



## QE 鉴定检测实验报告

### 一、实验条件

Orbitrap Exploris™ 480 液质联用仪	Thermo Scientific™
Source	nano-ESI
Capillary (kV)	2.0
Capillary Temperature (°C)	320
Runtime (min)	0 to 60
Polarity	Positive
Resolution	60000
AGC target	Custom
Maximum IT (ms)	25
Scan range (m/z)	350-1500
Data Dependent Mode	Cycle Time
Time between Mater Scan (sec)	2
dd-MS <sup>2</sup>	N/A
Resolution	15000
First Mass (m/z)	110
HCD Collision Energies (%)	30
AGC target	Custom
Maximum IT (ms)	22
Dynamic exclusion duration (s)	45

液相: VANQUISH NEO 纳升液相	Thermo Scientific™
Trap column : Pepmap NEO C18 5um 300um x 5mm	Thermo Scientific™
Column: Acclaim PepMap 75um x 25cm, nanoViper C18, 2um, 100A	Thermo Scientific™
Eluents: A: 水 (含 0.1%甲酸), B:80%乙腈 (含 0.1%甲酸)	N/A
Flow rate: 0.30 µL/min	N/A
Column Temperature: 55°C	N/A

Time	Duration	Flow rate (µL/min)	Composition (%B)
------	----------	--------------------	------------------



0.00	0.00	0.50	4.0
1.80	1.80	0.50	4.5
2.00	0.20	0.30	5.0
41.00	39.00	0.30	20.0
57.00	16.00	0.30	35.0
57.50	0.50	0.50	55.0
58.00	0.50	0.50	99.0
60.00	2.00	0.50	99.0

## 二、供试品信息：

三、实验目的：在生物医药领域，作为药物的蛋白质多肽分子首先要进行定性的分析工作。

## 四、样品前处理

### 4.1 Sep-Pak C18 小柱脱盐：

Sep-Pak C18 小柱加入乙腈活化，再加入纯水平衡，备用。

### 4.2 样品脱盐：

称取适量样品，加入 0.1%甲酸纯水溶液，配成约  $1\mu\text{g}/\mu\text{L}$  浓度的溶液，超声，离心取上清 200  $\mu\text{L}$  加入 Sep-Pak C18 小柱，用 100  $\mu\text{L}$  纯水洗涤三次，每次丢弃洗脱液，加入 100  $\mu\text{L}$  (0.1%甲酸 80%乙腈) 洗脱液 2 次，收集洗脱液共 200  $\mu\text{L}$ 。

### 4.3 上样：

洗脱液离心浓缩干燥，用 200  $\mu\text{L}$  0.1%甲酸纯水复溶，12000 rpm 离心 10 min 取上清 20  $\mu\text{L}$  加入样品瓶上样。

## 五、结果分析

Proteome Discoverer 软件 (V3.0) ，

database: 构建含有海参 (sea cucumber) 蛋白序列的 fasta 数据库

Variable modification: Oxidation (M)

Enzyme: No-Enzyme (Unspecific)

仅供科研用途，不可用于临床诊断！