

利用Xevo™ MRT多反射超高分辨质谱进行高通量代谢组学分析

张永明，曾玮

沃特世公司

Published on September 02, 2025

摘要

本实验基于Xevo MRT MS成功开发出6 min短梯度高采集速率的方法，凭借该系统超高的质谱分辨率与快速采集能力，相较传统10-20 min的代谢组学采集方法，在保证检测质量不受影响的同时，显著提升了检测效率，为大队列样本的高通量代谢组学研究提供了解决方案。

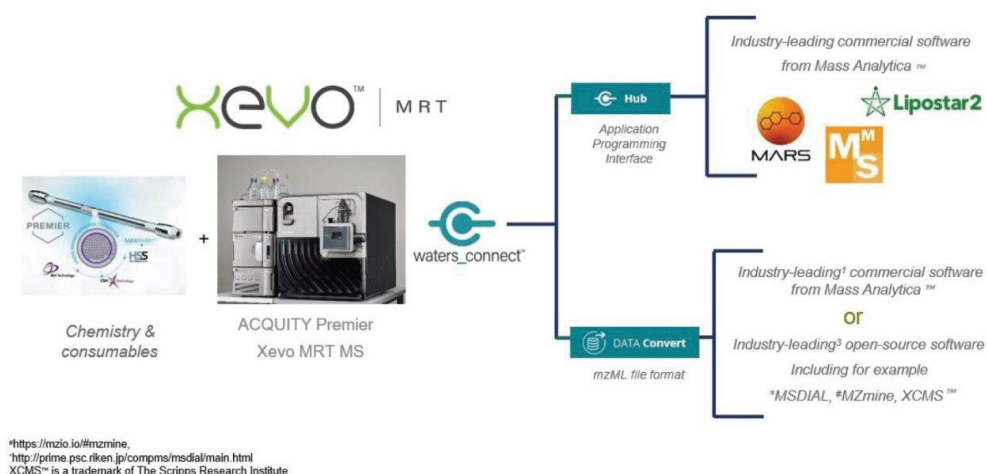


图1. Xevo MRT MS代谢组学工作流程。

样品前处理

- 血清样品取样50 μL ，加入200 μL 预冷的乙腈，振荡10 min；12,000 rpm，4度下离心10 min；取上清液100 μL ，用于LC-MS分析。
- 组织样品及粪便样品取样30 mg，放入钢珠研磨30 s，加入300 μL 预冷的80% 乙腈，振荡10 min；12,000 rpm，4度下离心10 min；取上清液100 μL ，用于LC-MS分析。

产品特点

- Waters Xevo™ MRT MS采用多反射超高 分辨率飞行时间（MRT）技术可在较宽的 m/z 范围内提供始终如一的质谱分辨率和优异的质量精度，即使采集速率高达100 Hz，Xevo MRT质谱仪也能实现高达100,000 FWHM的质量分辨能力与<500 ppb的质量精度。
- ACQUITY Premier™系统与 Premier 色谱柱 采用一体设计，其目的在改善了金属敏感分析物（如磷酸化代谢

物) 的分离和检测, 能够大幅降低未检出分析物带来的风险, 从而提高效率以及结果可信度。

- waters_connect™是专为保障数据可靠性和安全性而构建的信息学平台, 功能灵活, 支持扩展, 助力用户快速取得科研和业务成果; 其 DATA Convert 功能可在数据采集过程中同步生成.mzML 通用格式文件, 该格式兼容 MS DIAL、MZmine 等第三方软件, 实现数据的跨平台应用支持。
- MARS组学软件 (Mass Analytica) 涵盖了 基于LC-MS 的非靶向和半靶向代谢组学所需的所有步骤: 包括数据转换和处理, 峰检测, 统计分析, 自动化MS和MS/MS-based 代谢物注释, 定量和生物通路分析等。

实验方法

液相色谱条件

液相系统:	ACQUITY™ Premier UPLC System
色谱柱:	ACQUITY UPLC™ HSS T3 (2.1 x 50 mm, 1.8 µm)
流动相A:	0.05% 甲酸水
流动相 B:	乙腈
柱温:	40 °C
样品室温度:	10 °C
进样量:	1 µL

梯度

时间 (min)	流速 (mL/min)	A(%)	B(%)	曲线
0.00	0.5	99	1	Initial
0.50	0.5	99	1	6
4.50	0.5	1	99	6
5.30	0.5	1	99	6
6.00	0.5	99	1	1

质谱条件

质谱系统:	Xevo MRT MS
采集模式:	DDA, Top 20
动态排除设置:	Acquire and then exclude for a duration of 2 s
采集范围:	m/z 50-1,200
MS采集速率:	20 Hz
MS/MS采集速率:	50 Hz
离子化模式:	ESI+/ ESI-
离子源温度:	120 °C
脱溶剂气温度:	550 °C
毛细管电压:	0.8 kV
锥口电压:	20 V

锥口气流速: 100 L/hour

脱溶剂气流速: 1,000 L/hour

数据处理软件

使用waters_connect™ 软件进行数据采集，在waters_connect 的MS Toolkit 应用程序中将数据进行可视化，并通过MARS组学软件（Mass Analytica）进行数据处理，使用人类代谢组数据库(HMDB)进行化合物鉴定。

实验结果谱图展示

1. 样品BPI叠加图展示：图2为小鼠粪便样本重复6针进样对应的BPI图，其色谱分离度良好，且谱图重叠性高，表明该方法具有良好的重现性，适用于大队列组学研究。

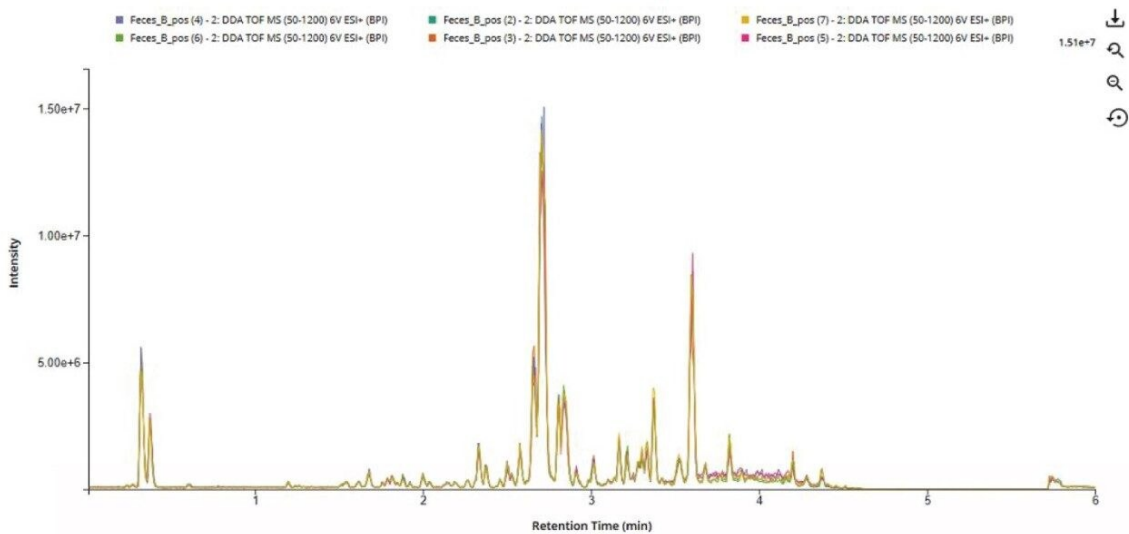


图2. 人粪便样本BPI图。

2. 特定离子色谱图和质谱图展示：本实验使用50 mm的短柱结合0.5 mL/min较高的流速进行数据采集，色谱峰较窄，其中以利血平正离子 m/z 609.2807@2.78 min为例，其色谱峰宽5 s左右，可以采集到10个点，见图3a；提取实际样本中利血平连续6针的EIC图，其谱图叠加良好，RSD=2.37%，满足相对定量的要求，见图3b；为实现上述定量采点数的需求，采用较高的质谱采集速率(MS 20 Hz, MS/MS 50 Hz)进行数据采集，其中利血平对应的MS和MS/MS谱图见图3c，其母离子对应的分辨率在8万以上，显示出Xevo MRT MS超高的质谱分辨率且不受采集速率的影响。

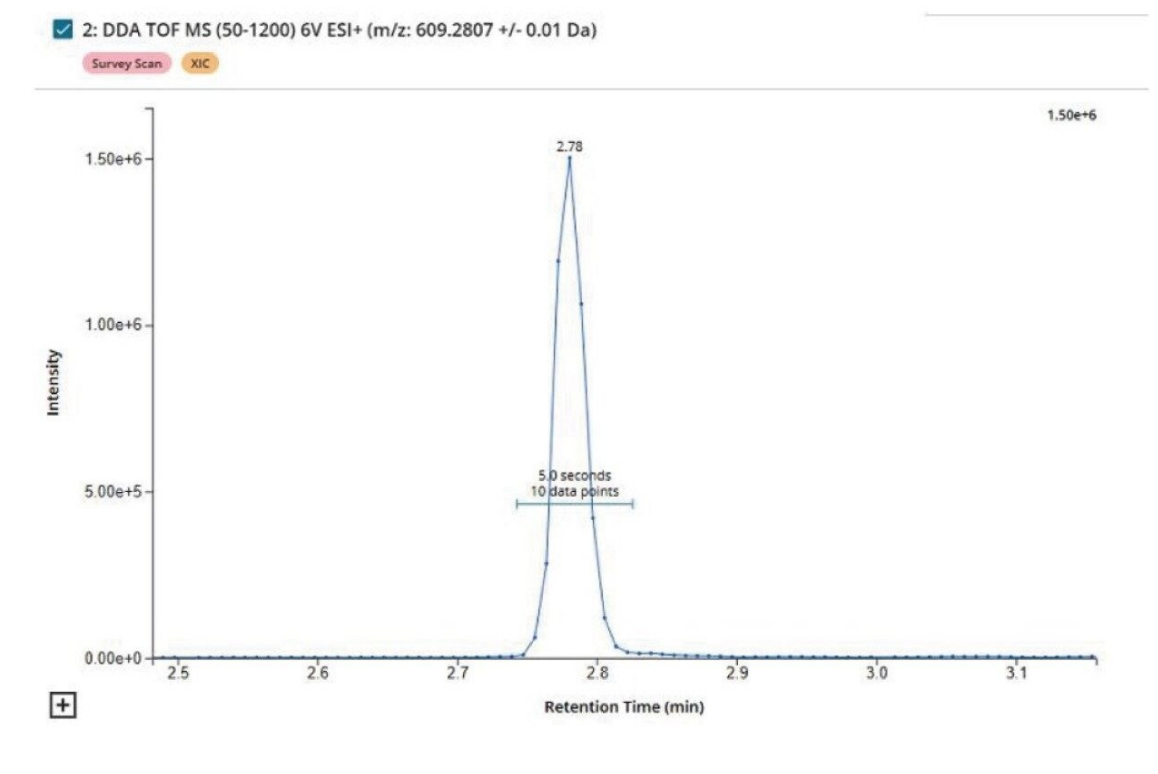


图3a. 利血平正离子EIC图。

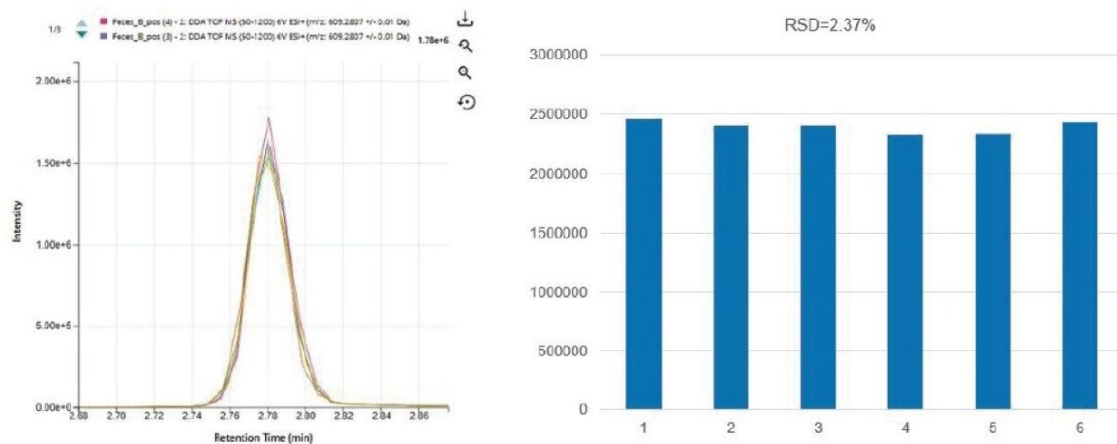


图3b. 连续6针进样利血平重现性。

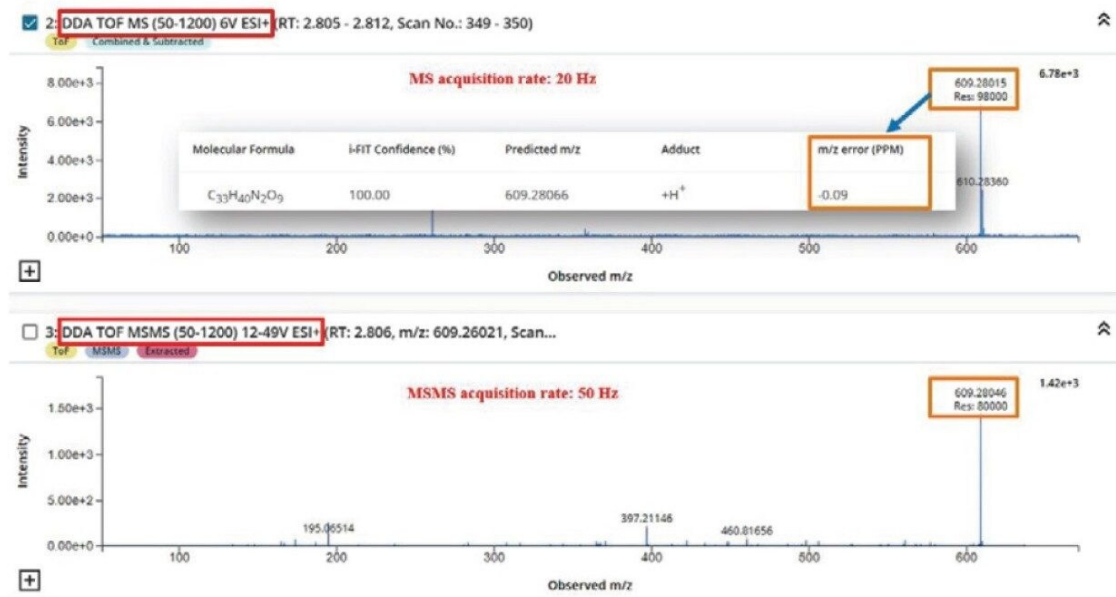


图3c. 利血平MS及MS/MS谱图。

3. 样品MS/MS谱图展示，见图4：Xevo MRT MS的高灵敏度和采集速度，可以提供足够多高质量的MS/MS 谱图，用于后续的鉴定；如下图所示，样品在约0.01 min的时间窗口内(2.766-2.775 min)可以采集到18张MS/MS谱图，单针6 min的检测时长，可以采集到接近10,000张MS/MS谱图。

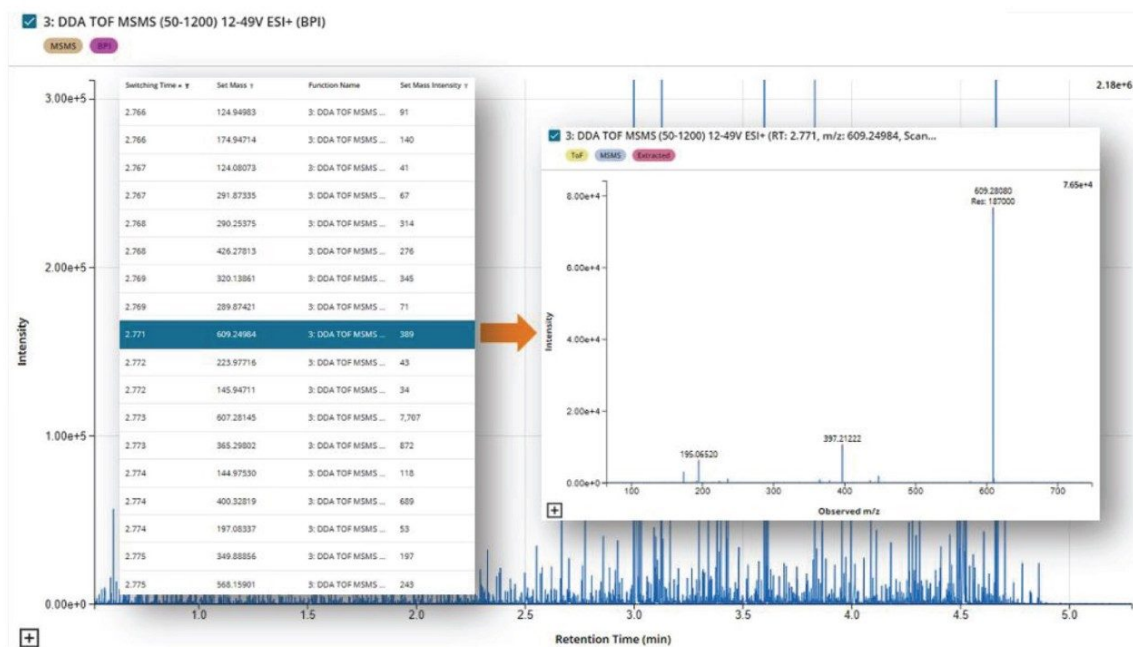


图4. 样品MS/MS谱图展示。

MARS数据分析

1. 峰提取结果查看，见图6：使用MARS组学软件进行数据处理，共提取到13710个化合物，其中6,565个化合物得到MS/MS，MS/MS覆盖率接近50%。

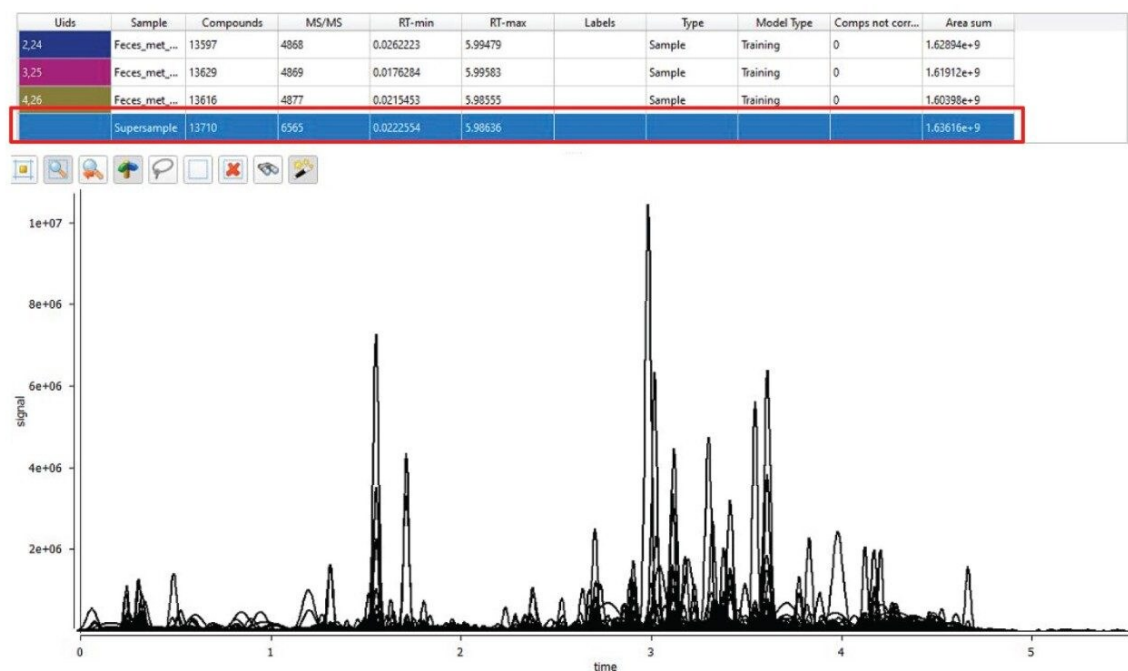


图5. MARS组学软件峰提取结果。

2. 数据过滤及化合物鉴定，见图6：可以选择对上述数据进行过滤（MS/MS过滤，空白过滤），使用HMDB 数据库进行搜库鉴定（包含217,753个化合物，50,412张MS/MS），最终有4,915个化合物可得到鉴定结果，其中质量偏差在2 ppm以内的化合物有3,623个；其中以离子m/z 203.0825@1.53 min为例，鉴定结果为色氨酸，它常被视为肠道菌群代谢活性的特征代谢物之一，其质量偏差为 300 ppb。

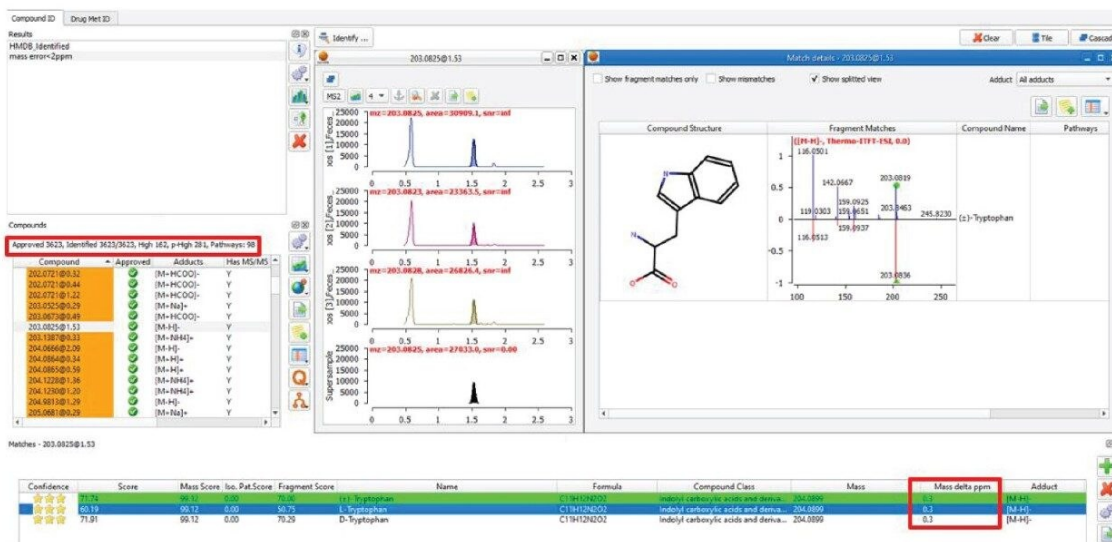


图6. 使用HMDB数据库搜索后得到的鉴定结果。

3. 分别使用三种不同的采集方法对小鼠的心、肝、脾、肺、肾、血清、粪便样本进行测试，具体采集参数见表1，可以看到三种方法对于各类型样本的代谢物检出数量均在1,000+以上（化合物均包含MS/MS, 质量偏差在2 ppm以内）；其中相比传统的12min_top10方法，使用6min_top20的方法整体获得了更优的检出数量，见图7，表明Xevo MRT具有相当高的灵敏度和扫描速度，适用于创建短梯度高采集速率的方法，用于高通量代谢组学的研究。

	6min_top10	12min_top10	6min_top20
色谱柱	T3 50 mm	T3 100 mm	T3 50 mm
流速	0.5 mL/min	0.4 mL/min	0.5 mL/min
检测时长	6 min	12 min	6 min
一级采集速率	20 Hz	10 Hz	20 Hz
二级采集速率	20 Hz	20 Hz	50 Hz
采集模式	DDA TOP 10	DDA TOP 10	DDA TOP 20

表1. 三种采集方法各自对应的参数。

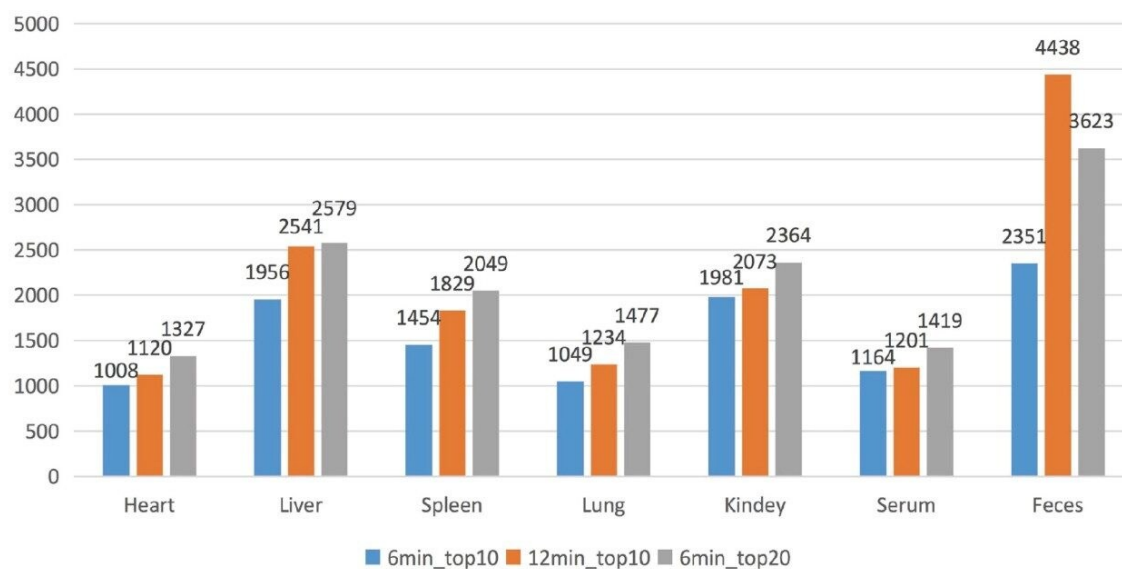


图7. 不同类型生物样本在三种采集方法下代谢物的鉴定数量。

实验结论

本实验采用ACQUITY Premier UPLC-Xevo MRT MS进行DDA模式采集，结合代谢组学软件对小鼠不同类型样本进行代谢组学分析：

- Xevo MRT MS采用多反射超高分辨率飞行时间（MRT）技术可在相当高的扫描速度下提供始终如一的 质谱分辨率：采用MS 20Hz, MS/MS 50Hz进行数据采集，小鼠粪便样本连续6针进样谱图叠加良好，其中以利血平正离子 m/z 609.2807@2.78 min为例，其一级和二级母离子对应的分辨率皆在8万以上，且6 针 RSD=2.37%，满足相对定量要求；
- Xevo MRT系统的高灵敏度、采集速度和质量精度，保证了MSMS覆盖率和化合物鉴定数量：使用DDA TOP20进行采集，单针6 min的检测时长，可以得到接近10,000张MS/MS谱图；使用Mars组学软件进行数据处理，小鼠粪便样本可以提取到13,710个化合物，其中6,565个化合物得到MS/MS，MS/MS覆盖率接近50%；使用HMDB数据库进行搜库，最终有3,623个化合物可得到鉴定结果；
- 使用三种不同的采集方法对小鼠不同类型样本进行测试，代谢物检出数量均在1,000+以上；其中使用 6 min_DDA Top20的方法整体获得了更优的检出数量（代谢物均包含MS/MS谱图且母离子质量偏差 <2 ppm）表明Xevo MRT MS具有相当高的灵敏度和扫描速度，适用于创建短梯度高采集速率的方法，用于大队列样本的高通量代谢组学研究。

参考文献

1. MARS: A Multipurpose Software for Untargeted LC-MS-Based Metabolomics and Exposomics.” *Analytical Chemistry* 96.4(2024):1468–1477
2. Goracci, Laura , et al. “Lipostar, a Comprehensive Platform-Neutral Cheminformatics Tool for Lipidomics.” *Analytical Chemistry* (2017):acs.analchem.7b01259.
3. Gall, Le , et al. “Metabolomics of fecal extracts detects altered metabolic activity of gut microbiota in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome.” .

特色产品

Xevo MRT Mass Spectrometer <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry/mass-spectrometry-systems/xevo-mrt.html>>

720008981ZH, 2025年7月



© 2025 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私声明](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)
[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)