

ETD 模块

用于 LTQ XL 和 Velos Pro 质谱仪 (与 LTQ Orbitrap XL、 LTQ Orbitrap Velos、 Orbitrap Velos Pro 和 Orbitrap Elite 兼容)

入门手册

98000-97008 修订版 A 2012 年 6 月





© 2012 Thermo Fisher Scientific Inc. 保留所有权利。

Automatic Gain Control、Data Dependent、EASY-nLC、Foundation、LTQ XL、Velos 和 Velos Pro 是商标, LTQ、Orbitrap 和 Xcalibur 是 Thermo Fisher Scientific Inc. 在美 国的注册商标。

下列名称是在美国和其他国家的注册商标。 Microsoft 和 Windows 是 Microsoft Corporation 的注册商标。

下列是在美国和可能在其它国家的注册商标: Supelco 是 Sigma-Aldrich Biotechnology LP 和 Sigma-Aldrich Co. 公司的注册商标。

所有其他商标都是 Thermo Fisher Scientific Inc. 及其子公司的财产。

Thermo Fisher Scientific Inc. 为购买产品的客户提供本文档,供其在操作产品时参考。本文档受版权保护,未经 Thermo Fisher Scientific Inc. 书面许可,严禁复制本文档或本文档的任何部分。

本文档的内容可能随时更改, 恕不另行通知。本文档中的所有技术信息仅供参考。本文档中的系统配置和规格将取代购买者先前获得的所有信息。

Thermo Fisher Scientific Inc. 不保证本文档的完整性和准确性,而且对于可能因使用本文档(即使 是在正确遵循本文档中的说明信息的情况下)而导致的任何错误、疏忽、损害或损失, Thermo Fisher Scientific Inc. 概不负责。

本文档不是 Thermo Fisher Scientific Inc. 和购买者之间的销售合同的一部分。任何情形下,都不得使用本文档来取代或修改任何"销售条款与条件",若两份文档信息发生冲突,则以"销售条款 与条件"中的信息为准。

发行历史:修订版A, 2012年6月

软件版本: Thermo LTQ Tune Plus 2.7.0 及以后版本; Microsoft Windows 7 Professional (32 bit) SP1—Thermo Foundation 2.0 及以后版本, Thermo Xcalibur 2.2 及以后版本; Windows XP Workstation SP3—Foundation 1.0.2 SP2 或者更早版本, Xcalibur 2.1 SP1 或更早版本

仅供研究使用。不可用于诊断。



合规性

Thermo Fisher Scientific 对其产品进行了全面测试和评估,确保完全符合相应的国内和国际法规。在系统 交付时,系统符合所有下一部分或产品名称部分说明的下列电磁兼容性 (EMC)和安全标准。

对系统所做的改动可能违反一项或多项 EMC 及安全标准。对系统的改动包括更换零件或增加未经 Thermo Fisher Scientific 专门授权和认定的部件、选项,或外围设备。为保证继续符合 EMC 和安全标准, 更换的零件和增加的部件、选项和外围设备必须从 Thermo Fisher Scientific 或其授权代理处订购。

下列Thermo Scientific 产品的合规性结果:

- LTQ XL/ETD 系统 (2008 年 11 月)
- LTQ Velos/ETD 系统 (2008 年 11 月)
- Velos Pro/ETD 系统 (2011 年 4 月)

LTQ XL/ETD 系统(2008 年 11 月)

EMC 指令 89/336/EEC

EMC 合规性已通过 TÜV Rheinland of North America, Inc. 评估。

EN 61000-3-2:2006	EN 61000-4-4:2004
EN 61000-3-3:1995, A1:2001, A2:2005	EN 61000-4-5:2005
EN 61326-1:2006	EN 61000-4-6:2007
EN 61000-4-2:1995, A1:1999, A2:2001	EN 61000-4-8:1993, A1:2001
EN 61000-4-3:2006	EN 61000-4-11:2004
FCC Class A, CFR 47 Part 15:2007	CISPR 11:1999, A1:1999, A2:2002

低压安全合规性

本设备符合低压指令 73/23/EEC 和协调标准 EN 61010-1:2001。



LTQ Velos/ETD 系统(2008 年 11 月)

EMC 指令 2004/108/EEC

EMC 合规性已通过 TÜV Rheinland of North America, Inc. 评估。

EN 61326-1:2006	EN 61000-4-4:2004
EN 55011:2007	EN 61000-4-5:2005
EN 61000-3-2:2006	EN 61000-4-6:2007
EN 61000-3-3:2005	EN 61000-4-11:2004
EN 61000-4-2:2001	FCC Part 15:2007
EN 61000-4-3:2006	

低压安全合规性

本设备符合低压指令 2006/95/EEC 和协调标准 EN 61010-1:2001。

Velos Pro/ETD 系统(2011 年 4 月)

EMC 指令 2004/108/EEC

EMC 合规性已通过 TÜV Rheinland of North America, Inc. 评估。

EN 61326-1:2006	EN 61000-4-3:2006
EN 55011:2007, A2:2007	EN 61000-4-4:2004
CFR 47, FCC Part 15, Subpart B, Class A:2009	EN 61000-4-5:2005
EN 61000-3-2:2006	EN 61000-4-6:2007
EN 61000-3-3:1995, A1:2001, A2:2005	EN 61000-4-8:1993, A1:2001
EN 61000-4-2:1995, A1:1999, A2:2001	EN 61000-4-11:2004

低压安全合规性

本设备符合低压指令 2006/95/EEC 和协调标准 EN 61010-1:2001。



符合 FCC 声明

本设备符合 FCC 法规第15章。操作必须符合以下两个条件:(1)设备不会造成有害干扰,和(2)设备必接受收到的任何干扰,包括可能引起误操作的干扰。



警告 使用本设备之前,仔细阅读并了解本手册内有关本产品的安全使用和操作的各种防范 措施注释、标记和符号。

抬举和搬运 Thermo Scientific 仪器的注意事项

为了安全,同时为了符合相关国际标准,搬运和/或移动 Thermo Fisher Scientific 仪器时,要求多人合作。本仪器很重、很庞大,一个人无法独自安全搬运。

正确使用 Thermo Scientific仪器的注意事项

符合国际法规:本仪器的使用条件与 Thermo Fisher Scientific 指定的方式不同时,可能消弱仪器提供的任何保护。

电磁传输磁化率

注意事项

仪器设计用于在受控电磁环境中工作。勿在仪器附近使用无线电射频发送器,例如手机。 有关生产地址的信息,参阅仪器上的标签。



WEEE 合规性

本产品需要符合欧盟的 Waste Electrical & Electronic Equipment (WEEE) (废弃电气与电子设备, WEEE) 指令 2002/96/EC。它以下列符号标示:



Thermo Fisher Scientific 与每个欧盟(EU)成员国的一家或更多家循环利用或处理公司签订合同, 这些公司应该处理或循环利用此产品。查看 www.thermoscientific.com/rohsweee 以获取有关 Thermo Fisher Scientific 符合这些指令以及用户国家中的循环利用规定的更多信息。

WEEE Konformität

Dieses Produkt muss die EU Waste Electrical & Electronic Equipment (WEEE) Richtlinie 2002/96/EC erfüllen. Das Produkt ist durch folgendes Symbol gekennzeichnet:



Thermo Fisher Scientific hat Vereinbarungen mit Verwertungs-/Entsorgungsfirmen in allen EU-Mitgliedsstaaten getroffen, damit dieses Produkt durch diese Firmen wiederverwertet oder entsorgt werden kann. Mehr Information über die Einhaltung dieser Anweisungen durch Thermo Fisher Scientific, über die Verwerter, und weitere Hinweise, die nützlich sind, um die Produkte zu identifizieren, die unter diese RoHS Anweisung fallen, finden sie unter www.thermoscientific.com/rohsweee.



Conformité DEEE

Ce produit doit être conforme à la directive européenne (2002/96/EC) des Déchets d'Equipements Electriques et Electroniques (DEEE).Il est marqué par le symbole suivant:



Thermo Fisher Scientific s'est associé avec une ou plusieurs compagnies de recyclage dans chaque état membre de l'union européenne et ce produit devrait être collecté ou recyclé par celles-ci.Davantage d'informations sur la conformité de Thermo Fisher Scientific à ces directives, les recycleurs dans votre pays et les informations sur les produits Thermo Fisher Scientific qui peuvent aider la détection des substances sujettes à la directive RoHS sont disponibles sur www.thermoscientific.com/rohsweee.

目录

	前言	.xiii
	相关文档	.xiv
	安全和特殊注意事项	.xiv
	联系我们	. xv
第1章	简介 MS/ETD 系统	1
	电子转移解离	2
	实验类型	2
	LTQ XL 和 LTQ Velos 实验类型	4
	EID 头短尖型 调谐和标准	4
	· 师 但 仲 仅 f 庄	· ·) 5
		•••
第2章	设置 Thermo Foundation Instrument Configuration	7
	将质谱仪添加至仪器配置	7
	指定用于质谱仪的试剂离子源	9
笜2 咅	调谐 ETD 横执	11
宋] 루	牁宙 LID 快次 打开 Tune Plus 窗口	12
	调谐试剂离子光学组件	. 12
	试剂离子光学组件的自动调谐	. 13
	手动调谐试剂离子源	. 17
	半自动调谐试剂离子光学组件	. 21
	查看试剂离子光学组件设置	. 22
	保存 ETD 调谐参数	. 23
笙₄音	执行 FTD 讲样实验	25
***	设置试剂进样设置	. 25
	对 AGC 目标值错误进行故障查找	. 26
	获取血管紧张素 I 的 ETD 质谱图	. 27
	优化试剂离子反应时间	. 31
65 - 1		05
弗 5 草		35
	Nth Order Double Play (E1D) 头短	. 36
	Data Dependent NL MS (LTD) 失恐 数据依赖决策树程序	. 40
	2547H 163/25 (C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/C/	• 15

目录

第6章	故障查找	.49
附录 A	荧蒽	.51
附录 B	血管紧张素 溶液	.53
	术语表	.55
	索引	.59

冬

冬	1.	Xcalibur Instrument Setup 窗口显示 New Method 页面
团	2	(Velos Pro/EID 系统)
回回	2. 2	也占し肌直以苷的 Thermo Foundation Instrument Configuration 卤口 o Value Dra Configuration 对任何
図図	Э. 4	Velos Pro Connguration 对 id 他
图团	4. 5	Velos Pro/EID 东纪的 Tune Plus 囱口
图). (Reagent Ion Source 利 ഥ () 从 ()) ()) ()) ()) ()) ())) ()))) () () () () () () ()) () () (
图	6. 7	Velos Pro/EID 东尔的风利离丁灰宿图 (
图	/.	Tune 为 Id 性 並 小 Automatic (日幼) 火田 10
含团	8.	Reagent Ion Optics 对话性
图网	9.	Irap Reagent Ion Transfer Optics 对话性
图	10.	1 une 剂 I
图	11.	Tune Plus 中试剂离于源调谐的图形视图 (Velos Pro/E1D 系统)20
图图	12.	Tune 对话性显示 Semi-Automatic 贝囬 21
图	13.	Reagent Ion Optics 对话性
图	14.	Trap Reagent Ion Transfer Optics 对话框
图	15.	Injection Control 对话框显示 Reagent 贝面
图	16.	Reagent Ion Source 对话框 (默认视图)
图	17.	为血管紧张素 I 配置 ETD 的 Define Scan 对话框
图	18.	血管紧张素 I 的 ETD MS/MS 质谱图 (Velos Pro/ETD 系统)30
图	19.	Tune 对话框显示 Reagent Ion Reaction Time 页面 32
冬	20.	<i>m/z</i> 433.3 的 ETD MS/MS 谱图及在 Tune Plus (Velos Pro/ETD 系统)
		中显示的优化图形
冬	21.	Tune 对话框显示 Reagent Ion Reaction Time 页面 (<i>m</i> /z 388.3)34
冬	22.	<i>m/z</i> 433.3 的 ETD MS/MS 谱图及在 Tune Plus (Velos Pro/ETD 系统)
		中显示的优化图形
冬	23.	Home Page (主页)的 Xcalibur Roadmap (Xcalibur 导航图)视图 36
冬	24.	Velos Pro/ETD 系统的 New Method 页面
冬	25.	Nth Order Double Play 对话框 37
冬	26.	Nth Order Double Play with ETD 模板 38
冬	27.	Data Dependent Settings 对话框显示 Activation 参数 39
图	28.	Data Dependent NL MS3 对话框 40
图	29.	Neutral Loss Masses (中性丢失质量数)表示例数据 41
图	30.	Data Dependent NL MS3 模板 42
冬	31.	Nth Order Double Play with ETD 模板 (Scan Event 2 选中)
图	32.	Data Dependent Settings 对话框中的 Current Scan Event 页面 46
图	33.	Data Dependent Decision Tree 的 Procedures 对话框 (Velos Pro/ETD) 47
图	34.	ETD 试剂 (荧蒽阴离子自由基)由荧蒽生成51

冬





ETD Module Getting Started Guide (ETD 模块入门手册) 描述了如何设置、校正及调 谐 LTQ[™] XL[™]/ETD、 LTQ Velos[™]/ETD 或 Velos Pro[™]/ETD 系统及如何采集电子转移 解离 (ETD)数据。

注释 对于 LTQ Velos/ETD 系统,除非另有说明,否则按照 Velos Pro/ETD 系统 信息进行操作。

目录

- 相关文档
- 安全和特殊注意事项
- 联系我们

✤ 若要对文档或 Help 提出更改建议

点击下面的链接完成有关本文档的简短调查。 在此先对您的帮助表示感谢。

DOCU	MENTATION
SU	RVEY

相关文档

除了本手册, Thermo Fisher Scientific为 LTQ XL/ETD 和 Velos Pro/ETD 系统提供表 1 列出的文档。可以从数据系统计算机访问这些 PDF 文件。

表1. LTQ XL/ETD 和 Velos Pro/ETD 系统文档

型号	相关文档
LTQ XL 和 Velos Pro	LTQ Series Preinstallation Requirements Guide (LTQ 系列预安装要求手册) LTQ Series Getting Connected Guide (LTQ 系列建立 连接手册) LTQ Series Getting Started Guide (LTQ 系列入门手册) LTQ Series Hardware Manual (LTQ 系列硬件手册)
ETD 模块	ETD Module Hardware Manual (ETD 模块硬件手册)

若要获得质谱仪 (MS) 手册,可从 Microsoft[™] Windows[™] 任务栏选择 Start (开始) > All Programs (所有程序) > Thermo Instruments (Thermo 仪器) > Manuals (手册) > model (型号),其中 model 是详细的 LTQ 系列型号,然后点击 要查看的 PDF 文件。

注释 对于 Thermo Xcalibur[™] 数据系统版本 2.0.7 或者更早版本(Microsoft Windows XP 操作系统),选择 Start > All Programs > Xcalibur > Manuals > LTQ > *model*。

软件也提供 Help (帮助)。若要进入 Help,从菜单栏选择 Help。

安全和特殊注意事项

确保遵循本手册中发布的事先声明。在方框内出现的安全和其他特别注意事项。 安全和其他特别注意事项包括下列内容:



注意事项 强调对人体、财产或环境可能会造成危害。每个"注意事项"都会标有适当的"注意事项"符号。

重要信息 强调防止软件损害、数据丢失或无效测试结果必需的信息; 或可能包含获得系统最佳性能的重要信息。

注释 强调普遍关注的信息。

提示 强调能够帮助简化工作的信息。

表 2列出 ETD 模块入门手册中其他特别需要注意事项的符号。

表2. 警告符号及其意义

符号	含义
	化学品 : 仪器中可能出现危险化学品。在处理致癌物质、腐蚀 性、刺激性、诱导有机体突变的物质、或者毒性化学产品时, 务必戴上手套。只能使用认可的容器和程序来处理废油。
	眼睛伤害危险: 飞溅的化学产品或空传颗粒物可能会导致眼睛 损害。处理化学产品或对仪器进行维修服务时,务必戴上防护 眼镜。

联系我们

可以通过多种方式联系 Thermo Fisher Scientific, 获取所需信息。

✤ 若要联系技术支持中心

电话	800-532-4752
传真	561-688-8736
电子邮件	us.techsupport.analyze@thermofisher.com
知识库	www.thermokb.com

若要下载更新和配套软件,访问: mssupport.thermo.com。

◆ 若要联系客户服务中心,获取订购信息

电话	800-532-4752
传真	561-688-8731
电子邮件	us.customer-support.analyze@thermofisher.com
网站	www.thermo.com/ms

✤ 若要获得本地销售或服务联系信息

转至 www.thermoscientific.com/wps/portal/ts/contactus。

✤ 若要从互联网复制手册

转至 mssupport.thermo.com,同意相关条款和条件,然后单击窗口左侧空白处的 Customer Manuals (用户手册)。

- ✤ 若要对文档或 Help 提出更改建议
 - 在 www.surveymonkey.com/s/PQM6P62 中在线填写问卷调查。
 - 向技术出版编辑发送电子邮件,邮箱地址为 techpubs-lcms@thermofisher.com。



本章提供有关 MS/ETD 系统的常规信息。对于诸如日常操作、维护和系统启动和 关闭等其他信息,参阅 ETD Module Hardware Manual (ETD 模块硬件手册)。

注释 对于 LTQ Velos/ETD 系统,除非另有说明,否则按照 Velos Pro/ETD 系统 信息进行操作。

目录

- MS/ETD 系统
- 电子转移解离
- 实验类型
- 调谐和校准
- 诊断

MS/ETD 系统

LTQ XL/ETD 和 Velos Pro/ETD 系统是 Thermo Scientific 质谱仪 (MS) 检测器家族 的成员,由安装在 LTQ XL 和 Velos Pro 质谱仪背面的电子转移解离 (ETD) 模块 组成。拥有 MS/ETD 系统,用户可以对分析物执行 ETD 质谱分析。

LTQ XL 和 Velos Pro 质谱仪是先进的分析仪器,包含注射泵,转向/进样阀、大气 压电离 (API)源、2D 线性离子阱和 Xcalibur 数据系统。

MS/ETD 系统提供了与 LTQ XL 或 Velos Pro 质谱仪的线性离子阱中分析物分子发生反应的荧葱试剂离子的源头。ETD 模块包括两个试剂瓶、化学电离(CI)/载气(氮 气)处理硬件及这些组件的流量限制器、离子盒和灯丝、离子光学系统和加热器。

氮气在 ETD 过程中具有两个功能:

- 作为载气使用,氮气将(荧葱)从试剂瓶中吹扫至离子源,在此形成阴离子自由基。
- 作为化学电离载气,氮气经受来自离子盒中灯丝的70 eV电子的碰撞。70 eV电子击落氮气分子的电子(形成氮离子)。由这些碰撞产生的二级电子具有相近的热动力能量。荧蒽分子捕获这些热电子以形成能够与分析物反应的自由基阴离子。

电子转移解离

ETD 通过将电子转移至正荷电肽段提供肽段解离,导致形成一系列丰富的沿肽段 主链肽键断裂所得的序列离子。重要的翻译后修饰如磷酸化和糖基化则保持不变。

实验类型

LTQ XL 或 Velos Pro (图 1)质谱仪的 Thermo Xcalibur Instrument Setup (Thermo Xcalibur 仪器设置)窗口的 New Method (新方法)页面包括各种类型实验的模板的链接 (按钮)。为了节省输入仪器方法参数的时间,打开想要执行的实验类型的模板,输入实验特定的参数,然后将这个条目保存为 Xcalibur 仪器方法 (.meth 文件)的一部分。

实验分类如下:

- 第4页"LTQ XL 和 LTQ Velos 实验类型"
- 第4页"ETD 实验类型"



图 1. Xcalibur Instrument Setup 窗口显示 New Method 页面 (Velos Pro/ETD 系统)

LTO XL 和 LTO Velos 实验类型

如在 LTQ Series Getting Started Guide (LTQ 系列入门手册)中所述, LTQ XL 和 Velos Pro 质谱仪可用的实验模板如下:

- General MS or MSⁿ 实验
- Data Dependent[™] 实验:
 - Data Dependent MS/MS
 - Data Dependent Triple Play
 - Nth Order Double Play
 - FAIMS Nth Order Double Play
 - Nth Order Triple Play
 - Data Dependent NL MS³
 - Data Dependent product MS³
 - Data Dependent Zoom Map
- Data Dependent Ion Tree
- Ion Mapping

ETD 实验类型

对 LTQ XL 或 Velos Pro 质谱仪添加 ETD 模块后,可用其他两种实验模板:

- Nth Order Double Play (ETD)—当用户无法确定 CID 或 ETD 解离模式哪个更 有效时,该实验作为测量实验非常有用。例如, CID 对解离双电荷离子最有 效,而 ETD 对更高电荷态离子最有效。
- Data Dependent NL MS³ (ETD)—识别特定翻译后修饰的位点,由详细的中性 丢失表示,利用 ETD 来重复 MS/MS 实验可能更简单。ETD 在有多个修饰位点 时也非常有用。

有关更多信息,参阅第5章,"运行 ETD 实验",及 Instrument Setup (仪器设置) 程序的 Help (帮助)。

调谐和校准

校正质谱仪确保其质量精度、分辨率、隔离效率、以及裂解效率。校正参数是那些与实验类型无关的仪器参数。

重要信息 Thermo Fisher Scientific 推荐每周检查一次校正,并根据需要校正质 谱仪。

调谐参数是仪器参数 (例如 ETD 光学系统),这些值随实验类型或进行质量数分 析的分析物而变化。若要获得目标分析物的最高灵敏度或者最低检测限,利用目标 分析物调谐质谱仪。

若要调谐和校正 MS/ETD 系统,执行以下基本步骤:

- 按 LTQ Series Getting Started Guide 中的描述进行校正质谱仪。
- 按照第3章,"调谐 ETD 模块"。中的描述调谐 ETD 模块的光学系统。

诊断

若要了解更多有关质谱仪的诊断工具和测试的信息,参阅 LTQ Series Getting Started Guide、LTQ Series Hardware Manual (LTQ 系列硬件手册)和 Tune Plus 应用程序的 Help。若要了解更多有关 ETD 模块的诊断工具和测试的信息,参阅 ETD Module Hardware Manual。(此时在产品手册或 Help 中不讨论所有诊断工具和测试。)

设置 Thermo Foundation Instrument Configuration

按照以下步骤将 LTQ XL 或 Velos Pro 质谱仪及试剂离子源 (ETD 模块)添加至 Thermo Foundation[™] Instrument Configuration (Thermo Foundation 仪器配置)并指 定其某些配置选项。

目录

- 将质谱仪添加至仪器配置
- 指定用于质谱仪的试剂离子源

将质谱仪添加至仪器配置

若要从 Xcalibur 控制试剂离子源及质谱仪,将这些设备添加至仪器配置。

◆ 若要将质谱仪添加至已配置设备列表

- 1. 关闭 Xcalibur 数据系统和 Tune Plus 应用程序。
- 从 Windows 任务栏选择 Start (开始) > All Programs (所有程序) > Thermo Foundation x.x > Instrument Configuration (仪器配置),以打开 Thermo Foundation Instrument Configuration 窗口,此处 x.x 为已安装的 Thermo Foundation 的版本。

注释 对于 Xcalibur 数据系统版本 2.0.7 及更早版本,选择 Start > All Programs > Xcalibur > Instrument Configuration。

- 3. 按照以下方法选择从 Xcalibur 数据系统控制的设备:
 - a. 在 Device Types (设备类型)列表 (图 2)中,选择 All (所有)。
 - b. 在 Available Devices (可用设备)列表中,双击以下:
 - i. LTQ Velos MS (未显示)、LTQ XL MS (未显示)或 Velos Pro MS 图标 以将其添加至 Configured Devices (已配置设备)列表。
 - ii. 在本例中,合适的 LC 设备为 Thermo EASY-nLC[™]。

强 Thermo Foundation	Instrument Configuration		—
Device Types : All			
Available Devices:		Configured Devices:	
Accela AS	Accela 1250 Pump	Velos Pro MS	Thermo EASY-nLC
Velos Pro MS	Themo EASY-nLC		
	Add >>	<< Remove	Configure
	Done	Help]

图 2. 包含已配置设备的 Thermo Foundation Instrument Configuration 窗口

指定用于质谱仪的试剂离子源

指定 ETD 模块作为质谱仪的试剂离子源。

◆ 若要指定试剂离子源



- 在 Foundation Instrument Configuration 窗口中,在 Configured Devices 列表中,选择质谱仪图标,然后点击 Configure (配置)以打开 Model Configuration (型号 配置)对话框。
- 2. 在左窗格中,选择 Reagent Ion Source (试剂离子源)以显示试剂离子源配置页 面(图 3)。
 - 图 3. Velos Pro Configuration 对话框

Velos Pro Configuration	ı					x
MS Detector Inlet Ion Source Display Tune Plus Isolation Reagent Ion Sour FAIMS Analog Inputs Ethernet License Instrument Warnir	V Reage V Use (V Use I Vial 1 Vial 2	gent Ion Source Con Cooling Gas Low Vial Temperatur Reagent Name Fluoranthene <empty></empty>	figured e Reagent Mass (m/z) 202.00	Act. Type ETD	Vial Temp 90.00	
۰ <u>۱</u>		ОК	Cancel	Help		

3. 选中 Reagent Ion Source Configured (已配置试剂离子源)复选框。

用户必须为 MS/ETD 系统手动选中该复选框。

4. (可选)选中 Use Cooling Gas (使用冷却气)复选框。

提示 若要节约氮气冷却气,清除 Use Cooling Gas 复选框并允许试剂瓶冷却 更长时间。

注释 仅当试剂瓶温度超过 100 ℃ (212 °F)时,冷却气才打开,无需考虑 用户所选择的试剂瓶温度设置。该文档假设用户已启用冷却气功能。 5. (可选,强烈建议)选中 Use Low Vial Temperature (使用低试剂瓶温度) 复选 框以将试剂瓶加热至 90 ℃,而不是 108 ℃。

重要信息 Thermo Fisher Scientific 建议用户选择低试剂瓶温度设置,让本 地现场服务工程师安装新灯丝及加热器模块(2011年10月可用)。 尽管低试剂瓶温度能够显著延长灯丝的使用寿命,用户必须意识到其很可能增加试剂离子的注射时间,这将增加总体 MSⁿ ETD 扫描次数。

仪器配置对话框 (图 3) 也提供有关试剂瓶内容的信息。

6. 点击 OK (确定)。

消息框打开。

为了使配置更改生效,用户必须重启数据系统及 LTQ。

- 7. 点击 OK。
- 8. 重启数据系统。
- 9. 重启质谱仪。

有关说明,参阅 LTQ Series Hardware Manual (LTQ 系列硬件手册)。



调谐 ETD 模块

按照以下步骤调谐 ETD 模块。对试剂离子源中的光学组件进行调谐能够提供试剂 离子最佳转移的设置(荧蒽)。

在开始之前,按照 ETD Module Hardware Manual (ETD 模块硬件手册)第4章 "日常操作"中的"Turning On the Reagent Ion Source (调谐试剂离子源)"步骤进行操作。

注释用户无需将调谐和校准 ETD 模块列为每日例行工作的一部分。然而,若 经常使用 MS/ETD 系统,至少一个月执行一次 ETD 相关的校正(在负离子模 式下的 Electron Multiplier Gain(电子倍增器增益)和 Calibrate(校正)对话框 的 Check(检查)页面上的 Reagent Ion Selection(试剂离子选择))。

重要信息 对于 LTQ 2.7 或更新版本, Tune Plus 应用程序将 ETD 参数(除 ETD 反应时间外)保存在一个专用于 ETD 的系统文件中。这意味着用户可以 在不丢失当前 ETD 参数的情况下切换到另一个离子源探针类型。在 LTQ 2.6 SP3 或更早版本中, ETD 参数保存在与特定离子源探针关联的调谐文件中。

目录

- 打开 Tune Plus 窗口
- 调谐试剂离子光学组件
- 查看试剂离子光学组件设置
- 保存 ETD 调谐参数

打开 Tune Plus 窗口

打开 Tune Plus 窗口 (图 4) 有多个方法。

♦ 若要打开 Tune Plus 窗口

执行下列操作之一:

 在 Windows 任务栏上选择 Start (开始) > All Programs (所有程序) > Thermo Instruments (Thermo 仪器) > LTQ > model Tune (型号调谐), 其中 model (型号) 是特定的 MS/ETD 系统。

注释 对于 LTQ 系列版本 2.5.0 或更早版本,选择 Start > All Programs > Xcalibur > *model* Tune。



 在 Xcalibur 应用程序中,单击 Roadmap View (导航图)图标, Instrument Setup (仪器设置)图标, model MS (型号质谱仪)图标,然后是 Tune Plus。

或

- 在 Xcalibur 应用程序中,单击 Roadmap View 图标, Instrument Setup 图标, model MS 图标。然后从主工具栏选择 model (型号) > Start Tune Plus (启动 Tune Plus)。
- 图 4. Velos Pro/ETD 系统的 Tune Plus 窗口

n Thermo Tune Plus - Untitled	- • •
File View Control ScanMode Display Setup Diagnostics Help	
	Pro
Ne sector della sucilabila	
No special data available.	
For Help, press F1 NUM S	9/6/2011 1:51 PM

调谐试剂离子光学组件

本部分描述了试剂离子源内离子光学组件的三种调谐方法。

• 试剂离子光学组件的自动调谐

在大部分情况下,自动调谐离子光学组件是最佳方法。采用手动调谐以手动优 化非自动调谐的试剂离子光学组件参数及试剂离子源参数,如 CI 气体压力、 电子能量和激发电流。

• 第17页的手动调谐试剂离子源

利用手动调谐可以观察到随着参数调整所带来的影响。

• 第 21 页 的半自动调谐试剂离子光学组件

利用半自动调谐可以在优化范围内和按照所选步进大小分别优化每个透镜设置。

注释 试剂离子光学系统调谐完成以后,记住保存 ETD 调谐参数。参阅第 23 页 "保存 ETD 调谐参数"。

试剂离子光学组件的自动调谐

◆ 若要自动调谐试剂离子光学组件

1. 打开 Tune Plus 窗口 (参阅第 12 页)。



2. 单击 On/Standby (开机/待机) 按钮选择 On (开机) 模式。

注释

当打开时,质谱仪前面板上的 System (系统) LED 变为绿色,电子倍增器的高电压打开。(对 Orbitrap/ETD 系统不提供状态 LED。)

即使用户尝试开机,以下情况可能导致 MS/ETD 系统维持在待机模式:

- 当限制器、离子源和传输线加热器未处于其目标温度时企图打开试剂离 子源。
- 当质谱仪或 ETD 模块模式进入待机模式时。若启用冷却气功能,当试 剂瓶正在升温,则试剂瓶的氮气冷却打开。

异常:若将 MS/ETD 系统置于待机模式,则氮气冷却会延时一小时打开。

- 无论何时质谱仪或 ETD 模块中的压力超过其保护限。若启用冷却气功 能,当试剂瓶正在升温,则试剂瓶的氮气冷却打开。
- 无论何时,试剂离子流强度低于 Automatic Gain Control[™] (AGC)(自动增益控制[™], AGC)设置值。当该情况发生时,在进入待机模式之前 MS/ETD 系统完成当前 Xcalibur 序列步骤。这将预防可能由试剂离子产 率降低所影响的分析结果的丢失。



3. 点击 Display Graph View (显示图形视图) 按钮。

- 4. 按照如下方法设置试剂离子源:
 - a. 选择 Setup (设置) > Reagent Ion Source (试剂离子源) 以打开 Reagent Ion Source 对话框 (图 5)。

图 5. Reagent Ion Source 对话框 (默认视图)

Reagent Ion Source		— ×
		Actual
🔲 <u>R</u> eagent	Ion Source On	Standby
<u>F</u> ilament (Dn	Off
<u>E</u> mission Current (uA):	50.00 🌲	2.50
Electron Energy (V):	-70.00 🚔	
<u>C</u> I Gas Pressure (psi):	19.50 🌲	19.41
<u>S</u> ource Temp (*C):	160 🌲	159.91
Vial 1 Temp (*C):	90.00	89.84
Restrictor Temp (*C):	160.00	160.39
Transfer Line Temp (°C):	160.00	158.36
Reagent Ion from Vial 1:	Fluoranthene (m	/z: 202.00)
Open Probe Interlock	v Reagent Ion Sp	ectra
	Cancel	<u>H</u> elp

- b. 选中以下复选框:
 - Reagent Ion Source On (试剂离子源打开)
 - Filament On (灯丝打开)
 - View Reagent Ion Spectra (查看试剂离子质谱图)

对于调谐,用户必须手动选中 Filament On 复选框。

c. 单击 OK (确定)。

注释

若试剂瓶未处于其目标温度,出现以下信息:

Reagent Vial NOT At Temperature!Please wait ... (试剂瓶未处于目标温度!请等待...)

ETD 模块上的 System LED 闪烁为绿色以指示试剂瓶加热器打开但未处于目标温度(其他加热器处于其目标温度)。

当试剂瓶加热器到达其目标温度时,这可能花费 20 分钟或更多时间, System LED 变为常绿。

当试剂瓶到达其目标温度时,系统对 ETD 模块离子光学组件加电压。 通过选中 Filament On 复选框,用户确保灯丝打开且 Filament (灯丝) LED 显示为常绿。

(对 Orbitrap/ETD 系统不提供状态 LED。)



图 6. Velos Pro/ETD 系统的试剂离子质谱图 (棒状图模式)

ų

5. 点击 Tune (调谐) 按钮以打开 Tune 对话框 (图 7)。

图 7. Tune 对话框显示 Automatic (自动)页面

💷 Tune		-
Automatic	Semi-Automatic Manual	
- Optimiza	ation Items	
Rea	agent Ion Lens 1	
Rea	agent Ion Gate Lens	
Rea	agent Ion Lens 2	
Rea	agent Ion Lens 3	
Back	k Multipole Offset	
Back	k Lens Offset	
Status		
	Ψ.	
	Start Cancel Print Help	

6. 点击 Start。

系统开始自动调谐离子源中的试剂离子光学组件。自动调谐完成以后, Status (状态)区域显示消息"Optimization Complete (优化完成)"。该消息同时也 表明试剂离子信号 (*m/z* 202)强度相对于先前值的百分比变化。

表 3 列出了 MS/ETD 系统系统在轮廓图 (非棒状图)模式中的预期试剂信号 强度,包括 Orbitrap[™] 系统。所有值假设试剂离子隔离打开;使用一个干净的 试剂离子源、干净的离子盒和支架、良好的试剂离子光学组件调谐及负离子模 式下良好的近期检测器增益校正。

表3. m/z202的预期轮廓图强度

	<i>m/z</i> 202 的预期轮廓图强度			
ETD 系统	配备原始灯丝和加热器模 块的试剂瓶温度 108 °C	配备新灯丝和加热器模 块的试剂瓶温度 90 ℃ ^a (推荐)		
配备 ETD 的单台质谱仪				
LTQ XL/ETD	-1×10 ⁷ 或更高	~2.5×10 ⁶ 或更高		
Velos Pro/ETD	-4×10 ⁷ 或更高	-1×10 ⁷ 或更高		
配备 ETD 的 Orbitrap 质谱仪				
LTQ Orbitrap XL/ETD	-3×10 ⁶ 或更高	-1×10 ⁶ 或更高		
LTQ Orbitrap Velos Pro/ETD	-1×10 ⁷ 或更高	-3×10 ⁶ 或更高		
LTQ Orbitrap Elite/ETD	-1×10 ⁷ 或更高	-3×10 ⁶ 或更高		

a 自 2011 年 10 月起

7. 若百分比变化高于 20%, 重复 Automatic Tune (自动调谐)步骤。

注释 该过程为迭代过程。在某种程度上,信号强度并没有提高。

手动调谐试剂离子源

♦ 若要手动调谐试剂离子源

1. 打开 Tune Plus 窗口 (参阅第 12 页)。

+ ,	
1 - / 1	
1/2	

- 2. 点击 Display Graph View 按钮。
- 3. 按照如下方法设置试剂离子源:
 - a. 选择 Setup > Reagent Ion Source 以打开 Reagent Ion Source 对话框。
 - b. 若以下复选框尚未选中,则对其选中:
 - Reagent Ion Source On
 - Filament On
 - View Reagent Ion Spectra
 - c. 单击 OK。

注释 有关试剂瓶温度的信息,参阅第14页。

4. 选择 Setup (设置) > Reagent Ion Optics (试剂离子光学组件) 以打开 Reagent Ion Optics 对话框 (图 8)。

在调谐过程中观察这些参数。

图 8. Reagent Ion Optics 对话框

Reagent Ion Optics			×
			Actual
Reagent Ion Lens <u>1</u> (V):	68.00	÷	68.22
Reagent Ion <u>G</u> ate Lens (V):	125.00	*	
Reagent Ion Lens <u>2</u> (V):	21.00	-	20.86
Reagent Ion Lens <u>3</u> (V):	22.00	*	21.85
Back <u>M</u> ultipole Offset (V):	6.5	*	
<u>B</u> ack Lens Offset (V):	1.10	*	
	ancel		Help

- (仅对于 Velos Pro/ETD)选择 Setup (设置) > Trap Ion Transfer (阱离子转移) 以打开 Trap Reagent Ion Transfer Optics (阱试剂离子转移光学组件)对话框 (图 9)。
 - 图 9. Trap Reagent Ion Transfer Optics 对话框

Trap Reagent Ion Transfer Optics	×
Center Lens Offset (V): 🔒 🔂	
LPT Front Section Offset (V): 41.00	
LPT Center Section Offset (V): 5.20	
LPT Back Section Offset (V): 19.50 🚔	
Apply OK Cancel <u>H</u> elp	

自动调谐完成以后,对话框中的值自动设置为最佳。更改这些值将会改变查看试剂离子质谱图模式中的试剂离子丰度。

6. 点击 Tune 按钮以打开 Tune 对话框然后点击 Manual (手动)选项卡 (图 10)。

图 10. Tune 对话框显示 Manual 页面

🛛 Tune 🗾 🗾
Automatic Semi-Automatic Manual What to Graph
Reagent Ion from Vial 1
Status
Start Cancel Print Help

7. 选中 Reagent Ion from Vial Number (来自试剂瓶号 # 的试剂离子) 复选框。

试剂瓶号对应于 Instrument Configuration (仪器配置)设置(参阅第9页)。

8. 点击 Start。

Ŵ

试剂离子信号强度图出现在 Tune Plus 窗口中 (图 11)。 观察到:

- 在 Reagent Ion Optics 对话框中,在透镜参数中显示试剂离子信号强度对变 化的响应
- 在 Reagent Ion Source 对话框中, 激发电流、电子能量和 CI 气压

用户可以调节这些参数以获取最大试剂离子信号强度。



图 11. Tune Plus 中试剂离子源调谐的图形视图 (Velos Pro/ETD 系统)

9. 完成以后,点击打开对话框中的 OK。
半自动调谐试剂离子光学组件

采用半自动调谐方法将透镜参数微调为设置的范围及以步进方式进行调节。

◆ 若要半自动调谐试剂离子光学组件

1. 打开 Tune Plus 窗口 (参阅第 12 页)。



Ŵ

- 2. 点击 Display Graph View 按钮。
- 3. 按照如下方法设置试剂离子源:
 - a. 选择 Setup > Reagent Ion Source 以打开 Reagent Ion Source 对话框。
 - b. 若以下复选框尚未选中,则对其选中:
 - Reagent Ion Source On
 - Filament On
 - View Reagent Ion Spectra
 - c. 单击 OK。

注释 有关试剂瓶温度的信息,参阅第14页。

4. 点击 Tune 按钮以打开 Tune 对话框, 然后点击 Semi-Automatic (半自动)选项 卡 (图 12)。



💷 Tune		×
Automatic Semi-Automatic Manual What to Optimize Reagent ion lens 1 (V)	Optimization Range Start: -10.00	
Status	Results Initial Setting: Best Setting:	68.00 0.00
<u>Start</u> Ca	ancel	<u>H</u> elp

- 5. 在 What to Optimize (优化条目)列表中,选择以下需调谐的条目之一(如适用):
 - Reagent Ion Lens 1 (V) (试剂离子透镜 1, V)
 - Reagent Ion Gate Lens (V) (试剂离子门透镜, V)
 - Reagent Ion Lens 2 (V) (试剂离子透镜 2, V)
 - Reagent Ion Lens 3 (V) (试剂离子透镜 3, V)
 - Back Multipole Offset (V)(后多极杆补偿, V)
 - Front Section LPT Offset (V) (前部分 LPT 补偿, V) (仅 Velos Pro/ETD)
 - Center Section LPT Offset (V) (中心部分 LPT 补偿, V) (仅 Velos Pro/ETD)
 - Back Section LPT Offset (V) (后部分 LPT 补偿, V) (仅 Velos Pro/ETD)
 - Center Lens Offset (V) (中心透镜补偿, V) (仅 Velos Pro/ETD)
 - Back Lens (V) (后透镜, V)
- 6. 在 Optimization Range (优化范围)下方,调整 Start (起始)、End (结束)和 Step (步进)框中的设置。
- 7. 点击 Start。

查看试剂离子光学组件设置

◆ 若要查看当前试剂离子光学组件设置

- 1. 打开 Tune Plus 窗口 (参阅第 12 页)。
- 2. 选择 Setup > Reagent Ion Optics 以打开 Reagent Ion Optics 对话框 (图 13)。

Reagent Ion Optics 对话框 (图 13)显示来自示例调谐的优化设置。实际优化值 取决于离子源和离子盒/支架的清洁度水平。确保在 5-10 天使用以后、更换离 子盒以后及清洁离子源以后再次优化离子源电压和 CI 气压流速。

图 13. Reagent Ion Optics 对话框

Reagent Ion Optics		x
		Actual
Reagent Ion Lens <u>1</u> (V):	68.00	68.22
Reagent Ion <u>G</u> ate Lens (V):	125.00 🚔	
Reagent Ion Lens <u>2</u> (V):	21.00 🚔	20.86
Reagent Ion Lens <u>3</u> (V):	22.00 🌲	21.85
Back <u>M</u> ultipole Offset (V):	6.5	
<u>B</u> ack Lens Offset (V):	1.10 🌲	
Apply OK Ca	incel	<u>H</u> elp

3. (仅对于 Velos Pro/ETD) 选择 Setup > Trap Ion Transfer 以打开 Trap Reagent Ion Transfer Optics 对话框 (图 14)。



Trap Reagent Ion Transfer Optics	×
Center Lens Offset (V): 3.50	
LPT Front Section Offset (V): 41.00	
LPT Center Section Offset (V): 5.20 🚔	
LPT Back Section Offset (V): 19.50 🚔	
Apply OK Cancel <u>H</u> elp	

4. 当完成查看这些对话框的设置以后,点击每个对话框中的 OK。

保存 ETD 调谐参数

提示 必须在 MS/ETD 系统打开时保存调谐参数。

对于 LTQ 2.6 及更早版本,在完成调谐以后,用户可以将 ETD Tune (ETD 调谐) 参数保存为一个调谐方法文件。

♦ 若要保存 ETD 调谐参数 (LTQ 版本 2.6 及更早版本)

- 1. 在 Tune Plus 窗口中点击 Save (保存) 按钮。
- 2. 浏览至一个位置, 然后指定一个文件名。
- 3. 点击 Save。

重要信息 对于 LTQ 2.7 或更新版本, Tune Plus 应用程序将 ETD 参数(除 ETD 反应时间外)保存在一个专用于 ETD 的系统文件中。这意味着用户可以 在不丢失当前 ETD 参数的情况下切换到另一个离子源探针类型。在 LTQ 2.6 SP3 或更早版本中, ETD 参数保存在与特定离子源探针关联的调谐文件中。

执行 ETD 进样实验

按照以下步骤利用血管紧张素 I 执行 ETD 进样实验。

目录

- 设置试剂进样设置
- 对 AGC 目标值错误进行故障查找
- 获取血管紧张素 I 的 ETD 质谱图
- 优化试剂离子反应时间

设置试剂进样设置

Injection Control (进样控制)对话框 (图 15)中 Reagent (试剂)页面上的参数 调节了允许进入质谱仪离子阱的试剂离子数。

✤ 若要设置试剂离子进样设置

- 1. 打开 Tune Plus 窗口 (参阅第 12 页)。
- 2. 选择 **Setup (设置) > Injection Control (进样控制)** 以打开 Injection Control 对话框。
- 3. 点击 Reagent (试剂)选项卡 (图 15)。

图 15. Injection Control 对话框显示 Reagent 页面

4

ETD 试剂进样控制由两个参数组成:

- Max. Inject Time (ms) (最大进样时间, ms) —指定系统允许阴离子进入 离子阱的最大时间。默认值为 50 ms。
- AGC Target (AGC 目标)—设置进入离子阱以执行 ETD 的试剂阴离子的目标值。表 4 列出典型的 AGC 目标值范围和推荐的初始设置。若试剂离子源和灯丝打开,对试剂目标值的更改会引发试剂 AGC 事件。通常来说,当一个方法启动,采集过程中每 30 分钟会发生试剂 AGC 事件。
- 4. 将 AGC Target 值设置为下表中指定的推荐设置。

表 4.	AGC	目标值
------	-----	-----

MS/ETD 系统	典型的 AGC 目标值范围	推荐设置
LTQ XL/ETD	$2-4 \times 10^{5}$	4×10^5
Velos Pro/ETD	6×10^5 to 1.6×10^6	6×10^5

5. 点击 OK (确定)。

试剂离子源将试剂阴离子进样到离子阱,直至达到 ETD AGC 目标值。达到 ETD AGC 目标值所允许的时间不能超出最大进样离子时间设置,最大进样离子时间优 先于 AGC 目标值。

对 AGC 目标值错误进行故障查找

两个试剂参数—最大进样时间和 AGC 目标值(图 15 在第 25 页)—影响 ETD 反应结果。ETD (离子/离子)反应速率随试剂 AGC 目标值设置增加,直至离子阱达到离子的最大存储密度。随着阱内试剂总量 (与 试剂 AGC 目标值设置成正比)达到该水平,试剂离子云在尺寸上变大,而不是离子密度增大。通常,对于LTQ XL/ETD 高于 4×10⁵,而 Velos Pro/ETD 系统高于 6×10⁵。

若试剂的最大离子进样时间处于设置限值内,离子进样时间自动调节(通过 AGC) 以为 ETD 反应提供合适的试剂离子数(如由试剂目标值定义)。离子进样时间的 调整不考虑试剂离子丰度或设置的最佳反应时间。ETD 子离子产量或质谱图不发生 变化;低试剂离子丰度仅延长总体扫描时间,不改变子离子质谱图的质量。

产出最大数量子离子所需的反应时间与试剂目标值设置几乎成反比下降,而达到试剂 AGC 目标值设置所需的离子进样时间成正比增长。

对于电荷态为 2+, 3+ 和 4+ 的母离子和在 LTQ XL 中轮廓图强度为 2.5×10⁶ 附近和 在 Velos Pro 质谱仪中为 1×10⁷ 附近的试剂离子(第 17 页表 3),反应时间比所有合 理的试剂目标设置值的试剂进样时间更长。用户可以通过采用足够高的试剂目标值 来最小化总体扫描时间以得到最短的最佳 ETD 反应时间。若 ETD 试剂丰度(不稳 定)相对较低,试剂进样时间可能超过 ETD 反应时间。更低试剂目标值的使用和 反应时间的超出可能降低总体扫描周期时间,最终增加每分钟采集的 ETD 质谱图 的数量。尽早采取合适的步骤还原试剂离子丰度(参阅本页面上的列表)。

若由于最大进样时间限制导致无法达到 AGC 目标值,系统会显示一条错误消息:

Maximum Injection time limit exceeded (超过最大进样时间限值)。

试剂离子源的强度很可能过低。可以以数种方式解决该错误:

- 通过运行试剂离子源的自动调谐,增加从试剂离子源至离子阱的试剂离子转移;
 参阅"调谐试剂离子光学组件"第13页。
- 重新优化试剂载气/CI 气体流量。随着离子盒和支架因为使用而变脏,试剂离子生成的最佳压力提高。
- 在 Reagent Ion Source (试剂离子源)对话框中提高激发电流(图 5 在第 14 页)。 然而,激发电流的提高可能会降低灯丝的使用寿命。
- 提高最大进样时间限值。这是避免产生错误消息的临时方法。可以将最大进样时间提高至总体扫描周期时间强制的限值。
- 清洁或更换离子盒,参阅 ETD Module Hardware Manual (ETD 模块硬件手册) 中第5章的 Maintenance (维护)。离子强度的降低可能由变脏的离子盒所导 致。明显受污染的离子盒会导致超出最大进样时间限值。(在清洁或更换该部 件后,重新调谐试剂离子源和重新优化试剂载气/CI 气流。)
- 清洁试剂离子源及其光学系统;参阅 ETD Module Hardware Manual 中第5章 Maintenance。灵敏度的降低可能由于变脏的试剂离子源,其光学系统,或这两者 所导致。受污染的试剂离子源或其光学系统也可能导致超过最大进样时间限值。 (在清洁这些部件后,重新调谐试剂离子源和重新优化试剂载气/CI 气流。)

获取血管紧张素 I 的 ETD 质谱图

本部分假设用户按照 LTQ Series Getting Started Guide (LTQ 系列入门手册)中的步骤 将血管紧张素 I 进样到 LTQ XL/ETD 或 Velos Pro/ETD 系统中。有关制备血管紧张 素 I 溶液的说明,参阅附录 B, "血管紧张素 I 溶液。"

- ♦ 若要获取血管紧张素 I 的 ETD 质谱图
- 1. 打开 Tune Plus 窗口 (参阅第 12 页)。



- 2. 单击 On/Standby (开机/待机) 按钮选择 On (开机) 模式。
- 3. 按照如下方法设置试剂离子源:

a. 选择 Setup (设置) > Reagent Ion Source (试剂离子源) 以打开 Reagent Ion Source 对话框 (图 16)。

图 16.	Reagent Ion Source 对话框	(默认视图)

Reagent Ion Source		×
── <u>B</u> eagent I ── <u>F</u> ilament (lon Source On In	Actual Standby Off
Emission Current (uA):	50.00 🔶	2.50
Electron Energy (V):	-70.00 🚔	
<u>C</u> I Gas Pressure (psi):	19.50 🚔	19.41
<u>S</u> ource Temp (*C):	160 🌲	159.91
Vial 1 Temp (°C):	90.00	89.84
Restrictor Temp (*C):	160.00	160.39
Transfer Line Temp (*C):	160.00	158.36
Reagent Ion from Vial 1:	Fluoranthene	(m/z: 202.00)
Den Probe Interlock	Reagent Ion 9	Spectra
<u>А</u> рріу ОК	Cancel	<u>H</u> elp

- b. 选中以下复选框:
 - Reagent Ion Source On (试剂离子源打开)
 - Filament On (灯丝打开)
- c. 点击 OK。

注释

若试剂瓶未处于其目标温度,会出现一条消息:

Reagent Vial NOT At Temperature!Please wait ... (试剂瓶未处于目标温度!请等待...)

ETD 模块上的 System (系统) LED 闪烁为绿色以指示试剂瓶加热器打 开但未处于目标温度 (另一个加热器处于其目标温度)。

当试剂瓶加热器到达其目标温度时,这可能花费 20 分钟或更多时间, System LED 变为常绿。

当试剂瓶到达其目标温度时,系统对 ETD 模块离子光学组件加电压。 通过选中 Filament On 复选框,用户确保灯丝打开且 Filament (灯丝) LED 显示为常绿。

(对 Orbitrap/ETD 系统不提供状态 LED。)



- 4. 在 Tune Plus 窗口中,单击 **Define Scan (定义扫描)** 按钮显示 Define Scan 对话 框 (图 17),然后执行以下操作:
 - a. 在 MSn Settings (MSn 设置)下方,在 n = 2 行中,输入电荷态为 3+ 的血管 紧张素 I 的 Parent Mass (*m/z*) (母离子质量数, m/z)。

血管紧张素 I (乙酸盐水合物)的分子质量为 1296 Da。母离子 [M + 3H]³⁺的质荷比为 433.3。

- b. 在Act.Type(激活类型)列表中,选择ETD。
- c. 在 Act.Time (ms) (激活时间, ms) 列表中, 输入 50.0。
- d. (可选)若要识别更多母离子的解离离子,执行以下操作:
 - i. 选中 Supplemental Activation (补充激活)复选框。
 - ii. 对于本例,在 SA Charge State (补充激活电荷态)框中,输入 3,为血 管紧张素 I 母离子峰 m/z 433.3 的电荷态。

默认范围为 2-6。

有关更多信息,参阅 Tune Plus 应用程序的 Help (帮助)。



Define Scan										×
Scan History: ITMS + c cv=0.0 Full	ms [1!	50.00-2000.00	0]						-	
Scan Description	MSr	n Settings						Sca	an Ranges	
Mass Range: Normal 💌	n	Parent Mass (m/z)	Act. Type	lso. Width (m/z)	Normalized Collision Energy	Act. Q	Act. Time (ms)	#	First Mass (m/z)	Last Mass (m/z)
	2	433.30	ETD	1.0	35.0	0.250	50.00	1	115.00	2000.00
Scan Type: Full 👻	3		CID	1.0	0.0	0.250	10.00			
Scan Time Microscans: 1 Max. Inject Time (ms): 100.000 AlL						Cupplomor	stal Activation			
Source Fragmentation						SA Ener	nur 15.0 🚔			
On Energy (V): 35.0	۱ 🔳	Wideband Act	ivation		SA	Charge Sta	ate: 2 🔺	h	nput: From/	To •
		Apply	0	ĸ	Cancel	Н	lelp	Injectio	n RF	Activation

5. 点击 OK。

Define Scan 对话框关闭, Tune Plus 窗口显示血管紧张素的 ETD MS/MS 质谱图 (图 18)。





优化试剂离子反应时间

在某些情况下,获取优化的试剂离子反应时间对特定分析物有帮助。对于 2+ 肽段,优化的反应时间约为 100 ms,对于 3+ 离子约为 50 ms。若要确定更准确的值,按照本部分中的步骤进行操作。本部分假定系统按照 *ETD Module Hardware Manual*中的Turning On the Reagent Ion Source (调谐试剂离子源)中的描述生成试剂离子。

注释 当设置一个数据依赖实验时,用户可以通过选中 Data Dependent Settings (数据依赖设置)对话框 Charge State (电荷态)页面上的 Enable Charge State Dependent ETD Time (启用电荷态依赖 ETD 时间)来缩短电荷态高于2 的 ETD 反应时间。有关更多信息,参阅 Tune Plus 应用程序的 Help。

♦ 若要优化试剂离子反应时间

- 1. 为分析物 (血管紧张素,在本例中) 打开 ETD 激活。
- 2. 打开 Tune Plus 窗口 (参阅第 12 页)。
- 3. 选择 Setup > Reagent Ion Source 以打开 Reagent Ion Source 对话框。
- 4. 清除 View Reagent Ion Spectra (查看试剂离子质谱图)复选框,然后点击 OK。
- 5. 点击 Define Scan 按钮以打开 Define Scan 对话框,然后执行以下操作:
 - a. 在 MSn Settings 下方的 Parent Mass (m/z) 框中输入分析物的质量数。
 - b. 在 Act.Type 列表中,选择 ETD。
- 6. 在 Tune Plus 窗口中,单击 Tune (调谐) 按钮打开 Tune 对话框。
 - 对于 ETD 调谐, Tune 对话框具有两个额外选项卡, Collision Energy (碰撞能量)和 Reagent Ion Reaction Time (试剂离子反应时间)。





7. 点击 Reagent Ion Reaction Time 选项卡 (图 19)。

图 19. Tune 对话框显示 Reagent Ion Reaction Time 页面

🔝 Tune		— ———————————————————————————————————
Automatic	Semi-Automatic	Manual
Collision Energy	Reagent Ion	Reaction Time
What to Optimize	What to Optimize On	
ETD Reaction Time	TIC	
	Product Ion <u>Mass</u> (m/z)	195.10
	Results	1
	Initial Reaction Time:	48.10
	Best Reaction Time:	48.10
Status		1
14:29:07: Optimizing the 14:30:10: Optimum Rea	ETD Ion-Ion Reaction Time ction Time is 48.100000 ms	*
<u>S</u> tart	Cancel Pr	int <u>H</u> elp

- 8. 选择 TIC (总离子流)选项。
- 9. 点击 Start (开始)。

Tune Plus 应用程序生成一张图形,显示除母离子之外,所选择的感兴趣质荷比的离子的强度或子离子总离子流相对于反应时间的关系。页面上的 Status (状态)区域显示调谐过程完成以后的试剂离子反应时间。

出现一则消息提示用户接受已优化的值。若接受已优化的值,试剂离子反应时间参数在 Define Scan 对话框中设置为该优化的值。否则,参数返回其初始值。

对于本例,基于 TIC,现在试剂离子反应时间已优化(图 20)。



图 20. m/z 433.3 的 ETD MS/MS 谱图及在 Tune Plus (Velos Pro/ETD 系统)中显示的优化图形

若要对某一特定子离子进行优化,在 What to Optimize On (优化项目)下方的 Tune 对话框中,选中 Product Ion Mass (m/z)(子离子质量数, m/z)选项 (图 21),输入选中子离子的质荷比,然后重复步骤 7。图 22显示 m/z 388.3 的离 子谱图和优化图形。

Tune		
Automatic	Semi-Automatic	Manual
Collision Energy	Reagent Ion	Reaction Time
What to Optimize	What to Optimize On	
ETD Reaction Time	© <u>T</u> IC	
	Product Ion Mass (m/z)	388.30
	Results	
	Initial Reaction Time:	42.10
	Best Reaction Time:	42.10
Status		
15:07:35: Optimizing the 15:08:33: Optimum Read	ETD Ion-Ion Reaction Time tion Time is 42.100000 ms	*
		Ŧ
Start	Cancel	rint <u>H</u> elp

图 21. Tune 对话框显示 Reagent Ion Reaction Time 页面 (*m/z* 388.3)

图 22. m/z 433.3 的 ETD MS/MS 谱图及在 Tune Plus (Velos Pro/ETD 系统)中显示的优化图形



运行 ETD 实验

本章描述了两种由 Xcalibur 数据系统提供的专用于 ETD 的实验模板。有关更多信息,参阅 LTQ Series Getting Started Guide (LTQ 系列入门手册)。同时包括一个采用数据依赖决策树 (DDDT)逻辑程序的示例。

目录

- Nth Order Double Play (ETD) 实验
- Data Dependent NL MS³(ETD)实验
- 数据依赖决策树程序

Nth Order Double Play (ETD) 实验

- ♦ 若要创建一个 Nth Order Double Play (ETD) 方法
- 1. 选择 Start (开始) > All Programs (所有程序) > Thermo Xcalibur > Xcalibur (图 23)。

注释 对于 Xcalibur 数据系统版本 2.0.7 或更早版本,选择 Start > All Programs > Xcalibur > Xcalibur。





2. 点击 Instrument Setup (仪器设置) 图标打开 Instrument Setup 窗口。

在左侧 Available Devices (可用设备)窗格中,点击 LTQ XL MS 图标或
 Velos Pro MS 图标 (显示在图 24 中)以打开该设备的 New Method (新方法)页面。

File Velos Pro Help Image: Select experiment type Select experiment type Image: Select experiment type Select experiment type Image: Select experiment type Nth order double play Image: Select experiment type Nth order double play FAMS Nth order thip play Nth order double play Image: Select ETD experiment type Image: Select ETD experiment type Image: Data dependent NL MS3 Data dependent NL MS3 Image: Select ETD experiment type Nth order double play Image: Select ETD experiment type Nth order double play Image: Select ETD experiment type Nth order double play Image: Select ETD experiment type Nth order double play (ETD) Data dependent NL MS3 (ETD) Ture Plus
Image: Sect Sect Sect Sect Sect Sect Sect Sect
Ready

图 24. Velos Pro/ETD 系统的 New Method 页面

4. 在底部 Select ETD Experiment Type (选择 ETD 实验类型)的下方,点击 Nth Order Double Play (ETD)以打开 Nth Order Double Play 对话框 (图 25)。

默认情况下选中 Initialize Method with Additional ETD Scan Event (包含额外 ETD 扫描事件的初始化方法)复选框。

图 25. Nth Order Double Play 对话框

Nth Order Double Play	×
☑ Initialize method with additional ETD scan event	
Analyze top N peaks: 1	
OK Cancel Help	

- 5. 在 Analyze Top N Peaks (分析最高 N 个峰)框中, 输入最高峰的数目。
- 6. 点击 OK (确定) 以打开 Nth Order Double Play with ETD (包含 ETD 的 Nth Order Double Play) 模板。

7. 在底部,清除 APCI Corona On (APCI Corona 打开)和 APPI Lamp On (APPI 灯打开)复选框 (图 26)。

n Order Double Play with ETD Mass Li	sts Syringe Pump D	ivert Valve Cont	act Closure Summar	y	
Run settings					
Acquire time (min): 10.00		<u>S</u> egments:	1		Start delay (min): 0.00
	To disalassa aka				
	To display a crite	omatogram nere, u	se velos Plo/Openta	w nie	
<		Segment 1			> 1
0 1 2	3 4	5	6 7	8	9 10
		Retention time	(min)		
Segment 1 settings					
Segment time (min): 10.00	Scan <u>e</u> vents: 3	Tune m	ethod: C:\Thermo\In	struments\LTQ\m	ethods\Default_ESI.LT
< Scan Event 1		Scan Event 2	1	Scan Ever	t 3 > 1
Scan event 1 settings Scan Description	MSn Settings				Scan Ranges
	Parent	Act Iso.	Normalized	Act.	First Mass ast Mas
Mass Range: Normal	n Mass (m/z)	Type Width (m/z)	Collision Q Energy Q	Time (ms)	# (m/z) (m/z)
Scan <u>R</u> ate: Normal ▼	2	CID 1.0	35.0 0.250	10.00	1 300 2000.0
Scan <u>Type</u> . Full ▼					
Polanty: Positive					
<u>D</u> ata type: Centroid ▼					
Course Francisco					
Source Fragmentation					
Dependent scan Settings					
			Supplemental	Activation	
FAIMS	Wideband Acti	vation	SA Charge State:	2	Input: From/To
CV (V): 0.00	<u></u>		on ollargo stato.		
	APCI <u>C</u> orona C	n 📃 APPI Lar	mp On		
	New method	(T D			
	I New method				

图 26. Nth Order Double Play with ETD 模板

- 清除这些复选框。

8. 通过点击每个 Scan Event Number (扫描事件号)栏输入扫描事件设置。

对于 Scan Event 2 (扫描事件 2)和 Scan Event 3 (扫描事件 3), Dependent Scan (依赖扫描)复选框 (近左下角)及其邻近的 Settings (设置)按钮变为激活状态。

9. (仅对于 Scan Event 2 和 Scan Event 3) 点击 Settings 以打开 Data Dependent Settings (数据依赖设置) 对话框。

对于 ETD 实验类型, Data Dependent Settings 对话框具有数页。

10. 在 Data Dependent Settings 对话框中,在 Scan Event (扫描事件)列表中,点击 Activation (激活) 以显示 Activation 页面 (图 27)。

⊒- Global			
Global	Activation type:	ETD	•
Dynamic Exclusion	Default charge state:	2	*
- Isotopic Data Dependen	Isolation width (m/z):	2.0	* *
⊒- Segment	Normalized collision energy:	35.0	* *
Current Segment Parent Mass List	Activation Q:	0.250	A .
Reject Mass List	Activation time (ms):	100.00	
- Add/Sub - Scan Event - Current Scan Event			
Activation	🔲 Supplemer	ntal Activati	on
	Use mass range 50.00-20	000.00	
4 III			

图 27. Data Dependent Settings 对话框显示 Activation 参数

11. 执行以下操作:

- a. 在 Activation Type (激活类型)框中,选择 ETD。
- b. 在 Default Charge State (默认电荷态)框中输入默认值 2。

有关默认电荷态的信息,参阅 Instrument Setup 应用程序的 Help (帮助)。

c. 在 Isolation Width (*m/z*)(隔离宽度, m/z)框中, 输入 2、3 或介于 2 和 3 之间的值。

Normalized Collision Energy (归一化碰撞能量)和 Activation Q (激活 Q) 参数不可用,因为其不适用于 ETD。

- d. 在 Activation Time (ms) (激活时间, ms) 框中,保留默认值或按照 第 31 页 "优化试剂离子反应时间"中的描述输入另一个值。
- e. 选中 Use Mass Range (使用质量数范围) 复选框,使用 110.00-2000.00 的默 认范围。
- f. 点击 OK。
- 12. 在 Tune Plus 窗口中单击 Save (保存) 按钮。
- 13. 浏览至 drive:\Xcalibur\methods 文件夹,并指定一个文件名。
- 14. 点击 Save。

Ľ

Data Dependent NL MS³ (ETD) 实验

对于 Data Dependent NL MS³(ETD)实验,如果 CID-激活的 MS/MS 扫描指示为 一个预定义的中性丢失 (NL),则质谱仪对母离子执行 ETD-激活的 MS/MS 扫 描。本实验类型能够识别和表征代谢物和翻译后修饰。

有关更多信息,参阅 Instrument Setup 应用程序的 Help。

- ◆ 若要运行 Data Dependent NL MS³ (ETD) 实验
- 1. 选择 Start > All Programs > Thermo Xcalibur > Xcalibur。

注释 对于 Xcalibur 数据系统版本 2.0.7 或更早版本,选择 Start > All Programs > Xcalibur > Xcalibur。

- 2. 点击 Instrument Setup 图标。
- 3. 在 Available Devices 窗格中,点击 LTQ XL MS 或 Velos Pro MS 图标以打开 New Method 页面 (第 37 页图 24)。
- 4. 在底部 Select ETD Experiment Type 下方,点击 Data Dependent NL MS3 (ETD) 以打开 Data Dependent NL MS3 对话框 (图 28)。

默认设置为选中 Initialize Method to Repeat the MS2 Event Using ETD (使用 ETD 以重复 MS2 事件的初始化方法)。

图 28. Data Dependent NL MS3 对话框

Data	Depen	ident NL M	S3 💽
	📝 Init	ialize methoc	I to repeat the MS2 event using ETD
	Analyz	e top N peal	ks: 1
	Neutra	l loss masse:	s:
	#	Mass	Name
	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		
	8		
	10		
	10		
			Import
	OK		Cancel Help

5. 在 Analyze Top N Peaks 框中,输入最高峰的数目。

- 6. 在 Observed Low Mass (观察低质量数) 话框中,执行下列操作之一:
 - 输入用于识别的质量数和中性丢失质量数的名称。

或

• 点击 Import (导入) 以从一个 tab 键分隔的文本文件或 .xml 文件导入中性 丢失质量数列表。

图 29显示感兴趣离子的单个磷酸化修饰的中性丢失表格的示例,离子的电荷态可能为 1+、2+或 3+。

图 29.	Neutral Loss Masses	(中性丢失质量数)	表示例数据
-------	---------------------	-----------	-------

Data Deper	dent NL M	S3	X				
🔽 Init	ialize methoc	to repeat the MS2 event using	;ETD				
Analya	e top N peal	ks: 1 🚔					
Neutra	l loss masse:	s:					
#	Mass	Name					
1	98.00	Phosphorylation (charge 1+					
2	49.00	Phosphorylation (charge 2+					
3	32.67	Phosphorylation (charge 3+					
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
	Import						

7. 点击 OK 以打开 Data Dependent NL MS3 模板。

8. 在底部,清除 APCI Corona On 和 APPI Lamp On 复选框 (图 30)。

Data Dependent NL MS3	Mass Lists	Syringe Pump	Divert Valve	Contact Closu	ure Summary	y		
Run settings								
<u>A</u> cquire time (min):	10.00			Segments: 1	*			Start delay (min): 0.00
		To dis	play a chromato	ogram here, use	e Velos Pro/O	pen raw f	file	
<			S	Gegment 1				> 1
0 1	2	3	4	5	6	7	8	9 10
			R	etention time (n	nin)			
Segment 1 settings		_		_				
Segment time (min): 1	0.00	Scan <u>e</u> vent	s: 3 👘	Tune met	hod: C:\The	rmo\lnstr	ruments\LTQ\n	nethods\Default_ESI.LT
< Scar	n Event 1		Sca	an Event 2	[Scan Eve	nt 3 > 1
Scan event 1 settings								
Scan Description		MSn Se	ttings					Scan Ranges
Mass Range: N	Vormal 🔻		Parent Ac	t. Width	Normalized Collision	Act.	Act. Time	# First Mass Last Mass
Scan <u>R</u> ate:	Vormal 🔻	Ma	ass (m/z) lyp	pe (m/z)	Energy	Q	(ms)	(m/z) (m/z)
Scan <u>T</u> ype: F	iull 👻	2	CI	D 1.0	35.0 0	0.250	10.00	1 110.00 2000.00
Polarity: F	ositive 🔻							
<u>D</u> ata type:	Centroid 🔹]						
Source Fragmentation								
Dn Energy (N	/): 35.0							
Dependent scan	Settings							
					Supplen	mental Ac	ti <u>v</u> ation	
FAIMS		<u>W</u> id	eband Activation	n	SA C <u>h</u> arge	State:	2	Input: From/To 🔻
C⊼ (v	/): 0.00	APC	l Corona On	APPI Lamo	On			
		Nev	w method	T <u>u</u> ne Plus	H	lelp		

图 30. Data Dependent NL MS3 模板

- 清除这些复选框。

9. 通过点击每个 Scan Event Number (扫描事件号)栏输入扫描事件设置。

对于 Scan Event 2 和 Scan Event 3, Dependent Scan 复选框 (近左下角)及其邻 近的 Settings 按钮变为激活状态。

- 10. (仅对于 Scan Event 2 和 Scan Event 3) 点击 Settings 以打开 Data Dependent Settings 对话框 (第 39 页图 10)。
- 11. 在 Data Dependent Settings 对话框中,在 Scan Event 列表中,点击 Activation 以显示 Activation 页面 (第 39 页图 27)。

- 12. 执行以下操作:
 - a. 在 Activation Type 框中,选择 ETD。
 - b. 在 Default Charge State 框中输入默认值 2。

有关默认电荷态的信息,参阅 Instrument Setup 应用程序的 Help。

- c. 在 Isolation Width (*m/z*)框中, 输入 2、3 或介于 2 和 3 之间的值。
- d. Normalized Collision Energy 和 Activation Q 参数不可用,因为其不适用于 ETD。
- e. 在 Activation Time (ms) 框中,保留默认值或按照第 31 页 "优化试剂离子 反应时间"中的描述输入另一个值。
- f. 选中 Use Mass Range 复选框, 使用 110.00-2000.00 的默认范围。
- g. 点击 OK。
- 13. 在 Tune Plus 窗口中点击 Save 按钮。
 - 14. 浏览至 drive:\Xcalibur\methods 文件夹,并指定一个文件名。
- 15. 点击 Save。

数据依赖决策树程序

Ľ

数据依赖决策树 (DDDT)程序根据肽段的质荷比和电荷态,采用实时逻辑方法 以选择最有效的解离方式,ETD或CID。ETD对三价或荷电更多的肽段更有效, 而CID对一价或两价荷电的肽段更有效。

✤ 若要配置数据依赖决策树程序

1. 选择 Start > All Programs > Thermo Xcalibur > Xcalibur。

注释 对于 Xcalibur 数据系统版本 2.0.7 或更早版本,选择 Start > All Programs > Xcalibur > Xcalibur。



- 2. 点击 Instrument Setup 图标。
- 3. 在 Available Devices 窗格中,点击 LTQ XL MS 或 Velos Pro MS 图标以打开 New Method 页面 (第 37 页图 24)。

4. 如适用,点击以下其中一种数据依赖实验类型的图标,

- General MS or MSn
- Data Dependent MS/MS
- Data Dependent Triple Play
- Nth Order Double Play
- FAIMS Nth Order Double Play
- Nth Order Triple Play
- Nth Order Double Play (ETD)

Instrument Setup 窗口打开,显示所选的实验模板。

5. 通过点击每个 Scan Event Number 栏输入扫描事件设置。

对于 Scan Event 2 和 更高扫描事件, Dependent Scan 复选框 (近左下角)选中 且其邻近的 Settings 按钮变为激活状态。图 31显示 Scan Event 2 选中状态下的 Nth Order Double Play with ETD 模板

h Order Double Play with ETD	Mass Lists Syringe Pump	Divert Valve Con	tact Closure	Summary		
Run settings						
Acquire time (min): 10.00		Segments:	1		9	itart delay (min): 0.00
	To display a o	chromatogram here, u	use Velos Pro	/Open raw file		
		Cognort 1				
		Jegment				
0 1	2 3 4	5 Retention time	e (min)	7	8	9 10
Segment 1 settings			, ()			
Segment time (min): 10.00	Scan events: 3	Tune m	nethod: C:\T	hermo\Instrume	ents\LTQ\meth	ods\Default_ESI.LT
< Scan Event	1	Scan Event 2			Scan Event 3	> 2
Scan event 2 settings						
Scan Description	MSn Settings		1	1 1		Scan Ranges
Mass Range: Normal	Parent Parent	Act. Width	Normalized Collision	Act.	Act. Time	# First Mass Last Mass
Scan Rate: Normal	▼ Mass (m/	z) Type (m/z)	Energy	ũ	(ms)	(mvz) (mvz)
Scan Type: Full	-					
Polarity: Positive	-					
Data type: Centroid	•					
Source Fragmentation						
On Energy (V): 35.	0					
Dependent scan	ngs					
FAIMS	Wideband /	Activation			Ir	nput: From/To 👻
CV (V): 0.0	0					
	APCI Coron	a On 🛛 📝 APPI La	mp On			Þ E
	New metho	Tune Plu	S	неір		

图 31. Nth Order Double Play with ETD 模板 (Scan Event 2 选中)

Dependent Scan Settings 按钮

6. 选择除 Scan Event 1 以外的扫描事件,以执行 DDDT 程序。

DDDT 程序不对首个"独立"扫描事件起效。

7. 在 Source Fragmentation (源裂解) 区域,点击 Settings (图 31) 以打开 Data Dependent Settings 对话框。

8. 在 Data Dependent Settings 对话框中,在 Scan Event 列表中点击 Current Scan Event (当前扫描事件) 以显示 Current Scan Event 页面 (图 32)。

图 32. Data Dependent Settings 对话框中的 Current Scan Event 页面

Data Dependent Settings	
- Mass Tags	Minimum signal threshold (counts): 500.0
- Analog	Mass determined from scan event: 1
- Neutral Loss - Product	Same MS order as referenced scan event
- Segment	Nth most intense ion
Current Segment Parent Mass List	○ Nth most intense from list
— Heject Mass List — Charge State Neutral Loss	
- Product Mass List	Multistage activation
- Scan Event	
Current Scan Event	
Mass Tags	
	Use Decision Tree or other procedure Procedures
	OK Cancel Help

9. 选中 Use Decision Tree or Other Procedure (使用决策树或其他程序) 复选框以 打开 Procedures (程序)对话框 (图 33)。

图 33.	Data Dependent	Decision Tree	e 的 Procedures	对话框	(Velos Pro/ETD)
-------	----------------	----------------------	----------------	-----	-----------------

Procedures			×
Procedures:	Selected procedure		OK
ETD Decision Tree	Description:		Cancel
	Data Dependent Decision Tree	_	Halp
		<u>^</u>	Пар
	Use this procedure to control based on charge state and m/z whether or not to		
	use ETD dissociation. In addition, the mass analyzer used for the ETD scans		
	may be different than the mass analyzer set in the currently configured scan	=	
	event.		
	Items enclosed in {} below can be modified when configuring an instrument		
	method to perform this experiment.		
	This presedure will do the following:		
	This procedure will do the following.		
	1. If the charge state is 3 and the m/z is less than (Charge state 3 mass)		
		+	
	Parameters:		
	# Name Value		
	1 Ion trap scan rate Normal		
	2 Charge state 3 mass (m/z) 650.00		
	3 Charge state 4 mass (m/z) 900.00		
	5 ETD reaction time (ms) 100.000		
	6 Enable supplemental activati Yes		

10. 在 Parameters (参数) 表中,在每一行中选择或输入一个值。

有关这些参数的信息,参阅数据系统的 Instrument Setup 应用程序的 Help。

- 11. 点击 OK。
- 12. 在 Data Dependent Settings 对话框中, 点击 OK。
- - 13. 在 Tune Plus 窗口中点击 Save 按钮。
 - 14. 浏览至 drive:\Xcalibur\methods 文件夹,并指定一个文件名。
 - 15. 点击 Save。



MS/ETD 系统 使用以下耗材:

- 炭葱
- 灯丝
- 离子盒

一段时间以后,用户可能需要补充 ETD 荧蒽试剂、更换灯丝及清洁或更换离子 盒。随着荧蒽的耗尽,在运行数小时内 ETD 试剂质荷比峰强减少 10 倍以上 (在查看试剂离子质谱图模式下 m/z = 202)。

周期性检查峰强是监测 ETD 模块耗材的良好方法。若要查看 ETD 试剂的 *m/z* 信号,按照 *ETD Module Hardware Manual (ETD 模块硬件手册)*中的步骤 Turning On the Reagent Ion Source (调谐试剂离子源)。

提示 通过采用 90 ℃ 试剂瓶温度设置,期望灯丝和离子盒持续至少 1000 小时的运行时间,期望试剂瓶荧蒽试剂持续大约 6 个月的不间断使用。

表 3 列出了某些 ETD 模块的问题、其产生的原因及可能的解决方案。

6

表 3. ETD 模块的问题、产生的原因	因及解决方案
-----------------------------	--------

问题	原因	解决方案
激发电流处于正确水平时,没 有离子出现在 m/z 202 处。	m/z 202 超出显示的质量数范围。	更改已显示质量数范围以包括 m/z 202。
	系统显示前离子源质谱图,而不 是试剂离子质谱图。在自动调谐 试剂离子源以后,质谱图视图重 新显示来自 API 离子源的离子质谱 图, Reagent Ion Source (试剂离子 源)对话框中的 View Reagent Ion Spectra (查看试剂离子质谱图) 复选框被清除。	在 Reagent Ion Source 对话框中 (第 14 页图 5),选中 View Reagent Ion Spectra 复选框。
激发电流处于正确水平时, m/z 202 信号强度在几天时间内 缓慢下降。	灯丝变松弛。	按照 ETD Module Hardware Manual 中的描述更换灯丝。
	离子盒受污染	当 ETD 试剂进样时间过长 (过度延长扫描次数)时,通常 为 50–100 ms,按照 ETD Module Hardware Manual 中的描述清洁或 更换离子盒。
激发电流处于正确水平时, m/z 202 信号强度在一小时内显 著下降。	试剂瓶可能已空。	按照 ETD Module Hardware Manual 中的描述更换荧蒽试剂瓶。
激发电流低时, m/z 202 信号骤降且降为零。	灯丝可能已经爆裂。	检查灯丝。如有必要,按照 ETD Module Hardware Manual 中的描述 更换灯丝。
在轮廓图模式下, <i>m/z</i> 202 信号 小于 ~2×10 ⁵ 。	试剂离子源需要重新调谐。参阅 第17页在表 3了解典型轮廓图模 式下的 m/z 202 信号强度。	按照第3章,"调谐 ETD 模块"。 中的说明进行重新调谐。
	离子盒被缓慢污染。重新优化试 剂载气/CI 气体流量。	有关详细信息,参阅第 31 页"优 化试剂离子反应时间"。
系统错误信息提示 ETD AGC 已达到最大进样时间。	在指定时间限值内 AGC 目标值尚 未达到。随着使用,离子盒受到 污染。	1. 按照 ETD Module Hardware Manual 中的描述清洁离子盒。
		2. 提高通常设置为 50 ms 的最大 进样时间限值。
		有关详细信息,参阅第 25 页 "设置试剂进样设置"。





注意事项 避免暴露在有害物质中。

法律规定化学品生产商和供应商必须以化学品安全说明书(MSDS)的形式为 客户提供最新的健康和安全信息。MSDS必须对实验室人员开放,可供他们随 时检查。MSDS说明了化学品并总结了特定化合物的有毒有害信息。MSDS也 提供了正确处理化合物的方法、发生意外时的救护方法和溅出或泄漏时的补救 措施。

阅读所使用的每一种化学品的 MSDS。根据安全操作标准存储和处理所有化学品。当使用溶液或腐蚀性物质时,务必戴上保护手套和防护眼镜。还要根据 MSDS 的指导容纳废液、使用正确的通风以及处理所有实验室试剂。

荧蒽被用作为 LTQ XL/ETD 和 Velos Pro/ETD系统的 ETD 模块部分的 ETD 试剂。 荧蒽具有潜在危险。依照其 MSDS 进行使用。

荧蒽阴离子自由基由图 34 中显示的反应生成。

图 34. ETD 试剂 (荧蒽阴离子自由基) 由荧蒽生成



Thermo Fisher Scientific 以一个两试剂瓶的套件形式提供荧蒽。一个试剂瓶包含 0.15g 荧蒽,另一个为所需的空试剂瓶。用于 LTQ XL/ETD 或 Velos Pro/ETD 系统 的试剂套件中的荧蒽试剂瓶为 Sigma-Aldrich Supelco[™] #48535。若要获取其他荧蒽试剂瓶,点击 MSDS 链接:

http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SUPELCO/48535

B

血管紧张素 | 溶液

本附录描述了如何制备含血管紧张素 I(人体乙酸盐水合物)的溶液。稀释储存溶液以制备测试溶液,用于演示 LTQ XL/ETD 或 Velos Pro/ETD 系统的应用程序及优化试剂离子反应时间。



注意事项 避免暴露在有害物质中。

法律规定化学品生产商和供应商必须以化学品安全说明书(MSDS)的形式为 客户提供最新的健康和安全信息。 MSDS 必须对实验室人员开放,可供他们随 时检查。 MSDS 说明了化学品并总结了特定化合物的有毒有害信息。 MSDS 也 提供了正确处理化合物的方法、发生意外时的救护方法和溅出或泄漏时的补救 措施。

阅读所使用的每一种化学品的 MSDS。根据安全操作标准存储和处理所有化学 品。当使用溶液或腐蚀性物质时,务必戴上保护手套和防护眼镜。还要根据 MSDS 的指导容纳废液、使用正确的通风以及处理所有实验室试剂。

血管紧张素 I(人体乙酸盐水合物)具有潜在的危害性。依照其 MSDS 进行使用。

用于 LTQ XL/ETD 或 Velos Pro/ETD 系统的试剂套件中的 1 mg 试剂瓶血管紧张素 I为 Sigma-Aldrich Sigma #A9650。若要获取其他血管紧张素 I 试剂瓶,点击 MSDS 链接:

http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/A9650

本部分的步骤包括其他具有潜在危害性的化学品:

- 冰醋酸
- 甲醇

按照其 MSDS 准则处理这些化学品。

✤ 若要制备血管紧张素 I 储备溶液

- 1. 从附件套件中移除 1 mg 试剂瓶血管紧张素 I。
- 2. 在 1 mg 血管紧张素 I 中添加以下:

382 μL 水 382 μL 甲醇 8 μL 冰醋酸

3. 彻底混合溶液。

◆ 若要制备血管紧张素 | 样品溶液

- 1. 移取 100 µL 血管紧张素 I 储存溶液 (1 nmol/µL) 至洁净的聚丙烯离心管中。
- 2. 在离心管中加入 900 µL 50:50 乙醇/水 (0.1% 醋酸)。
- 3. 彻底混匀溶液 (100 pmol/µL)。
- 4. 移取 19.8 mL 0.1% 醋酸 50:50 乙醇/水溶液至洁净的 20 mL 玻璃闪烁瓶。
- 5. 在闪烁瓶中加入 200 µL 100 pmol/µL 溶液以最后定容为 20 ml。
- 6. 彻底混匀溶液(1 pmol/µL)。
- 7. 在需要使用之前将该样品溶液(1 pmol/µL)保存在冰箱中。



术语表

H I В С D Е F G J K L. M N 0 Ρ Q R S Т UV W X Υ Ζ Α

Α
Activation 激活
Activation Q 激活 Q
Activation Time (ms) /Act. Time (ms) 激活 时间 (ms)
Activation Type/Act. Type 激活类型
AGC Target AGC 目标
All 所有
All Programs 所有程序
Analyze Top N Peaks 分析最高 N 个峰
APCI Corona On APCI Corona 打开
APPI Lamp On APPI 灯打开
Automatic 自动
Automatic Gain Control (AGC) 自动增益控制 (AGC)
Automatic Tune 自动调谐
Available Devices 可用设备
В
Back Lens (V) 后透镜 (V)
Back Multipole Offset (V) 后多极杆补偿 (V)

Back Section LPT Offset (V) 后部分 LPT 补偿 (V)

C

Calibrate 校正 Center Lens Offset (V) 中心透镜补偿 (V) Center Section LPT Offset (V) 中心部分 LPT 补偿 (V) Charge State 电荷态 Check 检查 Collision Energy 碰撞能量 Configure 配置 Configure 配置 Configured Devices 已配置设备 Current Scan Event 当前扫描事件

D

Data Dependent Settings 数据依赖设置 Default Charge State 默认电荷态 Define Scan 定义扫描 Dependent Scan 依赖扫描 Device Types 设备类型 Display Graph View 显示图形视图

E

Electron Multiplier Gain 电子倍增器增益

Enable Charge State Dependent ETD Time 启用电荷 态依赖 ETD 时间

End 结束

ETD Module Hardware Manual ETD 模块硬件手册

ETD Module Getting Started Guide ETD模块入门 手册

F

Filament 灯丝

Filament On 灯丝打开

Front Section LPT Offset (V) 前部分 LPT 补偿 (V)

H

Help 帮助

Home Page 主页

I

Import 导入

Initialize Method to Repeat the MS2 Event Using ETD 使用 ETD 以重复 MS2 事件的初始化方法

Initialize Method with Additional ETD Scan Event

包含额外 ETD 扫描事件的初始化方法

Injection Control 进样控制

Instrument Configuration 仪器配置

Instrument Setup 仪器设置

Isolation Width (m/z) 隔离宽度 (m/z)

L

LTO Series Getting Connected Guide LTQ 系列建立 连接手册

LTQ Series Getting Started Guide LTQ 系列入门 手册

LTQ Series Hardware Manual LTQ 系列硬件手册

LTQ Series Preinstallation Requirements Guide

LTQ 系列预安装要求手册

Μ

Maintenance 维护

Manual 手动

Manuals 手册

Max. Inject Time (ms) 最大进样时间 (ms)

Maximum Injection time limit exceeded 超过最大 进样时间限值

model 型号

Model Configuration 型号配置 model MS 型号质谱仪 model Tune 型号调谐 MSn Settings MSn 设置

Ν

Neutral Loss Masses 中性丢失质量数 New Method 新方法 Normalized Collision Energy 归一化碰撞能量

0

Observed Low Mass 观察低质量数 OK 确定 On 开机
On/Standby 开机/待机 Optimization Complete 优化完成 Optimization Range 优化范围

Ρ

Parent Mass (m/z) 母离子质量数 (m/z) Parameters 参数 Procedures 程序 Product Ion Mass (m/z) 子离子质量数 (m/z)

R

Reagent 试剂 Reagent Ion from Vial Number 来自试剂瓶号#的试 剂离子 **Reagent Ion Gate Lens (V)** 试剂离子门透镜 (V) **Reagent Ion Lens 1 (V)** 试剂离子透镜 1 (V) Reagent Ion Lens 2 (V) 试剂离子透镜 2 (V) **Reagent Ion Lens 3 (V)** 试剂离子透镜 3 (V) Reagent Ion Optics 试剂离子光学组件 Reagent Ion Reaction Time 试剂离子反应时间 Reagent Ion Selection 试剂离子选择 Reagent Ion Source 试剂离子源 Reagent Ion Source Configured 已配置试剂离子源 Reagent Ion Source On 试剂离子源打开 Reagent Vial NOT At Temperature! Please wait ... 试剂瓶未处于目标温度!请等待... Roadmap View 导航图 S

SA Charge State 补充激活电荷态

Save 保存 Scan Event 扫描事件 Scan Event 2 扫描事件 2 Scan Event 3 扫描事件 3 Scan Event Number 扫描事件号 Select ETD Experiment Type 选择 ETD 实验类型 Semi-Automatic 半自动 Settings 设置 Setup 设置 Source Fragmentation 源裂解 Start 开始/起始 Start Tune Plus 启动 Tune Plus Status 状态 Step 步进 Supplemental Activation 补充激活 System 系统

Т

Thermo Foundation Instrument Configuration

Thermo Foundation 仪器配置

Thermo Instruments Thermo 仪器

Thermo Xcalibur Instrument Setup Thermo Xcalibur 仪器设置

TIC 总离子流

Trap Ion Transfer 阱离子转移

Trap Reagent Ion Transfer Optics 阱试剂离子转移 光学组件

Tune 调谐

Turning On the Reagent Ion Source 调谐试剂离子源

U

Use Cooling Gas 使用冷却气

Use Decision Tree or Other Procedure 使用决策树 或其他程序

Use Low Vial Temperature 使用低试剂瓶温度

Use Mass Range 使用质量数范围

V

View Reagent Ion Spectra 查看试剂离子质谱图

W

Waste Electrical & Electronic Equipment (WEEE)

废弃电气与电子设备 (WEEE)

What to Optimize On 优化项目

索引

英文字母

AGC 目标值 错误,故障查找 26 范围和推荐设置 26 Data Dependent NL MS³ (ETD) 实验 描述 4 运行 40 documentation survey xv EMC 合规性 iii-iv ETD 调谐方法,保存 23 ETD 模块 描述 1 试剂 51 ETD 实验 4, 25, 35 FCC 合规性 v Foundation 参阅仪器配置 Instrument Setup 窗口, New Method 37 LTQ Velos 质谱仪, 注释 xiii, 1 MS/ETD 系统 故障查找 49 描述 1 实验 2 Nth Order Double Play (ETD) 实验 描述 4 运行 36 Supplemental Activation 复选框 29 survey link xv Tune Plus, 打开 12 WEEE 合规性 vii Xcalibur 实验 4 实验模板 2

A

安全标准 ⅲ

D

待机模式,故障查找 13 氮气 冷却 9,13 描述,ETD 过程 1 灯丝 更换 50 松弛 50 温度影响 10 电磁兼容性 v 电子转移解离(ETD),描述 1 索引

G

故障查找 49

H

合规性 iii FCC v WEEE vii

J

进样试剂离子设置 25

L

冷却气, 氮气 9,13 离子盒, 故障查找 50 联系我们 xv

S

实验, ETD Data Dependent NL MS³ (ETD 40 Nth Order Double Play (ETD) 36 试剂离子反应时间,优化 31 试剂离子光学组件 查看 22 调谐 半自动 21

59

手动 17 自动 13 试剂离子进样设置 25 试剂离子信号强度 17 试剂离子源 调谐 11 解决低强度 27 再次优化 22 试剂离子质谱图 15 试剂瓶温度 10 数据依赖决策树程序 43

Т

```
调谐
半自动 21
描述 5
试剂离子光学组件 13
手动 17
自动 13
调谐, ETD 参数 11
调谐方法
保存 23
```

X

校正 描述 5 频率 5 血管紧张素 I 储备溶液,制备 53 处理 53 样品溶液,制备 54 质谱图,获取 27

Y

仪器配置 7
荧蒽,处理 51
用于 ETD 的 Xcalibur 实验 35
优化试剂离子反应时间 31

Ζ

诊断 5 质谱仪 调谐和校准 5