

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?

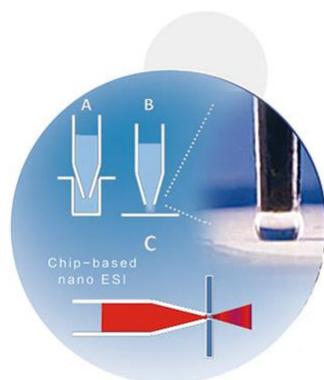
五合一功能，简述为：

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。

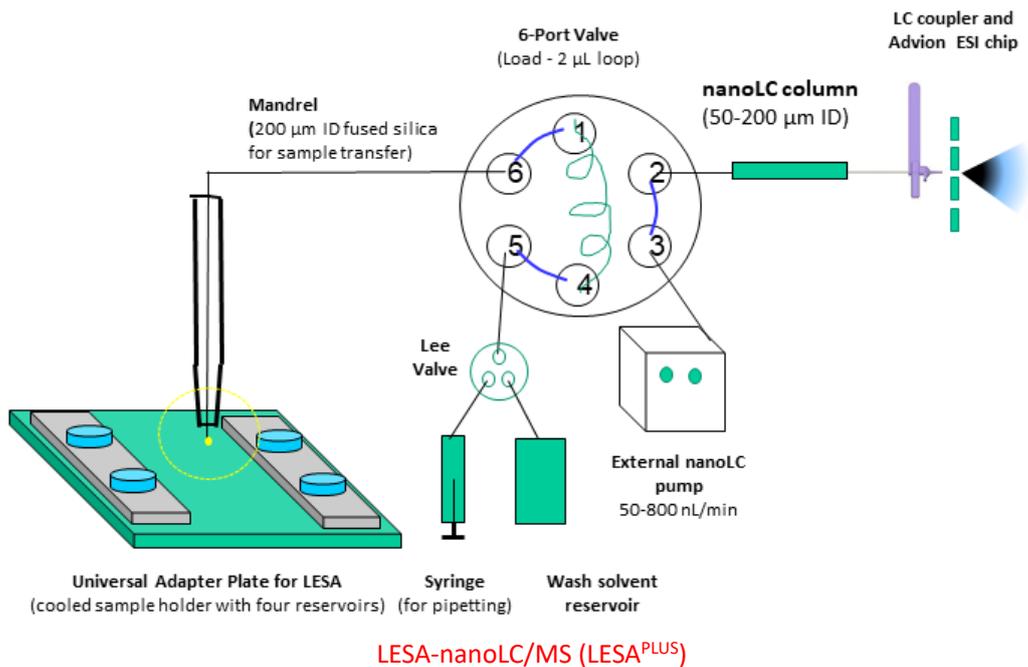
3) 在线馏分收集：同步收集的色谱馏分可再以纳升注射分析，长时间累加信号，提升信噪比。用于发现痕量成分，如低丰度代谢物和低丰度蛋白或肽段。

4) 实施液滴萃取表面分析 (LESA)：通过吸取少量溶剂 (1 μL) 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^{PLUS}，即通过吸取少量溶剂 (1 μL) 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^{PLUS} 各代表什么？

TVNM 即“TriVersa NanoMate”的缩写，多通道纳喷雾；

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

LESA^{PLUS} 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 $5\ \text{cm}$, ~ 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?

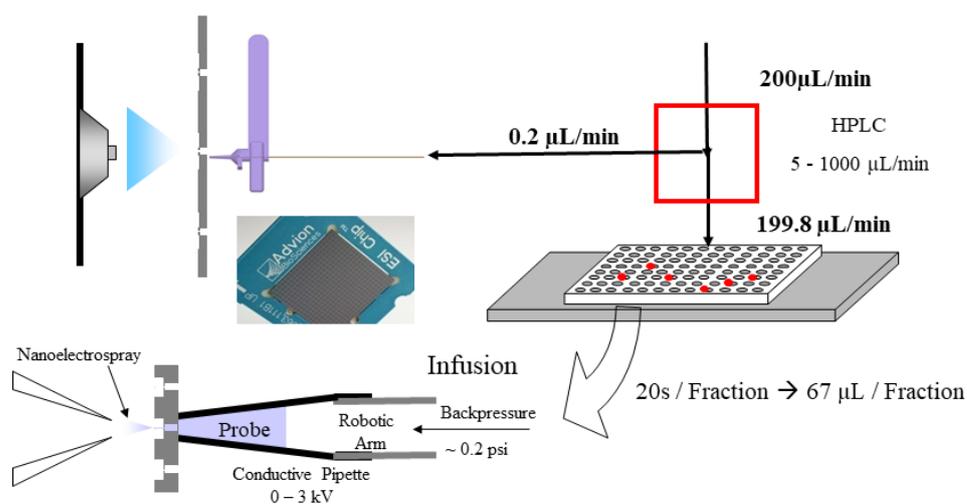
有三种不同内径的喷嘴供选择, 分别是 $2.5\ \mu\text{m}$ ($20\text{-}60\ \text{nL}/\text{min}$)、 $4\ \mu\text{m}$ ($60\text{-}250\ \text{nL}/\text{min}$) 和 $5\ \mu\text{m}$ ($200\text{-}500\ \text{nL}/\text{min}$)。工作站通过“喷雾电流感应”(spray sensing) 功能自动识别喷嘴是否堵塞, 一旦发生可在 3 秒内自动移至下一个喷嘴。

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。

Fraction Collection 馏分收集



TriVersa NanoMate for Higher Flows 320 μm columns and above
可用320微米或以上色谱柱

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。



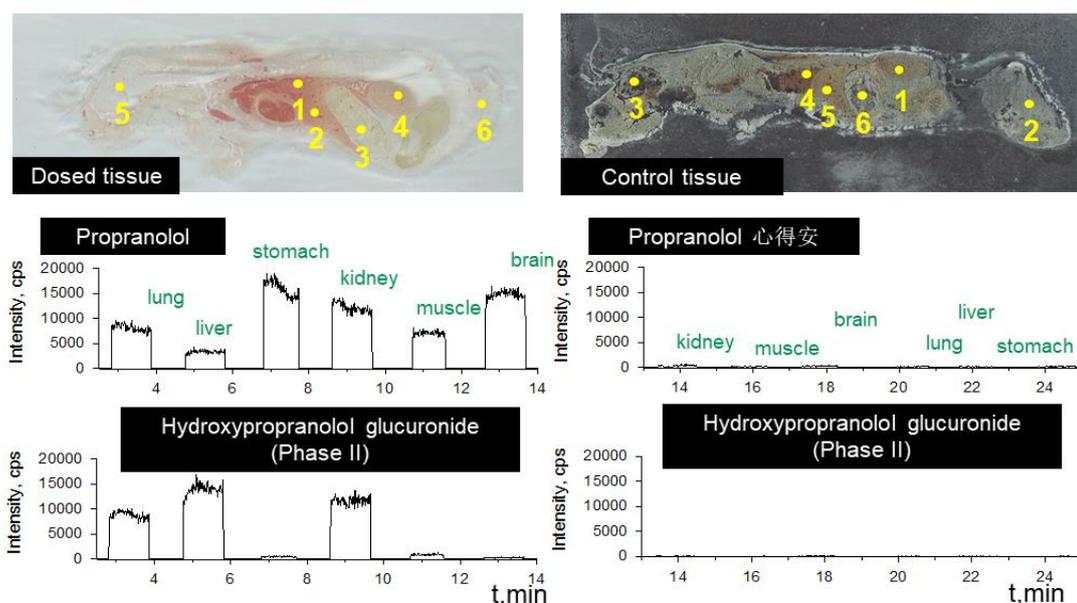
LESA: Drug Profiling 器官切片药物分布

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^{PLUS} 约 $400\ \mu\text{m}$; LESA^{PLUS} 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^{PLUS}。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°C，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。