

2016

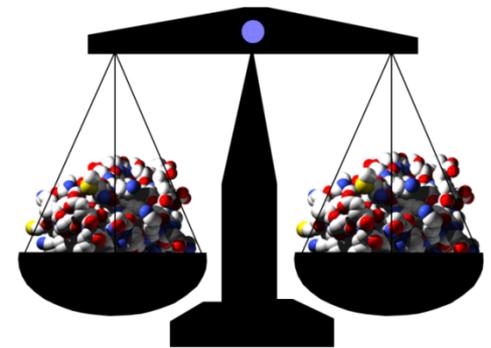
「公用儀器服務說明會」

高解析四極棒/飛行時間式串聯質譜儀(MS)  
蛋白質鑑定分析服務說明

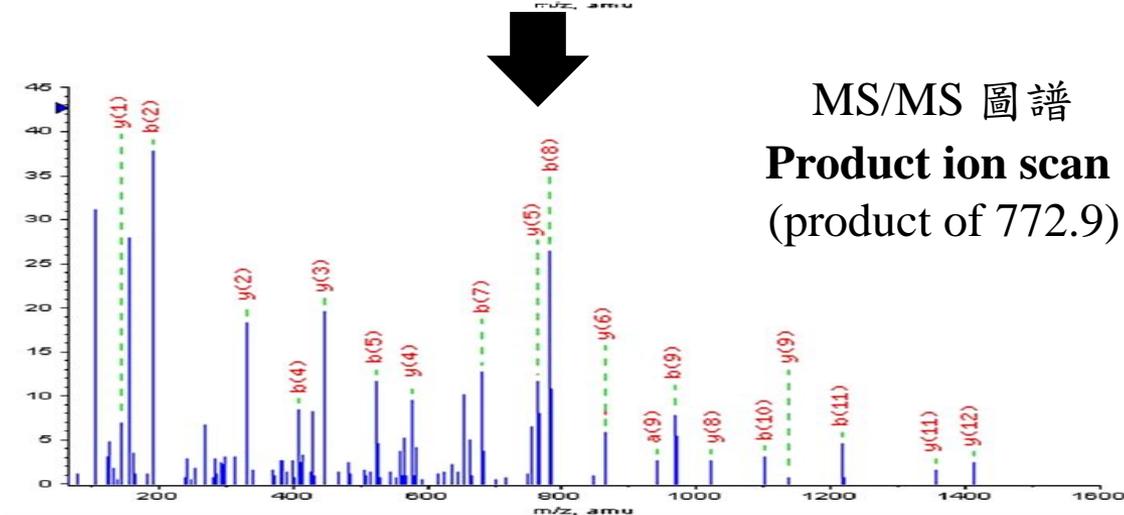
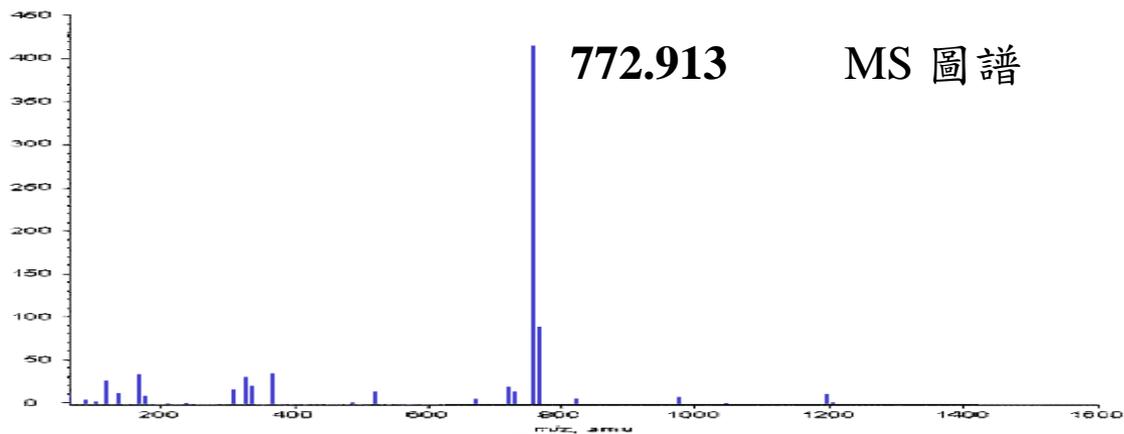
賴建成老師實驗室 簡涵如

# 質譜儀 (Mass spectrometry, MS)

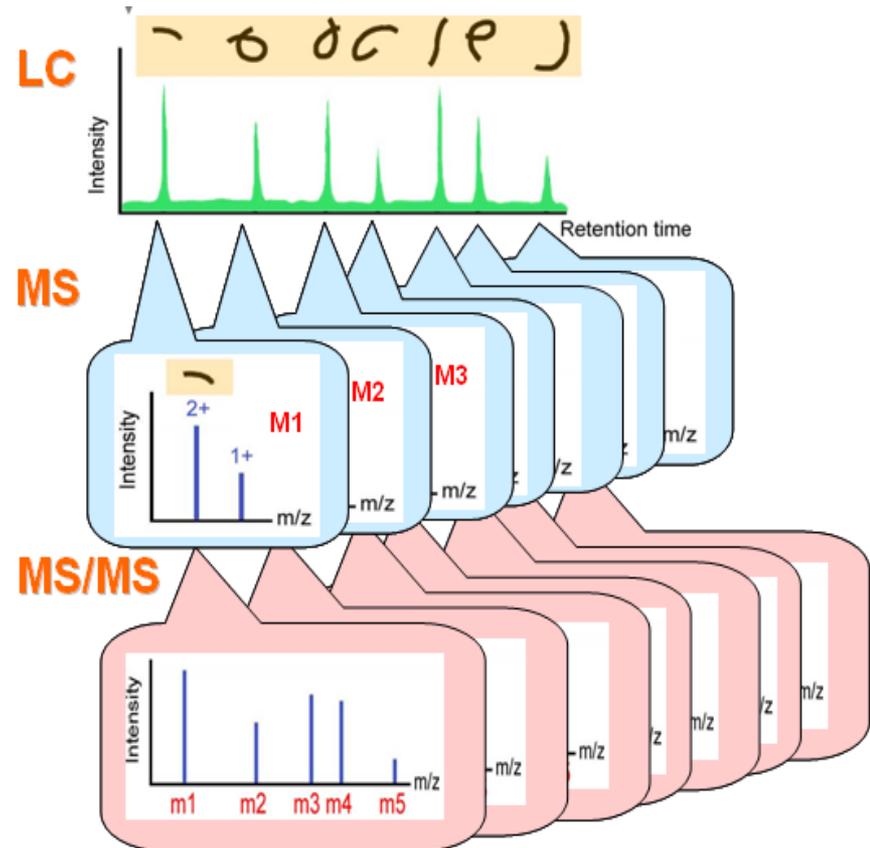
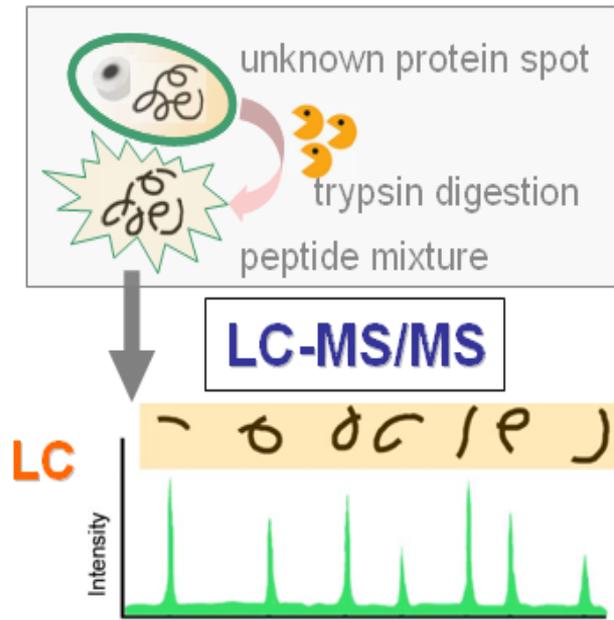
- 測量氣態離子質荷比 (mass/charge,  $m/z$  or  $m/e$ )
- 當離子帶1個電荷數時，其質荷比等於該離子之質量數
- 不同質荷比的離子，經質量分析器分離後，被偵測器偵測並記錄產生的圖譜稱為質譜圖



# 串聯式質譜儀 (MS/MS)



# MS/MS ion search



# LC-MS/MS 蛋白質身分鑑定結果

## Protein View

Match to: ALBU\_RAT Score: 849

Serum albumin OS=Rattus norvegicus GN=Alb PE=1 SV=2

Nominal mass ( $M_r$ ): 70682; Calculated pI value: 6.09

NCBI BLAST search of [ALBU\\_RAT](#) against nr

Unformatted [sequence string](#) for pasting into other applications

Taxonomy: [Rattus norvegicus](#)

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C)

Variable modifications: Deamidated (NQ), Oxidation (HW), Oxidation (M)

Cleavage by Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P

Sequence Coverage: 50%

Matched peptides shown in **Bold Red**

1	MKWVTFLLLL	FISGSAFSRG	VFRREAHKSE	IAHR <b>FKDLGE</b>	<b>QHFKGLVLIA</b>
51	<b>FSQYLQKCPY</b>	EEHIKLVQEV	<b>TDFAKTCVAD</b>	ENAENCDKSI	<b>HTLFGDKLCA</b>
101	<b>IPKLRDNYGE</b>	<b>LADCCAKQEP</b>	ERNECFLQHK	DDNPNLPPFQ	RPEAEAMCTS
151	FQENPTSFLG	HYLHEVARRH	<b>PYFYAPELLY</b>	<b>YAEKYNEVLT</b>	<b>QCCTESDKAA</b>
201	<b>CLTPKLDVAVK</b>	EKALVA AVRQ	RMKCSSMQR	GERAFKAWAV	ARMSQRFPNA
251	<b>EFAEITKLAT</b>	DVTKINKECC	<b>HGDILLECADD</b>	<b>RAELAKYMCE</b>	<b>NQATISSKLQ</b>
301	<b>ACCDKPVLQK</b>	SQCLAEIEHD	NIPADLPSIA	ADFVEDKEVC	KNYAEAKDVF
351	LGTFLYEYSR	<b>RHPDYSVSL</b>	<b>LRLAKKYEAT</b>	LEKCCAEGDP	PACYGTVLAE
401	FQPLVEEPKN	LVKTNCELYE	<b>KLGEYGEQNA</b>	<b>VIVRYTQKAP</b>	<b>QVSTPTLVEA</b>
451	<b>ARNLGRVGTK</b>	<b>CCTLPEAQR</b>	<b>PCVEDYLSAI</b>	<b>LNR</b>	<b>LCVLHEK</b>
501	CSGSLVERRP	<b>CFSALTVDET</b>	<b>YVPKEFKAET</b>	<b>FTFHSDICTL</b>	<b>PDKEKQIKKQ</b>
551	<b>TALAELVKHK</b>	PKATEDQLKT	<b>VMGDFAQFVD</b>	<b>KCKKAADKDN</b>	<b>CFATEGPNLV</b>
601	<b>ARSKEALA</b>				

# LC-MS/MS 蛋白質身分鑑定結果

## Peptide View

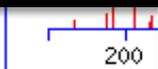
Monoisotopic mass of neutral peptide Mr(calc): 1661.8447

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C) (apply to specified residues or termini only)

Ions Score: 110 Expect: 6.6e-010

Matches : 19/114 fragment ions using 23 most intense peaks ([help](#))

#	b	b <sup>++</sup>	b <sup>*</sup>	b <sup>+++</sup>	b <sup>0</sup>	b <sup>0++</sup>	Seq.	y	y <sup>++</sup>	y <sup>*</sup>	y <sup>+++</sup>	y <sup>0</sup>	y <sup>0++</sup>	#
1	114.0913	57.5493					L							14
2	<b>211.1441</b>	106.0757					P	1549.7679	<b>775.3876</b>	1532.7414	766.8743	1531.7573	766.3823	13
3	<b>371.1748</b>	186.0910					C	<b>1452.7151</b>	726.8612	1435.6886	718.3479	1434.7046	717.8559	12
4	<b>470.2432</b>	235.6252					V	<b>1292.6845</b>	646.8459	1275.6579	638.3326	1274.6739	637.8406	11
5	<b>599.2858</b>	300.1465			581.2752	291.1412	E	<b>1193.6161</b>	597.3117	1176.5895	588.7984	1175.6055	588.3064	10
6	<b>714.3127</b>	357.6600			696.3021	348.6547	D	<b>1064.5735</b>	532.7904	1047.5469	524.2771	1046.5629	523.7851	9
7	<b>877.3760</b>	439.1917			859.3655	430.1864	Y	<b>949.5465</b>	475.2769	932.5200	466.7636	931.5360	466.2716	8
8	990.4601	495.7337			972.4495	486.7284	L	<b>786.4832</b>	393.7452	769.4567	385.2320	768.4726	384.7400	7
9	1077.4921	539.2497			1059.4816	530.2444	S	<b>673.3991</b>	337.2032	656.3726	328.6899	655.3886	328.1979	6
10	1148.5292	574.7683			1130.5187	565.7630	A	<b>586.3671</b>	293.6872	569.3406	285.1739			5
11	1261.6133	631.3103			1243.6027	622.3050	I	<b>515.3300</b>	<b>258.1686</b>	498.3035	249.6554			4
12	1374.6974	687.8523			1356.6868	678.8470	L	<b>402.2459</b>	201.6266	385.2194	193.1133			3
13	1488.7403	744.8738	1471.7137	736.3605	1470.7297	735.8685	N	<b>289.1619</b>	145.0846	272.1353	136.5713			2
14							R	175.1190	88.0631	158.0924	79.5498			1



1.0 1661.8181 0.0874 [VQEQLSMAEKELEK](#)

# 儀器設施

---

四級棒-飛行時間式串聯質譜儀系統 (Q-TOF)

廠牌/型號：Applied Biosystems / QSTAR® Elite

(2010購入)



# 儀器使用說明

1. 儀器由專人管理，不開放給使用者操作
2. 支援生科中心蛋白質譜鑑定分析服務 (LC-MS/MS)
3. 服務項目及收費標準：

項 目	校內價	校外價
蛋白質身分鑑定 II	2000元/個	3000元/個
功能性分子檢測	2000元/個	3000元/個

# 服務申請作業流程

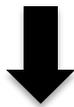
使用者填寫申請表

實驗室主持人  
簽名或蓋章



樣品及申請表送至收件處  
動植物防檢疫大樓6樓605室

由專人進行樣品  
前處理及分析



寄送分析結果  
及繳費通知單



申請『蛋白身分鑑定II』  
服務，請至校內貴儀系統  
進行預約(儀器編號：B-03)

# 服務送件相關資訊

---

**收件地點：** 蛋白質譜鑑定分析實驗室  
中興大學動植物防檢疫大樓六樓 (605室)

**收件時間：** 星期一至星期五，上午 10：00 至下午 4：00 止（不含例假日）

**取件時間：** 收件日起 一 ~ 二星期

**服務網頁：** 生科中心 -- 蛋白質譜分析  
[http://btc.nchu.edu.tw/proteomic\\_apply.php](http://btc.nchu.edu.tw/proteomic_apply.php)

**指導老師：** 分生所 賴建成 教授  
TEL: (04) 2284-0485 轉分機 235  
E-mail : lailai@dragon.nchu.edu.tw

**聯絡人：** 生科中心 陳惠宜 小姐  
TEL: (04) 2284-0450 ~ 452 轉分機 6051  
E-mail : yichen@dragon.nchu.edu.tw

# 送測樣品注意事項

1. 樣品狀態可以是固態粉末、水溶液樣品或是膠體樣品。
2. **不接受**放射性樣品及毒性樣品。
3. 水溶液樣品請盡量降低鹽類含量，尤其**不可含有磷酸鹽和清潔劑**。

Typical contaminants in protein/peptide samples

No interference	TFA, formic acid, $\beta$ -mercaptoethanol, DTT, volatile organic solvents, HCl, $\text{NH}_4\text{OH}$ , acetic acid
Tolerable (< 50mM)	HEPES, MOPS, Tris, $\text{NH}_4\text{OAc}$ , octyl glucoside
<b>Avoid</b>	<b>glycerol, PEG, sodium azide, DMSO, SDS, phosphate, NaCl, 2M urea, 2M guanidine</b>

4. **膠體樣品** -- 操作區域及器具須先以 methanol 擦拭；膠體配製、電泳、染色/去染及切割整個過程均須戴無粉手套及穿著實驗衣，以避免 keratins 污染樣品。

# 送測樣品注意事項

---

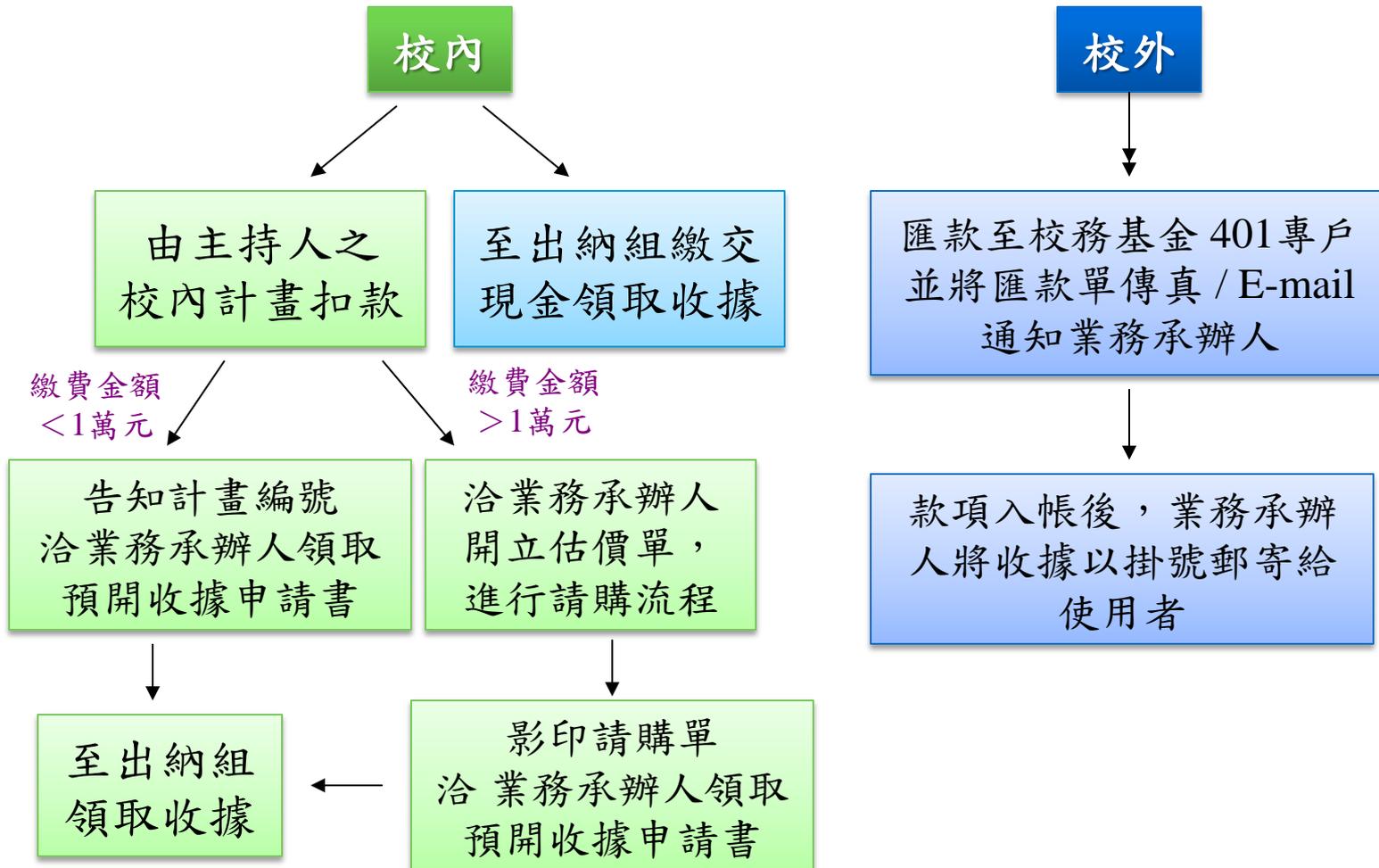
## 5. 蛋白質/胜肽分子量測定樣品需求量

- a. 固態粉末樣品量請至少準備蛋白質 30 pmol 以上。
- b. 水溶液樣品量請至少準備蛋白質濃度 10 pmol/ $\mu$ l 以上, 體積 30 $\mu$ l 以上, 樣品請保存於去離子水或 0.1% formic acid 中。

## 6. 蛋白質鑑定樣品需求量

- a. 固態粉末樣品量請至少準備蛋白質 50 pmol 以上。
- b. 水溶液樣品量請至少準備蛋白質濃度 10 pmol/ $\mu$ l 以上, 體積 50 $\mu$ l 以上, 請保存於去離子水或 0.1% formic acid 中。
- c. 膠體樣品量請至少準備蛋白質 10 $\mu$ g 以上, 請置入 1.5ml eppendrof tube內, 保存於去離子水中。

# 服務繳費方式



# 服務成果

年度	服務樣品數 LC-MS/MS
100年	297
101年	603
102年	329
103年	396
104年	191
105年1-8月	118
合 計	<b>1934</b>

# 服務使用者

## 100 ~ 104年服務使用者統計

### 校內：23 個單位 73 個實驗室

生科系、生技所、分生所、生化所、生醫所、食生系、獸病所、獸醫系、獸醫公衛所、基資所、動科系、園藝系、化學系、化工系、昆蟲系、環工系、土環系、森林系、植病系、微衛所、生科中心、水稻基因中心、動物教學醫院等

### 校外：41 個單位 55 個實驗室

中國醫藥大學、台灣大學、成功大學、嘉義大學、大葉大學、海洋大學、義守大學、陽明大學、清華大學、高雄海洋科大、國防醫學院、中山醫學大學、中山大學、臺東大學、雲林科大、動物科學研究所、中華醫科大、銘傳大學、慈濟大學、永信藥品、種苗改良繁殖場、海生館、台糖研究所、維他露食品、台鹽、達興材料、廣信生技、大江生醫、科妍生技、大豐膠囊、環球胜肽、高鼎機密材料、元弘草本科研、台灣東洋製藥、資源生技、四方乳品、達驛科研、台中榮總、農業試驗所、毒物藥物試驗所、國衛院等

校內外合計 64 個單位 128 個實驗室

# 儀器設施

---

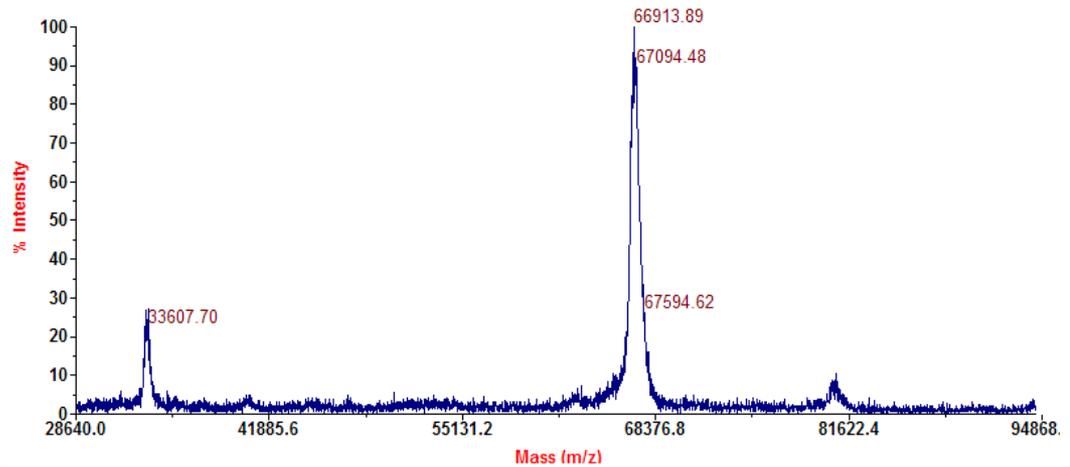
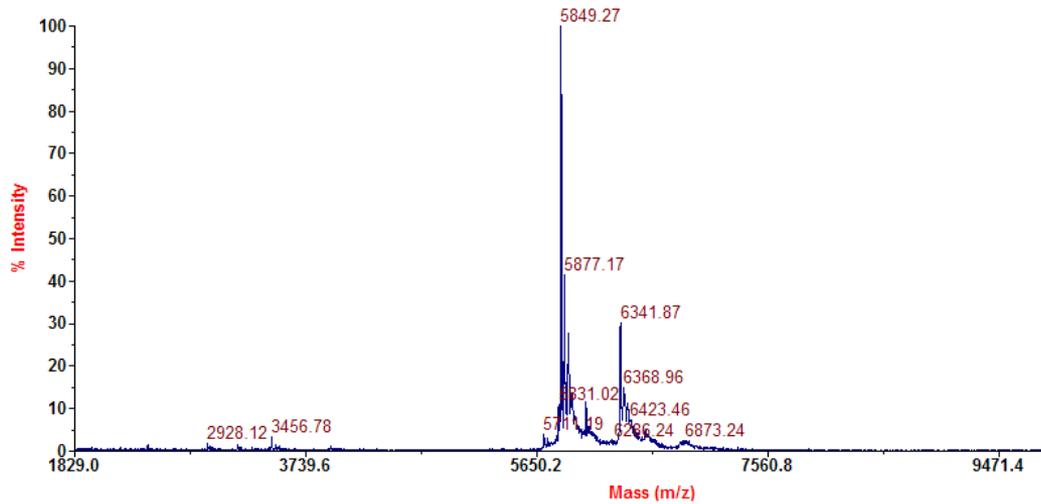
介質輔助雷射脫附游離飛行時間質譜儀 (MALDI-TOF)

廠牌/型號：Applied Biosystems / Voyager DE PRO

(2003購入)



# MALDI-TOF 分子量測定結果



# MALDI-TOF – 蛋白質身分鑑定結果

## MS-Fit Search Results

Acc. #: [P02769](#) Uniprot ID: ALBU\_BOVIN Species: BOVIN Name: Serum albumin  
Organism: Bos taurus Gene: ALB Existence: Evidence at protein level Version: 4

Index Number: 12278

pI of Protein: 5.8

Protein MW: 69294

Amino Acid Composition: A48 C35 D40 E59 F30 G17 H17 I15 K60 L65 M5 N14 P28 Q20  
R26 S32 T34 V38 W3 Y21

1 MKWVTFISLL LLFSSAYSRG VFRRDTHKSE IAHRFKDLGE EHFKGLVLIA FSQYLQQCPF DEHVKLVNEL TEFAKTCVAD  
81 ESHAGCEKSL HTLFGDELCK VASLRETYGD MADCCEKQEP ERNECFLSHK DDSPDLPKLK PDPNTLCDEF KADEK~~K~~FWGK  
161 YLYE IARRHP YFYAPELLYY ANKYNGVFQE CCQAEDKGAC LLPKIETMRE KVLASSARQR LRCASIQKFG ERALKAWSVA  
241 RLSQKFPKAE FVEVTKLVTD LTKVHK~~ECCH~~ GDLLLECADDR ADLAKYICDN QDTISSKLKE CCDKPLEKS HCIAEVEKDA  
321 IPENLPPLTA DFAEDKD~~VCK~~ NYQEAK~~DAFL~~ GSFLYEYSRR HPEYAVSVLL RLAK~~EYEATL~~ EECCA~~KDDPH~~ ACYSTV~~FDKL~~  
401 KHLVDEPQNL IKQNC~~DQFEK~~ LGEYGFQNAL IVRYTRKVPQ VSTPTLVEVS RSLGKVGTRC CTKPESERMP CTEDYLSLIL  
481 NRLCVLHEKT PVSEKVT~~CC~~ TESLVNRRPC FSALTPDETY VP~~KAFDEKLF~~ TFHADICTLP DTEK~~QIKKQT~~ ALVELLKHKP  
561 KATEEQ~~LKTV~~ MENFVAFV~~DK~~ CCAADD~~KEAC~~ FAVEGPKLVV STQTALA

5

27165

8/8/14

10.1 14.3 -76.5 53.8

No

[30701](#)

120358/5.3

[P13587](#)

YEAST

Sodium transport  
ATPase 1

# 蛋白質譜鑑定分析服務

服務項目	規格與單位	校內(元)	校外(元)
1. 胜肽或蛋白質 分子量測定	MALDI-TOF/個	800	1500
2. 蛋白質身分鑑定 I	MALDI-TOF/個	1000	2000
3. 蛋白質身分鑑定 II	LC-MS/MS/個	2000	3000

# 儀器設施

---

四級棒-飛行時間式串聯質譜儀系統 (Q-TOF)

廠牌/型號： Applied Biosystems SCIEX / Triple TOF 6600  
(2014購入)



# 儀器設施

---

線性離子阱式質譜分析系統 (Ion-Trap)

廠牌/型號：Thermo Electron / Finnigan LTQ XL

(2006購入)





# 中興大學蛋白質體核心實驗室

[http://btc.nchu.edu.tw/proteomic\\_apply.php](http://btc.nchu.edu.tw/proteomic_apply.php)

*Thank you for your attention*