ADC)，可以在没有去糖基化的情况下准确测定药物与抗体的比例。

在蛋白质模式下，快速扫描速率 (16毫秒) 和卓越的灵敏度可生成顶级质量数据，以检测在没有色谱分离的情况下通常难以解析的抗体亚基。在基线解析质谱图中，抗体重链和轻链清晰可辨。

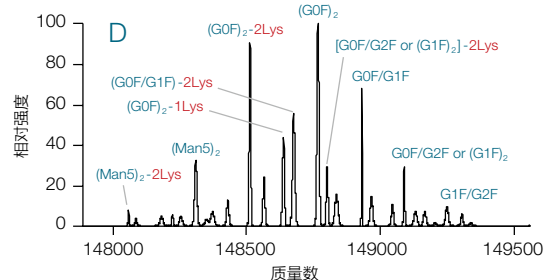
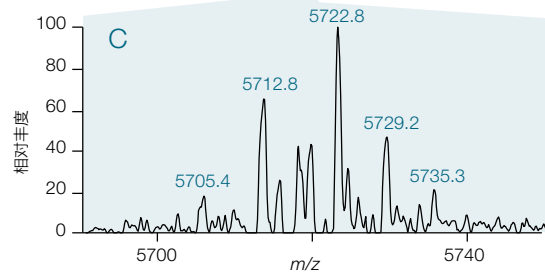
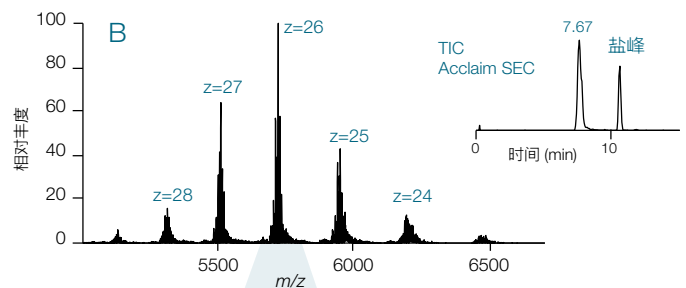
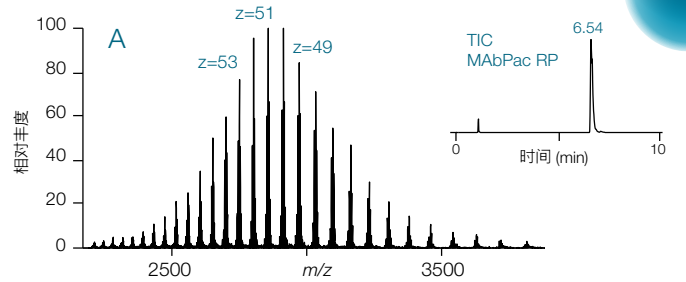
### 分离的LC和HC



### 未分离的LC和HC



速度和灵敏度支持抗体轻链和重链 (A) 的超高品质检测，即使不进行色谱分离 (B)。Q Exactive HF-X MS 可为抗体亚基生成高品质的独特基线解析质谱图。



### 完整 mAb 英夫利西单抗的深度表征

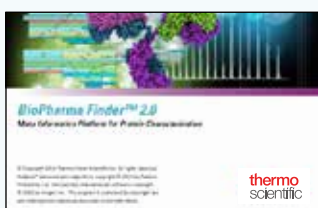
- 在 60,000 分辨率以及变性条件下获得全扫描质谱图和总离子色谱图，具有同位素未解析峰的自动电荷态注释
- 在天然条件下获得全扫描质谱图和总离子色谱图
- 在电荷态 26 的局部放大质谱图中，可以看到一个复杂糖型的基线解析质谱图
- 天然 / 变性条件下的去卷积质谱图

# 软件解决方案提高分析效率



## Proteome Discoverer 软件

使用Proteome Discoverer软件鉴定和定量复杂生物样品中的蛋白质。Proteome Discoverer软件简化了各种蛋白质组学工作流程，从蛋白质、肽段到翻译后修饰的鉴定，从同量异序质量标签分析到SILAC及非标记定量法。该软件支持多个数据库检索算法（ SEQUEST<sup>®</sup>、Z-Score、Mascot<sup>™</sup>和Byonic<sup>™</sup> ）。



## BioPharma Finder软件

使用Thermo Scientific<sup>™</sup> BioPharma Finder<sup>™</sup> 集成软件可节省时间并提高鉴定效率。使用完整蛋白质工作流程，以更高的分析效率和置信度对完整蛋白质进行筛查、鉴定和表征。两个去卷积算法充分利用Orbitrap质谱仪产生的高品质HRAM数据。确认氨基酸序列、鉴定已知和未知的PTM位点以及类型，同时使用肽图谱工作流程提供相对量。



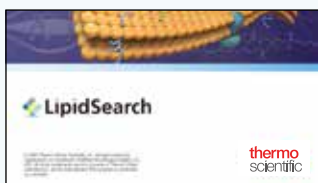
## Compound Discoverer软件

完整的小分子鉴定和表征解决方案。Thermo Scientific<sup>™</sup> Compound Discoverer<sup>™</sup> 软件是一个灵活的解决方案，提供了一整套强大的工具执行基于质谱（MS）的小分子差异分析、鉴定以及途径图谱分析。



## TraceFinder软件

Thermo Scientific<sup>™</sup> TraceFinder<sup>™</sup> 软件为GC和LC-MS系统的多个市场常规应用提供了完整的定量和筛查工作流程。TraceFinder软件允许用户开发具有多水平确认的综合实验，并可将这些实验精简为适合技术操作员的简单工作流程。



## LipidSearch软件

Thermo Scientific<sup>™</sup> LipidSearch<sup>™</sup> 软件处理LC-MS数据，包括由Orbitrap质谱仪生成的高分辨率精确质量数据，以提供准确的脂类鉴定。该软件可将复杂的数据自动集成到报告中，大大减少了数据分析的时间。



赛默飞  
官方微信



赛默飞色谱与  
痕量元素分析

热线 800 810 5118  
电话 400 650 5118  
[www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC