



Professional MS Training Class

Proteome Discoverer



ThermoFisher
S C I E N T I F I C

Study&
Administrator
编辑

Processing
分析流程

Consensus
分析流程

结果展示

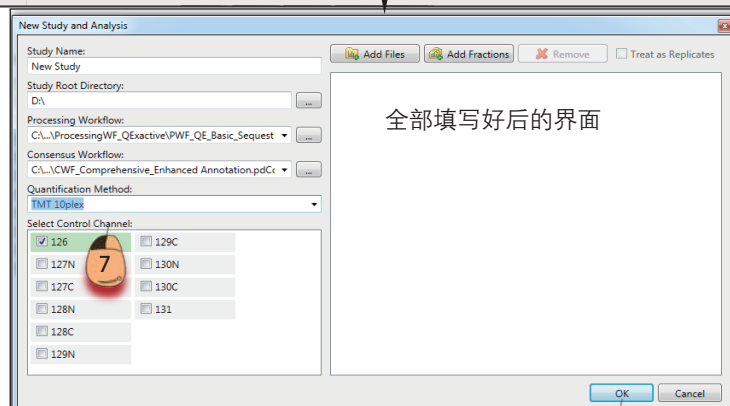
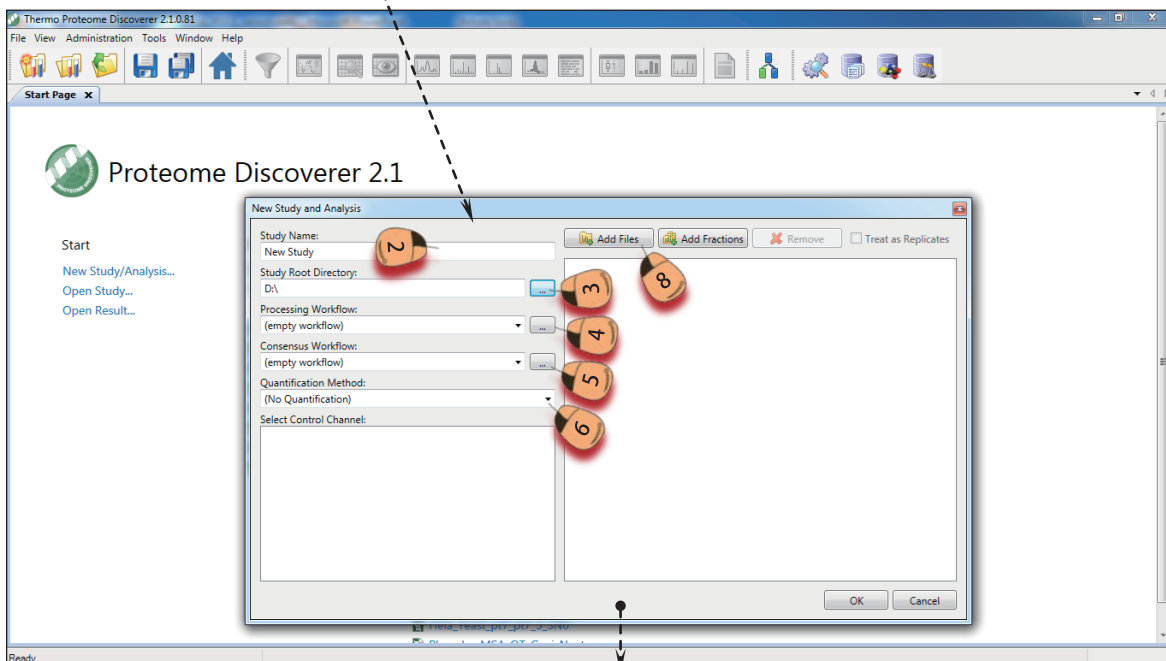
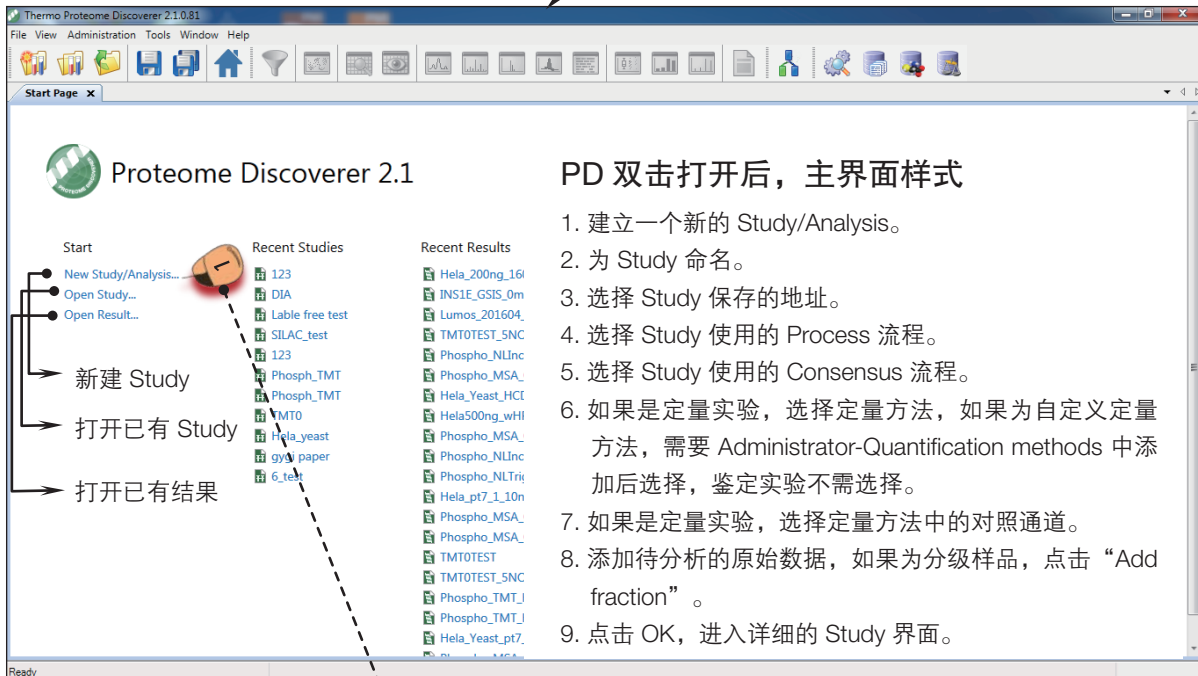
目录

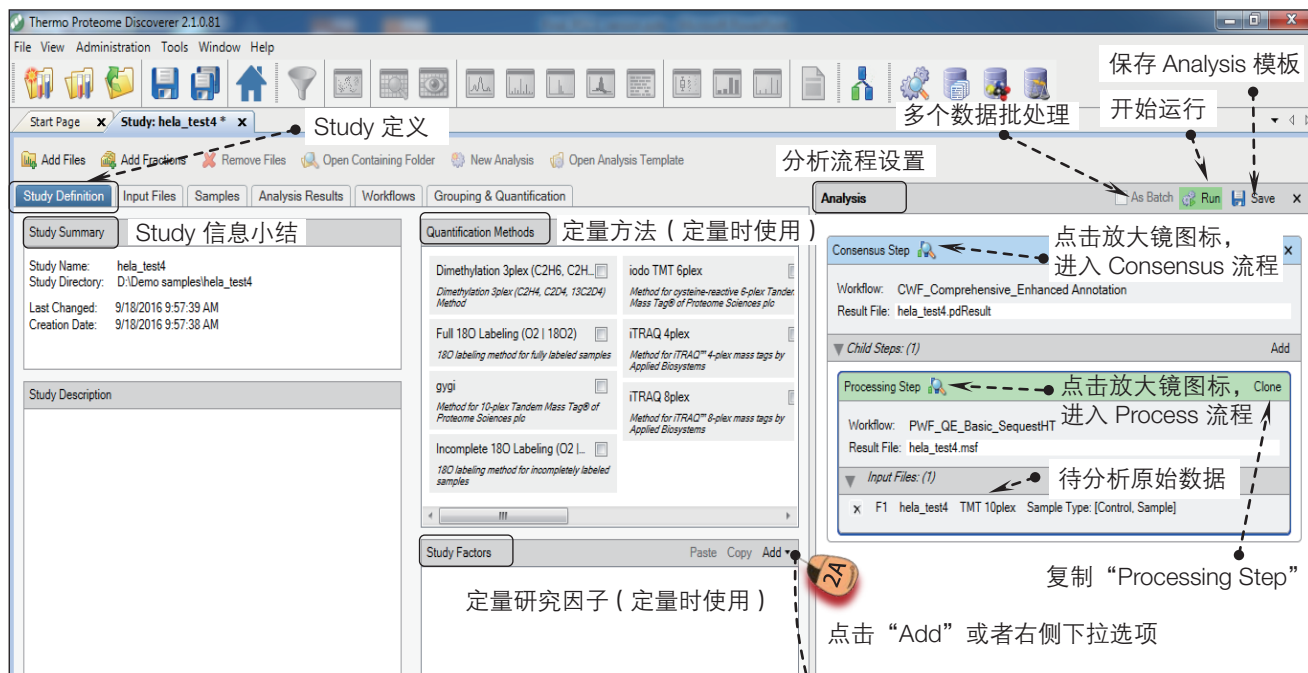
软件主界面布局&Study 编辑	01
蛋白质数据库添加	08
可变翻译后修饰添加	09
酶切试剂添加	11
定量方法添加	12
定性分析流程	13
定量分析流程	18
定性分析流程	25
后处理模块	33
定量分析流程	35
结果展示	37
结果导出	48

双击桌面图标打开软件

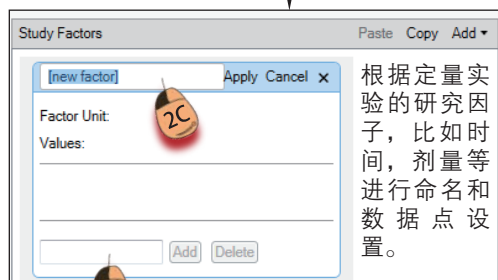


01

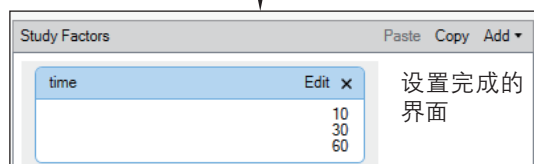




1. 确认 Study 信息和使用的定量方法。
2. 如果为定量实验，添加 Study Factor，具体见上述鼠标指示。
3. 在 Analysis 部分，选择 Processing 和 Consensus 流程。
4. 确认待分析的原始数据，在同时导入多个原始数据的情况下，如需采用相同的 Processing 和 Consensus 流程可以勾选 “As Batch” 进行批处理，可以得到与原始数据一一对应的多个结果报告，如果不勾选则生成一个结果报告，其中包括了来源于所有原始数据的鉴定和定量信息。



根据定量实验的研究因子，比如时间，剂量等进行命名和数据点设置。



设置完成的界面

5. 参数确定无误后，可以点击右上角绿色背景的 “Run”，开始运行数据处理。
6. 点击 “Analysis” 模块中右上角的 “Save”，保存 Analysis 模板（包含 Processing 和 Consensus 流程），今后分析可直接调用。
7. 点击 “Analysis” 模块中右上角的 “×”，可以关闭 “Analysis” 页面。
8. 点击 “Consensus Step” 模块中右上角的 “×”，可以删除 “Consensus Step”。
9. 点击 “Processing Step” 模块中右上角的 “Clone”，可以进行 “Process Step” 模块的复制。

Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: hela_test4 x 输入文件

Add Files Add Fractions Remove Files Open Containing Folder New Analysis Open Analysis Template

Study Definition Input Files Samples Analysis Results Workflows Grouping & Quantification

ID	Name	File Type	Quan Method	Sample Information
F1	hela_test4	.raw	TMT 10plex	Sample Type: [Control, Sample], [new factor]: [n/a]

已添加原始数据

除了在建 Study 时直接添加原始数据外，还可以在此添加其他原始文件。点击左上角“Add Files”，添加好后，可以选择并长按鼠标左键将原始数据直接拖入右侧的“Input Files”进行数据添加。

如果是分级样品，可以选择“Add Fraction”将各个组分的数据添加进来。

Analysis

Consensus Step

Workflow: CWF_Comprehensive_Enhanced Annotation

Result File: hela_test4.pdResult

Child Steps: (1)

Processing Step

Workflow: PWF_QE_Basic_SequestHT

Result File: hela_test4.msf

Input Files: (1)

F1 hela_test4 TMT 10plex Sample Type: [Control, Sample]

Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: hela_test4 x 样品信息

Add Files Add Fractions Remove Files Open Containing Folder New Analysis Open Analysis Template

Study Definition Input Files Samples Analysis Results Workflows Grouping & Quantification

Sample	Sample Identifier	Sample Type	time
S1	hela_test4 - [126]	Control	10
S2	hela_test4 - [127N]	Sample	30
S3	hela_test4 - [127C]	Sample	60
S4	hela_test4 - [128N]	Sample	n/a
S5	hela_test4 - [128C]	Sample	n/a
S6	hela_test4 - [129N]	Sample	n/a
S7	hela_test4 - [129C]	Sample	n/a
S8	hela_test4 - [130N]	Sample	n/a
S9	hela_test4 - [130C]	Sample	n/a
S10	hela_test4 - [131]	Sample	n/a

选择样品类型

选择样品分类（基于“Study Factor”），特别是进行定量分析时

Analysis

Consensus Step

Workflow: CWF_Comprehensive_Enhanced Annotation

Result File: hela_test4.pdResult

Child Steps: (1)

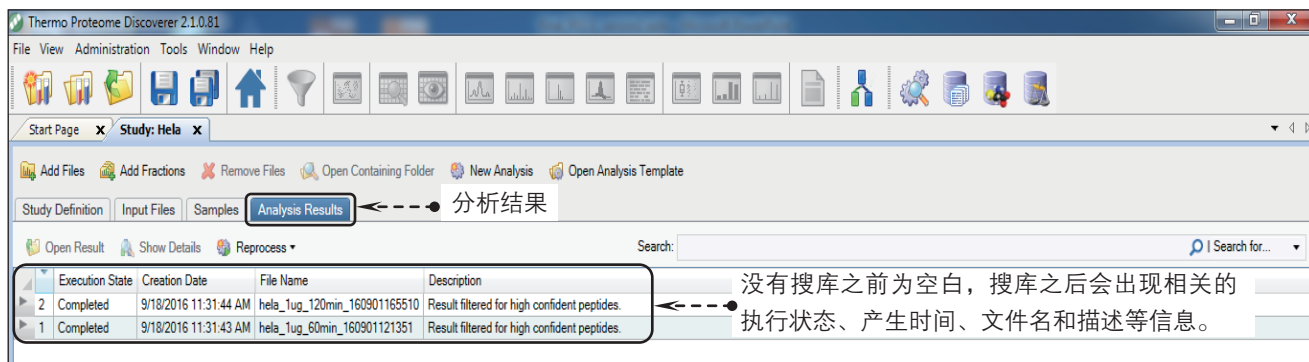
Processing Step

Workflow: PWF_QE_Basic_SequestHT

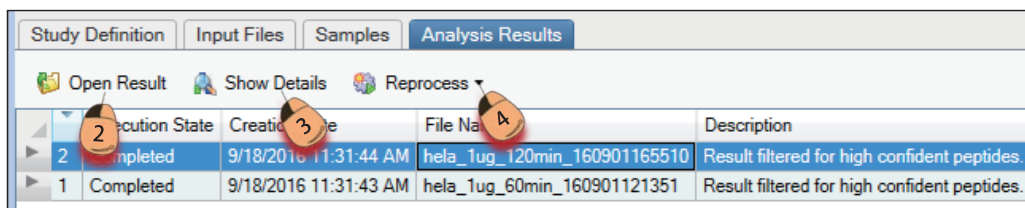
Result File: hela_test4.msf

Input Files: (1)

F1 hela_test4 TMT 10plex Sample Type: [Control, Sample]



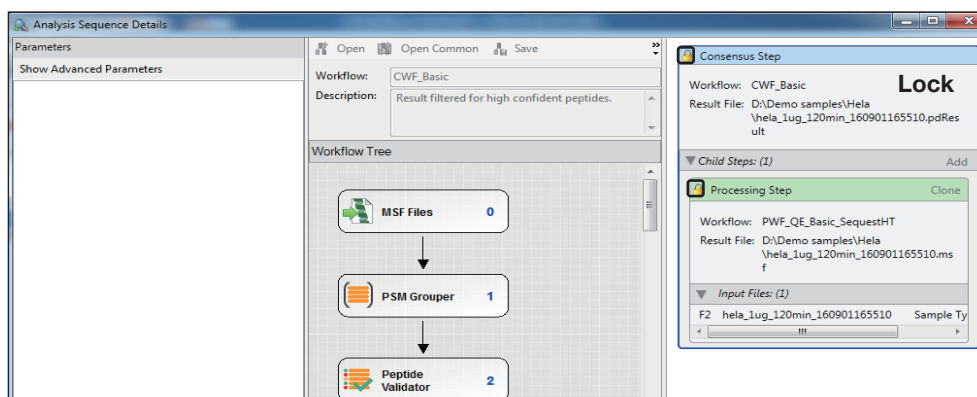
1. 点击待查看的搜库结果。



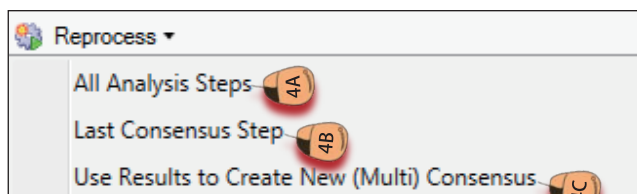
2. 点击“Open Result”按钮，结果将呈现在新的标签页中，有关结果介绍请见“结果展示”部分。

	Checked	Protein FDR Confidence	Master	Accession	Description	Exp. q-value	Sum PEP Score	Coverage	# Peptides	# PSMs	# Unique Peptides	# Protein Groups	# AAs	Mw [kDa]	calc. pI
1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Q09666-1	Neuroblast differentiation-associated protein AHNK [OS=Homo sapiens]	0.000	1275.650	60%	172	302	172	1	5890	628.7	6.15
2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Q15149-8	Isoform 8 of Plectin [OS=Homo sapiens]	0.000	1124.931	44%	163	244	158	1	4525	513.4	5.76
3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	P49327	Fatty acid synthase [OS=Homo sapiens]	0.000	862.920	52%	94	197	93	1	2511	273.3	6.44
4	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	P78527	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit [OS=Homo sapiens]	0.000	747.499	33%	120	175	119	1	4128	468.8	7.12
5	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	P21333	Filamin-A [OS=Homo sapiens]	0.000	747.062	49%	84	135	80	1	2647	280.6	6.06
6	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	P35579-1	Myosin-9 [OS=Homo sapiens]	0.000	642.475	46%	79	124	29	1	1960	226.4	5.60

3. 点击“Show Details”按钮，搜库使用的 Consensus 和 Processing 流程将显示，此时两个流程均为 Lock 状态，只可查看不可编辑。



4. 点击“Reprocess”按钮，可以针对原始数据分别进行重新搜索：（4A）分别对 Consensus 和 Processing 重新编辑参数并检索；（4B）不进行 Processing 处理，只进行 Consensus 重新检索；（4C）可以选择一个或者多个 processing 后的 msf 结果文件，只进行 Consensus 处理，适合将多数数据整合到一个结果。（备注：PD 2.1 只能打开 Consensus 处理过的结果文件，如果想把几个结果合并打开，请使用该功能）。



Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: hela_test4 * x

分析流程

Add Files Add Fractions Remove Files Open Containing Folder New Analysis Open Analysis Template

Study Definition Input Files Samples Analysis Results Workflows Grouping & Quantification

Parameters Show Advanced Parameters

Workflow: CWF_Comprehensive_Enhanced Annotation

Description: Result filtered for high confident peptides, with enhanced peptide and protein annotations. Add FASTA file with common contaminants to the Protein Marker node.

Workflow Tree

```

graph TD
    MSF[MSF Files 0] --> PSM[PSM Grouper 1]
    PSM --> Peptide[Peptide 2]
    Peptide --> Result[Result Statistics 10]
    Peptide --> Data[Data Distributions 11]
    
```

Post-Processing Nodes

Result Statistics 10 Data Distributions 11

Workflow Nodes Parameters

Ready

Analysis

Consensus Step

Workflow: CWF_Comprehensive_Enhanced Annotation

Result File: hela_test4.pdResult

Child Steps: (1)

Processing Step

Workflow: PWF_QE_Basic_SequestHT

Result File: hela_test4.ms1

Input Files: (1)

x F1 hela_test4 TMT 10plex Sample Type: [Control, Sample]

点击放大镜图标，进入 Consensus 流程，具体参数请见“consensus 分析流程”部分。

Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: hela_test4 * x

Study Definition Input Files Samples Analysis Results Workflows Grouping & Quantification

Parameters Show Advanced Parameters

1. Input Data

Protein Database: Homo sapiens (SwissProt Tax)

Enzyme Name: Trypsin (Full)

Max. Missed Cleavage: 2

Min. Peptide Length: 6

Max. Peptide Length: 144

2. Tolerances

Precursor Mass Tolerant: 10 ppm

Fragment Mass Tolerant: 0.02 Da

Use Average Precursor: False

Use Average Fragment: False

3. Spectrum Matching

Use Neutral Loss a ions: True

Use Neutral Loss b ions: True

Use Neutral Loss y ions: True

Use Flanking Ions: True

Weight of a ions: 0

Weight of b ions: 1

Protein Database

The sequence database to be searched.

Workflow: PWF_QE_Basic_SequestHT

Description: Basic processing workflow with score threshold validation to be used for searches of low complexity samples or employing a small FASTA database. Specify the FASTA database and any additional modifications.

Workflow Tree

```

graph TD
    Spectrum[Spectrum Files 0] --> Selector[Spectrum Selector 1]
    Selector --> Sequest[Sequest HT 2]
    Sequest --> Validator[Fixed Value PSM Validator 3]
    
```

Analysis

Consensus Step

Workflow: CWF_Comprehensive_Enhanced Annotation

Result File: hela_test4.pdResult

Child Steps: (1)

Processing Step

Workflow: PWF_QE_Basic_SequestHT

Result File: hela_test4.ms1

Input Files: (1)

x F1 hela_test4 TMT 10plex Sample Type: [Control, Sample]

点击放大镜图标，进入 Processing 流程，具体参数请见“Processing 分析流程”部分。

Thermo Proteome Discoverer 2.1.0.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: hela_test4 * x

Add Files Add Fractions Remove Files Open Containing Folder New Analysis Open Analysis Template

Study Definition Input Files Samples Analysis Results Workflows **Grouping & Quantification** 分组和定量

Sample Group and Quan Ratio Specification 样品分组和定量比例

Study Variables

- ☐ File
- ☒ Quan Channel
- ☐ time
- ☐ Sample Type

Variables printed in italics contain only a single value.

Manual Ratio Generation

Numerator: Add Ratio

Denominator:

Bulk Ratio Generation

Denominators to be used:

- ☒ Quan Channel : 126
- ☐ Quan Channel : 127N
- ☐ Quan Channel : 127C
- ☐ Quan Channel : 128N
- ☐ Quan Channel : 128C
- ☐ Quan Channel : 129N
- ☐ Quan Channel : 129C
- ☐ Quan Channel : 130N

Add Ratios

Generated Sample Groups

- 126 Control 10 F1: hela_test4
- 127N Sample 30 F1: hela_test4
- 127C Sample 60 F1: hela_test4
- 128N Sample n/a F1: hela_test4
- 128C Sample n/a F1: hela_test4

Generated Ratios

Clear All

Analysis

Consensus Step

Workflow: CWF_Comprehensive_Enhanced Annotation

Result File: hela_test4.pdResult

Child Steps: (1)

Processing Step

Workflow: PWF_QE_Basic_SequestHT

Result File: hela_test4.ms

Input Files: (1)

x F1 hela_test4 TMT 10plex Sample Type: [Control_Sample]

1. 选择研究变量，样品将根据选择的研究变量进行分组（group），结果出现在右侧的“Generated Sample Groups”模块中。
2. 手动逐个添加定量比例，从分子和分母下拉列表中选择，结果出现在右侧的“Generated Ratios”模块中，可以点击左侧的“x”进行选择性删除，或者点击右上角“Clear All”全部删除。
3. 批量添加定量比例，选择相应的对照变量作为分母，点击“Add Ratios”，结果出现在右侧的“Generated Ratios”模块中。
4. 所有参数确认无误后，点击“Run”开始运行数据搜索。

Thermo Proteome Discoverer 2.1.0.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: hela_test4 * x

Add Files Add Fractions Remove Files Open Containing Folder New Analysis Open Analysis Template

Study Definition Input Files Samples Analysis Results Workflows **Grouping & Quantification**

Sample Group and Quan Ratio Specification

Study Variables

- ☐ File
- ☒ Quan Channel
- ☐ time
- ☐ Sample Type

Variables printed in italics contain only a single value.

Manual Ratio Generation

Numerator: Add Ratio

Denominator:

Bulk Ratio Generation

Denominators to be used:

- ☒ Quan Channel : 126
- ☐ Quan Channel : 127N
- ☐ Quan Channel : 127C
- ☐ Quan Channel : 128N
- ☐ Quan Channel : 128C
- ☐ Quan Channel : 129N
- ☐ Quan Channel : 129C
- ☐ Quan Channel : 130N
- ☐ Quan Channel : 130C
- ☐ Quan Channel : 131

Add Ratios

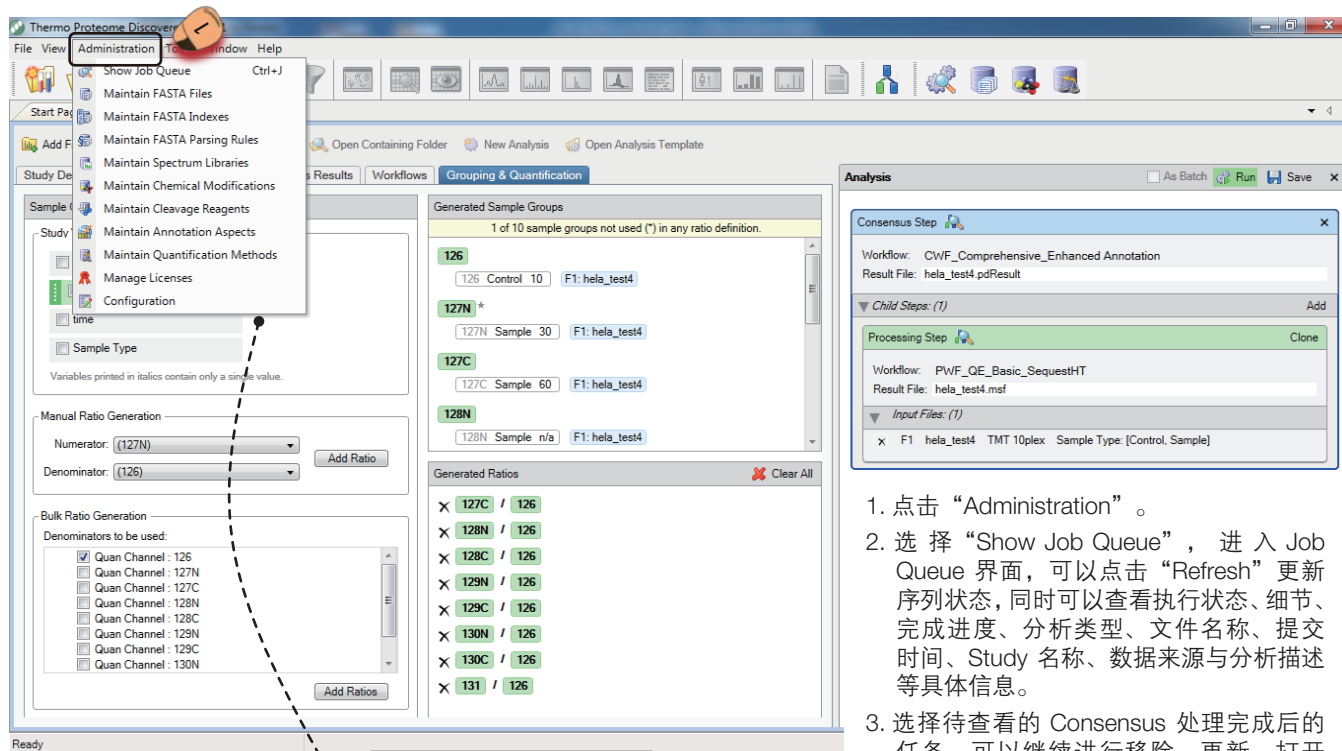
Generated Sample Groups

- 126 Control 10 F1: hela_test4
- 127N Sample 30 F1: hela_test4
- 127C Sample 60 F1: hela_test4
- 128N Sample n/a F1: hela_test4
- 128C Sample n/a F1: hela_test4

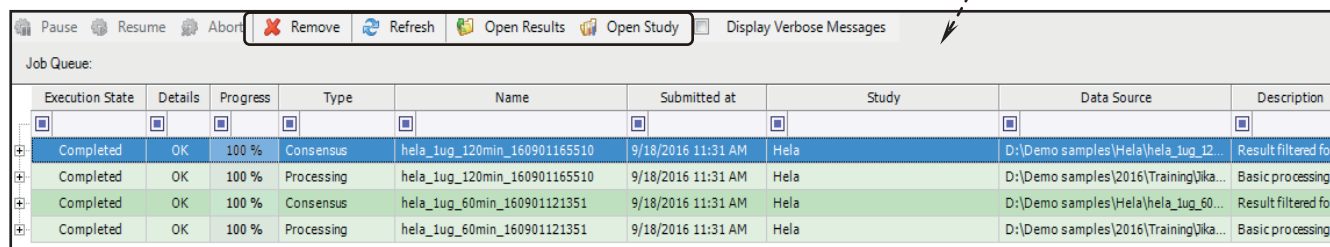
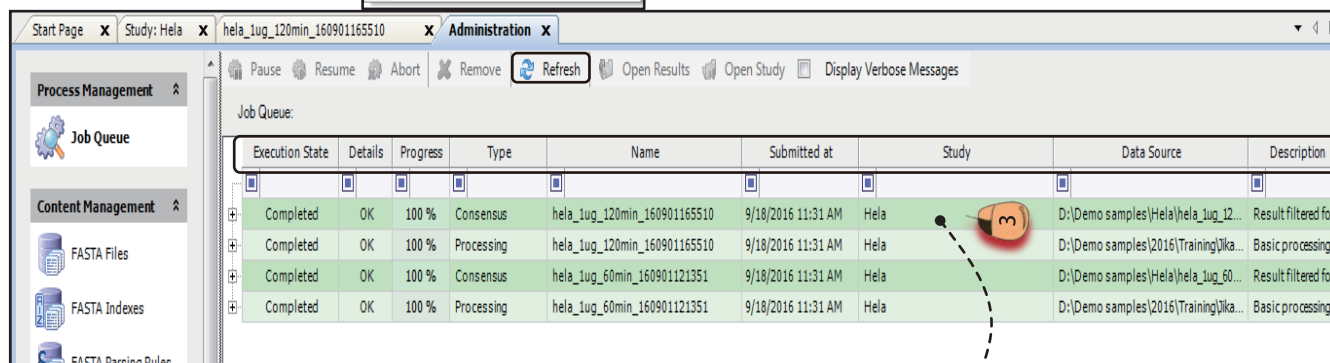
Generated Ratios

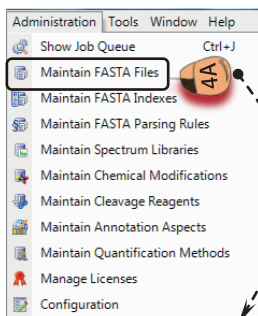
Clear All

- x 127N / 126
- x 127C / 126
- x 128N / 126
- x 129N / 126
- x 129C / 126
- x 130N / 126
- x 130C / 126
- x 131 / 126

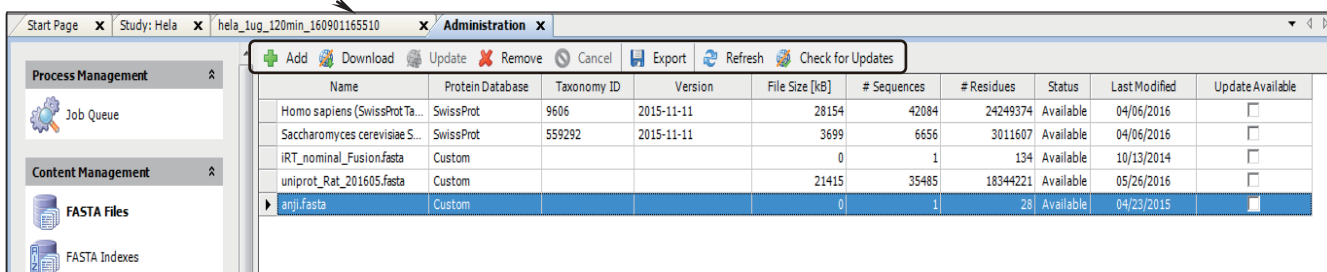
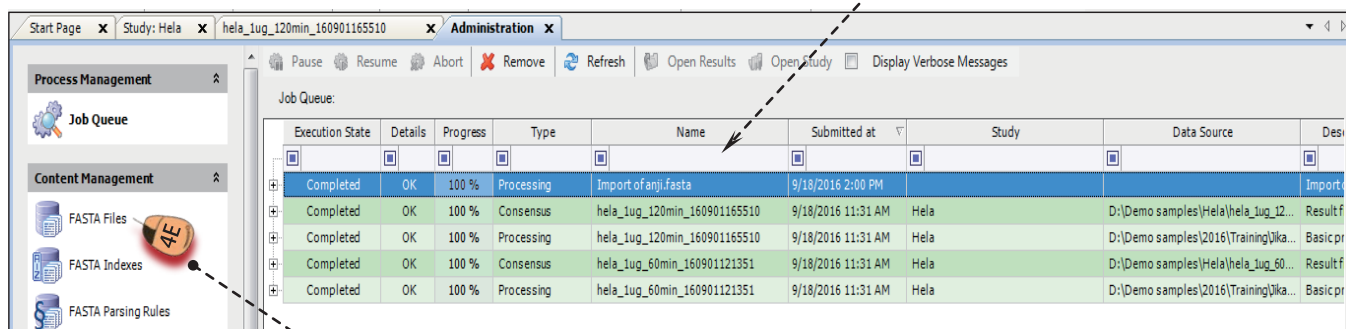
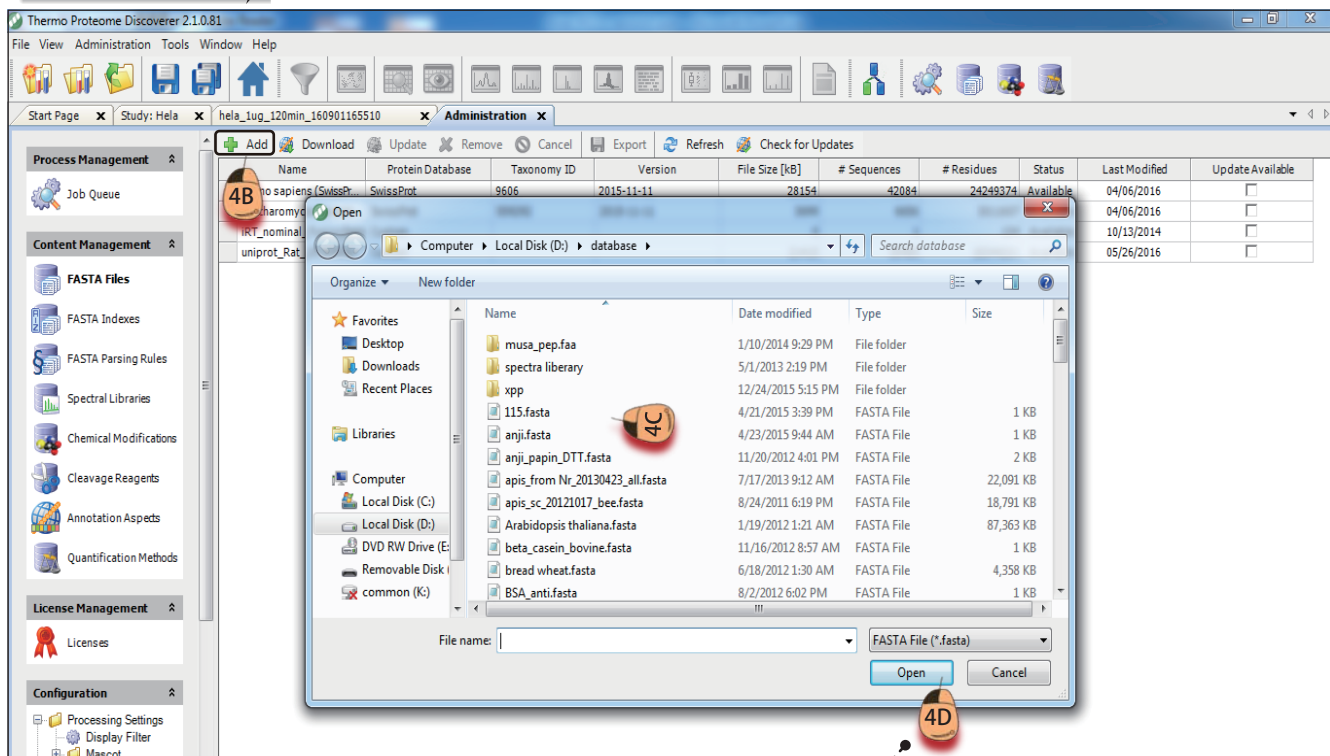


1. 点击“Administration”。
2. 选择“Show Job Queue”，进入 Job Queue 界面，可以点击“Refresh”更新序列状态，同时可以查看执行状态、细节、完成进度、分析类型、文件名称、提交时间、Study 名称、数据来源与分析描述等具体信息。
3. 选择待查看的 Consensus 处理完成后的任务，可以继续移除、更新、打开结果与打开 Study 等后续操作。





4. 选择“Maintain FASTA Files”，进入 FASTA Files 界面，可以点击“Add”进入“Open”界面，再选择已经下载好的待添加的 .fasta 文件，点击“Open”，自动跳转至“Job Queue”界面显示数据库添加状态。当显示数据库添加完成后，点击左侧的“FASTA Files”返回 FASTA Files 界面，一般按照时间顺序排列，可以进一步查看添加数据库的信息，比如数据库的名字、来源、种属号、版本号、大小、包含的氨基酸序列数目、氨基酸残基数目、状态、最后一次修改的时间和是否需要自动更新等信息。另外也可以使用移除、导出等按钮对文件进行操作。



5. 在 FASTA Files 界面, 可以点击“Download”进入“Download from ProteinCenter”界面, 输入待下载物种的种属号, 如果不知道种属号, 可以点击对话框中的网址进行查阅, 然后从 Database 的下拉列表中选择数据库下载的来源, 一般选择 SwissProt。最后点击“Import”, 页面将自动跳转至“Job Queue”界面, 可以观察到下载的进度, 完成后再打开 FASTA Files 界面, 可以查阅到下载数据库的详细信息。另外, 过几个月后, 可以点击“Check for Updates”进行更新。

6. 在 Administration 界面, 点击“Chemical Modifications”进入化学修饰自定义界面。当添加新的修饰时, 建议点击“Delta Mass”进行升序或者降序排列, 然后在待增加的质量数附近进行查找, 如果找到相同质量的修饰条目, 可以先确认“Is Active”是否已勾选, 如果没有可以进行勾选, 然后再点击“Apply”, 即可在后续的数据分析中进行该修饰的选择; 如果找不到相同质量的修饰条目, 则需要点击“Add a Modification”, 在出现铅笔标志的空白位置进行相应的修饰名称、简写、修饰质量差、修饰平均质量差、化学元素组成、丢失基团(一般不需要填写)、发生位置、Unimod 编号等信息输入; 在“Position”区域, 可以根据修饰发生的位置进行相应的选择, 当选择了“Any”后, 鼠标移动至其它区域, 则在新加入的修饰之前会出现“+”, 点击“+”, 再点击出现的“Add an Amino Acid site”, 则可以从下拉列表中进行相应氨基酸的选择, 同时还可以在“Classification”选项中进行修饰种类的选择。如需删除, 选中待删除的条目, 再点击“Remove”, 确认无误后, 点击“Apply”则可以在后续的数据分析中进行选择, 另外也可以从 Unimod 网页或者本地文件里直接导入化学修饰。

Is Active	Modification	Abbreviation	Delta Mass	Delta Average Mass	Substitution	Leaving Group	Position	Unimod Accession No.
<input checked="" type="checkbox"/>	Acetyl	Acetyl	42.010565	42.0367	H(2) C(2) O		Any	1
<input checked="" type="checkbox"/>	Acetyl	Acetyl	42.010565	42.0367	H(2) C(2) O		Protein_N...	1
<input checked="" type="checkbox"/>	Acetyl	Acetyl	42.010565	42.0367	H(2) C(2) O		Any_N_Te...	1
<input checked="" type="checkbox"/>	Amidated	Amidated	-0.984016	-0.9848	H N O(-1)		Any_C_Te...	2
<input checked="" type="checkbox"/>	Amidated	Amidated	-0.984016	-0.9848	H N O(-1)		Protein_C...	2
<input checked="" type="checkbox"/>	Carbamidomethyl	Carbamidomethyl	57.021464	57.0513	H(3) C(2) N O		Any	4
<input checked="" type="checkbox"/>	Carbamidomethyl	Carbamidomethyl	57.021464	57.0513	H(3) C(2) N O		Any_N_Te...	4
<input checked="" type="checkbox"/>	Carbamyl	Carbamyl	43.005814	43.0247	H C N O		Any	5
<input checked="" type="checkbox"/>	Carbamyl	Carbamyl	43.005814	43.0247	H C N O		Any_N_Te...	5
<input checked="" type="checkbox"/>	Carbamyl	Carbamyl	43.005814	43.0247	H C N O		Protein_N...	5
<input checked="" type="checkbox"/>	Carboxymethyl	Carboxymethyl	58.005479	58.0361	H(2) C(2) O(2)		Any_N_Te...	6
<input checked="" type="checkbox"/>	Carboxymethyl	Carboxymethyl	58.005479	58.0361	H(2) C(2) O(2)		Any	6
<input checked="" type="checkbox"/>	Deamidated	Deamidated	0.984016	0.9848	H(-1) N(-1) O		Any	7
<input checked="" type="checkbox"/>	Deamidated	Deamidated	0.984016	0.9848	H(-1) N(-1) O		Protein_N...	7
<input checked="" type="checkbox"/>	Dimethyl	Dimethyl	28.0313	28.0532	H(4) C(2)		Protein_N...	36
<input checked="" type="checkbox"/>	Dimethyl	Dimethyl	28.0313	28.0532	H(4) C(2)		Any	36

Is Active	Modification	Abbreviation	Delta Mass	Delta Average Mass	Substitution	Leaving Group	Position	Unimod Accession No.
<input checked="" type="checkbox"/>								
<input checked="" type="checkbox"/>	Arg-loss	Arg-loss	-156.101111	-156.1857	H(-12) C(-6) N(-...		Any	1287
<input checked="" type="checkbox"/>	Met-loss	Met-loss	-131.040485	-131.1961	H(-9) C(-5) N(-1...		Any	765
<input type="checkbox"/>	Trp->Gly	Trp->Gly	-129.057849	-129.1586	H(-7) C(-9) N(-1)		Any	676
<input type="checkbox"/>	Lys-loss	Lys-loss	-128.094963	-128.1723	H(-12) C(-6) N(-...		Protein_C...	313

Is Active	Modification	Abbreviation	Delta Mass	Delta Average Mass	Substitution	Leaving Group	Position	Unimod Accession No.
<input checked="" type="checkbox"/>	new	new	123.123	123.135			Any	0
* Add an Amino Acid Site...								
<input type="checkbox"/>	Arg-loss	Arg-loss	-156.101111	-156.1857	H(-12) C(-6) N(-...		Any_C_Te...	1287
<input checked="" type="checkbox"/>	Met-loss	Met-loss	-131.040485	-131.1961	H(-9) C(-5) N(-1...		Protein N...	765

Is Active	Modification	Abbreviation	Delta Mass	Delta Average Mass	Substitution	Leaving Group	Position	Unimod Accession No.
<input checked="" type="checkbox"/>	new	new	123.123	123.135			Any	0
* Add an Amino Acid Site...								
<input type="checkbox"/>	Alanine	A	-156.101111	-156.1857	H(-12) C(-6) N(-...		Any_C_Te...	1287
<input type="checkbox"/>	Arginine	R	-131.040485	-131.1961	H(-9) C(-5) N(-1...		Protein_N...	765
<input type="checkbox"/>	Asparagine	N	-129.057849	-129.1586	H(-7) C(-9) N(-1)		Any	676
<input type="checkbox"/>	Aspartic Acid	D	-128.094963	-128.1723	H(-12) C(-6) N(-...		Protein_C...	313
<input type="checkbox"/>	Average Asp/Asn	B	-115.042199	-115.132	H(-5) C(-8) N(-1)		Any	1224
<input type="checkbox"/>	Average Glu/Gln	Z	-106.041865	-106.1219	H(-6) C(-7) O(-1)		Any	1239
<input type="checkbox"/>	C-Terminus		-99.079647	-99.1344	H(-9) C(-4) N(-3)		Any	646
<input type="checkbox"/>	Cysteine	C						

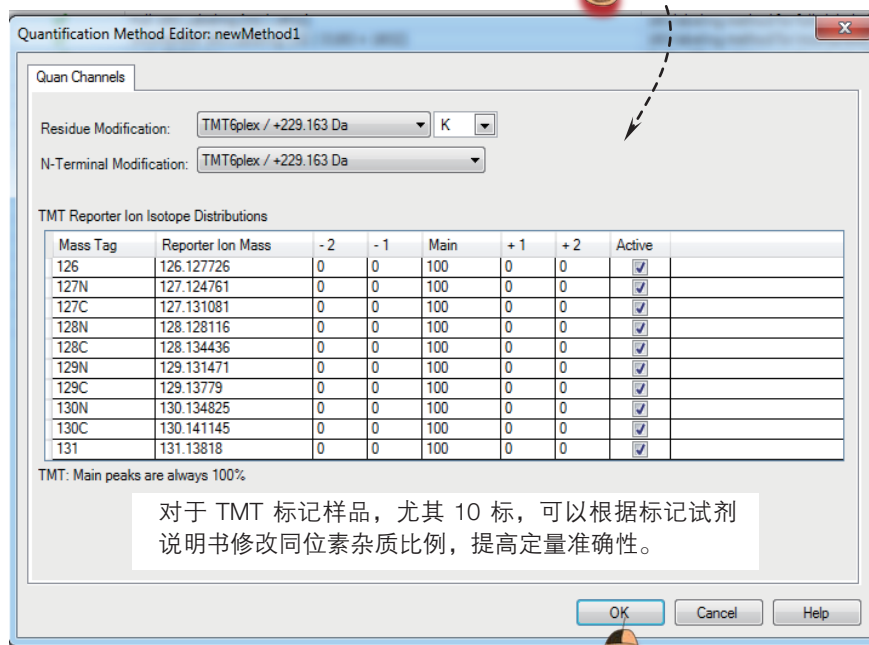
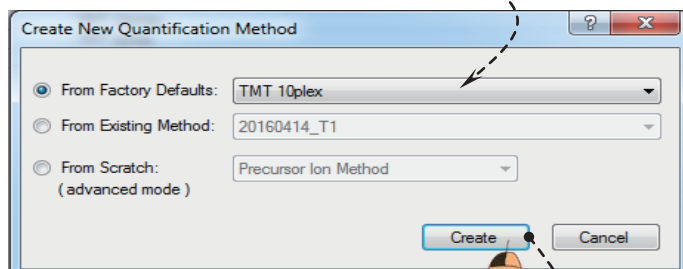
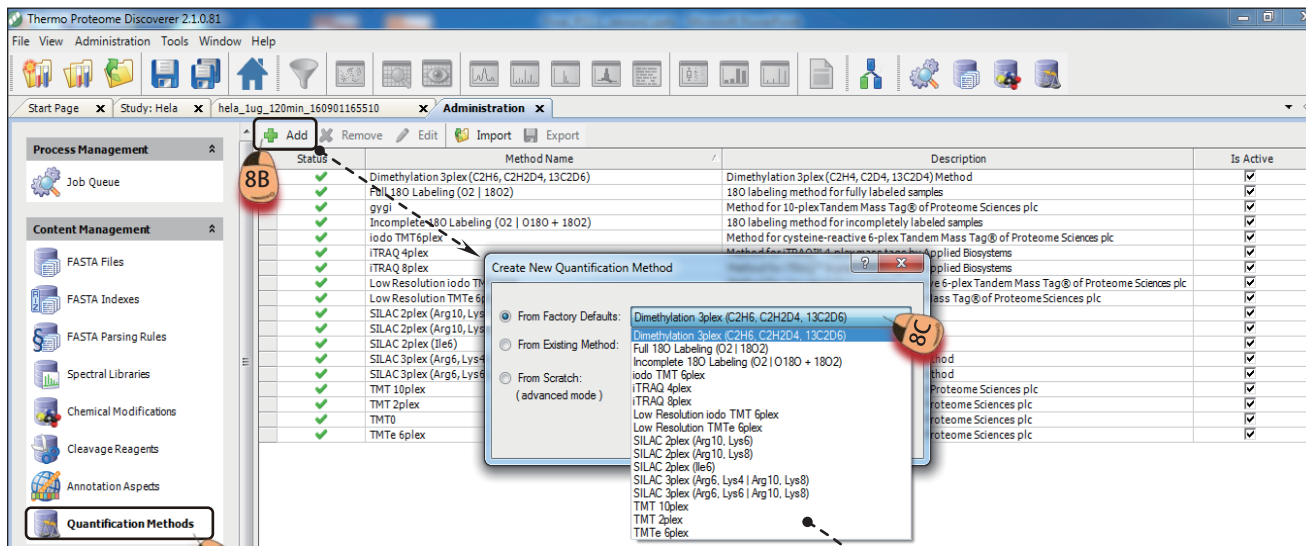
Is Active	Modification	Abbreviation	Delta Mass	Delta Average Mass	Substitution	Leaving Group	Position	Unimod Accession No.
<input checked="" type="checkbox"/>	new	new	123.123	123.135			Any	0
* Add an Amino Acid Site...								
<input type="checkbox"/>	Arginine	R						
<input type="checkbox"/>	Arg-loss	Arg-loss	-156.1857	-156.1857	H(-12) C(-6) N(-...		Any_C_Te...	1287
<input checked="" type="checkbox"/>	Met-loss	Met-loss	-131.1961	-131.1961	H(-9) C(-5) N(-1...		Protein_N...	765
<input type="checkbox"/>	Trp->Gly	Trp->Gly	-129.1586	-129.1586	H(-7) C(-9) N(-1)		Any	676
<input type="checkbox"/>	Lys-loss	Lys-loss	-128.094963	-128.1723	H(-12) C(-6) N(-...		Protein_C...	313

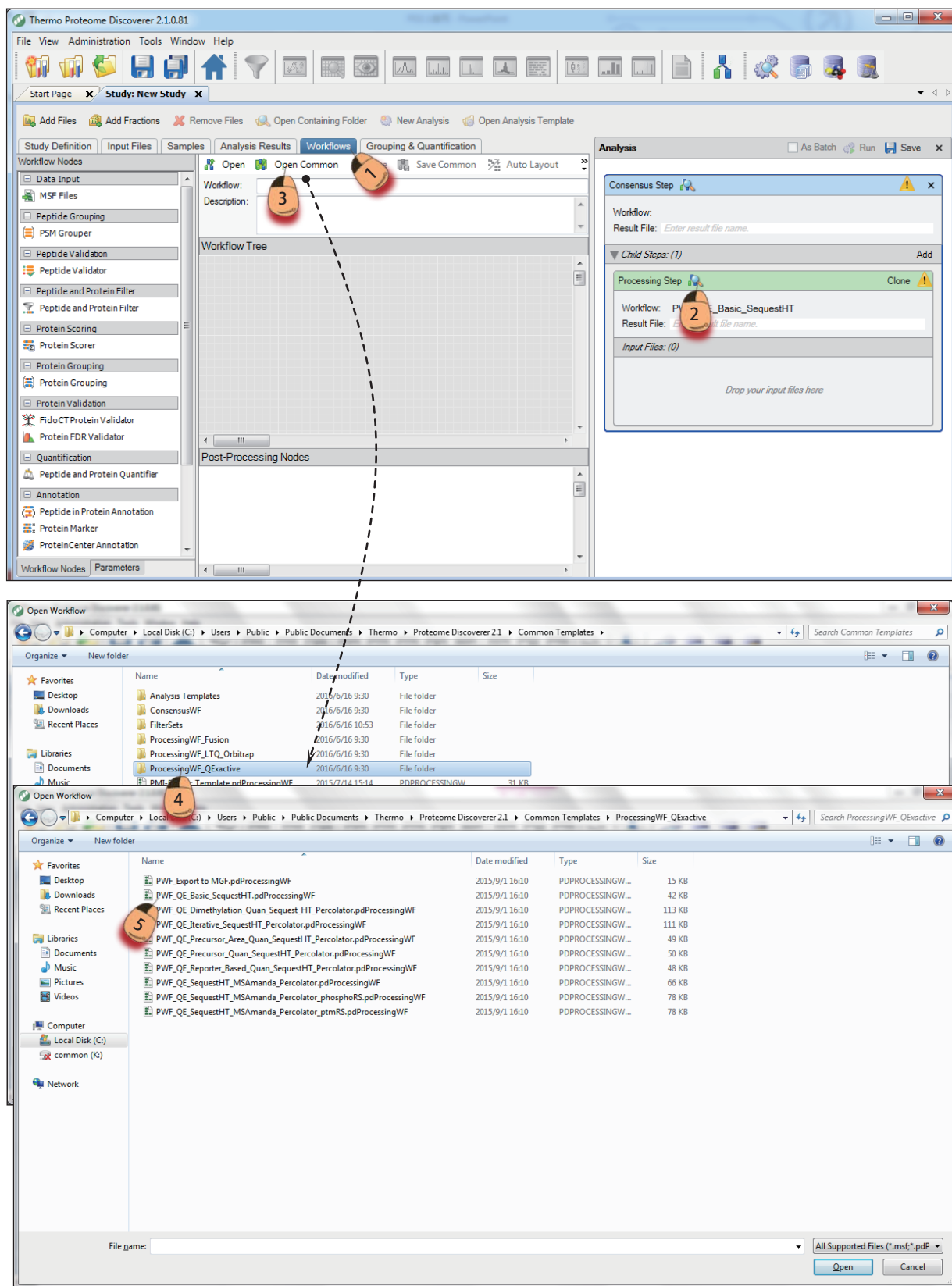
7. 在 Administration 界面, 点击“Cleavage Reagents”进入酶切试剂自定义界面, 常用的酶切试剂基本都在该表格中, 如需添加, 点击“Click here to add a new record”, 然后在名字、酶切位点、酶切抑制位点、酶切位置 (Offset: C 端酶切为 1; N 端、非酶切和非特异性酶切为 0)、简写、酶切特异性 (全酶切: Full, 半酶切: Semi, N 端半酶切: SemiN, C 端半酶切: SemiC, 非特异性酶切: Enzymatic Unspecific) 等区域分别进行输入和选择, 然后点击“Apply”即可在后续的数据分析中直接使用, 如需删除, 选择相应条目后, 点击“Remove”即可。

Name	Cleavage Sites	Cleavage Inhibitors	Offset	Abbreviation	Cleavage Specificities
* Click here to add a new record...					
Trypsin_R	R	P	1	-	Full; Semi
Trypsin_K	K	P	1	-	Full; Semi
Trypsin(KRLNH)	HKLNR	-	1	Try_a	Full; Semi
Trypsin	KR	P	1	Try	Full; Semi
Staph_Protease	E	-	1	-	Full
Proline_Endopept	P	-	1	-	Full
No-Enzyme	-	-	0	-	Unspecific
No-Cleavage	-	-	0	-	Semi; Semi (N-Term); Semi (C-Term); No Cleavages
LysC	K	-	1	-	Full
IodosoBenzate	W	-	1	-	Full
GluC	DE	-	1	-	Full
Elastase/Tryp/Chymo	AFIKLRVWY	P	1	-	Full
Elastase	AILV	P	1	-	Full
Cyanogen_Bromide	M	-	1	-	Full
Clostripain	R	-	1	-	Full
Chymotrypsin(FWY)	FWY	P	1	ChTr	Full
Chymotrypsin	FLWY	-	1	ChyTr	Full
AspN	D	-	0	-	Full

Name	Cleavage Sites	Cleavage Inhibitors	Offset	Abbreviation	Cleavage Specificities
* Click here to add a new record...					
Trypsin_R	R	P	1	-	Full; Semi
Trypsin_K	K	P	1	-	Full; Semi
Trypsin(KRLNH)	HKLNR	-	1	Try_a	Full; Semi
Trypsin	KR	P	1	Try	Full; Semi
Staph_Protease	E	-	1	-	Full
Proline_Endopept	P	-	1	-	Full
No-Enzyme	-	-	0	-	Unspecific
No-Cleavage	-	-	0	-	Semi; Semi (N-Term); Semi (C-Term); No Cleavages
LysC	K	-	1	-	Full
IodosoBenzate	W	-	1	-	Full
GluC	DE	-	1	-	Full
Elastase/Tryp/Chymo	AFIKLRVWY	P	1	-	Full
Elastase	AILV	P	1	-	Full
Cyanogen_Bromide	M	-	1	-	Full
Clostripain	R	-	1	-	Full
Chymotrypsin(FWY)	FWY	P	1	ChTr	Full
Chymotrypsin	FLWY	-	1	ChyTr	Full
AspN	D	-	0	-	Full

8. 在 Administration 界面, 点击“Quantification Methods”进入定量方法自定义界面, 常用的各种定量方法基本都在该表格中, 例如 SILAC、TMT、iTRAQ、O¹⁸ 标记和二甲基化标记等。如需添加, 点击“Add”, 一般可以从工厂默认的模板中进行选择, 以 TMT 10 plex 为例, 点击“Create”之后, 对于定量方法引入的质量增加和修饰位点分别进行选择和修改, 针对需要高分辨设置的 TMT 10 plex 试剂, 还需要查阅定量试剂盒的说明书, 补充报告离子的同位素丰度信息, 然后点击“OK”, 再进行定量方法的命名和保存。另外还可以对定量方法进行删除、编辑、导入和导出操作, 导入和导出的定量方法的格式为 .method。

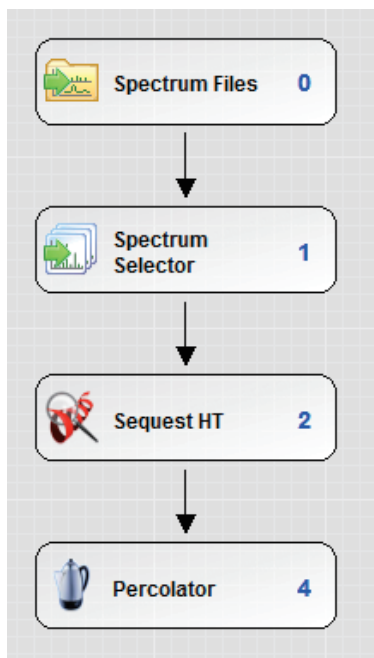




Processing workflow 可从 PD 默认模板中选择, 根据需要再进行修改, 打开步骤按照“鼠标”提示进行; 第 1 步: 在打开的 study 中点击 workflow; 第 2 步: 点击右侧 Processing step 中的放大镜; 第 3 步: 点击 open common 即可打开 PD 中已存储的默认模板; 第 4 步: 点击 Processing WF 所在文件夹; 第 5 步: 选取所需的 Processing 模板, QE_Basic_SequestHT 模板最常用, 同时可在此模板基础上进行修改。

QE_Basic_SequestHT 模板中各模块意义说明

14



各模块作用如下：

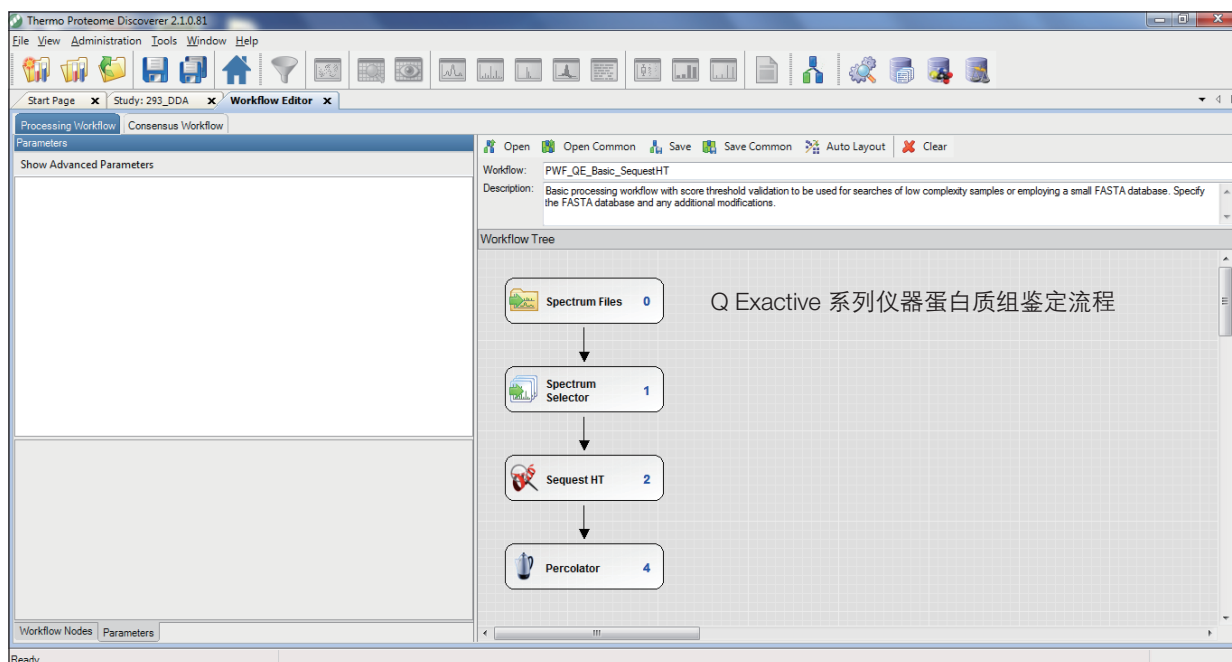
Spectrum files：数据输入，无需设置任何参数。

Spectrum Selector：从原始数据中抽提谱图送入搜索引擎模块进行搜库。

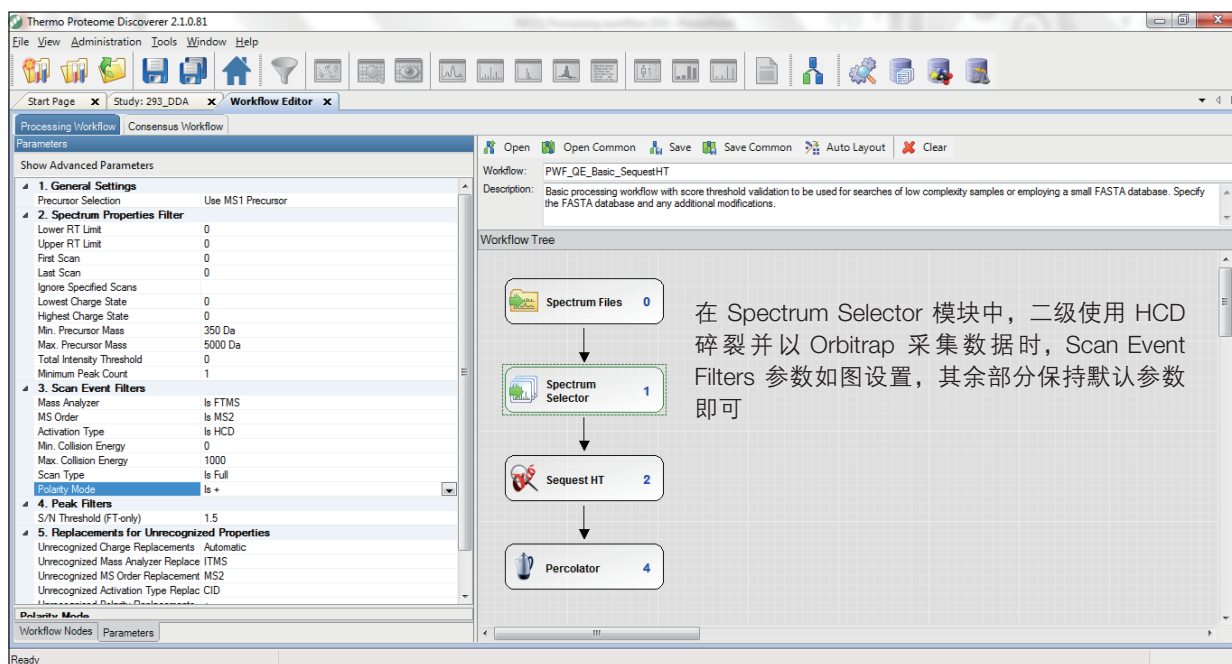
Sequest HT：搜索引擎模块。

Percolator：按照 delta Cn、q-value 等对 PSM (peptide-spectrum match) 进行卡值。

每个模块详细参数设置见下页



上图展示了 Q Exactive 系列仪器进行常规蛋白质组鉴定实验所用的搜库流程，LTQ-Orbitrap 和 Fusion 系列仪器二级使用 HCD 碎裂并以 Orbitrap 采集数据时，同样也可以使用此流程。



参数设置

General settings: 前体离子为 MS 1 还是 MS (n-1)，通常设置为 MS 1，采集三级以上质谱时选择 MS (n-1)。

Spectrum Properties Filter: 根据谱图的保留时间、谱图编号、前体离子电荷价态、母离子质量范围、总强度阈值、最小谱峰数目等筛选特定谱图搜库，通常不设限制。

Scan Event Filters: 根据二级/三级谱图碎裂模式、检测器、碰撞能量、扫描类型和采集极性模式设定相应参数，筛选谱图进行搜库。

Peak Filters: 对谱图的信噪比设定阈值（仅适用于 Orbitrap）。

Replacements for Unrecognized Properties: 对于无法识别的电荷价态、质量检测器、碎裂方式等参数，使用此处设定的参数代替；通常使用默认参数。

选择所用的 Fasta 数据库, 可以同时选择多个数据库。

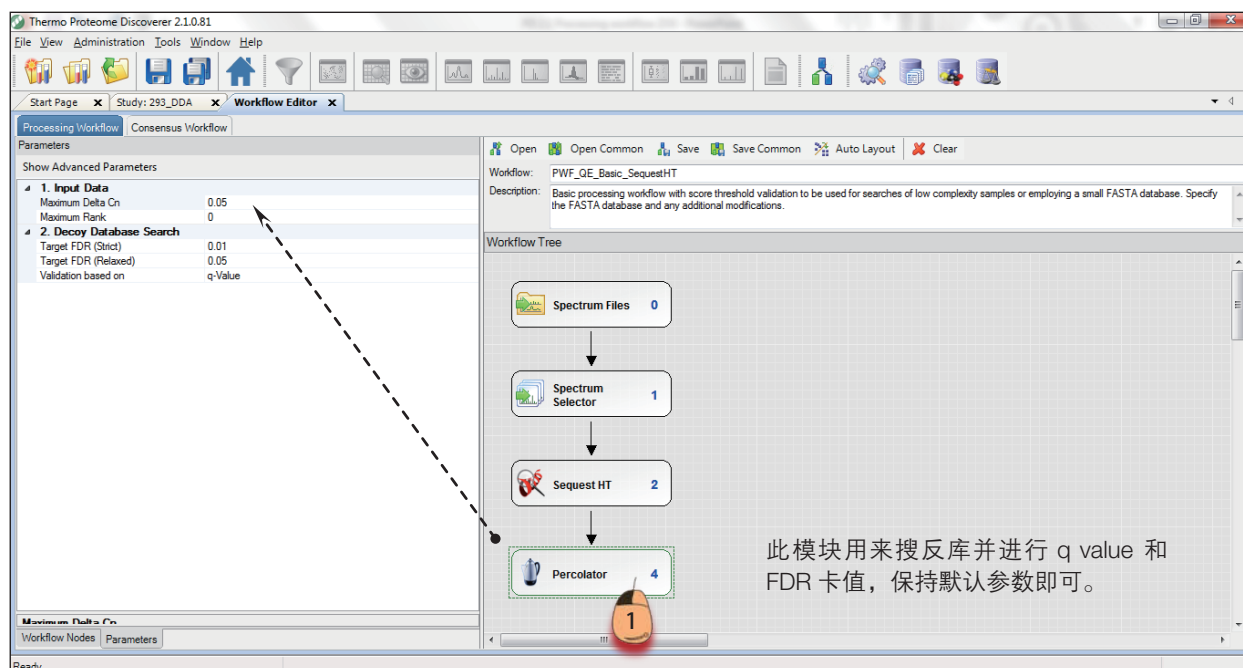
二级使用 HCD 碎裂并以 Orbitrap 采集数据时, “Tolerance” 和 “Spectrum Matching” 按照图中参数设置即可。

参数设置

- 1、Input Data: 设定搜索数据库、酶、最大漏切位点个数和最长/最短肽段长度信息。
- 2、Tolerances: 设定前体/碎片离子搜索时质量偏差容忍范围, 及是否使用前体/碎片离子的平均分子量。
- 3、Spectrum Matching: 设定在谱图匹配时是否使用中性丢失离子, 以及 a/b/c/x/y/z 离子所占的权重。

对于常规蛋白质组鉴定, 各种常见修饰如图所示设置即可。

4~7 项均为与修饰相关的设置: 其中 4 “Dynamic Modifications” 指的是在肽段侧链上可能发生的化学修饰 (比如磷酸化、乙酰化、甲基化等); 5 “Dynamic Modifications (peptide terminus)” 指的是在肽段末端上可能发生的化学修饰; 6 “Dynamic Modifications (protein terminus)” 指的是在蛋白末端上可能发生的化学修饰; 7 “Static Modifications” 指的是在某个位点上一定会发生的修饰 (比如样品还原烷基化过程中引入的 Carbamidomethyl 化学修饰)。

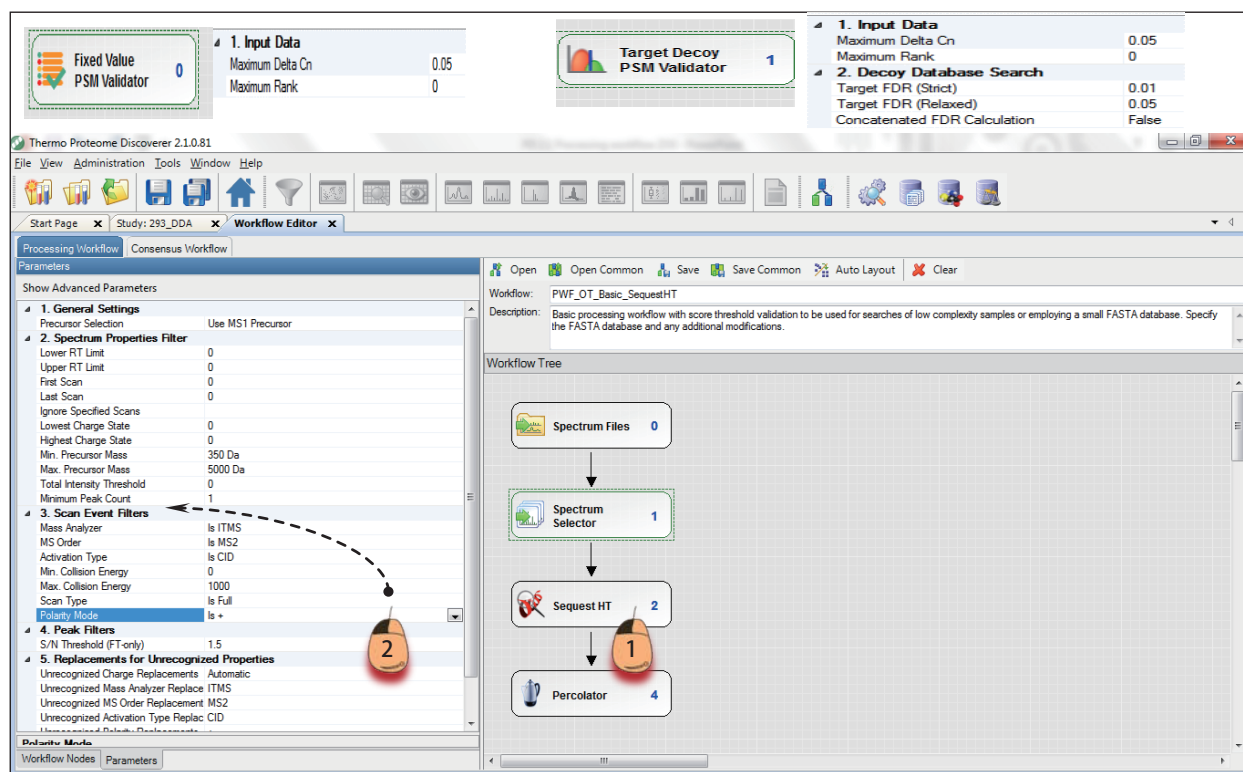


此模块用来搜反库并进行 q value 和 FDR 卡值，保持默认参数即可。

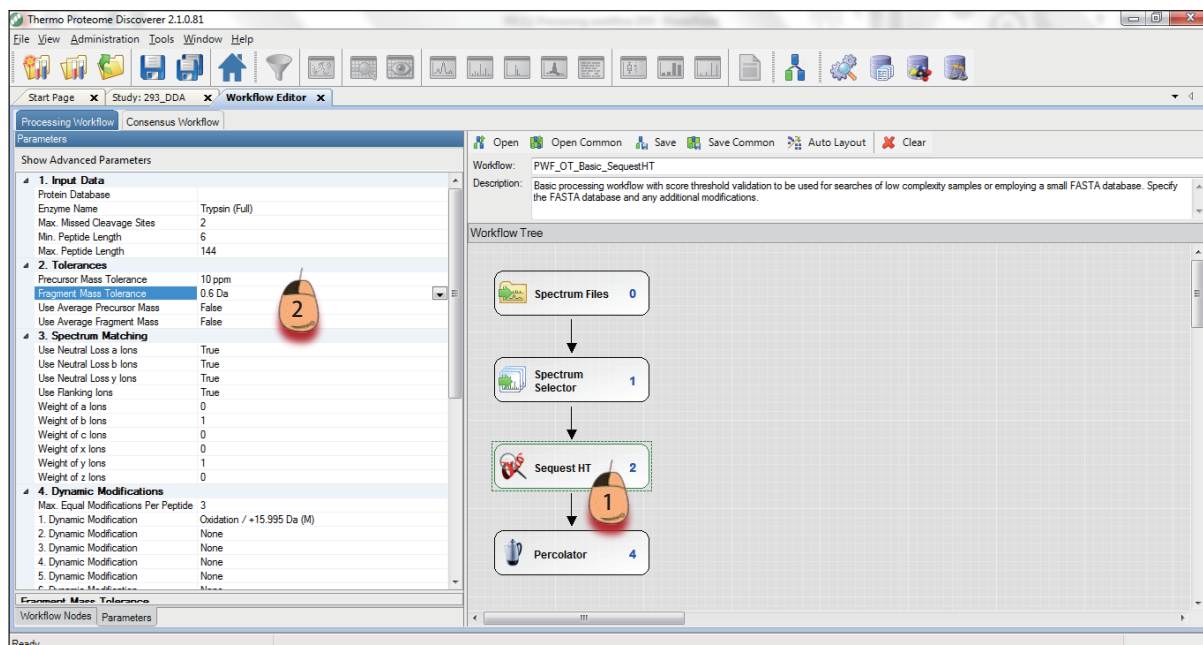
参数设置

1. Input Data: 对 PSM 的 Maximum Delta Cn 和 Maximum Rank 进行卡值。
2. Decoy Database Search: 搜索反库，以 q-value 为基础进行 FDR 卡值，通常设置 Target FDR (Strict) =0.01, Target FDR (Relaxed) =0.05。

另外两个 PSM Validation 的模块，Fixed Value PSM Validator 只对 PSM 的 Maximum Delta Cn 和 Maximum Rank 进行卡值，适用于谱图库检索。Target Decoy PSM Validator 对在 PSM 的 Maximum Delta Cn 和 Maximum Rank 进行卡值的同时还会搜反库并对 FDR 进行卡值，适用于数据库蛋白个数少时的数据库检索情况。



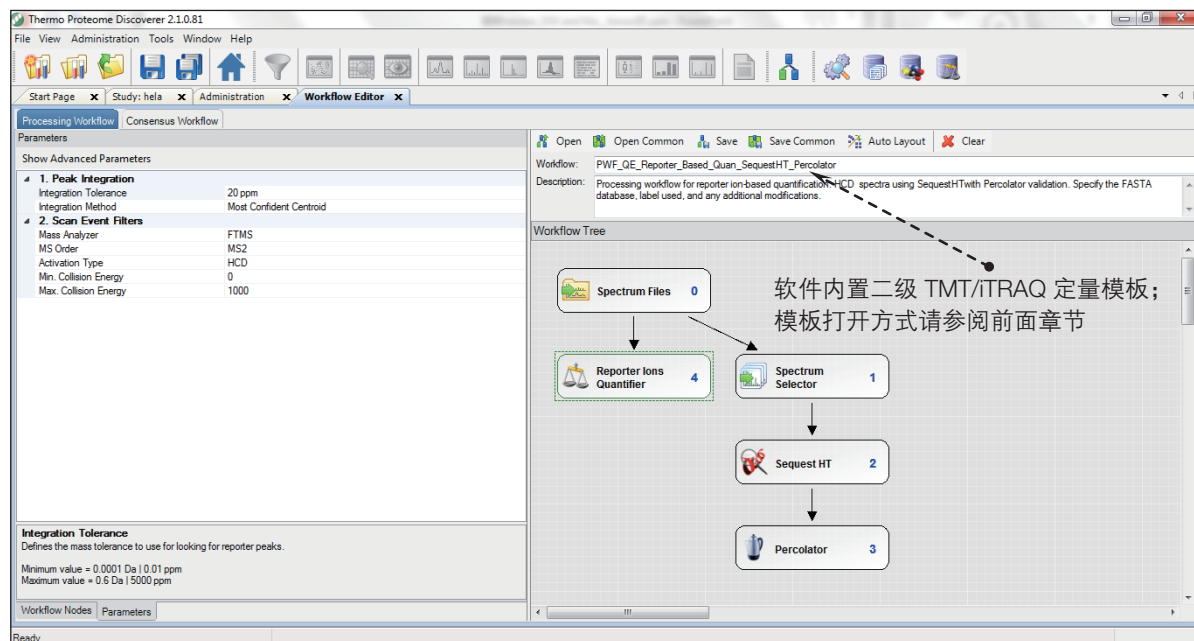
当二级使用 CID 碎裂，离子阱采集数据时，由于碎裂方式和检测器的变化，要注意 Spectrum Selector-Scan Event Filters 的参数设置有所不同（如上图所示）；各参数的详细含义请参阅前面章节。



二级使用 CID/HCD 碎裂并以离子阱采集数据时，“Tolerance”和“Spectrum Matching”按照图中参数设置即可。由于离子阱为低分辨质量检测器，通常建议二级离子的质量精度在 0.6~0.8 Da 之间为宜。

备注：Proteome Discoverer 软件还可以对多种不同碎裂方式、不同实验采集方法的数据进行搜库，具体参数可参考相应的模板以及软件说明书。

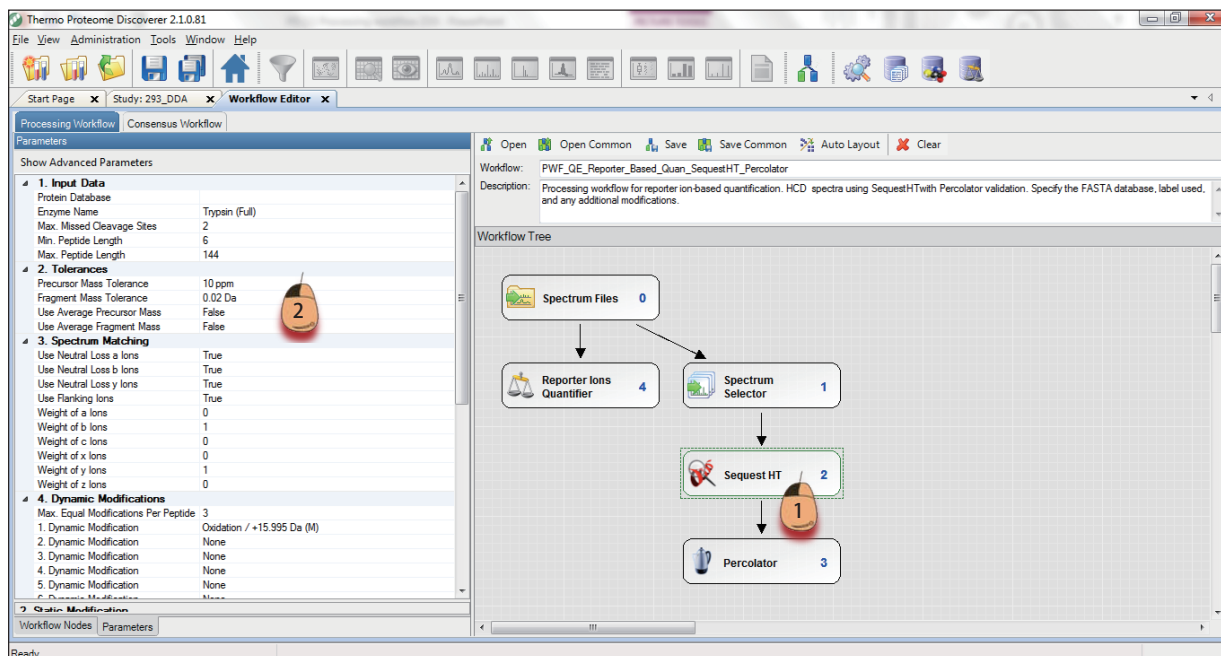
二级 TMT/iTRAQ 定量



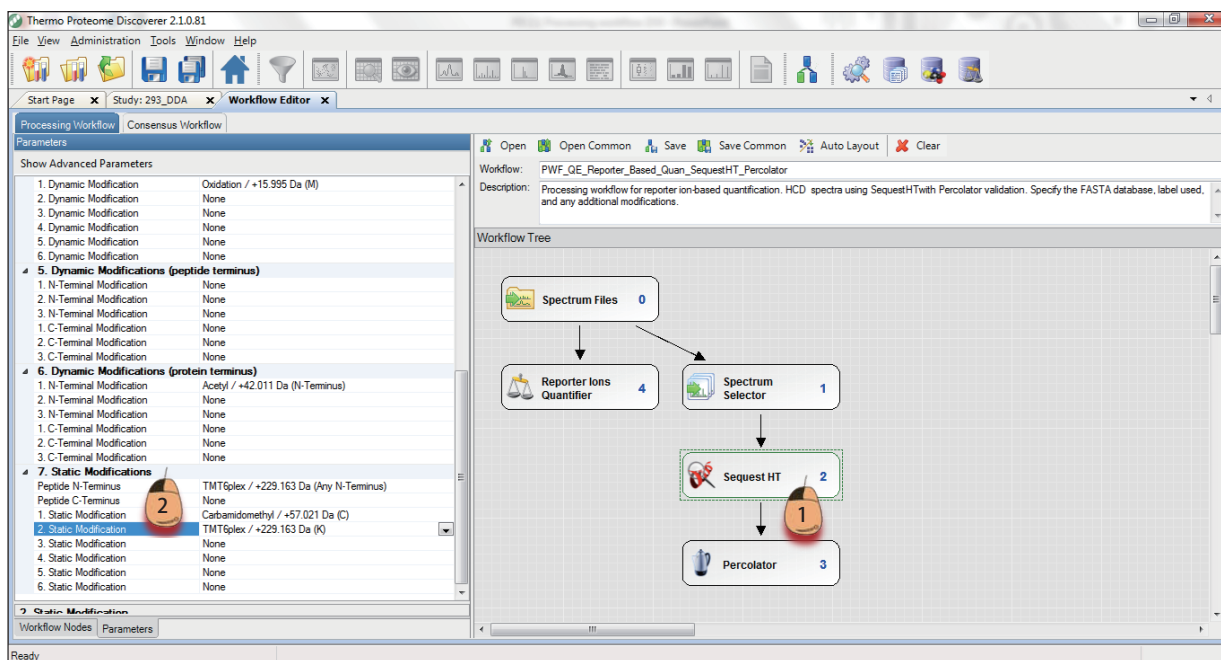
对于 Q Exactive/LTQ Orbitrap/Fusion 系列仪器，当使用二级 TMT/iTRAQ 定量时，请选择上图所示的内置模板。

Reporter Ions Quantifier 模块

- 1、Peak Integration：确定从原始谱图中提取报告离子谱峰时的允许质量偏差和提峰方法，通常使用默认的 20 ppm 和“Most Confident Centroid”即可。
- 2、Scan Event Filters：指定采集定量谱图时所用的质量检测器、谱图级数和碎裂方法。对于二级 TMT/iTRAQ 定量，设置为 Orbitrap 质量检测器、MS₂ 谱图、HCD 碎裂和碎裂能量从 0~1000 即可。



基于二级报告离子进行 TMT/iTRAQ 定量时，都会使用 HCD 碎裂，Orbitrap 采集二级谱图，所以需要按照上图所示进行 SequestHT-Tolerance 的参数设置。



当对肽段进行 TMT/iTRAQ 标记后，理论上所有肽段的氨基（包括 N 末端和 K 侧链上的氨基）均会被标记，所以可以将 TMT/iTRAQ 标签设置为固定修饰。上图中以 TMT 6 plex 为例，展示了如何将 TMT/iTRAQ 标签设置为肽段 N 末端和 K 侧链固定修饰的步骤。

*：由于 iTRAQ 标记过程中会有副反应发生，建议在进行 iTRAQ 标记的搜库时，将其设置为 K, Y 侧链上的固定修饰。

Workflow: PWF_Fusion_Reporter_Based_Quan_SPS_MS3_SequestHT_Percolator

Description: Processing workflow for SPS MS3 reporter ion-based quantification. Identification based on CID spectra using SequestHT with Percolator validation. Specify the FASTA database, label used, and any additional modifications.

Workflow Tree:

- Spectrum Files (0)
- Reporter Ions Quantifier (1)
- Spectrum Selector (1)
- Sequest HT (2)
- Percolator (3)

Parameters:

- 1. Peak Integration: Integration Tolerance: 20 ppm, Integration Method: Most Confident Centroid
- 2. Scan Event Filters: Mass Analyzer: FTMS, MS Order: MS3, Activation Type: HCD, Min. Collision Energy: 0, Max. Collision Energy: 1000

Integration Tolerance: Workflow Nodes Parameters

Ready

内置 Fusion 系列仪器 SPS 三级 TMT 定量模板，可直接调用。

参数设置

- 1、Peak Integration: 确定从原始谱图中提取报告离子谱峰时的允许质量偏差和提峰方法，通常使用默认的 20 ppm 和“Most Confident Centroid”即可。
- 2、Scan Event Filters: 指定采集定量谱图时所用的质量检测器、谱图级数和碎裂方法。对于三级 SPS TMT 定量，设置为 Orbitrap 质量检测器、MS₃ 谱图、HCD 碎裂和碎裂能量从 0~1000 即可。

Workflow: PWF_Fusion_Reporter_Based_Quan_SPS_MS3_SequestHT_Percolator

Description: Processing workflow for SPS MS3 reporter ion-based quantification. Identification based on CID spectra using SequestHT with Percolator validation. Specify the FASTA database, label used, and any additional modifications.

Workflow Tree:

- Spectrum Files (0)
- Reporter Ions Quantifier (4)
- Spectrum Selector (1)
- Sequest HT (2)
- Percolator (3)

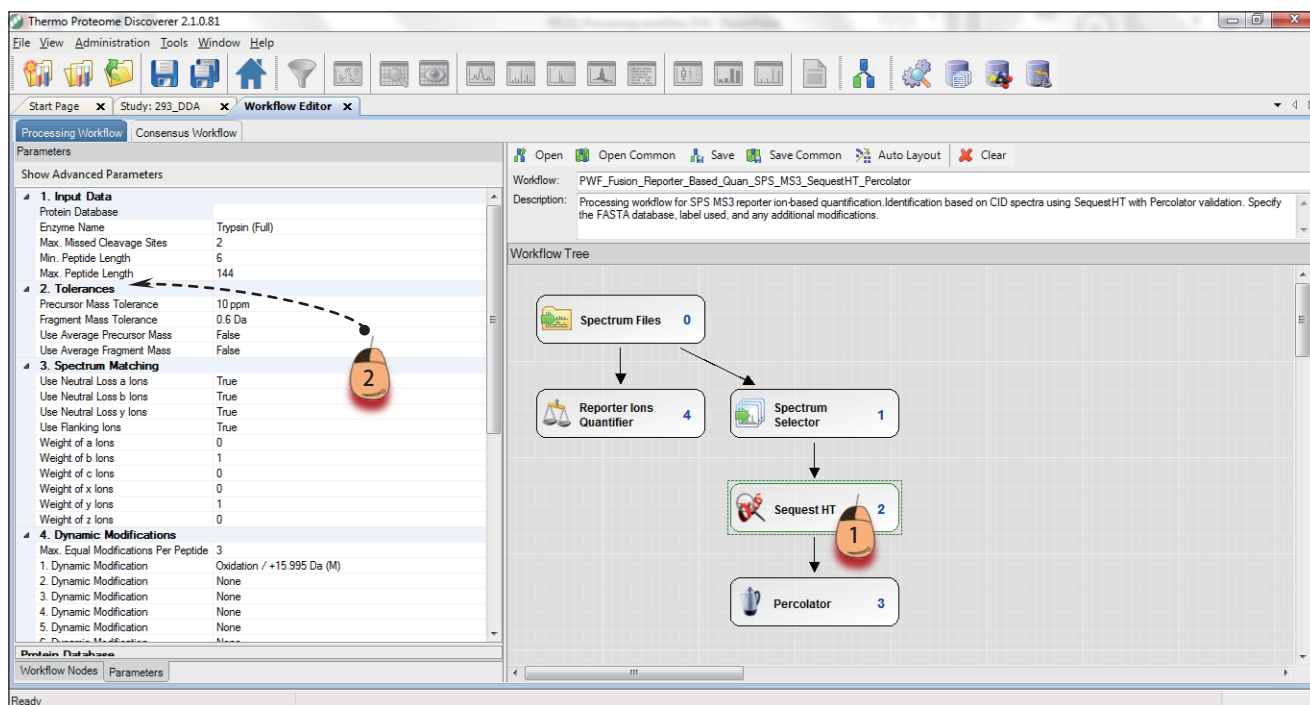
Parameters:

- 1. General Settings: Precursor Selection: Use MS1 Precursor
- 2. Spectrum Properties Filter: Lower RT Limit: 0, Upper RT Limit: 0, First Scan: 0, Last Scan: 0, Ignore Specified Scans: 0, Lowest Charge State: 0, Highest Charge State: 0, Min. Precursor Mass: 350 Da, Max. Precursor Mass: 5000 Da, Total Intensity Threshold: 0, Minimum Peak Count: 1
- 3. Scan Event Filters: Mass Analyzer: (Not specified), MS Order: Is MS2, Activation Type: (Not specified), Min. Collision Energy: 0, Max. Collision Energy: 1000, Scan Type: Is Full, Polarity Mode: (Not specified)
- 4. Peak Filters: S/N Threshold (FT-only): 1.5
- 5. Replacements for Unrecognized Properties: Unrecognized Charge Replacements: Automatic, Unrecognized Mass Analyzer Replace: ITMS, Unrecognized MS Order Replacement: MS2, Unrecognized Activation Type Replace: CID

Discoverer Calibration: Workflow Nodes Parameters

Ready

当进行三级 SPS TMT 定量时，Spectrum Selector-Scan Event Filters 参数请按照上图红色方框中设置即可。



Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: 293_DDA x Workflow Editor x

Processing Workflow Consensus Workflow

Parameters

Show Advanced Parameters

1. Input Data

Protein Database

Enzyme Name Trypsin (Full)

Max. Missed Cleavage Sites 2

Min. Peptide Length 6

Max. Peptide Length 144

2. Tolerances

Precursor Mass Tolerance 10 ppm

Fragment Mass Tolerance 0.6 Da

Use Average Precursor Mass False

Use Average Fragment Mass False

3. Spectrum Matching

Use Neutral Loss a Ions True

Use Neutral Loss b Ions True

Use Neutral Loss y Ions True

Use Flanking Ions True

Weight of a Ions 0

Weight of b Ions 1

Weight of c Ions 0

Weight of x Ions 0

Weight of y Ions 1

Weight of z Ions 0

4. Dynamic Modifications

Max. Equal Modifications Per Peptide 3

1. Dynamic Modification Oxidation / +15.995 Da (M)

2. Dynamic Modification None

3. Dynamic Modification None

4. Dynamic Modification None

5. Dynamic Modification None

6. Dynamic Modification None

Protein Database

Workflow Nodes Parameters

Ready

Workflow: PWF_Fusion_Reporter_Based_Quan_SPS_MS3_SequestHT_Percolator

Description: Processing workflow for SPS MS3 reporter ion-based quantification. Identification based on CID spectra using SequestHT with Percolator validation. Specify the FASTA database, label used, and any additional modifications.

Workflow Tree

Spectrum Files 0

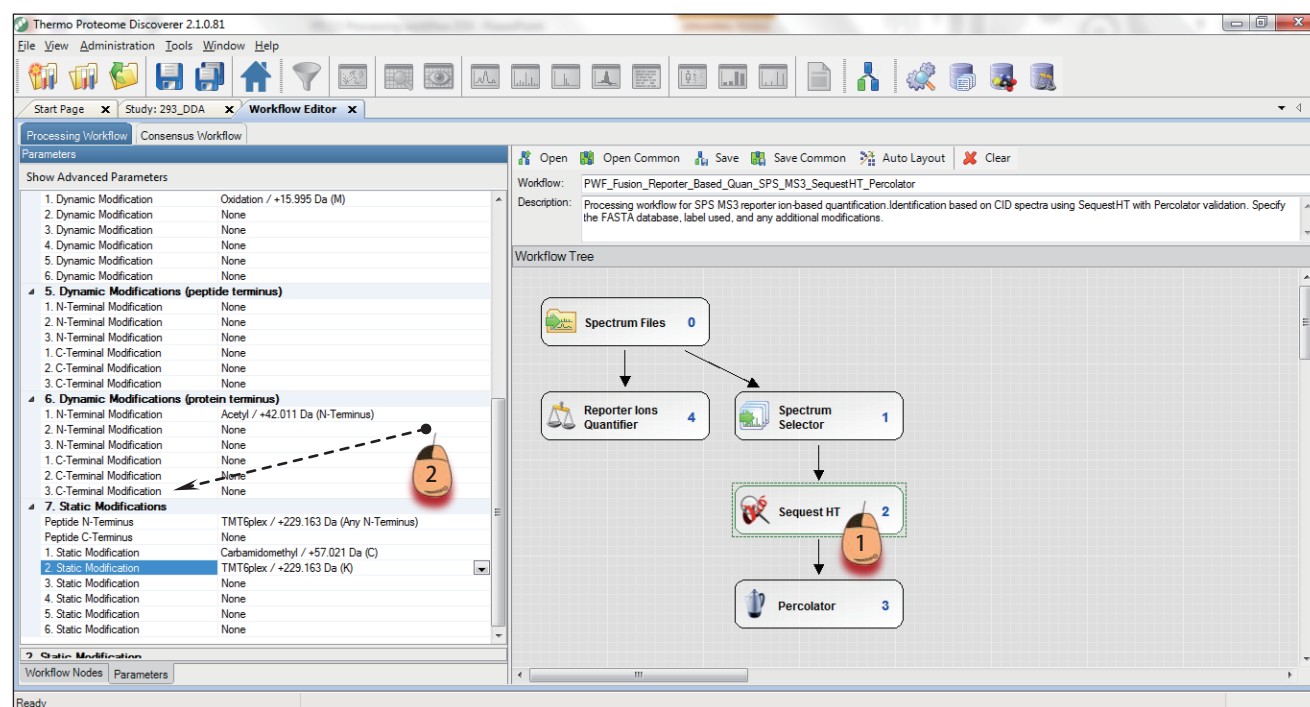
Reporter Ions Quantifier 4

Spectrum Selector 1

Sequest HT 2

Percolator 3

当使用三级 SPS TMT 定量时，Sequest HT 模块将离子阱采集的二级数据用于定性搜索，故 Sequest HT-Tolerances-Fragment 要设置为离子阱采集数据的质量精度范围，通常在 0.6~0.8 Da 即可。



Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: 293_DDA x Workflow Editor x

Processing Workflow Consensus Workflow

Parameters

Show Advanced Parameters

1. Dynamic Modification Oxidation / +15.995 Da (M)

2. Dynamic Modification None

3. Dynamic Modification None

4. Dynamic Modification None

5. Dynamic Modification None

6. Dynamic Modification None

5. Dynamic Modifications (peptide terminus)

1. N-Terminal Modification None

2. N-Terminal Modification None

3. N-Terminal Modification None

1. C-Terminal Modification None

2. C-Terminal Modification None

3. C-Terminal Modification None

6. Dynamic Modifications (protein terminus)

1. N-Terminal Modification Acetyl / +42.011 Da (N-Terminus)

2. N-Terminal Modification None

3. N-Terminal Modification None

1. C-Terminal Modification None

2. C-Terminal Modification None

3. C-Terminal Modification None

7. Static Modifications

Peptide N-Terminus TMT6plex / +229.163 Da (Any N-Terminus)

Peptide C-Terminus None

1. Static Modification Carbamidomethyl / +57.021 Da (C)

2. Static Modification TMT6plex / +229.163 Da (K)

3. Static Modification None

4. Static Modification None

5. Static Modification None

6. Static Modification None

Static Modification

Workflow Nodes Parameters

Ready

Workflow: PWF_Fusion_Reporter_Based_Quan_SPS_MS3_SequestHT_Percolator

Description: Processing workflow for SPS MS3 reporter ion-based quantification. Identification based on CID spectra using SequestHT with Percolator validation. Specify the FASTA database, label used, and any additional modifications.

Workflow Tree

Spectrum Files 0

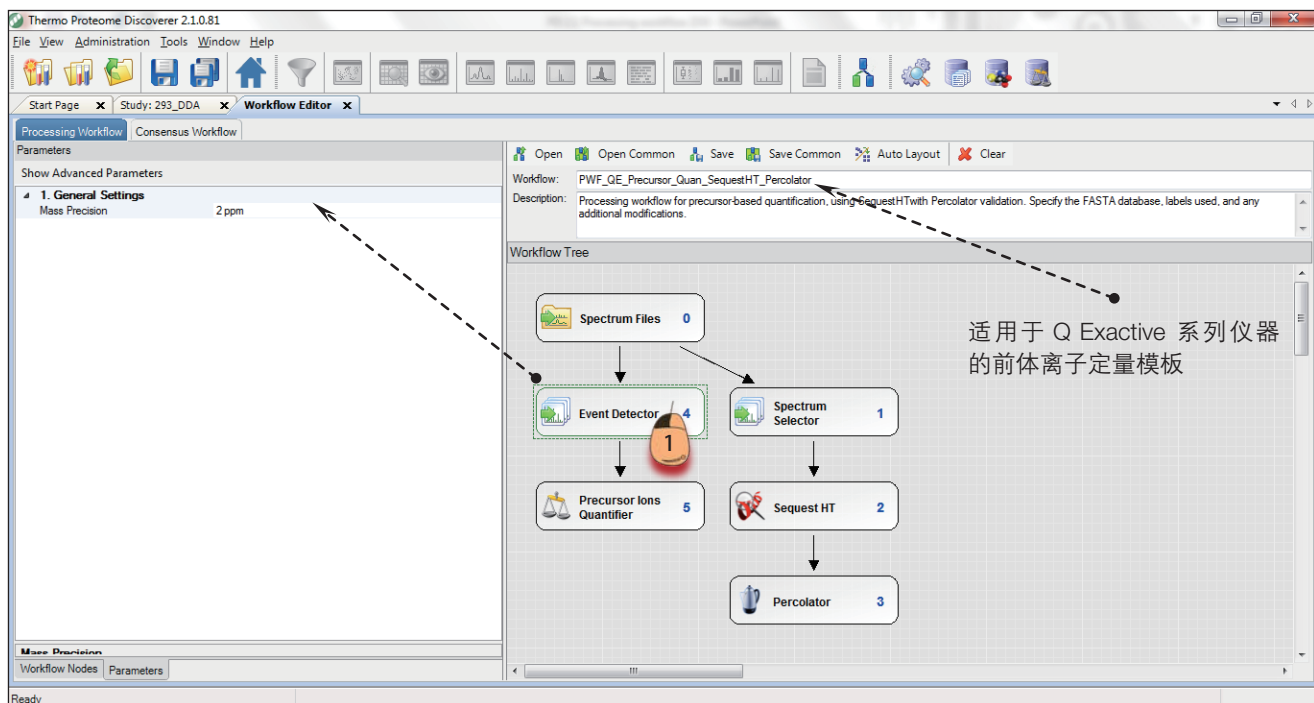
Reporter Ions Quantifier 4

Spectrum Selector 1

Sequest HT 2

Percolator 3

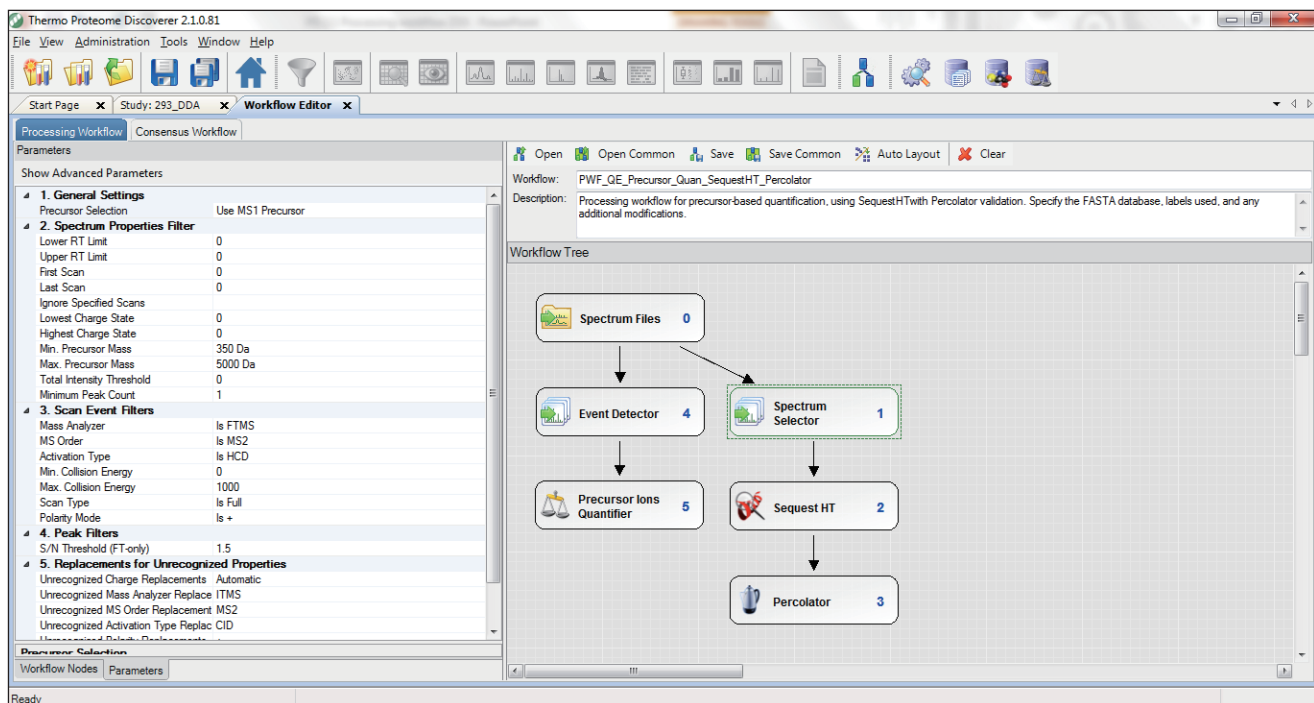
当使用三级 SPS TMT 定量时，Sequest HT 模块将离子阱采集的二级数据用于定性搜索，此时需要将 TMT 标签设置为肽段 N 末端和赖氨酸侧链上的固定修饰。



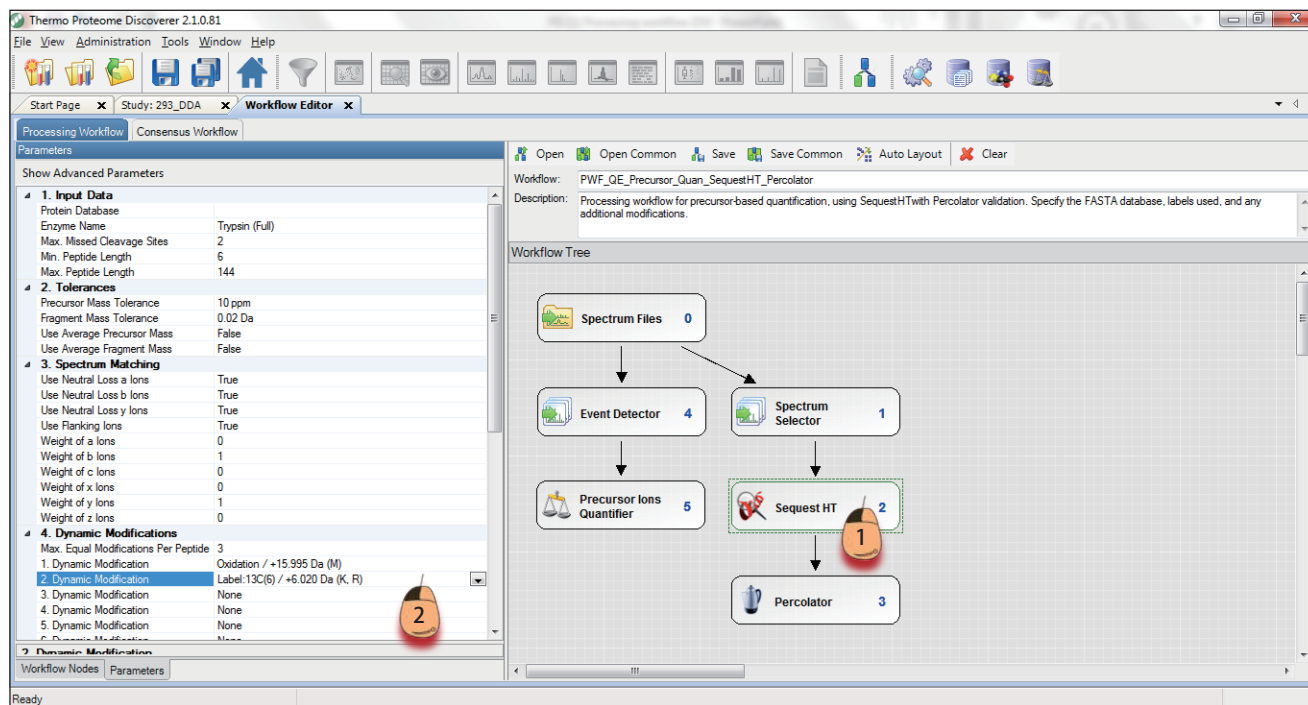
参数设置

当在 Q Exactive 系列仪器上进行基于前体离子峰面积定量实验（如 SILAC、 ^{18}O 标记等）时，请调用此内置模板；LTQ-Orbitrap 和 Fusion 系列仪器二级使用 HCD 碎裂并以 Orbitrap 采集数据时，同样也可以使用此模板。

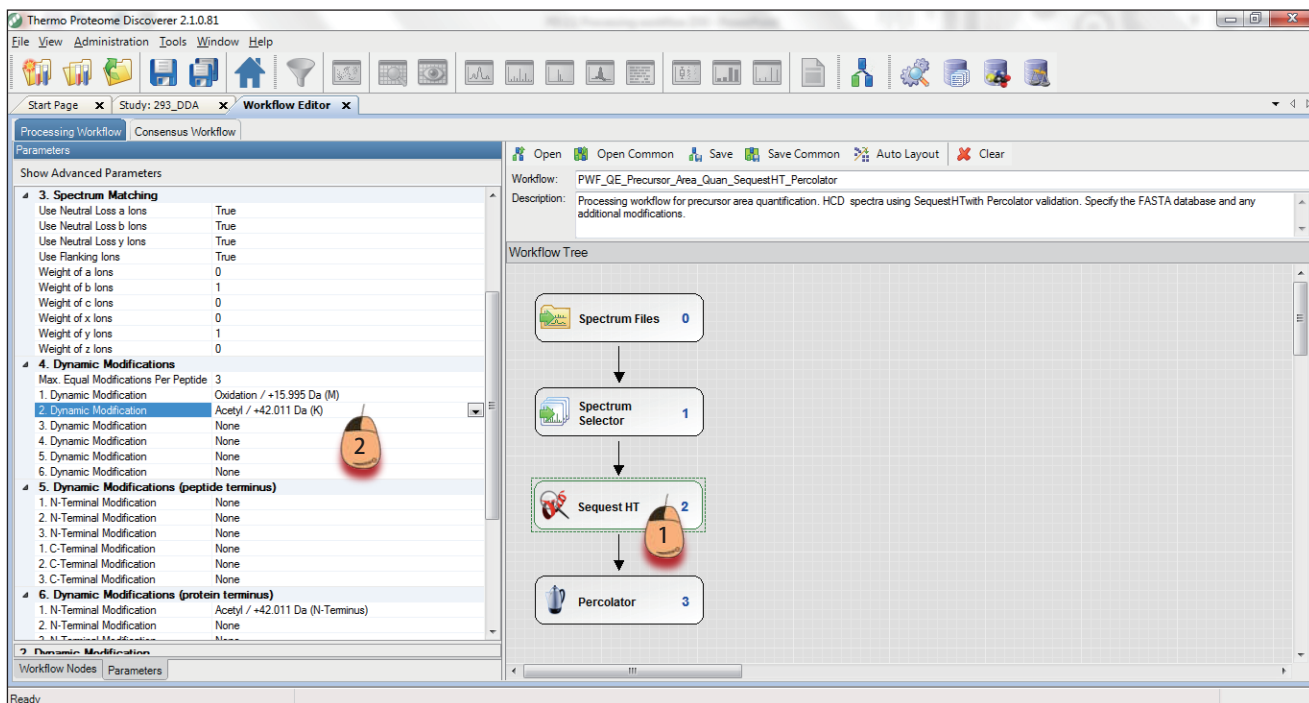
该模板中的 Event Detector 模块的作用为当从原始谱图中提取前体离子的色谱质谱流出峰时，要确保连续谱图内检测到的前体离子的精确质量的标准偏差在设定容忍范围内，通常保持默认的 2 ppm 即可。



Spectrum Selector 相关的参数设置请参照 Q Exactive 系列仪器定性实验参数。

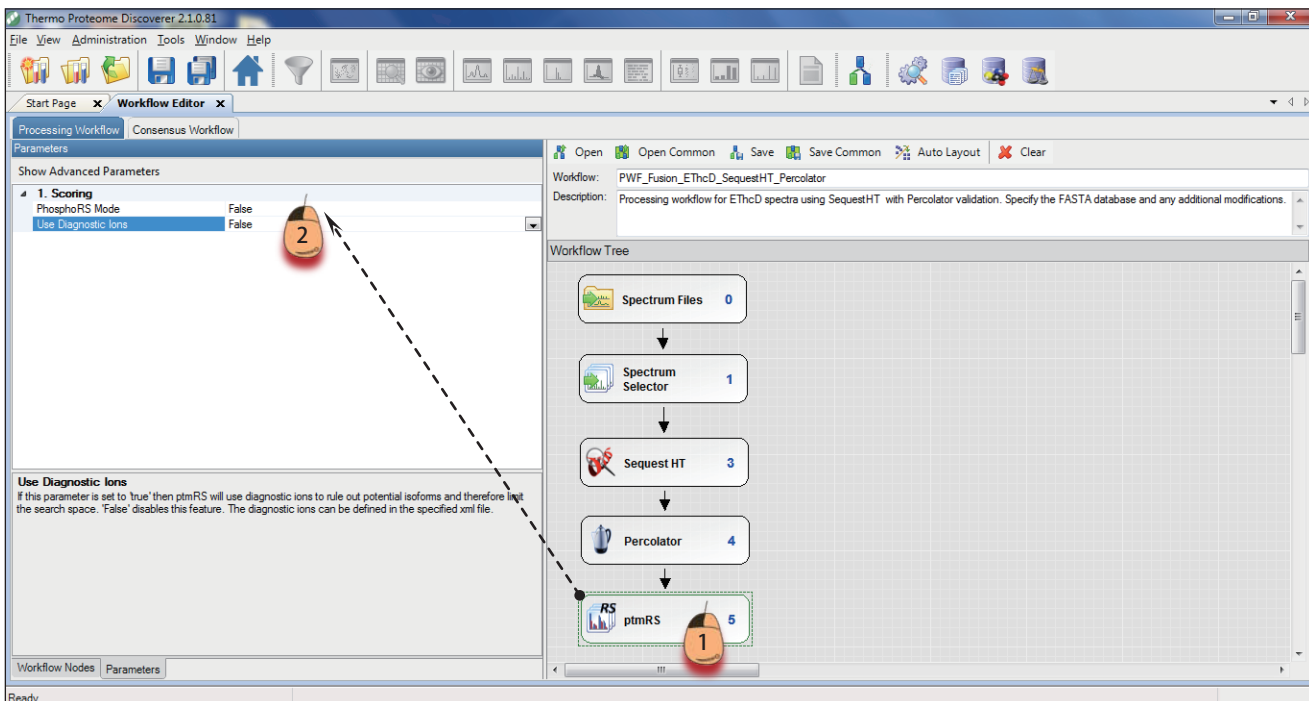


当进行基于前体离子峰面积定量（如 SILAC、 ^{18}O 标记等）的实验时，会使用稳定同位素标记的氨基酸替代天然同位素组成的氨基酸，所以在 Sequest HT 模块中要将该标记设置为可变修饰。以 SILAC 实验为例，上图中以 K6R6（标记组中的 K，R 两种氨基酸分别比天然同位素组成的氨基酸质量增加了 6 Da）为例展示了如何设置该修饰。

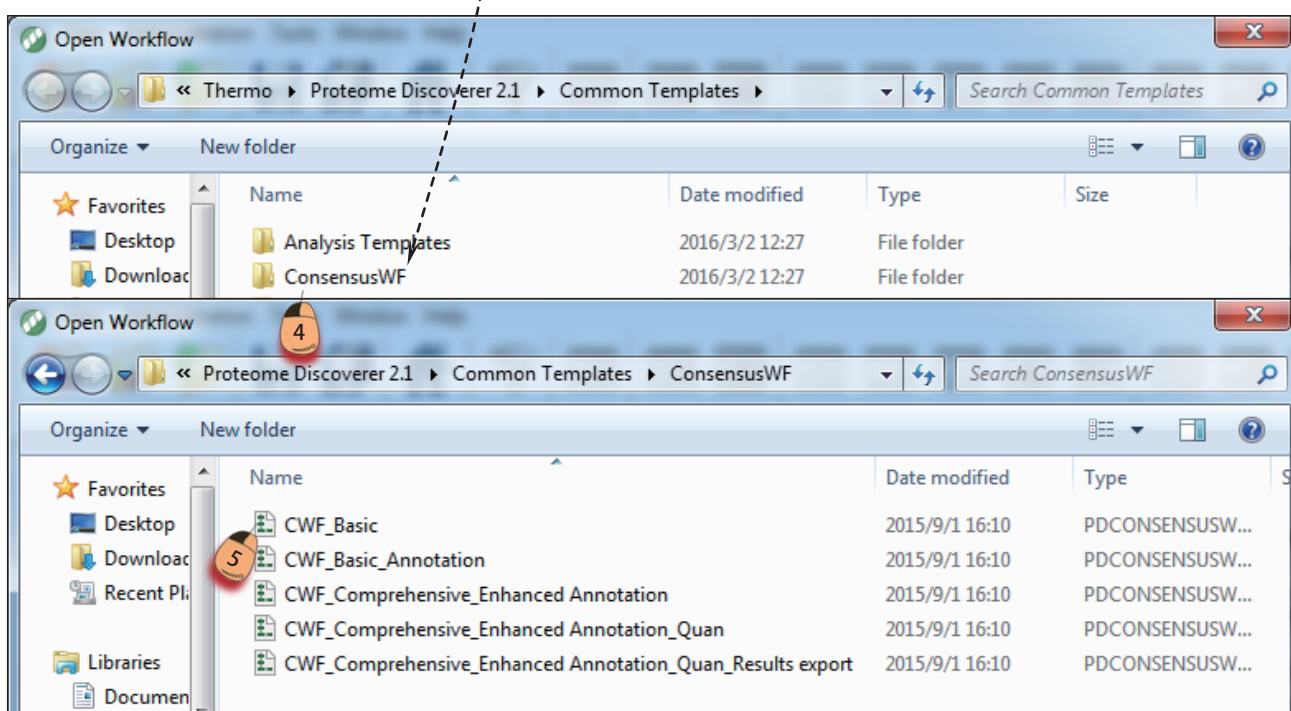
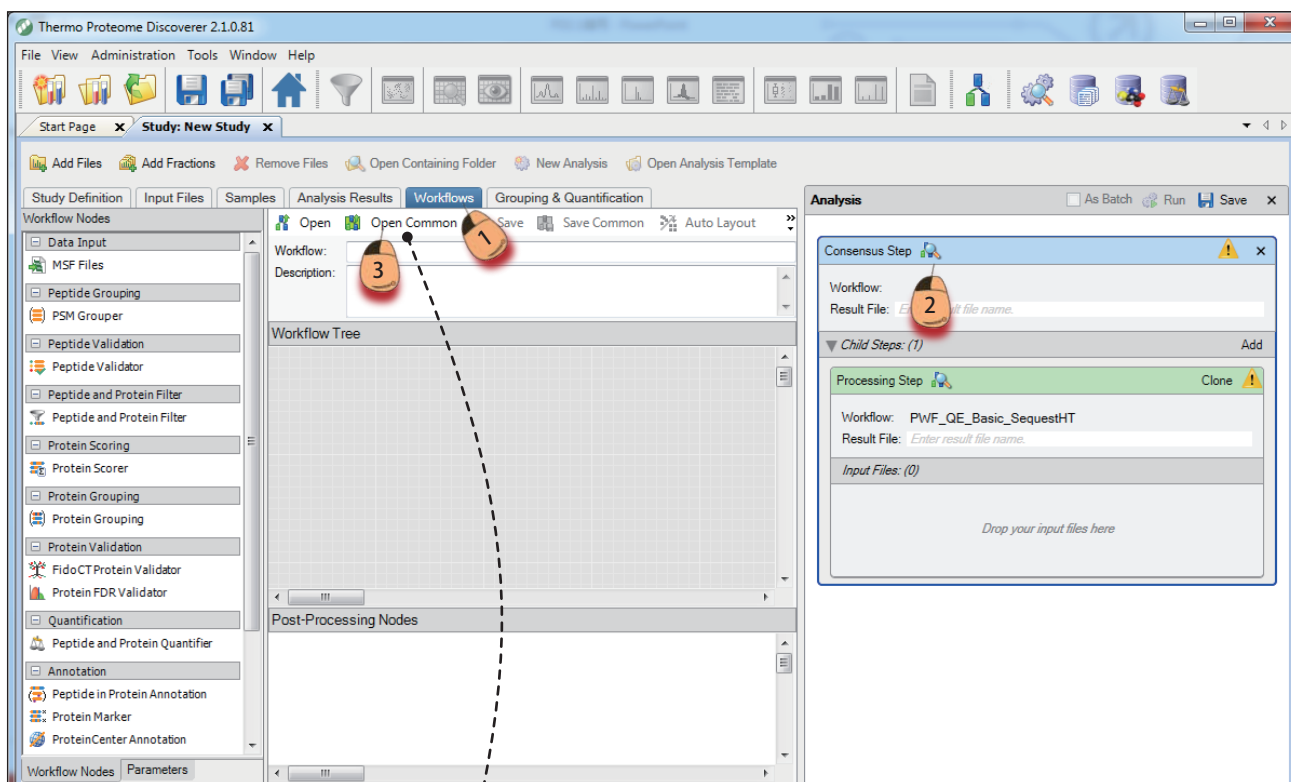


进行翻译后修饰鉴定时，一级、二级离子质量精度等参数请根据所使用的质量分析器设置，碎裂方式也请根据具体实验进行设置，具体参数值请参考相关定性实验设置；根据需要鉴定的翻译后修饰发生的位置（氨基酸侧链、肽段/蛋白末端）分别将其设置到特定的可变修饰（Dynamic Modification）中。

上图以赖氨酸侧链上发生的乙酰化为例，展示了如何进行翻译后修饰的设置。



如需使用 PTMRS 模块对翻译后修饰位点可能性打分，请参考上图的流程。该模块中“PhosphoRS Mode”若设置为 True，意味着仅对磷酸化位点可能性进行打分；如果设置为 False，则会对所有可变修饰位点都进行打分。如果有该修饰特有的诊断离子，可以将“Use Diagnostic Ions”设置为 True，并添加这些诊断离子。如果没有 PTMRS 模块，需安装应用程序“Thermo Proteome Discoverer ThirdParty Components”，该程序可以从 <https://portal.thermo-brims.com/> 上下载。



Consensus workflow 可从 PD 默认模板中选择，根据需要再进行修改，打开步骤按照“鼠标”提示进行；第 1 步：在打开的 study 中点击 workflow；第 2 步：点击右侧 Consensus step 中的放大镜；第 3 步：点击 open common 即可打开 PD 中已存储的默认模板；第 4 步：点击 Consensus WF；第 5 步：选取所需的 Consensus 模板，CWF_Basic 模板最常用，同时可在 CWF_Basic 基础上进行修改。

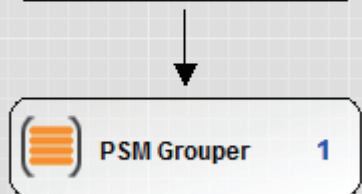
CWF_Basic 模板中各模块意义说明

26

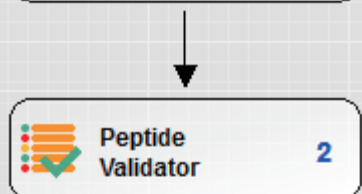
Workflow Tree



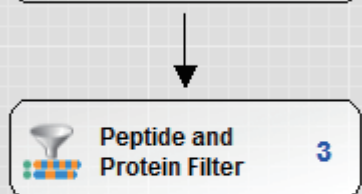
- MSF Files: 数据导入模块, 自动将原始数据 processing 后产生的 “Thermo Mass Spec Format” 文件导入



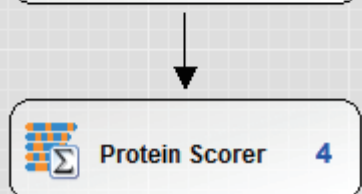
- PSM Grouper: PSM 组装模块, 将具有相同肽段序列 (包括不同修饰) 的 PSM 组装到一起



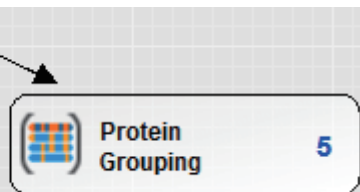
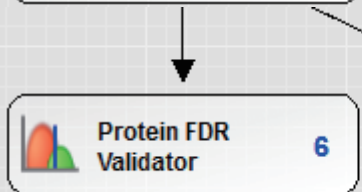
- Peptide Validator: 利用 PEPs、q-value 和 FDR 算法来验证肽段可信度



- Peptide and Protein Filter: 根据不同分数阈值过滤肽段和蛋白

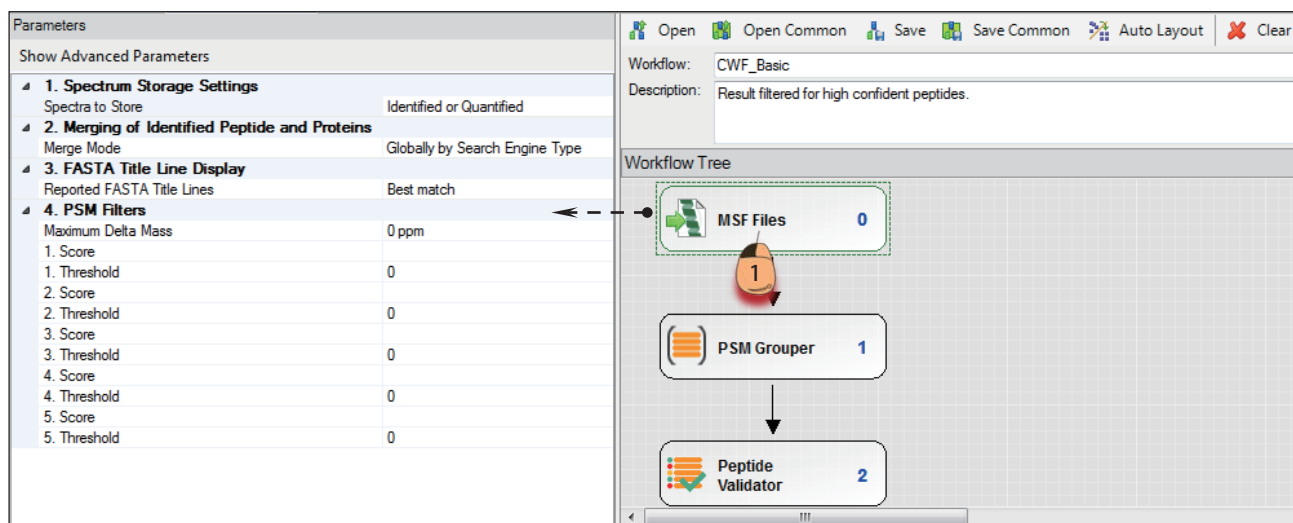


- Protein scorer: 根据过滤后的 PSM 及肽段计算蛋白分数



- Protein Grouping: 对鉴定到的所有蛋白进行分组, 生成最后结果中的 Protein Group
- Protein FDR Validator: 根据 decoy protein 的鉴定结果计算蛋白的假阳性率

每个模块详细参数设置见下页



Parameters

Show Advanced Parameters

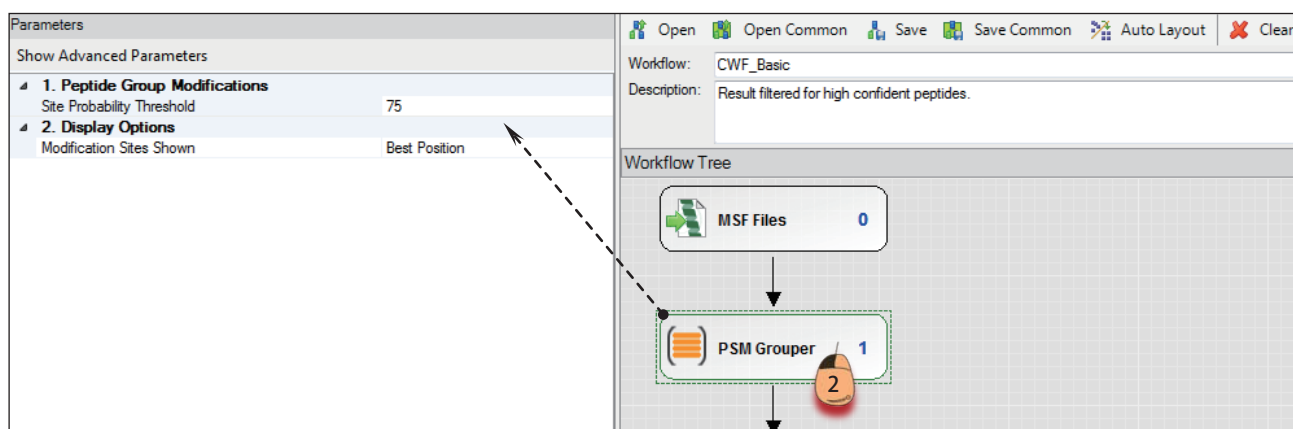
- 1. **Spectrum Storage Settings**
 - Spectra to Store: Identified or Quantified
- 2. **Merging of Identified Peptide and Proteins**
 - Merge Mode: Globally by Search Engine Type
- 3. **FASTA Title Line Display**
 - Reported FASTA Title Lines: Best match
- 4. **PSM Filters**
 - Maximum Delta Mass: 0 ppm
 - 1. Score: 0
 - 1. Threshold: 0
 - 2. Score: 0
 - 2. Threshold: 0
 - 3. Score: 0
 - 3. Threshold: 0
 - 4. Score: 0
 - 4. Threshold: 0
 - 5. Score: 0
 - 5. Threshold: 0

Workflow Tree

- MSF Files 0
- PSM Grouper 1
- Peptide Validator 2

参数设置

1. 谱图保留设置：选择将要在 .pdResult 文件中保留的谱图，默认设置即可（只保留有鉴定或定量信息的谱图）
2. 鉴定结果的合并：根据搜索引擎进行结果合并（当用到多种搜索引擎时，此项起作用），当用 spectral counts 定量时选不合并，每个文件鉴定到的 PSMs 分别列出。
3. 鉴定到的蛋白以 FASTA 中的命名呈现：默认为呈现蛋白在 FASTA 中匹配最好的名称。
4. PSM 过滤：由于 Percolator 已经对 PSM 进行了过滤，所以此处建议不再进行 PSM 的过滤（默认为 0，代表不进行过滤）。



Parameters

Show Advanced Parameters

- 1. **Peptide Group Modifications**
 - Site Probability Threshold: 75
- 2. **Display Options**
 - Modification Sites Shown: Best Position

Workflow Tree

- MSF Files 0
- PSM Grouper 1
- Peptide Validator 2

参数设置

1. 修饰肽段组装：对于修饰的肽段，其修饰位点的得分值大于 75 可信度较高，将其保留并组装成相应的修饰肽段。（分值范围：0-100）。
2. 修饰位点的呈现：默认为在结果中呈现可信度最高的修饰位点。

The screenshot shows the Proteome Discoverer interface. On the left, the 'Parameters' panel is expanded to 'Show Advanced Parameters'. It contains two sections: '1. General Validation Settings' and '2. Specific Validator Settings'. The 'Validation Mode' is set to 'Automatic'. The 'Target FDR (Strict) for PSMs' is 0.01, 'Target FDR (Relaxed) for PSMs' is 0.05, 'Target FDR (Strict) for Peptides' is 0.01, and 'Target FDR (Relaxed) for Peptides' is 0.05. In the 'Specific Validator Settings' section, 'Use Concatenated FDR Calculation for PSM Level FDR Calculation Based on Score' is 'False' and 'Reset Confidences for Nodes without Decoy Search (Fixed score thresholds)' is 'False'. On the right, the 'Workflow Tree' shows a process flow starting with 'PSM Grouper 1' followed by 'Peptide Validator 2'. A dashed arrow points from the 'Reset Confidences...' parameter to the 'Peptide Validator' node. The workflow is named 'CWF_Basic' with the description 'Result filtered for high confident peptides'.

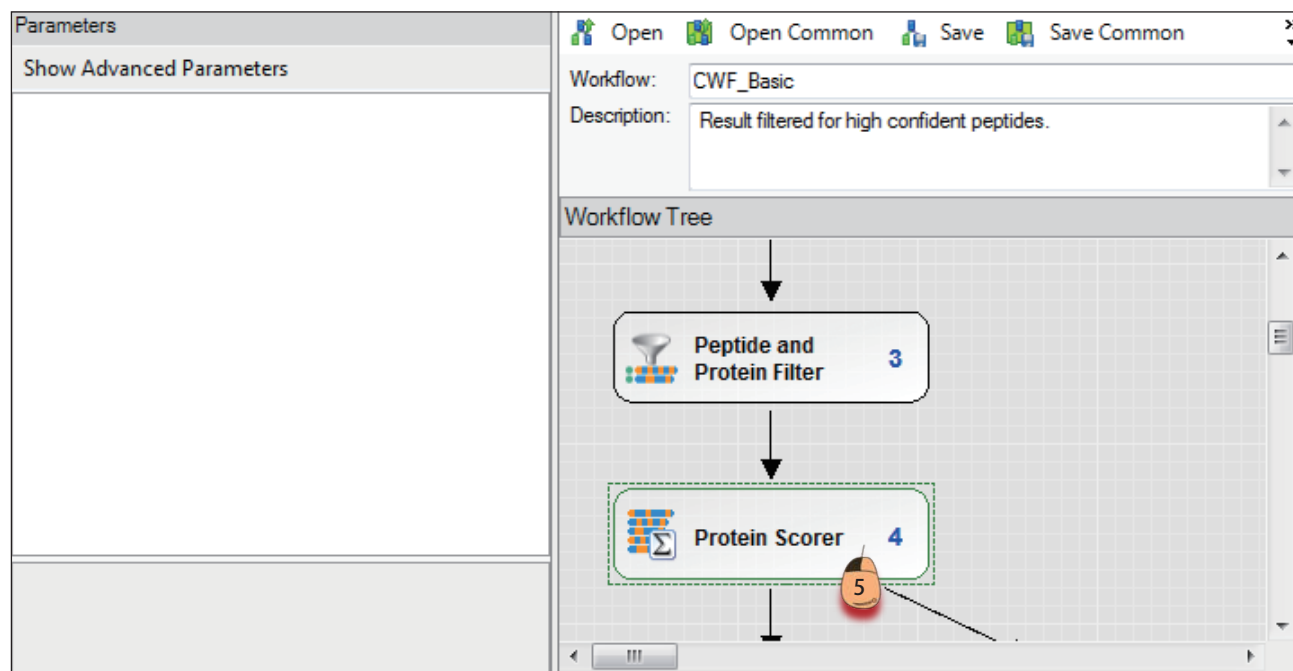
参数设置

- 肽段验证: 其中包含四种验证模式, 默认为 Automatic(控制肽段水平的错误率), 首先根据 Percolator 产生的 PEPs、q-value 和 FDR 设定的阈值将 PSM 的可信度归属为 High、Medium, 进而将肽段的可信度归属为 High、Medium;
- 具体验证设置: a) 默认设置为 False: PSM 的 FDR 计算是将 target 和 decoy 分开进行计算; b) 默认设置为 False: 对于没有进行 decoy 搜索的数据, 按照分数进行卡值。

The screenshot shows the Proteome Discoverer interface. On the left, the 'Parameters' panel is expanded to 'Hide Advanced Parameters'. It contains two sections: '1. Peptide Filters' and '2. Protein Filters'. In '1. Peptide Filters', 'Peptide Confidence At Least' is 'High', 'Keep Lower Confident PSMs' is 'False', 'Minimum Peptide Length' is '6', and 'Remove Peptides Without Protein Reference' is 'False'. In '2. Protein Filters', 'Minimum Number of Peptide Sequences' is '1', 'Count Only Rank 1 Peptides' is 'False', and 'Count Peptides Only for Top Scored Protein' is 'False'. On the right, the 'Workflow Tree' shows a process flow starting with 'Peptide Validator 2' followed by 'Peptide and Protein Filter 3'. A dashed arrow points from the 'Count Peptides Only for Top Scored Protein' parameter to the 'Peptide and Protein Filter' node. The workflow is named 'CWF_Basic' with the description 'Result filtered for high confident peptides'.

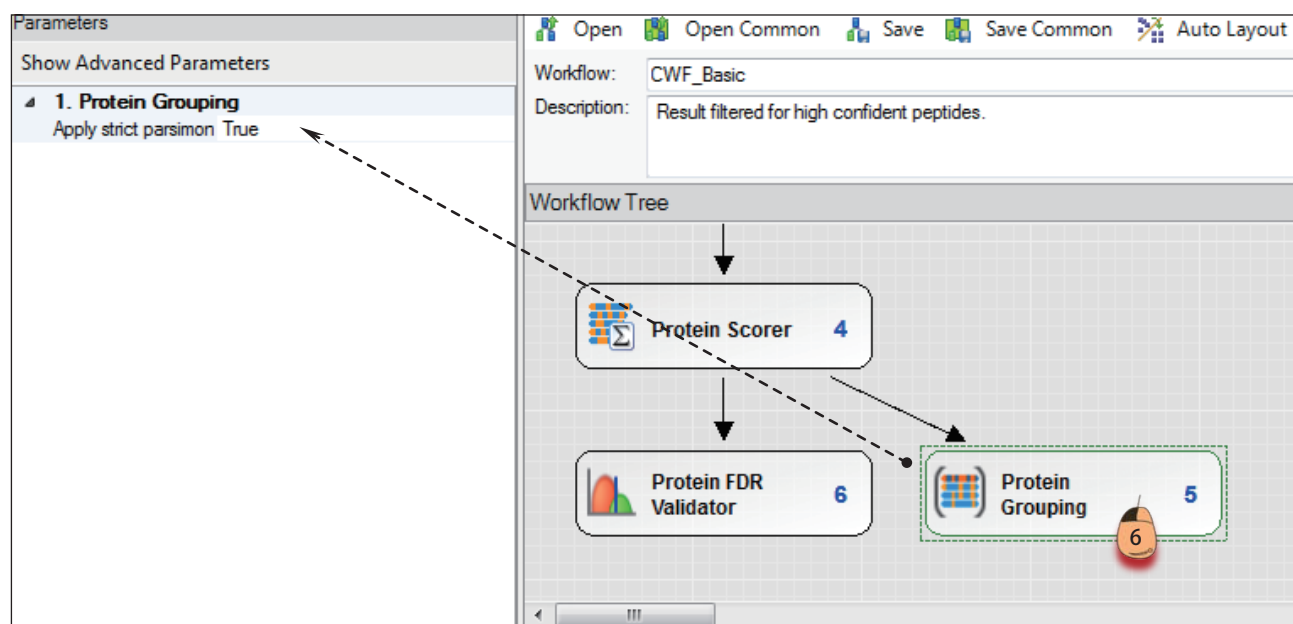
参数设置

- 肽段过滤: a) 根据肽段可信度过滤, 默认为 high; b) 比 a 中肽段可信度低的 PSM 是否保留, 默认为 False 不保留, 只保留与肽段可信度相同或更高的 PSM; c) 设置允许最小的肽段长度; d) 对没有匹配到蛋白的肽段和 PSM 是否去除, 默认为 False;
- 蛋白过滤: a) 最少的肽段数目, 默认为 1; b) 是否只记录排名为 1 的肽段, 默认为 False; c) 是否只记录归属到得分最高的蛋白对应的肽段, 默认为 False。



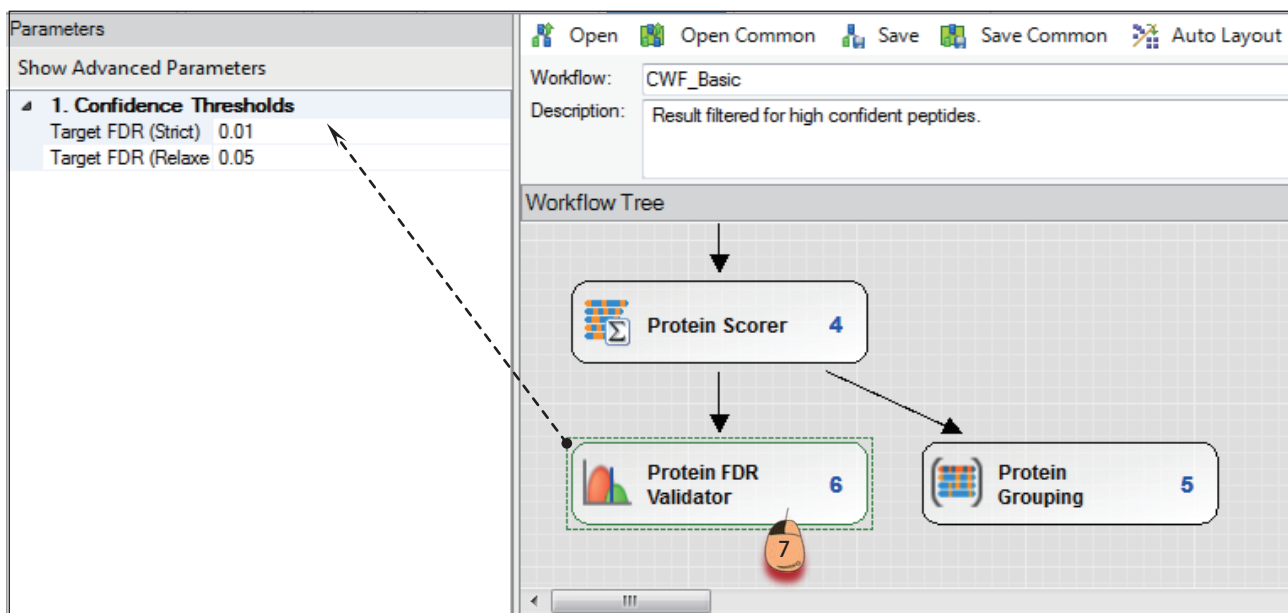
参数设置

此处没有任何需要用户设置的参数



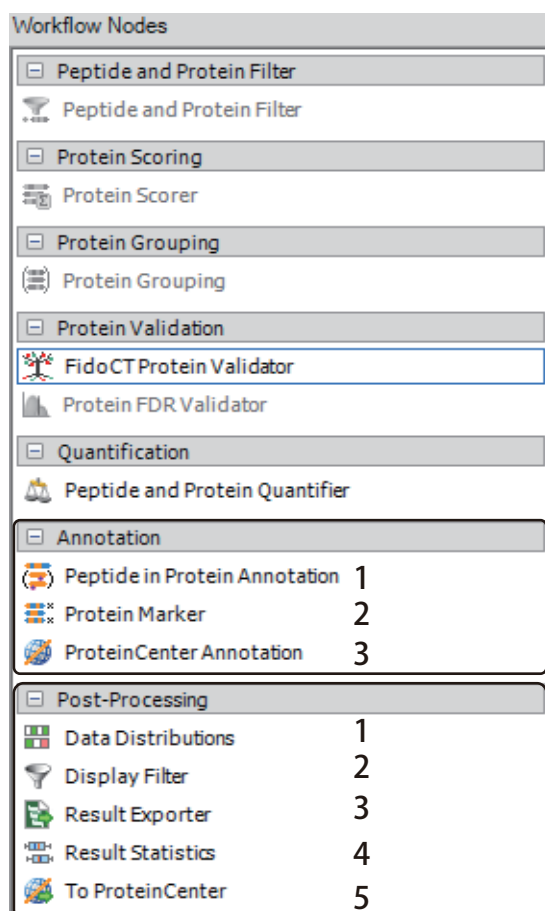
参数设置

蛋白分组：默认为严格的解析原则即可



参数设置

蛋白假阳性率验证：假阳性率 = Number of decoy proteins/Number of target proteins (最终以 q-value 作为评价标准)，FDR (strict) <0.01 时 Protein confidence 为 high；FDR (relaxed) 0.05-0.01 时 Protein confidence 为 medium。备注：在使用此 node 时，前一个 node 需为 Protein scorer；另一个用于蛋白假阳性率验证的模块 FidoCT Protein Validator 比 Protein FDR Validator 更加严格，得到的蛋白数目更少，因此谨慎使用。



可选添加其他 Node：Annotation & Post-Processing

Annotation：

1. 注释肽段在蛋白中的具体位置、肽段前后连接氨基酸残基、蛋白序列中修饰位点及类型的信息。
2. 当添加多个 FASTA 文件时，此 Node 起作用，对来自不同 FASTA 的蛋白进行标注。
3. 对鉴定到的蛋白进行 GO、Pfam 和 Gene ID 注释（一年保修内可免费使用此功能，使用此模块时需要联网）。

Post-Processing：

1. 注释蛋白在不同文件中的分布情况，当对蛋白或肽段进行定量时，可在不同样品中呈现 ratio 或 area 分布，同时表达量的高低会用不同的颜色展示。
2. 设置过滤条件，进行结果展示。使用默认设置时，结果将自动呈现 master protein。
3. 将鉴定结果自动导出 txt 文件。
4. 对结果进行统计学分析。
5. 上传结果到 ProteinCenter。

Parameters

Show Advanced Parameters

- 1. Flanking Residues
 - Annotate Flanking Residues: True
- 2. Modifications in Peptide
 - Protein Modifications Report: Only for Master Proteins
- 3. Modifications in Protein
 - Modification Sites Reported: All And Specific
 - Minimum PSM Confidence: High
 - Report Only PTMs: True
 - N-Terminal Modification: None
 - C-Terminal Modification: None
 - Modification: None
 - Modification: None
 - Modification: None
 - Modification: None
- 4. Positions in Protein
 - Protein Positions for Peptide: Only for Master Proteins

Workflow: CWF_Basic

Description: Result filtered for high confident peptides.

Workflow Tree

```

graph TD
    A[Protein FDR Validator 6] --> B[Protein Grouping 5]
    B --> C[Peptide in Protein Annotation 8]
  
```

参数设置

1. 默认为 true，呈现肽段前后连接氨基酸残基。

	Proteins (filtered)	Protein Groups	Peptide Groups	PSMs	M
	Checked	Confidence	Annotated Sequence		
46	<input type="checkbox"/>	●	[K].NVPQVVNVQELK.[N]		
47	<input type="checkbox"/>	●	[K].RPLDDGVGNQLGALVHQR.[T]		
48	<input type="checkbox"/>	●	[-].MMGHRPVLVLSQNTK.[R]		
49	<input type="checkbox"/>	●	[K].NNLCPSGSGNIISNLFK.[E]		
50	<input type="checkbox"/>	●	[R].FSPDGELYASGSEDGTLR.[L]		

2. 对于肽段的修饰，只呈现该肽段在 master protein 中的修饰信息，且 PSM 的 confidence 为 High。

<div>Proteins (filtered) Protein Groups Peptide Groups PSMs MS/MS Spectrum Info Result Statistics</div>						
	Checked	Confidence	Annotated Sequence	Modifications	Modifications in Master Proteins	
46	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[K].NVPQVVNVQELK.[N]			
47	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[K].RPLDDGVGNQLGALVHQR.[T]			
48	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[-].MMGHRPVLVLSQNTK.[R]	1xAcetyl [N-Term]	P49368 1xAcetyl [N-Term]	
49	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[K].NNLCPSGSGNIISNLFK.[E]	1xCarbamidomethyl [C4]		

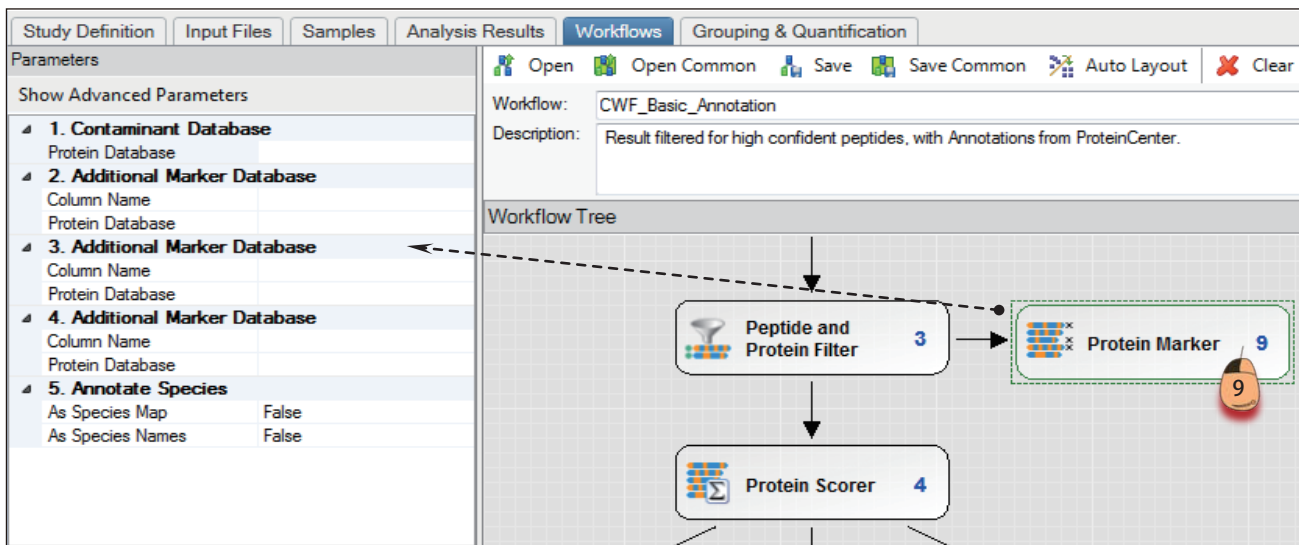
3. 对于蛋白的修饰，呈现该蛋白的所有修饰位点信息。

<div>Proteins (filtered) Protein Groups Peptide Groups PSMs MS/MS Spectrum Info Result Statistics</div>						
	Checked	Confidence	Annotated Sequence	Modifications	Modifications in Master Proteins	
46	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[K].NVPQVVNVQELK.[N]			
47	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[K].RPLDDGVGNQLGALVHQR.[T]			
48	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[-].MMGHRPVLVLSQNTK.[R]	1xAcetyl [N-Term]	P49368 1xAcetyl [N-Term]	
49	<input type="checkbox"/>	<div></div>	[K].NNLCPSGSGNIISNLFK.[E]	1xCarbamidomethyl [C4]		

4. 呈现肽段在蛋白中的具体位置：默认为只呈现肽段在 master protein 中的位置。

Proteins (filtered)														Protein Groups	Peptide Groups	PSMs	MS/MS Spectrum Info	Result Statistics
	Checked	Confidence	Annotated Sequence	Modificati	Modificatio	Quality PEP	Quality q-value ▲	# Protein Groups	# Proteins	# PSMs	Master Protein Accessions	Positions in Master Proteins						
46	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	[K].NVPQVVNVQELK [N]			2.76e-05	0	1	1	1	P35658	P35658 [1118-1129]						
47	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	[K].RPLDDGVGNQLGALVHQR [T]			1.35e-10	0	1	1	1	Q96124	Q96124 [58-75]						
48	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	[L].MMGHRPVLVLSQNTK [R]	1xAcetyl	P49368 1x	2.36e-09	0	1	1	2	P49368	P49368 [1-15]						
49	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	[K].NNLCPSGSIINLFLK [E]	1xCarbamidomethyl		1.62e-07	0	1	1	1	P60033	P60033 [172-187]						
50	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	[R].FSPDGLYASGSEDGTLR [L]			1.97e-09	0	1	1	1	Q9Y3F4	Q9Y3F4 [273-290]						
51	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	[R].QYTSPEEIDAQLQAEK [Q]			5.17e-08	0	1	1	2	Q13442	Q13442 [116-311]						

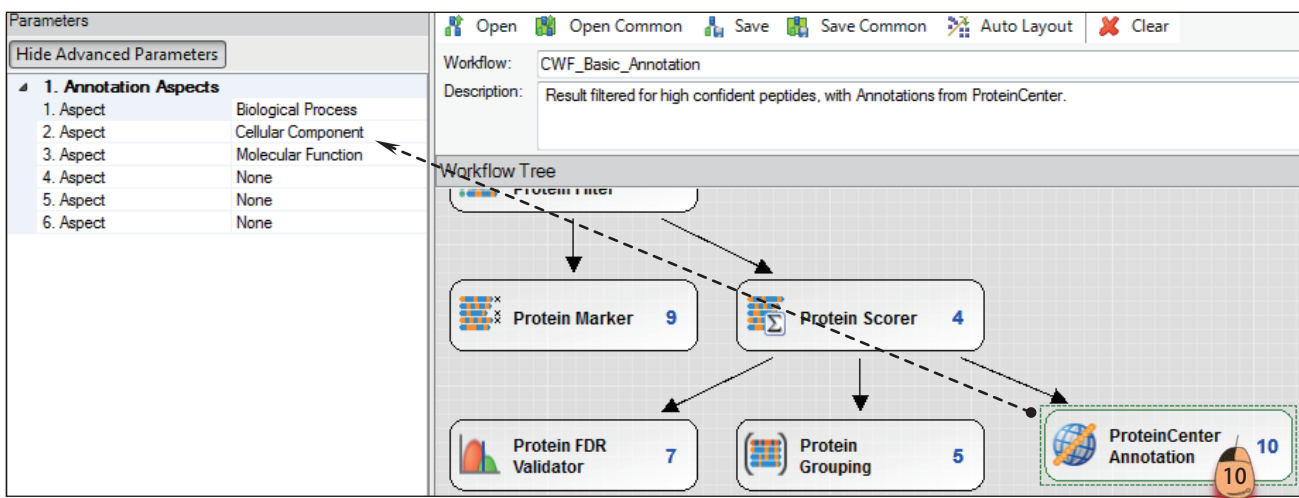
Protein Marker：鉴定和定量蛋白的来源会根据添加的蛋白库进行标注（当添加多个 Fasta 数据库时，必须使用此 node）。



参数设置

1. 将污染蛋白库（包含角蛋白、胰酶等常见污染蛋白）添加到 PD 的 Fasta 数据库中，在此即可选择相应的污染蛋白库，在结果中将展示哪些蛋白是污染蛋白。
2. 2-4：可添加多个蛋白数据库，并且进行相应的命名，结果中将展示蛋白的相应来源。
5. 默认为不展示物种的名称。

Protein Center Annotation：蛋白功能注释（一年保修内可免费使用此功能）



1. 默认为对蛋白参与的生物过程、细胞定位及分子功能进行注释，同时也可以可以在 Protein Center 中下载其他注释功能。

Post-Processing Nodes:

The screenshot displays the Proteome Discoverer interface with the 'Post-Processing Nodes' section highlighted. The 'Parameters' panel on the left shows '1. ID Distributions' with settings for 'Peptides to Use' (Only unique peptides based on), 'Show Found in Files' (False), 'Show Found in Fractions' (False), 'Show Found in Samples' (True), and 'Show Found in Sample Groups' (False). The 'Workflow Tree' shows a sequence of nodes: Protein Scorer (4), Protein FDR Validator (6), Protein Grouping (5), and Peptide in Protein Annotation (11). The 'Post-Processing Nodes' section includes Data Distributions (12), Display Filter (13), Result Exporter (14), and Result Statistics (15). Dashed arrows indicate the flow from the 'Parameters' panel to the 'Post-Processing Nodes' section.

参数设置

1. 当多个文件一起检索时, 使用 Data Distributions 可呈现蛋白在不同文件中的分布情况, 使用默认参数即可。

Protein FDR C	Master	Accession	Description	Exp. q-value	Sum PEF	Coverage	# Peptides	# PSMs	# Unique Peptides	# Protein Groups	# AAs	MW [kDa]	calc. pI	Found in Samples
45%	✓	P49327	Fatty acid synthase	0.000	730.417	45%	80	126	80	1	2511	273.3	6.44	High ([S1] F1: Sample)
40%	✓	P21333	Filamin-A OS=H	0.000	579.277	40%	69	97	66	1	2647	280.6	6.06	
24%	✓	Q14204	Cytoplasmic dyn	0.000	538.565	24%	86	111	85	1	4646	532.1	6.40	
29%	✓	P78527	DNA-dependent	0.000	536.059	29%	102	126	102	1	4128	468.8	7.12	
40%	✓	P35579	Myosin-9 OS=H	0.000	506.477	40%	68	92	58	1	1960	226.4	5.60	

2. Display Filter: 使用默认筛选设置, 打开结果时呈现 master protein。

3. Result Exporter: 默认同时将结果导出 txt 格式。

The screenshot shows a file explorer window with a list of files generated by Proteome Discoverer. The files are organized into a tree structure, with the following files listed:

- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01).pdResult.lock
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)_MSMSSpectrumInfo
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)_PeptideGroups
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)_ProteinGroups
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)_Proteins
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)_PSMs
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1-(01)_ResultStatistics
- 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1

根据实际需求添加不同的 Post-processing node

4. 对搜库结果做统计学分析。

34

Parameters

Show Advanced Parameters

1. ID Distributions

Peptides to Use Only unique peptides based on

Show Found in Files False

Show Found in Fractions False

Show Found in Samples True

Show Found in Sample Groups False

Peptides to Use

Specifies, which peptides are used for calculating identification distributions.

Workflow: CWF_Basic

Description: Result filtered for high confident peptides.

Workflow Tree

Protein Scorer 4

Protein FDR Validator 6

Protein Grouping 5

Peptide in Protein Annotation 11

Post-Processing Nodes

Data Distributions 12

Display Filter 13

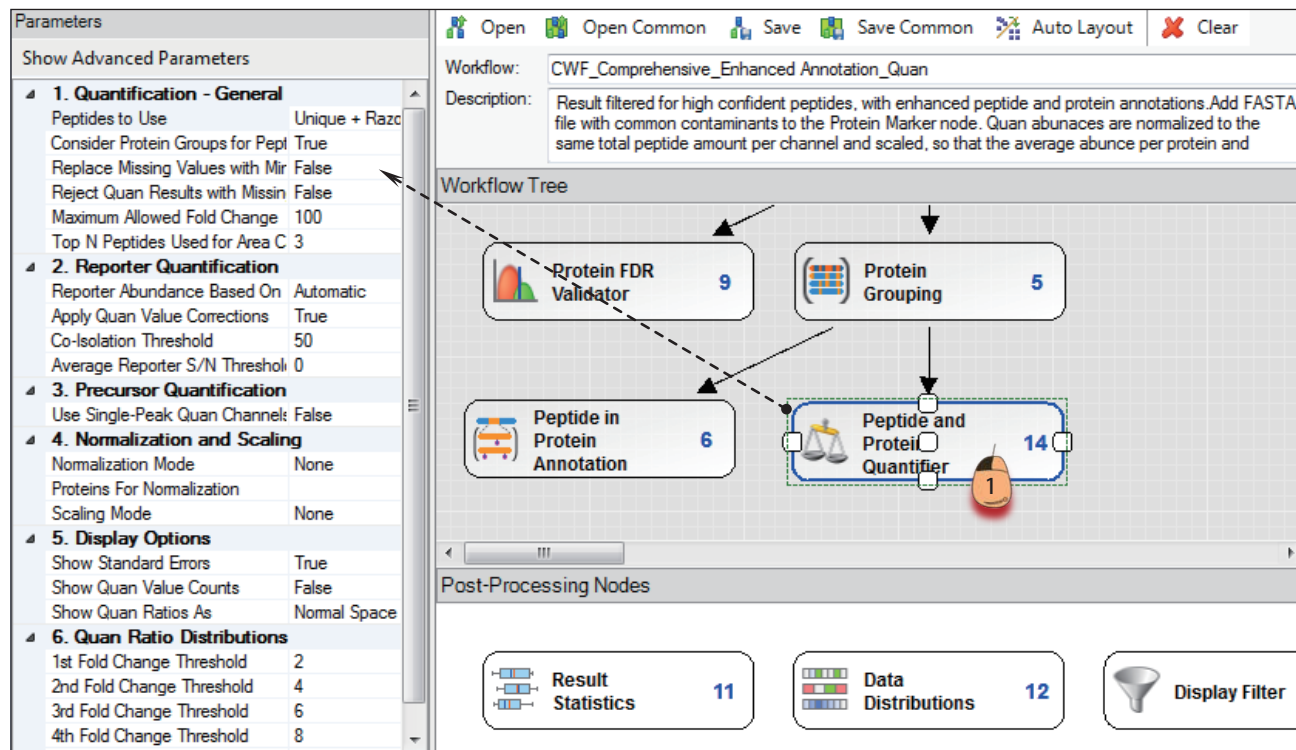
Result Exporter 14

Result Statistics 15

Workflow Nodes Parameters

	Proteins (filtered)	Protein Groups	Peptide Groups	PSMs	MS/MS Spectrum Info	Result Statistics				
	Name	Arithmetic Mean	Median	SD	IQR	CV	Sum	Minimum	Maximum	Count
1	Proteins - # AAs	613.2805	445	792.19445	461	1.29173	2704567	51	34350	4410
2	Proteins - # Decoy Proteins	22.09002	0	74.46881	1	3.37115	97417	0	450	4410
3	Proteins - # Peptides	5.08503	3	6.77298	5	1.33194	22425	1	102	4410
4	Proteins - # Peptides Sequest HT	5.08503	3	6.77298	5	1.33194	22425	1	102	4410
5	Proteins - # Protein Groups	1.04036	1	0.51311	0	0.4932	4588	0	10	4410
6	Proteins - # Protein Unique Peptides	4.22653	2	6.39848	4	1.51388	18639	0	102	4410
7	Proteins - # PSMs	7.24059	3	11.63628	7	1.60709	31931	1	126	4410
8	Proteins - # PSMs Sequest HT	7.24059	3	11.63628	7	1.60709	31931	1	126	4410
9	Proteins - # Unique Peptides	4.63741	2	6.45829	5	1.39265	20451	0	102	4410
10	Proteins - calc. pl	7.1685	6.9	1.66128	2.68	0.23175	31613.07	3.78	12.56	4410
11	Proteins - Coverage	15.27534	9.67742	15.17514	18.99195	0.99344	67364.23984	0.09094	89.62963	4410
12	Proteins - Coverage Sequest HT	15.27534	9.67742	15.17514	18.99195	0.99344	67364.23984	0.09094	89.62963	4410
13	Proteins - Exp. q-value	0.00521	0	0.01727	0.00028	3.31447	22.97641	0	0.10204	4410
14	Proteins - MW [kDa]	68.49985	49.9245	88.32608	51.37125	1.28943	302084.342	6.009	3813.652	4410
15	Proteins - Score Sequest HT	26.41234	9.5065	46.72529	25.20708	1.76907	116478.40733	0	540.68394	4410
16	Proteins - Sum PEP Score	32.43239	12.92064	52.2757	33.29005	1.61184	143026.86192	0.72515	730.41677	4410
17	Protein Groups - # Peptides	5.54093	3	7.14849	6	1.29012	20712	1	102	3738
18	Protein Groups - # Proteins	1.22739	1	1.55952	0	1.27059	4588	1	71	3738
19	Protein Groups - # PSMs	7.65195	3	11.80724	8	1.54304	28603	1	128	3738
20	Protein Groups - # Unique Peptides	5.18941	3	6.81759	5	1.31375	19398	1	102	3738

定量 node: 无论是基于母离子定量还是报告离子定量都需将 Peptide and Protein Quantifier node 加在 Protein Grouping node 后, 其他 node 参数同之前定性参数设置。



参数设置

1. 定量通用设置 (母离子及报告离子定量均适用):

- a) 用于定量的肽段: 大多数软件利用 Unique peptide 和 Razor peptide 做定量; b) 对于 Unique peptide 要考虑是否专属于一个 protein group, 默认为 true; c) 对于没有定量信息的蛋白是否使用最小值去替代, 默认为 False; d) 是否拒绝带有 missing channel 的定量结果, 默认 False; e) 允许最大的差异倍数, 默认 100; 选取 Top3 的肽段用于蛋白母离子峰面积定量; (使用默认参数即可)。

2. 报告离子定量:

- a) 报告离子定量依据: 默认为 automatic, 当所有报告离子有信噪比时, 用信噪比定量, 否则用强度定量 (共分为信噪比、intensity 两种定量模式); b) 是否对报告离子定量比值进行校正 (TMT/ITRAQ 标记试剂的天然同位素丰度会影响报告离子的定量准确性), 当选择 True 时, 需要在定量方法中添加校正因子 (校正因子可以在标记试剂的说明书中查阅, TMT10 标记时, 必须使用校正因子); c) 允许最大的共隔离的干扰离子所占比例, 默认为 50%; 当设为 100% 时则认为不排除共隔离离子; d) 报告离子平均信噪比的阈值, 不严格要求定量结果时可设置为 0, 建议设为 10。

3. 母离子定量 (SILAC、二甲基化标记):

- 当只提取到一个同位素峰时 (不是一组同位素峰), 是否用于定量, 默认值 False。

Parameters

Show Advanced Parameters

1. Quantification - General

Peptides to Use Unique + Razo

Consider Protein Groups for Pept True

Replace Missing Values with Mir False

Reject Quan Results with Missin False

Maximum Allowed Fold Change 100

Top N Peptides Used for Area C 3

2. Reporter Quantification

Reporter Abundance Based On Automatic

Apply Quan Value Corrections True

Co-Isolation Threshold 50

Average Reporter S/N Threshold 0

3. Precursor Quantification

Use Single-Peak Quan Channels False

4. Normalization and Scaling

Normalization Mode None

Proteins For Normalization

Scaling Mode None

5. Display Options

Show Standard Errors True

Show Quan Value Counts False

Show Quan Ratios As Normal Space

6. Quan Ratio Distributions

1st Fold Change Threshold 2

2nd Fold Change Threshold 4

3rd Fold Change Threshold 6

4th Fold Change Threshold 8

Open Open Common Save Save Common Auto Layout Clear

Workflow: CWF_Comprehensive_Enhanced Annotation_Quan

Description: Result filtered for high confident peptides, with enhanced peptide and protein annotations. Add FASTA file with common contaminants to the Protein Marker node. Quan abundances are normalized to the same total peptide amount per channel and scaled, so that the average abundance per protein and

Workflow Tree

Protein FDR Validator 9

Protein Grouping 5

Peptide in Protein Annotation 6

Peptide and Protein Quantifier 14

Post-Processing Nodes

Result Statistics 11

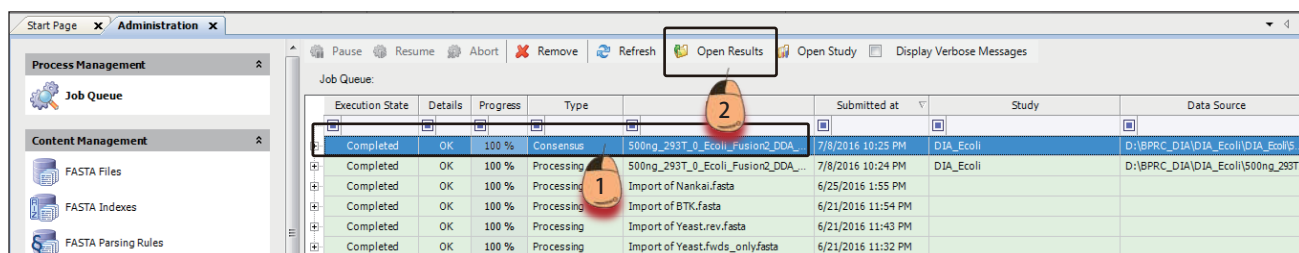
Data Distributions 12

Display Filter

4. 定量结果的归一化与标尺化：a) 是否使用归一化对结果进行校正，一般可以使用“Total Peptide Amount”进行归一化校正，如果理论混合比例不为 1，无需归一化校正，可以选择“None”；b) 仅当“Normalization Mode”设置为“Specific Protein Amount”时使用，需指定特定的 FASTA 数据库用于归一化，该 FASTA 文件需要预先添加；c) 对定量结果进行标尺化，有利于结果的热图展示，可以选择“On Channels Average (Per File)”，保证每个文件中每个蛋白和肽段所有 channel 的平均值都为 100，当选择“On Control Channels Avg. (Per File)”时，保证每个文件中每个蛋白和肽段的 control channel 的平均值都为 100。
5. a) 是否呈现标准误差，默认 True；b) 是否呈现用于定量的 PSM 数目，默认 False；c) 定量结果呈现形式：常规数值或者 \log_2 值，也可同时展示。
6. PD 用不同的颜色强调不同的变化倍数，变化倍数可自行定义（如下图所示）：

Highlight colors of the n th Fold Change Threshold parameters

Highlight color > value	Highlight color < 1/value
1st	1st
2nd	2nd
3rd	3rd
4th	4th
5th	5th



1. 在“Job Queue”中可双击目标文件的“Consensus”即可呈现结果界面。
2. 单击选中目标文件，再点击“Open Results”，也会呈现结果界面。

Checked	Protein FDR Confidence	Master	Accession	Description	Exp. q-value	Sum PEP Score	Coverage	# Peptides	# PSMs	# Unique Peptides	# Protein Groups	# AAs	MW [kDa]	calc. pI	Fo
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P49327	Fatty acid synthase OS=Homo sapiens GN=FASN PE=1 SV=	0.000	730.417	45%	80	126	80	1	2511	273.3	6.44	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P21333	Filamin-A OS=Homo sapiens GN=FLNA PE=1 SV=4	0.000	579.277	40%	69	97	66	1	2647	280.6	6.06	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q14204	Cytoplasmic dynein 1 heavy chain 1 OS=Homo sapiens GN=	0.000	538.565	24%	86	111	85	1	4646	532.1	6.40	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P78527	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit OS=Homo	0.000	536.059	29%	102	126	102	1	4128	468.8	7.12	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P35579	Myosin-9 OS=Homo sapiens GN=MYH9 PE=1 SV=4	0.000	506.477	40%	68	92	58	1	1960	226.4	5.60	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P35580	Myosin-10 OS=Homo sapiens GN=MYH10 PE=1 SV=3	0.000	434.840	34%	58	76	47	1	1976	228.9	5.54	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P08238	Heat shock protein HSP 90-beta OS=Homo sapiens GN=H	0.000	427.540	61%	47	124	29	1	724	83.2	5.03	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P07900	Heat shock protein HSP 90-alpha OS=Homo sapiens GN=H	0.000	421.144	60%	43	122	25	1	732	84.6	5.02	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q00610	Clathrin heavy chain 1 OS=Homo sapiens GN=CLTC PE=1	0.000	414.349	42%	53	72	53	1	1675	191.5	5.69	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P09874	Poly [ADP-ribose] polymerase 1 OS=Homo sapiens GN=PA	0.000	413.921	48%	47	86	47	1	1014	113.0	8.88	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q13813	Spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1 OS=Homo sapiens	0.000	383.069	31%	56	72	56	1	2472	284.4	5.35	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q07569	Filamin-B OS=Homo sapiens GN=FLNB PE=1 SV=2	0.000	376.540	31%	54	66	51	1	2602	278.0	5.73	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q07564	U5 small nuclear ribonucleoprotein 200 kDa helicase OS=H	0.000	361.718	31%	56	69	56	1	2136	244.4	6.06	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q9Y490	Talin-1 OS=Homo sapiens GN=TLN1 PE=1 SV=3	0.000	339.972	27%	45	54	45	1	2541	269.6	6.07	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P10809	60 kDa heat shock protein, mitochondrial OS=Homo sapien	0.000	339.747	66%	32	110	32	1	573	61.0	5.87	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q01082	Spectrin beta chain, non-erythrocytic 1 OS=Homo sapiens C	0.000	339.061	29%	47	60	45	1	2364	274.4	5.57	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P42704	Leucine-rich PPR motif-containing protein, mitochondrial OS	0.000	334.118	46%	54	69	54	1	1394	157.8	6.13	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P0DMV9	Heat shock 70 kDa protein 1B OS=Homo sapiens GN=HSP	0.000	332.036	59%	32	96	18	1	641	70.0	5.66	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q08211	ATP-dependent RNA helicase A OS=Homo sapiens GN=DF	0.000	330.739	41%	37	58	37	1	1270	140.9	6.84	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P12270	Nucleoprotein TPR OS=Homo sapiens GN=TPR PE=1 SV=	0.000	327.497	29%	49	54	49	1	2363	267.1	5.02	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P07814	Bifunctional glutamate/proline--RNA ligase OS=Homo sapi	0.000	326.131	45%	51	67	50	1	1512	170.5	7.33	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	Q43707	Alpha-actinin-4 OS=Homo sapiens GN=ACTN4 PE=1 SV=2	0.000	318.996	53%	37	56	26	1	911	104.8	5.44	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P22314	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1 OS=Homo sapie	0.000	318.611	47%	36	57	36	1	1058	117.8	5.76	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P14618	Pyruvate kinase PKM OS=Homo sapiens GN=PKM PE=1 SV=	0.000	308.019	65%	32	70	32	1	531	57.9	7.84	
<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	P11142	Heat shock cognate 71 kDa protein OS=Homo sapiens GN=H	0.000	308.019	65%	34	97	29	1	646	70.9	5.52	

3. 结果界面的最下方对此结果进行统计：

Result Statistics: 只有在 consensus step 中 post-analysis 模块下添加“Result statistics”后在结果中才会出现，此处代表有 136 个简单的数据统计结果

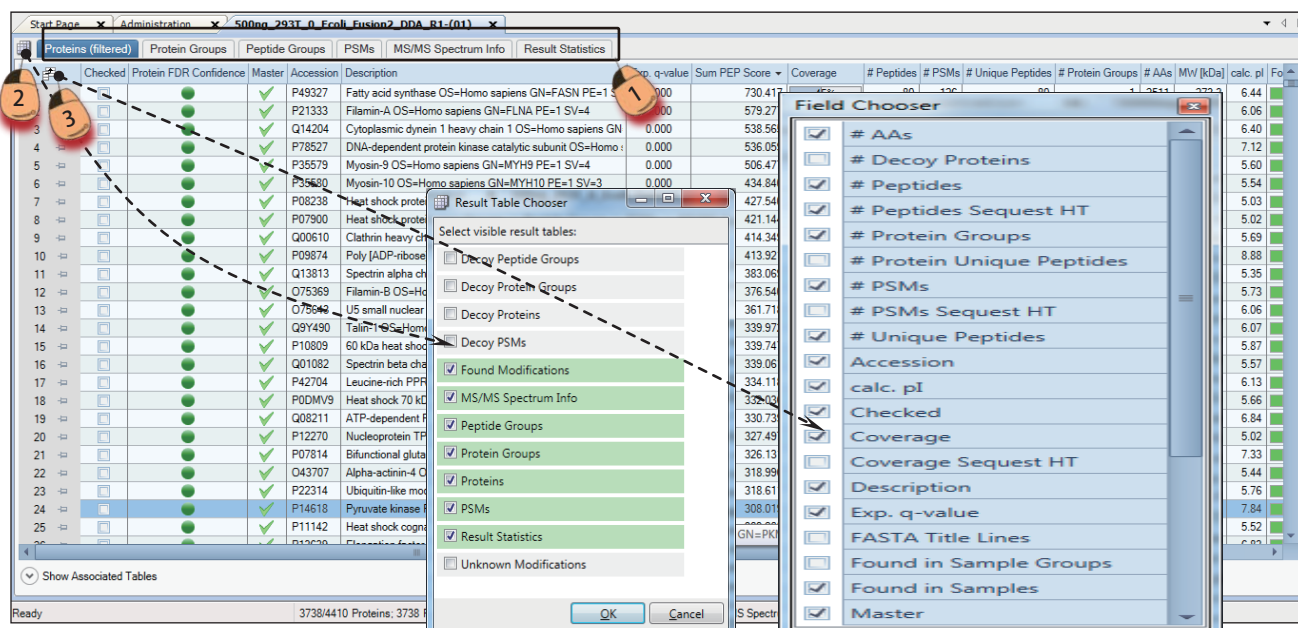
MS/MS Spectrum Info: 原始文件中所有通过 Spectrum Selector 模块筛选后送入 processing workflow 进行搜索的二级谱图数目

PSMs (Peptide Spectrum Match) : 匹配到肽段的二级谱图数目

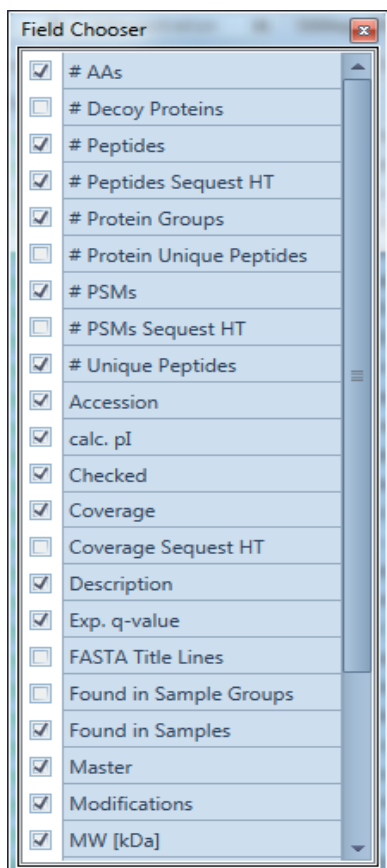
Peptide Groups: 将鉴定到的 PSM 进行组装后，得到非冗余的鉴定肽段数目

Protein Groups: 将鉴定到相同肽段的蛋白进行组装后，得到非冗余的鉴定蛋白数目

Proteins: 鉴定到的蛋白数目（注：如果在 consensus step 中 post-analysis 模块下添加“Display Filter”则对 Proteins 进行过滤，呈现 Proteins groups/Proteins 的比值，如图中 3738/4410）



1. 结果中包含 Proteins、Protein Groups、Peptide Groups、PSMs、MS/MS Spectrum Info.、Result Statistics 等常用界面，根据需要进行相应查看。
2. 点击左上图标，根据需要选择呈现其他信息界面。
3. 在每个界面中点击左上图标，可根据需要选择待呈现的信息。



标题含义

#AAs: 氨基酸数目

#Decoy Proteins: 反库中鉴定到的蛋白数目

#Peptides: 鉴定到不同肽段的总数目

#Peptides Sequest HT: 使用 Sequest HT 搜索后鉴定到不同肽段的总数目 (注: 如只用 Sequest HT 搜索, # Peptides Sequest HT = # Peptides)

#Protein Groups: 组装到不同蛋白质组的数目, 一般为 1

#Protein Unique Peptides: master protein 含有的特异性肽段的数目

#PSMs: 肽段匹配到二级谱图的数目

#PSMs Sequest HT: 使用 Sequest HT 搜索后鉴定到肽段匹配到二级谱图的数目 (注: 如只用 Sequest HT 搜索, #PSMs Sequest HT = #PSMs)

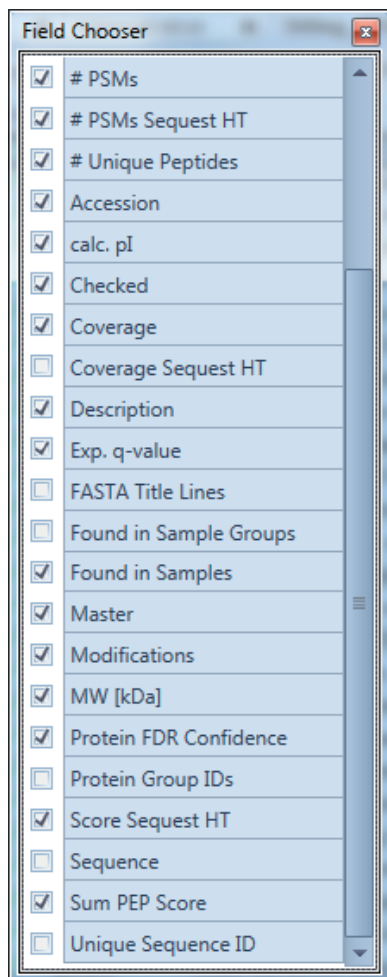
#Unique Peptides: protein group 中含有的特异性肽段数目, 一般大于等于 “#Protein Unique Peptides” 中的数目

Accession: 不同蛋白特征性的编号

calc.pI: 蛋白等电点

Checked: 可根据需要将感兴趣蛋白进行挑选并做标记, 进而导出目标蛋白

Coverage: 蛋白序列中氨基酸覆盖度



Description: 蛋白名称的详细描述

Exp.q-value: 当使用 Mascot 搜索时, 其匹配度用 q 值来代表, 值越小代表可信度越高

FASTA Title Lines: 蛋白在相应 FASTA 中的描述

Found in Sample Groups: 不同组分文件合并搜索时, 显示蛋白在不同文件组中的鉴定情况 (如需展示, 需要在 Consensus 中 Post-analysis 模块下添加 data distribution 模块)

Found in Samples: 不同文件合并搜索时, 展示蛋白在不同文件中的鉴定情况 (如需展示, 需要在 Consensus 中 Post-analysis 模块下添加 data distribution 模块), 比 “Found in Sample Groups” 常用

Master: 在 protein group 中标注是否为主要蛋白

Modifications: 显示蛋白鉴定到的修饰 (如需展示, 需要在 Consensus 中添加 “peptide in protein annotation”)

MW (kDa): 蛋白分子量

Protein FDR Confidence: 蛋白可信度

Protein Group IDs: 在 Protein Group 页面的编号

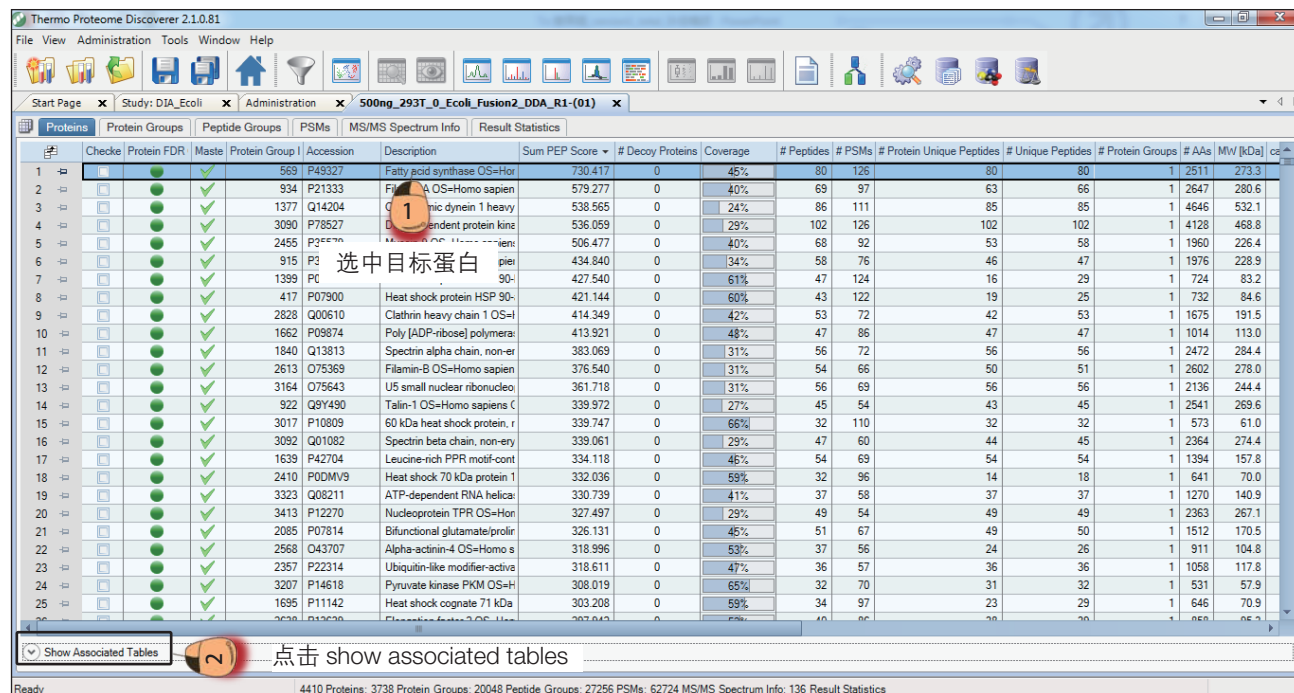
Score Sequest HT: Sequest HT 对蛋白匹配度的打分, 是肽段分数的加和, 分数越高可信度越高

Sequence: 展示蛋白氨基酸序列

Sum PEP Score: 所有 PSM 的 PEP 值负对数的加和

Unique Sequence ID: 蛋白特有的序列号, 便于后续数据处理 (根据序列号去除冗余蛋白)

查看目标蛋白的详细信息



Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: DIA_Ecoli x Administration x 500mg_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1_01 x

	Check	Protein FDR	Maste	Protein Group	Accession	Description	Sum PEP Score	# Decoy Proteins	Coverage	# Peptides	# PSMs	# Protein Unique Peptides	# Unique Peptides	# Protein Groups	# AAs	MW [kDa]	pI
1	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	569	P49327	Fatty acid synthase OS=Homo sapiens	730.417	0	45%	80	126	80	80	1	2511	273.3	
2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	934	P21333	Filamin A OS=Homo sapiens	579.277	0	40%	69	97	63	66	1	2647	280.6	
3	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1377	Q14204	Cytoplasmic dynein 1 heavy chain	538.565	0	24%	86	111	85	85	1	4646	532.1	
4	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3090	P78527	Independent protein kinase	536.059	0	29%	102	126	102	102	1	4128	468.8	
5	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2455	P25570	Protein tyrosine phosphatase	506.477	0	40%	68	92	53	58	1	1960	226.4	
6	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	915	P3	Protein	434.840	0	34%	58	76	46	47	1	1976	228.9	
7	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1399	P0	Protein	427.540	0	61%	47	124	16	29	1	724	83.2	
8	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	417	P07900	Heat shock protein HSP 90	421.144	0	60%	43	122	19	25	1	732	84.6	
9	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2828	Q00610	Clathrin heavy chain 1 OS=Homo sapiens	414.349	0	42%	53	72	42	53	1	1675	191.5	
10	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1662	P09874	Poly [ADP-ribose] polymerase	413.921	0	48%	47	86	47	47	1	1014	113.0	
11	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1840	Q13813	Spectrin alpha chain, non-erythrocytic	383.069	0	31%	56	72	56	56	1	2472	284.4	
12	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2613	Q75369	Filamin-B OS=Homo sapiens	376.540	0	31%	54	66	50	51	1	2602	278.0	
13	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3164	Q75643	U5 small nuclear ribonucleoprotein	361.718	0	31%	56	69	56	56	1	2136	244.4	
14	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	922	Q9Y490	Talin-1 OS=Homo sapiens	339.972	0	27%	45	54	43	45	1	2541	269.6	
15	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3017	P10809	60 kDa heat shock protein	339.747	0	66%	32	110	32	32	1	573	61.0	
16	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3092	Q01082	Spectrin beta chain, non-erythrocytic	339.061	0	29%	47	60	44	45	1	2364	274.4	
17	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1639	P42704	Leucine-rich proline motif-containing protein	334.118	0	46%	54	69	54	54	1	1394	157.8	
18	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2410	P0DMV9	Heat shock 70 kDa protein 1	332.036	0	59%	32	96	14	18	1	641	70.0	
19	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3323	Q08211	ATP-dependent RNA helicase	330.739	0	41%	37	58	37	37	1	1270	140.9	
20	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3413	P12270	Nucleoprotein TPR OS=Homo sapiens	327.497	0	29%	49	54	49	49	1	2363	267.1	
21	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2085	P07814	Bifunctional glutamate/proline isomerase	326.131	0	45%	51	67	49	50	1	1512	170.5	
22	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2568	Q43707	Alpha-actinin-4 OS=Homo sapiens	318.996	0	53%	37	56	24	26	1	911	104.8	
23	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2357	P22314	Ubiquitin-like modifier-activator	318.611	0	47%	36	57	36	36	1	1058	117.8	
24	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3207	P14618	Pyruvate kinase PKM OS=Homo sapiens	308.019	0	65%	32	70	31	32	1	531	57.9	
25	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1695	P11142	Heat shock cognate 71 kDa protein	303.208	0	59%	34	97	23	29	1	646	70.9	

选中目标蛋白

点击 show associated tables

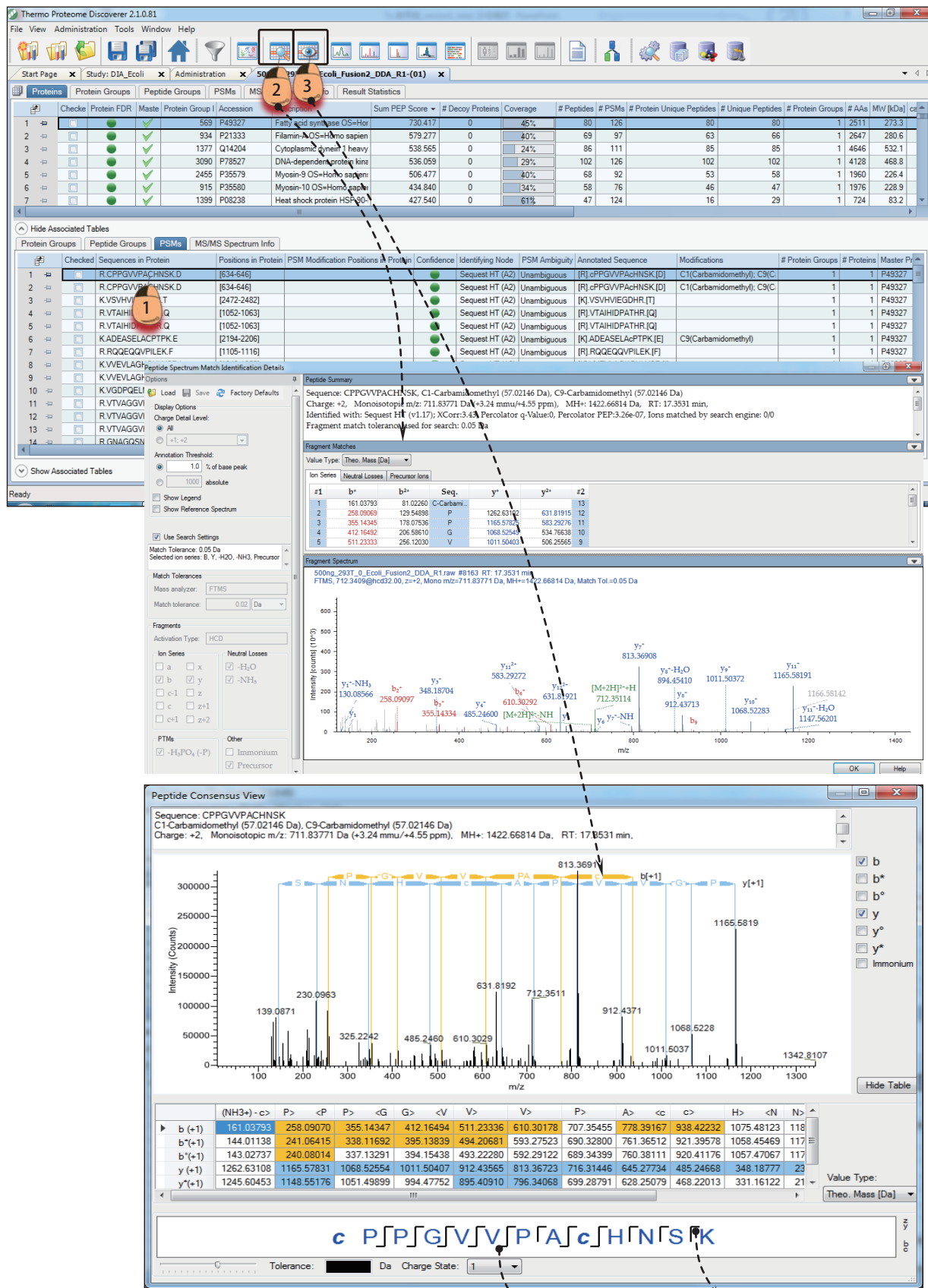
Ready 4410 Proteins; 3738 Protein Groups; 20048 Peptide Groups; 27256 PSMs; 62724 MS/MS Spectrum Info; 136 Result Statistics

目标蛋白的详细信息包括：Protein Groups、Peptide Groups、PSMs、MS/MS Spectrum Info，可以选中其中某项再点击 Show Associated Tables 查看相关信息。

例如：查看选中蛋白的 Peptide Groups 中的目标肽段，同时可以查看目标肽段的 PSM 信息。

展示目标肽段的碎片离子

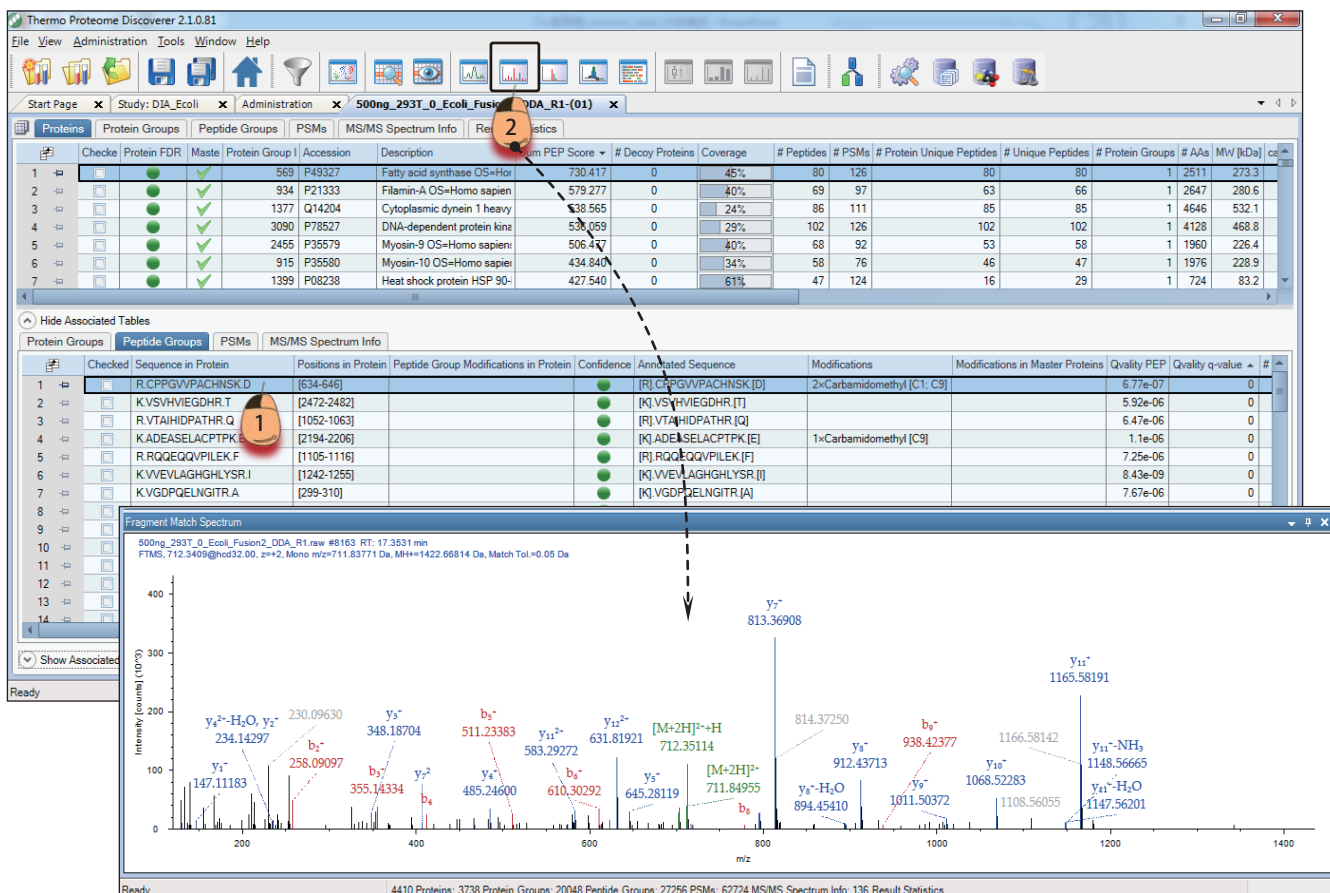
41



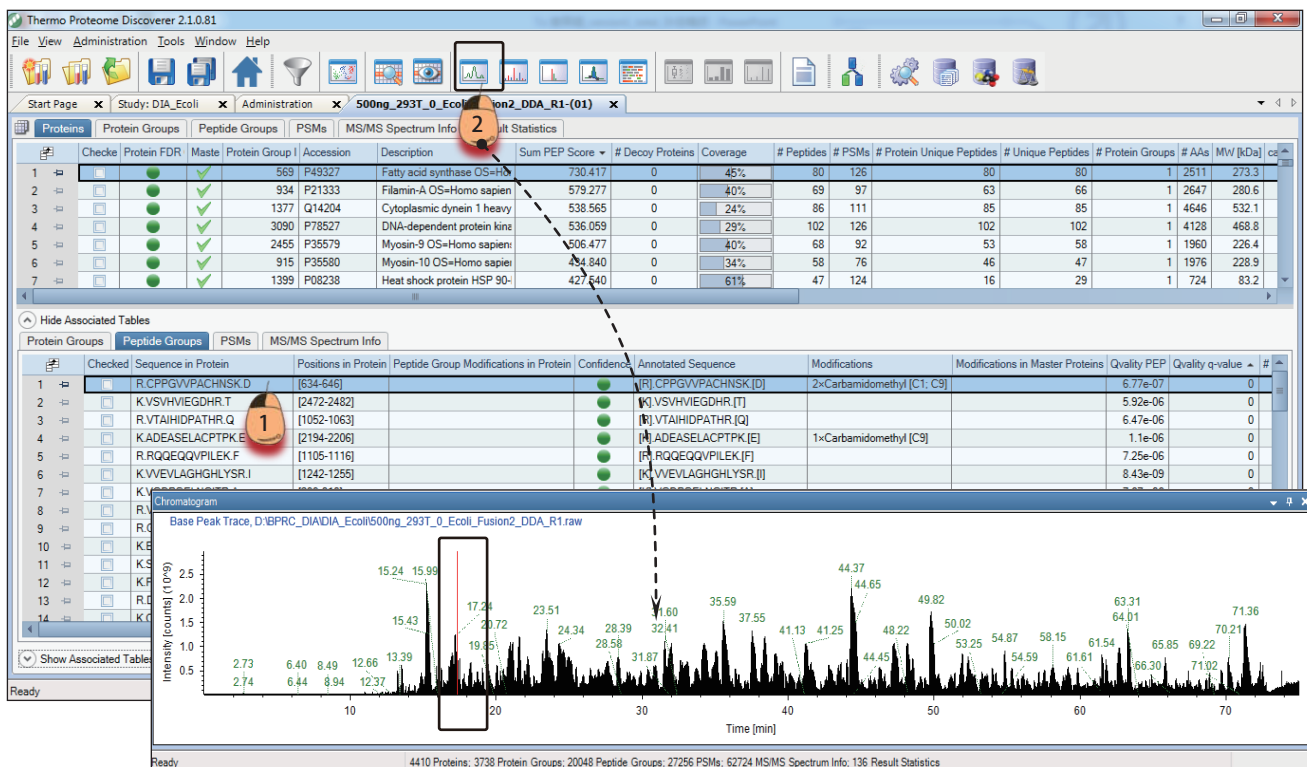
匹配上的 b 离子

匹配上的 y 离子

展示目标肽段的碎片离子

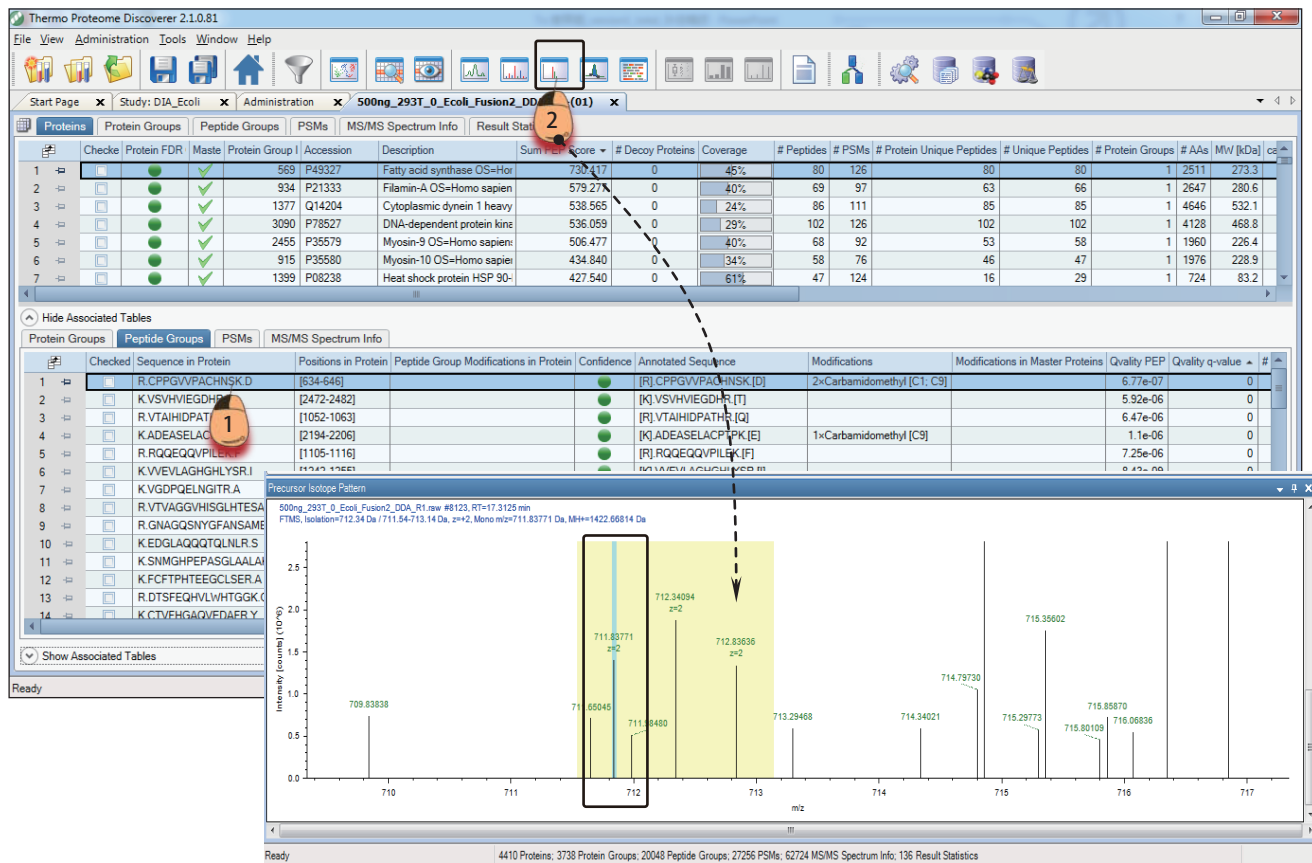


展示目标肽段在色谱图中的位置



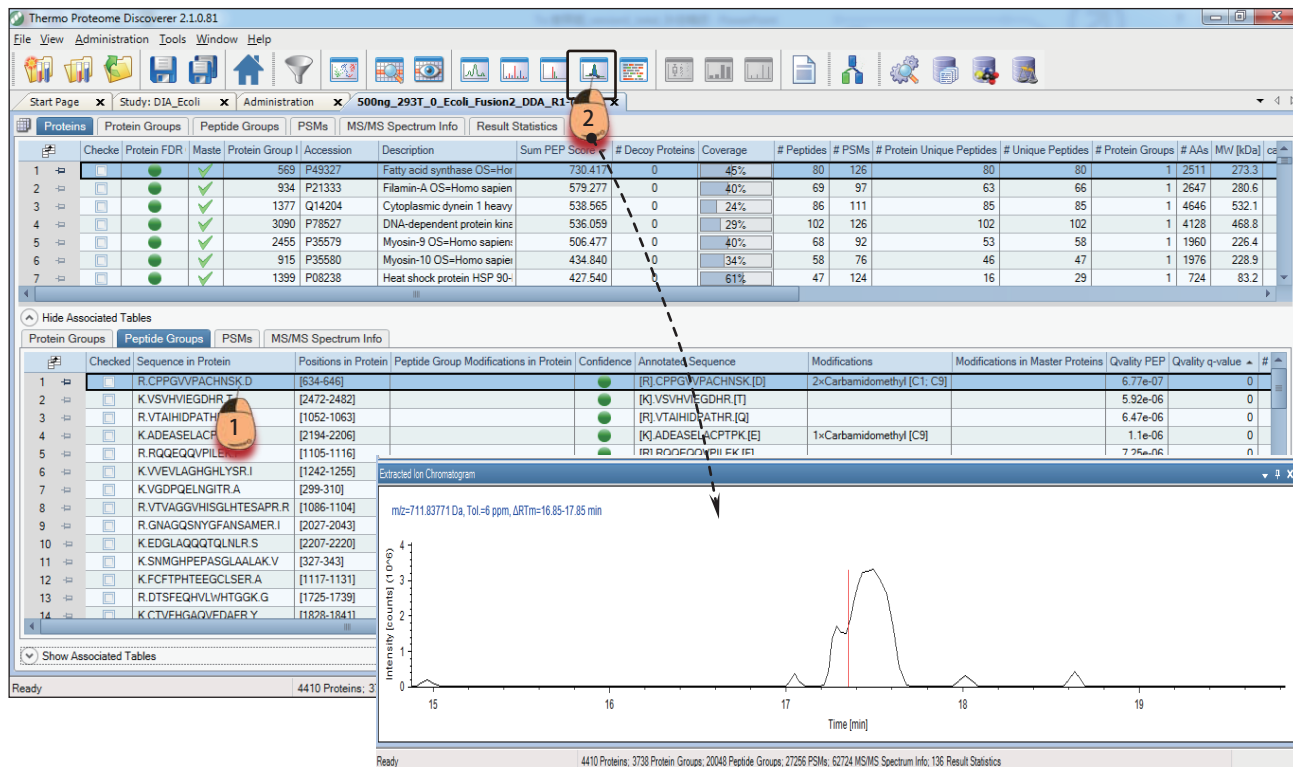
目标肽段在总离子流色谱图中的位置

展示目标肽段的母离子同位素峰分布



PD 软件匹配到目标肽段的母离子及其同位素峰分布

展示目标肽段的提取离子流色谱图



不同蛋白的氨基酸序列比较

44

Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: DIA_Ecoli x Administration x 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1_01 x

Proteins Protein Groups Peptide Groups PSMs MS/MS Spectrum Info Result Statistics

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

Check Protein FDR Mascot Protein Group Accession Description Sum PEP Score # Decoy Proteins Coverage # Peptides # PSMs # Protein Unique Peptides # Unique Peptides # Protein Groups # AAs MW [kDa]

1 569 P49327 Fatty acid synthase OS=Hor 730.417 0 45% 80 126 80 1 2511 273.3

2 934 P21333 Filamin-A OS=Homo sapien 579.277 0 40% 69 97 63 1 2647 280.6

3 1377 Q14204 Cytoplasmic dynein 1 heavy 538.565 0 24% 86 111 85 1 4646 532.1

4 3090 P7852 DNA-dependent protein kinase 536.059 0 29% 102 126 102 1 4128 468.8

5 2455 P35579 Myosin-9 OS=Homo sapien 506.477 0 40% 68 92 53 1 1960 226.4

6 915 P35580 Myosin-10 OS=Homo sapien 434.840 0 34% 58 76 46 1 1976 228.9

7 1399 P08238 Heat shock protein HSP 90- 427.540 0 61% 47 124 16 1 724 83.2

8 2828 Q00610 Clathrin heavy chain 1 OS=H 414.349 0 42% 53 72 42 1 1675 191.5

9 1662 P08674 Poly (ADP-ribose) polymerase 413.921 0 48% 47 86 47 1 1014 113.0

10 1540 Q13813 Spectrin alpha chain, non-ne 383.169 0 31% 54 66 50 1 2602 278.0

11 2613 Q13869 Filamin-B OS=Homo sapien 376.540 0 31% 54 66 50 1 2136 244.4

12 3164 O75643 U5 small nuclear ribonucleo 361.718 0 31% 56 69 56 1 2136 244.4

13 922 Q9Y490 Talin-1 OS=Homo sapien 339.972 0 27% 45 54 43 1 2541 269.6

Sequence Comparison

1 11 21 31 41 51 61 71 81 91 101 111 121

781 11P143K2HR DNEFFLAGI GRLLSLGIDA HPRALPPVY FPAKGTPLI SPLIDMERSL AMDVPAEDF PARGSGPSAA IYINIDTSSES PSHYLVNHTL DGRVLEPATG YLSIVNKLIA RALGLOVEQU

911 PVFEDVYVLI QATILPKTGT VSLRVLLEA SRAFEVSENG NUVVSGVYQ WDDPQALFD NPESPPTNPT RFLAQAEV YELALRGID YHGFQGLE ASLEGDSGRLL LMSRMYSFM DTHLMISIL

1041 SARGHLYLPT RVTAIHIDPA THEQKLTLYQ DKAQADVAV SRWLRTVYAG CVHISGLNTE SAPRSCQOQ VVLEKTCFT PTERECISLE RAALGELIQL CGLGVVALQT RYTCGLRMY VPCLEKQITP

1171 RDAMP ATE HDL AEDA PWYKIQWT FYRWCHLKL CV SKRIAN LQTD L SDG LRL TAL E VL SQKQGHKHN QPTFRQML ENVS VAL EFL DR ESILKIVSIDS

1301 KAIVDNLKL ILGLNLTLL HYSISMP M WDEEDEAK KQTPKQRLG WIGNKL PQLPINF SPWQSGRAL G A LVDS CAP GLCPD WSDMA S KPVNTHR EMQQAQD

1431 WL GIP Q VI TPEE IVD PNV DEHS VM TYLSQFFPKK LKQAPLRPK LMPKAPKAYG PCKEPTG NM VKKRAFTV ETRSAQCK VLVVY E DP AGKCKKAVT ANND KN

1561 RTFSVM YV PEVTGTRKT VLFQAQHIA KSPFEVYVK S QODAS K VTAQGPGLER SGHIA NKTI Y F EI FTAGAGTG E VEVVQDPMG QGTIVQPO L EARG D STYR CSYQ

1691 PINEGVHT V HVIT AGV P IPSPSY TVTVQACNP S ACRA VGR GLQPKGVVK ETADFKVYIK GAGSGELVY VKGFGKEERV KQKLD GDG YVGF EYFYM VPGTIVITV WQGNIGRS

1821 PFEVYVQTE CQKQVRAW GPC LEGOV VKGSADFVE AIGDDVGLG FSV EGFSSQ AKIECDKGD GSCDVRVMP QEA GEYAV H VLNCHSD IRLSPFMA DIR DA PQ DFPKRVKAR

1951 GPQLEK T CVA VHKPA EFTVDA KH GKAPRLV QVQNECCP VEA LVKING NTGYSCYVP RKPVKHTAM SGGGVSIINS PFRVNVGAS HPKNVYVGP GVAKTGLKAR EPTVTVDA

彩色字体：代表该段序列对应的肽段被鉴定到，绿色字体表示肽段可信度为 high，黄色字体为 medium，红色字体为 low；蛋白序列有差异的部分以高亮背景显示，同时选择的蛋白序列最多不能超过 10000 个氨基酸。

过滤筛选

Thermo Proteome Discoverer 2.10.81

File View Administration Tools Window Help

Start Page x Study: DIA_Ecoli x Administration x 500ng_293T_0_Ecoli_Fusion2_DDA_R1_01 x

Proteins Protein Groups Peptide Groups PSMs MS/MS Spectrum Info Result Statistics

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

Check Protein FDR Mascot Protein Group Accession Description Sum PEP Score # Decoy Proteins Coverage # Peptides # PSMs # Protein Unique Peptides # Unique Peptides # Protein Groups # AAs MW [kDa]

1 569 P49327 Fatty acid synthase OS=Hor 730.417 0 45% 80 126 80 1 2511 273.3

2 934 P21333 Filamin-A OS=Homo sapien 579.277 0 40% 69 97 63 1 2647 280.6

3 1377 Q14204 Cytoplasmic dynein 1 heavy 538.565 0 24% 86 111 85 1 4646 532.1

4 3090 P7852 DNA-dependent protein kinase 536.059 0 29% 102 126 102 1 4128 468.8

5 2455 P35579 Myosin-9 OS=Homo sapien 506.477 0 40% 68 92 53 1 1960 226.4

6 915 P35580 Myosin-10 OS=Homo sapien 434.840 0 34% 58 76 46 1 1976 228.9

7 1399 P08238 Heat shock protein HSP 90- 427.540 0 61% 47 124 16 1 724 83.2

8 2828 Q00610 Clathrin heavy chain 1 OS=H 414.349 0 42% 53 72 42 1 1675 191.5

9 1662 P08674 Poly (ADP-ribose) polymerase 413.921 0 48% 47 86 47 1 1014 113.0

10 1540 Q13813 Spectrin alpha chain, non-ne 383.169 0 31% 54 66 50 1 2602 278.0

11 2613 Q13869 Filamin-B OS=Homo sapien 376.540 0 31% 54 66 50 1 2136 244.4

12 3164 O75643 U5 small nuclear ribonucleo 361.718 0 31% 56 69 56 1 2136 244.4

13 922 Q9Y490 Talin-1 OS=Homo sapien 339.972 0 27% 45 54 43 1 2541 269.6

Load Save Clear Close Apply

CH Proteins CH Protein Groups CH Peptide Groups CH PSMs CH MS/MS Spectrum Info CH Result Statistics

AND OR NOT

Proteins Protein Groups Peptide Groups PSMs MS/MS Spectrum Info Result Statistics

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

Check Protein FDR Mascot Protein Group Accession Description Sum PEP Score # Decoy Proteins Coverage # Peptides # PSMs # Protein Unique Peptides # Unique Peptides # Protein Groups # AAs MW [kDa]

1 569 P49327 Fatty acid synthase OS=Hor 730.417 0 45% 80 126 80 1 2511 273.3

2 934 P21333 Filamin-A OS=Homo sapien 579.277 0 40% 69 97 63 1 2647 280.6

3 1377 Q14204 Cytoplasmic dynein 1 heavy 538.565 0 24% 86 111 85 1 4646 532.1

4 3090 P7852 DNA-dependent protein kinase 536.059 0 29% 102 126 102 1 4128 468.8

5 2455 P35579 Myosin-9 OS=Homo sapien 506.477 0 40% 68 92 53 1 1960 226.4

6 915 P35580 Myosin-10 OS=Homo sapien 434.840 0 34% 58 76 46 1 1976 228.9

7 1399 P08238 Heat shock protein HSP 90- 427.540 0 61% 47 124 16 1 724 83.2

8 2828 Q00610 Clathrin heavy chain 1 OS=H 414.349 0 42% 53 72 42 1 1675 191.5

9 1662 P08674 Poly (ADP-ribose) polymerase 413.921 0 48% 47 86 47 1 1014 113.0

10 1540 Q13813 Spectrin alpha chain, non-ne 383.169 0 31% 54 66 50 1 2602 278.0

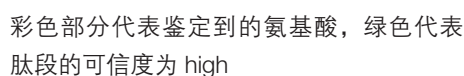
11 2613 Q13869 Filamin-B OS=Homo sapien 376.540 0 31% 54 66 50 1 2136 244.4

12 3164 O75643 U5 small nuclear ribonucleo 361.718 0 31% 56 69 56 1 2136 244.4

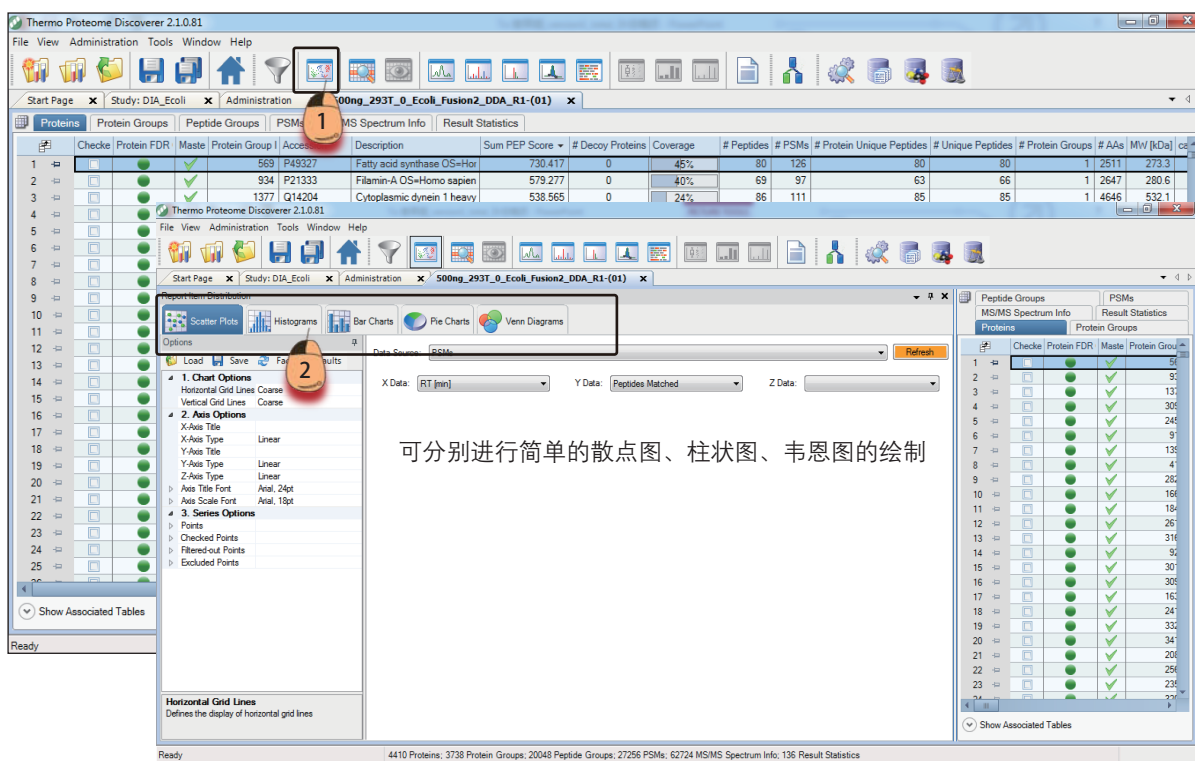
13 922 Q9Y490 Talin-1 OS=Homo sapien 339.972 0 27% 45 54 43 1 2541 269.6

4410 Proteins; 3738 Protein Groups; 20048 Peptide Groups; 27296 PSMs; 62724 MS/MS Spectrum Info; 136 Result Statistics

45



可分别进行简单的散点图、柱状图、韦恩图的绘制



Protein	Master	Accession	Description	Found in Samples	Abundance Ratios	Abundances
Q4QRB4	✓	P60711	Tubulin beta-3 chain	177	0.924, 1.041, 0.859, 0.954, 1.050, 0.874	5317.2, 4911.9, 5535.0, 4567.5, 5061.4, 4828.6, 5314.3, 4423.4
P60711	✓	P60711	Actin, cytoplasmic	109	0.935, 1.001, 0.934, 0.900, 1.011, 0.976	4340.0, 4057.2, 4345.5, 4054.4, 4731.2, 4259.0, 4780.9, 4616.2
P63102	✓	P63102	14-3-3 protein zeta	109	0.908, 1.012, 0.776, 0.943, 1.070, 0.854	2947.2, 2676.7, 2983.3, 2287.1, 2449.9, 2310.8, 2622.1, 2093.1
P06687	✓	P06687	Sodium/potassium	81	0.940, 0.977, 0.846, 0.927, 1.041, 0.807	2204.1, 2072.3, 2154.4, 1863.8, 3604.7, 3342.5, 3754.0, 2908.0
P06685	✓	P06685	Sodium/potassium	79	0.954, 1.023, 0.857, 0.887, 1.010, 0.853	418.4, 399.3, 427.9, 358.7, 2308.1, 2046.2, 2331.8, 1969.2
P15999	✓	P15999	ATP synthase sub	77	1.071, 0.945, 0.825, 0.955, 1.034, 0.825	503.1, 538.8, 475.2, 415.1, 5552.6, 5300.0, 5743.0, 4583.3
P62738	✓	P62738	Actin, aortic smoo	70	0.865, 1.010, 1.011, 0.865, 1.010, 1.011	458.5, 396.6, 463.3, 463.4
P16086	✓	P16086	Spectrin alpha chain	67	0.866, 0.951, 0.812, 0.917, 0.985, 0.799	3190.7, 2764.2, 3034.9, 2590.3, 3287.0, 3013.5, 3236.6, 2627.0
P06686	✓	P06686	Sodium/potassium	63	1.206, 0.809, 0.701, 1.177, 0.814, 0.750	1172.1, 1413.3, 948.1, 821.5, 460.9, 542.7, 375.3
P84245	✓	P84245	Histone H3.3 OS=	60	0.877, 1.014, 0.880, 0.858, 0.967, 0.979	4905.9, 4300.1, 4972.5, 4318.9, 1830.5, 1571.0, 1770.4
P63039	✓	P63039	60 kDa heat shock	58	0.986, 0.923, 0.792, 1.069, 0.981, 0.751	1458.0, 1436.9, 1345.9, 1155.3, 2662.4, 2845.9, 2612.3, 1999.1
P68370	✓	P68370	Tubulin alpha-1A	58	0.923, 1.042, 0.880, 0.933, 0.994, 0.910	1829.2, 1688.0, 1906.5, 1609.1, 1486.2, 1387.1, 1477.9

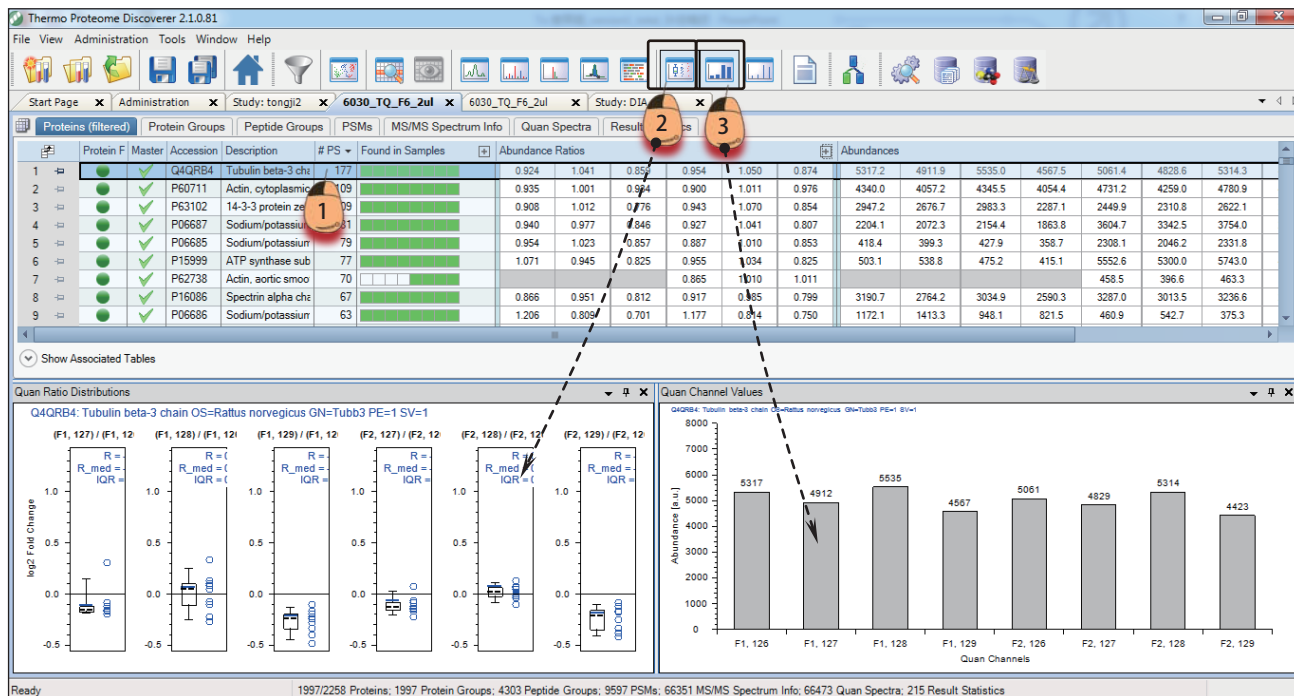
Found in Samples: 显示蛋白在不同文件中不同 channel 的鉴定情况, 点击 “+” 显示文件名称及不同 channel

Abundance Ratios: 根据定量方法中的设置, 显示不同 channel 间的比值, 点击 “+” 显示定量比值来源

Abundance: 蛋白在不同 channel 中的信噪比 (S/N) 或强度 (intensity)。

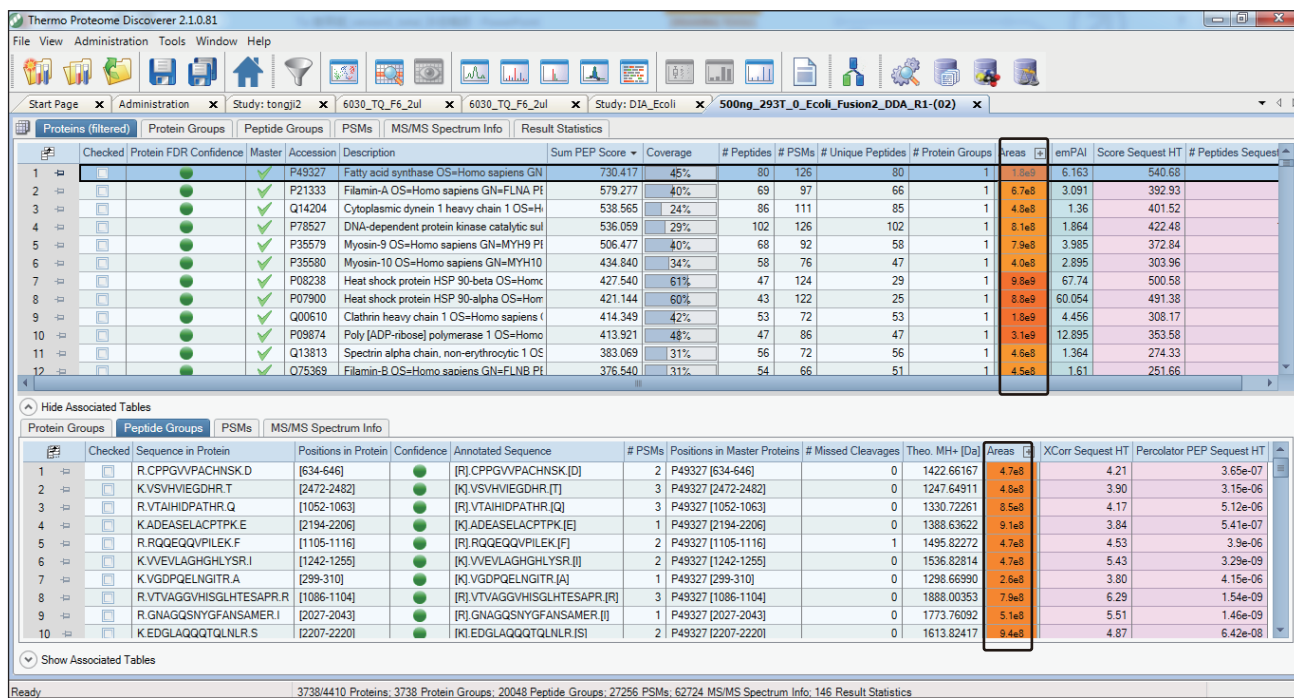
Protein	Sequence	Positions in P	Protein Quant	Confidence	Modifications	Master Protein	Found in Samples	Abundance Ratios	Abundances
1	K.NMMAA	[298-306]	Used	100	1xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4; Q6P1	177	0.924, 1.041, 0.859, 0.954, 1.050, 0.874	5317.2, 4911.9, 5535.0, 4567.5, 5061.4, 4828.6, 5314.3, 4423.4
2	K.NMMAACDPR.H	[298-306]	Used	100	1xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4; Q6P1	109	0.935, 1.001, 0.934, 0.900, 1.011, 0.976	4340.0, 4057.2, 4345.5, 4054.4, 4731.2, 4259.0, 4780.9, 4616.2
3	K.VREEYDPR.I	[155-162]	Used	100	1xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4	109	0.908, 1.012, 0.776, 0.943, 1.070, 0.854	2947.2, 2676.7, 2983.3, 2287.1, 2449.9, 2310.8, 2622.1, 2093.1
4	K.VAVCDIPPR.G	[351-359]	Used	100	1xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4	81	0.940, 0.977, 0.846, 0.927, 1.041, 0.807	2204.1, 2072.3, 2154.4, 1863.8, 3604.7, 3342.5, 3754.0, 2908.0
5	K.EVDEGMLAIGSK.N	[325-336]	Used	100	2xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4	79	0.954, 1.023, 0.857, 0.887, 1.010, 0.853	418.4, 399.3, 427.9, 358.7, 2308.1, 2046.2, 2331.8, 1969.2
6	K.EVDEGMLAIGSK.N	[325-336]	Used	100	2xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4	77	1.071, 0.945, 0.825, 0.955, 1.034, 0.825	503.1, 538.8, 475.2, 415.1, 5552.6, 5300.0, 5743.0, 4583.3
7	R.AILVDLEPGTMDSVF	[63-77]	Used	100	1xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4	70	0.865, 1.010, 1.011, 0.865, 1.010, 1.011	458.5, 396.6, 463.3, 463.4
8	R.AILVDLEPGTMDSVF	[63-77]	Used	100	1xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4	67	0.866, 0.951, 0.812, 0.917, 0.985, 0.799	3190.7, 2764.2, 3034.9, 2590.3, 3287.0, 3013.5, 3236.6, 2627.0
9	K.GHYTEGAELVDVSL	[104-121]	Used	100	1xTMT6plex [N-Term]	Q4QRB4; Q6P1	63	1.206, 0.809, 0.701, 1.177, 0.814, 0.750	1172.1, 1413.3, 948.1, 821.5, 460.9, 542.7, 375.3

定量比值分布



- 选中目标蛋白。
- 展示不同 channel 的比值分布图。
- 展示不同 channel 定量结果。

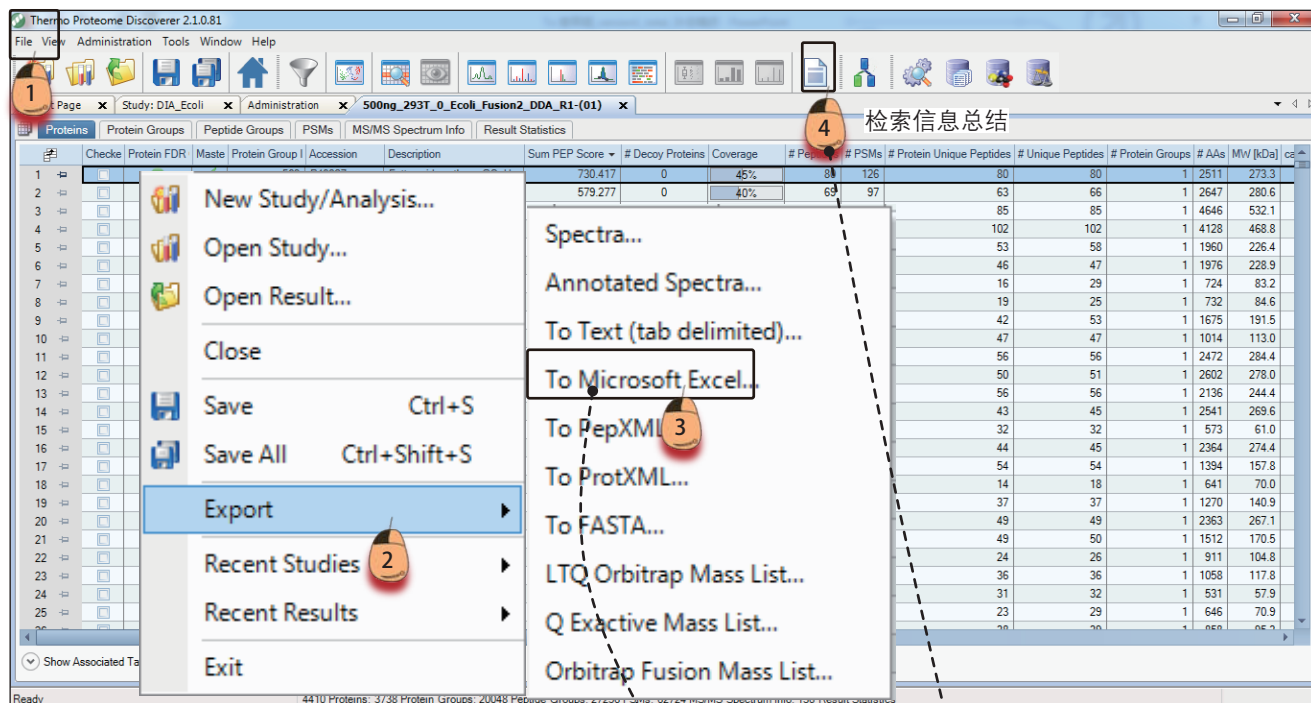
展示母离子定量结果



根据 processing workflow 和 consensus workflow 中的母离子定量设置, 结果中呈现蛋白及相应肽段的峰面积; 其中 emPAI 值代表蛋白在一个样品中的绝对量, 值越大蛋白含量越高。

结果导出及检索信息总结

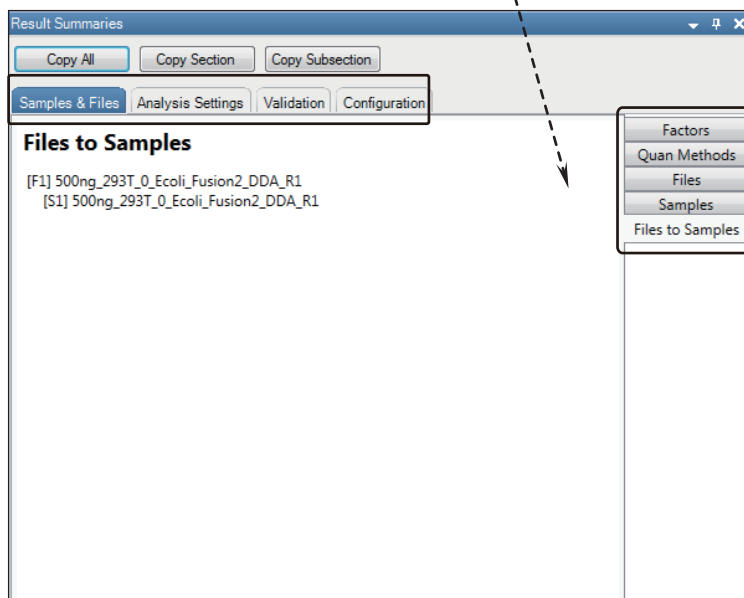
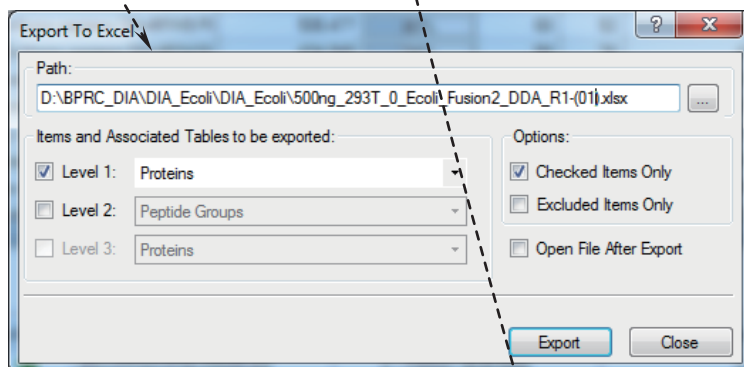
48



PD 可导出多种形式的文件，根据实际需要
进行选择，例如选择输出 Excel，可导出蛋
白及对应的肽段信息

注：PD 2.0 与 2.1 输出结果界面有较大区别，
请以具体软件版本为准

可查看当前结果的详细搜索参数设置





赛默飞官方微信

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

上海（中国总部）
上海浦东新金桥路27号7号楼

北京
北京市安定门东大街28号
雍和大厦西楼7层

广州
广州东风中路410-412号
时代地产中心2405-2406，3001-3004

成都
成都市武侯区临江西路1号
锦江国际大厦1406室

沈阳
沈阳市沈河区惠工街10号
卓越大厦3109室

香港
香港新界沙田，沙田乡事会路138号
新城市中央广场第一座九楼911-915室

武汉
武汉东湖高新技术开发区
高新大道858号A7楼

全国服务热线：800 810 5118 400 650 5118（支持手机用户）

官方网站：www.thermofisher.com

Thermo
SCIENTIFIC

A Thermo Fisher Scientific Brand