

SYNAPT XS™和SELECT SERIES™ Cyclic™ IMS的人尿液分析效果比较

Adam King, Lee A. Gethings, Robert S. Plumb

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

在代谢组学研究中，非靶向分析包括对含有数千种化合物的复杂生物基质进行分析。最终，对这种基质的分析取决于分析仪器能否检测到足够多的特征来确定潜在生物标志物。随着液相色谱(LC)分离技术以及集成正交分离技术（如离子淌度(IM)）的联用质谱仪(MS)的发展，实验室检测到的特征数量也越来越多。

优势

改善IMS分离、特征检测和谱图质量

简介

联用分离技术能够提高化合物分离度，提升谱图质量，进而改善化合物注释和鉴定。以往研究¹已经证明在代谢组学研究的LC-MS工作流程中采用IM可以提高峰容量，并且能够在不牺牲性能（即特征检测和鉴定可信度）的情况下实现高通量分析²。SELECT SERIES Cyclic IMS质谱仪进一步增强了离子淌度性能，可通过多通道IMS功能进一步提高分析物分离度。在该模式下，离子需要多次通过离子淌度设备，从而显著延长了分离路径长度。然而，即使在执行单程IM分离时，SELECT SERIES Cyclic IMS仪器上的淌度路径也几乎是SYNAPT XS离子淌度分离池长度的两倍，从而显著提升了可达离子淌度分辨率。本应用简报描述了这两种仪器的比较结果，并重点介绍了SELECT

SERIES Cyclic IMS在人尿液样品代谢组学分析方面的优势。

实验

使用配置有ACQUITY Premier BEH Amide色谱柱的ACQUITY Premier UPLC系统执行全部色谱分离。表1列出了流动相和梯度条件。使两种仪器（SYNAPT XS和SELECT SERIES Cyclic IMS）的质谱仪离子源条件和飞行时间(Tof)采集设置保持相同，具体条件和设置见表2。两种仪器的离子淌度分离条件均保持默认设置。

通过添加30 µL LC-MS级水和350 µL LC-MS级乙腈制备单份人尿液样品(20 µL)。然后，摇晃样品10分钟，再以13,000 rpm的转速进行离心。接下来，将上清液转移至Waters全回收样品瓶中以供分析。

表1.UPLC方法参数

系统：	ACQUITY Premier
流动相A：	5:95乙腈:水，含0.1%甲酸和10 mM甲酸铵
流动相B：	95:5乙腈:水，含0.1%甲酸和10 mM甲酸铵
密封清洗液：	10%异丙醇水溶液
弱清洗液：	80:20 (v/v)水/乙腈
强清洗液：	异丙醇
Lockspray：	亮氨酸脑啡肽200 pg/µL（50:50水:乙腈）
色谱柱：	Waters ACQUITY Premier UPLC BEH Amide, 1.7 µm, 2.1 x 100 mm
柱温：	40 °C

进样体积：2 μ L

自动进样器温度：8 $^{\circ}$ C

梯度表

梯度	时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
1	初始	0.700	0	100	初始
2	0.1	0.700	0	100	6
3	5.0	0.700	20	80	6
4	6.0	0.700	50	50	6
5	6.5	0.700	50	50	6
6	7.0	0.700	0	100	6
7	10	0.700	0	100	6

表2.SYNAPT XS和SELECT SERIES Cyclic IMS的MS参数

毛细管电压：2.0 kv

ESI极性：正

采样锥孔电压：30 V

电离源补偿：80 V

离子源温度：120 $^{\circ}$ C

脱溶剂气温度：600 $^{\circ}$ C

锥孔气流速：50 L/h

脱溶剂气流速：800 L/h

四极杆配置：	自动
Lockspray流速：	10 μ L/min
分析仪模式：	分辨率
Tof质量数范围：	50–1200 Da
扫描时间：	0.3 s
数据格式：	连续
采集模式：	HDMS ^E [™]
碰撞能量：	转移池梯度：20–40 eV

结果与讨论

特征检测

将从SYNAPT XS和SELECT SERIES Cyclic IMS收集的所有MS数据分别导入Progenesis QI，从中调整重复进样的提取尿液(n=3)，并使用相同算法进行峰值提取。将原始数据导入Progenesis QI后，通过该软件计算在每次导入的进样中检测到的低能量离子数量。图1显示，与使用SYNAPT XS分析相同样品相比，SELECT SERIES Cyclic IMS检测到的低能量离子数量平均高出3.5倍多。在使用Progenesis QI进行峰提取时，软件将针对在分析所有导入样品时检测到的所有峰生成一个特征列表（*m/z*和保留时间对）。另外，下面的条形图（图1）还显示，相比于通过SYNAPT XS生成的数据文件检测到的特征数量，在使用SELECT SERIES Cyclic IMS时Progenesis QI检测到了多50%左右的特征数量。

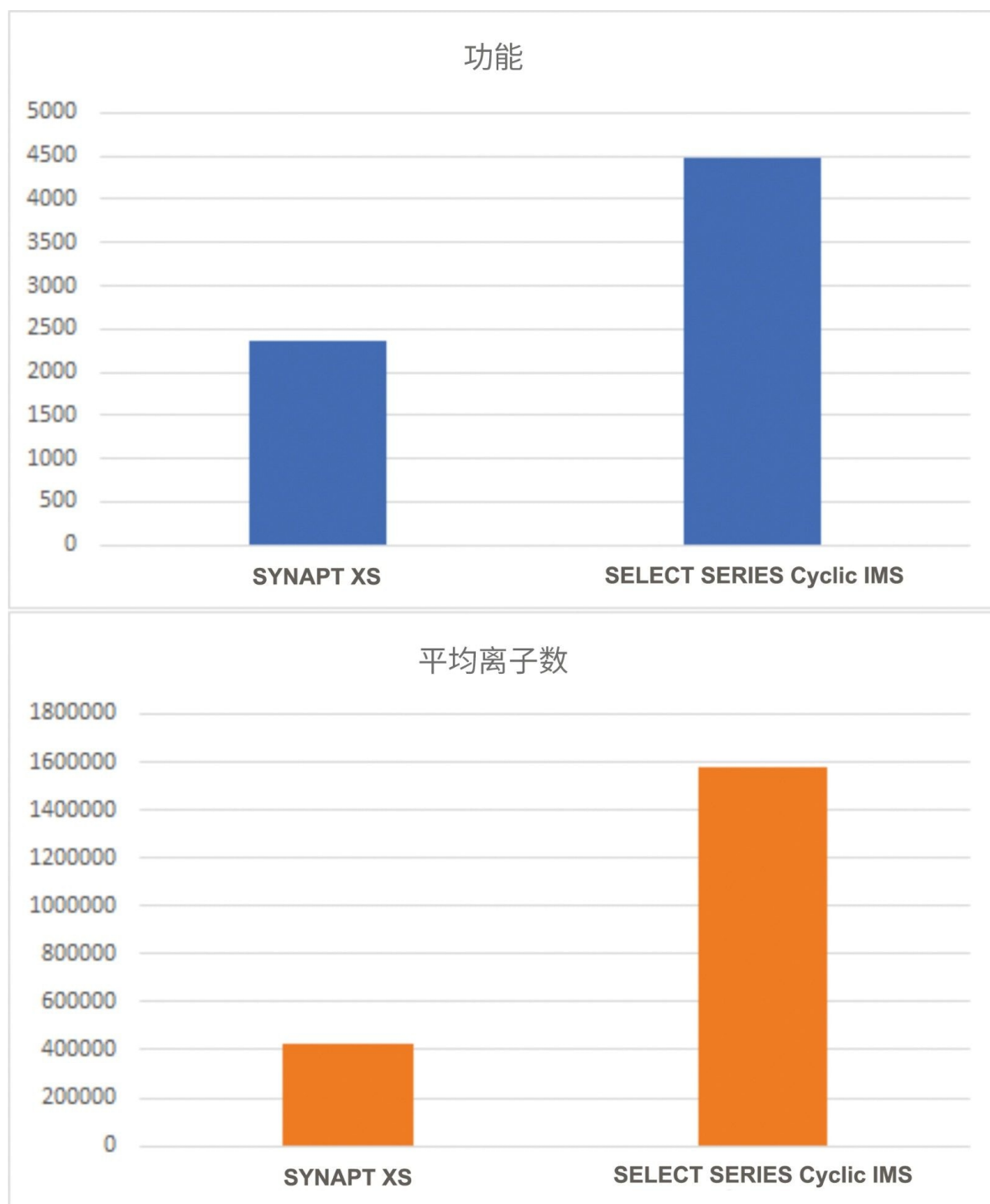


图1.SYNAPT XS和SELECT SERIES Cyclic IMS的峰特征提取和检测到的离子的平均数量对比。

淌度分离

所有数据均是在HDMS^E采集模式下启用离子淌度时采集的，目的是精确分离母离子并产生碎片离子信息。添加这种淌度分离技术可以增加分析的总峰容量，从而使之前共洗脱的LC特征在淌度池中相互分离。图2突出反映了这种改进，其中 m/z 和保留时间相同的两个漂移时间分离特征一旦分离，就会产生不同的谱图，否则很难分离碎片离子并准确地将其分配给母离子。

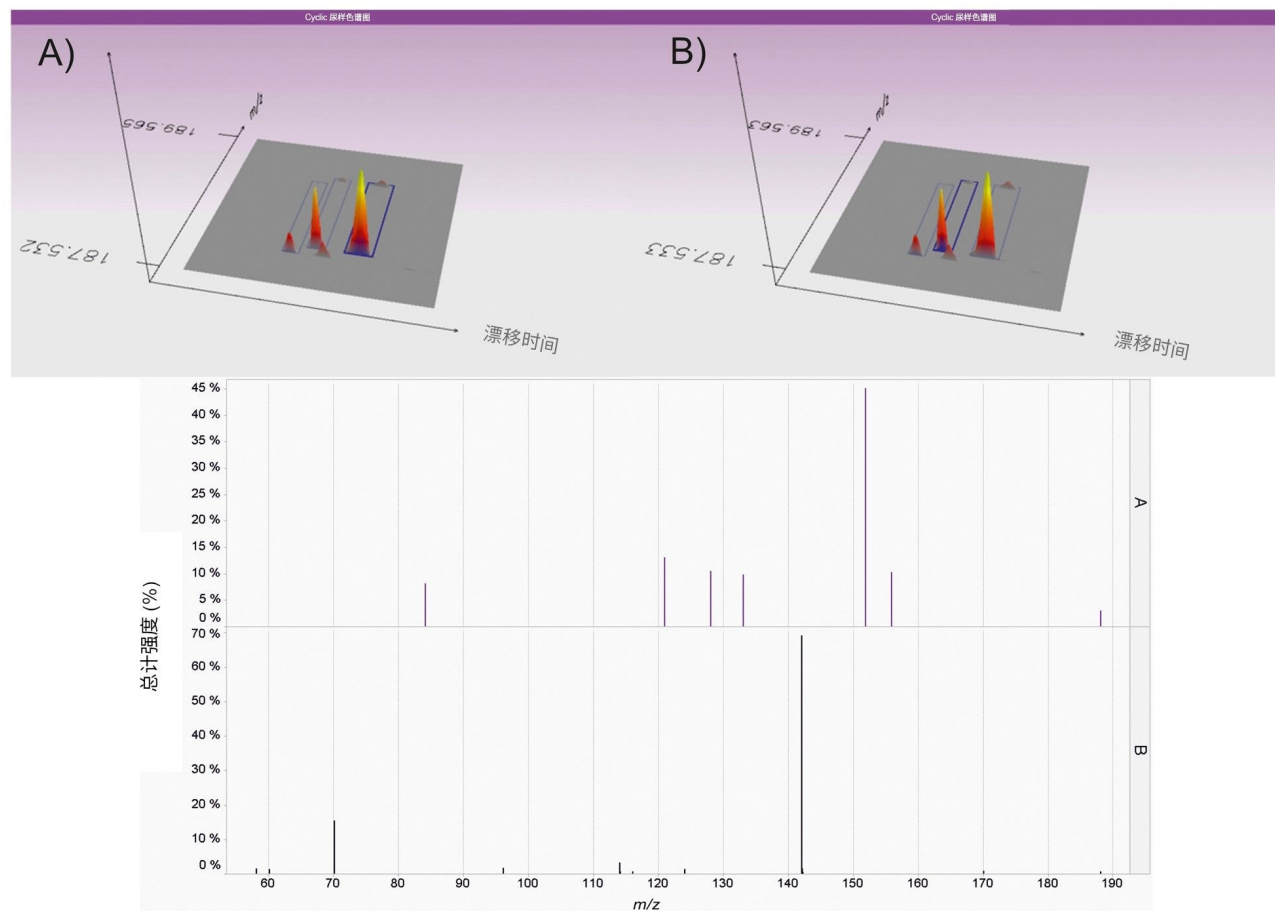


图2.三维漂移时间图，其中突出反映了使用SELECT SERIES Cyclic离子淌度技术单程分离的两个特征，以及每个特征相应的高能碎片离子谱图。在该三维图中，以深蓝色框标出了所选特征。

数据库注释

为了研究增加特征数量以及漂移时间分离特征带来的优势，使用特征母离子质量数和理论碎片离子质量数（将两

者的容差均设置为 ± 10 ppm) 在HMDB数据库中对特征进行了搜索。对于从SYNAPT XS获得的尿样数据，在数据库中查询到2363个检测到的特征，其中有1450个特征返回了可能的注释。相比之下，在相同数据库中使用相同条件进行搜索时，SELECT SERIES Cyclic IMS分析结果中具有可能注释的特征数量比SYNAPT XS多944个（图3）。

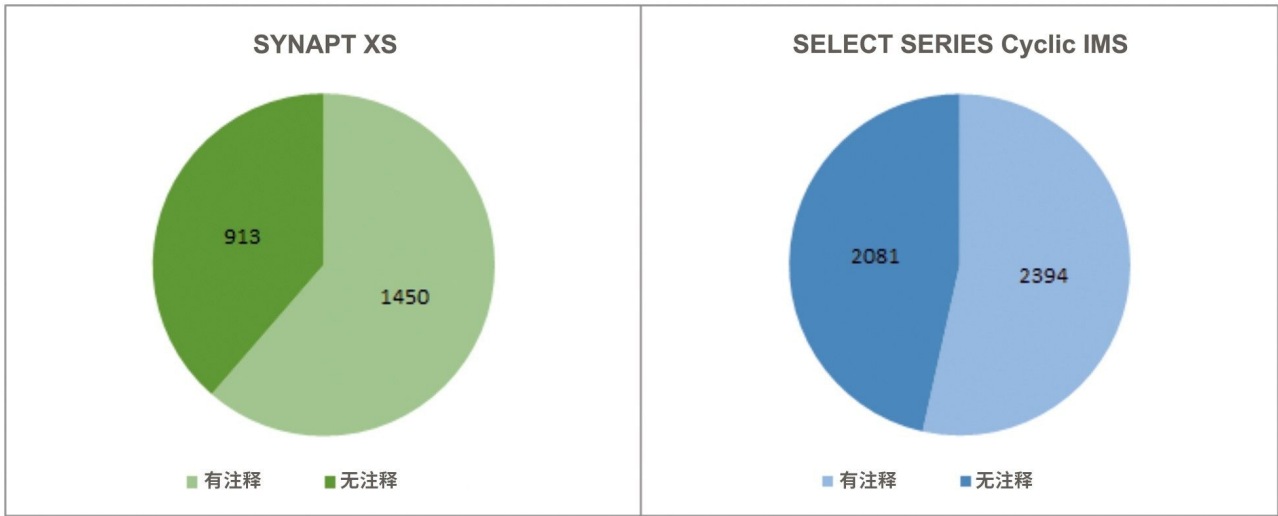


图3. 饼图显示的是SYNAPT XS和SELECT SERIES Cyclic IMS具有和没有暂定数据库注释的特征数量。

结论

SELECT SERIES Cyclic IMS的离子淌度池比较长，淌度分辨率更高，峰容量更大，因此能够更好地分离离子。与SYNAPT XS相比，离子和峰特征提取的数量几乎增加了一倍。通过增加特征检测数量和漂移时间分离，可以提高特征碎片离子的谱图质量，并最终增加可能的数据库注释总数。由此，可以提升最终生物标志物鉴定的可信度和准确性。

参考资料

1. Rainville, P.D., *et al.*, Ion Mobility Spectrometry Combined With Ultra Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry for Metabolic Phenotyping of Urine: Effects of Column Length, Gradient Duration and Ion Mobility Spectrometry on Metabolite Detection. *Anal Chim Acta*, 2017.982: p. 1–8.
2. King, A.M., *et al.*, Rapid Profiling Method for the Analysis of Lipids in Human Plasma Using Ion Mobility-enabled Reversed- phase Ultra-high Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *J Chromatogr A*, 2020.1611: p. 460597.

特色产品

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

SELECT SERIES Cyclic IMS <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135021297>>

SYNAPT XS高分辨率质谱仪 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135020928>>

waters_connect <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>>

720007537ZH, 2022年2月

© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号