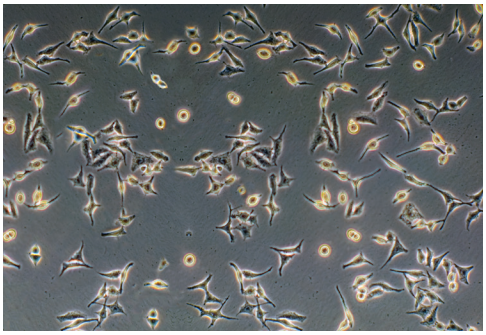
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

采用REIMS工作流程，以最少的样品制备步骤对细胞沉淀物进行直接分析

Emrys Jones和Michael Batey
沃特世公司(美国马萨诸塞州米尔福德)



目的

将配备REIMS离子源的Waters® Xevo® G2-XS QTof与Progenesis® QI相结合，以最少的样品制备步骤对样品管中的细胞沉淀物进行直接分析，研究不同细胞群之间的代谢差异。

背景

快速蒸发电离质谱(REIMS™)是一种常压质谱技术，允许研究人员在远离仪器的位置采样。在射频探头的作用下，部分绝热的样品(如生物组织)能够被迅速加热，将其中的液体蒸发掉。对于生物样品，上述蒸发过程可破坏所采集样品中的细胞，生成携带大量分子信息的气溶胶。随后，气溶胶被吸入一段软管中，最后到达REIMS离子源。

接下来，文丘里泵会以正交方式将气溶胶吸入质谱仪离子源的入口毛细管中。如此一来，只有较小的颗粒物质才能到达离子源，将由于动量过大而可能出现问题的大型离子簇成功剔除。

REIMS —快速、简单、功能强大，以最少的样品制备步骤对细胞样品进行直接分析。

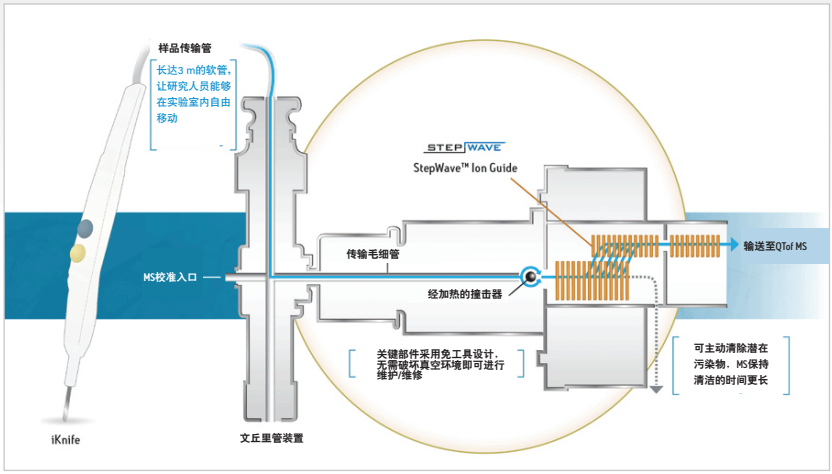


图1. REIMS离子源和采样装置，图中所示的配置配备的是单极手术刀选件。

进入离子源之后，保留下来的样品将被转移至经加热的撞击器表面，然后释放出分子离子进行分析和检测。

解决方案

在T75培养瓶中使用最低必需培养基(MEM)培养海拉细胞。培养24小时后，将一半的培养瓶转移到含0.1% O_2的低氧培养箱内过夜培养，同时另一半培养瓶仍置于标准条件下培养。次日，使用1 mL冻存培养基悬浮细胞并将其转移至样品瓶中，使每个样品瓶中含约200万个细胞。接下来，将样品储存在-80 ˚C环境下以待分析。

分析前先将细胞解冻并离心，除去冻存培养基。加入150 mM醋酸铵清洗细胞。再次离心以使细胞沉淀。除去清洗溶液之后即完成了全部样品制备步骤。

如图2所示，REIMS分析使用双极钳对样品管中的细胞沉淀物进行原位分析。用两个电极夹取少量样品。然后通过脚踏开关启动发电机 — 使电流通过细胞样品。电阻式加热可蒸发掉胞质并破坏细胞。由此得到的气溶胶将被两个钳体吸入，然后经过一段管路进入文丘里管装置，接下来以正交方式到达REIMS离子源入口(图3)。

采用这种即时采样方法，从接通电流到采集质谱图仅需数秒时间，而且可采集多个数据点。如图3所示，同一样品的5次重复测定在不到1分钟时间内即可完成。获得的谱图包含大量分子信息，其中脂类质量数范围内的信息尤为丰富。谱图中所示的5次采样的结果表现出了出色的样品内重现性和样品间重现性。图4展示了分别对细胞类型相同的3根不同样品管进行5次重复采样得到的结果。对不同采样体积进行归一化处理之后，大部分检出峰的CV均在10%范围内。

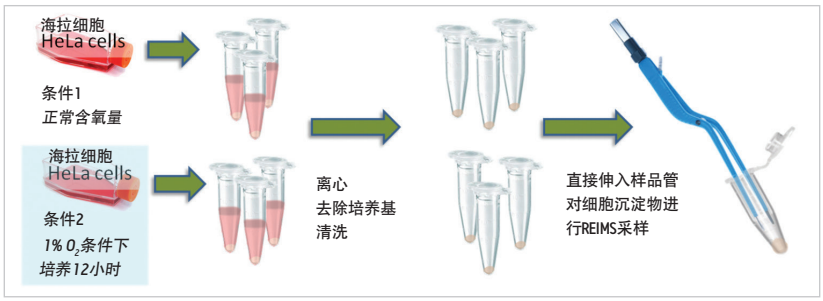


图2. 使用双极钳对细胞沉淀物进行REIMS分析的工作流程。最大程度简化了从细胞悬液到采集细胞群质谱信息所需的样品制备步骤。

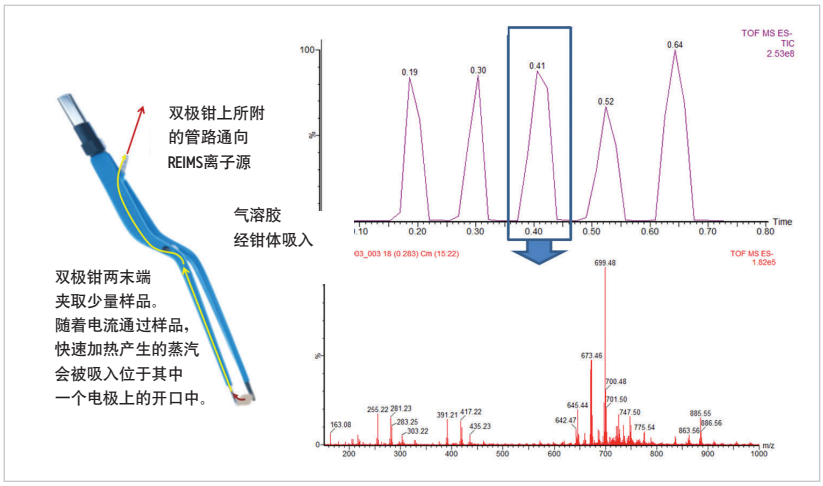


图3. 双极采样装置示意图以及代表性样品的数据采集结果，5次采样测定仅需不到1分钟。所示谱图为单次采样的结果，表明谱图能够提供丰富的信息。

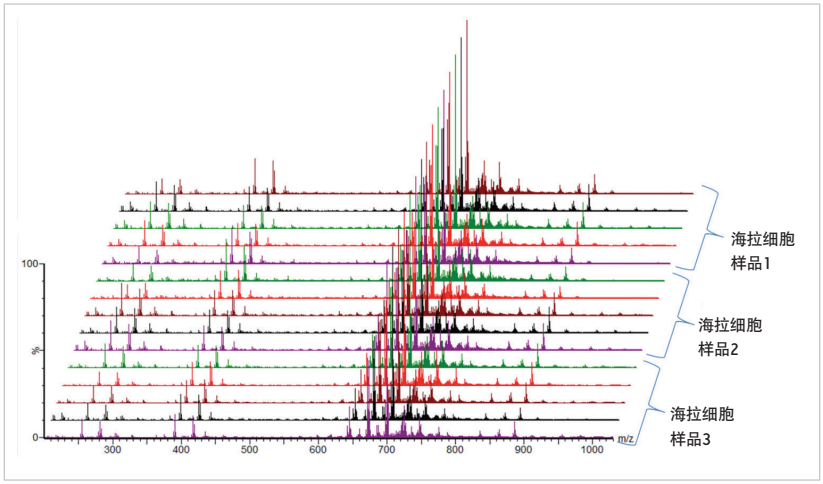


图4.采用双极REIMS技术的重现性分析：分别对细胞类型相同的3个不同样品管进行5次重复测定得到的谱图。数据集内所有峰的CV都普遍性地低于10%。

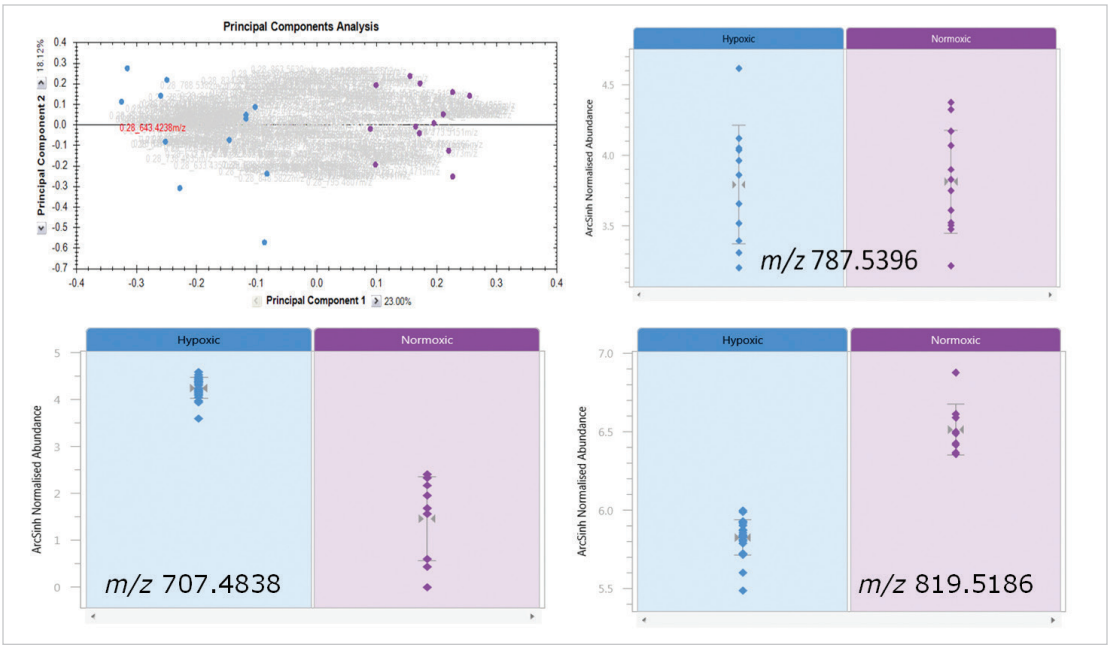


图5. REIMS数据的Progenesis QI分析结果。在第一张主成分分析图中，在两种生物条件下培养的样品的重复测定结果可以明确地彼此区分开来。其余几张图分别显示了在缺氧样品中含量较高、在含氧量正常的样品中含量较高以及在两种样品中含量相当的脂质种类。

高度可重现的快速分析技术有助于我们轻松对比不同细胞类型或不同条件下培养的细胞的代谢特性。Progenesis QI的精简数据分析解决方案进一步提升了分析的简便性。借助于Progenesis Bridge应用程序，MassLynx®软件采集的数据(每张原始谱图包含多次采样的数据)将被分为单张谱图，然后以数据点的形式将这些谱图导入Progenesis QI中。图5比较了缺氧细胞与含氧量正常的细胞的主成分分析(PCA)结果。软件可给出样品之间的差异，同时针对导致差异出现的分子给出可靠的鉴定结果。3个样品的初始分析结果表明，对于缺氧细胞和含氧量正常的细胞的细胞沉淀物中所含的各种脂质种类，无论其在缺氧细胞中的含量是增加还是减少，我们都成功对它们进行了鉴定。

总结

快速蒸发电离质谱(REIMS)是一种快速、简单、功能强大的细胞样品分析方法，应用范围十分广阔。

除了清洗和离心沉淀细胞之外，无需其他样品制备步骤，即可在样品管中直接测定。

数据可轻松导入Progenesis QI软件，以便分析人员在该软件中运用各种分析和鉴定工具从实验结果中挖掘出最丰富的信息。

感谢曼彻斯特大学的Fiona Henderson、Adam McMahon博士和Kaye Williams教授在细胞培养和分析方面给予我们的帮助。

扫一扫，关注沃特世微信

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 5999
成都：028 - 6765 3588
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com

Waters、The Science of What's Possible、Xevo、Progenesis和MassLynx是沃特世公司的注册商标。
REIMS和StepWave是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2016年 沃特世公司。中国印刷。2016年8月 720005774ZH LM-PDF