# Protein Deconvolution 快速入门手册

完整肽段和蛋白质的电喷雾电离(ESI)可生成质谱图,其中包含与质荷比 (*m/z*)相关的一系列多电 荷离子。Thermo Protein Deconvolution<sup>™</sup> 4.0 应用程序包括两个独立的解卷积算法,用于将离子序列转化 为单个分子质量数。

- Xtract 对同位素已解析的质谱图进行解卷积,即可以分辨质谱图中同一组分的不同同位素峰。
- **ReSpect**<sup>™</sup> 对同位素未解析 (或未分离)的质谱图进行解卷积,即无法分辨质谱图中同一组分的不 同同位素峰。

用户可以以手动或自动的模式运行 Protein Deconvolution 应用程序。

- 在手动模式下,从色谱图中选择色谱峰,使用 ReSpect 或 Xtract 算法对质谱图进行解卷积,最后报告结果,每次完成一个步骤。
- 在自动模式下,应用程序检测色谱峰、提取平均质谱图、解卷积同位素未解析或已解析的肽段或蛋白质、最后生成组分列表 所有过程均一步完成,无任何间断。用户可以在运行队列中放入任意数量的样品进行自动处理。

有关如何使用 Protein Deconvolution 应用程序的完整详细信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)或 Protein Deconvolution 应用程序中的 Help (帮助)。有关许可证授 权信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

# 目录

- 启动 Protein Deconvolution 应用程序
- 使用 Xtract 手动解卷积质谱图
- 使用 Xtract 自动解卷积质谱图
- 使用 ReSpect 手动解卷积质谱图
- 使用 ReSpect 自动解卷积质谱图
- 载入已保存的结果
- 退出 Protein Deconvolution

启动 Protein Deconvolution 应用程序

> 使用 Xtract 手动解卷 积质谱图

> > 设置手动 Xtract 解卷积

◆ 若要启动 Protein Deconvolution 应用程序

选择 Start (开始) > All Programs (所有程序) > Thermo Protein Deconvolution, 或点击 Protein Deconvolution 图标,

当根据同位素已解析蛋白质或肽段生成解卷积质谱图时,原始 MS 质谱图可以是来自 LC/MS 数据文件的单质谱图或平均质谱图,或是来自仅包含该质谱图的原始数据文件的单质谱图。Xtract 算法将该源质 谱图转化为新质谱图,并在新窗格中显示该谱图,其中 x 轴上标记为质量数单位,而不是质荷比。

选择 Xtract 解卷积算法、一个原始数据文件和一个方法。

# ✤ 若要使用 Xtract 算法设置蛋白质解卷积

- 1. 点击 Method Selection (方法选择)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Method Selection (方法选择)页面的 Experiment Types (实验类型)窗格上,点击 Manual Xtract (Isotopically Resolved) (手动 Xtract,同位素已解析)。



- 3. 在 Load Raw Data File (载入原始数据文件)窗格上,选择包含样品质谱数据的原始数据文件:
  - a. 在 Raw Data Directory (原始数据目录)框中,输入原始数据文件的路径,或点击 Browse (浏览)按钮 (...),浏览至包含该文件的目录。
  - b. 在 Select Raw Data Files (选择原始数据文件)框中,点击原始数据文件的名称。
  - c. 点击 Load (载入)。

若在这之前载入了其他原始数据文件,一个警告框出现。

d. 点击 **Yes (是)**。

Protein Deconvolution 窗口顶部出现多个选项卡,可用方法出现在 Methods (方法)窗格中 (参阅 下图)。

1. Thermo Protein Deconvolution		
Thermo Protein Deconvolution	Manual X Myogiobi Characteriza Restance Constanting	* tract (Sotopically Resolved) n_30pmol_michton_protein_microtrap_11min_OT_60K_1.RAW Sequence Help \$ in_30pmol_michton_protein_microtrap_11min_OT_60K_1.RAW
wethod selection kun Queue rarameters	Chromatogram Process and Keview Sample Compa	ison keporung
Select an experiment type, a data file, and a method.		
Experiment Types	Load Raw Data File	Methods
Manual Xtract (Isotopically Resolved)	Raw Data Directory C\Program Files\Protein Deconvolution	Name Description DefaultMethodXtract DefaultSlidingWindow Xtract
Manual ReSpect <sup>™</sup> (Isotopically Unresolved)	HCDfraction03_lowCE.raw Myoglobin_30pmol_michrom_protein_microtrap_11min_OT_60} Myoglobin_30amol_michrom_protein_microtrap_11min_OT_60}	moose
Auto Xtract (Isotopically Resolved)	PSA_240.raw PSA_240_highpl.raw Whey8800_Casein_1to2_3.raw	
Auto ReSpect™ (Isotopically Unresolved)		
Load Results		
	< >	
< III >	Load	Create Method Load Method

4. 在 Methods (方法) 窗格上,执行以下其中一项操以指定所用方法:

- 若其中一个已有方法包含适合的参数,选中目标方法的名称,然后点击 Load Method (载入方法)。
  - 若要为一次平均解卷积使用默认方法,选择 DefaultMethodXtract (默认方法 Xtract)。
  - 若要为滑动窗解卷积使用默认方法,选择 DefaultSlidingWindow\_Xtract (默认滑动窗\_\_Xtract)。

若原始数据文件包含一张色谱图,应用程序自动转至 Chromatogram (色谱图)页面;若其仅包 含一张质谱图,则转至 Process and Review (处理和查看)页面。若要使用 Chromatogram (色谱 图)页面,按照第 10 页上的"选择待解卷积的质谱图"中的说明进行。若要使用 Process and Review (处理和查看)页面,按照第 12 页上的"使用 Xtract 解卷积质谱图"中的说明进行。

- 若要更改已存在的方法,执行以下操作:
  - i. 选择目标方法的名称并点击 Load Method (载入方法)。
  - ii. 从 Chromatogram (色谱图)或 Process and Review (处理和查看)页面上,点击 Parameters (参数)选项卡。

iii.在 Parameters (参数)页面上,点击适合的图标。

iv. 在适合的页面上,更改相关参数,点击适合窗格上的 Apply (应用),然后点击 Save Method (保存方法),以将更改保存至文件,或者点击 Save Method As (方法另存为),以将更改另存为其他方法。

点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法另存为),自动使应用程序前进至 Chromatogram (色谱图)或 Process and Review (处理和查看)页面。

**注释**不可覆盖默认方法。若更改默认方法中的参数,使用 Parameters(参数)页面上的 Save Method As(方法另存为)命令将更改的方法保存为新名称。

• 若已有默认方法不包含适合的提取参数,或者无已有方法,点击 Create Method (创建方法)以 创建新方法。

应用程序自动转至 Parameters (参数)页面。若要设置该页面上的参数,按照"创建 Xtract 方法。"中的说明进行操作。

## ✤ 若要从 Methods (方法) 窗格上删除方法

- 1. 在 Method Selection (方法选择)页面的 Methods (方法)窗格上,选择希望删除的方法。
- 2. 按下 DELETE 键。
- 3. 当消息框出现时,点击 Yes (是)。

创建 Xtract 方法 当点击 Method Selection (方法选择)页面上 Methods (方法)窗格中的 Create Method (创建方法) 时, Protein Deconvolution 应用程序自动转至 Parameters (参数)页面。对于 Xtract 算法,用户可以创建一个方法用于一次解卷积、滑动窗解卷积或目标序列匹配。

为一次 Xtract 解卷积创建方法

# ◆ 若要为一次 Xtract 解卷积创建方法

- 1. 点击 Parameters (参数)选项卡 (若其尚未选中)。

Xtract 算法的默认设置自动填充 Parameters (参数)页面上的参数框 (参阅下图)。

CIENTIFIC Pro	otein Deconvoluti	DefaultMethodXtract	Manual Xtract (Isotopically Resolved) Myoglobin 30pmol michrom protein microtrap 11min	Sequence Hel
Method Selection	Run Queue 🔽 Parameters	Chromatogram Process and Review	Sample Comparison Reporting	
Deconvolution (Xtract)	Chromatogram 📃 Target Seq	ence Matching Report		
	- 1			Saus Mathead Saus Mathead
Specify the adduct ions us	ed during ESI processing.			Save Method Save Method
ain Parameters (Xtract)				
Output Mass	M MH+	m/z Range	Min 600 Max 2000	Apply
Resolution at 400 m/z	60000	Charge Carrier	H+ (1.00727663)	
S/N Threshold	3		<ul> <li>K+ (38.9631585)</li> <li>Na+ (22.9892213)</li> </ul>	
el. Abundance Threshold (%)	0		Custom	
Negative Charge		Min Num Detected Charge	3	
Calculate XIC	<b>v</b>	Isotope Table	Protein 👻	
dvanced Parameters (Xtract)				
Fit Factor (%)	80	Charge Range	Low 5 High 50	Apply
Remainder Threshold (%)	25	Minimum Intensity	1	
Consider Overlaps	<b>V</b>	Expected Intensity Error	3	

- 3. (可选)更改 Main Parameters (Xtract) (主要参数, Xtract) 窗格上的合适参数。 有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。
- 4. 点击 Main Parameters (Xtract) (主要参数, Xtract) 窗格上的 Apply (应用)。

5. (可选)若为经验丰富的用户,更改 Advanced Parameters (Xtract)(高级参数, Xtract)窗格中的适合参数。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册(Protein Deconvolution User Guide)。

- 6. 点击 Advanced Parameters (Xtract) (高级参数, Xtract) 窗格上的 Apply (应用)。
- 7. (可选)在 Reporting Parameters (报告参数)窗格上,选择要显示的已生成解卷积报告部分。 有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。
- 8. 点击 Reporting Parameters (报告参数) 窗格上的 Apply (应用)。
- 9. 点击 Save Method (保存方法) 或 Save Method As (方法另存为) 以保存方法。

Save Method (保存方法)命令将当前参数值保存至已有方法,覆盖以前的值。该命令不适用于默认方法。Save Method As (方法另存为)命令将参数值保存至新方法。

- 10. 在 Save (保存)对话框中,执行以下操作:
  - a. 在 Method Name (方法名)框中,输入方法名称。

名称不能包含任意空格或非字母字符。该名称可以包括下划线。

- b. 在 Description (描述)框中,简要描述方法。例如,描述分析的样品和蛋白质。
- c. 点击 Save (保存)。

注释 应用程序将创建的所有方法保存至

C:\ProgramData\ThermoScientific\ProteinDeconvolution\methods.sqlite 中的数据库。无法将单独的方法文件保存至选择的目录。

应用程序转至 Chromatogram (色谱图)页面,以便选择待解卷积的质谱图。有关该过程的信息,参阅第 10 页上的"选择待解卷积的质谱图"。

为 Xtract 滑动窗解卷积创建方法

#### ♦ 若要为 Xtract 滑动窗解卷积创建方法

- 1. 点击 Parameters (参数)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Parameters (参数)页面上,点击 **Chromatogram (色谱图)**图标, **Chromatogram** Xtract 算法的默认设置自动填充 Chromatogram (色谱图)页面上的参数框 (参阅下图)。

1. Thermo Protein Deconvolutio	n			
Thermo Pro		dow_Xtract	Manual Xtract (Isotopically Resolved) Myoglobin_30pmol_michrom_protein_microtrap_11m	Sequence Help 🔅
Method Selection	Run Queue Parameters Chromatogram	Process and Review	Sample Comparison Reporting	
Deconvolution (Xtract)	Chromatogram Target Sequence Matching Report	t		
Configure sliding window	parameters			Save Method Save Method As
Chromatogram Parameters				
Use restricted time.		Types	TIC •	Apply
Time limits.	0.006 m to 10.984 m	Sensitivity	High •	Apply
Rel. Intensity Threshold (%)	1	Chromatogram m/z Range	600.0000 🔹 to 2000.0000 🔹	
		Use Auto Spectral Averaging		
				Ψ
Sliding Window Parameters				
Use Sliding Window	V	Merge Tolerance	30 ppm •	Apply
RT Range	0.006 to 10.984	Max RT Gap	1.000 Minutes	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~
Target Avg Spectrum Width	0.500 Minutes	Min Num of Detected Intervals	3	
Target Avg Spectrum Offset (%)	50			

对于滑动窗解卷积,无需设置 Chromatogram Parameters (色谱图参数)窗格上的参数。

- 3. 在 Sliding Window Parameters (滑动窗参数) 窗格上,设置适合的参数。有关这些参数的信息,参阅 *Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)*。
- 4. 点击 Apply (应用)。

- 5. 保存方法:
  - a. 点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法另存为)。

Save Method (保存方法)命令将当前参数值保存至已有方法,覆盖以前的值。该命令不适用于 默认方法。Save Method As (方法另存为)命令将参数值保存至新方法,并打开 Save (保存)对 话框。

- b. 在 Save (保存)对话框的 Method Name (方法名)框中,输入方法的名称。
  - 名称不能包含空格或非字母字符。该名称可以包括下划线。
- c. 在 Description (描述)框中,简要描述方法。例如,描述分析的样品和蛋白质。
- d. 点击 Save (保存)。

为 Xtract 目标序列匹配创建方法

#### ♦ 若要为 Xtract 目标序列匹配创建方法

- 1. 点击 Parameters (参数)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Parameters (参数)页面上,点击 Target Sequence Matching (目标序列匹配)图标,

Target Sequence Matching

Target Sequence Matching (目标序列匹配)页面出现 (参阅下图)。

11. Thermo Protein Deconvoluti	on										
Manual Xtract (Isotopically Resolved)       Sequence         S C LE N T LE LC       Manual Xtract (Isotopically Resolved)       Manual Xtract (Isotopically Resolved)         Model And Selection       Run Queue       Parameters       Chromatogram       Process and Review       Sample Comparison       Reporting         Deconvolution Parameters (Mtract)       Chromatogram       Process and Review       Sample Comparison       Reporting											
Set the parameters for target sequence matching Save Method As Re											
Sequence Matching Mass Tolerance 20 ppm  App											
Name	Last Modified Time	Average Mass	Monoisotopic Mass	Num. of Chains	Max. Num. of Modifications	Total Num. of Amino Acids	Remove Show Details				
Global Sequence Reference Tabl	e Last Modified Time	Average Mass	Monoisotopic Mass	Num. of Chains	Max. Num. of Modifications	Total Num. of Amino Acids	New Load Add to Method Delete				

- 3. 在 Sequence Matching Mass Tolerance (序列匹配质量数容许偏差) 框中,指定质量数容许偏差,单位 是 dalton 或 ppm。
- 4. (可选) 创建任意自定义修饰:
  - a. 在 Protein Deconvolution 窗口的右上角,选择 Sequence (序列) > Modification Editor (修饰编辑器)。
  - b. 在 Modification Editor (修饰编辑器)对话框中,执行以下操作:
    - i. 点击 N-Terminal (N端)区域中的 Add (添加),并在 Add New Modification (添加新修饰) 对话框中输入新修饰的名称,其单同位素质量数及其平均质量数,以添加任意 N 端修饰。点 击 OK (确定)。

- ii. 点击 C-Terminal (C端)区域中的 Add (添加),并在 Add New Modification (添加新修饰) 对话框中输入新修饰的名称,其单同位素质量数及其平均质量数,以添加任意 C 端修饰。点 击 OK (确定)。
- iii.点击 Side Chain (侧链)区域中的 Add (添加),并在 Add New Modification (添加新修饰) 对话框中输入新修饰的名称,其单同位素质量数及其平均质量数,以添加任意侧链修饰。在 Residues (残基)框中,输入侧链氨基酸的单字母缩写。点击 OK (确定)。
- c. 点击 Modification Editor (修饰编辑器)对话框中的 Close (关闭)。
- 5. 导入 FASTA 文件:
  - a. 在 Protein Deconvolution 主窗口的右上角,选择 Sequence (序列) > Sequence Editor (序列编辑器),或者在 Parameters (参数)页面 Target Sequence Matching (目标序列匹配)页面上的 Global Sequence Reference Table (通用序列参考表)窗格上,点击 New (新建)。
  - b. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中,点击 Import (导入)。
  - c. 在 Open (打开)对话框中,选择待导入的 FASTA 文件,然后点击 Open (打开)。

FASTA 文件必须含扩展名 .fasta,以便应用程序查找。

应用程序导入 FASTA 文件中的序列,并将其显示在 Sequence Editor (序列编辑器)的 Sequence Map (序列图谱)窗格上。其将 cysteines (半胱氨酸)以黄色高亮显示 (参阅下图)。

1. Sequence Editor										<b>X</b>
0						Import	Variable Modification	Save	Save As New	Cancel
Target Protein				Chain						
Name	Example mAb			Chain	1 •					
Monoisotopic Mass	145307.662			Monoisotopic Mass	24182.847					
Average Mass	145399.75			Average Mass	24197.96					
▼ Sequence Map						In	put Sequence			~~
TOP LETTER STATE     TOP LETTER     TOP LETTER	LIDDAT ISCRSSQYIV HSNONTYLEW YLQ DADAPTY SIFPPSSEQL TSGGASVVCF LWN NNNRC SLGDQAS ISCRSSQYIV HSNONTYLEW YLQ DADAPTY SIFPPSSEQL TSGGASVVCF LWN FNNRC Chain 1 PSQSLSI TCTVSGFSLL GYGVNWYRQP PGQ LYVSAK TTPPSYPLA PGSAQTDSW YTL LYNPAG GX/PGITYP EVSSPFIPP KFK KCRNVIS AAFPAPIEKT ISKTKGRPKA PQV WI Hitons	POGSPK LLIVKVSNRF SGVPDRFS YPKDIN VKWKIDGSER QNOVLNSW PPGGSPK LLIVKVSNRF SGVPDRFS YPKDIN VKWKIDGSER QNOVLNSW LEHLMG INGDGSTDYN SALKSRIS GLVKKOY PPEVTVTNM SGSLSSG VLTILT TRKVFVVVD SISCOPET TIPPPK EQNAKDKVSL T©NITDFF	SGS GSGTDFTL WTD QDSKDSTY SGS GSGTDFTL WTD QDSKDSTY SIT KDNSKSQV WHT FPAVLQSD VQF SWFVDDVE FPE DITVEWQW	KI SRVEAEDLGV YYGFQ SM SSTLTLTKDE YERHN KI SRVEAEDLGV YYGFQ SM SSTLTLTKDE YERHN FL KMNSLQTDDT AKYYG LV TLSSSVTVP STWP9 S	GSHVP SYTGE GSHVP SYTGE TRAPY ETVTG RSVSE DGSYF	- C	hain Na			
Chain Number	Annino Acid Site Index	Cham Number Amir	no Acid Site Ind	CA	DERC		(	Apply		

用户也可以手动输入序列。参阅 Protein Deconvolution 用户手册(Protein Deconvolution User Guide)。

- 6. (可选)添加任意二硫键:
  - a. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,将光标置于适 合氨基酸的前面,右击未使用的目标 cysteine (半胱氨酸,字母C),然后选择 Create Link (创 建键)。
  - b. 右击未使用的 cysteine (半胱氨酸,字母 C),然后选择 Bridge Link (桥键)。

Sequence Map (序列图谱) 窗格显示橙色线,用于连接两个 cysteines (半胱氨酸), Disulfide Link Definitions (二硫键定义) 窗格显示这些氨基酸所属链的编号,及其在链中的位置。当选择 Disulfide Link Definitions (二硫键定义)表中的某一行时,应用程序以绿色高亮显示 Sequence Map (序列图谱) 窗格上的相应键。

用户无法将一个 cysteine (半胱氨酸)连接至多个 cysteine (半胱氨酸)。

c. 若不希望添加其他类型的修饰至序列,点击 **Cancel (取消)**,以关闭 Sequence Editor (序列编辑器)对话框。

- 7. (可选)添加任意固定的特定位点或固定的通用N端、C端和侧链修饰:
  - a. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,双击链的首字母。

Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框出现 (参阅下图)。

1. Residue Properties and Modifications		
Residue Properties		
Residue F at 1:1 Mono. Mass 147.06842 Avg. Mass 147.1766		
Side Chain Modification		
None	Mono. Mass	0 Apply to All
	Avg. Mass	0
N-terminal Modification		
None	Mono. Mass	0
	Avg. Mass	0
C-terminal Modification		
None	Mono. Mass	0
	Avg. Mass	0
Ok	Clear	Cancel

- b. 在 Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框中,添加 N 端修饰:
  - i. 从 N-Terminal Modification (N 端修饰) 菜单上,选择待分配至链 N 端上的 N 端修饰。 \_ 或 \_

从 Side Chain Modification (侧链修饰)菜单上,选择待分配至链 N 端上的侧链修饰。

ii. 点击 OK (确定)。

- 或 -

若要选择其他修饰,点击 **Clear (清除)**,重新打开 Residue Properties and Modifications (残 基属性和修饰)对话框。

- c. (可选)在 Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框中,添加 C 端修饰:
  - i. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,双击链的最 后一个字母。
  - ii. 从 C-Terminal Modification (C 端修饰) 菜单上,选择待分配至链 C 端上的 C 端修饰。

- 或 -

从 Side Chain Modification (侧链修饰)菜单上,选择待分配至链 C 端上的侧链修饰。

iii.点击 OK (确定)。

- 或 -

若要选择其他修饰,点击 **Clear (清除)**,重新打开 Residue Properties and Modifications (残 基属性和修饰)对话框。

- d. (可选)在 Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框中,添加侧链修饰:
  - i. 在 Sequence Editor (序列编辑器)的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,双击链上的目标侧链字母。
  - ii. 从 Side Chain Modification (侧链修饰) 菜单上,选择待分配至侧链的修饰。
  - iii.(可选)若要全局应用该修饰(也就是说,应用于所有以同一字母表示的侧链),选中 Apply to All (应用至所有)复选框。

iv. 点击 OK (确定)。

- 或 -

若要选择其他修饰,点击 **Clear (清除)**,重新打开 Residue Properties and Modifications (残 基属性和修饰)对话框。

- e. 为任意其他目标侧链重复步骤 d。
- f. (可选)将N端、C端和侧链修饰分配至任意其他目标链。
- 8. (可选)添加任意糖基化:
  - a. 在 Protein Deconvolution 窗口的右上角,选择 Sequence (序列) > Sequence Editor (序列编辑 器)。
  - b. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中,点击 Variable Modification (可变修饰)。

Sequence Variable Modification (序列可变修饰)对话框打开 (参阅下图)。

L Sequence Variable Modification	
Modifications	Modifications Selected for Search
2AA instead of Asn       ▲         2AB instead of Asn       Acetylation         Arg       ■         Asp       ■         Carbamylation       ■         DOTA       ■         DOTA_Mn       ■         DOTA_Cu       ■         DOTA_Zn       Glu         Lys       ▼	N Terminal Mono. Mass 0 Avg. Mass 0 Add Remove
Amide Arg Asp b ion Glu Lys	C Terminal Mono, Mass 0 Avg. Mass 0 Add Remove
Acetylation ADP-ribosylation ADP-ribosylation E Carbamylation Carbamylation Carbamidomethylation Carboxymethylation Cysteaminylation Cysteinylation Cysteinylation Deamidation (N) Deamidation (Q) Dimethylation DOTA T	Side Chain Mono. Mass 0 Avg. Mass 0 Residues Add Remove
Max # Modification 2 N Gly	V: None  V Cancel

c. 在 N Gly (N 糖基化) 框中,指定应用于 asparagine (Asn) (天冬酰胺酸, Asn) 侧链氮原子上的 糖基化类型,该侧链属于氨基酸序列 Asn\_Xxx\_Ser/Thr/Cys 的一部分。 应用程序仅添加糖基化至该氨基酸序列。

- None (无):不添加糖基化。
- CHO (中国仓鼠卵巢): 添加来自中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞系的糖基化。
- Human (人类): 添加来自人细胞系的糖基化。

- 9. (可选)添加N端、C端和侧链修饰:
  - a. 在 Protein Deconvolution 窗口的右上角,选择 Sequence (序列) > Sequence Editor (序列编辑 器)。
  - b. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中,点击 Variable Modification (可变修饰)。 Sequence Variable Modification (序列可变修饰)对话框打开。
  - c. 在 N Terminal (N 端) 区域,从左侧列表中选择欲应用于 N 端的修饰,然后点击 Add (添加)。
  - d. 在 C Terminal (C 端)区域中,从左侧列表中选择欲应用于 C 端的修饰,然后点击 Add (添加)。
  - e. 在 Side Chain (侧链)区域,从左侧列表中选择欲应用于侧链的修饰,然后点击 Add (添加)。
  - f. 当匹配已解卷积质量数时,在 Max # Modification (修饰的最大数量)框中,指定应用程序尝试 使用修饰的最大数量。

该数量不限制用户选择大于框中设定值的值,但是应用程序检索所有选中修饰的组合,最大修 饰数限定为任意指定匹配中使用的修饰数。

g. 点击 OK (确定)。

10. 保存修饰至序列:

• 点击 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中的 Save (保存),以将序列保存在 Target Protein (目标蛋白质)区域 Name (名称)框中显示的名称下,然后点击 Sequence Modifier (序列修饰 工具)对话框中的 Yes (是)。

来自 FASTA 文件的已导入序列信息填充 Target Sequence Matching (目标序列匹配)窗格上 Global Sequence Reference Table (通用序列参考表)中的各字段。

- 或 -

• 点击 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中的 Save As New (另存为新名称),以新名称保存 序列,然后点击 Save As New (另存为新名称)对话框中的 OK (确定)。

来自 FASTA 文件的已导入序列信息填充 Target Sequence Matching (目标序列匹配)窗格上 Global Sequence Reference Table (通用序列参考表)中的各字段。

- 11. 保存序列至方法:
  - a. 若尚未转至 Parameters (参数)页面,点击 Parameters (参数)选项卡。
  - b. 若尚未转至 Parameters (参数)页面上的 Target Sequence Matching (目标序列匹配)页面,点击
    - Target Sequence Matching (目标序列匹配)图标, Target Sequence Matching
  - c. 在 Target Sequence Matching (目标序列匹配)页面上的 Global Sequence Reference Table (通用序 列参考表)窗格上,选择欲添加至方法的序列。
  - d. 点击 Add to Method (添加至方法)。

若选择了默认方法,该步骤暂时添加序列至方法。

若序列已包含在方法中,一个消息框打开并提示用户序列已包含在方法中。

e. 点击 OK (确定)。

用户保存序列至方法后,应用程序填充 Sequences Added to Method (添加至方法的序列)窗格上的 各字段。

- 12. (可选)保存方法:
  - a. 点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法另存为)。

Save Method (保存方法)命令将当前参数值保存至已有方法,覆盖以前的值。该命令不适用于 默认方法。 Save Method As (方法另存为)命令将参数值保存至新方法,并打开 Save (保存)对 话框。

- b. 在 Save (保存)对话框的 Method Name (方法名)框中,输入方法的名称。 名称不能包含空格或非字母字符。该名称可以包括下划线。
- c. 在 Description (描述)框中,简要描述方法。例如,描述分析的样品和蛋白质。

# 选择待解卷 积的质谱图

当设置 Parameters (参数)页面上的参数后,点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法 另存为)时,或者当载入己有方法并点击 Method Selection (方法选择)页面上的 Load Method (载入 方法)时, Protein Deconvolution 应用程序自动转至 Chromatogram (色谱图)页面 (若选择了一个解 卷积方法)。与此类似,若选择了滑动窗解卷积方法,应用程序转至 Chromatogram (色谱图)页面的 Sliding Window (滑动窗)页面。使用 Chromatogram (色谱图)页面选择可能性最大的目标蛋白质质 谱图进行解卷积。若尚未转至 Parameters (参数)页面,点击 **Parameters (参数)**选项卡。

选择质谱图进行一次解卷积

## ◆ 若要选择质谱图进行一次解卷积

- 1. 点击 Chromatogram (色谱图)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 若 Chromatogram (色谱图)页面尚未选中,在 Chromatogram (色谱图)页面上,点击
  - Chromatogram (色谱图) 图标, Chromatogram

Chromatogram (色谱图)页面出现 (参阅下图)。

_ Thermo Protein Deconvolution			
Thermo Protein Deconvolution DefaultMethodXt	ract	Manual Xtract (Isotopical Myoglobin_30pmol_mich	y Resolved) Help
Method Selection Run Queue Parameters Chromatogram	Process and Review	Sample Comparison 📃 Reporting	1
Select the chromatogram to deconvolve			Save Method Save Method As Reset Method
hromatogram Parameters			
Use Restricted Time	Types	TIC •	Apply
Time Limits 0.01 to 10.98 to	Sensitivity	High	
Rel. Intensity Threshold (%) 1	Chromatogram m/z Range	600.0000 🔹 to 2000.0000	
	Use Auto Spectral Averaging		
hromatogram yoglobin_30pmol_michrom_protein_microtrap_11min_OT_60K_1 NL: 8.43E7			
SF. 100 SF. 100 SF. 100 SF. 100 SF. 20 SF. 20 SF	87 590 52 491 534 SF 268 6,03 54 SF 268 6,03 55 5.0 55 6.0 RT(min)	6.59 7.06 7.26 7.55 8.14 8	47 8,81 9.06 9.33 10.00 10.27 10.58 

3. (可选)使用 Chromatogram Parameters (色谱图参数)窗格上的参数调整 Chromatogram (色谱图) 窗格中显示的色谱图。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution *用户手册 (*Protein Deconvolution User Guide )。

- 4. 点击 Chromatogram Parameters (色谱图参数) 窗格上的 Apply (应用)。
- 5. (可选)如有必要,调整 Chromatogram (色谱图)窗格中的视图。 有关放大、缩小或重置视图的说明,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。
- 6. 通过执行以下操作之一,在 Source Spectrum (源质谱图)窗格上创建质谱图:
  - 对于单次扫描:在 Chromatogram(色谱图)窗格上,使用红色十字光标在 Chromatogram(色谱图)窗格的色谱图上选择一次扫描,并显示该时间点处的相关质谱图。
     也可以使用左右箭头键移动至色谱图的前一个或后一个时间点。质谱图窗口自动更新。

• 对于多次扫描:选择一个色谱图区域,以显示 Source Spectrum (源质谱图)窗格上所选区域中 所有扫描的平均质谱图。若要选择该区域(若其尚未选中),右击并选择 Mode(模式) > Averaging (平均)。在目标区域上拖曳红色十字光标。

该光标的水平线有助于评估峰高。 Protein Deconvolution 应用程序计算该区间的平均质谱图。 与单扫描方法相比,平均方法更适用于复杂数据。

**提示** 在 Xcalibur<sup>™</sup> 数据系统的 Qual Browser (定性浏览器)上,用户可以执行第 10 页上的步骤 1 至第 10 页上的步骤 6,然后右击并选择 **Export (导出) > Write to RAW File (写入 RAW 文件)**,以将文件导入 Protein Deconvolution 应用程序。

Source Spectrum (源质谱图) 窗格显示待解卷积的实际质谱图 (单次扫描或平均扫描)。该窗格显示了主峰的峰尖信息,以及解卷积组分的 m/z 信息。该窗格还以标记的形式显示峰尖信息,同时伴随一个标签,用于描述该保留时间处质谱图中最大丰度峰的 m/z。在单次扫描处理模式中,某个组分的最大丰度 m/z 应当与源质谱图中对应峰显示的 m/z 一致。在平均扫描处理模式中,由于应用程序显示平均质谱图,两个值可能不同。但差值应当很小—约为 0.001。

Xtract 算法可以对棒状质谱图和轮廓质谱图进行解卷积。 ReSpect 算法仅可以解卷积轮廓质谱图。 Protein Deconvolution 应用程序自动选择适合的质谱图类型。若轮廓图可用, Source Spectrum (源质 谱图)窗格显示轮廓图信息,反之则显示棒状图信息。

- 棒状图数据以两个参数表示质谱峰: 质心 (质量数的加权中心)和强度 (归一化峰面积)。数据以条形图 (相对强度 vs m/z)的形式显示。
- 轮廓图数据以连续点 (单位为 m/z)和相对强度的形式显示整个质谱图。数据以线形图 (相对 强度 vs m/z)的形式显示。
- 7. (可选)如有必要,调整 Source Spectrum (源质谱图)窗格上的视图。

有关放大、缩小或重置视图的说明,参阅 Protein Deconvolution 用户手册(Protein Deconvolution User Guide)。

与 Chromatogram (色谱图) 窗格 (用于选择待处理质谱图) 上的调整有所不同, Source Spectrum (源质谱图) 窗格上的调整不影响 Protein Deconvolution 应用程序解卷积的质谱图。尤其是,这些调整不改变解卷积算法使用的 *m*/z 范围。

8. 当质谱图适用于 Xtract 处理时,点击 Process and Review (**处理和查看**)选项卡,然后按照"使用 Xtract 解卷积质谱图。"中的说明进行操作。

选择用于滑动窗解卷积的参数

不在滑动窗解卷积中选择待解卷积的质谱图。 Protein Deconvolution 应用程序解卷积原始数据文件中由 RT Range (保留时间范围)参数指定的部分质谱图。

#### ♦ 若要选择用于滑动窗解卷积的参数

- 1. 点击 Chromatogram (色谱图)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Chromatogram (色谱图)页面上,若 Sliding Window (滑动窗)图标, Sliding Window, 尚未被选中,则点击它。
- 3. 在 Sliding Window Parameters (滑动窗参数)窗格上,设置适合的参数,然后点击 **Apply (应用)**。 这些参数与 Parameters (参数)页面上 Chromatogram (色谱图)页面上的参数相同。
- 4. 点击 **Process and Review** (**处理和查看**)选项卡,按照第 12 页上的"使用 Xtract 解卷积质谱图"中的说明进行。

选择用于 Xtract 目标序列匹配的待解卷积质谱图

当使用目标序列匹配方法时,可以执行一次解卷积或滑动窗解卷积。分别参阅第10页上的"选择质谱 图进行一次解卷积"或"选择用于滑动窗解卷积的参数。"

# 使用 Xtract 解 卷积质谱图

当转至 Process and Review (处理和查看)页面时,用户已在 Chromatogram (色谱图)页面上选择了色 谱图和源质谱图。或者, Protein Deconvolution 应用程序已转至 Process and Review (处理和查看)页面,因为原始数据文件仅包含质谱图。可以缩放色谱图和源质谱图视图,且可以在 Process and Review (处理和查看)页面的 Chromatogram (色谱图)窗格上选择一个新平均质谱图进行解卷积。但是,必须手动返回至 Chromatogram (色谱图)窗格修改这些视图。

使用 Process and Review (处理和查看)页面解卷积选中的质谱图,查看得到的数据以确保结果有意 义。用户也可以将数据导入 Microsoft<sup>™</sup> Excel<sup>™</sup> 电子数据表文件,以在其他应用程序上使用。

## ◆ 若要解卷积质谱图

- 1. 若尚未转至 Process and Review (处理和查看)页面,点击 **Process and Review (处理和查看)**选项 卡。
- 2. (可选)调整 Main Parameters (Xtract) (主要参数, Xtract)窗格上的任意参数。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

3. 点击菜单栏上的 Process (处理)。

**显示结果** 应用程序完成处理后,以一组峰质量数和相对强度的形式将已解卷积质谱图显示在 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗格上。

其也以表格 (表格内容包括质量数、强度、电荷数信息和品质分数)形式在 Results (结果)窗格上显示组分列表 (参阅下图)。Results (结果)表各列中的值代表解卷积的输出值。Results (结果)表中的每个峰均由同位素簇组成。原始质谱图中的每个同位素簇为解卷积质谱图中的峰提供了依据。

用户可以展开表格中的每个条目,以显示条目所包含的各个电荷数的详细信息。有关解析 Results (结果)表格中结果的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

# ◆ 若要显示解卷积结果

1. 若 Process and Review (处理和查看)页面尚未打开,点击 **Process and Review (处理和查看)**选项 卡。

下图显示了一次解卷积的结果。



下图显示了滑动窗解卷积的结果。Process and Review(处理和查看)页面上的窗格和 Results(结果)表中滑动窗解卷积的结果与一次解卷积的结果值相同,除滑动窗解卷积的 Results(结果)表中不包含 Average Charge (平均电荷)列外。Results (结果)表中包括 Number of Detected Intervals (检测间隔数)列和 Scan Range (扫描范围)列。此外, Source Spectrum (源质谱图)窗格上没有 任何显示,除非用户从 Results (结果)表格中选择了一个组分。

1. Thermo Protein Deconvolution	n												
Thermo pre		D						Manu	al Xtract (Isotopical	ly Resolved)			¥
SCIENTIFIC	te		econv	olutio	Defaults	slidingWindow_)	Ktract	Myog	lobin_30pmol_mich	rom_protein_mici	rotrap_11min_OT_60k	Sequenc (_1.RAW	e Help 🛱
Method Selection	R	lun Queu	e 🔽 Pa	arameters	Chromate	ogram 🔽 Pro	ocess and Review	Sample Con	nparison	Reporting			
Deconvolve the spectrum u Chromatogram/Parameter	ising F tab.	ReSpect/2	Xtract with t	he sliding wi	ndow algorithm.	If you would like	to use ReSpect/Xtra	ct, uncheck the che	ck box on the		Process Save Re	esult As Save as	Reference
Deconvolution Parameters													
Results	« s	Source Sp	ectrum					Chromatogra	am				
Experiment Types								Myoglobin_3	upmoi_micnrom_j	protein_microtra	p_11min_01_60K_	,1 NL:	8.43E7
Xtract with Sliding Window	•							50-	2	RT(mi	б 8 n)	10	
	C	Deconvolv	ved Spectrum	1									
	Dolotivo Intonoțiu	100 80 60 40 40 20 20 1	0168.549 10500	11000	11500	12194.503 	1	13599_287 13985  13500 140 Mass	1.436 1.47 1.400 1.4500	29.896 	15500 160	16 16923 	015 005
	B	Results											
		a N	lo. Mon	pisotopic	Sum Intensity	Number of	Number of	Delta Mass	Relative	Fractional	Scan Range	RT Range	Ape
		⊕ 1		Mass 16941.011	933900 20	Charge States	Detected Intervals	0.000	Abundance	Abundance 41 7677	147,294	3 258-6 479	3.74 -
		÷ 2		16923.015	776695.41	20	17	-17.996	83.1669	34.7369	35-294	0.748-6.479	3.74
		⊖ > 3		16905.005	134848.19	16	16	-36.006	14.4393	6.0309	35-250	0.748-5.493	3.49
		C	harge State			Intensity		MZ	Centroid		Calcula	ited Mass	
		10	)			2226.99		169	1.508				
		14	1			24278.68		120	8.501				
		15	5			61720.39		112	8.004				
		16	5			87690.44		105	7.566				
Load Result	1	17	7			217668.21		995	.418				
		٩											•

下图显示了目标序列匹配解卷积的结果。应用程序显示与组分质量数相匹配的可变修饰和糖基化的组合列表。该应用程序不显示固定修饰或二硫键。

11. Thermo Protein Deconvolutio	on												- • ×
Thormo a			1.0							Manu	al Ytract (Isotopic	ally Perolyed)	×
SCIENTIFIC Pro	ote	in Dec	onvolutio	Din DefaultN	lethodXtrac	t				Whey	B800_Casein_1to2	_3.raw	Sequence Help 🗱
Method Selection	<b>-</b> R	Run Queue	Parameters	Chromato	gram 🔽	Process and Review	Sar	nple Comp	arison 📄 I	Reporting			
Deconvolve the spectrum.											Process Sa	ve Result As	Save as Reference
Deconvolution Perameters	_												
Main Parameters (Xtract)		Sliding Wind	w										
Output Mass	۲	M OMH+				m/	z Range	Min 6	00 Max	3000			Apply
Resolution at 400 m/z	989	995				Charge	e Carrier	◎ H+ (1	.00727663)				
S/N Threshold	3							© K+ (3 ◎ Na+ (	8.9631585) (22.9892213)				
Rel. Abundance Threshold (%)	0					Min Num Detected	Channa	Custo	m				
Negative Charge						In Num Delected	charge to Table	3					
						Isotoj	e rable	Protein	•				
Results	~ 3	Source Spectru	Im				Chr	romatogram	1				
Xtract	-			214	7 7621			100					NL: 4.15E8
		1122	1405 1575.2283	1968.8646	2362	5394 <u>2624</u> .9451		0.17				n	
		1000	1500	2000 m/z	2	2500 3000			6.6	6.7 RT(n	6.8 nin)	6.9	
		Deconvolved S	nostrum										
		Deconvolved	peerum									23600.3	330
		400									1xArg,	alpha-s1-case ixPhosphoryla	in.PDecon tion,2xAcetylation
		100											
		50											23527.340
		10871	.213										llı
		11000	12000	13000 14	000 15	000 16000	17000 Mass	18000	19000	20000	21000	22000	23000
	F	Results											
		🖆 No.	Monoisotopic	Sum Intensity	Number o	f Average Charge	Delta Ma	355	Matched Delta	Matched	Relative	Frac	tional RT R
		● ▶ 1	23600.330	2553460.74	14	11.76		0.000	Mass(ppm) 4.5	alpha-s1-c	100.0000	53.02	288 6.50
		• 2	23527.340	725222.20	10	11.81		-72.989		alpha-s1-ca	sein.PDecon;1x/	urg,5xPhosphoi	ylation,2xAcetylation
		± 3	23582.326	378039.98	6	11.35		-18.004		Coloria - 31°Ca	▼ 14.8050	7.850	.9 6.50
		• 4	23680.294	323537.59	4	10.93		79.964	4.6	alpha-s1-c	. • 12.6706	6.719	6.50
		• 5	23347.188	268093.15	3	10.83		-253.141			<ul> <li>10.4992</li> <li>9.5672</li> </ul>	5.567	r6 6.50
Load Result		⊕ 7	23304.346	187463.45	3	10.94		-128.010			<ul> <li>7.3415</li> </ul>	3.893	1 6.50 T
Load Result	_1	*	20.1.21020		-								+

- 2. 如有必要, 按照 *Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)*中的说明展开 Results (结果)表。
- 3. (可选)点击 Column Chooser (列选择器)图标, 📫,并选择 Column Chooser (列选择器)对话 框中的列,从而选择欲显示的列。

选择参考质量数以计算质量数差值

参考质量数通常是指结果中丰度最大峰的质量数。Protein Deconvolution 应用程序对比数据组中所有其 他峰的质量数与参考质量数,并将这些差值置于 Process and Review(处理和查看)页面上 Results(结 果)表的 Delta Mass(质量数差值)列中。质量数差值有助于解析目标组分的结构。但是,用户可以 选择表格中其他组分的质量数,并将其用作指定解卷积质谱图的参考质量数。该参考组分的默认质量 数差值是 0。然后,应用程序对比数据组中其他峰的质量数与该默认值。

当同时载入多个结果时,应用程序仅计算来自同一解卷积质谱图的组分的质量数差值。

#### ✤ 若要选择新参考质量数

- 1. 在 Results (结果) 表格中, 右击欲用作参考峰的组分所在的行。
- 2. 选择 Set as Reference Component (设为参考组分)。

应用程序将选中组分 Delta Mass Column (质量数差值列)中的值重置为 0,并重新计算 Results (结果)表中所有其他组分的质量数差值。

调整 Xtract 解卷积结果

#### ✤ 若要调整 Xtract 解卷积结果

若对结果不满意,调整 Process and Review (处理和查看)页面或 Parameters (参数)页面上 Main Parameters (Xtract) (主要参数, Xtract)窗格中的参数, 然后点击 **Apply (应用)**。

也可以返回至 Parameters(参数)页面,调整 Advanced Parameters (Xtract) (高级参数,Xtract)窗格 上的参数,然后点击 Apply (应用)。参数调整完成后,再次点击 Process and Review (处理和查看) 页面上的 Process (处理)。

保存解卷积结果

## ♦ 若要保存解卷积结果

- 1. 若对结果满意,则点击 Save Result As (结果另存为) 以保存结果。
- 2. 在 SaveAs (另存为)对话框中,执行以下操作:
  - a. 在 Result Name (结果名)框中,输入结果文件的名称。
  - b. 在 Description (描述) 框中, 输入结果的简短描述。
  - c. 点击 Save (保存)。

应用程序将解卷积结果保存至后缀名为.sqlite 的文件中,该文件与保存原始数据文件位于同一目录中。也可以将该窗口中的任意一个视图复制到 Microsoft PowerPoint™演示文件中。

3. 若要分析同一 LC/MS 数据文件中的其他平均质谱图,返回至 Chromatogram (色谱图)窗格或 Process and Review (处理和查看)页面上的 Chromatogram (色谱图)窗格,然后按照第 10 页上的 "选择待解卷积的质谱图"中的说明进行操作。

#### 导出解卷积结果

## ◆ 若要导出解卷积结果

- 1. 选择 Results (结果) 表格中的一个结果。
- 2. 右击 Results (结果) 表中的任意位置,并选择以下其中一项:
  - Export All (导出所有结果)将 Results (结果)表中的所有结果保存到文件中。

- 或 -

- Export Top Level (导出顶层结果) 仅将 Results (结果)表中的顶层结果保存到文件中。顶层结 果是指以下列中的数据: Monoisotopic Mass (单同位素质量数)、Sum Intensity (总强度)、 Number of Charge States (电荷数的数量)、Average Charge (平均电荷)、Delta Mass (质量数差 值)、Relative Abundance (相对丰度)、Fractional Abundance (丰度分数)、RT Range (保留时间范围)和 Apex RT (峰尖保留时间)。这些数据不包括点击 No. (序号)列左侧的+号出现的 列中的数据。
- 3. 在 SaveAs (另存为)对话框中,浏览或输入要保存结果的文件名。
- 4. 点击 Save (保存)。

应用程序将 Results (结果)表中显示的数据保存到名为 *raw\_file\_name.xk* 的 Excel 文件中。若未指定 目录,则该应用程序默认将该文件置于 Method Selection (方法选择)页面上显示的原始数据目录 中。

当用户选择了一个结果,然后选择 Export Top Level (导出顶层结果)或 Export All (导出所有结果)命令时,得到的 Excel 文件显示了当前可见表格中的各列和顺序。

#### ◆ 若要导出色谱图、源质谱图或解卷积质谱图至第三方应用程序文件

- 1. 在以下任一窗格上右击, 然后选择 Copy (复制)。
  - Chromatogram (色谱图)页面上的 Chromatogram (色谱图)窗格
  - Process and Review (处理和查看)页面上的 Source Spectrum (源质谱图)
  - Process and Review (处理和查看)页面上的 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)
- 2. 打开一个第三方图形应用程序文件, 然后将已复制的图片粘贴至其中。

#### ♦ 若要导出解卷积质谱图的质量数和强度数据至 Excel 或 CSV 文件

- 1. 在 Process and Review (处理和查看)页面的 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗格上右 击,并选择 **Copy Data (复制数据)**。
- 2. 打开一个 Excel 或 CSV 文件。
- 3. 在应用程序上右击,并选择 Paste (粘贴)。

应用程序从 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图) 窗格上导出质量数 (x轴) 和强度 (y轴) 数据至 Excel 或 CSV 文件。

删除结果

# ◆ 若要删除结果

- 1. 转至包含 SQLite 文件的目录。
- 2. 选择包含待删除结果的一个或多个 SQLite 文件。
- 3. 右击并选择 Delete (删除)。

Protein Deconvolution 应用程序删除所选 SQLite 文件中的所有结果。

**注释** 删除 SQLite 文件后,该运行仍显示于 Auto Xtract (自动 Xtract)工作流程中的运行队列中。使用 Queue Manipulation (队列操作) > Remove Selected (移除已选)命令将其从队列中移除。

# 对比由 Xtract 生成的样品

可以对比两个解卷积质谱图,或者同一质谱图的不同部分。

无法对比由 Xtract 算法生成的任意质谱图和由 ReSpect 算法生成的任意质谱图。

# ◆ 若要将解卷积质谱图另存为参考质谱图

- 1. 确保在 Process and Review (处理和查看)页面上的 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗 格中可以看到那个打算另存为参考质谱图的解卷积质谱图。
- 2. 点击 Protein Deconvolution 窗口右上角的 Save As Reference (另存为参考谱图)。
- 3. 在 SaveAs (另存为)对话框中,输入参考质谱图的名称并进行描述,然后点击 Save (保存)。
- 4. 点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 5. 若希望该参考质谱图在用于解卷积参考质谱图的方法中可用,则选择 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)中的质谱图,然后点击 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)窗格中的 Add to Method (添加至方法)。
- 6. (若要对比待分析数据与参考质谱图,该步骤对于手动流程可选,但对于自动流程是必需的)保存 含参考质谱图的方法,如下:
  - 若要在已有名称下保存方法,从库中选择参考质谱图,然后点击 Save Method (保存方法)。 - 或 -
  - 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
    - i. 点击 Save Method As (方法另存为), 以打开 Save (保存)对话框。
    - ii. 在 Method Name (方法名) 框中,输入方法的名称。
    - iii.在 Descriptions (描述) 框中, 输入方法的简短描述。
    - iv. 点击 Save (保存)。

## ◆ 若要对比解卷积质谱图与参考质谱图

- 1. 解卷积要与参考质谱图对比的源质谱图。
- 2. 点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 3. 双击或选择质谱图,然后点击 **Select (选择)**,从而从 Reference Spectrum Library (参考质谱图库) 中选择适合的参考质谱图。

Mirror Plot (镜像谱图) 窗格上显示一个镜像谱图,其中参考质谱图位于负坐标方向,源质谱图位 于正坐标方向 (参阅下图)。窗格顶部的文本标出了源数据文件的名称,窗格底部的文本标出了参 考数据文件的名称。



4. (可选)在 Mirror Plot (镜像谱图)窗格上右击并选择 Zoom In (放大),以放大谱图,或者在目标质谱图下方拖动光标。

镜像谱图上的缩放设置保持不变,直到用户更改了解卷积质量数范围或载入了以前的结果。

## ◆ 若要显示用于生成参考质谱图的参数设置

- 1. 在 Reference Spectrum Library (参考质谱图库) 窗格上选择参考质谱图。
- 2. (可选)执行下列操作之一:
  - 点击 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)窗格上的 Show Details (显示详细信息),以 显示用户在参考质谱图库中选择的用于生成参考质谱图的所有解卷积参数 (*不是*当前载入的参数)。

- 或 -

• 点击 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格上的 Show Details (显示详细信息), 以显示用户在方法中选择的用于生成参考质谱图的所有解卷积参数 (不是当前载入的参数)。

点击 Reference Spectrum Library(参考质谱图库)窗格上的 Add to Method (添加至方法)后, Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格上的 Show Details (显示详细信息)命令变为可用。

不管是哪种情况,对比这些参数与用户设置用于生成当前试验用质谱图的参数,以确保两个质谱图 具有可比性。

# ◆ 若要从参考质谱图库中删除参考质谱图

- 1. 若尚未转至 Sample Comparison (样品对比)页面,点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 2. 在 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)窗格上选择适合的参考质谱图, 然后点击 **Delete** (删除)。
- 3. 在出现的确认框中,点击 Yes (是)。

## ◆ 若要从方法中删除已保存的参考质谱图

 若尚未转至 Sample Comparison (样品对比)页面,点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格上显示了参考质谱图的名称和参考数据文件的 名称。该窗格还显示了有关该参考质谱图的描述 (若有)。 在 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格上,点击 Remove (移除)。
 从 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格和镜像谱图上移除已删除的参考质谱图。

- 若要在已有名称下保存方法,从库中选择方法,然后点击 Save Method (保存方法)。 - 或 -
- 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
  - i. 点击 Save Method As (方法另存为), 以打开 Save (保存)对话框。
  - ii. 在 Method Name (方法名) 框中,输入方法的名称。
  - iii.在 Descriptions (描述) 框中, 输入方法的简短描述。
  - iv. 点击 **Save (保存)**。

# ◆ 若要更改方法中的参考质谱图

- 1. 若尚未转至 Sample Comparison (样品对比)页面,点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 2. 从方法中移除己存在的参考质谱图。参阅第18页上的"若要从方法中删除已保存的参考质谱图"。
- 3. 在 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)窗格上,选择适合的参考质谱图。
- 4. 点击 Add to Method (添加至方法)。
- 5. 保存方法,如下:
  - 若要在已有名称下保存方法,从库中选择方法,然后点击 Save Method (保存方法)。 - 或 -
  - 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
    - i. 点击 Save Method As (方法另存为), 以打开 Save (保存)对话框。
    - ii. 在 Method Name (方法名)框中,输入方法的名称。
    - iii.在 Descriptions (描述) 框中, 输入方法的简短描述。
    - iv. 点击 Save (保存)。

对比已保存 Xtract 结果中的样品

用户可以对比源质谱图和以前已保存 Xtract 结果中的参考质谱图。当载入已保存结果时, Sample Comparison (样品对比)页面变为可用,不管用户是否使用了参考质谱图。若该页面上没有参考质谱 图出现,则方法中没有使用参考质谱图生成结果。

当载入已保存的 Xtract 结果时,用户仅可以选择由 Xtract 算法生成的参考质谱图。与此类似,当载入已保存的 ReSpect 结果时,用户仅可以选择由 ReSpect 算法生成的参考质谱图。

用户可以选择新参考质谱图,以显示在结果中,但是无法将其保存至方法。用户无法删除保存在结果 中的原始参考质谱图。

无法保存使用新参考质谱图生成的镜像谱图,但是可以将其内容复制至 Clipboard (剪贴板),用于第 三方应用程序,如 PowerPoint。若要查看与结果一起保存的原始镜像谱图,必须重新载入结果。

Protein Deconvolution 应用程序不更新报告,便于与修改后的镜像谱图中的内容一致。

显示报告

当点击 Process and Review (处理和查看)页面上的 Process (处理)时, Protein Deconvolution 应用程序 生成一个显示解卷积多个方面的报告,以便用户跟踪数据的进程。用户可以在 Reporting (报告)页面 上查看该报告,并将其另存为 PDF 文件。

当载入多个结果时,应用程序仍然生成含合并结果的单个报告。但是,该报告仅可以包含来自 Xtract 或 ReSpect 的结果,而不能同时包含两种算法的结果。

# ◆ 若要显示报告

数据分析完成后,点击 Reporting (报告)选项卡。

Reporting (报告)页面显示指定数据文件中的所有结果总结。有关该报告所包含的各部分的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

<sup>3.</sup> 保存方法,如下:

- ♦ 若要将报告保存为 PDF 文件
- 1. 将光标移动至屏幕底部附近。 Reporting (报告)页面的工具栏出现。
- 点击 Show Acrobat (显示 Acrobat) 图标, 
   Adobe<sup>™</sup> Acrobat<sup>™</sup> 应用程序工具栏出现在屏幕顶部。
- 3. 在 Adobe 工具栏上,点击 Save File (保存文件)图标, 📄。 Save a Copy (保存副本)对话框打开。
- 4. 指定保存报告的 PDF 文件的路径和名称,然后点击 Save (保存)。

Protein Deconvolution 应用程序将报告保存到名为 *raw\_file\_name*.pdf 的文件中。若用户未指定目录,则默认将该文件置于 Method Selection (方法选择)页面上显示的原始数据目录中。

- ◆ 若要打印报告
- 1. 将光标移动至屏幕底部附近。
- 2. 点击 Reporting (报告)页面工具栏上的 Print File (打印文件)图标, ——。
- 3. 在 Print (打印)对话框中,设置适合的打印参数,然后点击 OK (确定)。

在自动蛋白质解卷积中,用户将文件添加至运行队列,然后对已队列的文件执行解卷积。

# 质谱图 设置自动

Xtract 解卷积

使用 Xtract

自动解卷积

选择 Xtract 解卷积算法、一个方法和一个原始数据文件。

- ✤ 若要使用 Xtract 算法设置自动解卷积
- 1. 点击 Method Selection (方法选择)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Method Selection (方法选择)页面的 Experiment Types (实验类型)窗格上,点击 Auto Xtract (Isotopically Resolved) (自动 Xtract,同位素已解析)。
- 3. 在 Methods (方法) 窗格上, 通过执行以下操作之一指定提取方法:
  - 若默认方法或其中一个已有方法包含适合的参数,且用户不希望对其作出修改,则选择目标方法的名称,转至 Load Raw Data File (载入原始数据文件)窗格,然后按照步骤 7 中的说明进行操作。
  - 若希望创建新方法,选择 Manual Xtract (Isotopically Resolved) (手动 Xtract,同位素已解析)实验 类型,然后按照第 3 页上的"创建 Xtract 方法"中的介绍设置 Parameters (参数)页面上的参数。离开 Parameters (参数)页面之前,按照步骤 4 中的介绍进行操作。
- 4. (可选)点击 **Parameters(参数)**选项卡,在 Parameters(参数)页面的 Automation Parameters (自动参数)窗格上设置控制导出演示的参数,然后点击 **Apply(应用)**。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

- 5. 若修改了方法或创建了新方法,再次点击 Method Selection (方法选择)选项卡。
- 6. 若修改了方法或创建了新方法,返回至 Methods (方法) 窗格并选择该方法。
- 7. 在 Load Raw Data File (载入原始数据文件)窗格上,选择包含样品质谱数据的原始数据文件:
  - a. 在 Raw Data Directory (原始数据目录)框中,输入原始数据文件的路径,或点击 Browse (浏览)按钮 (...),浏览至包含该文件的目录。

b. 在 Select Raw Data Files (选择原始数据文件)区域,点击原始数据文件的名称。 尽管用户可以载入最大为 34 GB 的原始数据文件,但是当载入这种大文件时,可能会出现处理 和报告问题。Thermo Fisher Scientific 建议用户使用最大为 2 GB 的文件。

若希望以指定方法运行一批数据文件,通常为同一样品,执行以下操作:

• 若要选择连续的文件名称,点击首个原始数据文件的名称,按住 SHIFT 键,然后点击希望选择的最后一个文件的名称。

- 若要选择非连续的名称,点击首个原始数据文件的名称,按住 CTRL 键,然后点击各个文件 的名称。
- c. 点击 Add to Queue (加入队列)。

应用程序转至 Run Queue (运行队列)页面。所选数据文件出现在 Run Queue (运行队列)页面上,状态为 Queued (已队列)(参阅下图)。

⊥L Thermo	L Thermo Protein Deconvolution												
The SCIE	Chemmo Protein Deconvolution DefaultSlidingWindow_Xtract Auto Xtract ((sotop(a))y Resolved) Sequence Help &												
Method Selection 🔽 Run Queue 🗹 Parameters 📓 Chromatogram 📓 Process and Review 📓 Sample Comparison 📓 Reporting													
Proce	Process methods defined in the work queue. Queue Manipulation Set Priority Open Result Open Report												
Record Number	Priority	Submit Time	Method Name	Raw Data File	Experiment Type	Number of Chromatographic Peaks	Number Of Components Detected	Completion Time	Status				
1 2	Normal Normal	3/12/2015 3:45:30 PM 2/27/2015 4:18:22 PM	DefaultSlidingWindow_Xtract DefaultMethodXtract	C:\Program Files\Protein Deconvolution source file C:\Program Files\Protein Deconvolution source file	XT_AUTO XT_AUTO	4	42	2/27/2015 4:23:38 PM	Queued Completed				
R	ın												

8. (可选)若要在运行队列中添加其他任务,返回至 Method Selection (方法选择)页面,然后重复前面的步骤。

用户可以处理多达1000个样品。

9. 若希望运行任务,按照"运行队列中的任务。"中的介绍进行操作。

创建方法

为自动 Xtract 解卷积和手动 Xtract 解卷积创建或修改方法的方式相同。

- 若要为一次解卷积创建方法,参阅第3页上的"为一次 Xtract 解卷积创建方法"。
- 若要为滑动窗解卷积创建方法,参阅第4页上的"为 Xtract 滑动窗解卷积创建方法"。
- 若要为目标序列匹配创建方法,参阅第5页上的"为 Xtract 目标序列匹配创建方法"。

运行队列 中的任务

用户可以为队列中的任务指定优先级、暂停队列中的任务,以及从队列中移除任务。

默认情况下,应用程序以提交任务相反的顺序处理队列中的多个任务;也就是说,它首先处理最新提 交的任务。

# ◆ 若要运行队列中的任务

- 1. 点击 Run Queue (运行队列)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 点击 Run (运行)。

Run (运行)按钮更改为 Pause (暂停)按钮。一段时间后,任务的状态从 Queued (已队列)更改 为 Processing (处理)。当 Status (状态)列中的状态更改为 Processing (处理)时, Pause (暂停) 按钮不可用,除非队列中包含状态为 Queued (已队列)的其他任务。

## ♦ 若要指定队列中任务的优先级

- 1. 点击 Run Queue (运行队列)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 点击一个任务以将其选中。
- 3. 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Set Priority (设置优先级) > priority\_level (优先\_ 级),其中, priority\_level (优先\_级)可以为以下任一:
  - Low (低):在 Normal (常规)或 High (高)级别的任务完成后,处理该任务。
  - (默认) Normal (常规): 在 Low (低)优先级的任务之前及 High (高)优先级别的任务之 后,处理该任务。
  - High (高):在 Low (低)或 Normal (常规)级别的任务之前,优先处理该级别任务。

若为多个任务指定相同的优先级水平, Protein Deconvolution 应用程序按照提交至队列的日期和时间 处理任务。

#### ◆ 若要暂停运行队列中正在处理的任务

# 1. 点击 Pause (暂停)。

仅当队列中包含两个或更多任务且 Status (状态)列中的状态为 Processing (处理)时, Pause (暂 停)按钮才可用 (参阅下图)。用户无法暂停状态为 Processing (处理)的一项任务。 暂停影响待处理的下一个样品,而不影响当前正在处理的样品。

⊥L Ther	mo Protein D	econvolution							×			
sci		Protein D	econvolution	DefaultSlidingWindow_Xtract			Auto X	tract (Isotopically Resolved)	Sequence Help 🌣			
	Method Selection 🔽 Run Queue 📄 Parameters 📓 Chromatogram 📓 Process and Review 📓 Sample Comparison 📳 Reporting											
Ø Pro	Process methods defined in the work queue. Queue Manipulation Set Priority Open Result Open Report											
Record Numbe	r Priority	Submit Time	Method Name	Raw Data File	Experiment Type	Number of Chromatographic Peaks	Number Of Components Detected	Completion Time	Status			
1	Normal	10/14/2013 3:42:28 PM	DefaultMethodXtract	C:\Program Files\Protein Deconvolution source files	XT_AUTO				Processing			
2	Normal	10/14/2013 3:42:32 PM	DefaultMethodXtract	C:\Program Files\Protein Deconvolution source files	XI_AUTO				Queued			
F	ause											

确认框出现。

2. 点击 OK (确定)。

当前分析完成后,剩余的任务仍然在运行队列中,状态为 Queued (已队列)。

- 3. 点击 Run (运行),以使 Protein Deconvolution 应用程序处理余下的任务。
- ♦ 若要从队列中移除选中的任务

1. 选择要从队列中移除的一个或多个任务。按照以下操作移除多个任务:

- 若要选择连续的文件名称,点击首个任务的名称,按住 SHIFT 键,然后点击希望选择的最后一个任务。
- 若要选择非连续的名称,点击首个任务的名称,按住 CTRL 键,然后点击各个任务。
- 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Queue Manipulation (队列操作) > Remove Selected (移除已选)。
- 3. 在确认框中,点击 Yes (是)。

## ◆ 若要从队列中移除所有任务

 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Queue Manipulation (队列操作) > Remove All (移除 所有)。

仅当所有任务状态为 Queued (己队列)或 Completed (己完成)时,才可以移除所有的任务。

- 2. 在确认框中,点击 Yes (是)。
- ◆ 若要从队列中移除所有已完成的任务
- 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Queue Manipulation (队列操作) > Remove Completed (移除已完成)。
- 2. 在确认框中,点击 Yes (是)。

对比由自动 Xtract 生成的样品 若要对比由自动 Xtract 算法生成的参考质谱图和源质谱图,使用第 17 页上的"对比由 Xtract 生成的样品"中的程序(只有一项例外)。用户必须将参考质谱图保存至用于生成参考质谱图的方法。为了得到最佳结果,使用同一方法生成源质谱图。

用户可以在 Sample Comparison (样品对比)页面上选择一个参考质谱图进行评价,而不是在 Process and Review (处理和查看)页面上解卷积质谱图。

# ◆ 若要对比由自动 Xtract 算法生成的样品

- 1. 在手动 Xtract 工作流程中创建一个新方法 (参阅第 3 页上的"创建 Xtract 方法"),或者在自动 Xtract 工作流程中更改已有的方法 (参阅第 20 页上的"设置自动 Xtract 解卷积")。
- 2. 点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 3. 从 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)中选择一个参考质谱图,以将其添加至方法。
- 4. 点击 Add to Method (添加至方法)。
- 5. 保存方法,如下:
  - 若要在已有名称下保存方法,点击 Save Method (保存方法)。

- 或 -

- 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
  - i. 点击 Save Method As (方法另存为),以打开 Save (保存)对话框。
  - ii. 在 Method Name (方法名) 框中,输入方法的名称。
  - iii.在 Descriptions (描述) 框中,输入方法的简短描述。
  - iv. 点击 Save (保存)。

不需要先解卷积数据。

- 6. 在 Method Selection (方法选择) 窗格上,选择 Methods (方法) 窗格上的方法 (但是没有必要点 击 Edit Method [编辑方法])。
- 7. 在 Load Raw Data File (载入原始数据文件) 窗格上,选择原始数据文件并点击 Add to Queue (加入队列)。

**显示结果** Protein Deconvolution 应用程序完成原始数据文件的分析后,便可以打开分析结果。

查看结果后,若要调整色谱图,用户必须手动操作并重新运行任务。

## ◆ 若要显示任务的结果

- 1. 在 Run Queue (运行队列)页面上,选择已完成的任务及希望显示的结果。
- 2. 点击 Open Result (打开结果)。

应用程序转至 Process and Review (处理和查看)页面,在 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱 图)窗格上显示导出质谱图,在 Results (结果)表中显示组分列表。

当通过 Run Queue (运行队列)页面的 Open Result (打开结果)命令访问 Chromatogram (色谱 图)页面或 Process and Review (处理和查看)页面时, Save Method (保存方法)、 Save Method As (方法另存为)和 Result Method (结果方法)命令不可用。

若应用程序尚未分析原始数据文件,或正处于分析过程中时,用户无法打开结果。

打开结果不会使应用程序停止分析后续的数据组。

# ◆ 若要调整色谱图

- 1. 点击 Method Selection (方法选择)选项卡。
- 2. 点击 Manual Xtract (Isotopically Resolved) (手动 Xtract, 同位素已解析),按照第3页上的"创建 Xtract 方法"中的说明重新载入原始数据文件。
- 3. 按照第10页上的"选择待解卷积的质谱图"中的说明调整色谱图。
- 4. 重新提交任务至任务队列进行自动处理。

## ♦ 若要复制色谱图

- 1. 任务处理完成后,点击 Run Queue (运行队列)页面上的 Open Result (打开结果)。
- 2. 点击 Chromatogram (色谱图)选项卡。
- 3. 从 Windows Start (开始)菜单上,选择 All Programs (所有程序) > Accessories (附件) > Snipping Tool (截图工具)。
- 4. 在希望捕获的色谱图区域周围拖拽光标。
- 5. 在 Snipping Tool (截图工具)上右击,然后选择 Copy (复制)。
- 6. 打开第三方应用程序文件, 然后将已复制的图片粘贴至其中。

显示解卷 积报告	当点击 Run Queue (运行队列)页面上的 Run (运行)时,应用程序生成一份显示解卷积多个方面的 报告,以便用户追踪数据的进程。第19页上的"显示报告"介绍了该报告。用户可以在 Reporting (报告)页面上查看该报告,并将其另存为 PDF 文件。
	<ul> <li>◆ 若要显示报告</li> <li>1. 在 Run Queue (运行队列)页面上,选择已完成的任务,以及希望显示的报告。</li> <li>2. 点击 Open Report (打开报告)。</li> <li>应用程序转至 Reporting (报告)页面,在此显示报告。</li> </ul>
	当选择 Parameters (参数)页面 Automation Parameters (自动参数)部分上的 Concatenate All Reports (合并所有报告)参数时,应用程序打开一个包含所有色谱峰的报告。若未选择该参数,其为每个 峰打开一个报告。
载入已保 存的结果	用户可以重新载入以前解卷积的结果。有关说明,参阅第49页上的"载入已保存的结果"。
使用 ReSpect 手动解卷积质 谱图	当用户根据未解析的完整蛋白质质谱图生成解卷积质谱图时,源 MS 质谱图可以是来自 LC/MS 数据文件的单质谱图和平均质谱图、或来自仅包含该质谱图的原始数据文件的单质谱图。 ReSpect 算法将该源质谱图转化为新质谱图,并在新窗格中显示该谱图,其中 x 轴上标记为质量数单位,而不是质荷比。
设置手动 ReSpect 解卷积	<ul> <li>选择 ReSpect 解卷积算法、一个原始数据文件和一个方法。</li> <li><b>若要使用 ReSpect 算法设置蛋白质解卷积</b></li> <li>1. 点击 Method Selection (方法选择)选项卡(若其尚未选中)。</li> <li>2. 在 Experiment Types (实验类型) 窗格上,点击 Manual ReSpect (Isotopically Unresolved) (手动 ReSpect, 同位素未解析)。</li> <li>3. 在 Load Raw Data File (载入原始数据文件) 窗格上,选择包含样品质谱数据的原始数据文件: <ul> <li>a. 在 Raw Data Directory (原始数据目录) 框中,输入原始数据文件的路径,或点击 Browse (浏览) 按钮 (),浏览至包含该文件的目录。</li> </ul> </li> </ul>
	b. 在 Select Raw Data Files (选择原始数据文件)框中,点击原始数据文件的名称。

- c. 点击 Load **(载入)**。
  - 若在这之前载入了其他原始数据文件,一个警告框出现。
- d. 点击 Yes (是)。

Protein Deconvolution 窗口顶部出现多个选项卡,可用方法出现在 Methods (方法)窗格中 (参阅 下图)。

Protein Deconvolu     ENTIFIC     Method Selection     Convert     Run Queue     Paramete     ielect an experiment type, a data file, and a method.	s Chromatogram Process and Review Sample Compariso	Manual Respect** (Isotopically Unresolved) Sequence He IgG_source_cidraw on Reporting
xperiment Types	Load Raw Data File	Methods
Manual Xtract (Isotopically Resolved)	Raw Data Directory C\Program Files\Protein Deconvolution	Name Description DefaultMethodReSpect
Manual ReSpect™ (Isotopically Unresolved)	IgG_Sug_SIM-qb.raw IgG_source_cid-qb.raw	DefaultMethodReSpection Irap DefaultSlidingWindow_ReSpect ExampleMethodNativeMS
Auto Xtract (Isotopically Resolved)		
Auto ReSpect™ (Isotopically Unresolved)	>	
Load Results	>	
	Load	Create Method Load Method

- 4. 通过在 Methods (方法) 窗格上执行以下任一操作指定参数:
  - 若其中一个已有方法包含适合的参数,选中该方法的名称,然后点击 Load Method (载入方法)。
    - 若要使用默认方法进行一次解卷积,选择 **DefaultMethodReSpect** (默认方法 ReSpect)。
    - 若原始数据文件包含离子阱数据,选择 DefaultMethodReSpectIonTrap (默认方法 ReSpect 离子阱)。
    - 若要使用默认方法进行滑动窗解卷积,选择 **DefaultSlidingWindow\_ReSpect** (默认滑动窗 \_**ReSpect**)。
    - 若要在原形或非变性条件下,研究 Exactive Plus<sup>™</sup> EMR 质谱仪上的蛋白质,选择 **ExampleMethodNativeMS (示例方法原形 MS)**。

若原始数据文件包含一张色谱图,应用程序自动转至 Chromatogram (色谱图)页面;若其仅包 含一张质谱图,则转至 Process and Review (处理和查看)页面。若要使用 Chromatogram (色谱 图)页面,按照第 34 页上的"选择待解卷 积的质谱图"中的说明进行。若要使用 Process and Review (处理和查看)页面,按照第 36 页上的"使用 ReSpect 解卷积质谱图"中的说明进行。

- 若要更改已存在的方法,执行以下操作:
  - i. 选择目标方法的名称并点击 Load Method (载入方法)。
  - ii. 从 Chromatogram (色谱图)或 Process and Review (处理和查看)页面上,点击 Parameters (参数)选项卡。
  - iii.在 Parameters (参数)页面上,点击适合的图标。
  - iv. 更改适合页面上的相关参数,点击适合窗格上的 Apply (应用),然后点击 Save Method (保存方法),以将更改保存至文件,或者点击 Save Method As (方法另存为),以将更改保存到其他文件中。

点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法另存为),自动使应用程序前进至 Chromatogram (色谱图)或 Process and Review (处理和查看)页面。

**注释**不可覆盖默认方法。若更改默认方法中的参数,使用 Parameters(参数)页面上的 Save Method As(方法另存为)命令将更改的方法保存为新名称。

• 若已有默认方法不包含适合的提取参数,或者无已有方法,点击 Create Method (创建方法)以 创建新方法。

Protein Deconvolution 应用程序自动转至 Parameters (参数)页面。若要设置该页面上的参数,按照"创建 ReSpect 方法。"中的说明进行操作。

 若要在原形或非变性条件下,研究 Exactive<sup>™</sup> Plus<sup>™</sup> EMR 质谱仪上的蛋白质,使用 ExampleMethodNativeMS (示例方法原形 MS)方法。该方法为只读方法,仅 ReSpect 算法可用。 该方法支持可以直接导入自动流程的 Native MS (原形 MS)数据。与"标准"完整蛋白质数据 不同, Native MS (原形 MS)数据可能包括可检测到的蛋白质复合物,其中嵌入了多个蛋白 质。检测这些复合物所要求的 m/z 范围是 1000 至 10 000,甚至是 20 000 m/z。有关该方法的更多 信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

# ✤ 若要从 Methods (方法) 窗格上删除方法

- 1. 在 Method Selection (方法选择)页面的 Methods (方法)窗格上,选择希望删除的方法。
- 2. 按下 DELETE 键。
- 3. 当消息框出现时,点击 Yes (是)。

#### **创建 ReSpect** 方法 当点击 Method Selection (方法选择)页面 Methods (方法)窗格上的 Create Method (创建方法)时, 应用程序自动转至 Parameters (参数)页面。可以为一次解卷积、滑动窗解卷积、目标序列匹配、离 子阱数据解卷积或蛋白质结构分析创建方法。

为一次 ReSpect 解卷积创建方法

- ✤ 若要为一次 ReSpect 解卷积创建方法
- 1. 点击 Parameters (参数)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Parameters (参数)页面上,点击 Deconvolution (ReSpect) (解卷积, ReSpect) 图标,

Deconvolution (ReSpect)

ReSpect 算法的默认设置自动填充在 Parameters (参数)页面上的参数框中 (参阅下图)。

SCIENTIFIC Pro	Run Queue 🔽 Parameters 📄 Chromatog	gram Process and Review Si	ample Comparison 📄 Reporting	Manual ReSpect	t™ (Isotopically Unresc raw	olved) Help 🐇
Deconvolution Parameter	s (ReSpect) 🛛 Chromatogram 🔄 Target Sequence	Matching 🔄 Report		Save Method	Save Method As	Reset Methor
Jet the parameters for the				Jure metrod	Sere method / S	
Main Parameters ( ReSpect™ )						
Negative Charge Minimum Adjacent Charges	6 ¢ to 10 \$	m/z Range Output Mass Range	Min         1000         Max         4000           Min         10000         Max         160000			Apply
Noise Rejection	95% Confidence 💌	Mass Tolerance	20 Ppm •			
Rel. Abundance Threshold (%)	0	Charge State Range	10 to 100			
Calculate XIC		Choice of Peak Model	Intact Protein V			
Advanced Parameters ( ReSpect Peak Filter Parameters	<sup>m</sup> )	Deconvolution Parameters				Apply
Advanced Parameters ( ReSpect Peak Filter Parameters Minimum Peak Significance	™) 1 Standard Deviations	Deconvolution Parameters Number of Iterations	3			Apply
Advanced Parameters ( ReSpect Peak Filter Parameters Minimum Peak Significance Use Relative Intensities	™) 1 Standard Deviations	Deconvolution Parameters Number of Iterations Noise Compensation	3			Apply
Advanced Parameters ( ReSpect Peak Filter Parameters Minimum Peak Significance Use Relative Intensities Baseline Correction	™) 1 Standard Deviations ✓	Deconvolution Parameters Number of Iterations Noise Compensation Charge Carrier	3 9 H+ (1.00727663) 0 H+ (2.013553) 0 Na+ (2.2989213)			Apply
Advanced Parameters (ReSpect Peak Filter Parameters Minimum Peak Significance Use Relative Intensities Baseline Correction Peak Width	™) 1 Standard Deviations ✓	Deconvolution Parameters Number of Iterations Noise Compensation Charge Carrier	3			Apply
Advanced Parameters (ReSpect Peak Filter Parameters Minimum Peak Significance Use Relative Intensities Baseline Correction Peak Width Feature Width	The standard Deviations	Deconvolution Parameters Number of Iterations Noise Compensation Charge Carrier Peak Model Parameters	3			Apply
Advanced Parameters (ReSpect Peak Filter Parameters Minimum Peak Significance Use Relative Intensities Baseline Correction Peak Width Feature Width Degree of Fit	The standard Deviations Inc. Inc. Inc. Inc. Inc. Inc. Inc. Inc.	Deconvolution Parameters Number of Iterations Noise Compensation Charge Carrier Peak Model Parameters Number of Peak Models	3			Apply
Advanced Parameters (ReSpect Peak Filter Parameters Minimum Peak Significance Use Relative Intensities Baseline Correction Peak Width Feature Width Degree of Fit	The standard Deviations Inc. Inc. Inc. Inc. Inc. Inc. Inc. Inc.	Deconvolution Parameters Number of Iterations Noise Compensation Charge Carrier Peak Model Parameters Number of Peak Models Resolution at 400 m/z	3			Apply

3. (可选)更改 Main Parameters (ReSpect) (主要参数, ReSpect)窗格上的适合参数。 有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

4. 点击 Main Parameters (ReSpect) (主要参数, ReSpect)) 窗格上的 **Apply (应用)**。

- 5. (可选)若为经验丰富的用户,更改 Advanced Parameters (ReSpect) (高级参数, ReSpect) 窗格上的
  - 适合参数。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

- 6. 点击 Advanced Parameters (ReSpect) (高级参数, ReSpect) 窗格上的 Apply (应用)。
- 7. (可选)在 Reporting Parameters (报告参数)窗格上,选择要显示的已生成解卷积报告部分。 有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。
- 8. 点击 Reporting (报告) 窗格上的 Apply (应用)。
- 9. 点击 Save Method (保存方法) 或 Save Method As (方法另存为) 以保存方法。

Save Method (保存方法)命令将当前参数值保存至已有方法,覆盖以前的值。该命令不适用于默 认方法。 Save Method As (方法另存为)命令将参数值保存至新方法。

- 10. 在 Save (保存)对话框中,执行以下操作:
  - a. 在 Method Name (方法名)框中,输入方法名称。

名称不能包含任意空格或非字母字符。该名称可以包括下划线。

- b. 在 Description (描述)框中,简要描述方法。例如,描述分析的样品和蛋白质。
- c. 点击 Save (保存)。

注释 应用程序自动将创建的所有方法保存至

C:\ProgramData\ThermoScientific\ProteinDeconvolution\methods.sqlite中的方法数据库。无法将单独的方法文件保存至选择的目录。

应用程序转至 Chromatogram (色谱图)页面,以便选择待解卷积的质谱图。有关该过程的信息,参阅第 34 页上的"选择待解卷 积的质谱图"。

为 ReSpect 滑动窗解卷积创建方法

- ✤ 若要为 ReSpect 滑动窗解卷积创建方法
- 1. 点击 Parameters (参数)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Parameters (参数)页面上,点击 Chromatogram (色谱图)图标, Chromatogram 。 ReSpect 算法的默认设置自动填充在 Chromatogram (色谱图)页面上的参数框中 (参阅下图)。

Thermo Protein Deconvolutio	'n			
Chermo Pro	tein Deconvolution Defaul	tSlidingWindow_Xtract	Manual Xtract (Isotopically Resolved) Myoglobin_30pmol_michrom_protein_microtrap_11	Sequence Help
Method Selection	🖌 Run Queue 🔽 Parameters 🔽 Chroma	togram Process and Review	Sample Comparison 📃 Reporting	
Deconvolution (Xtract)	Chromatogram 🔲 Target Sequence Matching	Report		
Configure sliding window	parameters			Save Method Save Method A
nromatogram Parameters				
Use restricted time. Time limits.	0.006 m to 10.984 m	Types Sensitivity	TIC ▼ High ▼	Apply
Rel. Intensity Threshold (%)	1	Chromatogram m/z Range Use Auto Spectral Averaging	600.0000 A to 2000.0000 A	
ding Window Parameters				
Use Sliding Window	V	Merge Tolerance	30 ppm •	Apply
RT Range	0.006 🔺 to 10.984 🛋	Max RT Gap	1.000 Minutes	
Target Avg Spectrum Width rget Avg Spectrum Offset (%)	0.500 Minutes 50	Min Num of Detected Intervals	3	

对于滑动窗解卷积,无需设置 Chromatogram Parameters (色谱图参数)窗格上的参数。

- 3. 在 Sliding Window Parameters (滑动窗参数)窗格上,设置适合的参数。有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。
- 4. 点击 Apply (应用)。
- 5. 保存方法:
  - a. 点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法另存为)。

Save Method (保存方法)命令将当前参数值保存至已有方法,覆盖以前的值。该命令不适用于 默认方法。Save Method As (方法另存为)命令将参数值保存至新方法,并打开 Save (保存)对 话框。

- b. 在 Save (保存)对话框的 Method Name (方法名)框中,输入方法的名称。 名称不能包含空格或非字母字符。该名称可以包括下划线。
- c. 在 Description (描述)框中,简要描述方法。例如,描述分析的样品和蛋白质。
- d. 点击 Save (保存)。

为 ReSpect 目标序列匹配创建方法

#### ♦ 若要为 ReSpect 目标序列匹配创建方法

- 1. 点击 Parameters (参数)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Parameters (参数)页面上,点击 Target Sequence Matching (目标序列匹配)图标,

Target Sequence Matching

Target Sequence Matching (目标序列匹配)页面出现 (参阅下图)。



- 3. 在 Sequence Matching Mass Tolerance (序列匹配质量数容许偏差)框中,指定质量数容许偏差,单位 是 dalton 或 ppm。
- 4. (可选)创建任意自定义修饰:
  - a. 在 Protein Deconvolution 窗口的右上角,选择 Sequence (序列) > Modification Editor (修饰编辑器)。
  - b. 在 Modification Editor (修饰编辑器)对话框中,执行以下操作:
    - i. 点击 N-Terminal (N端)区域中的 Add (添加),并在 Add New Modification (添加新修饰) 对话框中输入新修饰的名称,其单同位素质量数及其平均质量数,以添加任意 N 端修饰。点击 OK (确定)。
    - ii. 点击 C-Terminal (C端)区域中的 Add (添加),并在 Add New Modification (添加新修饰) 对话框中输入新修饰的名称,其单同位素质量数及其平均质量数,以添加任意 C 端修饰。点击 OK (确定)。
    - iii.点击 Side Chain (侧链)区域中的 Add (添加),并在 Add New Modification (添加新修饰) 对话框中输入新修饰的名称,其单同位素质量数及其平均质量数,以添加任意侧链修饰。在 Residues (残基)框中,输入侧链氨基酸的单字母缩写。点击 OK (确定)。
  - c. 点击 Modification Editor (修饰编辑器)对话框中的 Close (关闭)。
- 5. 导入 FASTA 文件:
  - a. 在 Protein Deconvolution 主窗口的右上角,选择 Sequence (序列) > Sequence Editor (序列编辑器),或者在 Parameters (参数)页面 Target Sequence Matching (目标序列匹配)页面上的 Global Sequence Reference Table (通用序列参考表)窗格上,点击 New (新建)。
  - b. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中,点击 Import (导入)。
  - c. 在 Open (打开)对话框中,选择待导入的 FASTA 文件,然后点击 **Open (打开)**。 FASTA 文件必须含扩展名 .fasta,以便应用程序查找。

应用程序导入 FASTA 文件中的序列,并将其显示在 Sequence Editor (序列编辑器)的 Sequence Map (序列图谱)窗格上。其将 cysteines (半胱氨酸)以黄色高亮显示 (参阅下图)。



用户也可以手动输入序列。参阅 Protein Deconvolution 用户手册(Protein Deconvolution User Guide)。

- 6. (可选)添加任意二硫键:
  - a. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,将光标置于适 合氨基酸的前面,右击未使用的目标 cysteine (半胱氨酸,字母 C),然后选择 Create Link (创 建键)。
  - b. 右击未使用的 cysteine (半胱氨酸,字母 C),然后选择 Bridge Link (桥键)。

Sequence Map (序列图谱)窗格显示橙色线,用于连接两个 cysteines (半胱氨酸), Disulfide Link Definitions (二硫键定义)窗格显示这些氨基酸所属链的编号,及其在链中的位置。当选择 Disulfide Link Definitions (二硫键定义)表中的某一行时,应用程序以绿色高亮显示 Sequence Map (序列图谱)窗格上的相应键。

用户无法将一个 cysteine (半胱氨酸)连接至多个 cysteine (半胱氨酸)。

- c. 若不希望添加其他类型的修饰至序列,点击 **Cancel**(**取消**),以关闭 Sequence Editor (序列编 辑器)对话框。
- 7. (可选)添加任意固定的特定位点或固定的通用 N 端、 C 端和侧链修饰:
  - a. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,双击链的首字母。

Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框出现 (参阅下图)。

Residue Properties and Modifications     Residue Properties		×
Residue F at 1:1		
Mono. Mass 147.06842 Avg. Mass 147.1766		
Side Chain Modification		
None	Mono. Mass	0 Apply to All
	Avg. Mass	0
N-terminal Modification		
None	Mono. Mass	0
	Avg. Mass	0
C-terminal Modification		
None 🗸	Mono. Mass	0
	Avg. Mass	0
Ok	Clear	Cancel

b. 在 Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框中,添加 N 端修饰:

i. 从 N-Terminal Modification (N 端修饰)菜单上,选择待分配至链 N 端上的 N 端修饰。 \_ 或 \_

从 Side Chain Modification (侧链修饰)菜单上,选择待分配至链 N 端上的侧链修饰。

ii. 点击 OK (确定)。

- 或 -

若要选择其他修饰,点击 **Clear** (**清除**),重新打开 Residue Properties and Modifications (残 基属性和修饰)对话框。

- c. (可选)在 Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框中,添加 C 端修饰:
  - i. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,双击链的最 后一个字母。
  - ii. 从 C-Terminal Modification (C 端修饰)菜单上,选择待分配至链 C 端上的 C 端修饰。

- 或 -

从 Side Chain Modification (侧链修饰)菜单上,选择待分配至链 C 端上的侧链修饰。 iii.点击 **OK (确定)**。

- 或 -

若要选择其他修饰,点击 **Clear (清除)**,重新打开 Residue Properties and Modifications (残 基属性和修饰)对话框。

d. (可选)在 Residue Properties and Modifications (残基属性和修饰)对话框中,添加侧链修饰:

i. 在 Sequence Editor (序列编辑器)的 Sequence Map (序列图谱)窗格上,双击链上的目标侧链字母。

- ii. 从 Side Chain Modification (侧链修饰)菜单上,选择待分配至该侧链上的修饰。
- iii.(可选)若希望全局应用该修饰(也就是说,应用于所有以同一字母表示的侧链),点击 Apply to All (应用至所有)。

iv. 点击 OK (确定)。

- 或 -

若要选择其他修饰,点击 **Clear(清除)**,重新打开 Residue Properties and Modifications (残 基属性和修饰)对话框。

e. 为任意其他目标侧链重复步骤 d。

f. (可选) 将 N 端、 C 端和侧链修饰分配至任意其他目标链。

- 8. (可选)添加任意糖基化:
  - a. 在 Protein Deconvolution 窗口的右上角,选择 **Sequence (序列) > Sequence Editor (序列编辑** 器)。
  - b. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中,点击 Variable Modification (可变修饰)。 Sequence Variable Modification (序列可变修饰)对话框打开 (参阅下图)。

Modifications		Modifications Selected for Search
2AA instead of Asn 2AB instead of Asn Acetylation Arg Asp Carbamylation DOTA DOTA_CU DOTA_CU DOTA_CU DOTA_Zn Glu Lys Amide Arg Asp b ion Glu	N Terminal Mono. Mass 0 Avg. Mass 0 Add Remove	
Glu Lys Acetylation ADP-ribosylation Amidation Carbamylation Carbamidomethylation Carboxymethylation Cysteaminylation Cysteaminylation Cysteinylation Deamidation (Q) Dimethylation	Add Remove	

- c. 在对话框底部的 N Gly (N 糖基化)中,指定应用于 asparagine (Asn) (天冬酰胺酸, Asn)侧链 氮原子上的糖基化类型,该侧链属于氨基酸序列 Asn\_Xxx\_Ser/Thr/Cys 的一部分。 应用程序仅添加糖基化至该氨基酸序列。
  - None (无):不添加糖基化。
  - CHO (中国仓鼠卵巢): 添加来自中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞系的糖基化。
  - Human (人类): 添加来自人细胞系的糖基化。
- 9. (可选)添加N端、C端和侧链修饰:
  - a. 在 Protein Deconvolution 窗口的右上角,选择 Sequence (序列) > Sequence Editor (序列编辑 器)。
  - b. 在 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中,点击 **Variable Modification (可变修饰)**。 Sequence Variable Modification (序列可变修饰)对话框打开。

- c. 在 N Terminal (N 端)区域,从左侧列表中选择欲应用于 N 端的修饰,然后点击 Add (添加)。
- d. 在 C Terminal (C 端)区域中,从左侧列表中选择欲应用于 C 端的修饰,然后点击 Add (添加)。
- e. 在 Side Chain (侧链)区域,从左侧列表中选择欲应用于侧链的修饰,然后点击 Add (添加)。
- f. 当匹配已解卷积质量数时,在 Max # Modification (修饰的最大数量)框中,指定应用程序尝试 使用修饰的最大数量。

该数量不限制用户选择大于框中设定值的值,但是应用程序检索所有选中修饰的组合,最大修 饰数限定为任意指定匹配中使用的修饰数。

- g. 点击 OK (确定)。
- 10. 保存修饰至序列:
  - 点击 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中的 Save (保存),以将序列保存在 Target Protein (目标蛋白质)区域 Name (名称)框中显示的名称下,然后点击 Sequence Modifier (序列修饰 工具)对话框中的 Yes (是)。

来自 FASTA 文件的已导入序列信息填充 Target Sequence Matching (目标序列匹配)窗格上 Global Sequence Reference Table (通用序列参考表)中的各字段。

- 或 -

• 点击 Sequence Editor (序列编辑器)对话框中的 Save As New (另存为新名称),以新名称保存 序列,然后点击 Save As New (另存为新名称)对话框中的 OK (确定)。

来自 FASTA 文件的已导入序列信息填充 Target Sequence Matching (目标序列匹配)窗格上 Global Sequence Reference Table (通用序列参考表)中的各字段。

- 11. 保存序列至方法:
  - a. 若尚未转至 Parameters (参数)页面,点击 Parameters (参数)选项卡。
  - b. 若尚未转至 Parameters (参数)页面上的 Target Sequence Matching (目标序列匹配)页面,点击 Target Sequence Matching (目标序列匹配)图标, Target Sequence Matching。
  - c. 在 Global Sequence Reference Table (通用序列参考表)窗格上,选择欲添加至方法的序列。
  - d. 点击 Add to Method (添加至方法)。

若选择了默认方法,该步骤暂时添加序列至方法。

若序列已包含在方法中,一个消息框打开并提示用户序列已包含在方法中。

e. 点击 OK (确定)。

用户保存序列至方法后,应用程序填充 Sequences Added to Method (添加至方法的序列)窗格上的 各字段。

- 12. (可选)保存方法:
  - a. 点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法另存为)。

Save Method (保存方法)命令将当前参数值保存至已有方法,覆盖以前的值。该命令不适用于 默认方法。Save Method As (方法另存为)命令将参数值保存至新方法,并打开 Save (保存)对 话框。

b. 在 Save (保存)对话框的 Method Name (方法名)框中,输入方法的名称。

名称不能包含空格或非字母字符。该名称可以包括下划线。

c. 在 Description (描述)框中,简要描述方法。例如,描述分析的样品和蛋白质。

为离子阱数据创建解卷积方法

### ✤ 若要为离子阱数据创建解卷积方法

- 按照第 24 页上的"设置手动 ReSpect 解卷积"中的程序进行操作。选择 DefaultMethodReSpectIonTrap (默认方法 ReSpect 离子阱) 默认方法。
- 2. 点击 Parameters (参数)选项卡。

	3. 在 Parameters (参数)页面上,点击 <b>Deconvolution Parameters (ReSpect) (解卷积参数, ReSpect)</b>
	<ul> <li>4. 按照第 26 页上的"为一次 ReSpect 解卷积创建方法"中的程序,调整 Main Parameters (主要参数)</li> <li>和 Advanced Parameters (高级参数) 窗格中的参数</li> </ul>
	为蛋白质结构分析创建方法
	◇ 若要为蛋白质结构分析创建方法
	<ul> <li>1. 按照第 24 页上的"设置手动 ReSpect 解卷积"中的程序进行操作。选择 ExampleMethodNativeMS (示例方法原形 MS) 默认方法。</li> </ul>
	2. 点击 Parameters (参数)选项卡。
	3. 在 Parameters (参数)页面上,点击 <b>Deconvolution Parameters (ReSpect) (解卷积参数, ReSpect)</b> 图标, Oeconvolution (ReSpect)。
	4. 按照第 26 页上的 "为一次 ReSpect 解卷积创建方法 "中的程序,调整 Main Parameters (主要参数) 和 Advanced Parameters (高级参数)窗格中的参数。
选择待解卷 积的质谱图	设置 Parameters(参数)页面上的参数后,当点击 Save Method (保存方法)或 Save Method As (方法 另存为)时,或者当载入已有方法并点击 Method Selection (方法选择)页面上的 Load Method (载入 方法)时,应用程序自动转至 Chromatogram (色谱图)页面 (若选择了一个解卷积方法)。与此类 似,若选择了滑动窗解卷积方法,应用程序转至 Chromatogram (色谱图)页面的 Sliding Window (滑 动窗)页面。使用 Chromatogram (色谱图)页面选择可能性最大的目标蛋白质质谱图进行解卷积。
	选择质谱图进行一次解卷积
	◆ 若要选择待解卷积的质谱图
	1. 若 Chromatogram (色谱图)选项卡尚未被选中,则点击它(参阅下图)。
	L Themo Protein Deconvolution
	8
	Manual Respect** (sotopically Unresolved)     Sequence     Help *       Scientific     Respect** (sotopically Unresolved)     Sequence     Help *
	Marual Respect** (sotopically Unresolved)       Sequence Help *         IgG_source_cidraw       IgG_source_cidraw         Method Selection       Run Queue       Parameters         Chromatogram       Process and Review       Sample Comparison         Chromatogram       Stiding Window       Sample Comparison
	Marual Respect** (sotopically Unresolved) S C LE NTIFIC Method Selection Run Queue Parameters Chromatogram Process and Review Sample Comparison Reporting Chromatogram Siding Window Chromatogram parameters Save Method As
	Marual Respect** (sotopically Unresolved) ig6_source_cidraw  Marual Respect** (sotopically Unresolved) ig6_source_cidraw  Marual Respect**(sotopically Unresolved)  Marual Re
	Marual Respect* (Stodpically Unresolve)       Sequence Help #         Source_cdraw       IgG_source_cdraw         Method Selection       Ren Queue       Parameters         Chromatogram       Sading Window         Chromatogram parameters       Save Method as         Use restricted time.       Types         Time limits.       0005       to 6.230         1       0.6230       to 6.230         Ve Auto Spectral Averaging       to 4.4000.0000
	Marual Respect* (Stodpically Unresolve)       Sequence Help #         Ig6_source_cidraw       ig6_source_cidraw         Ig6_source_cidraw       ig6_sou
	Marual Réspect* (Sotopicialy Unresolve)       Sequence Help \$         IgG source_idraw       igG source_idraw         Method Selection       Run Queue       Parameters         Chromatogram       Sidng Window         Chromatogram parameters       Save Method         Use restricted time.       Types       TC         Time limits.       0005       to 6.230         Rel. Intensity Threshold (%)       1       Chromatogram m/z Range       1000.0000         Use Auto Spectral Averaging       Use Auto Spectral Averaging       Types         Chromatogram       NL 3.10E9       Et 3.407
	Manual Réspect* "gotopically Unressive "       Sequence Help *         Internet Parameters       Internet Parameters         Internet Parameters       Save Method As         Internet Parameters       Save Astroparam         Internet Parameters       Save Astroparam         Internet Parameters       Save Astroparam
	Chromatogram 100 100 100 100 100 100 100 10
	Chromatogram       Second       Secondd
	Chromatogram       Variable Spectral       Marca Resizet*       Sequence: Itely *         Method Spectral       Marca Resizet*       Sequence: Itely *         Marca Resizet*       Sequence: Itely *       Sequence: Itely *       Sequence: Itely *         Marca Sequence: Itely *       Sequence: Itely *       Sequence: Itely *       Sequence: Itely *         Marca Sequence: Itely *       Sequence: Itely *       Sequence:
	Portein       Portein       Proventegram       Process and Review       Simple Comparison       Reporting         Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Reporting       Process and Review       Simple Comparison       Reporting         Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Reporting       Simple Comparison       Reporting         Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Reporting       Simple Comparison       Reporting         Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Reporting       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison         Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison         Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison       Image: Simple Comparison
	Process Deconvolution       DefaultMethodRAppet       Must Redent" flagbadity Umerailing       Suggesters: Help         Image: State Line
	Chrometogram       Process and Rodew       Samples Comparison       Reputing         Image: Comparison       Reputing       Process and Rodew       Samples Comparison       Reputing         Image: Comparison       Reputing       Process and Rodew       Samples Comparison       Reputing         Image: Comparison       Reputing       Reputing       Reputing       Samples Comparison       Reputing         Image: Comparison       Image: Comparison       Image: Comparison       Reputing       Samples Comparison       Reputing         Image: Comparison       Image: Comparison       Image: Comparison       Image: Comparison       Reputing       Image: Comparison       Reputing         Image: Comparison       Image: Comparison       Image: Comparison       Image: Comparison       Reputing       Image: Comparison <td< th=""></td<>

2. (可选)使用 Chromatogram Parameters (色谱图参数)窗格上的参数调整 Chromatogram (色谱图) 窗格中显示的色谱图。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

- 3. 点击 Chromatogram Parameters (色谱图参数)窗格上的 Apply (应用)。
- (可选)如有必要,调整 Chromatogram (色谱图)窗格中的视图。
   有关放大、缩小或重置视图的说明,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。
- 5. 通过执行以下操作之一,在 Source Spectrum (源质谱图)窗格上创建质谱图:
  - 对于单次扫描:在 Chromatogram (色谱图)窗格上,使用红色十字光标在 Chromatogram (色谱图)窗格的色谱图上选择一次扫描,并显示该时间点处的相关质谱图。 也可以使用左右箭头键移动至色谱图的前一个或后一个时间点。质谱图窗口自动更新。
  - 对于多次扫描:选择一个色谱图区域,以显示 Source Spectrum (源质谱图)窗格上所选区域中所有扫描的平均质谱图。若要选择该区域(若其尚未选中),右击并选择 Mode (模式) > Averaging (平均)。在目标区域上拖曳红色十字光标。
     该光标的水平线有助于评估峰高。Protein Deconvolution 应用程序计算该区间的平均质谱图。
     与单扫描方法相比,平均方法更适用于复杂数据。推荐将平均方法用于 ReSpect 解卷积。

**提示** 在 Xcalibur 数据系统的 Qual Browser (定性浏览器)上,用户可以执行第 34 页上的步骤 1 至第 35 页上的步骤 5,然后右击质谱图并选择 **Export (导出) > Write to RAW File (写入 RAW 文件)**,以将文件导入 Protein Deconvolution 应用程序。

Source Spectrum (源质谱图) 窗格显示待解卷积的实际质谱图 (单次扫描或平均扫描)。该窗格显示了主峰的峰尖信息,以及解卷积组分的 m/z 信息。该窗格还以标记的形式显示峰尖信息,同时伴随一个标签,用于描述该保留时间处质谱图中最大丰度峰的 m/z。在单次扫描处理模式中,某个组分的最大丰度 m/z 应当与源质谱图中对应峰显示的 m/z 一致。在平均扫描处理模式中,由于应用程序显示平均质谱图,两个值可能不同。但差值应当很小 — 约为 0.001。

Xtract 算法可以解卷积棒状质谱图和轮廓质谱图。 ReSpect 算法仅可以解卷积轮廓质谱图。

- 棒状图数据以两个参数表示质谱峰: 质心 (质量数的加权中心)和强度 (归一化峰面积)。数据以条形图 (相对强度 vs m/z)的形式显示。
- 轮廓图数据以 m/z 和强度将整个质谱图表示为连续点。数据以线形图 (相对强度 vs m/z)的形式显示。
- 6. (可选)如有必要,调整 Source Spectrum (源质谱图)窗格上的视图。

有关放大、缩小或重置视图的说明,参阅 Protein Deconvolution 用户手册(Protein Deconvolution User Guide)。

与 Chromatogram (色谱图) 窗格 (用于选择待处理质谱图)上的调整有所不同, Source Spectrum (源质谱图) 窗格上的调整不影响 Protein Deconvolution 应用程序解卷积的质谱图。尤其是,这些调整不改变解卷积算法使用的 *m*/z 范围。

7. 当质谱图适用于采用 ReSpect 处理时,点击 Process and Review (处理和查看)选项卡,然后按照 "使用 ReSpect 解卷积质谱图。"中的说明进行操作。

有关使用 ReSpect 算法得到最佳结果的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

选择用于滑动窗解卷积的参数

不在滑动窗解卷积中选择待解卷积的质谱图。 Protein Deconvolution 应用程序解卷积原始数据文件中由 RT Range (保留时间范围)参数指定的部分质谱图。

#### ◆ 若要选择用于滑动窗解卷积的参数

- 1. 点击 Chromatogram (色谱图)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Chromatogram (色谱图)页面上,若 Sliding Window (滑动窗)图标, Sliding Window 尚未被选中,则点击它。
- 3. 在 Sliding Window Parameters (滑动窗参数) 窗格上,设置适合的参数。
- 4. 这些参数与 Parameters (参数)页面上 Chromatogram (色谱图)页面上的参数相同。
- 5. 点击 **Process and Review** (**处理和查看**)选项卡,按照第 12 页上的"使用 Xtract 解卷积质谱图"中的说明进行。

选择用于 ReSpect 目标序列匹配的待解卷积质谱图

当使用目标序列匹配方法时,可以执行一次解卷积或滑动窗解卷积。分别参阅第 34 页上的"选择质谱 图进行一次解卷积"或"选择用于滑动窗解卷积的参数。"

使用 ReSpect 解卷积质谱图

当转至 Process and Review(处理和查看)页面时,用户已在 Chromatogram (色谱图)页面上选择了色 谱图和源质谱图。或者,应用程序已转至 Process and Review(处理和查看)页面,因为原始数据文件 仅包含一张质谱图。可以缩放色谱图和源质谱图视图,且可以在 Process and Review(处理和查看)页 面的 Chromatogram (色谱图)窗格上选择一个新平均质谱图进行解卷积。但是,必须手动返回至 Chromatogram (色谱图)窗格修改这些视图。

使用 Process and Review (处理和查看)页面解卷积选中的质谱图,查看得到的数据以确保结果有意义。用户也可以将数据导入 Excel 电子数据表文件,以用于其他应用程序,以及将所有质谱图复制到 Clipboard (剪贴板)上。

# ♦ 若要解卷积质谱图

- 1. 若尚未转至 Process and Review (处理和查看)页面,点击 **Process and Review (处理和查看)**选项 卡。
- 2. (可选)调整 Main Parameters (ReSpect) (主要参数, ReSpect) 窗格上的任意参数。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

3. 点击菜单栏上的 Process (处理)。

**显示结果** 当应用程序完成处理时,其以质量数和强度的形式将 Process and Review (处理和查看)页面上 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗格上的解卷积质谱图显示为轮廓图,同时也显示一组峰 标签。

其也以表格(表格内容包括质量数、强度、电荷数信息和品质分数)形式在 Results(结果)窗格上显示组分列表(参阅下图)。Results(结果)表各列中的值代表解卷积的输出值。

用户可以展开表格中的每个条目,以显示条目所包含的各个电荷数的详细信息。有关解析 Results (结果)表格中结果的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

#### ◆ 若要显示解卷积结果

1. 若 Process and Review (处理和查看)页面尚未打开,点击 **Process and Review (处理和查看)**选项 卡。

下图显示了一次解卷积的结果。



下图显示了滑动窗解卷积的结果。Process and Review(处理和查看)页面上的窗格和 Results(结果)表中滑动窗解卷积的结果与一次解卷积的结果值相同,除滑动窗解卷积的 Results(结果)表中不包含 Intensity(强度)、Mass Std Dev(质量数标准偏差)、PPM Std Dev(PPM 标准偏差)和 Score(分数)列外。相反,其包括 Sum Intensity(总强度)、Number of Detected Intervals(检测间 隔数)和 Scan Range(扫描范围)列。此外,Source Spectrum (源质谱图)窗格上没有任何显示,除非用户从 Results(结果)表格中选择了一个组分。



下图显示了目标序列匹配解卷积的结果。应用程序显示与组分质量数相匹配的可变修饰和糖基化的组合列表。该应用程序不显示固定修饰或二硫键。

1. Thermo Protein Deconvolutio	n										
Thermo Pro	tein	Deco	onvolutio	Default	NethodReSpect				Manual ReSpect™ Anti_HE22_5ug_SI	(Isotopically Unresolved M.raw	d) Sequence Help ł
Method Selection	Run Q	ueue	Parameters	Chromato	gram 🛛 🗹 Pro	cess and Review	Sample Con	nparison 📃 R	eporting		
Deconvolution completed	successfull	y.							Proce	Save Result A	s Save as Reference
Deconvolution Parameters		_									
Main Parameters ( ReSpect	™)	Sliding W	/indow								
Negative Charge						m/z F	lange Min	2500 Max	3350		Apply
Minimum Adjacent Charges	6	🔹 to	10			Output Mass F	lange Min	10000 Max	160000		
Noise Rejection	95% Co	nfidence	•			Mass Tole	rance 20	ppm 💌			
Rel. Abundance Threshold (%)	0					Target	Mass 15000	10 Da			
Calculate XIC						Charge State F	lange 10	🔹 to 100	* *		
Quality Score Threshold	0					Choice of Peak N	Aodel Intact	Protein 🔻			
Results	« Sourc	e Spectrur	m				Chromatogra	am			
Experiment Types											NL: 6.56E8
ReSpect	•		2745 8035 2	851.3916 2965.3	3327 3088,8463		100				
	10	2601.	3572 2 40.000	111		3223.1897					NL: 9.07E6
			2600	2800	3000 3	200	2.5	3.0	3.5 4.0	4.5 5.0	
				1182					TXT (TIMI)		
	Decor	nvolved Sp	ectrum								
										1482 H	216.95 NL: 2.88E8
	10	0-								1xA2G0F	,1xA2G1F NL:
		1									2.8653
	5	년									
		1									
		)	20000	40000	60000	8000	)0 Mass	100000	120000	140000	160000
	Result	is in									
	- Sun	-			Number of	1			Matched Delta	Matchod	Deletion Fee
		No	Average Marr	Intoncity	Number of	Marc Std Day	DDM Std Dav	Dolto Macc	Watched Deita	Watcheu	Relative Fra
	et a	No.	Average Mass	Intensity	Charge States	Mass Std Dev	PPM Std Dev	Delta Mass	Mass (ppm)	Sequence A	Abundance Abu
	: 	No.	Average Mass 148216.95	Intensity 285966016.00 211203008.00	Charge States	Mass Std Dev 0.28	PPM Std Dev	Deita Mass 0.00	Mass (ppm) 18.5	Matched Sequence A Her2:1xA2 ▼ 1	Abundance Abu 00.0000 33.8 3.8560 24.0
		No.	Average Mass 148216.95 148055.94 148378.77	Intensity 285966016.00 211203008.00 193588784.00	Charge States 15 15	Mass Std Dev 0.28 0.36	PPM Std Dev 1.90 2.42 2.90	Deita Mass 0.00 -161.02 161.81	Mass (ppm) 18.5 10.9	Matched         A           Sequence         A           Her2:1xA2         ▼           Her2:2xA2         ▼           Her2:1xA1         ▼	Relative         Fra           Abundance         Abu           00.0000         33.8           3.8560         24.9           7.6964         22.9
		No. 1 2 3 4	Average Mass 148216.95 148055.94 148378.77 148540.45	Intensity 285966016.00 211203008.00 193588784.00 69158168.00	Charge States 15 15 15 15	Mass Std Dev 0.28 0.36 0.43 0.41	PPM Std Dev 1.90 2.42 2.90 2.79	Delta Mass 0.00 -161.02 161.81 323.50	Mass (ppm) 18.5 10.9 13.8 16.8	Sequence         A           Her2:1xA2         1           Her2:2xA2         7           Her2:1xA1         6           Her2:1xA1         2	Relative         Praval           Abundance         Abundance           00.0000         33.8           3.8560         24.9           7.6964         22.9           4.1841         8.18
		No.	Average Mass 148216.95 148055.94 148378.77 148540.45 147908.75	Intensity 285966016.00 211203008.00 193588784.00 69158168.00 33696628.00	Charge States           15           15           15           15           15           15           15           15           15           15	Mass Std Dev 0.28 0.36 0.43 0.41 0.43	PPM Std Dev 1.90 2.42 2.90 2.79 2.94	Deita Mass 0.00 -161.02 161.81 323.50 -308.20	Mass (ppm) 18.5 10.9 13.8 16.8 18.0	Macried         A           Sequence         A           Her2:1xA2         1           Her2:2xA2         7           Her2:1xA1         6           Her2:1xA1         2           Her2:1xA2         1	Relative         Provide         Abur           Abundance         Abur         Abur           00.0000         33.8         3.8560         24.9           7.6964         22.9         4.1841         8.18           1.7834         3.98         3.98
		No.	Average Mass 148216.95 148055.94 148378.77 148540.45 147908.75 148694.70	Intensity 285966016.00 211203008.00 193588784.00 69158168.00 33696628.00 22415488.00	Charge States           15           15           15           15           15           15           15           15           15           15           15           15           15           15	Mass Std Dev 0.28 0.36 0.43 0.41 0.43 0.43	PPM Std Dev 1.90 2.42 2.90 2.79 2.94 34.03	Delta Mass 0.00 -161.02 161.81 323.50 -308.20 477.75	Matched Dens Mass (ppm) 18.5 10.9 13.8 16.8 18.0 15.9	Macried         A           Sequence         A           Her2:1xA2         1           Her2:1xA1         7           Her2:1xA1         6           Her2:1xA2         1           Her2:1xA1         2           Her2:1xA2         1           Her2:1xA3         1	Ablaurdance         Abu           00.0000         33.8           3.8560         24.9           7.6964         22.9           4.1841         8.18           1.7834         3.98           .8385         2.65
Load Result		No.	Average Mass 148216.95 148055.94 148378.77 148540.45 147908.75 148694.70 148841.25	Intensity 285966016.00 211203008.00 193588784.00 69158168.00 33696628.00 22415488.00 13084531.00	Change States           15           15           15           15           15           15           15           14	Mass Std Dev 0.28 0.36 0.43 0.41 0.43 0.43 0.43 0.43 0.43 0.43	PPM Std Dev 1.90 2.42 2.90 2.79 2.94 34.03 43.57	Deita Mass 0.00 -161.02 161.81 323.50 -308.20 477.75 624.30	Matched Dens Mass (ppm) 18.5 10.9 13.8 16.8 18.0 15.9 13.1	Her2:1xA2         F           Her2:1xA2         1           Her2:1xA1         7           Her2:1xA1         6           Her2:1xA1         2           Her2:1xA2         1           Her2:1xA1         2           Her2:1xA2         1           Her2:1xA2         1           Her2:1xA2         1           Her2:1xA8         7           Her2:1xM8         4	Relative         Frage           00.0000         33.8           3.8560         24.9           7.6964         22.9           4.1841         8.18           1.7834         3.98           8.8355         2.65           5.5756         1.54

- 2. 如有必要, 按照 *Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)*中的介绍展开 Results (结果)窗格。
- 3. (可选)点击 Column Chooser (列选择器)图标, 2, 并选择 Column Chooser (列选择器)对话 框中的列,从而选择欲显示的列。

选择参考质量数以计算质量数差值

参考质量数通常是指结果中丰度最大峰的质量数。Protein Deconvolution 应用程序对比数据组中所有其 他峰的质量数与参考质量数,并将这些差值置于 Process and Review(处理和查看)页面上 Results(结 果)表的 Delta Mass(质量数差值)列中。质量数差值有助于解析目标组分的结构。但是,用户可以 选择表格中其他组分的质量数,并将其用作指定解卷积质谱图的参考质量数。该参考组分的质量数差 值是 0。然后,应用程序对比数据组中其他峰的质量数与该默认值。

当同时载入多个结果时,应用程序仅计算来自同一解卷积质谱图的组分的质量数差值。

#### ◆ 若要选择新参考质量数

1. 在 Results (结果)表格中,右击欲用作参考峰的组分所在的行。

#### 2. 选择 Set as Reference Component (设为参考组分)。

应用程序将选中组分 Delta Mass Column (质量数差值列)中的值重置为 0,并重新计算 Results (结果)表中所有其他组分的质量数差值。

计算蛋白质品质分数

ReSpect 算法计算 Results (结果)表中每个组分的蛋白质品质分数,并将其分数显示在 Score (分数)列中,以方便评价解卷积组分的品质。这些分数有助于用户测定每个组分是否有效,或是否为由噪声、谐波或其他因素导致的假阳性结果。

- ✤ 若要指定组分品质分数最小值
- 1. 点击 Parameters (参数)选项卡或 Process and Review (处理和查看)选项卡。
- 在 Main Parameters (主要参数)部分的 Quality Score Threshold (品质分数阈值)框中,指定组分显示在 Results (结果)表中所需品质分数的最小值。
   用户可以输入任意浮点数。默认值为 0。
   ReSpect 算法舍弃不符合该最小分数的组分。

#### ◆ 若要查看并对品质分数排序

- 1. 用户点击 Process and Review (处理和查看)页面上的 Process (处理) 解卷积质谱图后,查看 Results (结果)表 Score (分数)列中的品质分数。
- 2. (可选)通过点击 Score (分数)标题旁边的下箭头键,将分数从高至低进行排序,或者点击上箭头键,将分数从低至高进行排序。

指定 Output Mass Range (导出质量数范围)

有关使用 Output Mass Range (导出质量数范围)参数指定适合质量数范围的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

调整结果

## ✤ 若要调整 ReSpect 解卷积结果

若对结果不满意,调整 Process and Review (处理和查看)页面或 Parameters (参数)页面上 Main Parameters (ReSpect) (主要参数, ReSpect)窗格上的参数,然后点击 **Apply (应用)**。

也可以返回至 Parameters(参数)页面,调整 Advanced Parameters (ReSpect) (高级参数, ReSpect) 窗格上的参数,然后点击 Apply (应用)。参数调整完成后,再次点击 Process and Review (处理和 查看)页面上的 Process (处理)。

保存解卷积结果

#### ◆ 若要保存解卷积结果

- 1. 若对结果满意,则点击 Save Result As (结果另存为) 以保存结果。
- 2. 在 SaveAs (另存为)对话框中,执行以下操作:
  - a. 在 Result Name (结果名) 框中,输入结果文件的名称。
  - b. 在 Description (描述)框中,输入结果的简短描述。
  - c. 点击 Save (保存)。

应用程序将解卷积结果保存至后缀名为.sqlite的文件中,该文件与保存原始数据文件位于同一目录中。用户也可以将该窗口中的任意一个视图复制到 PowerPoint 演示文件。

3. 若要分析同一 LC/MS 数据文件中的其他平均质谱图,返回至 Chromatogram (色谱图)窗格或 Process and Review (处理和查看)页面上的 Chromatogram (色谱图)窗格,然后按照第 10 页上的 "选择待解卷积的质谱图"中的说明进行操作。

导出解卷积结果

#### ◆ 若要导出解卷积结果

- 1. 选择 Results (结果) 表格中的一个结果。
- 2. 右击 Results (结果) 表中的任意位置,并选择以下其中一项。
  - Export All (导出所有结果)将 Results (结果)表中的所有结果保存到文件中。

- 或 -

Export Top Level (导出顶层结果) 仅将 Results (结果)表中的顶层结果保存到文件中。顶层结果是指以下列中的数据: Average Mass (平均质量数)、 Sum Intensity (总强度)、 Number of Charge States (电荷数的数量)、 Mass Std Dev (质量数标准偏差)、 PPM Std Dev (PPM 标准偏差)、 Delta Mass (质量数差值)、 Relative Abundance (相对丰度)、 Fractional Abundance (丰度分数)、 RT Range (保留时间范围)、 Apex RT (峰尖保留时间)和 Score (分数)。这些数据不包括点击 No. (序号)列左侧的+号出现的列中的数据。

- 3. 在 SaveAs (另存为)对话框中,浏览或输入要保存结果的文件名。
- 4. 点击 Save (保存)。

应用程序将 Results (结果)表中的数据保存到名为 *raw\_file\_name*.xls 的 Excel 文件中。若未指定目录,则该应用程序默认将该文件置于 Method Selection (方法选择)页面上显示的原始数据目录中。 当用户选择了一个结果,然后选择 Export Top Level (导出顶层结果)或 Export All (导出所有结果)命令时,得到的 Excel 文件显示了当前可见表格中的各列和顺序。

# ◆ 若要导出色谱图、源质谱图或解卷积质谱图

1. 在以下任一窗格上右击, 然后选择 Copy (复制)。

- Chromatogram (色谱图)页面上的 Chromatogram (色谱图)窗格
- Process and Review (处理和查看)页面上的 Source Spectrum (源质谱图)
- Process and Review (处理和查看)页面上的 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)
- 2. 打开一个第三方图形应用程序文件, 然后将已复制的图片粘贴至其中。

#### ♦ 若要导出解卷积质谱图的质量数和强度数据至 Excel 或 CSV 文件

- 1. 在 Process and Review (处理和查看)页面的 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗格上右 击,并选择 Copy Data (复制数据)。
- 2. 打开一个 Excel 或 CSV 文件。
- 3. 在应用程序上右击,并选择 Paste (粘贴)。

Protein Deconvolution 应用程序导出 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗格上的质量数 (*x*轴)和强度 (*y*轴)数据至 Excel 或 CSV 文件。

删除结果

#### ◆ 若要删除结果

- 1. 转至包含 SQLite 文件的目录。
- 2. 选择包含待删除结果的一个或多个 SQLite 文件。
- 3. 右击并选择 Delete (删除)。

Protein Deconvolution 应用程序删除相应原始数据文件的所有结果。

**注释** 删除 SQLite 文件后,结果文件仍然出现在 Auto ReSpect (自动 ReSpect) 工作流程的运行 队列中。使用 Queue Manipulation (队列操作) > Remove Selected (移除已选)命令将其从队列 中移除。

可以对比两个解卷积质谱图,或者同一质谱图的不同部分。

无法对比由 ReSpect 算法生成的任意质谱图和由 Xtract 算法生成的任意质谱图。

# ◆ 若要将解卷积质谱图另存为参考质谱图

- 1. 确保在 Process and Review (处理和查看)页面上的 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗 格中可以看到那个打算另存为参考质谱图的解卷积质谱图。
- 2. 点击 Protein Deconvolution 窗口右上角的 Save As Reference (另存为参考谱图)。
- 3. 在 SaveAs (另存为)对话框中,输入参考质谱图的名称并进行描述,然后点击 Save (保存)。
- 4. 点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 5. 若希望该参考质谱图在用于解卷积参考质谱图的方法中可用,则选择 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)中的质谱图,然后点击 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)窗格中的 Add to Method (添加至方法)。

# 对比由 ReSpect 生成的样品

6. (若要对比待分析数据与参考质谱图,该步骤对于手动流程可选,但对于自动流程是必需的)保存 含参考质谱图的方法,如下:

• 若要在已有名称下保存方法,从库中选择参考质谱图,然后点击 Save Method (保存方法)。 - 或 -

- 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
  - i. 点击 Save Method As (方法另存为), 以打开 Save (保存)对话框。
  - ii. 在 Method Name (方法名)框中,输入方法的名称。
  - iii.在 Descriptions (描述)框中,输入方法的简短描述。

iv. 点击 Save (保存)。

## ◆ 若要对比解卷积质谱图与参考质谱图

- 1. 解卷积要与参考质谱图对比的源质谱图。
- 2. 点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 3. 双击质谱图,或者选择质谱图后点击 **Select (选择)**,从 Reference Spectrum Library (参考质谱图 库)中选择适合的参考质谱图。

Mirror Plot (镜像谱图)窗格上显示一个镜像谱图,其中参考质谱图位于负坐标方向,源质谱图位 于正坐标方向 (参阅下图)。窗格顶部的文本标出了源数据文件的名称,窗格底部的文本标出了参 考数据文件的名称。



4. (可选)在 Mirror Plot (镜像谱图)窗格上右击并选择 Zoom In (放大),以放大谱图,或者在目标质谱图下方拖动光标。

镜像谱图上的缩放设置保持不变,直到用户更改了解卷积质量数范围或载入了以前的结果。

- ◆ 若要显示用于生成参考质谱图的参数设置
- 1. 在 Reference Spectrum Library (参考质谱图库) 窗格上选择参考质谱图。
- 2. (可选)执行下列操作之一:
  - 点击 Reference Spectrum Library(参考质谱图库)窗格上的 Show Details(显示详细信息),以显示用户在参考质谱图库中选择的用于生成参考质谱图的所有解卷积参数(*不是*当前载入的参数)。
  - 或 -
  - 点击 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格上的 Show Details (显示详细信息), 以显示用户在方法中选择的用于生成参考质谱图的所有解卷积参数 (不是当前载入的参数)。

点击 Reference Spectrum Library(参考质谱图库)窗格上的 Add to Method(添加至方法)后, Method Reference Spectrum(方法参考质谱图)窗格上的 Show Details (显示详细信息)命令变为可用。 不管是哪种情况,对比这些参数与用户设置用于生成当前试验质谱图的参数,以确保两个质谱图类 似。

#### ❖ 若要从参考质谱图库中删除参考质谱图

- 1. 若尚未转至 Sample Comparison (样品对比)页面,点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 2. 在 Reference Spectrum Library (参考质谱图库) 窗格上,选择适合的参考质谱图,然后点击 Delete (删除)。
- 3. 在出现的确认框中,点击 Yes (是)。

# ◆ 若要从方法中删除已保存的参考质谱图

- 若尚未转至 Sample Comparison (样品对比)页面,点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格上显示了参考质谱图的名称和参考数据文件的 名称。该窗格还显示了有关该参考质谱图的描述 (若有)。
- 2. 在 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格上,点击 Remove (移除)。

从 Method Reference Spectrum (方法参考质谱图)窗格和镜像谱图上移除已删除的参考质谱图。

#### 3. 保存方法,如下:

• 若要在己有名称下保存方法,从库中选择方法,然后点击 Save Method (保存方法)。

- 或 -

- 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
  - i. 点击 Save Method As (方法另存为), 以打开 Save (保存)对话框。
  - ii. 在 Method Name (方法名) 框中,输入方法的名称。
  - iii.在 Descriptions (描述) 框中, 输入方法的简短描述。

iv. 点击 Save (保存)。

# ◆ 若要更改方法中的参考质谱图

1. 若尚未转至 Sample Comparison (样品对比)页面,点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。

2. 从方法中移除已存在的参考质谱图。参阅第18页上的"若要从方法中删除已保存的参考质谱图"。

- 3. 在 Reference Spectrum Library(参考质谱图库)窗格上,选择适合的参考质谱图。
- 4. 点击 Add to Method (添加至方法)。
- 5. 保存方法,如下:

• 若要在已有名称下保存方法,从库中选择方法,然后点击 Save Method (保存方法)。 - 或 -

- 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
  - i. 点击 Save Method As (方法另存为), 以打开 Save (保存)对话框。
  - ii. 在 Method Name (方法名)框中,输入方法的名称。
  - iii.在 Descriptions (描述) 框中,输入方法的简短描述。

```
iv. 点击 Save (保存)。
```

对比已保存 ReSpect 结果中的样品

用户可以对比源质谱图和以前已保存 ReSpect 结果中的参考质谱图。当载入已保存结果时, Sample Comparison (样品对比)页面变为可用,不管用户是否使用了参考质谱图。若该页面上没有参考质谱 图出现,则方法中没有使用参考质谱图生成结果。

当载入已保存的 ReSpect 结果时,用户仅可以选择由 ReSpect 算法生成的参考质谱图。与此类似,当载入已保存的 Xtract 结果时,用户仅可以选择由 Xtract 算法生成的参考质谱图。

用户可以选择新参考质谱图,以显示在结果中,但是无法将其保存至方法。用户无法删除保存在结果 中的原始参考质谱图。

无法保存使用新参考质谱图生成的镜像谱图,但是可以将其内容复制至 Clipboard (剪贴板),用于第 三方应用程序,如 PowerPoint。若要查看与结果一起保存的原始镜像谱图,必须重新载入结果。

应用程序不更新报告以与修改后的镜像谱图中的内容一致。

**显示报告** 当点击 Process and Review (处理和查看)页面上的 Process (处理)时,应用程序生成一个显示解卷积 多个方面的报告,以便用户跟踪数据的进程。用户可以在 Reporting (报告)页面上查看该报告,并将 其另存为 PDF 文件。

当载入多个结果时,应用程序仍然生成含合并结果的单个报告。但是,该报告仅可以包含来自 Xtract 或 ReSpect 的结果,而不能同时包含两种算法的结果。

#### ◆ 若要显示报告

完成数据分析后,点击 Reporting (报告)选项卡。

Reporting (报告)页面显示指定数据文件中的所有结果总结。有关该报告所包含的各部分的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

# ✤ 若要将报告保存为 PDF 文件

1. 将光标移动至屏幕底部附近。

Reporting (报告)页面的工具栏出现。

- 点击 Adobe Acrobat 图标, 人。
   Adobe Acrobat 工具栏出现在屏幕顶端。
- 3. 在 Adobe 工具栏上,点击 Save File (保存文件)图标, 🔡。 Save a Copy (保存副本)对话框打开。
- 4. 指定保存报告的 PDF 文件的路径和名称,然后点击 Save (保存)。

Protein Deconvolution 应用程序将报告保存到名为 *raw\_file\_name*.pdf 的文件中。若用户未指定目录,则默认将该文件置于 Method Selection (方法选择)页面上显示的原始数据目录中。

# ♦ 若要打印报告

- 1. 将光标移动至屏幕底部附近。
- 2. 点击 Reporting (报告)页面工具栏上的 Print File (打印文件)图标,
- 3. 在 Print (打印)对话框中,设置适合的打印参数,然后点击 OK (确定)。

在自动蛋白质解卷积中,用户将文件添加至运行队列,然后对已队列的文件执行解卷积。

使用 ReSpect 自动解卷积 质谱图

> 设置自动 ReSpect 解卷积

选择 ReSpect 解卷积算法、一个方法和一个原始数据文件。

- ♦ 若要使用 ReSpect 算法设置自动解卷积
- 1. 点击 Method Selection (方法选择)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 在 Method Selection (方法选择)页面的 Experiment Types (实验类型)窗格上,点击 Auto ReSpect (Isotopically Unresolved) (自动 ReSpect,同位素未解析)。

- 3. 在 Methods (方法) 窗格上, 通过执行以下操作之一指定提取方法:
  - 若默认方法或其中一个已有方法包含适合的参数,且用户不希望对其作出修改,则选择目标方法的名称,然后转至步骤 7。
  - 若要创建新方法,则选择 Manual ReSpect (Isotopically Unresolved) (手动 ReSpect,同位素未解析) 实验类型,然后按照第 26 页上的"创建 ReSpect 方法"中的说明设置 Parameters (参数)页面上的参数。离开 Parameters (参数)页面之前,按照步骤 4 中的介绍进行操作。

**注释** 若用户选择了一个在 Protein Deconvolution 1.0 中使用的 ReSpect 方法,但其并不是默认方法,则色谱图参数可能未正确设置。在这种情况下,一则警告消息出现,提醒用户方法的色谱图设置可能错误,并建议用户运行自动工作流程之前,先评估手动工作流程中的设置。

4. (可选)点击 **Parameters(参数)**选项卡,在 Parameters(参数)页面的 Automation Parameters (自动参数)窗格上设置控制导出演示的参数,然后点击 **Apply(应用)**。

有关这些参数的信息,参阅 Protein Deconvolution 用户手册 (Protein Deconvolution User Guide)。

- 5. 若修改了方法或创建了新方法,再次点击 Method Selection (方法选择)选项卡。
- 6. 若修改了方法或创建了新方法,返回至 Methods (方法) 窗格并选择该方法。
- 7. 在 Load Raw Data File (载入原始数据文件) 窗格上,选择包含样品质谱数据的原始数据文件:
  - a. 在 Raw Data Directory (原始数据目录)框中,输入原始数据文件的路径,或点击 Browse (浏览)按钮 (...),浏览至包含该文件的目录。
  - b. 在 Select Raw Data Files (选择原始数据文件)区域,点击原始数据文件的名称。
    - 若希望以指定方法运行一批数据文件,通常为同一样品,执行以下操作:
    - 若要选择连续的文件名称,点击首个原始数据文件的名称,按住 SHIFT 键,然后点击希望选择的最后一个文件的名称。
    - 若要选择非连续的名称,点击首个原始数据文件的名称,按住 CTRL 键,然后点击各个文件 的名称。
  - c. 点击 Add to Queue (加入队列)。

应用程序转至 Run Queue (运行队列)页面。所选数据文件出现在 Run Queue (运行队列)页面 上,状态为 Queued (已队列)(参阅下图)。

北. Thermo	o Protein D	econvolution							
The scie	S C LE N TIFIC Protein Deconvolution DefaultMethodReSpect Auto ReSpect" (sotopically Unresolved) Sequence Help *								
Method Selection 🔽 Run Queue 🖉 Parameters 📓 Chromatogram 📓 Process and Review 📓 Sample Comparison 📓 Reporting									
Proc	Process methods defined in the work queue. Queue Manipulation Set Priority Open Result Open Report								
Record Number	Priority	Submit Time	Method Name	Raw Data File	Experiment Type	Number of Chromatographic Peaks	Number Of Components Detected	Completion Time	Status
1	Normal	3/12/2015 4:32:02 PM	DefaultMethodReSpect	C:\Program Files\Protein Deconvolution source file	RSP_AUTO				Queued
R	un								

8. (可选)若要在运行队列中添加质谱图,返回至 Method Selection (方法选择)页面,然后重复前面的步骤。

用户可以处理多达1000个样品。

9. 若要运行任务,按照"运行队列中的任务。"中的说明启动任务。

创建方法

# 为自动 ReSpect 解卷积和手动 ReSpect 解卷积创建或修改方法的方式相同。

- 若要为一次解卷积创建方法,参阅第 26 页上的 "为一次 ReSpect 解卷积创建方法"。
- 若要为滑动窗解卷积创建方法,参阅第 28 页上的"为 ReSpect 滑动窗解卷积创建方法"。
- 若要为目标序列匹配创建方法,参阅第 28 页上的"为 ReSpect 目标序列匹配创建方法"。

# 运行队列 中的任务

用户可以为队列中的任务指定优先级、暂停队列中的任务,以及从队列中移除任务。

默认情况下, Protein Deconvolution 应用程序以提交任务相反的顺序处理队列中的多个任务;也就是 说,其首先处理最新提交的任务。

# ◆ 若要运行队列中的任务

- 1. 点击 Run Queue (运行队列)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 点击 Run (运行)。

Run (运行)按钮更改为 Pause (暂停)按钮。一段时间后,任务的状态从 Queued (已队列)更改为 Processing (处理)。当 Status (状态)列中的状态更改为 Processing (处理)时, Pause (暂停)按钮不可用,除非队列中包含状态为 Queued (已队列)的其他任务。

# ◆ 若要指定队列中任务的优先级

- 1. 点击 Run Queue (运行队列)选项卡 (若其尚未选中)。
- 2. 点击一个任务以将其选中。
- 3. 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Set Priority (设置优先级) > priority\_level (优先\_ 级),其中, priority\_level (优先\_级)可以为以下任一:
  - Low (低):在 Normal (常规)或 High (高)级别的任务完成后,处理该任务。
  - (默认) Normal (常规):在 Low (低)优先级的任务之前及 High (高)优先级别的任务之 后,处理该任务。
  - High (高):在 Low (低)或 Normal (常规)级别的任务之前,优先处理该级别任务。

若为多个任务指定相同的优先级,应用程序按照提交至队列的日期和时间优先处理任务。

# ◆ 若要暂停运行队列中正在处理的任务

1. 点击 Pause (暂停)。

仅当队列中包含两个或更多任务且 Status (状态)列中的状态为 Processing (处理)时, Pause (暂停)按钮才可用 (参阅下图)。用户无法暂停状态为 Processing (处理)的一项任务。 暂停影响待处理的下一个样品,而不影响当前正在处理的样品。

<b>The</b>	Protein Deconvolution         DefaultMethodReSpect         Auto ReSpect** ((sotopically Unresolved))         Sequence         Help &								
N 1	Method Selection 🕢 Run Queue 📄 Parameters 📓 Chromatogram 📳 Process and Review 📳 Sample Comparison 📳 Reporting								
Proc	ess method	s defined in the work que	ue.			Quet	e Manipulation	Set Priority Open Re	sult Open Report
Record Number	Priority	Submit Time	Method Name	Raw Data File	Experiment Type	Number of Chromatographic Peaks	Number Of Components Detected	Completion Time	Status
1	Normal	10/14/2013 4:24:08 PM	DefaultMethodReSpect	C:\Program Files\Protein Deconvolution source files	RSP_AUTO				Processing
2	Normal	10/14/2013 4:24:12 PM	DefaultMethodReSpect	C:\Program Files\Protein Deconvolution source files	RSP_AUTO				Queued
Pa	use								

确认框出现。

2. 点击 OK (确定)。

当前分析完成后,剩余的任务仍然在运行队列中,状态为 Queued (已队列)。

3. 点击 Run (运行),以使 Protein Deconvolution 应用程序处理余下的任务。

- ◆ 若要从队列中移除选中的任务
- 1. 选择要从队列中移除的一个或多个任务。按照以下操作移除多个任务:
  - 若要选择连续的文件名称,点击首个任务的名称,按住 SHIFT 键,然后点击希望选择的最后一个任务。
  - 若要选择非连续的名称,点击首个任务的名称,按住 CTRL 键,然后点击各个任务。
- 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Queue Manipulation (队列操作) > Remove Selected (移除已选)。
- 3. 在确认框中,点击 Yes (是)。
- ♦ 若要从队列中移除所有任务
- 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Queue Manipulation (队列操作) > Remove All (移除 所有)。

仅当所有任务状态为 Queued (已队列)或 Completed (已完成)时,才可以移除所有的任务。

2. 在确认框中,点击 Yes (是)。

#### ✤ 若要从队列中移除所有已完成的任务

- 在 Run Queue (运行队列)菜单栏上,选择 Queue Manipulation (队列操作) > Remove Completed (移除已完成)。
- 2. 在确认框中,点击 Yes (是)。

若要对比源质谱图和由自动 ReSpect 算法生成的参考质谱图,使用第 41 页上的"对比由 ReSpect 生成的 样品"中的程序进行,只有一项例外。用户必须将参考质谱图保存至用于生成参考质谱图的方法。

用户可以在 Sample Comparison (样品对比)页面上选择一个参考质谱图进行评价,而不是在 Process and Review (处理和查看)页面上解卷积质谱图。

#### ✤ 若要对比由自动 ReSpect 算法生成的样品

- 1. 在 Manual ReSpect (手动 ReSpect) 工作流程中创建一个新方法 (参阅第 26 页上的"创建 ReSpect 方法"),或者在 Auto ReSpect (自动 ReSpect) 工作流程中更改已有的方法 (参阅第 24 页上的"设 置手动 ReSpect 解卷积")。
- 2. 点击 Sample Comparison (样品对比)选项卡。
- 3. 从 Reference Spectrum Library (参考质谱图库)中选择一个参考质谱图,以将其添加至方法。
- 4. 点击 Add to Method (添加至方法)。
- 5. 保存方法,如下:
  - 若要在已有名称下保存方法,点击 Save Method (保存方法)。
  - 或 -
  - 若使用的是默认方法,则将该方法另存为其他名称:
    - i. 点击 Save Method As (方法另存为), 以打开 Save (保存)对话框。
    - ii. 在 Method Name (方法名) 框中,输入方法的名称。
    - iii.在 Descriptions (描述) 框中, 输入方法的简短描述。
    - iv. 点击 Save (保存)。

不需要先解卷积数据。

- 6. 在 Method Selection (方法选择) 窗格上,选择 Methods (方法) 窗格上的方法 (但是没有必要点 击 Edit Method [编辑方法])。
- 7. 在 Load Raw Data File (载入原始数据文件) 窗格上,选择原始数据文件并点击 Add to Queue (加入队列)。

# 对比由自动 ReSpect 处理 的样品

# 显示结果

应用程序完成原始数据文件分析后,用户可以打开该任务的结果。

查看结果后,若要调整色谱图,用户必须手动操作并重新运行任务。

- ◆ 若要显示任务的结果
- 1. 在 Run Queue (运行队列)页面上,选择已完成的任务及希望显示的结果。
- 2. 点击 Open Result (打开结果)。

应用程序转至 Process and Review (处理和查看)页面,其在 Deconvolved Spectrum (已解卷积的质 谱图)窗格上显示导出质谱图,在 Results (结果)表中显示组分列表。

当通过 Run Queue (运行队列)页面的 Open Result (打开结果)命令访问 Chromatogram (色谱 图)页面或 Process and Review (处理和查看)页面时, Save Method (保存方法)、Save Method As (方法另存为)和 Result Method (结果方法)命令不可用。

若 Protein Deconvolution 应用程序尚未分析原始数据文件,或正处于分析过程中,则用户无法打开结果。

打开结果不会使应用程序停止分析后续的数据组。

# ◆ 若要调整色谱图

- 1. 点击 Method Selection (方法选择)选项卡。
- 点击 Manual ReSpect (Isotopically Unresolved) (手动 ReSpect, 同位素未解析),按照第3页上的 "创建 Xtract 方法"中的说明重新载入原始数据文件。
- 3. 按照第10页上的"选择待解卷积的质谱图"中的说明调整色谱图。
- 4. 重新提交任务至任务队列进行自动处理。
- ♦ 若要复制色谱图
- 1. 任务处理完成后,点击 Run Queue (运行队列)页面上的 Open Result (打开结果)。
- 2. 点击 Chromatogram (色谱图)选项卡。
- 3. 从 Windows Start (开始)菜单上,选择 All Programs (所有程序) > Accessories (附件) > Snipping Tool (截图工具)。
- 4. 在希望捕获的色谱图区域周围拖拽光标。
- 5. 在 Snipping Tool (截图工具)上右击,然后选择 Copy (复制)。
- 6. 打开第三方应用程序文件, 然后将已复制的图片粘贴至其中。

显示解卷 积报告

当点击 Run Queue (运行队列)页面上的 Run (运行)时,应用程序生成一份显示解卷积多个方面的 报告,以便用户追踪数据的进程。第44页上的"显示报告"介绍了该报告。用户可以在 Reporting (报告)页面上查看该报告,并将其另存为 PDF 文件。

# ♦ 若要显示报告

- 1. 在 Run Queue (运行队列)页面上,选择已完成的任务,以及希望显示的报告。
- 2. 点击 Open Report (打开报告)。

Protein Deconvolution 应用程序转至 Reporting (报告)页面,在此显示报告。

当选择 Parameters(参数)页面 Automation Parameters(自动参数)部分上的 Concatenate All Reports(合并所有报告)参数时,应用程序打开一个包含所有色谱峰的报告。若未选择该参数,其为每个峰打开一个报告。



若用户保存了解卷积结果,可以稍后重新载入。可以使用两种方法载入以前解卷积的结果。

注释 当载入在版本 1.0 中生成的结果时,自版本 1.0 添加的任意参数都设为 0。

# ♦ 若要从 Method Selection (方法选择)页面载入已保存的结果

- 1. 点击 Method Selection (方法选择)选项卡。
- 2. 在 Method Selection (方法选择)页面的 Experiment Types (实验类型)窗格上,点击 Load Previous Results (载入以前的结果)。
- 3. 在 Load Result File (载入结果文件) 窗格的 Raw Data Directory (原始数据目录)中,输入包含已保存结果的 SQLite 文件的路径和名称,或者点击 Browse (浏览) 按钮 (...)以浏览至该文件的位置。
- 4. 在 Load Result File (载入结果文件) 窗格的 Select Result Files (选择结果文件) 区域,选择包含结果的 SQLite 文件的名称,然后点击 Load (载入)。

应用程序显示 Results (结果)表格中找到的结果。

5. 在 Results (结果)表格中,选择想要的结果,然后点击 Load Result (载入结果)。

应用程序转至 Reporting (报告)页面,在此显示所需的解卷积报告。此外,该页面还显示 Process and Review (处理和查看)页面上的 Source Spectrum (源质谱图)、Deconvolved Spectrum (已解卷积的质 谱图)窗格,以及 Results (结果)表格中保存的结果。所需结果的文件名出现在 Saved ReSpect Results (已保存 ReSpect 结果)或 Saved Xtract Results (已保存 Xtract 结果)窗格上。

#### ◆ 若要从 Process and Review (处理和查看)页面载入已保存的结果

- 1. 在 Method Selection (方法选择)页面上,载入原始数据文件并选择一个方法。有关说明,参阅第1 页上的"设置手动 Xtract 解卷积"。
- 2. 点击 Process and Review (处理和查看)选项卡。
- 3. 在 Saved Xtract Results (已保存 Xtract 结果)或 Saved ReSpect Results (已保存 ReSpect 结果)窗格 上,选择希望载入的结果,然后点击页面底部的 Load Result (载入结果)。

应用程序将选择的以前的结果置于 Process and Review (处理和查看)页面的 Source Spectrum (源质 谱图)、Deconvolved Spectrum (已解卷积的质谱图)窗格以及 Results (结果)表格中。此外,其 更改 Reporting (报告)页面上的报告。

# 退出 Protein ◆ 若要退出 Protein Deconvolution 应用程序 Deconvolution

点击 Protein Deconvolution 窗口右上角的 Close (关闭) 按钮, 🗙。

**ReSpect** 是 Positive Probability Ltd. 的商标。

Exactive Plus 是 Thermo Fisher Scientific Inc. 的商标,而 Exactive 和 Xcalibur 是其在美国的注册商标。

Microsoft、 Excel、 PowerPoint 和 Windows 是 Microsoft Corporation 在美国以及其他国家和地区的注册商标。 Adobe 和 Acrobat 是 Adobe Systems Inc. 在美国以及其他国家和地区的注册商标。

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