



# (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103650099 B

(45)授权公告日 2016.10.12

(21)申请号 201280030981.3

(72)发明人 A·马卡洛夫

(22)申请日 2012.06.19

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 103650099 A

代理人 姬利永

(43)申请公布日 2014.03.19

(51)Int.Cl.

(30)优先权数据

H01J 49/00(2006.01)

1110662.2 2011.06.23 GB

H01J 49/06(2006.01)

H01J 49/40(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2013.12.23

(56)对比文件

US 2004/0108455 A1, 2004.06.10,

US 2009/0283675 A1, 2009.11.19,

CN 101611466 A, 2009.12.23,

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2012/061746 2012.06.19

(87)PCT国际申请的公布数据

W02012/175517 EN 2012.12.27

审查员 丁钰丰

(73)专利权人 塞莫费雪科学(不来梅)有限公司

地址 德国不来梅

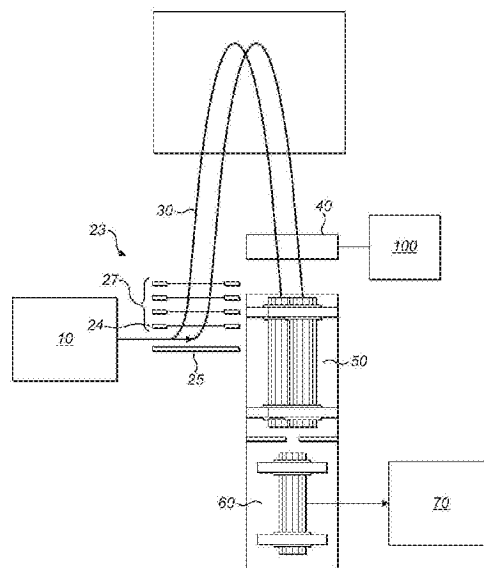
权利要求书3页 说明书9页 附图5页

## (54)发明名称

串联质谱法的靶向分析

## (57)摘要

描述了一种串联质谱仪和方法。在一个离子源(10)中产生前体离子并且一个离子注入器(21,23)经由一个单或多反射TOF装置(30)向一个下游离子导向器(50,60)注入离子,该单或多反射TOF装置该将离子根据它们的m/z分离为多个包。控制在离子注入器(21,23)与离子导向器(50,60)之间的前体离子的路径中的一个单通离子门(40),以使得只允许含有感兴趣的前体离子的前体离子包的一个子集继续传输至离子导向器(50,60)。提供一个高分辨率质谱仪(70)用于分析被允许穿过离子门(40)的那些离子,或者它们的碎片。该技术允许从宽质量范围的前体中选择多个m/z范围,任选地对这些所选择的离子种类中的一个或多个进行碎裂。



1. 一种串联质谱方法,包括以下步骤:

a) 在一个离子源中产生前体离子;

b) 将这些前体离子引导到一个离子注入器中;

c) 将这些前体离子经由一个离子门从该离子注入器向一个离子导向器喷射,以使得这些前体离子在它们至所述离子导向器的通路上仅到达所述离子门一次,这些前体离子作为暂时分离的多个离子包到达,每个离子包含有多个不同离子种类中的一个对应种类的离子;

d) 控制该离子门以使得从到达该离子门的该多个离子包中顺序选择从感兴趣的前体离子种类的一个子集获得的多个离子包的一个子集;

e) 在多个后续周期中重复步骤a)至d),其中所述离子门被控制以便在不同的周期期间选择所述多个离子包的不同子集;

f) 将在第一以及后续多个周期期间选择的多个离子包的子集在该离子导向器中混合;并且

g) 在一个高分辨率质量分析器中并行分析由该混合的所选择的离子包的子集获得的所得到的积累的所选离子群体;

其中,步骤d)包括在所述第一以及后续多个周期期间控制所述离子门以便根据由离子源产生的离子谱中离子种类的相对强度选择所述多个前体离子的子集,使得较强的离子种类在多个周期中比较弱离子种类少的周期中积累。

2. 如权利要求1所述的方法,进一步包括,在通过控制该离子门来选择该离子包的子集之后,将这些所选择的前体离子中的至少一些碎裂。

3. 如权利要求2所述的方法,其中,将这些所选择的前体离子中的至少一些碎裂的步骤包括使用不同的对应的碎裂能量,在不同时间将这些不同离子种类中的至少一些碎裂。

4. 如权利要求2所述的方法,其中,将这些所选择的前体离子中的至少一些碎裂的步骤包括使用不同的对应的优化的碎裂能量,在不同时间将每个不同离子前体离子种类的这些离子碎裂。

5. 如权利要求2、3或4中任一项所述的方法,其中,该将这些离子碎裂的步骤包括选自以下清单的技术中的一项或多项,该清单包括:电子移转解离(ETD)、红外多光子解离(IRMPD)、臭氧诱导解离(OzID)、紫外线灯和紫外线解离。

6. 如权利要求1-4中任何一项所述的方法,其中,该步骤c)进一步包括将这些前体离子喷射到一个飞行时间质谱仪中,以在到达该离子门之前将这些前体离子暂时分离成离子包。

7. 如权利要求6所述的方法,其中,该将这些前体离子喷射到一个飞行时间质谱仪中的步骤包括将这些离子喷射到一个单反射飞行时间(TOF)质量分析器、一个多反射飞行时间(TOF)质量分析器、一个多扇区反射飞行时间(TOF)质量分析器、以及一个轨道飞行时间装置中的一个或多个中。

8. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中,该离子导向器包括一个离子积累装置并且该步骤f)包括在该离子积累装置中存储所选择的多个离子包的子集。

9. 如权利要求2、权利要求3或权利要求4所述的方法,进一步包括在该离子导向器中、并且在这些方法步骤(a)至(d)的多个周期内,对于多个感兴趣的前体离子种类积累所希望

数目的离子的碎片,该步骤g)进一步包括并行地分析这些积累的碎片离子。

10. 如权利要求9所述的方法,其中,该在多个周期内积累的步骤包 括,在多个周期的步骤e)的过程中,控制该离子门以便选择含有该多个前体离子种类的不同子集的离子包,以使得,在N个周期内,N是一个>1的整数,在那些周期的M中,M是一个 $\leq N$ 的整数,选择一个第一离子种类的离子 $m_1/z_1$ 以进行碎裂,而在不同的周期数P中,P是一个整数, $P \leq N$ 但 $P \neq M$ ,选择一个第二离子种类的离子 $m_2/z_2$ 以进行碎裂。

11. 如权利要求10所述的方法,进一步包括根据在由该离子源产生的离子谱中每个此类 $m/z$ 的强度,对于每个 $m/z$ 选择这些方法步骤(a)至(d)的许多周期N,以使得强度更大的离子种类在比强度较小的离子种类更少的周期中进行积累。

12. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中,该步骤d)包括选择由从该离子注入器喷射的10个与100个之间的前体离子种类的一个子集获得的离子包的一个子集。

13. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中,该控制该离子门的步骤d)包括允许所述所选择的离子包的子集穿过该离子门并且直接进入该离子导向器。

14. 如权利要求13所述的方法,进一步包括控制该离子门以便将不需要被进一步分析的、来自该离子注入器的这些离子包转移,以使得它们不进入该离子导向器。

15. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,进一步包括进行一个所有前体离子的初步质量分析以识别感兴趣的前体离子种类以及它们的相对丰度。

16. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中,该分析所得到的离子群体的步骤g)包括将在该离子导向器中的这些离子喷射至飞行时间 (TOF)、轨道静电阱或FT-ICR质量分析器中的一个中。

17. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,进一步包括将离子包的该多个不同子集通过该高分辨率质量分析器的分析结果进行组合,以便形成一个复合质谱。

18. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中,该将这些前体离子引导到一个离子注入器中的步骤(b)包括将这些前体离子在一个离子阱中俘获,该步骤(c)然后包括将这些离子从该离子阱向该离子导向器喷射。

19. 如权利要求1-4中任一项所述的方法,其中,该将这些前体离子从离子注入器喷射的步骤(c)包括将这些离子正交地喷射。

20. 一种串联质谱仪,包括:

一个用于产生前体离子的离子源;

一个被安排在该离子源下游的离子注入器,用于将从该离子源接收的前体离子向一个下游离子导向器喷射;

一个单通离子门,该单通离子门被安排在从该离子注入器向该下游离子导向器喷射前体离子的路径中,这些前体离子作为多个暂时分离的离子包到达所述离子门,每个离子包含有多个不同离子种类中的一个对应种类的离子;

一个离子门控制器,该离子门控制器被配置为控制该单通离子门,以便允许离子包的一个子集通过,该离子包的子集仅含有多个感兴趣的前体离子种类中的一个对应子集;

所述离子门控制器被进一步配置为在所述串联质谱仪的多个周期期间控制所述单通离子门以便根据由离子源产生的离子谱中离子种类的相对强度允许包含多个感兴趣的前体离子种类中的对应子集的不同离子包子集通过,使得较强的离子种类在多个周期中比较

弱离子种类少的周期中积累；

其中,将该离子导向器被配置为接收被允许在所述串联质谱仪的多个周期期间通过该单通离子门的前体离子;该串联质谱仪进一步包括:

一个高分辨率质量分析器,该高分辨率质量分析器被安排为分析这些离子或者它们的碎片。

21. 如权利要求20所述的质谱仪,

其中,该离子导向器包括或包含一个离子存储装置和一个碎裂单元中的一者或两者。

22. 如权利要求21所述的质谱仪,其中,该离子导向器包括或包含一个碎裂单元,该碎裂单元被安排为接收所选择的通过该单通离子门的离子包的子集,并且进行所述子集的碎裂。

23. 如权利要求20至22中任一项所述的质谱仪,进一步包括一个单反射飞行时间(TOF)质量分析器、一个多反射飞行时间(TOF)质量分析器、一个多扇区反射飞行时间(TOF)质量分析器、以及一个轨道飞行时间装置中的一者或多者,该一者或多者被安排在该离子注入器与该离子门之间,用于在从该离子注入器喷射之后这些离子至该离子门的路上分离离子。

24. 如权利要求20至22中任一项所述的质谱仪,其中,该离子注入器是一个离子阱,该离子阱用于俘获从该离子源接收的离子并且将它们喷射向该下游离子导向器。

25. 如权利要求20至22中任一项所述的质谱仪,其中,该离子注入器包括第一和第二平行板,其中之一形成一个提取板。

26. 如权利要求25所述的质谱仪,其中,该提取板由一个栅格或缝隙形成、或者包括一个栅格或缝隙。

27. 如权利要求25所述的质谱仪,其中,将该离子注入器被安排为以一个方向来喷射离子,该方向与从该离子源输入前体离子的方向基本上是正交的。

28. 如权利要求20-22中任一项所述的质谱仪,其中,该离子注入器是一种非俘获性的仅DC或RF的离子导向器。

## 串联质谱法的靶向分析

### 发明领域

[0001] 本发明涉及用于使用串联质谱法的离子靶向分析的一种方法和一种设备。

### 发明背景

[0002] 三重四级杆质谱法用于复杂混合物的靶向分析的一种充分发展的分析技术。在一个三重四级杆质谱仪中,从一个离子源中产生离子并且注入到一个第一四级杆分析器中。此处,选择一个窄的质量范围( $m/z$ )并且该窄的质量范围进入包括一个气体填充的碰撞单元的一个第二级中。通过与气体碰撞产生的碎片离子进入一个第二四级杆分析器中,其中选择一种特定碎片用于检测。

[0003] 在用于分析的靶标是已知的但与其他分析物相比以非常低的水平存在的情况下,该三重四级杆技术允许分离前体以及相对应的感兴趣的碎片离子,由此提供一种用于靶标分析的稳健的定量方法。

[0004] 该分析方法的一个缺点是只有窄窗口的 $m/z$ 在该第一级中被分离,其中所有其他 $m/z$ 在这些四级杆上损失。这种浪费性的运行妨碍了快速定量分析,其中多个靶标化合物需要在有限时间内进行分析。在每种情况下,需要将这些四级杆设置为接受不同范围的 $m/z$ ,并且有效的工作周期是相当低的(可能0.1%–10%,取决于靶标的数量)。

[0005] 传统三重四级杆质谱仪的一个替代方案包括在一个高分辨率、高质量准确度谱中从所有前体中同时采集所有碎片。一旦已经获得那个单一谱,可以对它进行搜索以尝试识别一个靶标 $m/z$ 的离子。具有足够分辨率和质量准确度以允许实施该效果的分析器包括轨道阱™(Orbitrap™)静电阱分析器和飞行时间(TOF)分析器。然而,甚至使用此类仪器(分辨能力 $>50,000$ 至 $100,000$ 并且质量准确度低于2ppm或甚至更好),在现代靶向分析实验中极大的浓度范围意味着现存的所谓“全质量”分析器就线性度、动态范围和感兴趣的一个特定 $m/z$ 的检测限而言不能与该三重四级杆装置竞争。对于TOF分析器,这些限制由低传输和检测电子约束造成。对于该轨道阱™,困难主要是任何外部俘获装置的有限电荷容量。

[0006] 改进质量分析的通过量的一个方式是进行MS/MS,其中将离子束分为多个包(根据这些包的 $m/z$ )。然后将一个第一包碎裂,而不损失另一个包,或与另一个包并行。将该离子束的分裂为多个包可以通过使用存储广泛质量范围离子的一个扫描装置来实现。用于实施该扫描的合适装置是一个3D离子阱,如例如在WO-A-2003/103,010中所披露的;一个具有径向喷射的线性阱,如在US-A-7,157,698中所述的;一个脉冲离子迁移率谱仪(参见,例如,WO-A-00/70335或US-A-2003/0213900);一个减速的线性阱(参见WO-A-2004/085,992)或一个多反射飞行时间质谱仪如在WO-A-2004/008,481中所述的。

[0007] 在每种情况下,质量分析的第一级之后是在一个碰撞单元中例如(优选,一个具有轴向梯度的碰撞单元)、或通过一个脉冲激光器的快速碎裂。使用,例如,另一个TOF质谱仪,但在比该扫描持续时间快得多的时间标度上分析这些所得到的碎片(被称为“嵌套时间”)。然而,该性能仍是受到损害的,因为只有非常有限的时间被分配给每个扫描(典型地,10 $\mu$ s–20 $\mu$ s)。

[0008] 这些所谓的“二维MS”方法似乎提供通过量而不损害灵敏度,不像更传统的多通道MS/MS安排,其中大量的并行质量分析器(典型地离子阱)用于各自选择一种前体并且然后从该前体中扫描出这些碎片至一个单独的检测器如US-A-5,206,506中所披露的离子阱阵列或US-A-2003/089,846中所披露的多个阱。

[0009] 然而,所有已知的二维MS技术遭受相对低的前体选择分辨率(不比单元分辨率更好)以及相对低的碎片分析的分辨能力(不大于几千)影响。而且,这些已知的2维MS技术是基于俘获装置的使用以提供高工作周期,并且该周期时间是由最慢的分析器的周期时间来定义的。现代离子源可以产生数百皮安量级的离子电流,也就是说,每秒超过 $10^9$ 个元电荷。因此,如果扫描穿过感兴趣的整个质量范围的全周期是5毫秒,那么此类俘获装置原则上应该能够积累高达5百万个元电荷并且仍允许有效的前体选择。

[0010] WO-A-2008/059246描述了允许多个离子种类的高性能同时分离以便进行随后的检测或碎裂的一种安排。在所披露的安排中,将离子注入到一个多反射静电阱中,该多反射静电阱将离子沿一个轴线往复反射。通过一个静电门的适当控制来分离感兴趣的种类的离子,该静电门根据离子在该阱内的振荡周期将离子进行偏转,分别沿第一或第二离子路径。

[0011] 针对这个背景,本发明提供,在一个第一方面,根据权利要求1的一种串联质谱方法。本发明还扩展至根据权利要求21的一种串联质谱仪。

[0012] 本发明基于靶标分析不要求独立地获得所有MS/MS谱的认识。该仪器仅仅需要递送这些感兴趣的离子种类的分离的且可检测的峰。这些分离的前体可以使它们的群体再次混合在一起并且然后在一个单一的高分辨率谱中获得。这种所谓的并行反应监测(PRM)允许多个低强度分析物的并行定量,因此在大规模靶向实验中使检测限大大增加超过三重四级杆。

[0013] 在该离子门上所选择以便用于继续传输至该离子导向器的离子当到达该离子导向器时,并且在该离子导向器的下游当它们在该高分辨率质量分析器中进行分析时,可以保持为未碎裂的状态。该模式通过使用不同的工作周期来展开存储具有不同强度的 $m/z$ 的可能性,大大扩展了以上所述的“全质量分析”技术的能力。以此方式,使用已经被减少了1-3个数量级的强度范围获得未碎裂的和碎裂的谱两者。例如,低强度峰可以在每次注入之后被传输至该高分辨率质量分析器,同时高强度峰只可以在所有注入的0.5%-1%的过程中被传输。然后可以任选地将所获得的不同的相对小质量范围的谱(各自典型地具有它自己的特定衰减方案)缝合在一起(例如,通过使用WO-A-2005/093783中所述的技术)。在最终的谱对于传输上的这些差异进行校正之后,此类“谱缝合”允许对分析的动态范围进行显著的扩展。

[0014] 此外,所使用的技术提供足够的时间以碎裂离子,并且尤其提供足够的时间以使用此类最近开发的“慢速”技术如电子转移解离(ETD)或红外多光子解离(IRMPD)。

[0015] 因此根据本发明的一些优选实施例,被允许穿过该离子门的前体离子的一些或全部可以在其下游进行碎裂。在一个优选的实施例中,该离子导向器包括一个碎裂单元和该碎裂单元的下游的一个离子阱(它可以任选地是一个第二离子阱)。然后通过该离子门选择感兴趣的前体离子,并且传送到该碎裂单元,其中将这些前体离子的一些或全部碎裂。然后通过该高分辨率质量分析器分析这些碎片离子(以及任何剩余的前体离子)。最优选地,将这些碎片离子存储在该(第二)离子阱中,以使得,例如,在高分辨率质量分析之前,可以通

过该技术的多个周期使特定的低丰度种类在该(第二)离子阱中增强。在额外的或者替代的实施例中,前体离子的增强可以同样发生,或者相反在该离子积累装置中,通过使用一个碎裂单元但以一个低能量模式操作它以使得不将离子碎裂,和/或通过绕过该碎裂单元(或完全忽略它)并且使用一个第二离子阱。

[0016] 因此,可以从宽质量范围的前体中选择多个 $m/z$ 范围(而不是1,如在四极滤质器中)。可以将每个所选择的前体种类进行碎裂-任选地以一个对应的最佳能量-并且然后可以将这些碎片在一个单一的广谱碎片群体中进行组合。该单一碎片群体然后可以在一个高分辨率质量分析器中如一个TOF、一个轨道静电阱如轨道阱<sup>(TM)</sup>、或FT-ICR质谱仪中进行分析。因此,提出一种方法和设备,该方法和设备一个方面解决该有限的空间-俘获分析器的电荷容量,以及另一方面解决TOF的有限动态范围,这是通过选择一个有限的然而复数的具有分析兴趣的离子种类用于碎裂和随后的并行分析。例如,可以将10个与100个之间的前体种类在该技术中一起分析。

[0017] 本发明可以提供一种串联质谱方法,包括这些步骤:a)在一个离子源中产生前体离子;b)在一个离子阱中将前体离子俘获;c)将这些前体离子从该离子阱经由一个离子门向一个离子导向器喷射,以使得这些前体离子在它们至所述离子导向器的通路上仅达到所述离子门一次,这些前体离子作为暂时分离的多个离子包到达,每个离子包含有多个不同离子种类中的一个对应种类的离子;d)控制该离子门,以便从到达该离子门的多个离子包中顺序选择从感兴趣的前体离子种类的一个子集获得的多个离子包的一个子集;e)将所选择的多个离子包的子集在该离子导向器中混合;并且f)在一个高分辨率质量分析器中分析从该混合的所选择的离子包子集获得的该所得到的离子群体。

[0018] 还可以提供一个串联质谱仪,该串联质谱仪包括一个用于产生前体离子的离子源,一个用于从该离子源中俘获前体离子、被安排在该离子源下游的离子阱;一个单通离子门,被安排在从该离子阱向一个下游离子导向器喷射前体离子的路径中,这些前体离子作为多个暂时分离的离子包到达所述离子门,每个离子包含有多个不同离子种类中的一个对应种类的离子;一个离子门控制器,被配置为控制该单通离子门,以便允许仅含有多个感兴趣的前体离子种类中的一个对应子集的一个离子包子集通过;其中,将该离子导向器被配置为接收被允许通过该单通离子门的前体离子;该串联质谱仪进一步包括:被安排为分析这些离子或者它们的碎片的一个高分辨率质量分析器。

[0019] 附图简要说明

[0020] 本发明可以通过许多方式来进行实践,现在将仅通过举例并参考附图来描述一些实施例,其中:

[0021] 图1示出了用于离子的靶向分析的一个串联质谱仪的一个第一实施例;

[0022] 图2示出了用于前体离子的靶向分析的一个串联质谱仪的一个第二实施例;

[0023] 图3a和3b分别示出了用于前体离子的靶向分析的一个串联质谱仪的一个第三实施例的顶视图和侧视图,包括一个非俘获离子加速器;并且

[0024] 图4a和4b分别示出了DC和RF离子导向器的示意图,以提供用于离子到图3a和3b的非俘获离子加速器的正交加速的一个替代装置。

[0025] 优选实施例的详细描述

[0026] 首先参见图1,示出了一个串联质谱仪1。该质谱仪1包括一个离子源10,如一个电

喷射离子源或一个MALDI离子源,该离子源产生有待分析的连续的或脉冲的带电粒子流(前体离子)。将来自该离子源的这些离子引入一个仅rf存储的第一级(离子阱)20,随后立即是一个仅rf存储的第二级(离子阱)21。第一和第二离子阱20、21均由填充有气体并且由一个狭缝22分开的线性仅rf多极杆形成。该狭缝选通进入的离子流。最优选地,第二离子阱21是一种所谓的弯曲的线性阱或c-阱-例如WO-A-2008/081334中所述的类型的。施用到第一和第二级20、21的多级杆上的rf频率是优选在约2MHz与5MHz之间。选择第二离子阱21中的压力,以便提供在一个短时间段内(优选小于1微秒)的离子冷却。该时间段对应于超过约 $3 \times 10^{-3}$ - $10 \times 10^{-3}$ 毫巴的氮气压力。优选地,使用来自离子源10的一个窄的气体射流。

[0027] 将狭缝22的电压降低以允许离子进入第二离子阱21并且然后再次升高以在第一离子阱20中保持(存储)来自该离子源的剩余的前体离子。

[0028] 在不大于1毫秒的冷却时间后,将第二离子阱21中的离子正交地喷射到第二离子阱21的轴线处。第二离子阱21的轴线是,为了本说明的目的,这些阱杆沿其伸长的轴线。可以通过许多方式实现喷射。

[0029] 首先,通过跨过第二离子阱21的rf杆施加一个DC电压可以将离子正交地喷射,而无需关闭施加到这些杆上的rf电压。可替代地,可以应用同样的技术,但还伴随有这些rf电压的快速断开。在其内容通过引用而结合的US-A-7,498,571中描述了该技术。在此情况下,优选的是,第二离子阱21是一个如WO-A-2008/081,334中的C-阱。允许从第二离子阱21的正交喷射的另一种替代方案是将一个双极激励施用到伸展的rf杆上,如US-A-5,420,425中所述的。可以扫描双极激励的幅值以提供在 $2 \times 10^5$ amu/秒与 $10 \times 10^5$ amu/秒之间的质量扫描速率。用于该正交喷射的变体的串联质谱仪的优选安排在图2中示出,并且将与以下附图相联系进一步详细描述。用于从阱21正交脉冲喷射出的再另一种安排在US-B-8,030,613中进行描述。

[0030] 尽管本发明的优选实施例使用从第二离子阱21的正交喷射,还可能的是将离子从第二离子阱21中轴向地喷射。然而,该安排典型地允许该喷射脉冲的更低的空间电荷。该第二离子阱的空间电荷极限优选达到 $1 \times 10^6$ 个与 $3 \times 10^6$ 个之间的元电荷。这对应于每秒所允许的 $1 \times 10^9$ 个与 $3 \times 10^9$ 个之间的元电荷的离子流,等价于200皮安与600皮安之间的一个离子电流。这与现代离子源(如以上所述的电喷射和MALDI离子源)的典型亮度匹配。

[0031] 在从第二离子阱21的正交喷射之后,将离子引导穿过一个任选的扇形电场25,进入一个单反射或多反射飞行时间(MR-TOF)分析器30,以允许根据它们的质荷比的进行离子的飞行时间分离,同时维持一个相对紧凑的封装。在替代的实施例中,一个多扇区飞行时间质量分析器(例如,MULTUM)、或一个多反射TOF、或一个轨道飞行时间质量分析器可以用作分析器30。在WO-A-2009/081143或WO-A-2010/136534中描述了合适的装置。

[0032] 一个离子门40位于MR-TOF30下游。在图1的实施例中,离子门40位于MR-TOF分析器30的焦点处。具有不同质荷比(m/z)的前体在时间上的不同时刻到达门40。门40是在一个控制器100的控制下。该控制器控制门40,以便(在图1中所示的安排中)允许具有分析兴趣的前体离子在一个所希望的轨迹上进入一个碎裂单元50。使用控制器100的控制下施加到离子门40上的电压脉冲将所有不希望的离子偏转到一个离子止动器(或静电计)41上。离子门40本身可以作为一个简单的偏转器,或可替代地,作为一个布拉德伯里-尼尔森门(Bradbury-Nielsen gate)来实施(参见物理评论(Phys.Rev.),1936年,第49卷,第5期,第



388页-第393页)。最优选地,离子门40是无栅的。任选地,可以使用一个另外的脉冲装置42来减少能量发散。在其内容通过引用而结合的US-A-7,858,929中描述了该技术。

[0033] 可以将离子门40和脉冲装置42,任选地,整合到一个能量提升装置中,该能量提升装置将该电势(相对于该飞行管)增加至对于在离子门40附近的离子而言足够转移至一个下游碰撞单元50的水平。

[0034] 可以通过首先获得一个前体离子的全景谱来推导有待选择的这些离子种类。该全景谱中的前体离子的相对强度还可以有利地用于提供自动增益控制。具体地,为了调节前体离子和它们的碎片相对于彼此的数量,以便提供类似的相对丰度,可以将这些前体离子种类中的一些在该串联质谱仪的仅一个单周期过程中传输,而可以将其他种类在多个周期中传输。这可以通过一个简单实例来进一步理解。考虑前体离子的一个全景谱,其中一种第一离子种类,种类1,具有的相对丰度为一种第二前体离子种类,种类2的相对丰度的大约40倍。为了最终分析大致类似数量的离子种类1和离子种类2的包,在图1的安排将只允许离子种类1的离子在四十个周期之一的过程中穿过离子门40。“周期”是指排空第二离子阱21,随后在离子门40处飞行时间分离并且选通进入碎裂单元50。相反,在谱仪1的四十个周期的每一个中将允许具有的相对丰度为离子种类1的1/40的离子种类2的离子穿过离子门40。当然将理解的是,这些多个周期的相对计时不是关键性的:也就是,前提是在谱仪1的多个周期过程中,积累适当数量的前体离子,典型地不重要地是在这些周期的哪个周期的过程中积累了每个单独的离子种类。

[0035] 作为该离子的‘数字’计量的一个替代方案,一种‘模拟’计量也是可能的,其中离子门40提供的不是该离子束的“开/关”转换,而是通过可变电压进行的束强度的可控衰减。这种衰减对电压的依赖性可以使用一种校准混合物进行校准并且然后用于真实分析物。

[0036] 在这两种变体中,在该最终的输出谱中,优选通过这些衰减因子按比例缩放回所测量的强度,以提供准确的定量表示。可能的是将相邻的相对窄的质量范围谱缝合在一起以产生一个更宽质量范围的(“全景的”)谱。一种用于实现其的合适技术在WO-A-2005/093783进行描述。在最终的谱对于传输上的这些差异进行校正之后,此类“谱缝合”允许对分析的动态范围进行显著的扩展。

[0037] 优选地,在图1的安排中,对于一个给定分析,取决于正在进行的实验,选择10个与100个之间的分离离子种类(不同的 $m/z$ )。希望分析物是被选择为与它们的内部校准物并行的,尽管如以上所解释的,根据一个前体离子谱中的这些前体离子的强度上的差异,周期的数量可以是不同的。

[0038] 碰撞单元50(一种前体离子种类选择性地被选通到其中)优选是具有一个DC场的一个气体填充的多级杆,以在这些离子进行混合的碰撞单元50的端部收集离子。碰撞单元50与一个高分辨率质量分析器70相接,同时在碰撞单元50与高分辨率质量分析器70之间任选使用一个外部离子俘获装置60。如果可以将离子的能量发散减少至几十eV,那么氮气或氩气可以用作碰撞单元50内的一种碰撞气体。然而,对于几十eV或以上的能量发散,优选的是使用氦气作为一种碰撞气体,由于它允许高得多的碰撞能量。

[0039] 在已经将所有的所选择的前体离子在碰撞单元50中碎裂并且冷却后,经由任选的外部装置60,将它们转移到高分辨率质量分析器70中。“高分辨率分析器”是指具有数万或数十万的分辨能力的、能够提供质量分析的任何装置,如(但不限于)一个轨道静电阱,如一

个轨道阱<sup>(TM)</sup>分析器,一个任何类型的TOF分析器,如一个具有或不具有离子镜的正交加速TOF分析器,一个多反射飞行时间质量分析器、一个多扇区飞行时间质量分析器、一个多偏转飞行时间质量分析器,或者,可替代地,一个傅立叶变换质量分析器,或另外的。分辨能力的最佳设置取决于所得到的混合物的复杂程度,并且甚至对于简单混合物典型地应该是至少10,000,并且优选至少20,000。对于数十个重叠的MS/MS谱,预期的是,最佳分辨能力将超过50,000。

[0040] 其中高分辨率质量分析器70是一个轨道阱<sup>(TM)</sup>质量分析器,任选的外部装置60是存在的并且优选是一个仅rf存储阱,如一个c阱,再次如WO-A-2008/081334中所述的。在此情况下,将来自第二离子阱21的多重喷射脉冲在该碎裂单元中进行碎裂,然后将这些碎片在c阱60中积累。在所有碎片在c阱60中的积累之后,将它们作为一个单脉冲喷射到轨道阱分析器70中,以作为一个单一谱来采集。

[0041] 可替代地,其中高分辨率质量分析器70是一个TOF质量分析器,然后将碰撞单元50中的碎片离子连续地从碰撞单元50中泄漏,通过一个用于连续采集的正交加速器以1kHz与100kHz之间的频率对该离子束连续地进行取样。对于长飞行长度和/或多反射的TOF,再次一个c阱或其他rf存储装置可以用作外部装置60。在此情况下,没有必要使这些碎片离子注入到TOF质量分析器70中的操作与从第二离子阱21中的喷射同步。

[0042] 作为仍一个另外的选择,可以无需碎裂而将这些离子转移到外部装置60中。也就是说,允许离子穿过碎裂单元50而不进行碎裂,或可替代地可以导致它们绕过碎裂单元50。这可以通过减少碎裂单元50的这些杆上的rf电压的幅值,或通过使用具有仅rf运输多极杆的一个另外的离子路径(未示出)来实现。这是用于获得具有前体离子的校正的(未缩放的)强度的一个预扫描的优选模式。

[0043] 作为以上所述的技术的结果,由高分辨率质量分析器70获得的每个谱代表来自10个与100个之间的前体离子种类的碎片谱的并行(即,同时的)采集,其中通过使用所述的自动增益控制(AGC)技术,每种前体具有大致类似数量的离子。这进而导致通过一个因子G增加质量选择的工作周期,其中G类似于对于并行采集和分析所选择的前体离子种类的数量。此类工作周期上的增加代表在分析时间和灵敏度上的显著增益。

[0044] 图2示出了用于前体离子的高通量靶向分析的串联质谱仪的一种替代安排。对于图1和2共同的部件用同样的参考号进行标记。在图2中,由一个离子源10再次产生离子并且引入到一个仅rf离子存储的第一级(离子阱)20中。一个狭缝22将第一离子阱20与一个仅rf多级杆的第二级(第二离子阱)21分离。

[0045] 如使用图1的实施例,通过降低狭缝22上的电压允许离子从该第一个和第二离子阱穿过,然后一旦将第二离子阱21填充满了,就再次升高该电压。

[0046] 在图2的实施例中,然后,将离子正交地从第二离子阱21直接喷射到碎裂单元50中,而无需使用如图1的实施例中所使用的MR-TOF30。这可以通过将一个双极激励施加到阱21的伸展的rf杆上(如US-A-5,420,425中所述的)来实现。可以扫描双极激励的幅值以提供 $2 \times 10^5$ amu/秒与 $10 \times 10^5$ amu/秒之间的质量扫描速率。当然,在第二离子阱21与碎裂单元50之间提供一个离子门40,连同,任选地,一个脉冲装置41和一个离子止动器42以接收由离子门40偏转的离子,当它们不具有分析兴趣并且不需要被注入到碰撞单元50中时。

[0047] 与图1的安排相比,在图2的安排中将离子门40安排在第二离子阱21的直接下游

(在图2的安排中不存在MR-TOF分析器来提供焦点)。然而,在图2的安排中具有不同质荷比(不同种类)的离子在不同的时间时刻到达门40,以便仅允许具有分析兴趣的离子进入碎裂单元50中。典型地,可以按此方式选通低至几amu(例如,1至4)的质量窗口。

[0048] 在这些前体离子的碎片进入该碎裂单元之后,将它们注入到一个外部装置60中。从这里,将它们进而注入到一个高分辨率质量分析器70中,以产生具有所有碎片种类一起的一个复合质谱。

[0049] 在图2的实施例中,进一步可能的是将感兴趣的前体离子转移(通过由控制器100控制离子门40将不感兴趣的离子偏转)到外部装置60中,而无需碎裂。无需碎裂而转移到外部装置60中可以在减少的RF幅值下,或者,任选地,沿通过仅rf运输多级杆的一个另外的离子路径(未在图2中示出)来进行。

[0050] 如果一些另外的强离子峰的去除了在第二离子阱21中亦或在之前的离子级中进行,可以放松第二离子阱21的高通过量的要求。例如,可以使用在离子源10、第一离子阱20、或第二离子阱21中的低质量截止的rf光学器件来进行粗糙的质量过滤。可替代地,可以在离子源10、第一离子阱20、和/或第二离子阱21中使用某些质荷比的谐振激励。作为一个另外的替代方案,可以将一个小DC电压施加到一个四级杆上以提供再次在离子源10、第一离子阱20、或第二离子阱21中的低和高两者的质量截止。在任何此类预过滤的发生中的主要要求是,对于每个感兴趣的离子种类,在至碎裂单元50的入口处的处于一个脉冲中的平均离子数 $N$ 应该在质谱仪1的之前的级中经历小的累积损失。数学上,这可以被表示为 $I_{in} > e \cdot z \cdot N \cdot f \gg I_{in} / G$ 。在此, $e$ 是元电荷( $1.602 \times 10^{-19}$ 库仑), $z$ 是具有特定 $m/z$ 的一种离子种类的电荷状态, $f$ 是从第二离子阱21的喷射频率,并且 $I_{in}$ 是在从离子源10的出口上的离子电流。在将高频率RF电压(例如,在2MHz与5MHz之间)、适当的宽槽缝以及校正的同步应用到第一和第二离子阱20、21上之后,到达一个离子电流 $I_{out} = e \cdot z \cdot N \cdot f = (0.2 \cdots 0.5) I_{in}$ 是可行的。换句话说,虽然只选择有限数量的前体,本发明的实施例提供优于三重四级杆的益处。

[0051] 以上所述的方法还与相对慢的碎裂方法,如电子转移解离(ETD)、OzID(臭氧诱导解离)、IRMPD、UV解离等等相兼容,并且大大增强用于靶向分析的这些“慢速”碎裂方法的实用性。目前,由于长的活化时间是必需的,在靶向分析中存在对于此类技术的非常有限的用途。为了对不同前体提供类似碎裂效率,每个ETD实验可以对于所有离子的相同荷电状态进行,例如,在一个第一实验中将选择仅具有电荷+3的离子以引入到碎裂单元50中,在一个第二实验中使用+4,等等。对于IRMPD和UV解离,靶向前体应该优选具有类似的解离常数(也就是说,横截面)等等。还可能的是,在该高分辨率分析器的每个谱中具有该类型的几个不同实验。

[0052] 以上所述的这些方法的应用是广泛的。例如,它们可以用于肽定量,临床、食品、环境和法医应用中复杂混合物的分析。在使用中,将前体和碎片的质荷比的清单,优选与液相色谱仪(LC)中的相对应的保留时间和它们的变化范围一起上传到一台电脑(未示出)中,该电脑直接或间接地控制控制器100。然后,一个无碎裂的MS全谱用于获得一个概览谱和峰强度的估算。在此之后,进行使用以上所述的这些技术的一个或多个周期,取决于所讨论的AGC考虑因素。对于生物聚合物如肽的混合物,将必需产生至该高分辨率分析器中的每次注入的清单,以此方式,使得所选择的前体具有它们的碎片上的最小重叠,即,对于每个前体,应该存在至少一种独特的碎片,该独特的碎片可以辨别它的身份,连同该前体的准确质量

一起。

[0053] 还可以广泛地应用该方法而无需碎裂,因此然后通过确定分析物的准确质量,并且通过最小化假阳性的风险(因为分析在该高分辨能力上进行)来提供可靠的识别。一个实例包括一个具有非常高的动态范围的伪全景质谱,其中将该整个质谱范围分为数千个子范围,每个子范围被分配相似数量的电荷。在根据这些分配的电荷选通这些离子之后,通过该高分辨率分析器获得一个全景谱,其中在该原始全景谱中这些最大强度峰与这些最小强度峰相比接收更低(得多)的数量的注入。然后根据注入数量上的差异对所采集的谱进行校正,由此恢复离子的相对强度,但还允许这些最小强度峰使用高得多的信噪比进行测量(如果它们落在强峰附近之外)。

[0054] 图1和2的实施例均示出串联质谱仪,其中将来自离子源10的离子在一个第一离子阱20中俘获并且然后传输到一个第二离子阱21中,从该第二离子阱,将这些离子正交地喷射至MR-TOF30(图1)或直接至一个碰撞单元50(图2)。然而,在根据本发明的实施例的可替代实施例中,不使来自该离子源的离子经受初始俘获级,反而直接注入到一个正交加速器中。图3a和3b示出了用于高通量靶向分析的一种此类安排的顶视图和侧视图,该安排使用一个用于前体分离的TOF分析器,而在该离子源下游使用一个非俘获正交喷射装置。在图4a和4b中分别示出了DC和RF正交喷射装置的替代的安排,这些安排再次避免来自该离子源的离子的初始俘获。

[0055] 然后参见图3a和3b,更详细地,示出了根据本发明的一个第三实施例的一个串联质谱仪。对于图1、2和3的实施例共同的部件用同样的参考号进行标记。

[0056] 如之前所述的,在离子源10中产生离子。从该离子源,将它们喷射到一个正交加速器23中。在图3a的实施例中,正交加速器23作为一对平行板24、25来实施。平行板24用作一个提取板,该提取板具有一个栅格或最优选地一个用于提取束流的缝隙,如例如在WO-A-01/11660中所述的。当跨过加速器23没有施加DC电压时,离子进入其中。在足够长度的离子束已经进入加速器23之后,跨过该加速器施加一个脉冲电压,并且将离子经由透镜27提取到一个TOF分析器30中。取决于所要求的分离的品质,TOF分析器30可以是一个多反射TOF、一个多偏转TOF或一个单反射TOF。示出一个单反射TOF。

[0057] 由于存在非常高的离子电流,高度希望的是,在TOF30内在该离子路径上不存在栅格,以便在从源至检测器的离子路径中,避免离子可以在其上沉积的金属表面的出现。图3b是使用一个单反射TOF30的实例、根据该第三实施例的串联质谱仪的侧视图。如可以在图3b中看出,离子在单反射TOF30中、在一个无栅镜32中遵循一个 $\gamma$ 形状的轨迹。在WO-A-2009/081143中给出了如具体在图3b中所示的TOF30的示例性安排的进一步细节。

[0058] 在从镜32的返回路径上,通过一个离子门40来选通离子,其中允许感兴趣的离子进入一个碎裂单元50并且将不希望的离子偏转至一个离子止动器41。优选地,离子门40是无栅的并且含有一个由狭缝包围的脉冲电极42,这些狭缝限制了来自脉冲电极42的场穿透。任选地,这些缝隙可以使时间相关的电压施加到它们上,以便补偿来自脉冲电极42的场穿透。

[0059] 在基于它们的到达时间的选择之后,离子进入一个减速透镜43,其中使它们的能量减少至所希望的值。尽管未显示,在图1和2中示出的实施例中这些离子还可以在进入碎裂单元50之前经历减速。典型地,用于碎裂的所希望的最终能量可以被估算为在30eV/kDa

与50eV/kDa之间,其中使用氮气或空气作为一种碰撞气体。然而,该估算的最终能量与气体质量成反比缩放,所以将如果氦气用作一种碰撞气体,该最终能量可能超过100eV/kDa-200eV/kDa。类似地,对于极小的或无碎裂而言,该所希望的最终能量当该碰撞气体是氮气或空气时为<10eV/kDa,并且当氦气用作一种碰撞气体时为<30eV/kDa-50eV/kDa。为了允许减速至此类低能量,优选的是,首先不将离子过度加速,优选通过不大于300V-500V。

[0060] 在P.O'Connor等人,美国化学学会期刊质谱(J.Amer.Soc.Mass Spectrom.), 1991, 2, 322-335中呈现了一种合适的减速透镜的典型实例。对于在TOF30中的1米飞行路径,期望500-1000的选择分辨率,这被认为对于大多数应用是足够的。由于该离子轨迹的 $\gamma$ 形状,离子到达正交加速器23上方的一个平面中,以使得独立于该加速能量而选择它们的初始能量。这不同于常规的正交加速TOF,并且允许离子的工作周期和传输上的改进。典型地,TOF30在约10kHz的重复频率下运行,以使得每个脉冲喷射高达 $10^5$ 个- $10^6$ 个元电荷。

[0061] 因为这些离子包典型地作为长形线到达碎裂单元50,应该考虑碎裂单元50的设计以使得它可以接收此类包。在目前优选的实施例中,这是通过实施作为一个具有差动泵送的长形碰撞单元(类似于W0-A-04/083,805和US-B-7,342,224中所述的碰撞单元)的碎裂单元50来实现的。

[0062] 在碎裂单元50中的碎裂之后,将离子混合在一起并且通过喷射到一个任选的外部离子俘获装置60中,然后从此处正交喷射到一个高分辨率质量分析器70中,以与关于图1和2的安排以上所述的相同方式进行分析。

[0063] 图4a和4b示出非俘获正交离子加速器23的第一和第二安排,其中的任一个可以用作图3a和3b的非俘获正交加速器的替代物。图4a的非俘获离子加速器是一个DC离子导向器,而图4b的那个是一个RF离子导向器。

[0064] 在图4a中,离子从该离子源以方向“y”到达。将这些电极25和24(其中的后者具有一个中心槽缝)保持在同样的DC电压下,直到施加提取电压脉冲,这导致将离子在与该输入方向“y”正交的方向“z”以脉冲喷射穿过电极24中的槽缝。

[0065] 图4b示出另一种替代安排,其中,再次,离子从该离子源以方向“y”到达并且其中将这些电极25、24上的RF电势保持为同样的,直到施加提取脉冲。具体地,在图4b中,除了这些背面板和前部提取电极25、24之外,加速器23进一步包括顶部和底部电极24'和24'',该顶部和底部电极利用与电极24和25上的RF相位相反的相位。US-B-8,030,613披露了用于将可切换的RF施加到一个离子阱中的一种技术。然而,可以将该公开中所述的技术同样地施加到图4b的非俘获仅RF离子导向器中,以使得该RF根据那个文献中所述的原则是可切断的,并且将脉冲施加到电极25和/或24上以提取穿过电极24中的槽缝的离子。

[0066] 在一个优选的实施例中,图4b的加速器23尤其可以具备有一种阻尼气体以减少离子的能量发散。

[0067] 虽然已经描述了一些具体实施例,本领域的普通技术人员将容易认识到可以考虑不同的修改或添加。例如,不仅单反射和多反射镜可以用于图1的安排中,而且可以使用多扇区和轨道系统以及离子迁移率分离器。为了额外的功能,可以安装另外的检测器和分析器。在图3a、3b、4a和4b的实施例中,可以任选地将质量选择的另外的级包括在离子源10和正交加速器23之间。

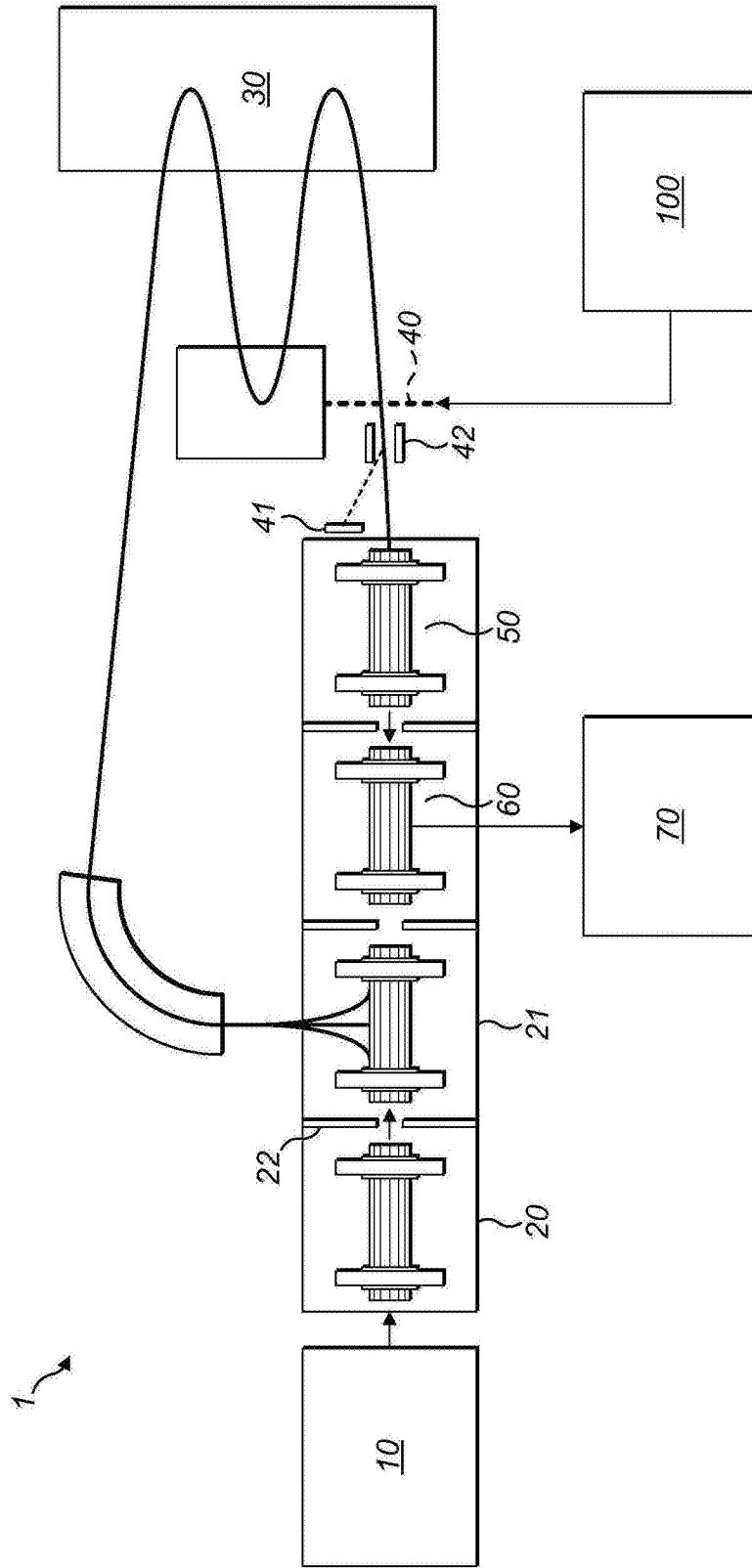


图1

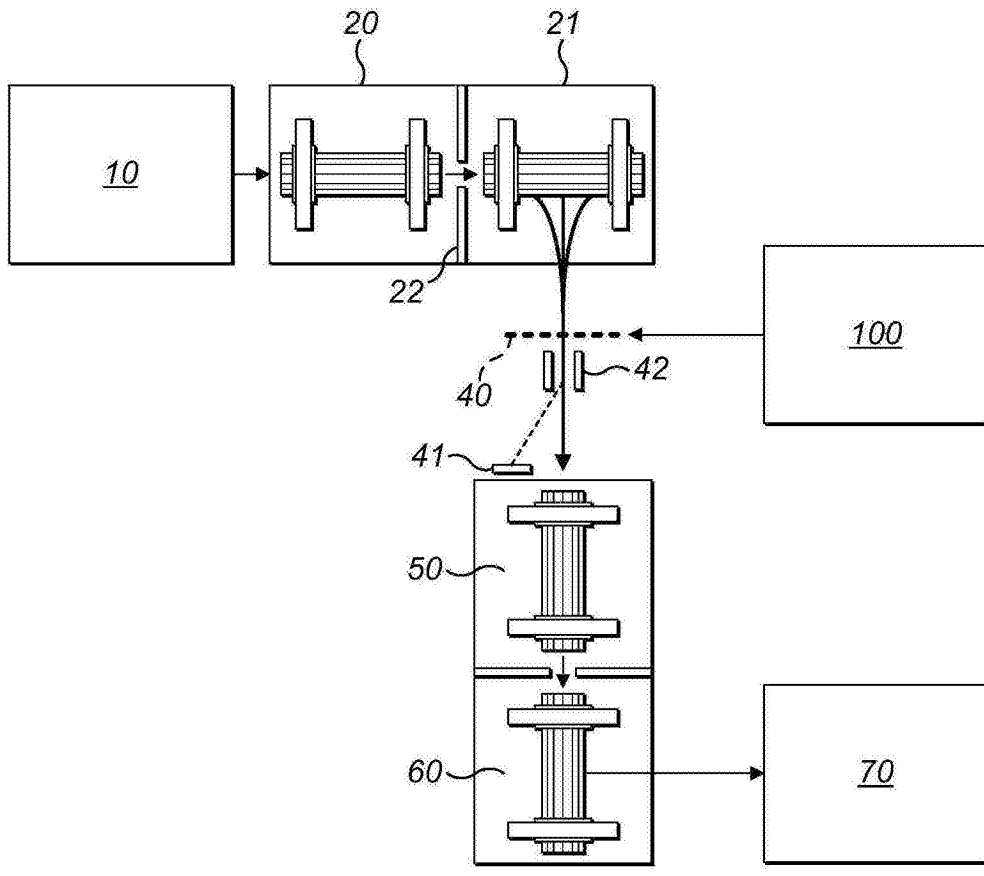


图2

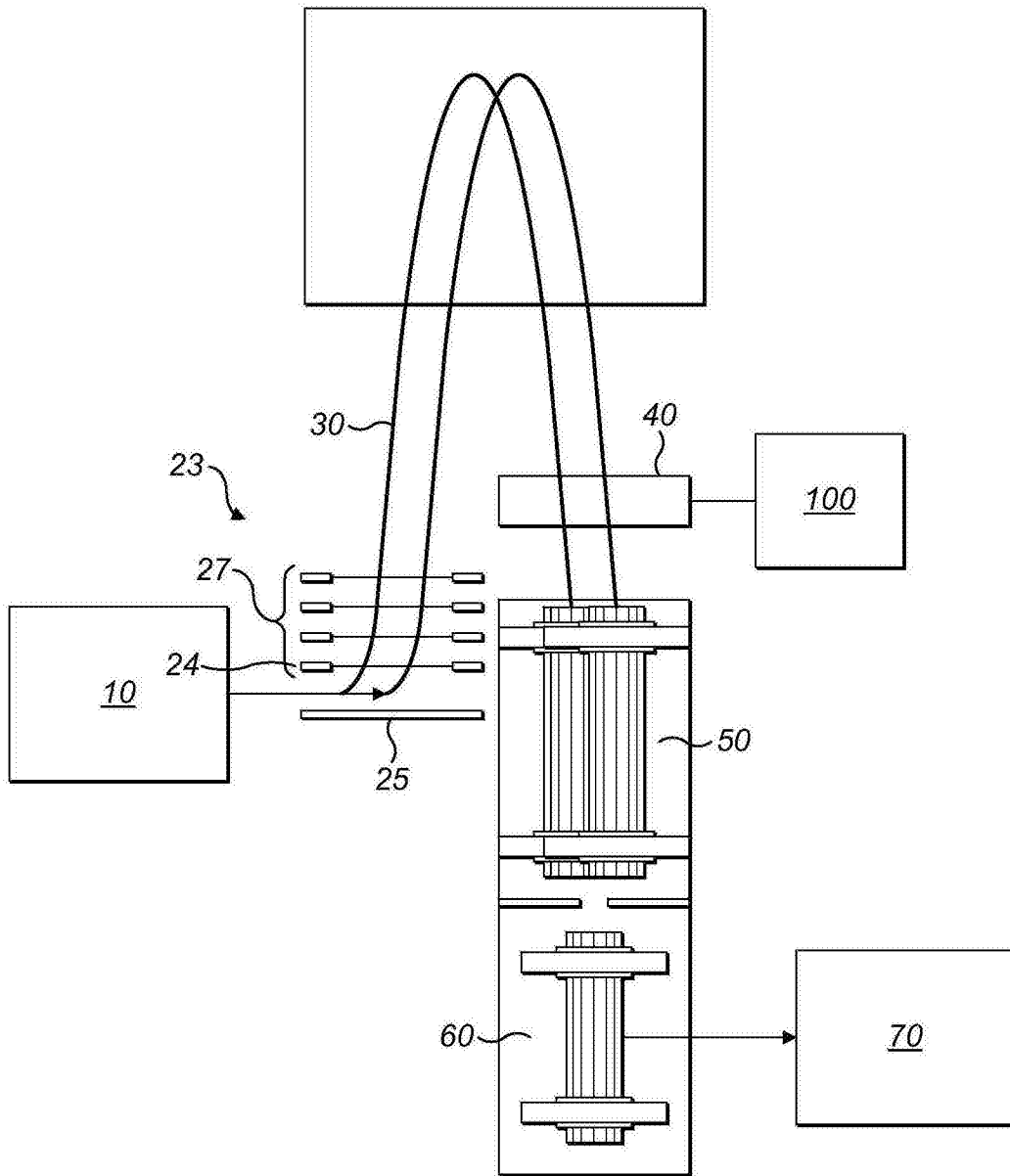


图3a



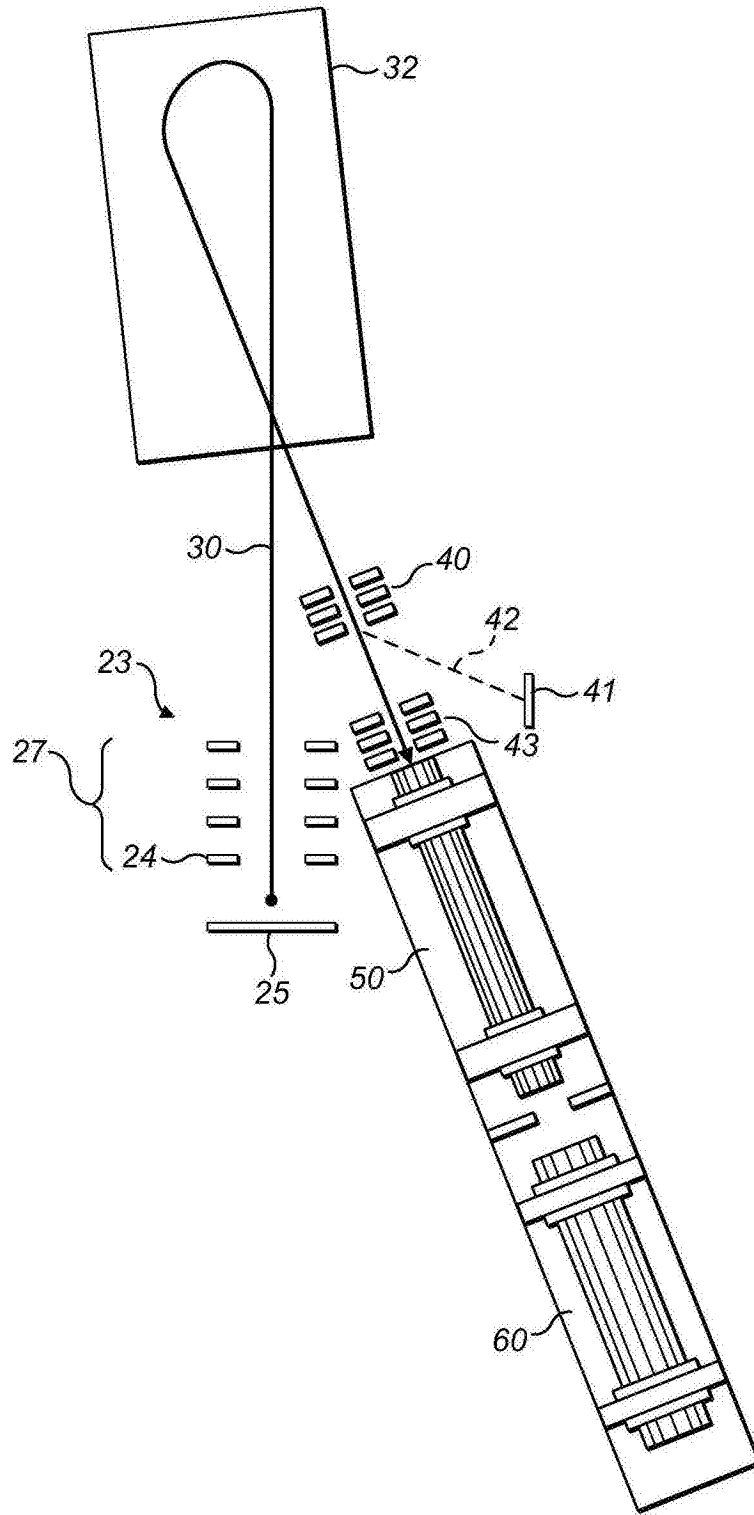


图3b

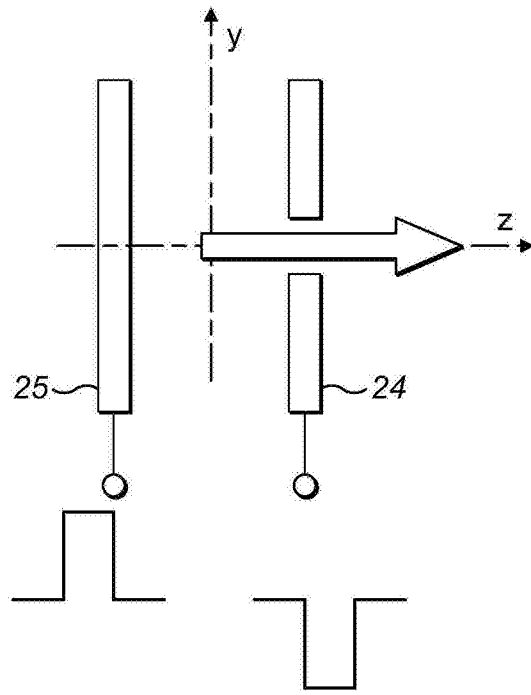


图4a

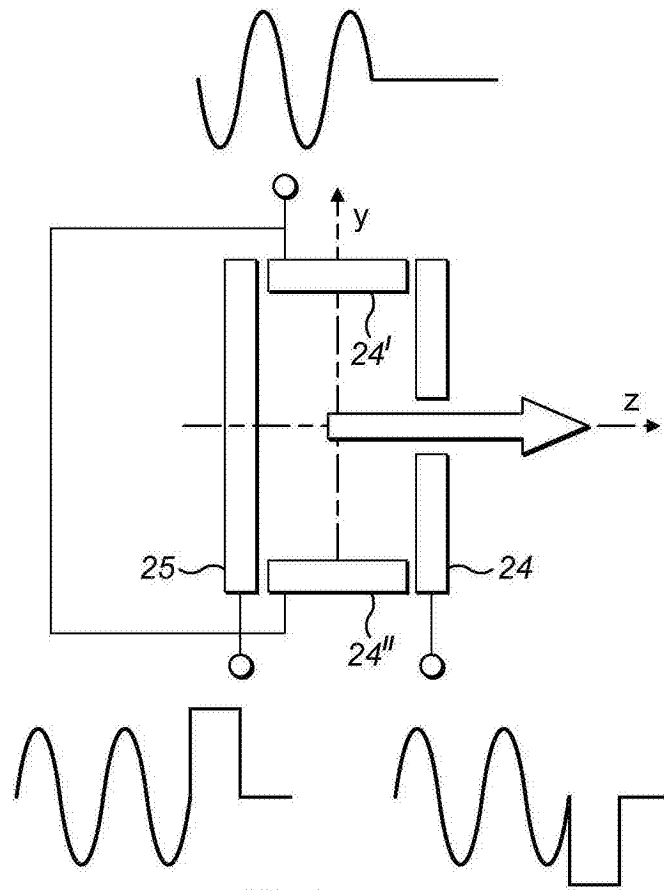


图4b