

液相層析串聯質譜儀

Liquid chromatography–Mass spectrometry

服務項目：**液相層析暨高精準高解析質譜分析**
(主要於高通量蛋白體分析應用-定性及定量)

儀器簡介：

Mass spectrometry : Q-Exactive HF (ThermoFisher)

*High resolution :
Up to 240,000 @200m/z

*High accuracy:
5 ppm



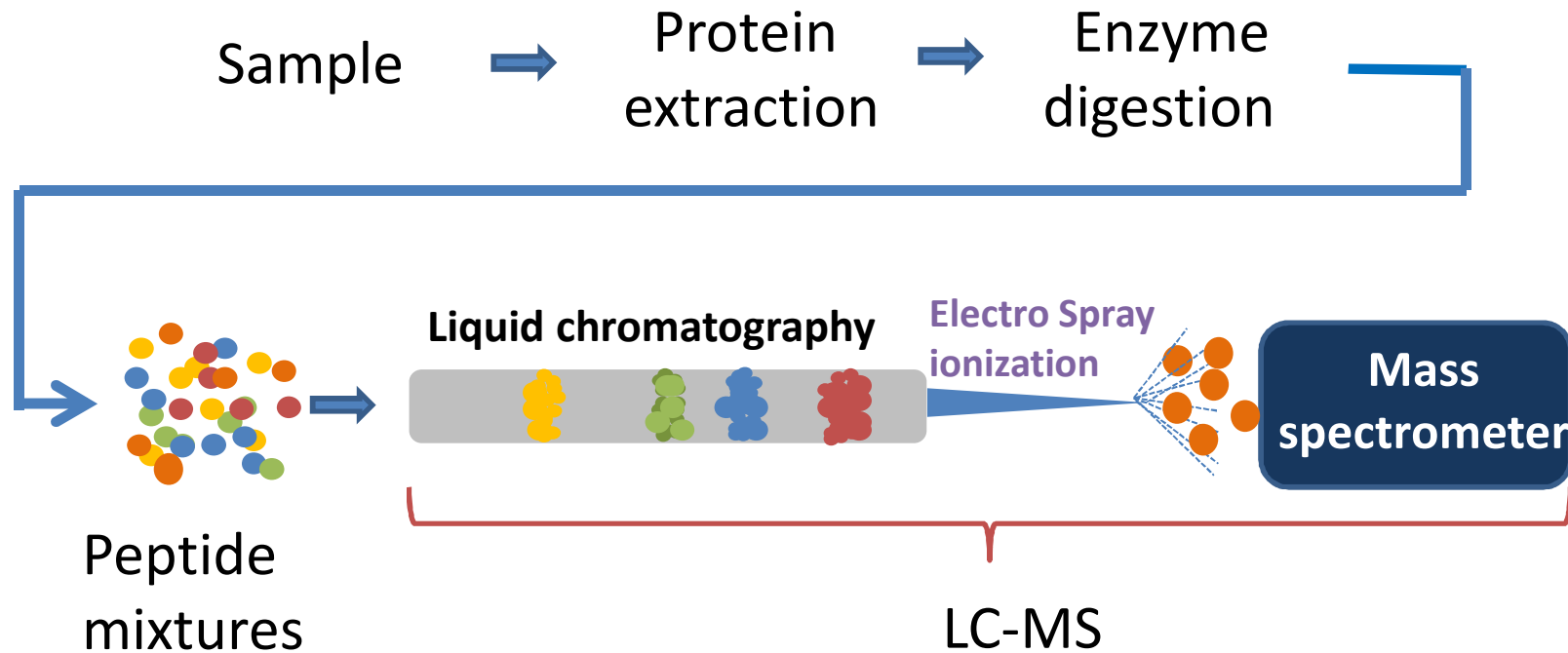
Nano flow HPLC:
flow rate ~0.3uL/min

高通量蛋白質體分析 Shotgun Proteomics

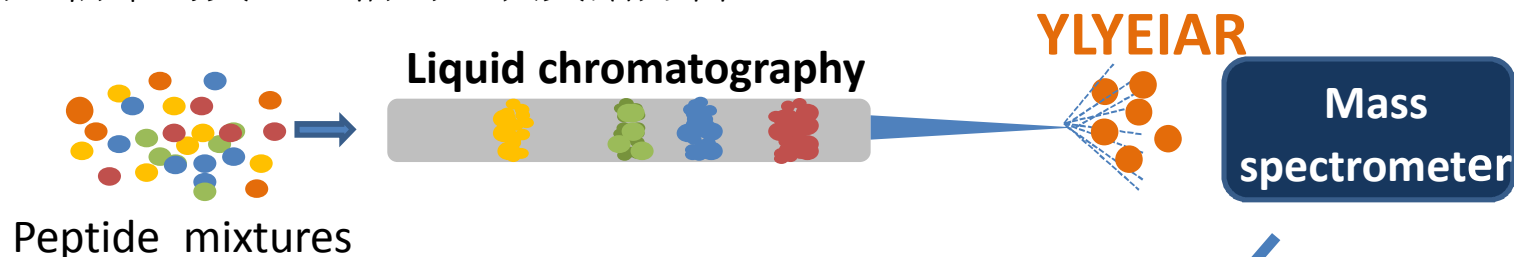
以質譜方式快速且大規模的分析蛋白質體（定性/定量）為高通量蛋白質體分析

基本流程：

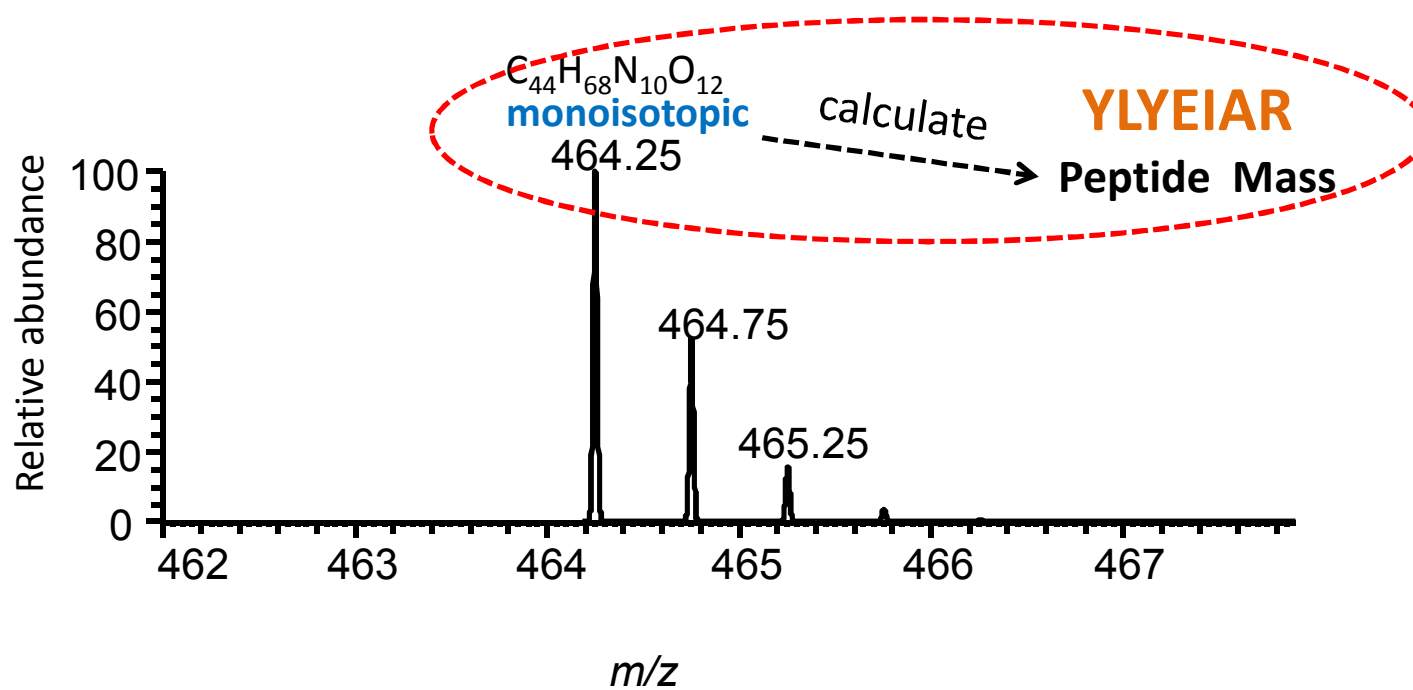
萃取出研究樣品的蛋白質後，經過酵素水解轉化成胜肽群，再由高效能液相層析分離不同的胜肽分子，進而由電噴灑技術將其離子化後進入質譜儀分析。



經液相層析分離後的胜肽，經由電噴灑離子化後，進入高精準高解析度質譜儀測量精準的質量，稱為一次質譜分析

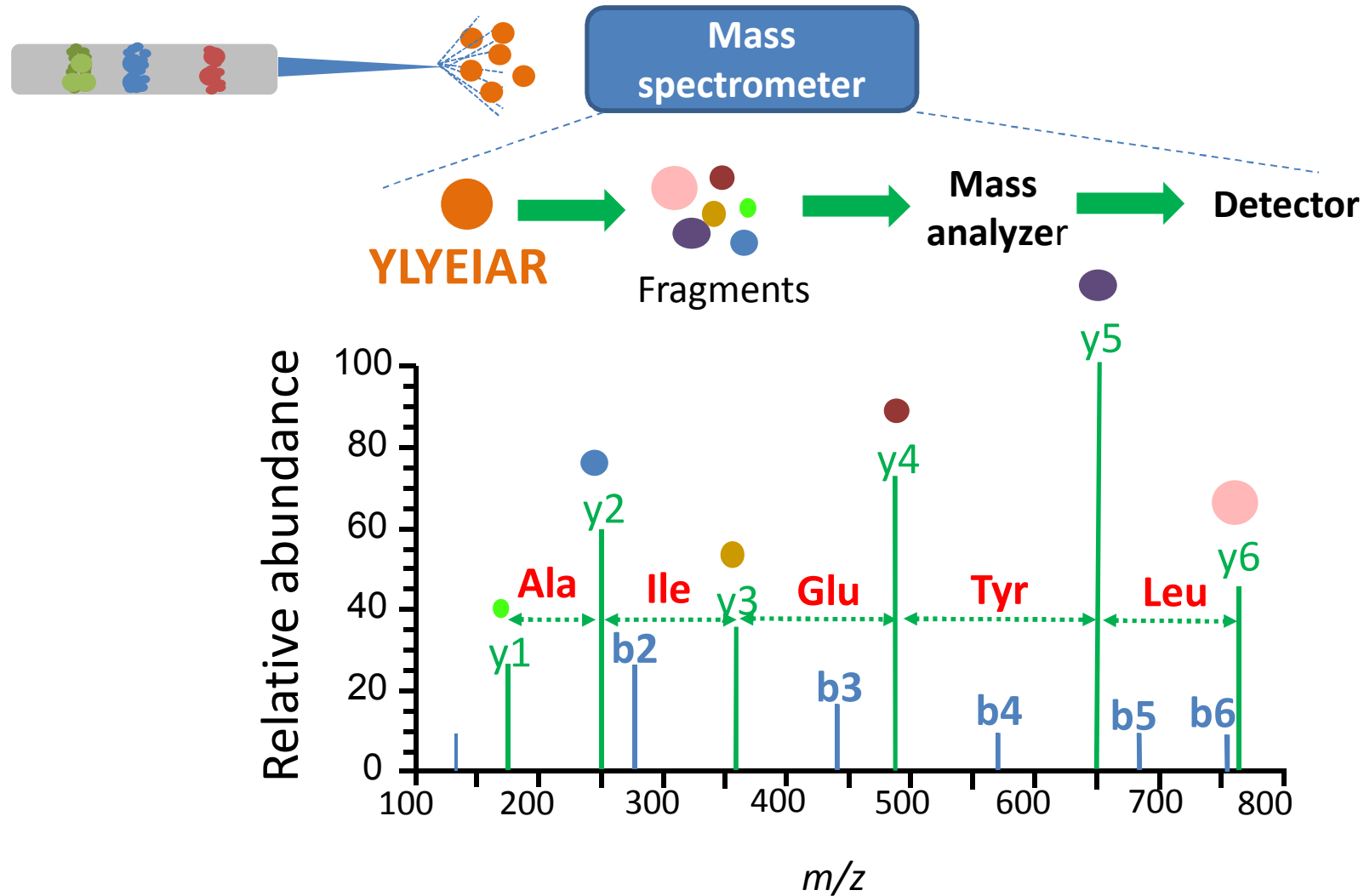


一次質譜分析 MS



二次質譜分析MS/MS

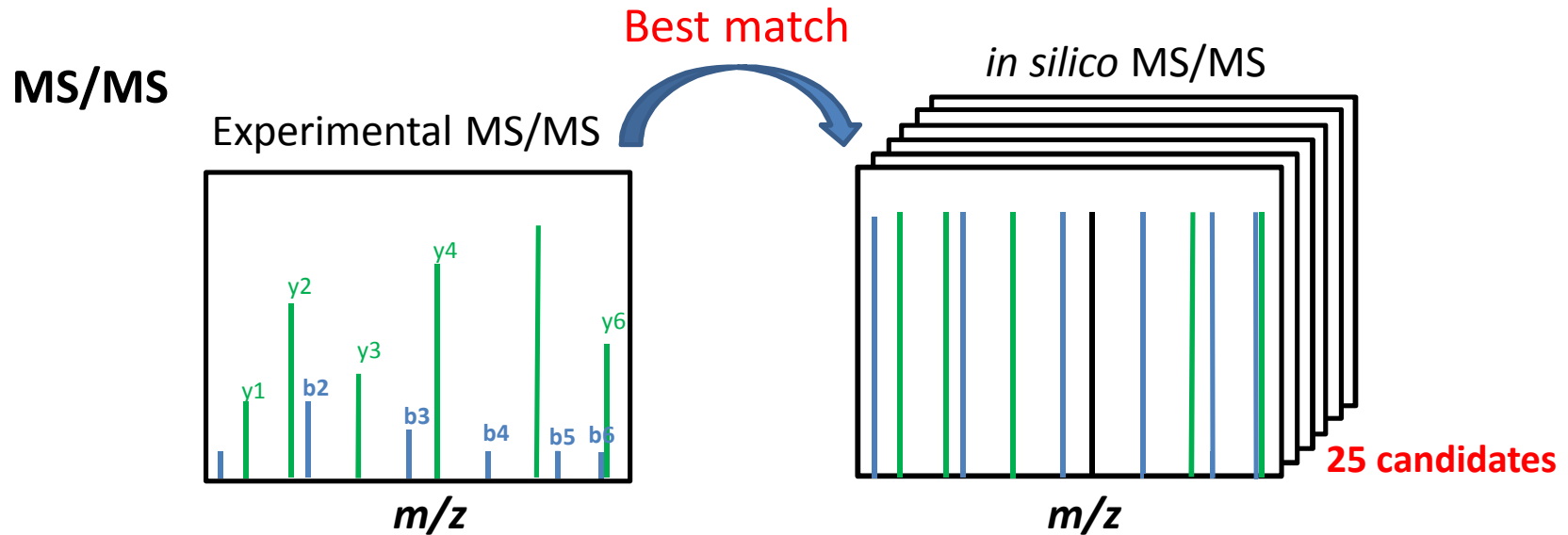
接著胜肽經由碰撞誘導解離變成不同之片段，並於譜儀中測量這些片段的質量，稱為二次質譜分析。二次質譜分析，可得到含有胜肽序列的訊息。



資料庫分析 (Database Searching)

由一次質譜及二次質譜的資訊，搜尋資料庫後，可得到胜肽及蛋白資訊

MS	Peptide Mass (YLVEIAR)	Tolerance (Measurement error)	Peptide candidates (in Data base)
	1529.73	0.01 Da (6.5 ppm)	25



find your peptide in a database based on its fragments' masses

Peptides Identifications → Protein identifications

液相層析暨高精準高解析質譜分析 高通量蛋白質體分析應用

樣品經過高效能液相層析，可以降低樣品的複雜性及干擾性，提升偵測的敏感度及蛋白質體涵蓋度

高精準高解析質譜分析，能精準的分辨不同的樣品，提升鑑定的正確率

搭配定量分析策略，如同位素標定SILAC、TMT、iTRAQ等，可以進行有效率的蛋白質體定量分析

搭配胜肽前處理分離技術，如高鹼性逆相層析分離(High pH reverse phase fractionation)等，可以大幅度增加蛋白質體涵蓋度

以HeLa cell為例，核心實驗室目前可分析

Single run (2h gradient)	搭配胜肽分離技術 High pH RP -8 fractions	搭配同位素標定 SILAC、TMT
>4000 protein IDs	>8000 protein IDs	>8000 protein IDs & quantification