

基于CyESI-Xevo MRT技术的单细胞代谢物高通量分析方法

杜沐蓉^a, 许译升^b, 余剑岚^b, 张四纯^a

^a清华大学化学系

^b沃特世公司

Published on October 10, 2025

前言

在复杂生物体的生命活动中，不同类型的细胞发挥着各自特定的作用。对单个细胞进行分析，研究它们之间的差异能帮助我们深入了解细胞特性、发育状态和功能变化，为代谢疾病的预防、诊断和治疗开辟新途径。

质谱流式技术结合了流式细胞术的高通量优势和ICP-MS的多参数检测能力，成为研究细胞代谢异质性的有力工具。然而，传统技术依赖荧光探针或质量标签间接检测，小分子代谢物难以与标记物稳定结合，所以无法有效分析小分子代谢物这一细胞活动的关键指标。尽管现有技术能提供基因组等组学数据，但单细胞代谢物的分析受限于复杂的单细胞取样，以及质谱仪的扫描速度和分辨率等的影响，导致检测通量严重不足。亟需开发更高效的、高通量且高覆盖度的单细胞代谢分析方法来真实反映细胞状态。

CyESI-MS (Cyto-Electrospray Ionization Mass Spectrometry) 是一种无标记、高通量、高覆盖度的单细胞代谢组学分析技术，其核心是将流式细胞术与电喷雾电离质谱结合，实现对单细胞代谢物的实时在线检测。单细胞代谢物研究面对海量细胞群体及复杂的亚型，这要求分析方法必须具备高通量特性，以实现大量样本的高效处理与分析，以及对稀有细胞的精准搜寻。CyESI结合Xevo™ MRT 质谱仪高分辨率、高灵敏度和高扫描速度的检测能力，可显著提升单细胞代谢物分析的可靠性和通量。

仪器技术特点介绍

Xevo™ MRT “高灵敏度-高分辨率-快速扫描” 三维一体的性能优势正推动单细胞分析技术向更高通量、更高覆盖度的更深层次发展，尤其适用于临床样本中细胞的快速代谢分型。

实验条件

细胞进样与电离

细胞进样前使用140 mM甲酸铵水溶液彻底冲洗细胞进样通道，并以甲醇鞘液清洗中间层毛细管。待背景总离子流图（TIC）稳定后，以1 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速将细胞悬液注入装置。正离子模式下鞘液添加1%甲酸（体积比）并施加+2.3 kV高压。载气压力优化至0.6 MPa以确保信号强度最大化。

样品制备

细胞培养到最佳悬浮状态后，从培养在25 mL培养瓶的细胞中吸取2 mL细胞溶液，平均分配至两个1.5 mL Eppendorf离心管中，以1,300 rpm转速离心3分钟，去除培养基。加入140 mmol/L的甲酸铵溶液将细胞吹散下来，在1,300 rpm的转速下离心3分钟，去除掉甲酸铵溶液，再用干净的甲酸铵溶液重悬两次后作为细胞储备液。使用细胞计数仪对储备液进行计数后，用等渗甲酸铵溶液将细胞悬液稀释到需要的浓度。

质谱条件

质谱系统:	Xevo MRT
离子化模式:	ESI+
采集方式:	MS
采集范围:	m/z 50–1,200
扫描频率:	50 Hz和100 Hz

结果与讨论

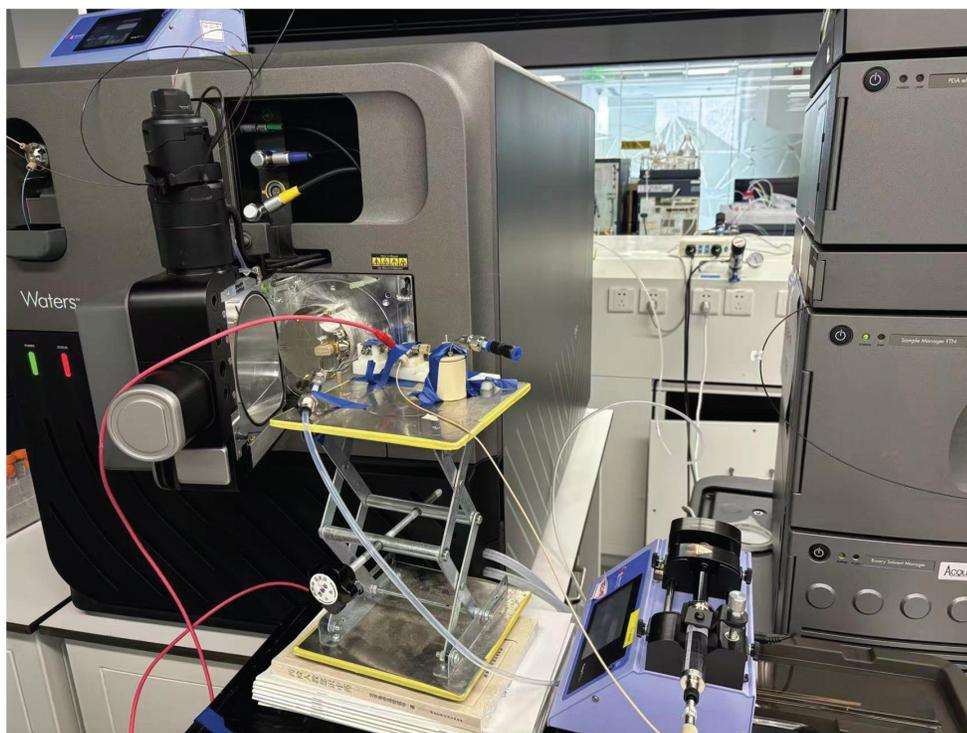
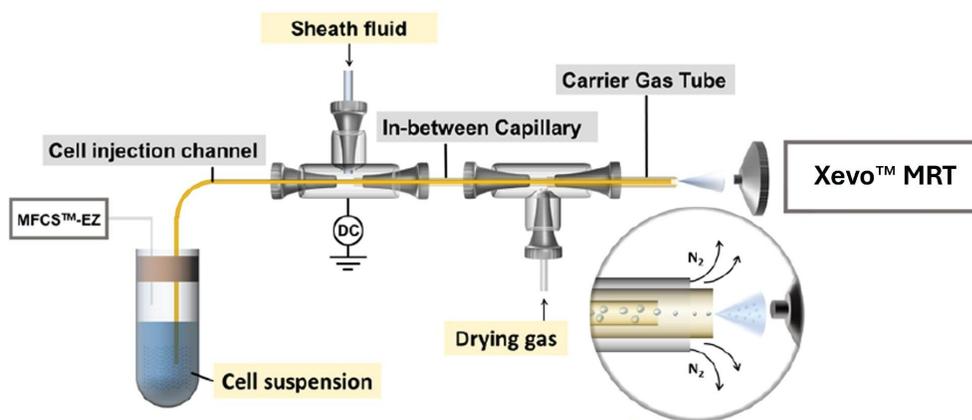


图1. CyESI-Xevo™ MRT系统示意图。

CyESI-MS由四个主要部分组成（图1）：细胞悬液传输系统、用于分散细胞并提取代谢物的鞘液系统、电喷雾电离接口以及Xevo™ MRT 质谱仪。细胞悬液以恒定流速泵入装置，鞘液使细胞线性聚焦。当细胞与鞘液接触时，其内容物被在线提取。细胞在鞘液中流动时的相互作用时间决定了提取效率和单细胞分辨率。当细胞悬液和鞘液的流速固定时，细胞注射通道出口与中间毛细管之间的间距成为影响相互作用时间的唯一因素。经过详细优化，最终选择5 mm作为最佳接触距离，对应的相互作用时间约为0.86秒。在毛细管出口处，通过电极对鞘液施加2.3 kV 直流电压以形成稳定的电喷雾。氮气在外部毛细管与中间毛细管之间输送，以促进溶剂蒸发。细胞在气体辅助电喷雾电离过程中裂解，从而确保代谢物更完全地提取。

单个细胞的多种离子被Xevo™ MRT 质谱仪检测，在质谱扫描速率100 Hz条件下，系统检测通量达到253.5个细胞/分钟，远高于传统单细胞质谱方法~50个细胞/分钟¹。后续通过进一步优化细胞悬液流速及细胞引入技术，细胞通量有望进一步大幅度提升至每分钟一千个细胞。如图2所示脉冲信号间隔清晰，无重叠，表明系统具备连续高通量分析能力。

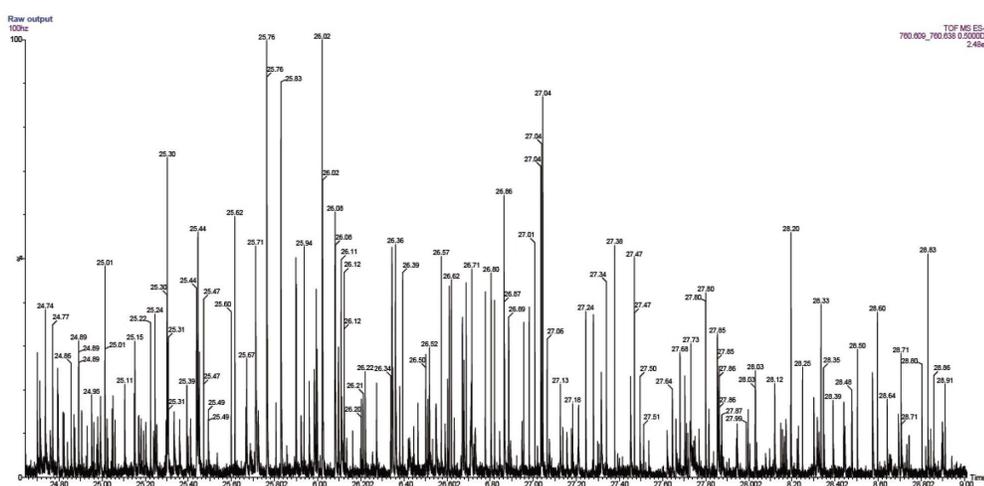


图2. 正离子模式PC34:1的提取离子流色谱图。

Xevo™ MRT 超高灵敏度（fg级检测限）能够有效捕获单细胞中极微量的代谢物（图3），解决了传统质谱技术在低丰度代谢物检测中的信号丢失问题。该仪器通过创新MRT技术显著提升了离子传输效率，在保持100Hz高扫描速度的同时不牺牲灵敏度，这一特性使其能够检测到单细胞中传统方法难以捕捉的低信号分子。

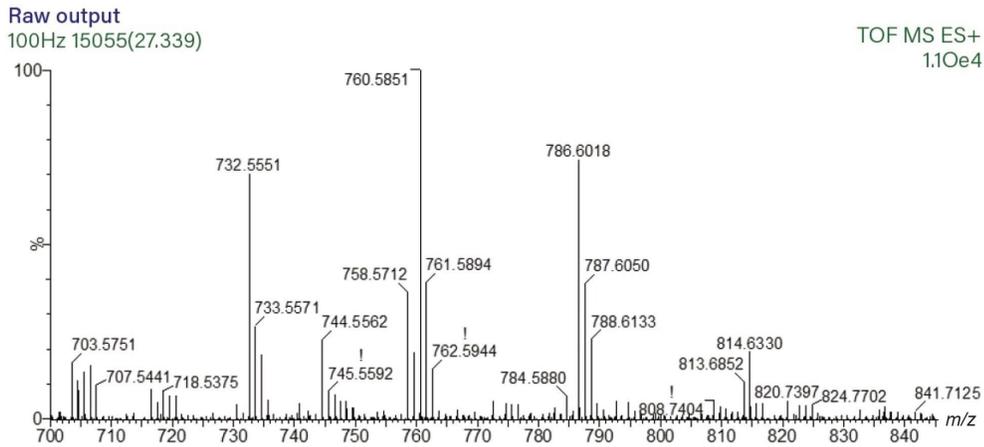


图3. 单细胞代谢物质谱图 (100Hz)。

Xevo™ MRT 在单细胞分析中展现出卓越的高分辨率优势，在高扫描速度下 (100Hz) 依然保持 >100,000 (FWHM) 的超高分辨率 (图4)，这一性能指标远超常规质谱仪器。结合其 fg 级的超高灵敏度，有效解决了传统质谱技术在单细胞分析中面临的“高扫描速度与高分辨率和高灵敏度不可兼得”的技术困境。为单细胞代谢异质性研究提供了前所未有的高精度数据支持，这些突破性能使 Xevo™ MRT 成为当前单细胞代谢物研究的最有力工具之一。

174,914

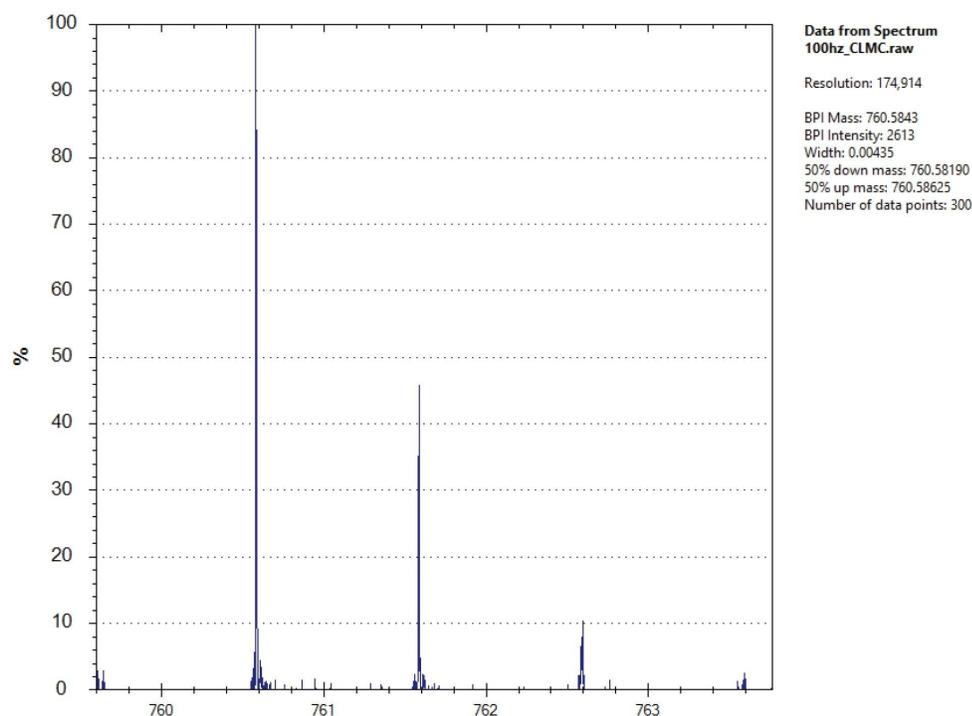


图4. 100Hz扫描速度下单细胞代谢物PC34:1分辨率为174,914(FWHM)。

实验结论

细胞群体中存在显著的代谢异质，即使是基因型相同的细胞也可能因微环境、细胞周期、分化状态等因素而具有不同的代谢特征。若要准确揭示这种异质性，必须对大量单细胞进行分析，否则结果可能不具有统计代表性。高通量是实现单细胞代谢组学从“原理验证”走向“实际应用”的关键，尤其是在临床样本分析、肿瘤异质性研究、药物响应评估等需要处理大量细胞的场景中。CyESI与Waters Xevo™ MRT的联用，特别适用于细胞的快速代谢分型。通过每分钟成百上千个细胞的高通量检测，结合每个细胞的一级质谱轮廓，可在无标记条件下快速识别不同细胞亚群的代谢特征，为单细胞代谢物分析提供了更高通量、更高效的解决方案，显著提升了质谱流式技术在复杂生物研究中的实用性，为细胞异质性研究提供了全新工具。

参考文献

1. H. Yao et al., 'Label-free Mass Cytometry for Unveiling Cellular Metabolic Heterogeneity' , *Anal Chem*, vol. 91, no. 15, pp. 9777-9783, Aug. 2019, doi: 10.1021/acs. analchem.9b01419.

特色产品

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

720009016, October 2025



© 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