

## 定性灵活性与定量能力相结合

配备有SCIEX OS软件的ZenoTOF™ 7600 系统

## Qualitative flexibility combined with quantitative power

获得可靠分析结果的关键在于灵敏度、选择性和特异性的结合。灵敏度确保有足够的信号来识别和定量感兴趣的分析物。选择性将分析物信号与噪声和干扰物区分开来。特异性确保化合物鉴定准确可靠。ZenoTOF™ 7600系统的技术进步结合了定性灵活性和定量能力，适用于各类苛刻的样本类型和 workflows。

混合功能碰撞池是ZenoTOF™ 7600系统技术进步的核心。此前，飞行时间质谱仪由于采用四极杆离子通道产生连续离子流的脉冲测量技术，一直饱受飞行时间质谱（TOF）分析器造成的占空比（duty cycle）损失影响。一系列离子分段事件和反向质量排序离子释放，具有高容量离子阱，可以使得占空比损失得到缓解，MS/MS灵敏度增益为4-20倍。<sup>1</sup> 碰撞池还能够执行碰撞诱导解离（CID）和电子活化解离（EAD）实验，拥有实现高分辨率MS/MS的灵活性。无需使用化学转移试剂，电子动能（Electron kinetic energies）可以精确地在0-25 eV范围内调节。这种可调性意味着EAD可以应用于多种类型分析物，从多电荷的肽到单电荷的小分子。<sup>2</sup> EAD碰撞池含有高密度的电子流，使得拥有快速反应效率可以与快速色谱分离匹配。



### SCIEX ZenoTOF™ 7600系统的关键创新点

- Zeno™ trap (Zeno阱) 技术在全质量范围内提高了MS/MS采集速率 Zeno IDA（数据依赖采集）和Zeno MRM<sup>HR</sup>，其占空比超过了90%
- MS/MS灵敏度提高4-20倍
- EAD碰撞池，无需试剂、能量可调、高效的电子活化解离（EAD）裂解，可以为小分子和大分子提供多样化的碎裂功能
- 多种基于电子解离碎裂技术的将方法特异性提升至新水平
- 更丰富的碎片，以提供更多结构相关信息。
- 在MS和MS/MS采集模式下，扫描线性动态范围大于5数量级。
- 使用OptiFlow™ Turbo V离子源，可在高流速、微升流速和纳升流速之间轻松切换，无需进行特别方法优化

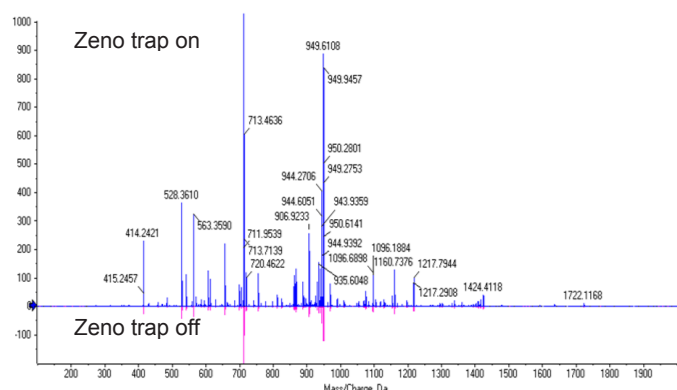


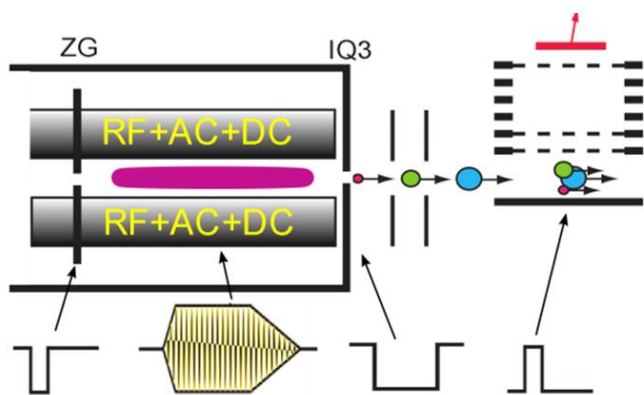
图 1. 基于激活和未激活Zeno™ trap (Zeno阱) 功能的蜂毒肽 (Melittin) 的 EAD MS/MS谱图。通过使用Zeno trap增强的MS/MS谱图（顶部，蓝色），与未激活Zeno trap获得的EAD MS/MS谱图（底部，粉色）相比，整个质量范围内的灵敏度提高了5-10倍，噪声变化可忽略不计。EAD为结构解析提供了重要的序列覆盖率。

## Zeno™ trap(Zeno阱)

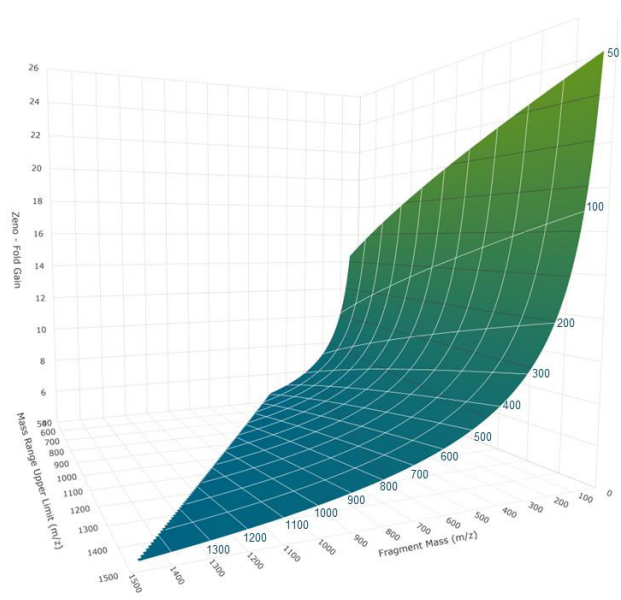
四极杆飞行时间质谱仪通常从四极碰撞池到飞行管区域使用离子正交注入，因为这种配置方式更大限度地提高了整个图谱的飞行时间质谱分辨率、质量精度和灵敏度，而无需扫描。然而，这种类型的离子脉冲技术，具有相对较低的占空比。通常情况下，根据加速器的几何结构和离子质荷比范围，每个脉冲只有5-25%的离子被喷射出来。这在一级质谱扫描维度时，通常不是一个问题，因为由先进的离子源（如Turbo V™离子源）产生的离子流，以及由先进的离子捕获技术（如QJet™离子导向）传输的离子流，导致需要的离子流减小，以防止检测器的饱和同时也保护检测器的寿命。然而，在MS/MS扫描维度中，占空比（duty cycle）的改善可以使系统的灵敏度显著提高。

离子损失是在碰撞池和飞行时间质谱加速器之间漂移区发生的。这个区域执行飞行时间质谱前的预分离，其中低质荷比离子迁移速度比高质荷比离子快，因此，相当一部分离子先后迁移抵达加速器区域，并随着每个脉冲发生离子损失。以前，人们曾多次试图克服这种缺乏同步性的问题。然而，只能在窄质量范围内或在低采集频率条件下实现同步。

Zeno™ trap（Zeno阱）的使用克服了这些技术障碍，可以实现高达100 Hz的采集频率下，提升整个质荷比范围的占空比。这是通过在碰撞池的出口处使用一个线性离子阱（称为Zeno trap）来实现的。俘获和释放离子的机制如图2所示。离子进入离子阱，被储存在ZG和IQ3透镜上势能壁垒之中，而随后的离子速在LINAC™碰撞池中积累，防止了离子损失。俘获的离子被留下进行能量冷却，然



**图2.** 控制门电压（gating voltages）、梯度交流电压（AC ramp）和飞行时间质谱加速脉冲的随时间变化示意图。离子在碰撞池出口处的离子阱中聚集，然后以反向质荷比顺序释放，以达到与每个加速器脉冲同步的理想效果。

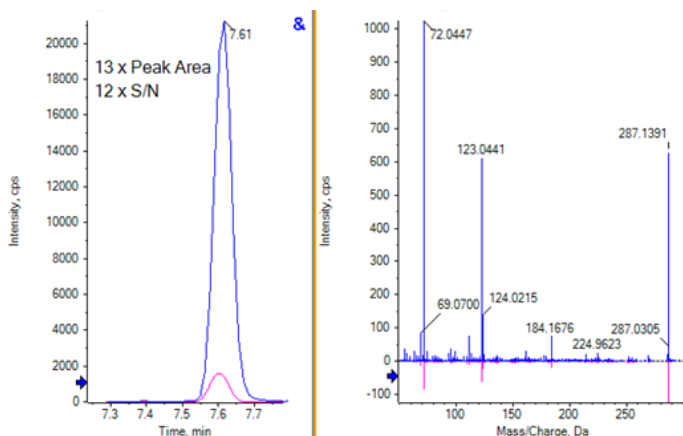


**图3.** 使用Zeno trap的MS/MS的理论灵敏度增益和扫描质量范围上限的函数关系。灵敏度增益是提升占空比的结果，占空比损耗是伴随飞行时间质谱分析（一种脉冲测量技术）的自然结果，连续离子束来自四极杆离子通道。离子损失随着MS/MS扫描范围中的质荷比增加而增加。Zeno trap技术能够使大于95%离子损失得到改善。

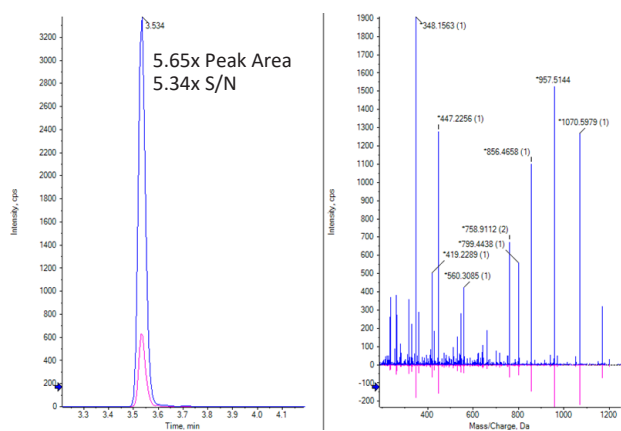
后根据势能被释放，通常离子会从高质荷比离子到低质荷比离子顺序进行释放。这样，全质量范围内的每一个离子都能同步到达飞行时间加速器的中心。

这种简单的捕获和释放机制使得MS/MS灵敏度得到显著提高，如图3所示。激活Zeno trap的MS/MS采集，在低质荷比碎片范围内信号强度提升4到15倍（或更大）。Zeno trap的效率与精准的离子释放时间阈的结合使得全质量范围内实现≥90%增益提升。由于要为高分辨率MS/MS数据保证的选择性，这些信号的改进与噪声的可忽略变化相结合，在原始数据信号中可以观察到质谱图和色谱图信噪比依次增益变化（图4、5）。

MS/MS灵敏度的提升不仅能够显著提高定量分析方法的定量限（LOQs），而且这种额外的灵敏度提升可以用来彻底改变整个工作流程。激活Zeno trap后，高质量的MS/MS谱图可以用于确认、鉴定或在更低丰度离子质谱图下进行库匹配。这使得能够通过稀释珍贵样品来提高电离效率，尽量减少基质效应，通过在更低丰度离子条件下运行，改善仪器耐用性。



**图4.** 将Zeno trap技术提升灵敏度方法，用于使用MRM<sup>HR</sup>采集模式检测除虫脲（difenoxuron）。拥有MRM<sup>HR</sup>采集模式带来的选择性的提升，和Zeno trap的带来的信号增益，但是噪声没有明显放大。（左图）除虫脲（difenoxuron）m/z=72.044的碎片，13倍的绝对信号强度增益，带来12倍的信噪比提升。（右图）使用Zeno trap，MS/MS图谱中的所有峰值都显示出6-13倍的灵敏度提升。



**图5.** 将Zeno trap技术，用于提升校正用肽段混合物（PepCalMix）中多肽SPYVITGPVVEYK的MRM<sup>HR</sup>采集模式的灵敏度。（左图）碎片离子m/z=1070.50的峰面积提高了5.65倍，而S/N提高了5.34倍。（右图）开启Zeno trap时，在MS/MS的全质量范围内，可以观察到高m/z肽段碎片离子的信号提升为5-7倍。

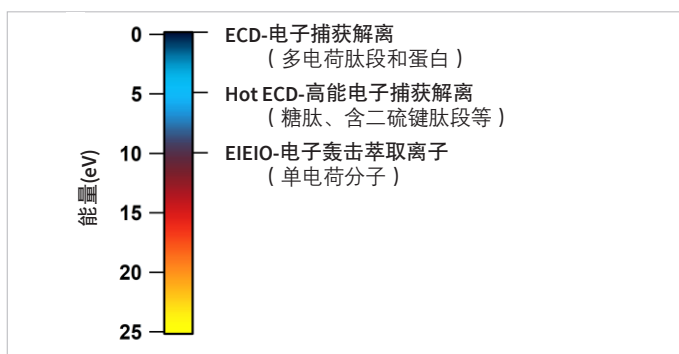
在同样样品进样量的条件下，开启Zeno trap的MS/MS检测鉴定可以获得更高置信度，同时允许在比以往更低的进样浓度下发现新的代谢物、多肽生物标记物和污染物。

## 精准可调的电子活化解离(EAD)碰撞池

串联质谱主要是应用碰撞诱导解离（CID）方法产生的离子碎片从而进行分子定量和定性鉴定。应用CID时，碎片离子在充满中性气体的加速碰撞池中产生，通常通过分子碰撞在最不稳定的位点促进化学键断裂。虽然快速有效，CID一般只能产生很少的确证碎片，不足以阐明未知特征的结构信息或区分异构体。

相反，电子活化解离（EAD）原理描述了一系列基于自由电子的解离机制，其特征是前体离子（precursor ion）的电荷状态和离子束的动能。EAD机制被认为是一种可以为CID提供补充碎片信息的碎裂解离机制。自由基解离（EAD）和高能解离（CID）技术，产生的键断裂的程度和位置是不同的。

ZenoTOF™ 7600系统的特点是EAD碰撞池，这是一种新的电子束透镜元器件设计，可以同时独立地捕获前体离子和自由电子，实现有效的自由基断裂。拥有了EAD碰撞池，该系统就有能力将电子能量调节到零以上，这就使得自由基断裂的途径可以用应用于生物分子研究。0-25 eV的可调电子动能为一系列不同碎裂方式提供途径（图6），包括电子捕获解离（Electron Capture Dissociation, ECD）、高能电子捕获解离（Hot Electron Capture Dissociation, hot ECD）和电子轰击萃取离子（Electron Impact Excitation of Ions from Organics, EIEIO）等。这些先进的技术使从单电荷小分子到多电荷的蛋白质的各种分析物得到快速、精准和定量分析成为可能。此外，更高的碎裂能量，减少反应时间，将允许这些碎裂解离技术可以匹配色谱分离速度。正是与Zeno trap的结合，使得EAD技术现在已经具备了常规检测分析时所需灵敏度和特异性。



**图6.** 按照前体离子种类和电子束能量分类的EAD技术家族。列举了常用的电子裂解技术及其典型应用。

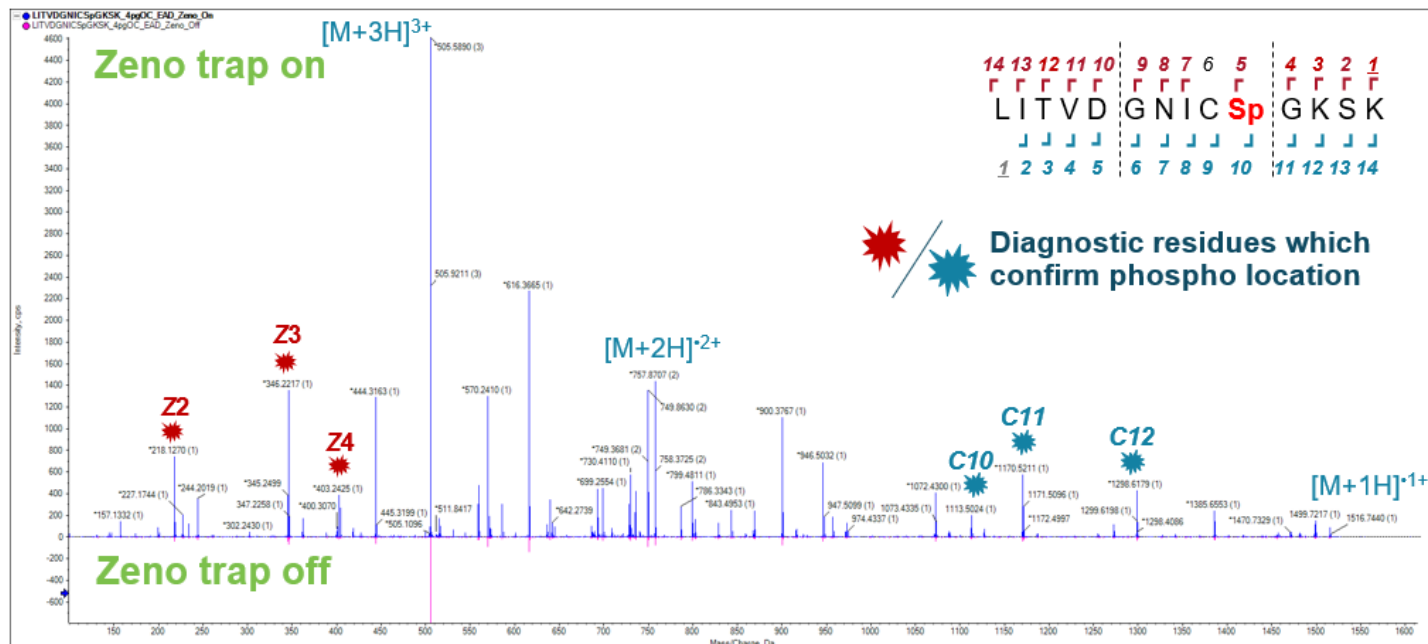


图7. 使用EAD-MS/MS分析磷酸化肽段LITV。(上部) Zeno trap开启时, LITV的EAD-MS/MS谱图。(下部) Zeno trap关闭时, LITV的EAD MS/MS谱图。当Zeno trap激活时, MS/MS灵敏度显著增强。开启Zeno trap时, 在多个c-和z-离子序列上确认磷酸化位点位置, 序列覆盖率达到100%。

## ECD和高能ECD用于多电荷肽段、蛋白质和生物治疗分子研究

翻译后修饰 (Post translational modifications, PTMs) 在蛋白质的构象、信号转导和活性等多种功能中发挥着重要作用。一些PTMs很难使用质谱技术进行表征, 尤其是当PTMs不稳定时, CID技术被用作质谱裂解技术。自由基裂解技术有能力维持这些PTMs的不稳定性, 这允许肽骨架图谱分析, 同时阐明PTM的种类和位置。图7显示使用高能ECD (KE=7 eV) 裂解磷酸化肽段LITV的实例。这里, 不仅使用高能ECD技术实现对几乎整个肽段进行测序, 而且保持了磷酸化的位点。<sup>4</sup>

## 电子轰击萃取离子(EIEIO)用于单电荷分子研究

可以在5到15eV范围内调节能量 (electron kinetic energies) 的功能使得EAD更加适合单电荷分子研究。产生中和作用的电子俘获在这个能量下减少, 通过自由基机制使得电子诱导离解。图8显示了将CID和EIEIO用于鞘磷脂类化合物碎裂分析的比较。EIEIO技术提供了几乎所有键的碎片谱图信息, 可以阐明鉴定头基、主链类型、碳链长度、双键位置和双键立体异构。同理, EIEIO也可以用来区分小分子的异构体。图9

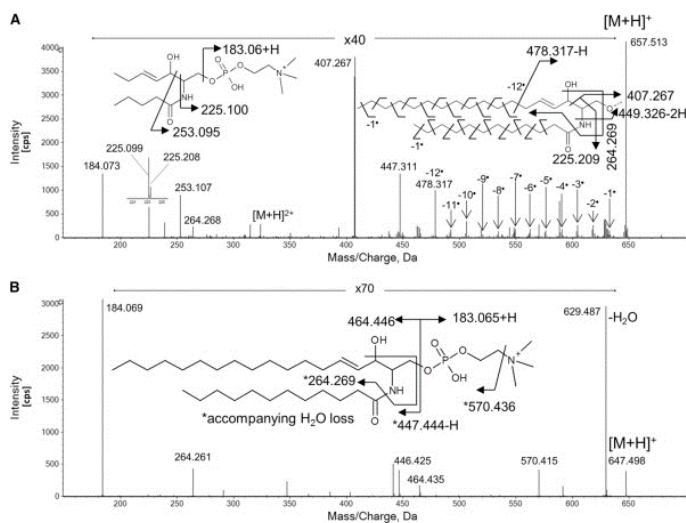


图8. EIEIO (A) 和 CID (B) 碎裂产物图谱的比较。样品为合成标准品SM, SM (d18:1, 12:0)。



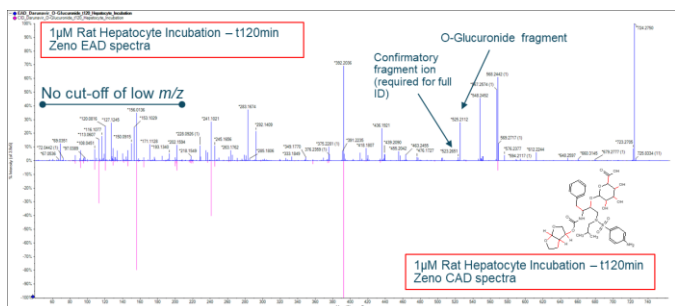


图9. 达芦那韦 (darunavir) 的O-葡萄糖醛酸结合产物的EAD (上) 和CID (下) 碎裂图谱。EIEIO技术可以产生表明葡萄糖醛酸结合位点的独特碎片片段。

显示出独特的，特征片段的达芦那韦 (darunavir) 的O-葡萄糖醛酸结合产物及其N-葡萄糖醛酸结合产物异构体，允许获得更精确的分子结构信息可以用于代谢物鉴定工作流程。EIEIO碎裂技术也为非靶向和靶向筛查研究工作流程提供了更多方法特异性。图10突出显示了EIEIO和CID产生的抑菌剂嘧菌酯 (azoxystrobin) 的碎裂片段的差异。CID谱图以两个主要片段为主，而EIEIO谱包含200多个S/N>10的峰，这使得在谱图库匹配和结构鉴定过程中的置信度显著提高。

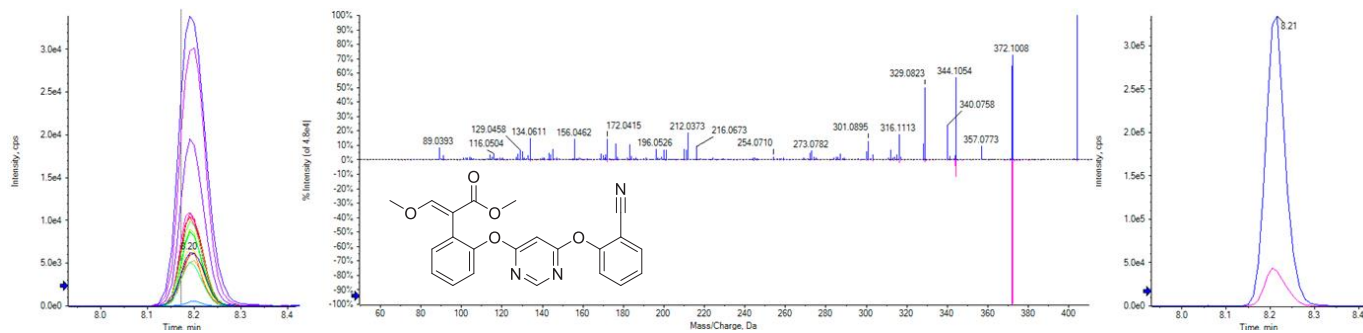


图10. 嘧菌酯 (azoxystrobin) 的CID和EAD MS/MS谱图比较。EIEIO (中间顶部, 蓝色) 产生的信噪比 (S/N) 大于10的碎片数量大约是CID (中间底部, 粉色) 的100倍。EAD (左) 和CID (右) 的提取离子流图 (XIC), 显示出EAD可以用于基于离子比率的鉴定确认的灵活性。

## 线性动态范围 (LDR)

线性动态范围 (LDR) 在许多分析物浓度变化很大的应用中非常重要。ZenoTOF™ 7600系统配备了一个4通道微通道板 (microchannel plate, MCP) 检测器，具有模数 (ADC) 和脉冲数字 (TDC) 信号处理功能，在正负离子检测模式下，以及在MS和MS/MS采集中，拥有超过5个数量级的扫描间线性动态范围 (图11)。此外，模数转换 (ADC) 检测器拥有4个数量级的扫描内线性动态范围，允许在不损失数据质量的前提下同时检测高浓度水平和低浓度水平的分析物。



图11. 采用ADC信号处理的4通道MCP检测器的线性动态范围。MS (左) 和MS/MS (右) 采集模式下，可以实现大于5数量级扫描间线性动态范围，同样适用于正离子 (上) 和负离子 (下) 检测模式。

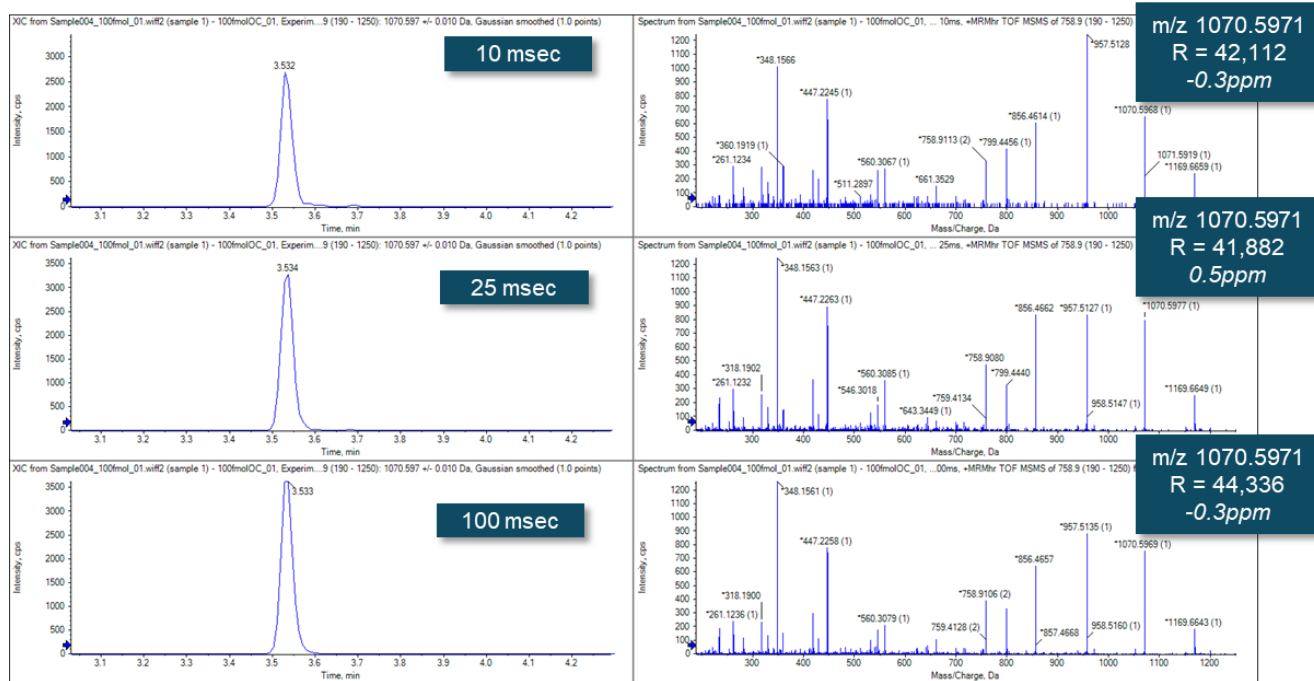


图12. 峰值强度、质量分辨率和质量精度与累积时间。使用ZenoTOF™ 7600系统，更少的累积时间不会导致质量分辨率或质量精度降低。质量分辨率在整个质量范围内保持一致。

## 采集速度

ZenoTOF™ 7600系统配备了快速LINAC™碰撞池，可实现快速采集速率，适用于高重复性实验和快速液相分离。再加上高速MCP检测器，ZenoTOF 7600系统拥有>100 Hz的采集速度，累积时间低至5毫秒，而不会牺牲质量精度和分辨率。图12突出显示了在一系列累积时间内均可保持质量精度、质量分辨率和峰值强度。

## 适用于低流速色谱的OptiFlow™ Turbo V 离子源

ZenoTOF™ 7600系统可选择OptiFlow™ Turbo V离子源，该离子源专为微升流速和纳升流速色谱法设计（图13）。<sup>5</sup>探针和电极组合在0.1至200 μL/min流速下进行了灵敏度和耐用性方面预先优化。这意味着无需手动调整即可更大优化的性能。使用SecurityLink™管路和配件，确保所有配件都是手拧连接、无泄漏的且无死体积。对于微升流速色谱，柱后直接连接电喷雾探针，最大限度地减少柱后展宽以提升S/N。该仪器配置了OptiFlow™接口，因此在高流量或微升流速到纳升流速之间实现无工具切换，而且不会破坏系统真空。

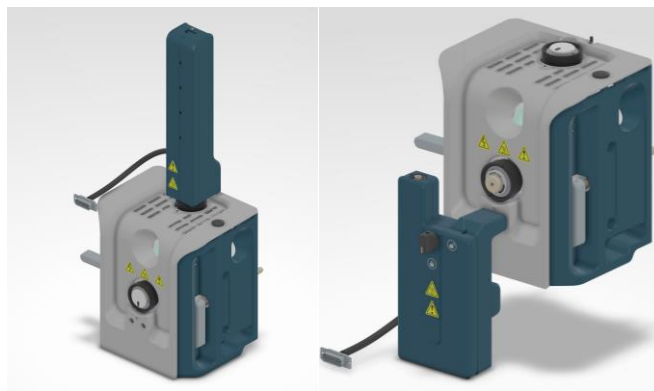


图13. OptiFlow™离子源配置。（左）微升流速配置。（右）纳升流速配置。

## 参考文献

1. ELECTRON ACTIVATED DISSOCIATION: A new paradigm for tandem mass spectrometry. SCIEX publication RUO-MKT-19-13372.
2. ZENO TRAP: Defining new levels of sensitivity. SCIEX publication RUO-MKT-19-13373.
3. Baba T, et al. (2016) In-depth sphingomyelin characterization using electron impact excitation of ions from organics and mass spectrometry[S]. J. Lipid Res. 57, 858-867.
4. PTM site localization and isomer differentiation of phosphorylated peptides - Tunable electron activated dissociation (EAD) MS/MS using the ZenoTOF 7600 system. SCIEX technical note RUO-MKT-02-13174-A.
5. Single source solution for low flow chromatography. SCIEX technical note RUO-MKT-02-9701-A.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13053-ZH-B



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808-1388  
传真：010-5808-1390  
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419-7200  
传真：021-2419-7333  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510-0200  
传真：020-3876-0835  
官方微信：[SCIEX-China](#)