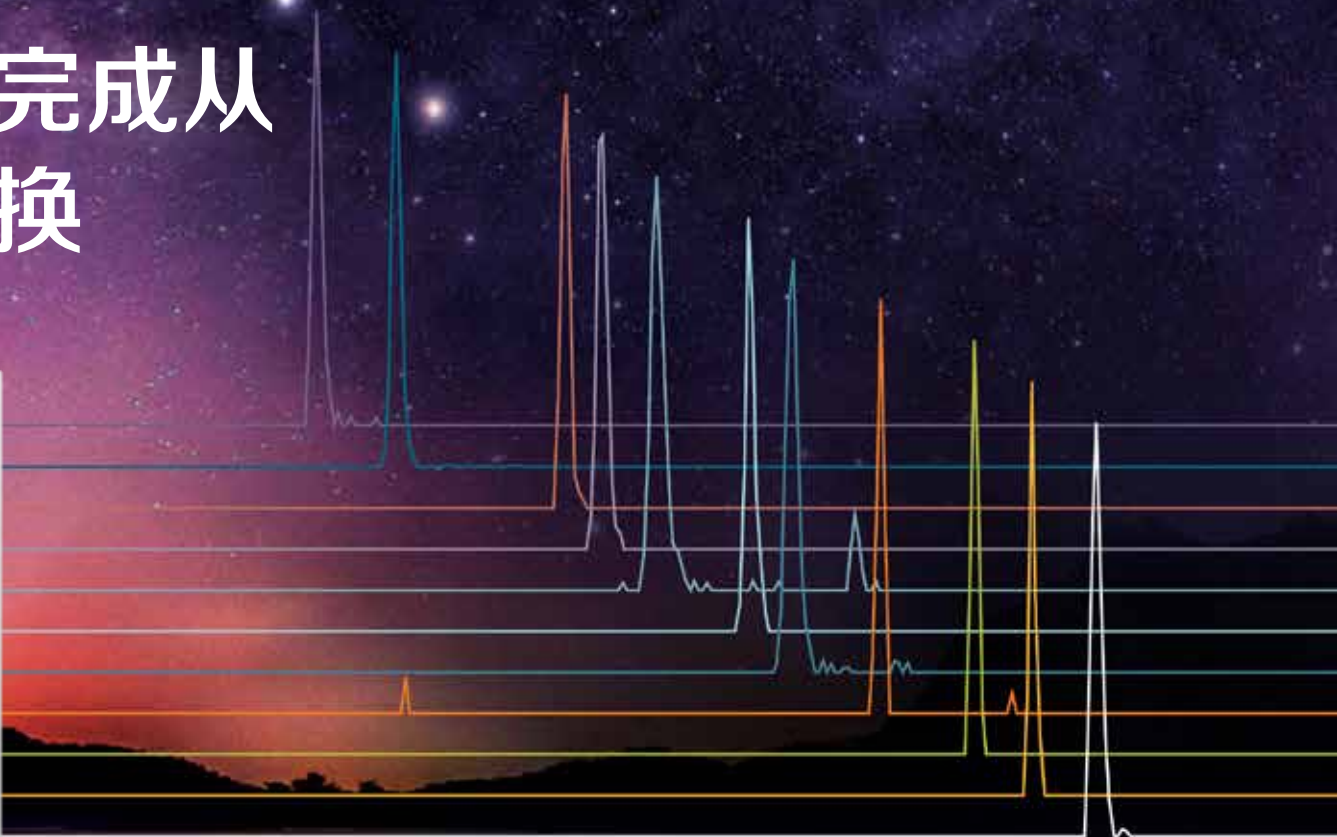


质谱分析

以前所未有规模完成从 发现到验证的转换

Stellar 质谱仪



以全新规模完成从发现到验证的转换

以出色性能定量各类化合物

采用 Thermo Scientific™ Stellar™ 质谱仪可以提高灵敏度、专属性和样本通量，定量更多的分析物，可靠地加快生物标志物验证流程。Stellar 质谱仪通过协同结合三重四极杆技术的强大定量性能和双压线性离子阱技术的灵敏、超快速全扫描 MSⁿ 采集功能，将其前所未有的分析能力扩展到更广泛的化合物。动态仪器控制软件简化了仪器的操作，同时尽可能地提高了样本通量。总之，凭借这些功能，研究人员能够收集更多信息，做出更明智的决策，并更快地进入生物标志物验证阶段。

Stellar 质谱仪通过串联直接进样工作流程连接到 Thermo Scientific™ Vanquish™ Neo UHPLC 系统



常规组学研究

- 增加目标物容量
- 宽动态范围
- 复杂生物样本



常规组学研究

- 宽动态范围
- 增加目标物容量
- 方法标准化



低输入 / 单细胞

- 增加目标物容量
- 高通量
- 数据完整性



PTM

- 低浓度水平样本
- 增加特异性
- 样本复杂度



代谢物

- 各类化合物
- 方法优化
- 提高通量



脂类

- 各类复合物
- 增加特异性
- 提高通量



扩大规模

提高灵敏度

增强特异性

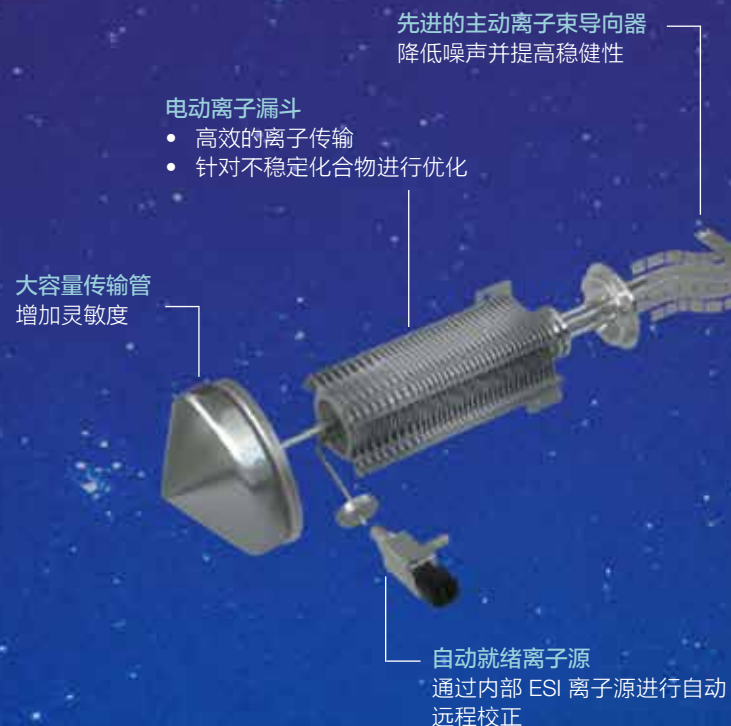
高通量



超高的定量生产率

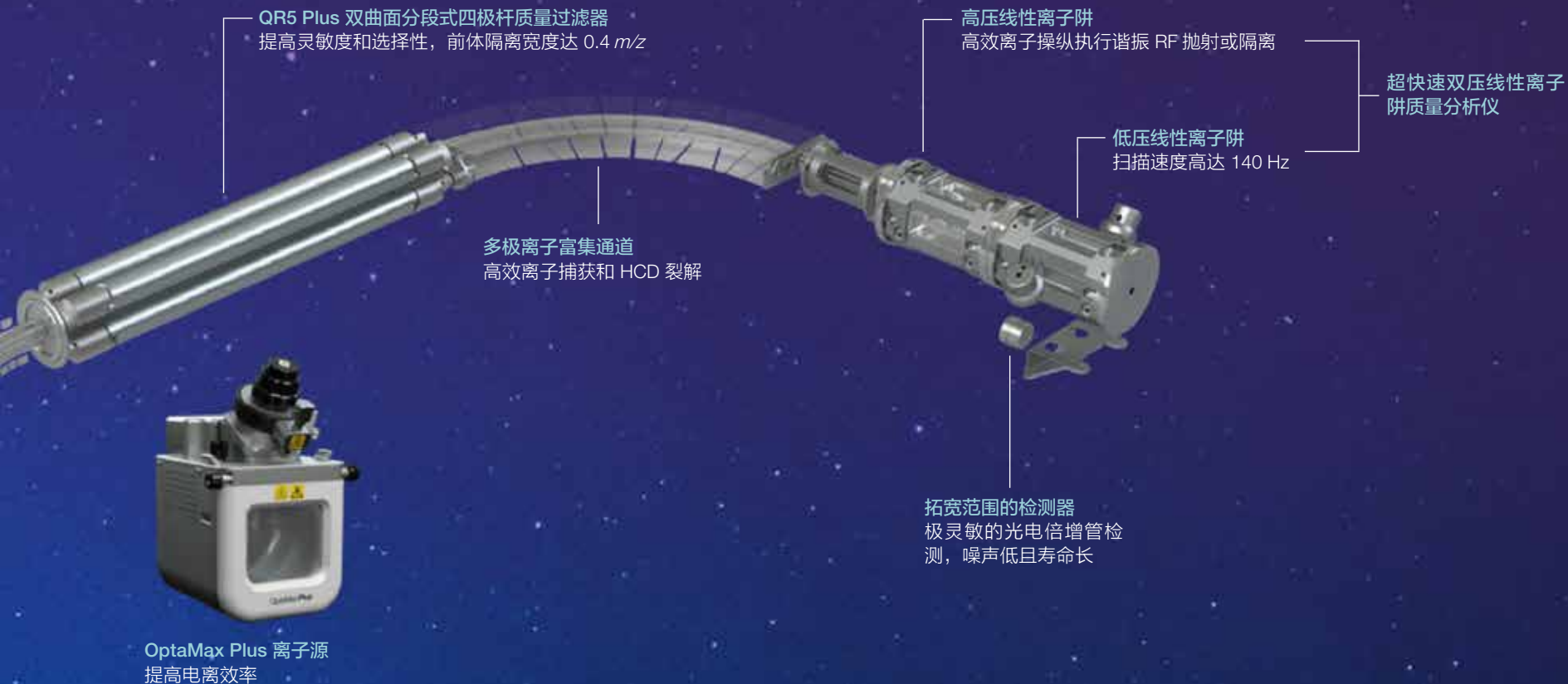
超高的转化研究生产率，实现靶向定量

- 一个小时内可以稳定地定量近 10,000 种肽，实现有偏差的系统生物学分析
- 绝对定量更多靶向化合物以提高定量研究能力，样本通量提高 4 倍
- 利用增强的灵敏度扩展靶向通路分析的范围，同时减少样本的缺失值
- 采用快速、灵敏的全扫描同步前体离子选择 (SPS) MS³ 采集克服具有挑战性的背景基质干扰
- 使用各种靶向和非靶向数据采集方案，加快靶向方法的创建和实施



创新技术推动靶向定量生产率

Stellar 质谱仪结合了两种质量分析仪，其中一个用于前体离子选择的四极杆质量分析仪，另一个是超快速的双压线性离子阱质量分析仪。多极离子富集通道 (ICRM) 同时操纵离子阱中的两个离子包。同步离子管理模块具有高灵敏度、宽动态范围和更高的特异性，能够以高达 140 Hz 的速率采集 MSⁿ 数据，使研究人员在更短的时间内可靠地将更多假定的生物标志物转换到验证流程。



扩展分析能力

Stellar 质谱仪专为重新定义各类分子的靶向定量分析而设计。此款仪器在许多数据采集策略方面具备优异的功能，包括数据依赖性采集 (DDA)、数据非依赖性采集 (DIA)、MSⁿ 采集（使用 SPS 进行 Tandem Mass Tag™ (TMT™) 多通道）以及未标记的 MS³ 和更高的串联 MSⁿ 扫描事件。通过在 ICRM 和超快速的双压线性离子阱质量分析仪之间实施同步离子包管理，可分别实现高达 140 和 40 Hz 的快速 MS² 和 MS³ 采集。在高压线性离子阱中应用谐振 RF，可以在任何 MSⁿ 水平下进行多陷波发射 SPS 或裂解，实现靶向定量方法开发和可靠的研究管理。

快速、灵敏和专属的 MSⁿ 数据采集

前体离子束通过 QR5 Plus 质量分析仪过滤再转移到 ICRM，前体离子碎裂然后富集，以达到自动增益控制 (AGC) 定义的电荷密度。在此基础上，离子包转移到超快速双压线性离子阱质量分析仪进行检测。

同步离子捕获大大提高了采集速度。将第一个 MS² 离子包激发出线性离子阱质量分析仪进行检测时，在 ICRM 中对第二个 MS² 离子包进行富集。在对先前的产物离子包进行质谱采集的同时，执行离子包到高压线性离子阱的同步转移。离子包的检测采用新型的高动态范围检测器，实现单离子灵敏度、超过五个数量级的线性度、低噪声、长的检测器寿命。此外，还可以采用类似的多离子包管理方法，提供高达 40 Hz 的 MS³ 采集速率。

扩大规模

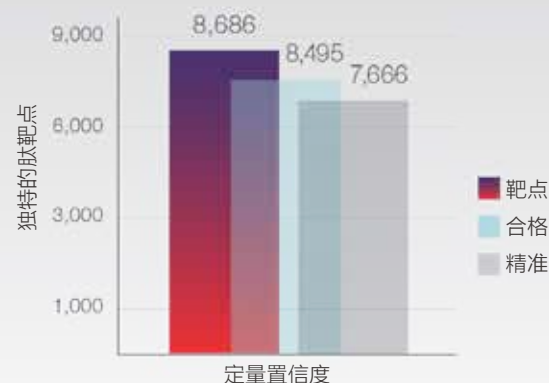
将潜在的生物标志物从发现转换到验证需要一个高效的工作流程，单独或在信号传导通路中验证每个备选生物标志物的诊断价值。

为了改善生物标志物分层，需进行高度多路复用的靶向定量，从而在大量样本的研究中，增加测量的灵敏度和特异性。

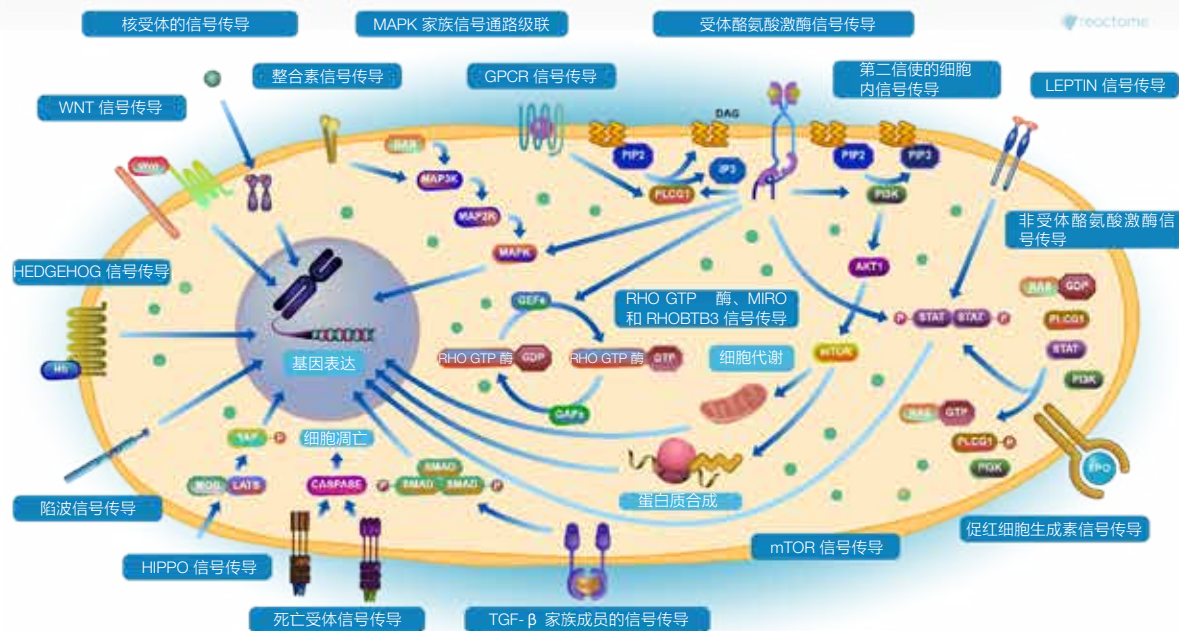
Stellar 质谱仪扩大了实验规模，在同一实验中定量表征多种信号传导通路，同时保持评估系统生物学所需的更高通量。

大规模的定量性能

采用 Stellar 质谱仪，可以在 60 分钟内可重复地量化代表近 2,000 种蛋白的近 9,000 种替代肽标记物。通过这种方法能够可靠地测定超过 88% 的肽标记物，CV 小于 20%，覆盖 4.5 个数量级的宽动态范围。凭借样本覆盖范围广和数据质量高的特性，可以采用偏差通路分析确定生物学特性，如以下来自 Reactome 网站工具的通路覆盖率报告所示。



技术重复样本中可重复测量的靶向肽总数（红色）与 CV 值 $\leq 50\%$ 的靶向肽测量值（浅蓝色）和 CV 值 $\leq 20\%$ 的靶向肽数量。



使用 Stellar 质谱仪，发现和靶向定量分析从有神经退行性衰退的供体池中提取的消化细胞外囊泡 (EV)。为了创建靶向组合库，在色谱柱上样 500 ng 的 EV 消化物，并使用 100 个连续的 2 Th 窗口 DIA 扫描事件，在 LC-DIA MS 上对其进行分析。在 400–1,200 Da 前体 m/z 范围内进行四次重复上样。最后，使用 Thermo Scientific™ Proteome Discoverer™ 软件对得出的 DIA 数据进行处理。将检索结果上传到 Skyline 中，并使用 Thermo Scientific™ PRM Conductor 工具进行过滤和靶向 MS2 (tMS2) 方法创建，此工具基于用户定义的 LC 和 MS 标准，将识别到的 11,092 种肽过滤为最终的 8,686 种。在此基础上，分析重复样本，以确定 tMS2 方法的重复性。样本由华盛顿大学 Michael J. MacCoss 教授提供。

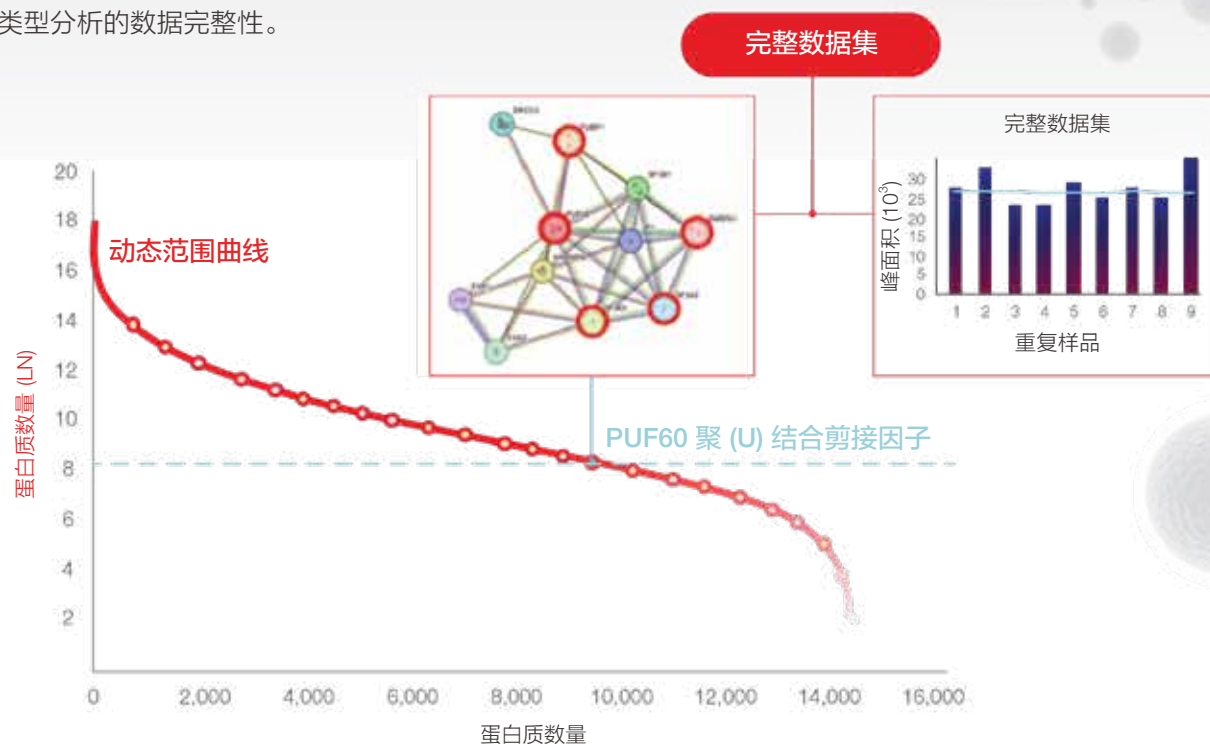
提高灵敏度

提高方法的灵敏度对于低丰度样品（如大量样本中的单细胞和低丰度分析物）的靶向定量分析至关重要。通过提高灵敏度，既可以增强采集后的自动峰积分，又可以在测量生物组或细胞之间的较小变化时增强定量质量和置信度。Stellar 质谱仪提供高离子传输效率，能够有效检测低压线性离子阱发射的离子，并通过扩展定量范围的检测器提高灵敏度。基于这些特性，可以对覆盖广泛表达水平范围的单细胞进行靶向信号通路分析。较低的检测限大幅降低了数据缺失的风险，从而确保了定量结果的高置信度。

将靶向通路定量扩展到低丰度样本分析

低丰度样本分析侧重于关键的生物学通路或标志物，因为这些通路或标志物可以共同区分细胞类型、状态或功能。靶向数据采集提高了选择性和灵敏度，从而扩展了可重复测量结果的动态范围。基于仪器的检测范围和相对样本量，将数据分析简化为靶标的存在或不存在，因此靶向数据采集确保了单个细胞和细胞类型分析的数据完整性。

Stellar 质谱仪的数据采集速度扩大了蛋白质的覆盖范围，使得科研人员能够捕捉到更完整的细胞活动生物学图像。



一组 9 个 HeLa 细胞经过分离、消化，采用 tMS2 采集方法对映射到 383 种蛋白质的 395 条肽段进行采集分析。所选择的蛋白质覆盖了 5,000,000 以上到 5,000 以下的广泛报告拷贝数。每天分析五十个样本 (SPD)，以评估采集速度和数据完整性。在如图所示的 PUF 60 结合剪接因子示例中，估计每个 HeLa 细胞的表达（单位：zeptomole）。插图条形图显示了十种细胞裂解物中 PUF60 的相对定量丰度。除此之外，使用 String DB 软件对靶蛋白的信号传导网络进行映射和评估。所有靶向肽的测量结果在十种细胞裂解物中均表现出可重复性。样本由杨百翰大学 Ryan Kelly 副教授提供。

增强特异性

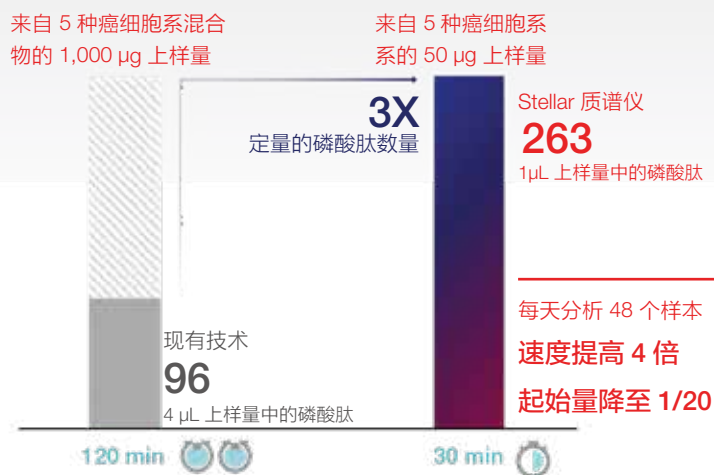
成功定量生物标志物需要高灵敏度和特异性，以确保测得的信号归属于目标分析物。由于 MS2 采集可能无法克服共洗脱同重元素 / 同分异构干扰，因此复杂的生物基质存在定量困难。为了减少背景干扰并提供更高的特异性，以区分复杂基质中的同分异构化合物，MS³ 采集逐渐成为更高效且有效的解决方案。

Stellar 质谱仪提供高达 40 Hz 的 tMS3 采集速度，并通过 PRM Conductor 软件工具自动创建方法。tMS3 采集具有更高的特异性，能够提高检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)，将其与快速超高效液相色谱 (UHPLC) 梯度相结合，可在同一谱图中同时定量多种分析物。

通过靶向 MS3 采集克服生物基质复杂性的挑战

Stellar 质谱仪利用双离子包管理和扩展的仪器功能，增强高度多路复用的磷酸肽定量的灵敏度和特异性。高压线性离子阱可以使用 SPS 分离多个 MS² 产物离子。产生的 MS² 产物离子可以加速回到 ICRM，生成 MS³ 产物离子，这些离子随后被转移到超快速双压线性离子阱质量分析仪，进行快速灵敏的检测。

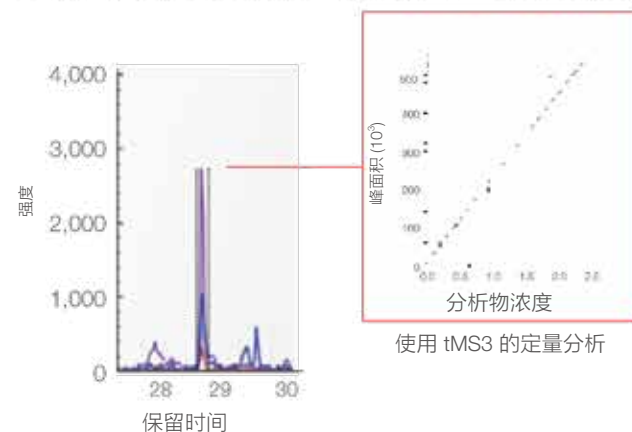
通过快速采集，可以在 30 分钟的方法中定量 263 种内源性磷酸肽及其相应的重标记标准品。现有报道方法均为 120 分钟梯度，明显更耗时。



PRM Conductor 软件使用初始库构建实验，自动创建 tMS3 采集方法，用于定量从 5 种癌细胞系混合物中提取的 263 个重磷酸肽和轻磷酸肽。为了证明仪器的性能，在从不同起始量 (50-1,000 µg) 的富集细胞系材料的样本中加入一组重标记标准品。将 Stellar 质谱仪检测到的磷酸肽类似物的数量与采用现有技术采集到的已发表结果进行比较。右图显示了起始分析量中磷酸肽 LVQGISFSQPTCPDHMLLNSQLLGTPGSSQNPWQR 3+ 的 tMS3 提取离子色谱图 (XIC)。

样本由麻省理工学院布罗德研究所蛋白质组学资深导师 Steven Carr 提供。

LVQGISFSQPTCPDHMLLNSQLLGTPGSSQNPWQR 3+



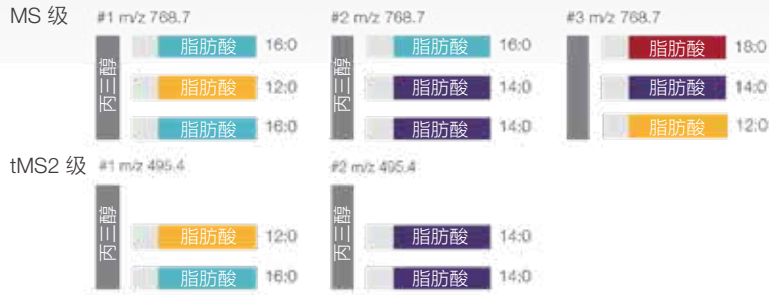
使用 tMS3 采集在线表征甘油三酯同分异构体

甘油三酯 (TAG) 是参与代谢的关键脂类，通过定量甘油三酯可以进行健康评估。标准色谱分离的局限性会导致同分异构 TAG 的共洗脱，使其难以定量。采用 MS³ 裂解实现分离和定量每种异构体所需的特异性。Stellar 质谱仪可分别在高达 140 和 40 Hz 的速率下快速采集 tMS2 和 tMS3 数据，从而实现 TAG 的定性和定量分析。

通过采集全扫描 MS³ 质谱，可以在一个扫描事件中同时定量每个 TAG，以增加单位时间的靶标容量，从而可以使用 UHPLC 分离来减少样本周转时间。



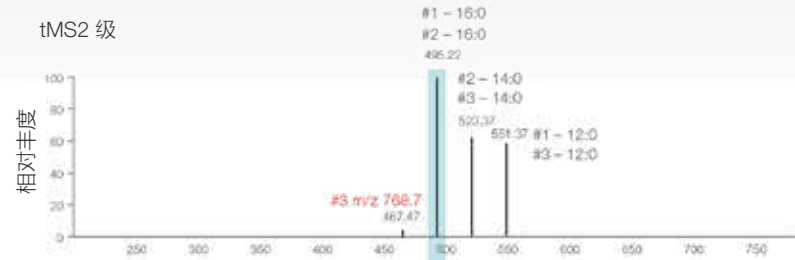
现有技术



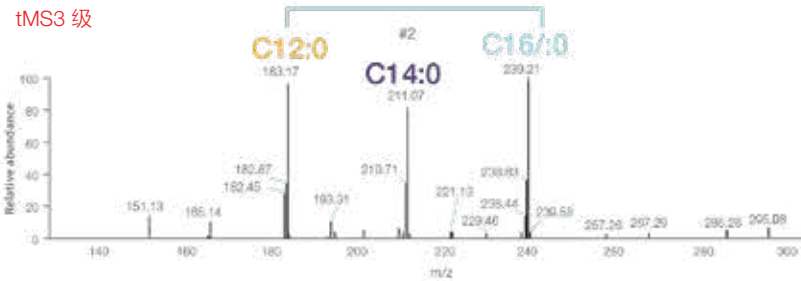
Stellar 质谱仪



现有技术



Stellar 质谱仪



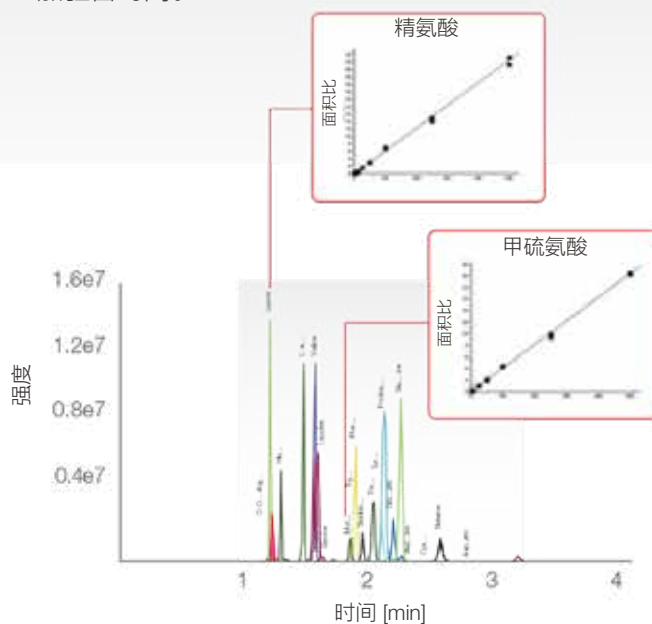
采用 DDA 进行初始样品表征，然后使用 tMS2 采集从市售血浆样本中提取的 TAG。对 tMS2 光谱进行分析，以建立 30 分钟 UHPLC 梯度的 tMS3 数据采集方法。样本由瑞士洛桑大学代谢组学负责人 / 高级讲师 Julijana Ivanisevic 提供。

高通量

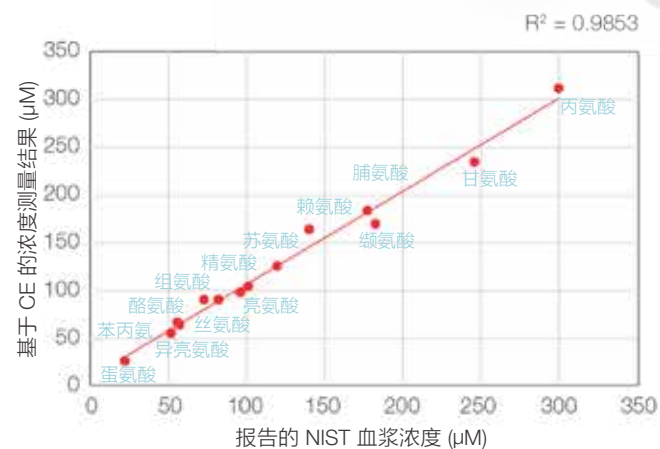
相对于无标记定量 (LFQ)-DIA, 靶向定量增加了灵敏度和通量, 二者结合可将研究能力提高到准确验证潜在生物标志物所需的水平。通过使用 Stellar 质谱仪, 可以加快生物标志物验证, 同时保持分析物的容量、灵敏度、选择性和特异性。此外, 凭借 Stellar 质谱仪的采集速度, 每次实验中可同时准确定量更稳定的同位素标记 (SIL) 类似物, 使研究人员能够在更短的时间内以更大的置信度分析多个 96 孔板。这种功能特别有利于开发转换到验证的标准化方法。

在不影响实验的情况下提高通量

Stellar 具有出色的灵敏度, 可以实现快速的全扫描 tMS2 采集, 使得研究人员能够将样品通量提高 4 倍。更快的 MS² 采集速度, 可以在两分钟内准确定量 100 余种内源性氨基酸和酰基肉毒碱, 并在 9 小时内分析完 96 孔板。全扫描 MS² 采集可保持整个标曲范围的特异性, 因而随着监测转换数量的增加, 无需增加驻留时间。



尽管 SIL 类似物通常用于提高相对于参考样本的定量准确性和方法标准化, 但这些类似物增加了需要监测的转换数量, 因此有必要避免其对实验产生影响。



Stellar 具有出色的灵敏度, 可以实现快速的全扫描 tMS2 采集, 使得研究人员能够将样品通量提高 4 倍。更快的 MS² 采集速度, 可以在两分钟内准确定量 100 余种内源性氨基酸和酰基肉毒碱, 并在 9 小时内分析完 96 孔板。全扫描 MS² 采集可保持整个线性范围的特异性, 因而随着监测转换数量的增加, 无需增加驻留时间。尽管 SIL 类似物通常用于提高相对于参考样本的定量准确性和方法标准化, 但这些类似物增加了需要监测的离子对数目, 因此有必要避免其对实验产生影响。ZipChip™ 微芯片 CE 平台由 908 Devices 的 Will Thompson 提供。

临床样本分析的新范式

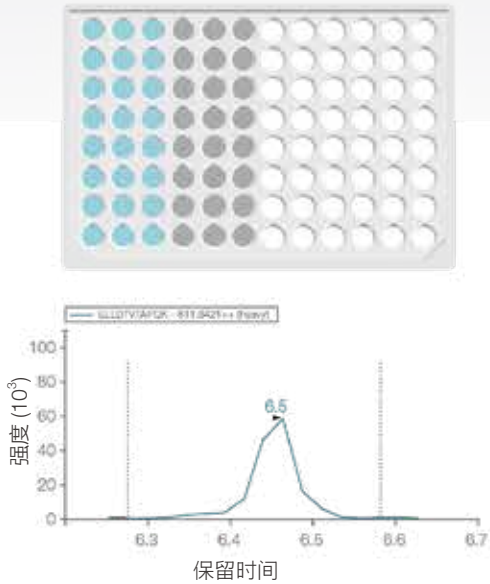
在临床研究中（特别是使用快速色谱法来提高样品通量时）使用的 LC-MSⁿ 必须兼具稳健性和重复性。在基于替代肽生物标志物的靶向蛋白质定量中，虽然使用 SIL 肽可以改善方法标准化、数据置信度

和绝对定量，但是每次实验中的并行扫描事件加倍，这无疑会限制样品的通量。Stellar 质谱仪采用新型数据采集策略，以提高依赖于大量 SIL 肽的大样品通量。

自适应 RT 功能自动管理每个 tMS2 采集周期的实时保留时间调整。因此，采集方法可以使用较窄的 tMS2 窗口，确保 5-10 ms 的 MS² 产物离子积累，从而在宽动态范围内保持高数据质量和定量准确度。

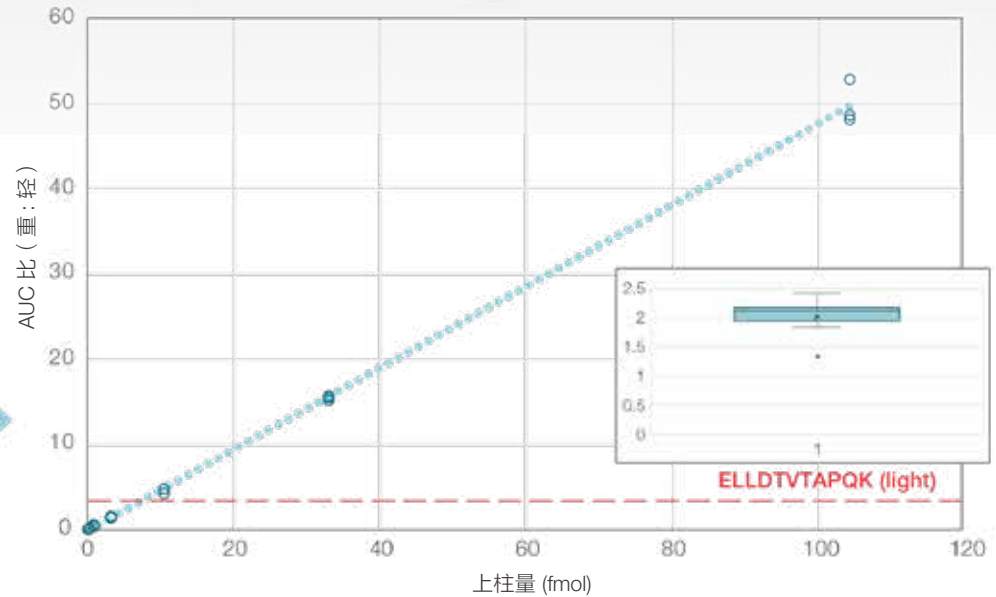
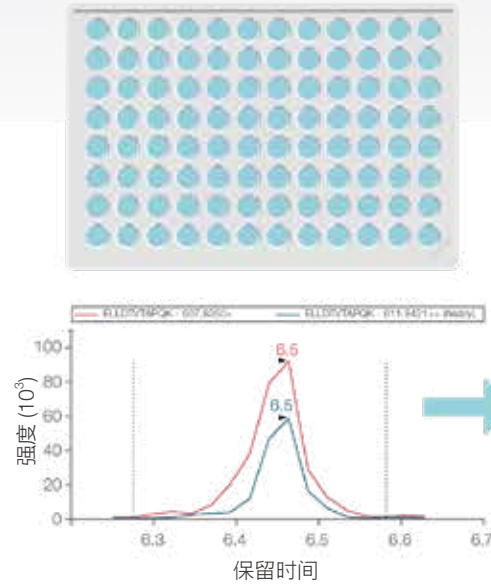
现有技术

48 个样本 / 天 *



Stellar 质谱仪

100 个样本 / 天



PQ500TM 参考试剂盒 (Biognosys AG) 是用于定量 583 种内源性血浆蛋白的参考方法。将一组 804 个刺状 SIL 肽以 0.01-100 fmol 加标到酶解人血浆中，并使用靶向定量进行分析，以评价仪器的性能。* 先前发表的报告显示了标曲范围的定量分析，样品间分析时间为 30 分钟。然而，高分辨率精确 MS² 方法仅定量了 804 种 SIL 肽，这限制了其提供生物学见解的可能性。其他已发表的结果使用靶向方法，在 24 SPD 下定量内源性肽和 SIL 肽。Stellar 质谱仪利用快速采集功能和灵敏的 tMS² 方法，在 18s 的采集窗口中（由自适应 RT 程序管理），使用 100 SPD 方法进行绝对定量。上述内源性肽分析显示了使用 Stellar 质谱仪时两种肽类似物的相对测量响应。对于靶向肽对，每个 PQ500 试剂盒加标水平下的积分峰面积比表现出柱上 0.03-100 fmol 的线性响应。须状图所示为采集的数据质量，这表明无论 PQ500 加标量如何，Stellar 质谱仪都能重复测量肽表达。样本由 PrognomiQ, Inc. 首席技术官 Bruce Wilcox 提供。

超高生产率

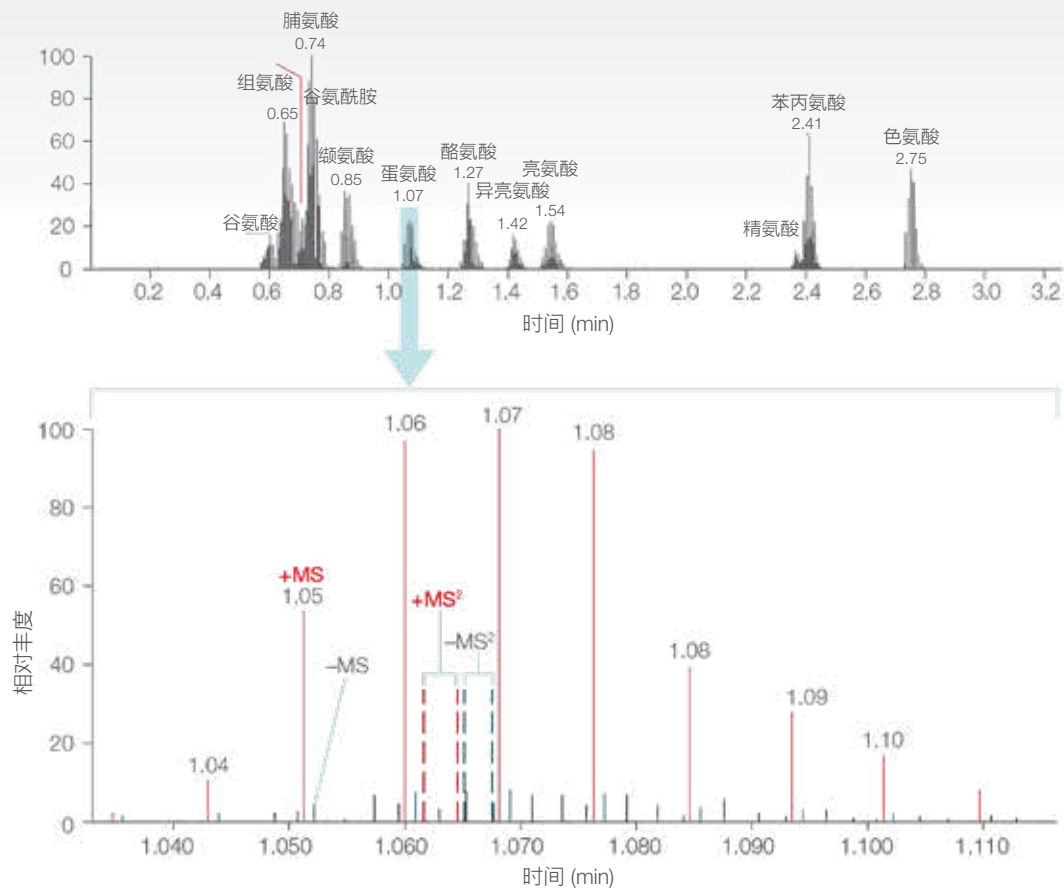
在执行选择性反应监测 (SRM) 定量时, 小分子测定的方法优化成为最耗时的步骤。必须确定每种分析物的 SRM 采集参数, 包括极性、前体离子和产物离子 m/z 值及其相应的碰撞能量和驻时间。通常采用流动注射分析法 (FIA) 或直接注入法对标准品进行分析, 以确定 SRM 参数, 然后进行基质匹配分析, 以评估潜在的背景干扰。

Stellar 质谱仪兼具分析灵活性和快速极性切换的特性, 可以从色谱分离中获得全扫描的 MS 和 MS² 采集。仅需几小时 (而非几天或几周) 即可完成完整的方法优化, 因而研究人员可以开始分析关键样本, 更快、更有信心地完成实验研究。

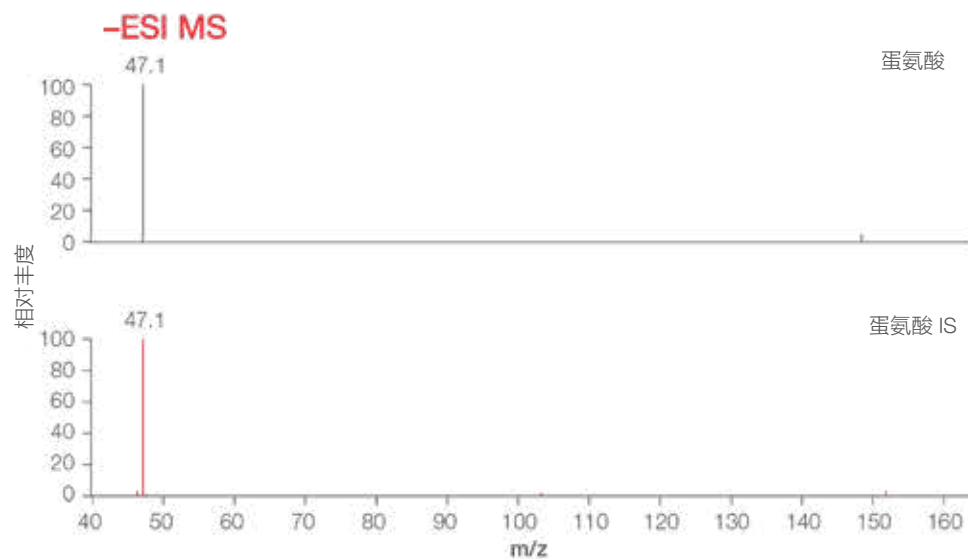
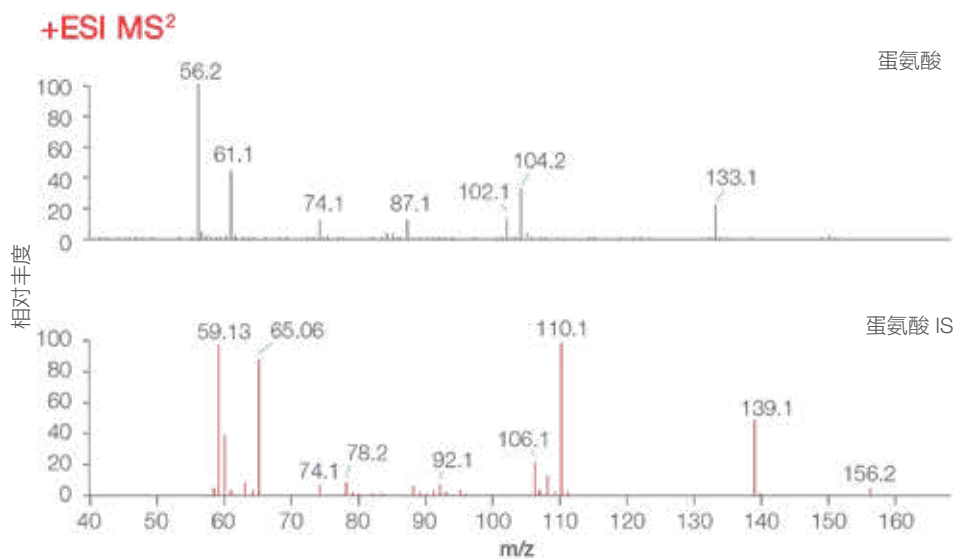
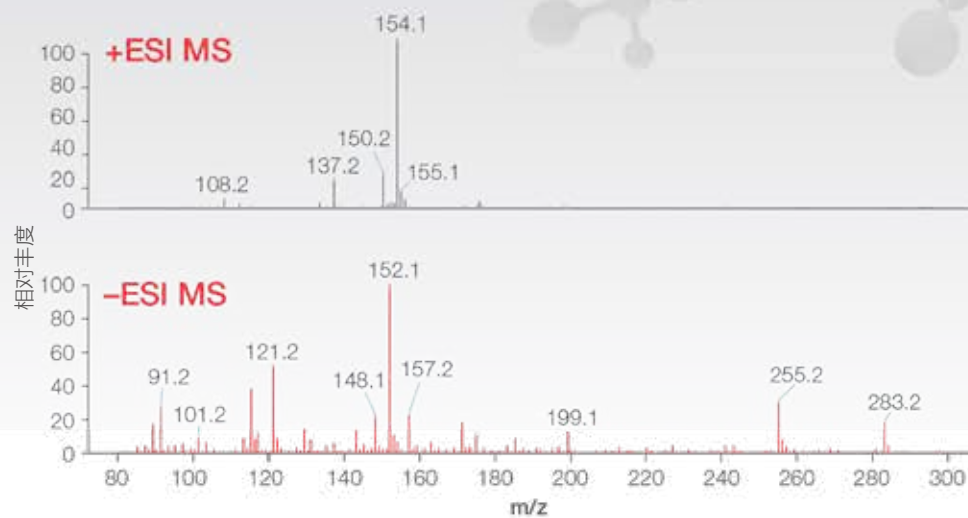
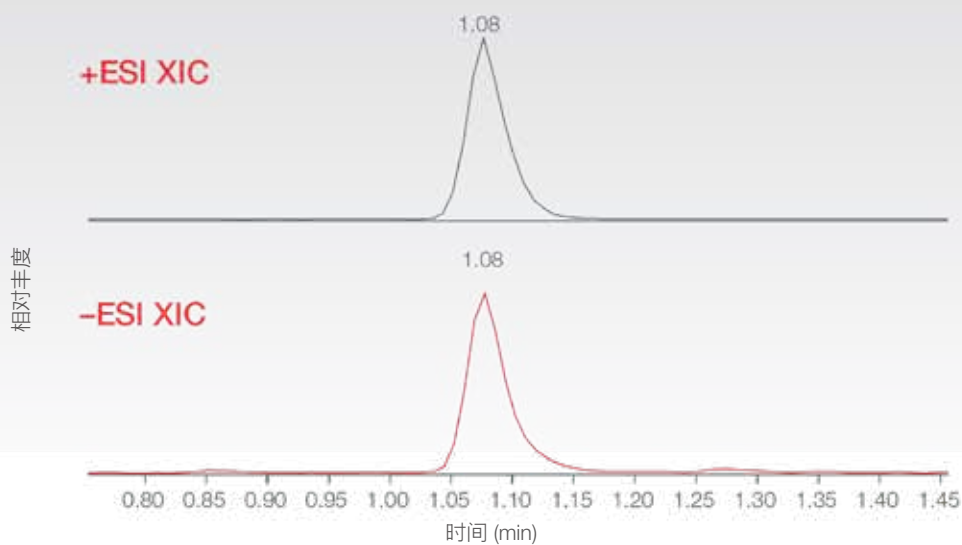
加快综合方法创新, 提升实验室能力

Stellar 质谱仪快速采集全扫描 MSⁿ 数据, 加快方法创建。此款仪器采用靶向前体质量数列表, 仅需 5 毫秒的极性切换, 即可以完成正负电离 (+ESI 和 -ESI) 模式下的全扫描 MS 和 MS² 采集切换。

在任一电离模式下, 在 MS 采集事件之间使用高能碰撞解离 (HCD) 型裂解和 / 或谐振 RF 碰撞诱导解离 (CID), 可以采集多个全扫描 MS² 光谱。通过归一化的碰撞能量 (NCE) 和步进式 CE 设置, 无需进行繁琐的 CE 优化。此外, Stellar 质谱仪利用动态 AGC, 因而无需在每次 SRM 转换时设置驻留时间。



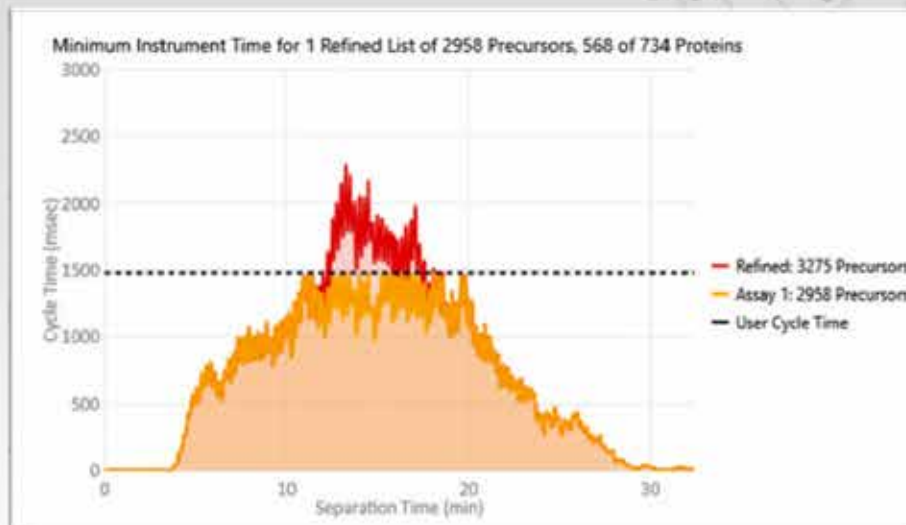
采用 7 分钟方法分析一组 15 种氨基酸和相应的内标物。图上显示了蛋氨酸全面分析所用的数据采集时间。实线表示 +ESI (红色) 和 -ESI (蓝色) 模式下的全扫描 MS 采集。完成 MS 采集后, 采集一组 10 个全扫描 MS² 光谱, 在代表不同极性的虚线内表示。在 3.5 秒内, 在每种极性下总共获得 9 个全扫描 MS 和 120 个全扫描 MS² 光谱。数据由 Metabolon Inc. 提供。



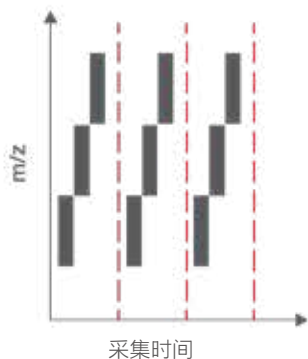
与 SRM 方法开发相比, Stellar 质谱仪产生的综合数据具有显著优势。通过全扫描 MSⁿ 采集, 研究人员可以确定 MS 扫描的潜在背景干扰中哪种特定电离形式的前体离子具有最大的灵敏度(例如, 质子化、铵加合物与钠), 以及靶向数据处理方法中需要考虑使用哪些产物离子。由此产生的数据有助于科研人员确定哪些目标分析物会在验证阶段面临挑战(这可能需要使用多种方法, 以分析全部或部分的目标分析物), 或者一种方法是否能够轻松验证所有分析物。

自动化智能简化方法创建并管理数据采集

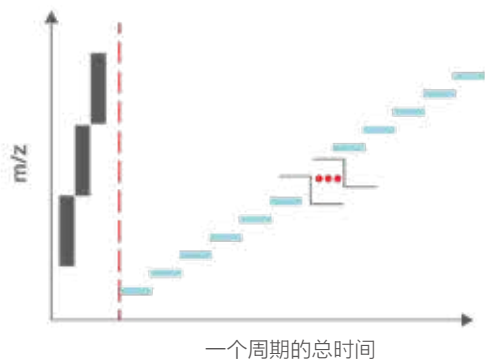
在开发高效且可靠的多路复用定量实验时，研究人员面临的挑战与其规模成反比。确定每种分析物的 LC 和 MSⁿ 参数对于高置信度的数据采集至关重要。扩大目标分析物的数量或使用更快的色谱梯度可能会影响数据的覆盖率、选择性或置信度等。新型的板载 PRM Conductor 工具提供智能化系统，利用发现数据来简化目标方法的创建。该软件通过三个简单的步骤，将 Thermo Scientific™ Vanquish™ UHPLC 系统与 Stellar 质谱仪操作相结合并对数据采集进行管理，以确保最佳的 LC-MSⁿ 性能。



第 1 步：将通过参比样品分析生成的谱图库加载到 Skyline 中，打开 PRM Conductor 软件，并在窗口的优化靶标 (Refine Target)、定义方法 (Define Method) 和创建方法 (Create Method) 区域中设置相应的数值。PRM Conductor 软件可在自动确定的循环时间确定每种蛋白质的最佳替代肽候选物，从而最大限度地提高色谱利用率。PRM Conductor 软件还使用谱图库信息，作为驱动自适应 RT 程序的“查找表”。

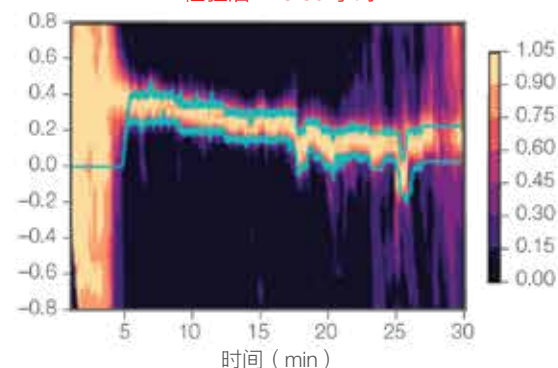


第 2 步：获取对齐图数据，用于管理动态保留时间调整。为了将参考数据中的关键特征峰映射为保留时间的函数，在以 200 kDa/S 的扫描速率重复采集 12 个 50 Th DIA 窗口。



第 3 步：使用靶向数据采集方法分析研究样本。采集方法先获取 12 个 DIA 扫描事件（约 100 ms），然后是 tMSn 事件。在每隔一个周期开始时获取 DIA 采集序列。

检验后 279.95 小时



运行的自适应 RT 程序：使用 DIA 映射功能在每隔一个采集周期完成后检测、评估和对齐保留时间窗口的采集周期示例。其中，青色线为自动确定时间偏移下 tMSn 事件的前缘和后缘。各种颜色分别对应于实时映射的保留时间特征与对齐映射文件对比的点积重叠。

端到端工作流程实现简化的靶向定量

转化研究需要能够支持扩大规模的工作流程，以鉴定有前景的生物标志物候选物并将其转化到验证流程。Stellar 质谱仪具有优异的组件，涵盖了从目标样品制备、最大化色谱性能、正交选择性到数据采集和处理的所有方面，是 Thermo Scientific™ 工作流程解决方案中不可或缺的一部分，专用于提高实验室生产率并增强实验能力。将其直接集成到 Thermo Scientific™ Xcalibur™ 软件生态系统中，可确保无缝操作，从而在验证过程中可靠地对生物标志物进行分级。



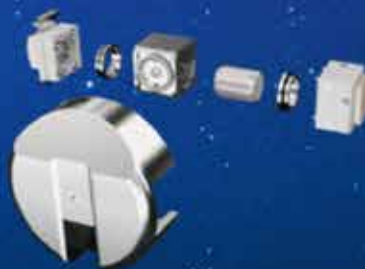
Thermo Scientific™
KingFisher™ Flex 系统

96 孔板模式，具有极大的
灵活性



Thermo Scientific™
Vanquish™ UHPLC 系统

从纳米到分析流速的高性能



Thermo Scientific™
FAIMS Pro Duo 接口

减少基质干扰，提高工作流程
的稳健性



Thermo Scientific™
Stellar™ 质谱仪

靶向定量分析的新范式



Thermo Scientific™
Ardia™ 平台

中央数据存储、自动化数据处理
以及仪器、数据和用户管理
工具



服务中心

灵活的解决方案可满足特定的服务和支持需求，提供定制计划，无论是单个仪器还是整个实验室或企业，均能满足其需求。

thermofisher.com/servicescentral



技术和在线支持：为您的仪器提供优异性能，以“帮助您的仪器保持优异性能”为己任。无论您是要寻找仪器手册还是备件、提交维修请求还是查看保修或服务合同的状态，我们都能提供您所需的支持选项。

thermofisher.com/technicalresources



保障您的投资：出色的实验室服务

Unity™ 实验室服务提供单一来源，实现集成式实验室服务、支持和供应管理。我们提供定制化的服务和出色的专家团队，具有充分的灵活性和丰富的经验，可满足您的实验室需求。我们提供全套服务和支持解决方案，致力于帮助您提高生产力、降低总拥有成本、同时确保整个实验室的性能。

unitylabservices.com



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
与质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.cn

ThermoFisher
S C I E N T I F I C