

## 声波激发与质谱耦合技术进行快速质谱分析

### SCIEX Echo™ MS系统突破定量质谱分析通量的瓶颈

Rolf Kern<sup>1</sup>, Chang Liu<sup>2</sup>, Chiu Cheong Aw<sup>3</sup>

<sup>1</sup>SCIEX, USA, <sup>2</sup>SCIEX, Canada, <sup>3</sup>SCIEX, Singapore

自从质谱仪商业化以来，色谱分离技术（如高压液相色谱）与质谱仪的联用已成为定量分析的标准方法。电喷雾电离（ESI）与大气压化学电离（APCI）和基质辅助激光解吸电离（MALDI）等其它方式相比，具有化合物覆盖范围广，电离效率高的优势，是液相色谱和质谱联用中常用的电离技术。本文介绍了一种新开发的声波激发与质谱耦合（AEMS）平台-SCIEX Echo™ MS系统，用于快速、无需色谱的质谱分析。

高通量筛选（HTS）分析通常用于早期药物研究，从含有成千上万种化合物的库中识别候选药物，通常依赖于读板仪生成的数据。读板仪的主要特点是，一旦开发出检测方法，便可以快速运行，在不到一分钟的时间内得到整个板中每个样品孔的数据。但是这种分析方法的开发是非常耗时的。而且，实际信号输出通常基于目标化合物与标记物引起的吸收或发射的反应而不是化合物本身，这会导致特异性问题并使疑难解答复杂化。Echo MS系统整



合化合物调谐的简便性和质谱的特异性和读板器仪的通量优势，使该技术成为高通量筛选研究的可行性选择。

### 高通量定量的Echo MS系统的主要特点

- 采用声波激发进样和开放式探针取样接口的快速样品分析
  - 对于单一分析物，每秒采集1个样本，在多重模式下，每秒采集多达3个样本
  - 高重复性的样品进样
  - 非常低的残留
- 采用OptiFlow™ TurboV离子源稳定高效的电喷雾电离技术实现广泛的化合物覆盖度
- 行业证明，SCIEX Triple Quad™ 6500+ LC-MS/MS 系统具有高灵敏度和定量耐用性的特点
- SCIEX OS软件操作的简便性
- 专为高通量筛选工作流程而设计；大多数机械臂均可抓取进样板托盘
- 开放的软件API可将平台集成到现有的自动化高通量筛选工作流程中

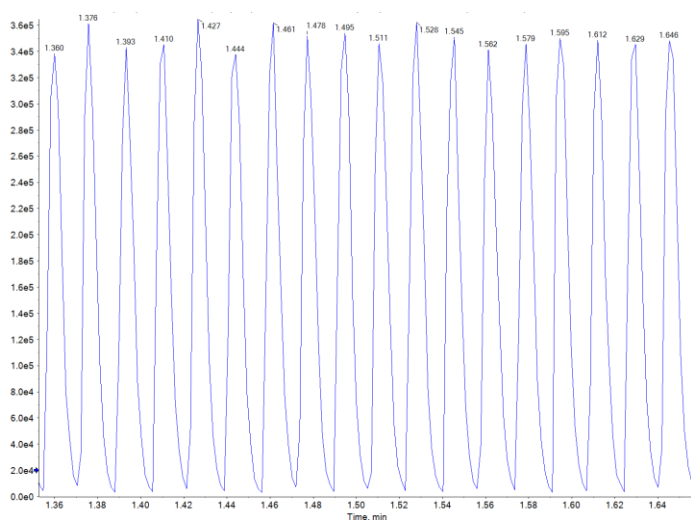


图1. 快速，重现性好的定量结果。以每秒1个样品的采集速度对整个384孔板中浓度为100 nM右美沙芬注射液分析的定量结果。

## 技术

### 声波激发进样

声波激发进样平台已广泛应用于高通量筛选实验室，用于在进样板间快速、准确、精确地传输纳升体积的液体。声波用于样品孔液体中驻波的产生和放大。随着驻波振幅的增加，液滴从波的中心顶点喷出，得到一个液滴（图2）。这是一个特性鲜明的过程，可以非常严格地加以控制，在微秒级的时间内从样品板孔中的产生恒定体积的液滴。样品板是标准的384孔或1536孔板，由一对XY步进电动机连接在固定位置的声学模块上。步进电动机快速地从板子一个孔快速移动到另一孔，依次对每个孔进行取样。在Echo MS系统中，声波喷射模块用于在单个喷射脉冲中高重复地产生约2.5 nL的样品液滴，具体取决于液体的粘度。此外，根据样品液体的不同，多个喷射周期可以非常快速地依次从200到500 Hz连续运行，因此多个液滴可以有效地合并在一起，从而获得更大的有效进样体积

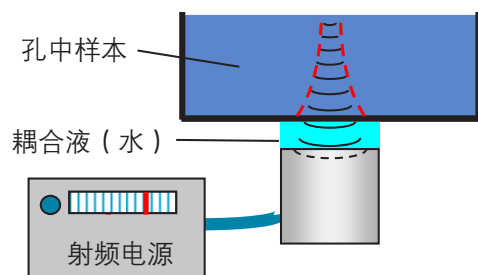


图2. 声波激发进样设备示意图。

### 开放式接口

第二个主要组成部分是与橡树岭国家实验室合作开发的开放式接口（OPI），该开放接口可以将声波喷射的液滴捕获并传输到质谱仪的电喷雾源。OPI是一对同心定位的管，两端都是开口的（图3）。外管中的液体（载体溶剂）由低压液体泵输送至外管。内管通过传输线直接连接到ESI源的毛细管。雾化器气体（GS1）提供吸气“拉力”，将从外管输送的溶剂吸入内管。载体溶剂从外管转向内管时产生的涡旋是声波喷射产生的液滴进入液流的地方然后被带到ESI源。将小尺寸液滴引入液体流的一个优点是，显著的稀释有助于大大减小基质抑制作用。

在Echo MS系统上，OPI位置固定在声学模块上方，样品板在这些元件之间从一个孔移动到另一个孔。样品板移动速度非常快，能够在几秒钟内对三个孔进行取样。

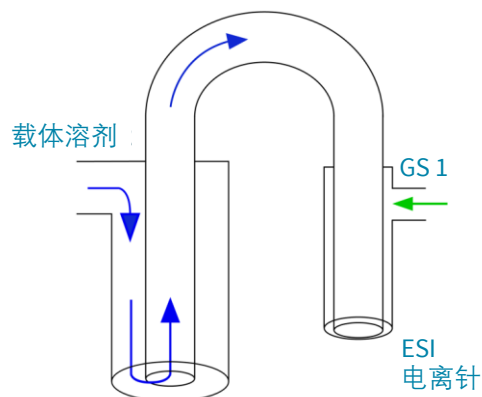


图3. 开放式接口（OPI）的示意图。样品从开放端口接口注入（左），通过毛细管带到质谱仪的ESI源探针（右）。

### 质谱分析

最后，使用SCIEX Triple Quad 6500+系统对液体雾化，并对离子化的化合物进行定量。这款质谱仪配有OptiFlow离子源和为OPI专门开发的传输线，SCIEX Triple Quad 6500+系统具有业界公认的灵敏度和耐用性，是Echo MS系统进行高通量定量工作的理想检测器。

### 软件与自动化

Echo MS系统不但可以通过SCIEX OS软件进行操作，作为独立的分析仪器运行。为单板的高通量定量提供了易于操作的平台。而且，该系统是专门为集成到现有的高通量环境中而设计的。固定板的位置便于机械臂操作。SCIEX OS软件具有完善的允许由第三方软件操作控制系统的API。当一个板子分析完成后，系统将生成一个.csv文件，其中包含自动积分的峰面积以及样品名称和孔位置。该文件可以由LIMS自动导入。

### 定量数据生成

分析系统能够实现真正定量，要执行某些公认的标准。不仅可在一个可用的线性动态范围内进行准确且可重现的定量，而且在样品之间无明显的残留效应。对于高通量系统，应在所需的快速时间范围内保证这些特点。为了展示Echo MS系统的功能，使用右美沙芬作为示例化合物，以10%的甲醇水溶液（v/v）稀释进行了一系列实验。甲醇作为载体溶剂，MRM方法条件的详细信息见表1。

表1. 右美沙芬的MRM详细信息。

Q1	Q3	Dwell Time (msec)	DP	EP	CE	CXP
272.1	215.1	100	40	10	31	13

## 线性和残留

将右美沙芬以10%的甲醇水溶液按1:1的比例从1000 nM连续稀释到0.488 nM，然后每孔50 μL转移到384孔板（贝克曼生命科学384PP 2.0微孔板）中。除标准工作液外，还将纯稀释液以每孔50 μL转移至板中的其他孔中。校准曲线从高浓度点到低浓度点运行，每个标准品之间运行空白溶剂。用于评估线性和残留量。

该系统在整个测试范围内均表现出良好的线性（图4，表2），尽管低浓度点（0.488 nM）可能没有足够高的信噪比，无法视为真正的最低定量限（LLOQ）。更重要的是，即使是高浓度的标准品也没有残留（数据显示无残留）。

表2. 标准曲线统计结果。

浓度 (nM)	峰面积	准确度
1000	229010	103.1
500	105386	94.9
250	51665	93.0
125	29791	107.3
62.5	15218	109.6
31.25	6360	91.4
15.625	3530	101.3
7.813	1552	88.6
3.906	912	103.5
1.953	384	85.3
0.977	245	106.
0.488	139	115.3

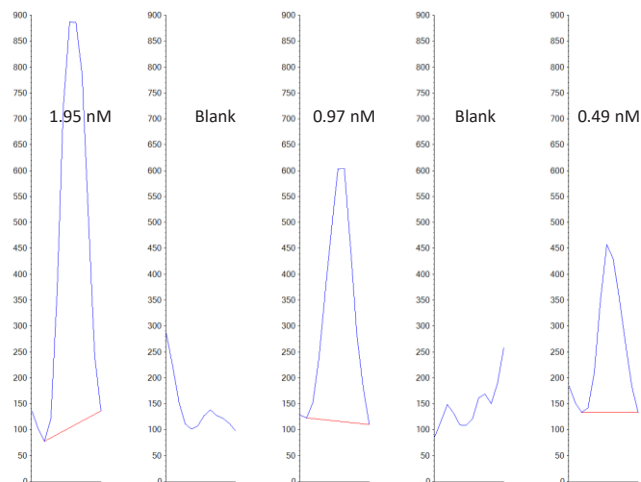
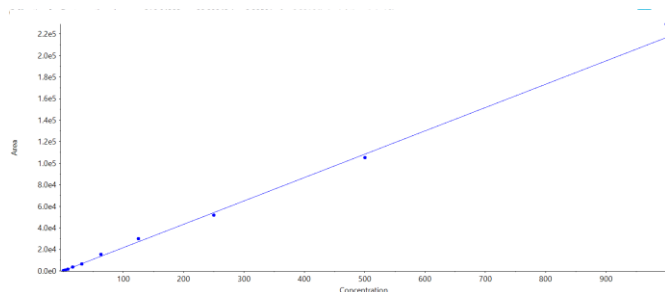
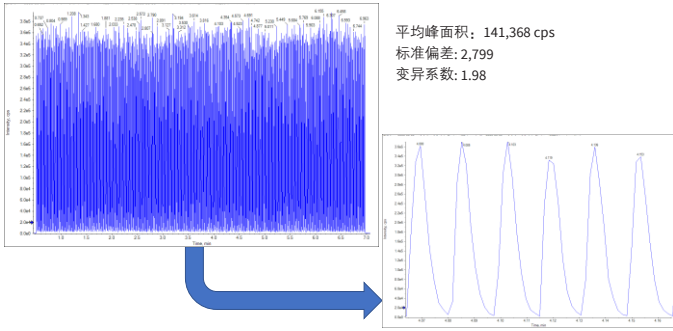


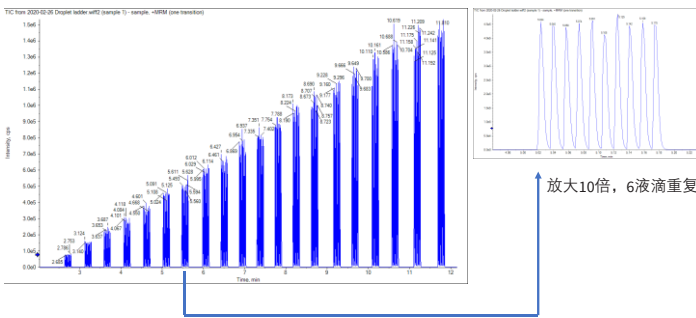
图4. 评估定量分析的线性和残留量。（顶部）从高浓度点1000 nM到低浓度点0.488 nM进样分析的标准曲线。（底部）从标准曲线低浓度点开始进样分析，中间插入空白溶剂的原始数据。

## 分析速度和精密度

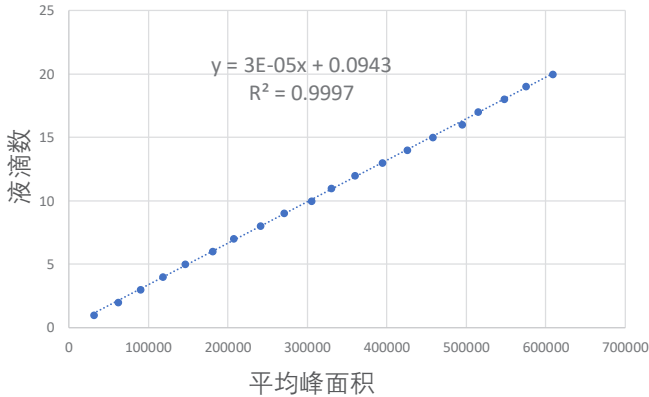
为了说明系统的固有精度，以每秒一个样品的速度采集数据，制备了20 mL以10%的甲醇水为溶剂的浓度为100 nM右美沙芬溶液，并将50 mL溶液等体积转移至384孔板。仅用了六分钟，就得到板上每个样品孔的数据（图5，详细信息见图1）。使用SCIEX OS软件对每个孔得到的MRM色谱峰积分。峰面积重现性好，所有384板孔中峰面积的变异系数为1.98%。



**图5. 384板孔进样分析的重现性。**以1 Hz每个样品的频率采集分析整个板上100 nM右美沙芬的溶液。所有的峰面积重现性的变异系数为1.98%。



液滴数 vs 峰面积



**图6. 进样的线性。**液滴梯度（底部）展示了从1到20个液滴的重现性好的线性响应。液滴梯度上的每个点（顶部）进行10次重复。

## 定量液滴产生

Echo MS系统的一个有优势方面是能够以声波喷射方法决定分析过程中喷射的液滴数量。液滴的大小取决于声能频率和样品孔中液体粘度之间复杂相互作用。对于给定的液体，应将其视为固定值。由于液滴的产生速度非常快（微秒级），因此可以重复性好的方式喷射多个液滴并转移到OPI进入质谱仪中作为单次进样从而增加进样量。液滴的线性范围取决于基质，粘性或粘性基质（如未处理的血浆）具有较窄的线性液滴范围。

为了证明这一特点，我们使用右美沙芬进行了一系列的液滴喷射。液滴数量从一滴到二十滴，形成一个“液滴梯度”（图6，顶部）。表3列出了在整个液滴梯度中进行10次重复实验所获得的平均面积（%CV）。绘制的线性如图6所示。这个实验的所有液滴喷射均在单个样品孔完成。定量控制进样量的能力类似于常规HPLC工作中的进样体积，在方法开发过程中非常有用。

**表3. 液滴梯度统计学结果。**

液滴数	平均峰面积	变异系数
1	31013.2	1.10
2	61849.6	2.41
3	89629.1	2.51
4	118421.0	2.69
5	146231.9	1.75
6	181091.6	2.01
7	207362.9	2.31
8	240954.0	1.91
9	270286.5	1.84
10	305316.6	1.47
11	330220.0	1.80
12	359994.5	1.60
13	394398.1	1.98
14	425327.8	1.44
15	457841.7	1.82
16	495142.4	0.76
17	514707.9	2.45
18	548093.9	2.07
19	575179.7	1.95
20	608447.0	2.43

## 结论

新开发的声波激发与质谱耦合 ( AEMS ) 系统-SCIEX Echo MS系统-具有非常大地改变高通量分析领域的潜力:

- 定量ESI MS/MS分析速度现在已接近读板仪, 且保持了方法开发的简便性, 同时监测多种分析物的能力, 质谱好的特异性和宽的动态范围的特点。
- 表现出好的进样重现性 ( 所有384孔板孔的CV为1.98% )。
- 系统的硬件和软件均为高通量环境而设计。样品板固定器的放置方式使得标准机械手可以轻松地将板转移至样品板。开放的API允许控制软件控制系统, 而无需人工干预。
- 数据处理和导出也可实现自动化。在获取板的数据之后, 使用定量方法对其进行处理。处理结果将自动生成一个.csv文件, 包括孔号, 峰面积和样品名称等信息, 这些信息可以通过LIMS导入。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息, 请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。

本文提及的商标和/或注册商标, 也包括相关的标识、标志的所有权, 归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。Echo 和 Echo MS是属于美国或在其他国家地区的Labcyte, Inc.的商标或注册商标, 该商标经许可使用。所示图像仅用于说明目的, 可能不是产品和/或技术的精确表示。样品盘可以从贝克曼库尔特生命科学事业部购买。Beckman Coulter®商标经许可使用。

© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-11385-ZH-A. AB SCIEX™ 商标经许可使用。



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)