

# TriVersa NanoMate® 多通道纳喷源 Q&A 第 1 期

## 1. 什么是 TriVersa NanoMate® 多通道纳喷源?

TriVersa NanoMate® 多通道纳喷源，是美国 Advion 公司于 2002 年初推出的基于多通道芯片技术的全自动纳升电喷雾离子源，也属新一代电喷雾质谱的多通道进样系统，特别适合药物及其代谢物、蛋白质、脂质、抗体、ADCs 等样品的高通量分析、组学研究、药物研发、临床分析、精准医学、生物标志物发现与验证等等。

## 2. TriVersa NanoMate® 的功能是什么？应用范围有哪些？

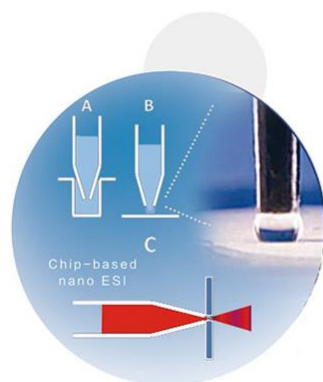
五合一功能，简述为：

1) 纳升注射分析 (nano infusion)：全自动 nanoESI 离子化，无需清洗，可无人值守；连续分析达 400 个样品，无残留无交叉。应用于脂质组学、代谢组学、非共 (non-covalent) 作用、Native MS、PTM、ADCs、Histone、Intact Protein，等等。

2) nanoLC-MS 接口：无缝联接 nanoLC 与质谱，电流感应在在线监视喷雾连贯性，可 3 秒自动移换喷雾针，实现全自动、无间断运行。应用于核心蛋白质组学及临床蛋白质组学。

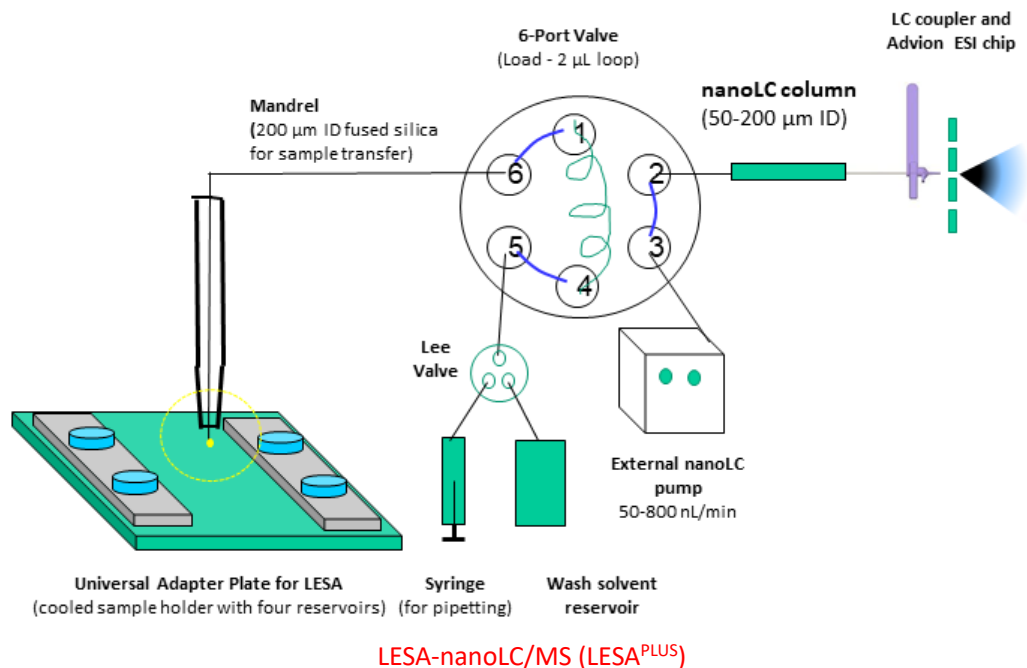
3) 在线馏分收集：同步收集的色谱馏分可再以纳升注射分析，长时间累加信号，提升信噪比。用于发现痕量成分，如低丰度代谢物和低丰度蛋白或肽段。

4) 实施液滴萃取表面分析 (LESA)：通过吸取少量溶剂 (1  $\mu\text{L}$ ) 对样品表面的指定位置进行微萃取，再行纳升注射分析，获取化合物的表面分布或轮廓信息。应用于组织切片实现小分子、蛋白、脂质等的无基质成像分布分析、材料表面分析、MALDI 板再分析，等等。



以 LESA 模式对组织或 TLC 薄层板表面萃取分析

5) 实施 LESA<sup>PLUS</sup>，即通过吸取少量溶剂 (1  $\mu\text{L}$ ) 对样品表面的指定位置进行微萃取后，萃取液再以六通阀引致微升柱或纳升柱分离和在线 nanoLC-MS 分析，实现复杂体系的组学或成像分析。



### 3. TVNM, LESA 和 LESA<sup>PLUS</sup> 各代表什么？

TVNM 即 “TriVersa NanoMate” 的缩写，多通道纳喷雾源；

LESA 即液滴萃取表面分析（Liquid Extraction Surface Analysis）；

LESA<sup>PLUS</sup> 是在 LESA 基础上的最新升级，可通过微升 MicroLC 或纳升 NanoLC 随后在线对萃取液实行分离并实时质谱检测，对复杂体系、抗体分析、蛋白分析等添加新的第四维度的分离。

### 4. 与常规电喷雾离子化（ESI）或常规 LC-MS 液质相比，TVNM 的优势在哪里？

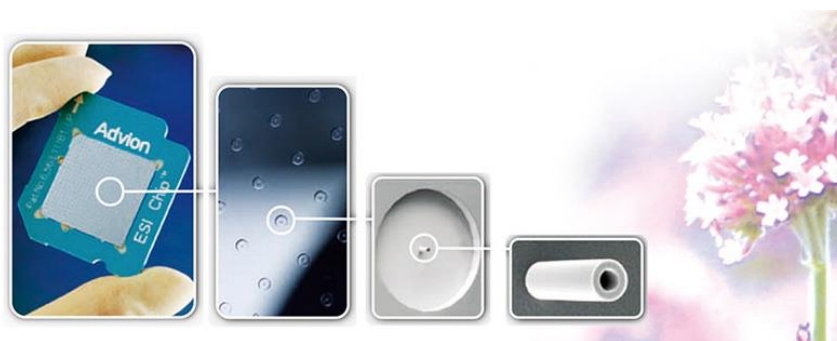
与常规 ESI 相比，TVNM 有诸多无可比拟的优势，比如：

- 1) TVNM 是基于纳升电喷雾（nanoESI）原理，在脱附、去溶剂、雾化和离子化效率等方面均明显优于 ESI，如更耐盐、耐基质等等。
- 2) TVNM 的喷雾流速（20-500 nL/min）远低于常规液质 LC/MS（几百 μL/min 到 1 mL/min），即使样品量只有几微升，仍可充分利用并拉长分析，发挥质谱潜能。
- 3) 最长可实现数十分钟的持续喷雾，能充分利用所联接质谱的多种关联扫描或信号累加功能。常规 LC/MS 无法做到。
- 4) 实现纳喷阵列！多至 400 个半导体工艺喷嘴，经四十道精密加工工艺制成的芯片，喷雾重现。

## 5. 与传统的纳升电喷雾 nanoESI 及 nanoLC-MS 相比, TVNM 的优势在哪里?

与传统的 nanoESI (以及 nanoLC-MS) 相比, TVNM 更多优势, 比如:

1) TVNM 的核心是硅基喷雾芯片, 上面均匀分布着 400 个精密加工的喷嘴, 加工过程的高度一致性使喷雾的重现性大大提高。而且喷嘴是一次性使用, 确保零残留。



多通道喷嘴, 高度重现

2) 传统纳喷的电场位于喷针和质谱进样口之间, 而 TVNM 以喷嘴做反电极(长度为 55  $\mu\text{m}$ , 传统喷针约 5 cm,  $\sim 1000$  倍的长度差异!), 在喷嘴内的溶液和喷嘴外壁之间形成极强且稳定的电场, 强度远高于传统纳喷, 显著提升离子化效率, 尤其对高水含量和含缓冲液 Buffer 的抗体药及偶联物 ADCs 等的离子化效率极高, 获取传统 nanoESI 难以实现的质谱信号。

3) 全自动进样, 无需人工干预。

4) 高通量, 每天可处理几百个样品, 对组学如代谢、脂质、酶反应监测等等研究有特效。

4) 喷雾不易中断 (有独特的 Spray Sensing 功能), 稳定性高, 显著提升数据质量和定量准确度。

5) 在线同步馏分收集功能, 对低丰度蛋白质、代谢物和脂质等非常有效。

6) 液滴萃取表面分析, 可以对脂质、次生代谢物、蛋白质、药物或代谢物进行分布轮廓分析。这些是 nanoLC-MS 无法实现的。

7) 样品盘可设定低温至 4°C 保护生物样品及组织。

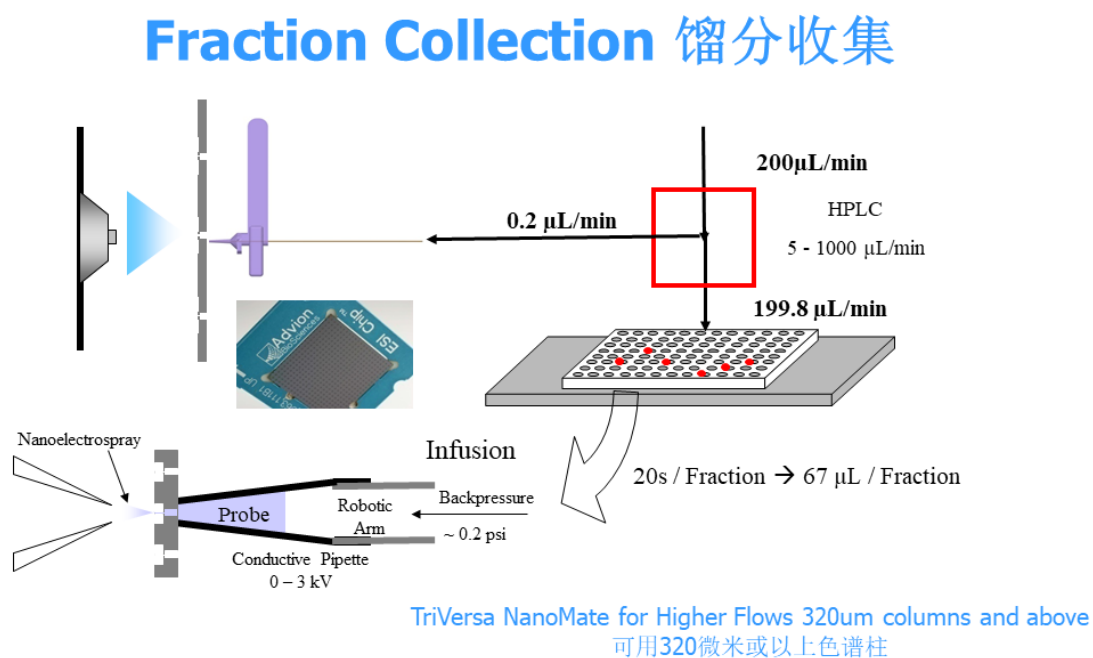
## 6. 芯片上的喷嘴是怎么适应不同流量的? 如何应对堵塞?

有三种不同内径的喷嘴供选择, 分别是 2.5  $\mu\text{m}$  (20-60 nL/min)、4  $\mu\text{m}$  (60-250 nL/min) 和 5  $\mu\text{m}$  (200-500 nL/min)。工作站通过“喷雾电流感应”(spray sensing) 功能自动识别喷嘴是否堵塞, 一旦发生可在 3 秒内自动移至下一个喷嘴。

## 7. 馏分收集是如何工作的？

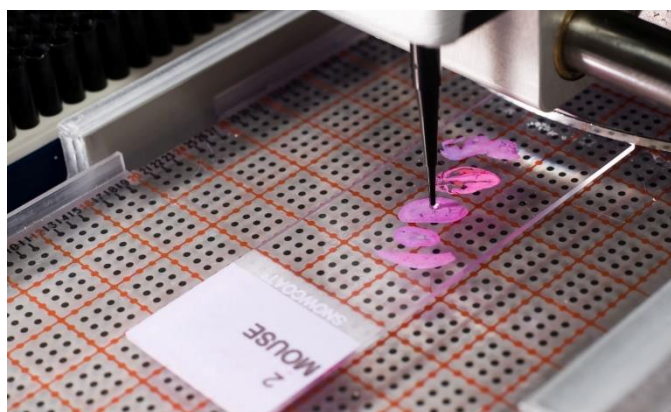
TVNM 的馏分收集功能类似于制备液相，可在指定的时间段对经过 LC 分离的组分按设定的时间间隔（如每隔 20 秒，收集 67 微升）进行收集。各项参数，如起始时间、采集间隔、采集时长等均在软件中设定，与 LC 同步操作，自动进行。

计算机自动识别对应色谱峰的馏分部位，并在线启动 nanoInfusion 纳升注射分析；或保存后，后续进行离线分析。



## 8. LESA 是如何工作的？

LESA 首先用扫描仪将样品（动植物组织切片、中药、薄层板、干血斑等平面类样品）扫描成图片，然后通过鼠标点击指定取样位置，软件会将所有的取样位置和对应的仪器方法保存成序列，再配合质谱的序列同步自动运行。



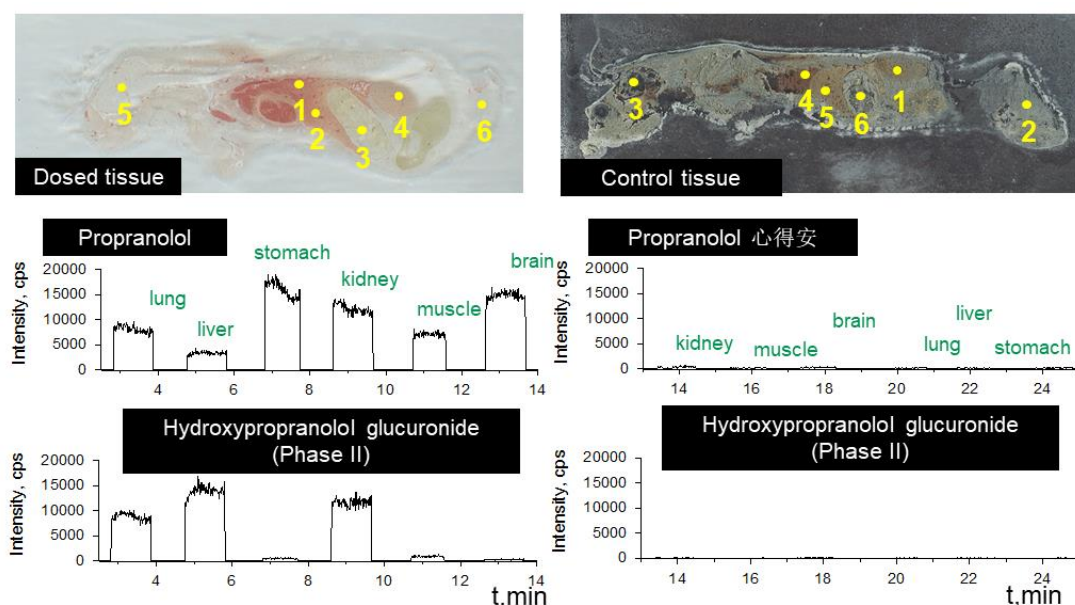
LESA: Drug Profiling 器官切片药物分布

## 9. LESA 能否用于成像研究？

可以。液滴萃取表面分析（LESA）通过精确定位采样点，用  $1\mu\text{L}$  左右的溶剂对样品表面进行微萃取，再对萃取液进行质谱分析，不涉及真空和基质的使用。LESA 的空间分辨率通常为  $0.6\sim 1\text{ mm}$ ，最新的 LESA<sup>PLUS</sup> 约  $400\mu\text{m}$ ；LESA<sup>PLUS</sup> 更通过 microLC 或 nanoLC 对基质和待测物进行进一步分离，提高了复杂体系的检测分辨能力。

## 10. LESA 除了成像，还能做什么？

LESA 对代谢组学、脂质组学、蛋白质组学、抗体分析，尤其是热门的抗体药物偶联物(ADCs)、非共作用 (Non-Covalent)、药物分布分析、次生代谢分析等等都有广泛且成熟的应用，几无缺点。最近发表的数据，首次报导了 LESA 完成 80 万 Da 分子量的蛋白质复合物的分析。这是其他 ESI 或 nanoESI 较难以实现的。



LESA 检测小鼠的体内药物代谢分布

## 11. 微生物检测是否能通过 TVNM 实现？

可以。一些近期发表的文献报道了通过 LESA 对单独/共培养的细菌和真菌中的蛋白质、抗生素、代谢产物和毒素进行原位分析。（详情来函）

## 12. 如果初期没有订购 LESA，仅购买了 TVNM 源，以后可以升级吗？

早期的三合一功能的 TVNM 源，可以升级为 LESA 及 LESA<sup>PLUS</sup>。LESA 是一项独立功能，即使前期没有，也不影响后期添加。



### 13. TVNM 与质谱的兼容情况？

TVNM 在主流质谱厂商，如 Thermo、Agilent、SCIEX、Waters、Bruker、Shimadzu 的轨道阱、QTOF、FT、三重四级杆、混联质谱等的各型质谱上均可安装。

### 14. TVNM 适用的分子量范围是多少？

TVNM 对有机小分子和蛋白等生物大分子均适用。据文献报道，通过 Native LESA-MS 检测到的 tetradecameric GroEL 已达 ~800 kDa（分子量达 80 万 Da）。这一质量范围是其他 nanoESI 及 nanoLC-MS 或常规 LC-MS 技术极难实现的。

### 15. TVNM 适用于哪些组学相关的研究？

很多，如脂质组学、代谢组学、植物次生代谢、糖组学、PTM、核心蛋白质组学等。如广为人知的“鸟枪法脂质组学”（Shotgun Lipidomics）即是以 TVNM 为重要的基础技术支撑。



LESA 直接分析植物根系，研究发育过程

### 16. 动物如小鼠全身冷切片可以行使 LESA 无基质成像吗？组织会融化变质吗？

可以（1）行使全身冷切成像；（2）组织不会融化变质。动物体如小鼠全身冷切片，放置在 LESA 载样板上，载样板或样品盘的温度可以保持在低温如 4℃，配合 LESA 进程，避免出现过热或（像其他质谱成像技术那样容易发生的）组织表面因融化引起的凹凸不均质的现象发生，保障成像分析稳定重现。

### 17. LESA 无基质成像可以定量吗？如何实现的？

LESA 可以做到（1）相对定量成像；（2）绝对定量成像。外标法可判定药物（及代谢产物）在不同部位的相对浓度水平，做到相对定量；有的研究组利用喷涂仪，均匀喷涂内标，获取不同部位的（药物/内标）浓度比，相对定量；最近有学者开始尝试内标（如同位素内标）添加至组织后匀浆再冷冻及切片，和非匀浆法比对，验证绝对定量方法可行性。

#### 18. LESA 能否用于环境比如 PM2.5 的研究?

可以。已经见报诸多 LESA 用于环境毒理学研究的成果。某个研究组利用 LESA 实现了 PM2.5 颗粒物胶带的灵敏分析，剖析了颗粒物的化学组成。详情请来函索取。

#### 19. TVNM 目前的应用情况如何?

TVNM 多通道纳喷源技术已经在 800 多个全球顶尖的实验室安装使用，这些实验室包括美国 NIH 等政府实验室；知名大学和研究机构如 FTMS 质谱发明人 Alan G. Marshall 实验室、Max-Planck 研究所、脂质组学大师 MPI 的 Andrej Shevchenko 实验室、伯明翰大学、ETH、宾州大学、斯坦福大学、PNNL、英国皇家学院、慕尼黑大学、剑桥大学、nanoESI 发明人 Mann Mathias 实验室、UC 戴维斯、波士顿大学、协和、生物物理所、中医药大学、大化所、蛋白质中心、出入境检验检疫中心、等等；跨国公司如 Amgen、诺华、Roche、Merck、GSK、BMS、杜邦、等等。