

# 超越您所了解的 非变性质谱



Thermo Scientific™ Q Exactive™ UHMR 组合型  
四极杆 - Orbitrap 质谱仪

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

# 深入了解 非变性蛋白

非变性质谱（MS）是研究大型蛋白复合体、蛋白质相互作用和蛋白配体间相互作用的强大技术。该方法在 MS 分析中保持生物分子的自然折叠状态及关联的非共价相互作用。直到今天，由于技术的局限性，非变性质谱一直都无法发挥其全部潜能。

Thermo Scientific™ Q Exactive™ UHMR 组合型四极杆 - Orbitrap™ 质谱仪是首款将前所未有的超高质量数范围分辨率、超高灵敏度及 MS<sup>2</sup> 和 pseudo-MS<sup>3</sup> 性能进行独一无二的结合，以超越现今非变性质谱实验所能。



## 可靠分辨细小质量差别

Q Exactive UHMR 质谱仪可以通过解析质量数的细小差别，从而鉴定高分子量且不均一的完整生物分子组装体。其所获得的细节信息是对其他生物物理表征方法的极佳补充，如：x-射线晶体学或单颗粒电子显微镜。

## 节省珍贵样品

样品通常是十分珍贵且存量有限。得力于 Q Exactive UHMR 质谱仪的灵敏度，即使仅有非常少量的样品，您也可进行高可信度测定。

## 快速进行非变性蛋白自上而下分析

使用 Q Exactive UHMR 质谱仪，您可以通过采用新型离子源内捕获、高质量数四极杆离子选择和有效的 HCD 碎裂，进行蛋白复合体的自上而下的分析。

## 表征完整非变性蛋白组装，包括膜蛋白

Q Exactive UHMR 质谱仪能够将完整膜蛋白从去垢剂胶束和膜模拟物释放至离子源内。通过改变源内捕获能量，仪器可以为自上而下测序释放蛋白质亚基，或者在温和激活条件下，保留膜蛋白与多配体的连接，从而进行整个复合体的分析。



在大型蛋白质如病毒、核糖体和蛋白酶体的分析中，Q Exactive UHMR 质谱仪使从前的不可能变为可能。该系统的最大优势是我们对大型蛋白质组装研究所需的灵敏度和分辨率的显著提升，并且有能力进行 MS/MS 实验。

—— Albert Heck 教授，Utrecht 大学



赛默飞世尔科技近些年在非变性质谱上做出巨大贡献。过去，我们所得的分辨率不足以分析带有少量电荷的超大型蛋白质复合体，这对我们是个真正的阻碍。而如今我们已经从非变性高分辨率质谱的近期发展中受益，这是过去不曾预见的。它带给我们关于我们的分子的全新视角，也是一场令人兴奋的转变。我非常激动在将来它会带给我们怎样的变化。

—— Dame Carol Robinson 教授，牛津大学，  
创始人和首席科学顾问，OMass 科技

# 成熟的 Q Exactive 组合型四极杆 - Orbitrap 技术

## 解决非变性质谱难题

在面对更大且更复杂的分析物时，质谱系统性能也需要不断提升。基于成熟的 Thermo Scientific™ Q Exactive™ 组合型四极杆-Orbitrap™ 质谱仪技术，Q Exactive UHMR 质谱仪解决了非变性质谱固有的分析难题。结合 Orbitrap 技术的改进，以前所未有的分辨率和数量级更高的灵敏度，进行大分子量完整蛋白质和蛋白质复合体的直接检测。



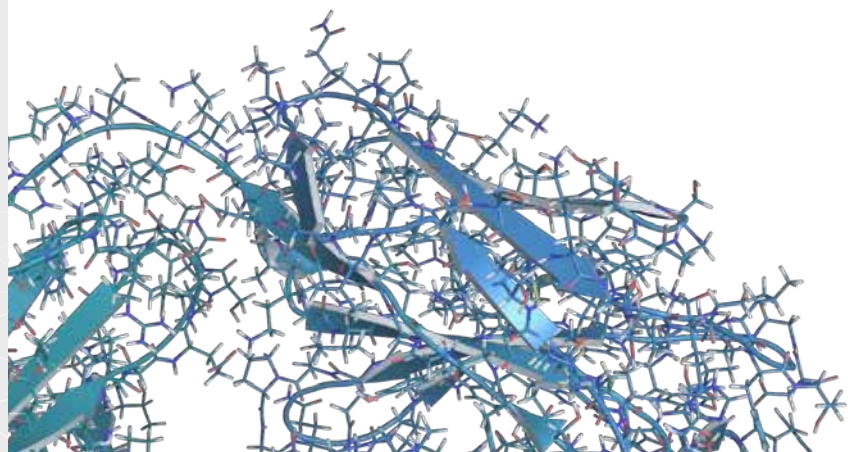
对于分析蛋白质复合体却从未或很少测定到的研究者们，Q Exactive UHMR 仪器提供了数量级更高的灵敏度，也提供了更高的分辨能力，在解析抗原相互作用和蛋白质相互作用时传递出未曾预见的细节，这是使用其他方法如晶体学或单颗粒电子显微镜不会总能看到的细节。现在非变性质谱可以为这些结构生物学工具提供补充。

— Alexander Makarov 研究主任，生命科学质谱，赛默飞世尔科技

## Orbitrap 技术具备基础优势，如今更加优化以解决非变性 MS 难题

Q Exactive UHMR 质谱仪充分利用 Orbitrap 质谱仪技术的内在捕获性能，其中，下游质量分析可与前端离子源过程分离。不太理解新引入的‘源内捕获’特性使大型离子的去溶剂过程高度有效，也可以在离子释放至质谱分析前（包括 pseudo- MS<sup>3</sup> 分析）将更多能量应用于离子的分离。

离子转移和利用过程是高度有效的，传递了数量级更高的灵敏度，从而导致更少量的样品需求。多电荷带电离子通过该灵敏度，可以在毫秒内完成检测，为极小的样品含量提供极致的高灵敏分析。





- 1, 2 Injection Flatapole 被脉冲至负电压以改善大型蛋白质复合体的去溶剂化，而 Inter - Flatapole Lens 保持在高正电势以防止离子逃离出来。诱捕之后恢复电压水平，使离子以低能量洗脱到 bent Flatapole 中先进的主动离子束传输组件。
- 3 Bent Flatapole 通过使用轴 DC 场和聚焦 RF 场引导并聚集离子，从而提高灵敏度。
- 1, 3-7 所有离子引导多极通道（Injection 及 bent Flatapole、四极杆、传输多极杆、C-Trap 和 HCD Cell）的 RF 频率被降低以改善离子传输。
- 8 通过调整分析器中捕获离子的高压脉冲转换率，高质量离子可以有效地注入 Orbitrap 质量分析器中。

**挑战：**非变性质谱在测定时必须保持蛋白质或蛋白质复合体的结构，及其功能。

**解决方案：**源内捕获（Injection Flatapole 内离子的脉冲捕获）温和地解析非共价蛋白质复合体，并有效去除洗涤剂胶束，从而进行完整膜蛋白和蛋白质复合体的分析。

**挑战：**非变性蛋白质复合体的自上而下分析一直受限于是很难良好碎裂至亚基片段。

**解决方案：**高达 25k m/z 的超高质量四极杆选择及 Injection Flatapole 和 HCD Cell 区域的更高碎裂效率，允许非变性蛋白自上而下的分析。蛋白质复合体可以在仪器的前端碎裂，亚基片段在 HCD Cell 下游碎裂，从而进行高分辨率高准确质量的分析。

**挑战：**非变性 MS 在高 m/z 时传输效率低，限制了可获得的灵敏度和分辨率。

**解决方案：**Injection 和 bent Flatapole、四极杆、传输多极杆、C-Trap 和 HCD Cell 上所应用的 RF 电压频率的降低，以及中心 Orbitrap 电极上电压斜率的调节，可以不受受到已知限制，极大提高高 m/z 离子的传输。

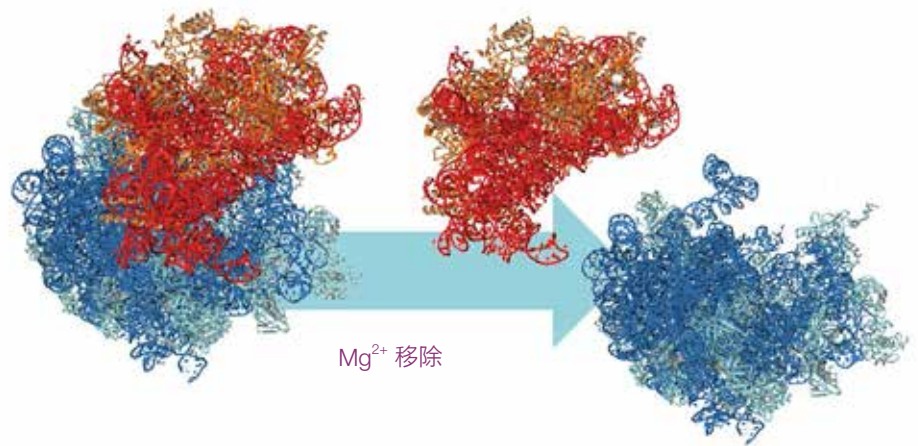
# 卓越灵敏度和质量分辨率

## 在高 $m/z$ 区域探索结构和异质性

使用 Q Exactive UHMR 可显示过去未知的生物分子结构细节。对于生物分子（如：核糖体）结构的研究，不仅因为其大小和复杂性，还有异质性，而具有挑战性。例如，一些核糖体蛋白可能以亚当量（下同）式存在，而其他核糖体相作用的蛋白可能在翻译的不同阶段被招募。此外，细小修饰已被映射到核糖体蛋白和 rRNA 碎片。另一挑战是使用  $Mg^{2+}$  离子稳定亚基，这导致质谱中的峰型加宽且信号受到抑制。

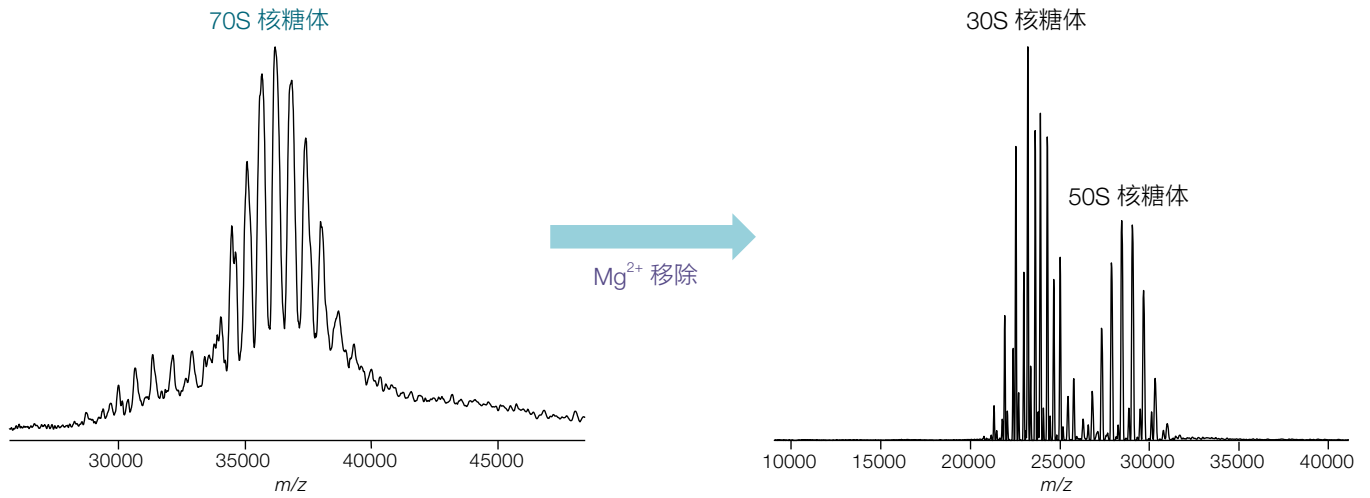
### 2.3 MDa 大肠杆菌 70S、50S 和 30S 核糖体颗粒的非变性 MS 分析

大肠杆菌 70S 核糖体包括 50S 和 30S 颗粒，当  $Mg^{2+}$  浓度降低时，会生成 50S 和 30S 两种颗粒。

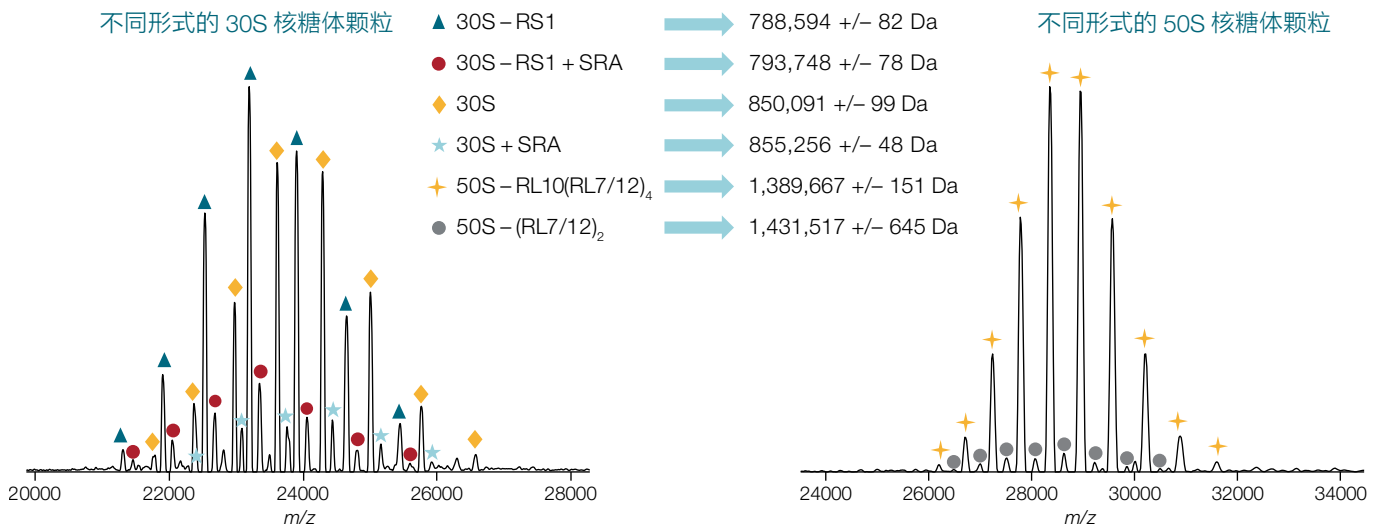


“Q Exactive UHMR 质谱仪使非变性 MS 实验在高  $m/z$  处的灵敏度和质量分辨率大幅提高。该仪器实现了大肠杆菌核糖体颗粒的高保真、无假设质量分析，揭示了难以捉摸的小型蛋白质 SRA 的亚化学计量关联。

—Albert Heck 教授, Utrecht 大学



Q Exactive UHMR 质谱仪在高  $m/z$  区域的灵敏度和分辨率，能够在 10 mM  $Mg^{2+}$  条件且离子集中在 36,000  $m/z$  左右的情况下（左图）分析完整的大肠杆菌 70S 核糖体。基于良好分辨的电荷态可以测定组装 70S 核糖体的完整质量为  $2,316 \pm 1$  kDa，其与预期质量（2,302 kDa）匹配良好。与理论质量的质量偏差为 0.6%，这主要是由于  $Mg^{2+}$  离子的非特异性加合。 $Mg^{2+}$  移除可使 70S 核糖体颗粒分解成 30S 和 50S 颗粒（右图）。



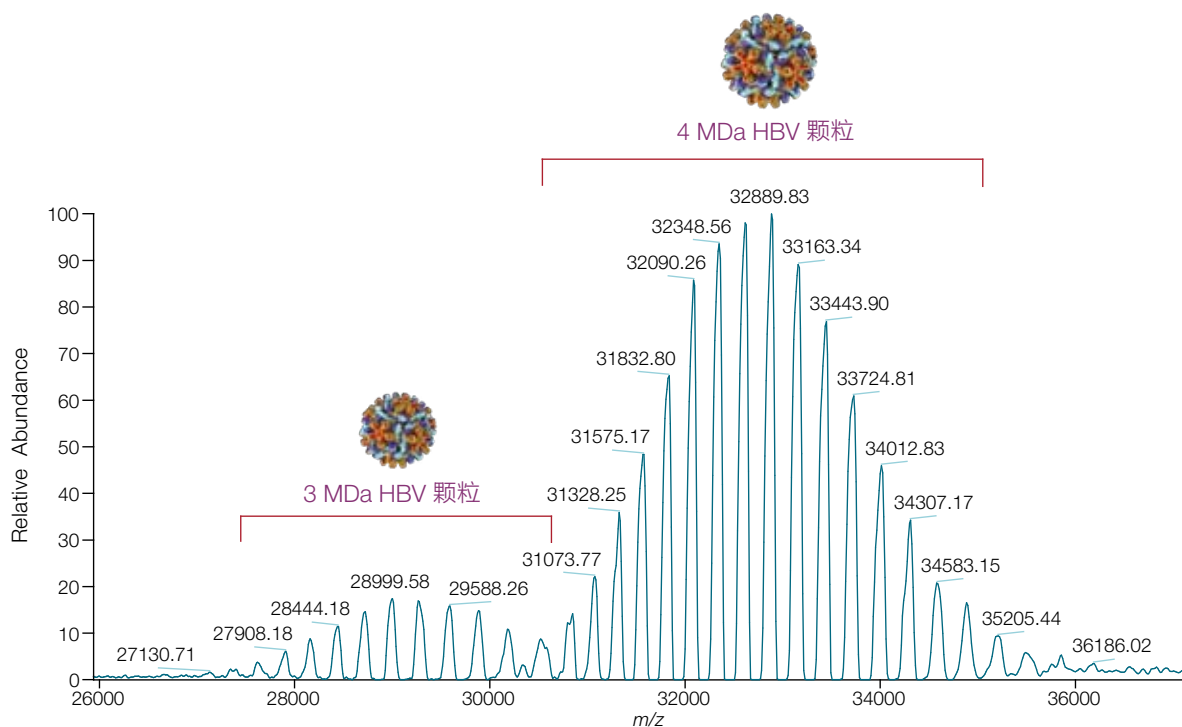
Q Exactive UHMR 质谱仪产生的高分辨率质谱数据，显示了核糖体颗粒的异质性和固定相诱导核糖体的相关蛋白（SRA）的亚化学计量关联。

最高丰度的两个 30S 核糖体组分（ $788.59 \pm 0.08$  kDa 和  $850.1 \pm 0.10$  kDa）具有质量差  $\sim 61.50$  kDa。质量 850.09 kDa 对应完整 30S 颗粒的预期质量（847.54 kDa）。质量 788.59 kDa 可能源于 RS1 蛋白的缺失（预期质量损失 = 61.2 kDa），该蛋白与 30S 颗粒连接松散，通常在结晶前就已经解离。因此，其在高分辨冷冻电镜重建中缺失。组分间 5.16-kDa 的质量差显示 SRA 的存在。化学计量测定表明制剂中  $\sim 22\%$  的 30S 颗粒与 SRA 蛋白结合。大部分 50S 核糖体颗粒的质量为  $1389.7 \pm 0.15$  kDa，与不带有茎复合体的 50S 颗粒的预期分子量一致。低丰度的 50S 颗粒也被检测到，质量为  $1,431.5 \pm 0.65$  kDa。

# 超高质量四极杆选择性和超高质量范围——超越传统极限

最佳的 Q Exactive UHMR 仪器具备前所未有的高灵敏度，能有效传输和检测高达 80000  $m/z$  的离子。获得高分辨的谱图，可对蛋白质颗粒的混合物进行表征，同时能够对其组成、配体和结构进行深入分析，这是采用其他方法很难得到的结果。

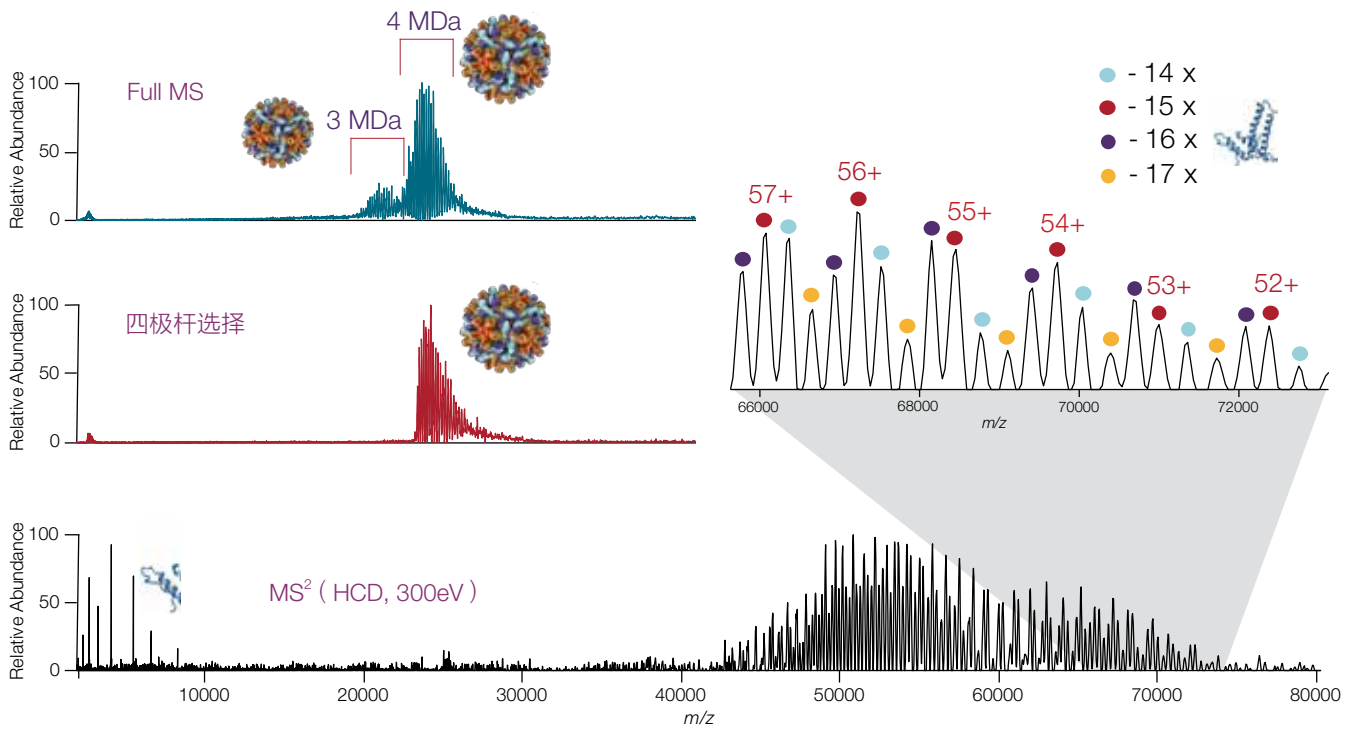
## 乙型肝炎病毒衣壳在电荷减少条件下的非变性 MS 分析



3 MDa 和 4 MDa 乙型肝炎病毒衣壳的混合物在电荷减少条件下的分析，质量数分布在范围 27000~36000  $m/z$  之间。图中显示能够很好地分辨两种颗粒的价态，可以对减小 25% 的 3MDa 颗粒完成无偏差检测。



# 乙型肝炎病毒衣壳的非变性 MS/MS 分析



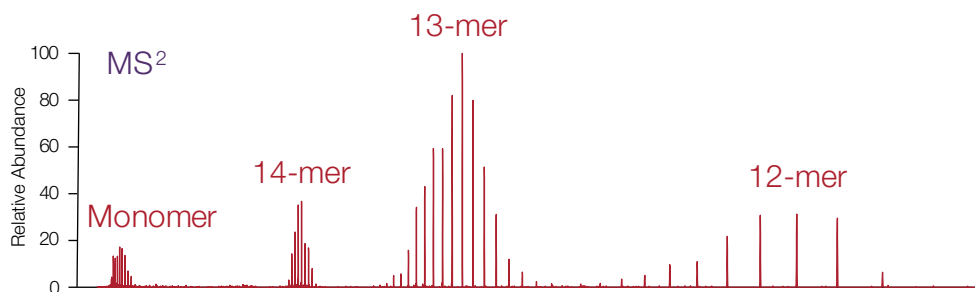
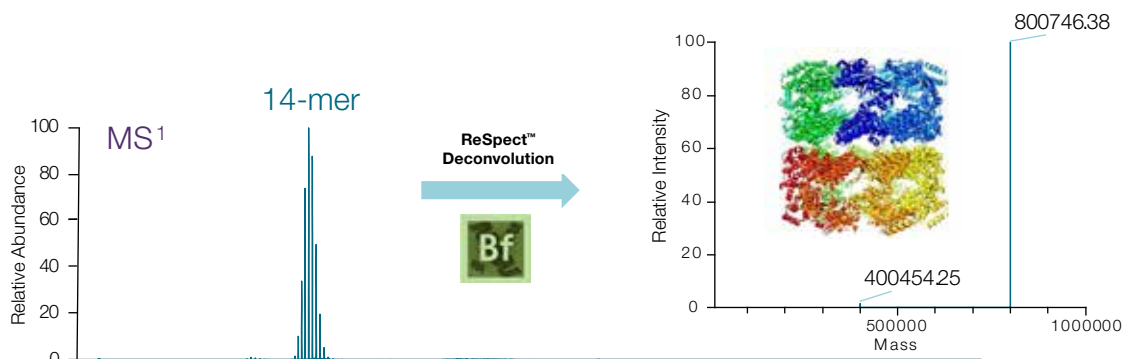
超高质量选择四极杆可用于筛选  $m/z$  25000 处的 4 MDa HBV 病毒，以便后续碎裂。Q Exactive UHMR 仪器可靠地检测高达 80000  $m/z$  的离子。在 300 eV HCD 能量下的 4 MDa HBV 衣壳的串联 MS 谱图显示，衣壳蛋白的 240 个拷贝可连续丢失最多 17 个拷贝。排出的单体出现在低  $m/z$  处，其子离子却具有更高  $m/z$ 。插入图呈现的是 70000  $m/z$  处质谱图的放大图，其包含的 HBV 病毒衣壳能够实现基线分离，这些衣壳蛋白损失 14-17 个衣壳蛋白，图中 HBV 病毒衣壳的离子可实现基线解析，其丢失了 14-17 个衣壳蛋白拷贝（占起始质量的 6.5%），也损失了起始电荷中 68% 的电荷。



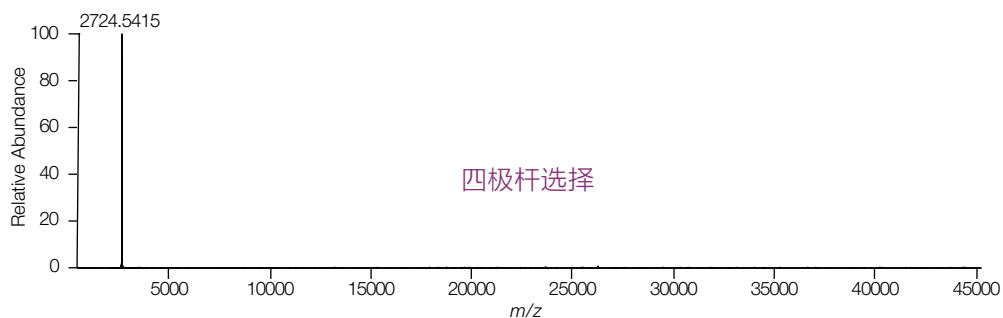
# 集强大的非变性质谱和 自上而下分析于一体

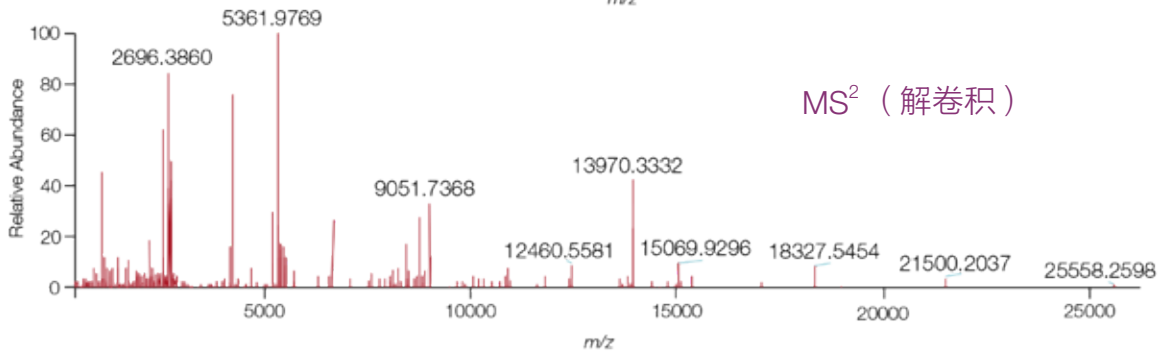
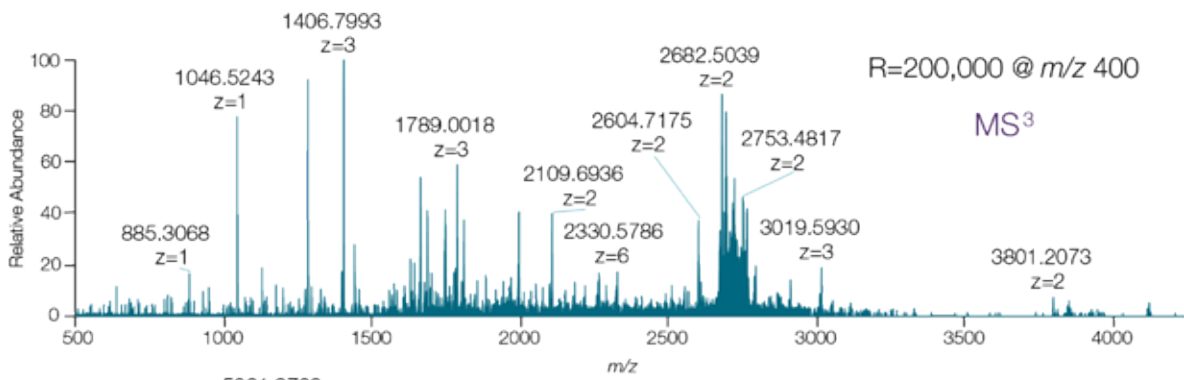
虽然已有研究报告指出关于非变性蛋白质复合体的自上而下分析，但是质谱前端内非良好的碎裂成亚基或剥离的复合体，限制了过去质谱仪器的性能以完成这项工作。Q Exactive UHMR 质谱仪通过源内捕获和 pseudo-MS<sup>3</sup> 技术克服了这些局限。首先，将完整的蛋白质复合物以适中能量温和地去溶剂化，并将其无碎裂地转移到质谱仪中，得到 MS<sup>1</sup> 谱图。应用更多源内能量将蛋白质复合物分解成其亚基，得到 MS<sup>2</sup> 谱图。四极杆选择和 HCD Cell 中的亚基碎裂，得到 MS<sup>3</sup> 谱图用于测序分析。

## GroEL 十四聚体的非变性质谱和非变性自上而下分



GroEL 十四聚体蛋白复合体的非变性 MS<sup>1</sup> 分析，该蛋白是细胞中众多蛋白质正确折叠所需的一个分子伴侣。使用源内捕获，能够非常有效地将 GroEL 14-mer 去溶剂化和碎裂成单体，并且获得剥离的化合物（13-mer 和 12-





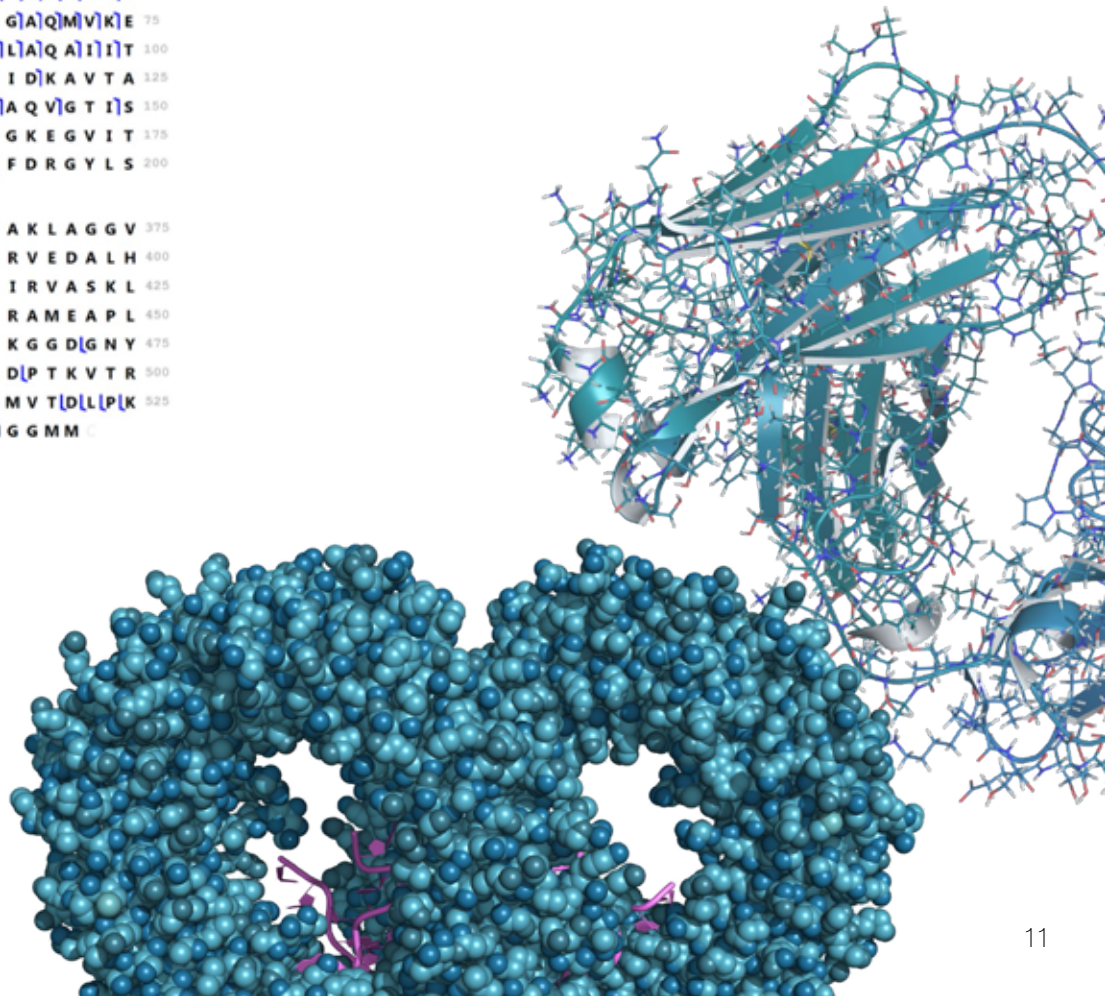
通过高质量四极杆选择和有效 HCD 碎裂实现 GroEL 蛋白单体的非变性自上而下分析。

## 21% 氨基酸残基覆盖率

```

1  A A K D V K F G N D A R V K M L R G V N V L A D A 25
24 V K V T L G P K G R N V V L D K S F G A P T I T K 50
51 D G V S V A R E I E L E D K F E N M G A Q M V K E 75
76 V A S K A N D A A G D G T T T A T V L A Q A I I T 100
101 E G L K A V A A G M N P M D L K R G I D K A V T A 125
126 A V E E L K A L S V P C S D S K A I A Q V G T I S 150
151 A N S D E T V G K L I A E A M D K V G K E G V I T 175
176 V E D G T G L Q D E L D V V E G M Q F D R G Y L S 200
...
351 Q I E E A T S D Y D R E K L Q E R V A K L A G G V 375
376 A V I K V G A A T E V E M K E K K A R V E D A L H 400
401 A T R A A V E E G V V A G G G V A L I R V A S K L 425
426 A D L R G Q N E D Q N V G I K V A L R A M E A P L 450
451 R Q I V L N C G E E P S V V A N T V K G G D G N Y 475
476 G Y N A A T E E Y G N M I D M G I L D P T K V T R 500
501 S A L Q Y A A S V A G L M I T T E C M V T D L L P K 525
526 N D A A D L G A A G G M G G M G G M G M M

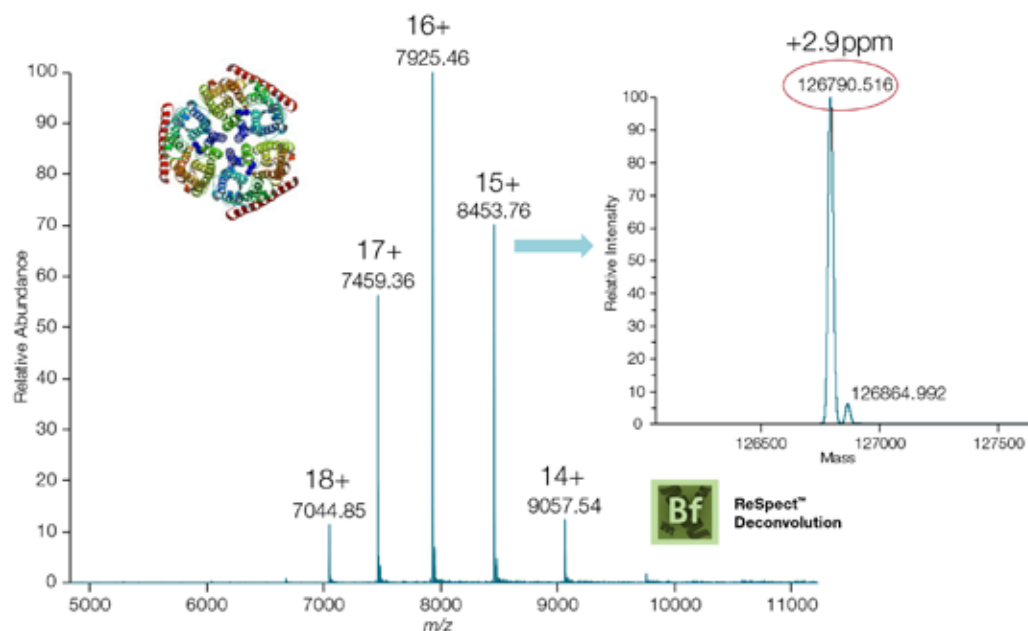
```



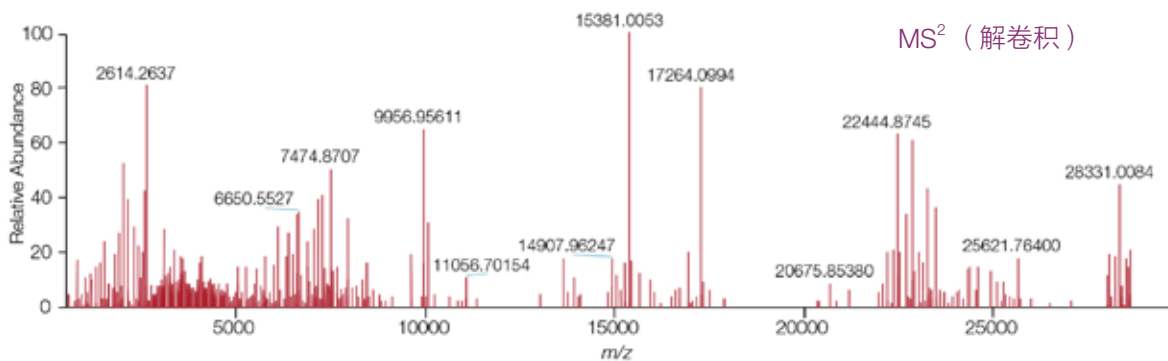
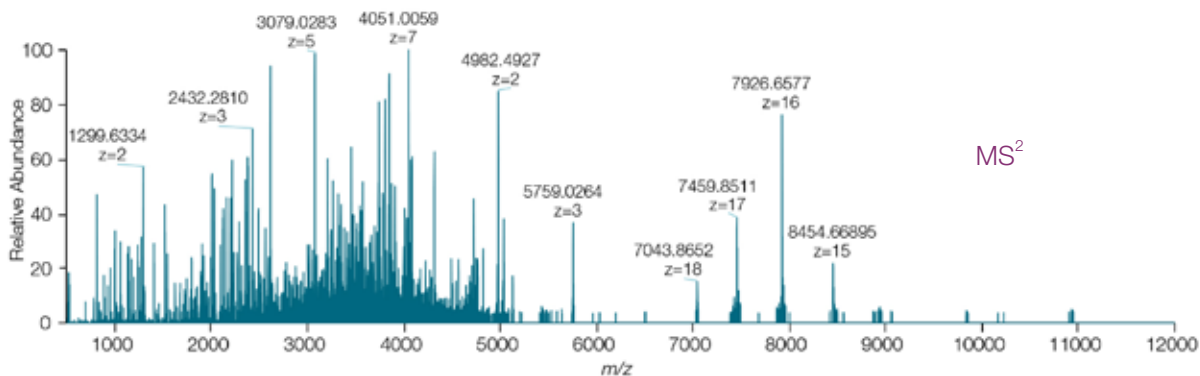
# 新型源内捕获技术可用于膜蛋白和膜蛋白复合体的非变性质谱和非变性自上而下分析

膜蛋白通常具有疏水性，需要多种去垢剂帮助溶解。这对许多生物物理分析方法（包括非变性质谱）来说是一个极大的挑战。通过源内捕获技术，Q Exactive UHMR 质谱仪可以将完整膜蛋白组件从各种洗涤剂胶束和膜模拟物中直接释放到离子源中。通过改变源内捕获能量，可以保留与多配体结合的膜蛋白，或者可以释放亚基以便自上而下分析。

## AmtB 膜蛋白复合体的非变性质谱和非变性自上而下分析



源内捕获可以有效去除洗涤剂胶束，进行准确的非变性质谱分析。



通过高质量四极杆选择和有效 HCD 碎裂实现 AmtB 膜蛋白复合体的非变性自上而下分析。

## 19% 氨基酸残基覆盖率

```

N [G] A S V A D K A [D] N [A] F [M] M [I] C [T] A [L] V [L] F [M] [T] I 25
26 [P] G [I] A [L] F Y G G L I R G K N V L S M L [T] Q [V] [T] V 50
51 [T] F [A] [L] V [C] [I] L [W] [V] [Y] [G] Y S [L] [A] F [G] E [G] N [N] F [F] 75
76 [G] N [I] N W L M L K N I E L T A V M G S I Y Q Y I H 100
101 [V] A F Q G S F A C I T V G L I V G A L A E R I R F 125
126 S A V L I F V V V W L [T] L S Y I P I A H M V [W] G G 150
151 G L [L] A S H G A [L] D F A [G] G T V V H I N A A I A G 175
176 L V G A Y L I G K R V G F G K E A F K P H N L P M 200
201 V F T G T A I L Y I G W [F] G F N A G S A G T A [N] E 225
226 [I] A A L A [F] V N T V V A T A [A] A I L G [W] I F G E W 250
251 A L R G K P S L L G A C S G A I A G L [V] [G] V [T] [P] A 275
276 C G Y I G V G G A L I V G V V A G L A G L W G V T 300
301 M L K R L L R V D [D] P C [D] V F G V H G V C G I V G 325
326 C I M T G I F A A S S L G G V G F A E G V T M G H 350
351 Q L L V Q L E [S] I [A] I T I V W S G V V A F I G Y K 375
376 L A D [L] T V G L R V P E [E] [Q] E [R] E [G] L D [V] N S H G 400
401 E N A Y N A C
  
```

Scores	
PCS:	711.17
P-Score:	9.30E-63
% Fragments Explained:	24%
% Residue Cleavages:	19%

Matching Fragments (Count 77)						
Name	Ion Type	Ion Number	Theoretical Mass	Observed Mass	Mass Difference (Da)	Mass Difference (ppm)
B230	B	230	24,349.81	24,349.80	-0.009	-0.38
B231	B	231	24,496.88	24,496.83	-0.043	-1.74
B239	B	239	25,252.29	25,252.36	0.062	2.45
B244	B	244	25,677.56	25,677.52	-0.040	-1.54
B270	B	270	28,330.98	28,331.01	0.031	1.10
B271	B	271	28,388.00	28,387.97	-0.026	-0.91
B271	B	271	28,388.00	28,387.97	-0.026	-0.91

低 ppm 质量数准确度能够可靠表征 AmtB 蛋白。鉴定到的 75 个 b、y 离子，能够覆盖 19% 的氨基酸残基。

“膜蛋白是所有生物物理技术中极具挑战性的一类药物靶点，但对现今和未来的药物发现至关重要。”

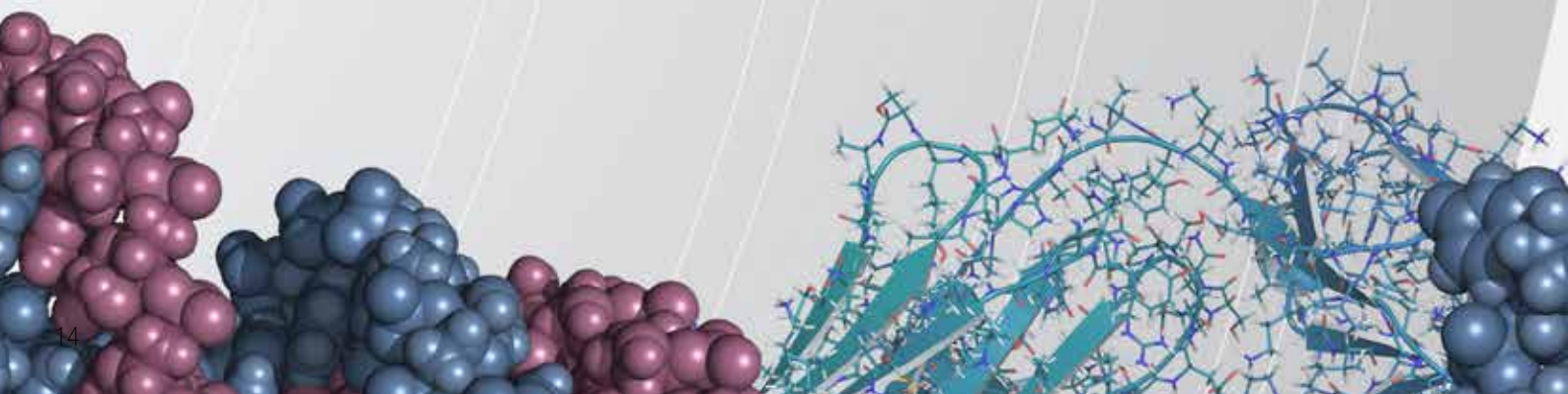
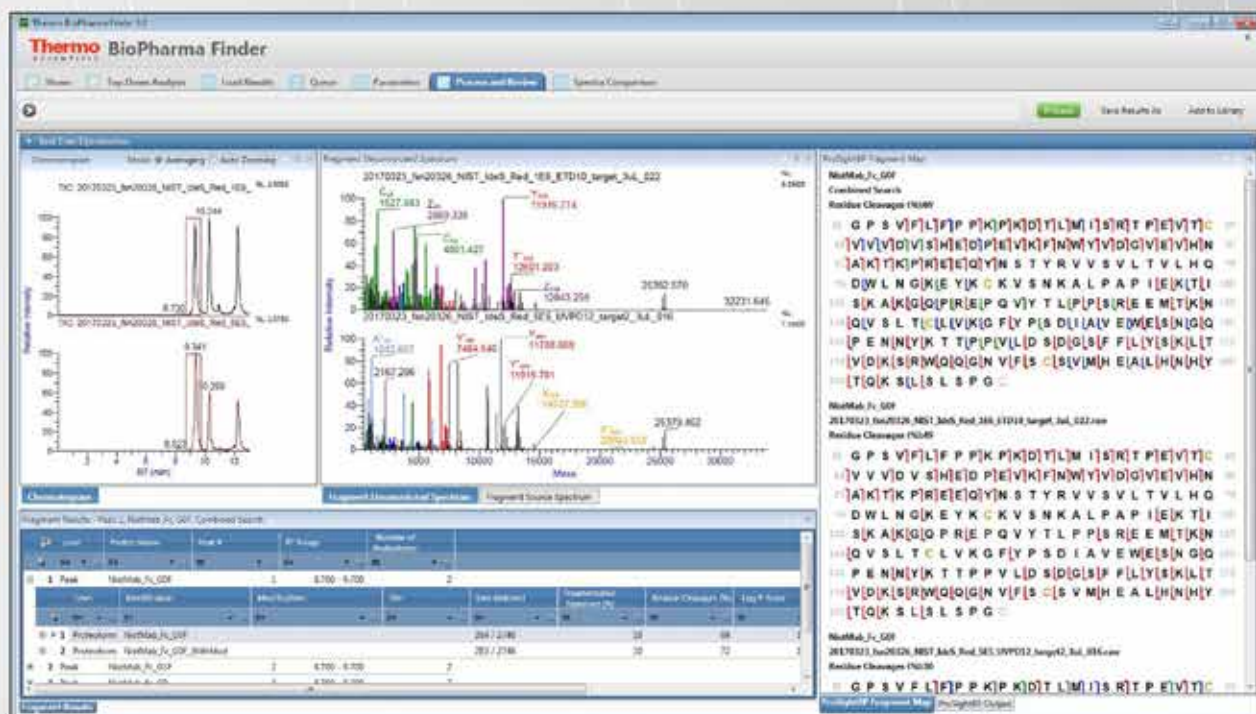
—Dame Carol Robinson 教授，牛津大学，OMass Technologies 创始人兼首席科学顾问

# 强大的 Thermo Scientific 软件 支持生物学研究



## Thermo Scientific BioPharma Finder 质谱信息学平台 ——完整蛋白及自上而下的分析

使用 Thermo Scientific™ BioPharma Finder™ 软件能够更加高效、可靠地筛查、鉴定和表征完整蛋白质。所有 BioPharma Finder 软件工作流程充分利用由 Thermo Scientific™ Orbitrap™ 质谱仪生成的高质量 HRAM 数据。确认蛋白质、寡核苷酸及蛋白质复合物的完整分子量。通过使用自动的自上而下工作流程，有效完成蛋白序列、修饰类型及修饰位点的解析。



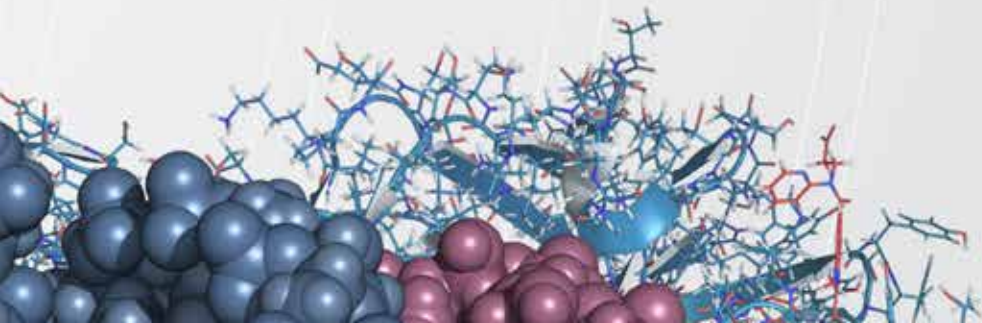


## Thermo Scientific ProSightPC 软件

使用 Thermo Scientific™ ProSightPC™ 软件对蛋白质组学数据执行自上而下的快速分析，这也是第一款解析涵盖已知翻译后修饰（PTMs）的蛋白的独立软件。ProSightPC 软件适用于多种裂解技术生成的数据并处理全部精确的 MS/MS 数据。基于 MS/MS 谱图，它是唯一一款允许客户检索 uniprot 蛋白复合物数据库的软件。

The screenshot displays the ProSightPC software interface. At the top, there is a menu bar and a toolbar. Below that is a table of search results with columns for 'Data ID', 'Search ID', 'Status', 'Search Type', 'Peptide Search', 'Best Expectation', and 'Matching Form'. The table lists several search results, with the first one highlighted. Below the table, there are fields for 'Precursor Mass Type: Mono or Avg', 'Fragment Tolerance: 15 Da ppm', and 'Mass Type: Mono or Avg'. To the right, there are 'Scores' and 'Expectation' fields. A large '19%' is displayed, indicating the percentage of fragments explained. Below this, there is a 'Difference' field showing '840.0004 Da - 29376.8800 ppm'. The main part of the interface shows a protein sequence with various modifications highlighted in different colors. The sequence is:   
E-R-Y-D-S-R-T-T-I-F-S-P-E-I-G-R-L-Y-Q(V)E(Y)A(H)-E  
A-I-G-H-A-G-T-S-L-G(I)I(L)A-N-D-G-V-L-L-A-A-E-R-R-N  
I-H-K-L-L-D-E-V-F-F-S-E-K(I)Y(K)-L-N-E-D-M-A-E-S(V)  
A(G)I(I)S-D(A)N-V(L)T-N-E-L-R(L)-I-A-Q-R-Y(L)I(Q)Y(I)  
Q(E)P(I)P-C-E-Q-L-V(T)A-L-E-D-T-K-Q-A-Y-T-Q-F-G-G  
K-R-P-F-G-V-S-L-L-Y-I-G-W-D-K-H-Y-G-F-Q-L-Y(Q)S(D)  
P-S-G-N-Y(G)G-W-K-A-T-E-I(G)N(S)A(A)A-V(S)M-L-K  
Q-D(Y)K-E-G-E-M-T-L-K-S-A-L-A-L-A-I-K-V-L-N-K-T-M  
D-V-S-K-L-S-A-E-K-V-E-I-A-T-L-T-R-E-N(G)K-T-V-I-R  
V-L-K-Q-K-E-V-E-Q-L-I-K-K(H)E-E-E(A)K-A-E-R-E-K  
K-E-K-E-Q-K-E-K-D-K

On the right side, there is a 'Series Information' panel with fields for 'Residues: N:1 C:260', 'Amino Acid: S', 'RESID: 31', and 'Start PTM: Acetylation'. Below this is a 'PTM Choices' section with a 'None' button and a 'Custom' button. A legend shows 'Acetylation' in red, 'O3-phosphoserine-L-serine' in orange, 'Palmitate' in cyan, and 'Phosphorylation' in blue. At the bottom right, there is a 'Fixed Modifications' section.



## 赛默飞世尔科技

---

### 上海

上海市浦东新区新金桥路 27 号 3,6,7 号楼  
邮编 201206  
电话 021-68654588\*2570

### 生命科学产品和服务业务

上海市长宁区仙霞路 99 号 21-22 楼  
邮编 200051  
电话 021- 61453628 / 021-61453637

### 成都

成都市临江西路 1 号锦江国际大厦 1406 室  
邮编 610041  
电话 028-65545388\*5300

### 南京

南京市中央路 201 号南京国际广场南楼 1103 室  
邮编 210000  
电话 021-68654588\*2901

### 北京

北京市安定门东大街 28 号雍和大厦西楼 F 座 7 层  
邮编 100007  
电话 010-84193588\*3229

### 生命科学产品和服务业务

北京市朝阳区东三环北路 2 号南银大厦 1711 室  
邮编 100027  
电话 010-84461802

### 沈阳

沈阳市沈河区惠工街 10 号卓越大厦 3109 室  
邮编 110013  
电话 024-31096388\*3901

### 武汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路  
生物医药园 C8 栋 5 楼  
邮编 430075  
电话 027-59744988\*5401

### 广州

广州国际生物岛寰宇三路 36、38 号合景星辉  
广场北塔 204-206 单元  
邮编 510000  
电话 020-82401600

### 西安

西安市高新区科技路 38 号林凯国际大厦  
1006-08 单元  
邮编 710075  
电话 029-84500588\*3801

### 昆明

云南省昆明市五华区三市街 6 号柏联广场写字  
楼 908 单元  
邮编 650021  
电话 0871-63118338\*7001

欲了解更多信息，请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国共有 21 个办事处。本资料中的信息，说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。



赛默飞  
官方微信



赛默飞  
官方网站

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

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC