

安捷伦全方位系统化 代谢组学完整解决 方案应用文集

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

目 录

综述：安捷伦代谢组学完整解决方案	4
第一章. 安捷伦代谢组学方案平台及方法流程介绍	13
1.1 数据采集硬件平台	
☞ 发现代谢组学研究中的有力武器：	
LC/MS 系统：Agilent 6200 系列飞行时间液质联用仪及 Agilent 6500 系列四极杆-飞行时间液质联用仪	15
GC/MS 系统：Agilent 5975C 气相色谱-单四极杆质谱联用仪	27
CE/MS 系统：Agilent 7100 毛细管电泳系统	43
☞ 靶向代谢组学研究中的制胜法宝：	
LC/MS 系统：Agilent 6400 系列三重串联四极杆液质联用仪	51
GC/MS 系统：Agilent 7000B 三重串联四极杆气质联用仪	59
1.2 生物信息学软件系统	
☞ 安捷伦代谢组学软件概述	71
☞ Agilent Mass Profiler Professional 生物信息学软件	76
☞ 安捷伦 METLIN LC/MS 个人代谢数据库	88
☞ 安捷伦 Fiehn GCMS 代谢组学 RTL 谱库	93
1.3 选择指南：代谢组学研究选择 GC/MS 或 LC/MS 的考虑因素	98
第二章. 安捷伦代谢组学知名国际期刊发表文章列举（部分）	103
2.1 健康/临床/疾病代谢组学	105
2.1.1 液质联用篇	
☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	105
☞ 三重串联四极杆质谱	107
2.1.2 气质联用篇	110
2.2 植物/微生物代谢组学	112
2.2.1 液质联用篇	
☞ 三重串联四极杆质谱	112
2.2.2 气质联用篇	112
2.3 农业/食品/保健品研究中的代谢组学	114
2.3.1 液质联用篇	
☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	114
☞ 三重串联四极杆质谱	114
2.3.2 气质联用篇	115

2.4	方法学及机理研究中的代谢组学	116
2.4.1	液质联用篇	
	☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	116
	☞ 三重串联四极杆质谱	119
2.4.2	气质联用篇	
2.5	药物发现中的代谢组学	120
2.5.1	气质联用篇	
2.6	中药代谢组学	121
2.6.1	液质联用篇	
	☞ 三重串联四极杆质谱	121
2.7	环境/毒理研究中的代谢组学	122
2.7.1	气质联用篇	
第三章	安捷伦代谢组学应用文章列举（部分）	123
3.1	农业/食品/保健品研究中的代谢组学	
	液质联用篇	125
	☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	
3.2	健康/临床/疾病代谢组学	
3.2.1	液质联用篇	141
	☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	
3.2.2	气质联用篇	149
附 录	157

综述：安捷伦代谢组学完整解决方案

1. 代谢组学研究背景

代谢组学是考察生物体系受刺激或扰动后（如将某个特定的基因变异或环境变化后）其所有小分子代谢产物的变化或其随时间的变化，来研究生物体系代谢途径的一种技术。目前代谢组学在疾病诊断、毒理、植物、营养学等领域有着广泛的应用。生物体受环境、毒性、疾病、药物等干扰后，内源性物质会做出相应的代谢响应，这种代谢变化能表达成为特定的代谢指纹图谱。代谢组学研究的思路就是通过一系列的数据采集手段得到包含代谢产物信息的代谢指纹图谱，并利用多元数据分析的手段对这些信息进行挖掘提取，找出有用的信息。代谢组学研究的流程主要包括代谢指纹谱的数据采集、代谢谱差异统计分析、潜在生物标记物鉴定及代谢通路分析。代谢组学的研究分为不同的研究层次，其中主要分为非靶标代谢组学 (Untargeted Metabolomics) 和靶标代谢组学 (Targeted Metabolomics) 研究。

代谢组学关心的是代谢过程中所有的小分子代谢产物，要求对过程中的所有小分子化合物采取无歧视分析。至今为止,还没有哪一种技术平台可以完全实现这一目的。现今代谢组学所采用的方法是对不同的实际样品以及不同类型的代谢产物分别采取不同的分析方法，因此各种分析平台的组合为代谢组学的研究可以提供有效的解决之道。

在代谢组学分析中，气相色谱与质谱联机 (GC/MS) 可以为样品中的非极性代谢小分子提供检测方案，而液相色谱与质谱的联机 (LC/MS) 可以为样品中中等极性至强极性代谢小分子进行有效的检测。在此基础上，结合不同的质谱质量分析器，色质联用对于当前代谢组学的两大分支非靶标代谢组学和靶标代谢组学均可提供解决方案。在非靶标代谢组学研究中，高分辨的飞行时间质谱 TOFMS 及四极杆与飞行时间串联的质谱 QTOFMS 与液相色谱的联用作为先进的分离分析技术，在众多分析方法中脱颖而出，其强大的定性分析能力使之被公认为最好的复杂样品分析技术之一，已经被广泛应用于非靶标代谢组学的研究领域；GC/MS 是分析挥发性化学物质的有效组合，结合EI电离源，采用 NIST 及内源代谢物谱库检索，快速实现对非靶标代谢组学研究中潜在标记物的鉴定。在靶标代谢组学分析中，液相色谱与三重串联四极杆质谱联用技术 LC/QQQMS 及气相色谱与三重串联四极杆质谱联用技术 GC/QQQ 可以对不同极性的目标代谢物进行高选择性、高灵敏度、高通量的定量分析，完成对大量生物样本潜在生物标记物的验证分析，其已经成为靶标代谢组学分析中不可替代的角色。

代谢组学是一种系统研究手段，通过数据采集得到的是多维、大量的信息，必须应用化学计量学的手段对这些信息进行提取，找出有用的信息，进而借助强大的数据库的支持及特殊的检索工具的帮助实现对未知的潜在生物标记物的快速鉴定及代谢通路分析，最终实现生理学意义的关联和解释，目前，这已经成为代谢组学研究中最大的挑战之一。

2. 安捷伦完整代谢组学解决方案简介

为应对代谢组学的挑战，安捷伦开发出了从数据分析到数据挖掘的全流程代谢组学研究平台。在样品分析上，安捷伦科技可提供业内代谢物组学研究最完备的分析平台——包括 GC、LC、CE、GC/MS、LC/MS 和 CE/MS 等，覆盖对不同极性不同种类的代谢物的分析检测；同时可提供强大的数据处理软件 Mass Profiler Professional (MPP) 及相关软件工具包用于统计分析、代谢物鉴定及代谢通路分析。从硬件到软件的全面结合可以为代谢组学研究中生物标识物发现及确认提供最全线的解决方案，使代谢组学复杂体系研究变得更为自动化和简单化。

图 1 为安捷伦代谢组学研究平台的示意图。安捷伦代谢组学研究平台包括完整的硬件和软件解决方案，覆盖非靶标代谢组学及靶标代谢组学全流程分析需求：

(1) 仪器硬件平台可全面实现靶标和非靶标代谢组学研究非极性至极性样品的分离和检测（包括 GC/MS、LC/MS 及 CE/MS 等）；

- (2) MassHunter 定性软件分子特征提取 (MFE) 功能可自动化的对非靶标分析结果进行代谢物峰提取，MassHunter 定量软件可高通量的对靶标分析结果进行非参数依赖定量分析；
- (3) MPP 包含的各种模式识别方法方便的进行组间代谢谱的差异统计分析 & 不同统计分析结果的快速比较；
- (4) MPP 内置的 ID Browser 功能借助包含 23000 种代谢物信息的数据库实现对潜在生物标记物的快速鉴定；
- (5) MPP 独特的代谢通路 (pathway) 分析功能帮助进行生理学意义的解释和关联，实现代谢组学分析最终的研究目标。

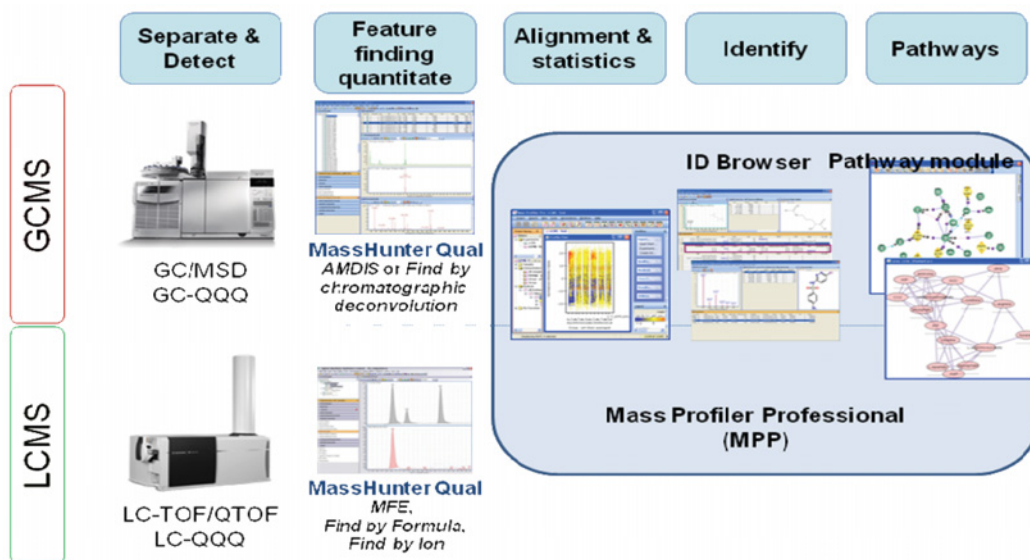


图 1. 安捷伦代谢组学研究平台示意图

2.1 非靶标代谢组学分析

非靶标代谢组学主要是将对照组和实验组的代谢组（某一生物体的全部代谢物）进行比对，以找出其代谢谱的差异。非靶标代谢组学分析一般包括以下几个步骤：

- 代谢谱分析（也称为差异表达分析），在一组实验和对照样品中，寻找丰度改变有统计学意义的代谢物
- 鉴定，进行代谢谱分析后，测定这些代谢物的化学结构
- 解释，研究流程的最后一步，解释所发现的代谢物与生物过程或生物状态之间的关联

2.1.1 分离和检测 — GC/MS、LC/MS 及 CE/MS 简介

非靶标代谢组学力求将对照组和实验组样本中全部的代谢产物进行无歧视分析，后借助计量学手段进行组间比对，进而找出其代谢谱的差异。常使用的分析仪器包括气相色谱与四极杆质谱联用技术 GC/MS 及液相色谱与四极杆-飞行时间质谱联用技术 LC/QTOF MS，此外，毛细管电泳与质谱联用技术 CE/MS 也具有潜在的应用价值。

2.1.1.1 安捷伦单四极杆气质联用系统 (GC/MS) 简介

GC/MS 对挥发性化合物和可以转化为挥发性衍生物的化合物表现出高分离效率和高灵敏度。它通过检索 EI 谱图库进行样品鉴定的潜力。它也是到目前为止用于代谢物组分析的最经济的方法。

即使是正常生物体的代谢组也存在着明显的自然变异。只有分析大量样品才能找到真正的差异。这就需要分析仪器具有低错误率和高通量的特性。安捷伦 GC/MS 系统具有卓越的分析性能，以及高通量代谢组学分析所需要的可靠性和使用简便性。

其中以下几点对代谢谱分析非常重要：

- 良好的重现性，以便对大量样品进行比对和校正
- 卓越的可靠性，最大限度地延长正常运行时间，分析大量样品
- 高灵敏度，能够检测复杂样品中的低水平代谢物，动态范围超过 6 个数量级

安捷伦的 GC/MS 代谢组谱型分析和鉴定解决方案，将安捷伦 7890A GC 和创新的 5975C GC/MSD 组合在一起，为常现代谢谱分析研究提供了性能、可靠性和成本效益的优势组合。同样的系统还能够通过EI 谱库检索快速、可信地进行样品鉴定。

2.1.1.2 安捷伦超高解析度四极杆-飞行时间质谱 (Q-TOF MS) 简介

安捷伦 1200 系列高分离度快速液相色谱和 1290 Infinity 液相色谱系统具有无与伦比的灵敏度和基线稳定性，具备了应对任何 LC/MS 分离挑战的能力和灵活性。

2009 年第 57 届美国质谱年会 (ASMS) 上，安捷伦公司隆重推出业内超一流性能的超高解析度高分辨质谱 (Ultra High Definition (UHD) Accurate-Mass Q-TOF)。超高解析度飞行时间质谱采用全新设计理念，从独特的离子聚焦技术、离子光学系统、特殊材料的飞行管设计，到高速电路、双增益处理器以及 4 GHz ADC 离子检测器等独一无二的整体设计，使得该系统能够完美实现超高灵敏度 (fg 级)、超高分辨率 (40 000)、超高质量精度 (500 ppb) 以及超快数据采集速度的最佳平衡，并以此建立了高清质谱新标准。其 BSA 酶解产物检测灵敏度可至 400 attomole。

安捷伦 6500 系列 UHD 精确质量 Q-TOF 与 1200 系列液相色谱组合，利用其超高解析度 (UHD) TOF 技术的强大能力，形成了发现每个代谢谱分析样品中尽可能多的代谢物的高灵敏度、高重现性解决方案。安捷伦 6500 系列四极杆-飞行时间串联质谱 (Q-TOF MS) 兼具高度的质量精确性和高分辨率、高灵敏度，以及远远超过其它四极杆-飞行时间串联质谱 (Q-TOF MS) 系统和轨道阱质谱仪的超宽谱图内动态范围。针对代谢组学复杂样品分析，6500 系列四极杆-飞行时间串联质谱 (Q-TOF MS) 提供了用户所需要的轮廓谱分析、鉴定、表征，甚至定量等各种先进功能 (图 2)。



图 2. 6500 系列四极杆-飞行时间质谱将灵敏度，质量精确度，扫描间的动态范围完美的组合在一起，并具有操作简单和可靠性高的特点

安捷伦的 Zorbax LC 柱能够为最难分离的样品提供卓越的可重现的分析性能。Zorbax 快速分离高通量柱适用于 1290 Infinity 液相色谱仪和 1200 系列高分离度快速液相色谱仪的高压分离。

2.1.1.3 安捷伦毛细管电泳质谱联用系统 (CE/MS) 简介

毛细管电泳 (CE) 是液相色谱的可替换方法。它表现出一定的灵敏度和出色的分离效率。毛细管电泳与质谱联用 (CE/MS) 与 GC/MS 和 LC/MS 相比不常用于代谢物组学研究，但可能很有应用价值，尤其是用于亲水性代谢物的分析。CE/MS 将毛细管电泳的分析时间缩短和分离效率卓越的特性与质谱的分子量和结构信息结合到了一起。

行业领先的安捷伦 CE 系统可与多种质谱仪联接。例如，CE 和 Agilent 6200 系列飞行时间 LC/MS 将突出的分离效率和出色的质量准确性及质量分辨率相结合，创造出卓越的代谢物谱图采集方案。安捷伦离子源使用的接地雾化器使得 CE 的电路设置与 MS 离子源的电路设置互相独立，排除了在其它 CE/MS 系统中发现的主要缺陷。

2.2 特征提取及差异鉴定

2.2.1 特征提取 — 非靶标代谢组学分析

一个代谢物检测不到，就意味着丧失了一次机会；因此尽可能多地找到样品中的代谢物至关重要。这不是简单的色谱峰查找所能实现的，因为即使是最好的分离，一个色谱峰里也可能包含多个组分。

对于 LC/MS 数据，安捷伦的 MassHunter 质谱工作站软件包含专利的分子特征提取 (Molecular Feature Extraction MFE) 功能，可以自动化地实现对高分辨质谱 LC/TOF MS 及 LC/Q-TOF MS 数据的化合物特征提取。图 2 为 MFE 功能示意图。MFE 归纳化合物在质谱图中所有的相关离子（加 H⁺、Na⁺ 或 K⁺ 等各种加合离子、多聚体及同位素离子等）并自动化的进行数据提取，最终实现背景过滤，将包含在总离子流图中所有的代谢产物尽可能全部提取出来，并生成后续代谢谱差异分析所需的包含 m/z、保留时间及丰度信息的三维数据文件。

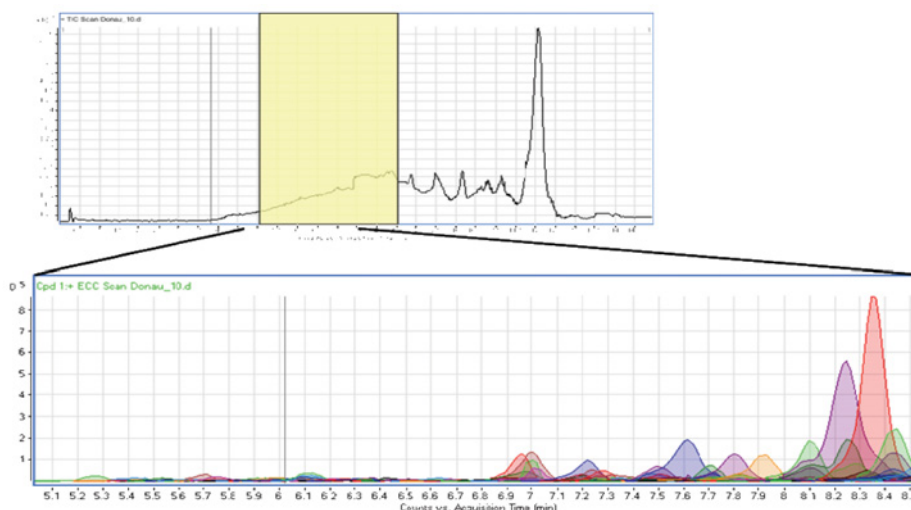


图 3. 安捷伦 MassHunter 质谱工作站分子特征提取 (MFE) 功能

对于 GC/MS 数据，发现共流出代谢物的办法是解卷积，即找到丰度随时间一起升高和降低的离子，意味着它们来自同一个化合物。解卷积将这些离子分组，为每个代谢物生成一张重建的单组分图谱。

安捷伦提供自动化质谱解卷积和鉴定软件 (AMDIS) 进行解卷积，该软件是 NIST 谱库检索软件包的一部分。AMDIS 软件包设计用于：

- 发现相关的协变离子，用单组分色谱峰表示
- 从复杂的 GC/MS 数据中提取出单纯组分质谱图
- 重建用于 EI 谱库检索的质谱图

结合 NIST 数据库及 Fiehn 代谢物数据库，安捷伦提供自动化质谱解卷积和鉴定软件 (AMDIS) 进行解卷积及代谢物匹配鉴定，从复杂的 GC/MS 数据中提取出单纯组分质谱图及鉴定结果，生成后续 MPP 统计分析的化合物列表。

2.2.2 差异鉴定 — 非靶标代谢组学分析

安捷伦特有的代谢物数据库及谱库介绍 — METLIN, Fiehn 库

在非靶标代谢组学实验中，代谢物的鉴定是关键步骤。用化合物的精确质量数进行代谢物数据库检索，可以缩小筛选范围，大大加快代谢物的鉴定过程。安捷伦 METLIN 代谢物数据库是当今世界上最全面的代谢物数据库之一，它包含 23000 多种内源性和外

源性代谢物、二肽和三肽的精确质量数、化学式和结构信息。除可采用精确质量数进行检索外，还可以同时采用质量数和保留时间共同检索以增加检索的可靠性。此外，还可以根据关键词、分子式、化合物名称，或 KEGG、CAS、HMP 或 METLIN 编号进行信息查询。METLIN 代谢物数据库可以支持单一化合物检索，也可以支持批处理文件检索。

目前安捷伦正在扩展 METLIN 代谢物数据库的谱库检索功能，可以利用代谢物的 MS/MS 质谱图进行谱图匹配检索。

用安捷伦 GC/MS 系统得到的高质量、可检索的 EI 图谱，可以对代谢谱分析实验中标记的代谢物进行有效鉴定。为了通过非靶标代谢组学进一步简化已知代谢物的鉴定，安捷伦提供了 Agilent Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL（保留时间锁定）数据库，独有的保留时间锁定代谢物谱库 Agilent Fiehn Metabolomics Retention Time Locked Library 可灵活方面地用于 GC/MS 分析，该库为第一个代谢组学研究的代谢物标准商业数据库，该数据库：

- 由当今最著名的代谢组学科学家之一 Oliver Fiehn 博士开发；
- 包含 700 多种代谢物的 EI 图谱、保留时间和保留指数，以及预先编程的方法并内置了其它数据库的链接；
- 专为配合 AMDIS 软件包使用而设计：图谱匹配功能，将测定的图谱与保存的标准品图谱进行对比；保留指数限定功能，用保留指数区分有相似质谱图的化合物。

为了充分利用 Fiehn 数据库，Agilent Fiehn GC/MS 代谢组学标准工具包提供了在 GC/MS 系统上运行 Agilent-Fiehn 方法的保留时间锁定所需要的便利的全套化学品，以及追踪 GC/MS 分析性能的内标。

2.3 靶标代谢组学分析

靶向代谢组学可以用于：

- 验证由发现代谢组学实验提出的假说
- 进行基于假说的探索性实验（通常根据最新的解释），针对特定代谢物，研究代谢模型

这些实验一般采用 GC/MS 系统的选择离子监测 (SIM)，或在三重串联四极杆 LC/MS 系统上用多反应离子监测 (MRM) 进行靶向 MS/MS 分析。

2.3.1 安捷伦液质联用方法（三重四极杆液质联用系统）

靶标代谢组学分析要求完成对大量样本某一类或几类特定的代谢小分子的定量验证分析，虽然这类分析比非靶标代谢谱分析更为常规，但必须面对非常大量（成千上万）的样品，靶标代谢组学分析成功的关键因素是准确度、高通量和可靠性。这需要借助定量分析工具来完成分析任务，对于液质联用系统，三重串联四极杆质谱因其在定量分析上的独特优势使之成为靶标代谢组学分析的首选。Agilent 6400 系列三重串联四极杆 LC/MS 系统将行业领先的飞克级灵敏度和准确定量特性与优异的可靠性完美结合。从而使系统兼具卓越的分析能力和处理大样本组所需要的高通量。该解决方案将仪器、色谱柱和软件组合在一起，即使在最大通量下也能确保最佳性能，将每个样品的分析成本降到了最低。

2.3.2 安捷伦气质联用方法（单四极杆及三重四极杆气质联用系统）

对于气质联用进行靶向分析来说，卓越的 GC 和 MS 重现性，以及处理大量样品的高通量是必不可少的。分析大量样品时，还需要最大限度地保证正常运行时间。要确保能够检测到复杂样品中的低水平代谢物，且动态范围在 6 个数据量级以上，就需要 GC/MS 选择离子监测 (SIM) 以及 GC/MS/MS MRM 模式的高灵敏度检测能力。

Agilent 5975C 单四极杆 GC/MS 和 Agilent 7000A 三重串联四极杆 GC/MS 系统都可以用于定量。5975C GC/MS 是比较经济的选择，但如果需要对极低丰度代谢物进行鉴定和定量，要求非常低的检测限和定量限时，则可以选择 7000A 三重串联四极杆 GC/MS 系统。安捷伦 7000A 三重串联四极杆 GC/MS 系统具有更多的灵活性，能够进行高效的常规代谢谱分析以及最高特异性的目标代谢物研究。该系统具有无与伦比的灵敏度和选择性，以及日常可靠性，而且使用方便。由于选择性更强，所以一般样品处

理步骤较少，节省了时间和处理成本。综合的自动化功能和更快捷的分离和检测周期，让您能够更有信心地分析更多样品。当需要选择一个系统进行发现代谢组学和靶向代谢组学研究时，使用功能强大的 7000A 系统不会有任何损失。

针对靶标代谢组学中的定量分析结果，采用安捷伦 MassHunter 质谱工作站软件进行非参数依赖自动化定量分析，并针对每一个分析样本生成对应的 MPP 分析兼容的格式文件，以完成后续 MPP 的统计验证分析流程。

2.4 统计分析-鉴定-代谢通路分析 — 安捷伦生物信息学软件 MPP

安捷伦全新的生物信息学软件MPP集成了代谢谱的差异统计分析、潜在生物标记物的寻找、潜在生物标记物的鉴定 (ID Browser) 及代谢通路分析 (Pathway Analysis) 等诸多功能。MPP 结合安捷伦优异性能的仪器硬件平台可以为代谢组学研究提供最全线的解决方案。MPP 能够对来自大样本组的 GC/MS、LC/MS及CE/MS 数据中的保留时间和丰度进行标准化；用一系列实用的统计分析和图形化工具（包括 1-way 和 2-way ANOVA、PCA，以及分类预测算法）进行数据分析；用内置的 ID Browser 功能采用 METLIN 和 Fiehn 等安捷伦代谢组学数据库进行检索及利用精确质量数进行分子式生成来实现代谢物的鉴定；用内置的代谢通路分析工具 Pathway Analysis 进行代谢途径中大小分子的相关性分析，并利用已有数据构建新通路；从而识别样品之间的差异和关联，最终实现快速发现疾病或药物毒性等研究中的生物标志物。

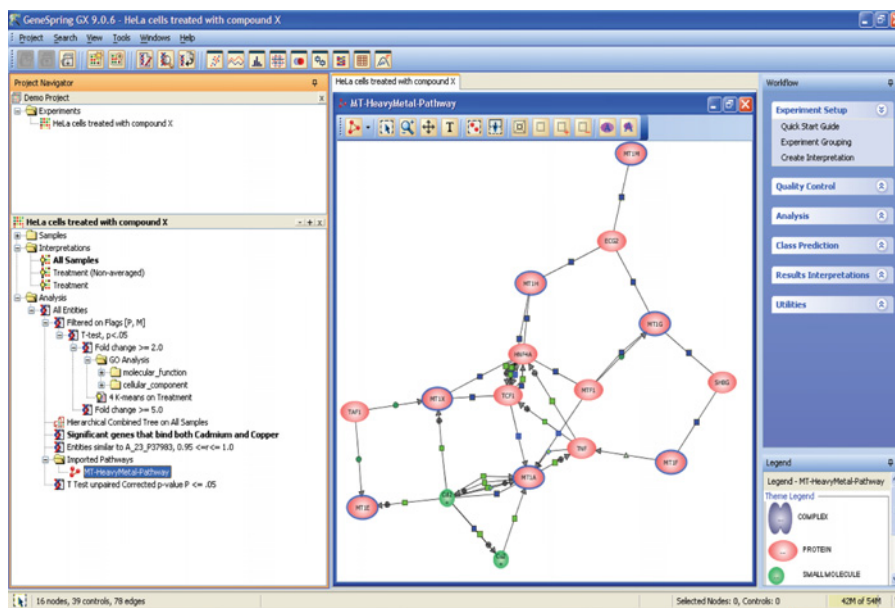


图 4. 安捷伦生物学信息软件 Mass Profiler Professional (MPP)

3. 应用实例

采用安捷伦代谢组学研究平台可以为代谢组学各个研究领域提供解决方案，下面将从中医药代谢组学、疾病诊断代谢组学及植物代谢组学等几方面的应用进行介绍。

3.1 中医药代谢组学

将代谢组学用于中医药领域对实现中医药客观化、规范化和科学化研究有着重要的指导意义，新兴学科代谢组学的出现，给中医药复杂理论体系的研究、中医药现代化提供了强有力的研究手段。中医证引起代谢物组的共性分析和生物标记物的发现，可促

进深层次理解中医脏象理论，预测疾病的发生，整体性评价中药复方综合疗效、安全性和作用机制。专家认为，运用具有反映整体思想的、先进的代谢组学方法来研究中药，对搞清中药的物质基础、作用机理、作用靶标、药效作用、组方依据、配伍规律和毒副作用以及对中药种质资源等进行的研究都是十分必要的。

本实例采用安捷伦 6500 系列 Q-TOF MS 结合 MPP 软件进行生物学信息挖掘，研究了代谢组学在中医“上火”证候模型复制中的应用。

动物实验：将附子、干姜、肉桂按照比例混合作为温热方剂“上火”阳性药物。雄性 SD 大鼠 20 只，随机分为空白组和模型组，每组 10 只。空白组给水，模型组给阳性药。检测体重、尿量、饮水量和肛温，每天收集尿液，连续监测 2 个月。尿液样本离心取上清 -20℃ 保存，分析前室温融化，加水稀释，过滤膜进样。

数据采集：安捷伦 1200 RRLLC/6520 Q-TOF MS。数据分析：原始数据用 MassHunter 软件进行分子特征提取，生成的文件导入 MPP 进行化学计量学分析。

采用主成分分析方法 (PCA) 对样本数据进行分析，其中空白组、给药第 1 天、给药第 20 天及给药第 35 天的 PCA 分析结果见图 4。

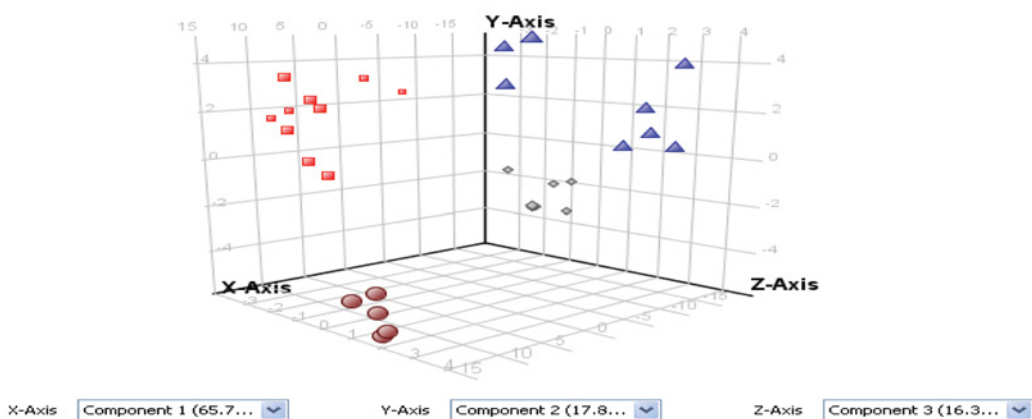


图 5. PCA 得分图 (◆ 空白; ■ 给药第 1 天; ▲ 给药第 20 天; ● 给药第 35 天)

从图中可以看出，四组不同时期的样本在 PCA 空间可以清晰的分为 4 类，说明大鼠给温热方剂后，模型动物尿液代谢物组发生了显著变化，与空白组比较明显被分类，暗示给予温热方剂后模型组大鼠正常生理代谢被干扰。模型组动物随着给药时间的增加，代谢产物的变化随之增强。其中给药后第一天，内源性代谢物即产生显著变化，与空白组区分明显。这种趋势到给药第 35 天，可以看出更加显著。代谢组学分析的结果和实验过程中生理指标如肛温变化趋势等相吻合，实现了对“上火”模型的复制研究。后续代谢通路分析表明，模型动物体内的尿酸循环发生了代谢扰动。

通过本实验的研究，为中医模型建立的评判提供了更为客观的科学支持，为推进中医药的现代化研究提供了解决方案。

3.2 疾病诊断代谢组学

疾病诊断代谢组学通过分析体液组成，运用化学计量学方法对疾病组和正常组进行分类，获取因疾病诱导而发生变化的特殊代谢产物—生物标记物，帮助了解病变过程中机体代谢情况的改变，辅助临床诊断和治疗。

本例以疟疾研究为例，探讨安捷伦代谢组学平台在疾病诊断中的应用。

疟疾 (Malaria) 是被疟蚊叮咬后感染疟原虫所引起的虫媒传染病，疟疾会导致体内红细胞感染疟原虫。为了研究疟疾的发病机理及发病后对人体代谢的影响，采用代谢组学的研究手段研究了空白组和感染组的代谢样本。采用 PCA 对两组样本进行了分析，PCA 的分析结果见下图。

从图中可以看出，对照组与感染组样本在 PCA 空间可以显著地分为两组，用 MPP 内置的 IDbrowser 功能对潜在的生物标记物进行 METLIN 数据库检索及分子式生成，将鉴定的生物标记物进行代谢通路 pathway 分析，发现疟疾会导致尿素循环异常（见图6）。本实验的研究结果与文献报道一致。

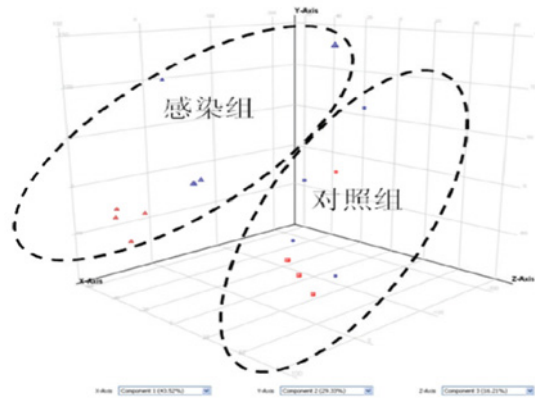


图 6. 对照组与感染组 PCA 分类结果

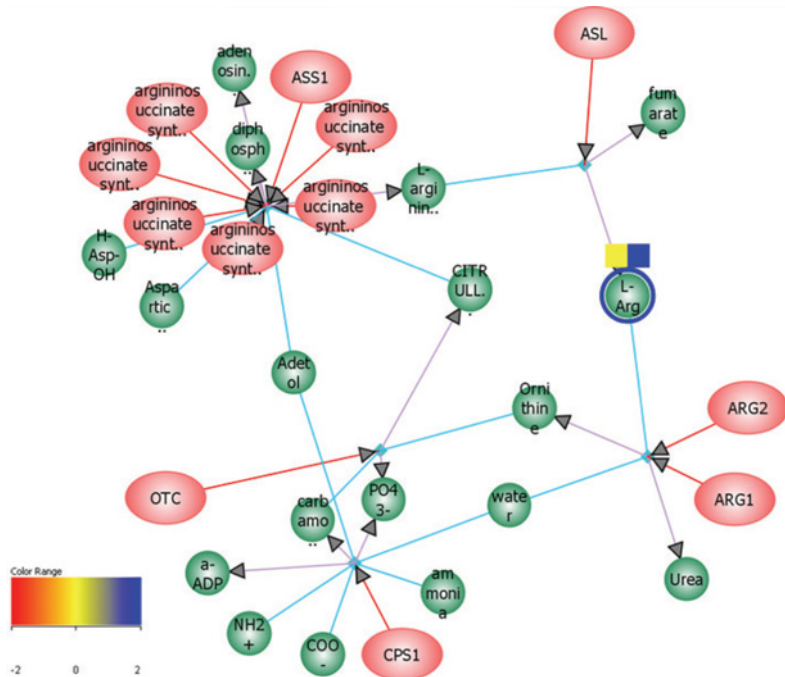


图 7. 疟疾潜在生物标志物代谢通路分析

3.3 植物代谢组学 — 食品真伪鉴定

利用代谢组学获取植物成分的指纹图谱，并利用模式识别比较样本的指纹差异，可以用于食品的真伪鉴定。

本实例选用葡萄酒为研究对象，利用代谢组学的研究手段鉴别不同的葡萄酒类型。

样本的获取：从市场上选购了 45 瓶不同类型的葡萄酒，其中赤霞珠 15 瓶、梅洛 16 瓶、黑比诺 14 瓶。

数据采集：Agilent 1200 RR/LC/6530Q-TOF MS，红酒样品无需样品前处理直接进样分析。

数据分析：原始数据用 MassHunter 软件进行分子特征提取，生成的文件导入 MPP 进行化学计量学分析。

采用偏最小二乘法 PLSD 随机将葡萄酒样本分为训练集及测试集进行建模和模型预测能力评价。图 7 是 PLSD 的分析结果，从图中可以看出，三种不同的葡萄酒样本实现了显著的分组，进而可以用来区分不同品种的葡萄酒种类。通过精确质量数进行数据库检索和分子式生成，在发现的潜在的生物标记物中，鉴定出其中最为显著的潜在生物标记物为花青素，表明了其中赤霞珠、梅洛及黑比诺葡萄酒中花青素的含量存在显著差异。

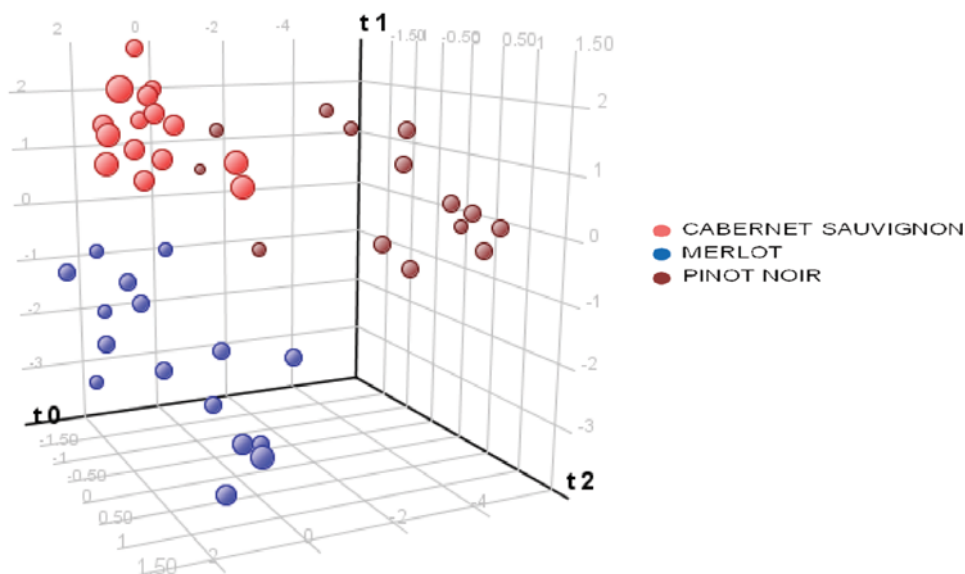


图 8. PLSD 分析结果（红色：赤霞珠；蓝色：梅洛；褐色：黑比诺）

4. 结论

安捷伦各种仪器硬件平台及其组合保证了代谢组学分析所要求的高精度、高灵敏度及高重现性的要求，功能强大的 MPP 软件集成了统计学分析、潜在生物标记物鉴定及代谢通路分析完备的功能。从分离检测、数据处理、统计学分析到化合物鉴定、通路分析及生物学解释，安捷伦代谢组学平台可以为代谢组学各个研究领域提供全面、强大的解决方案。



第一章

安捷伦代谢组学方案平台及方法流程介绍

第一章. 安捷伦代谢组学方案平台及方法流程介绍

1.1 数据采集硬件平台

☞ 发现代谢组学研究中的有力武器:

LC/MS 系统: Agilent 6200 系列飞行时间液质联用仪及 Agilent 6500 系列四极杆-飞行时间液质联用仪15

GC/MS 系统: Agilent 5975C 气相色谱-单四极杆质谱联用仪27

CE/MS 系统: Agilent 7100 毛细管电泳系统43

☞ 靶向代谢组学研究中的制胜法宝:

LC/MS 系统: Agilent 6400 系列三重串联四极杆液质联用仪51

GC/MS 系统: Agilent 7000B 三重串联四极杆气质联用仪59

1.2 生物信息学软件系统

☞ 安捷伦代谢组学软件概述71

☞ Agilent Mass Profiler Professional 生物信息学软件76

☞ 安捷伦 METLIN LC/MS 个人代谢数据库88

☞ 安捷伦 Fiehn GCMS 代谢组学 RTL 谱库93

1.3 选择指南: 代谢组学研究选择 GC/MS 或 LC/MS 的考虑因素98





1.1 数据采集硬件平台 发现代谢组学研究中的有力 武器：

LC/MS 系统：Agilent 6200 系列飞行
时间液质联用仪及 Agilent 6500 系
列四极杆-飞行时间液质联用仪

超高解析度 Q-TOF 技术带来的无与伦比的结果可靠性 — 加上 Agilent 1290 Infinity UHPLC 的分离速度

欢迎体验超高解析度 Q-TOF 技术带来的强大功能和结果确定性。这些特征都在 Agilent 6500 系列 Q-TOF 和 6200 系列 TOF 精确质量液质联用系统中得到集中的体现。现在安捷伦 Infinity UHPLC 又使得质谱系统在分离速度，灵敏度和组分分离度方面得到进一步地增强。因此，您能够更快速，更容易地分离和鉴别浓度更低的组分，而且结果的可靠性也更高。不论您是分析后转录修饰蛋白质，描绘生物标记物，鉴别代谢物，农药筛查，还是完整蛋白质的鉴定，安捷伦的 TOF 和 Q-TOF 及解决方案都提供满足最严格科学要求的数据。您可以得到：

复杂样品中分析各种组分所需要的**分析性能**

当今速度最快的超高分离度快速液相色谱带来的**分析速度**

更高的结果**可信度**，使您更快作出更正确的决定

数据提取功能大大提高分析效率，使得精确质量数的 MS 和 MS/MS 谱图数据发挥最大的优势

Agilent MassHunter 软件中**先进的扫描，轮廓图和组分鉴别功能**



安捷伦精确质量数 TOF 和 Q-TOF 液质联用系统

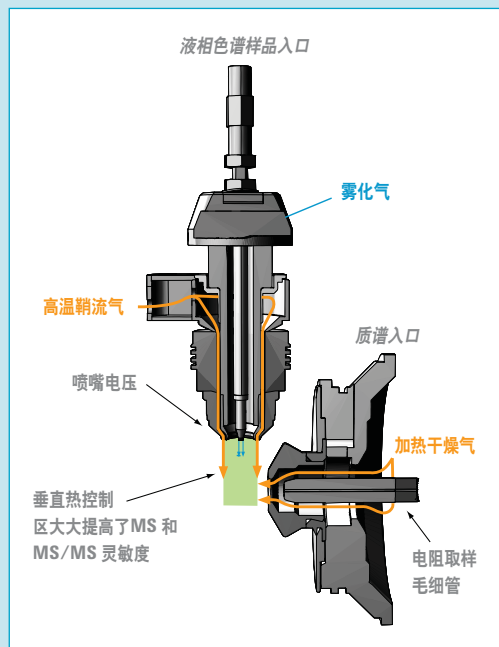
超高解析度 Q-TOF 技术结合先进的 MassHunter 工作站软件 — 加上性能超强的 HPLC 和 UHPLC 以及新型 1290 Infinity 液相色谱的超高灵活性

更胜一筹的性能 — 最宽的应用范围

采用超高解析度的 Q-TOF 技术，6200 和 6500 系列的质谱系统具有业界领先的质量精确度，动态范围，以及不损失扫描速度，质量范围或分辨率的高灵敏度 — 其它品牌的 Q-TOF 无法将上述方面性能同时达到最佳，甚至是价格昂贵的 Orbitrap 也一样。

这是一个引人注目的命题：您获得与 UHPLC 的超快速液相匹配的速度，以及从复杂样品中获取更多信息所需的全扫描及二级质谱数据。

- **亚 ppm 的质量精确度**有助于提高结果可信度，降低假阳性率
- **最高为 40000 的分辨率**有利于将组分峰与背景分离
- **最高 20 谱图/秒的扫描速度**可以使您获得最优质的数据，与超高速液相色谱得到的组分峰的完美兼容，实现高通量分析
- **5 个数量级的谱图内动态范围**可以实现高浓度组分分析时，也能分析痕量的组分
- **飞克水平的高灵敏度**可以检测极低浓度的杂质、代谢物或生物标记物
- **快速正负极性切换**使得您一次分析就可以检测正离子和负离子信号
- **全自动的质谱调谐和可靠的内标校正**保证了质量精确度的长期稳定和宽浓度范围和质量范围的元素组成的准确测定



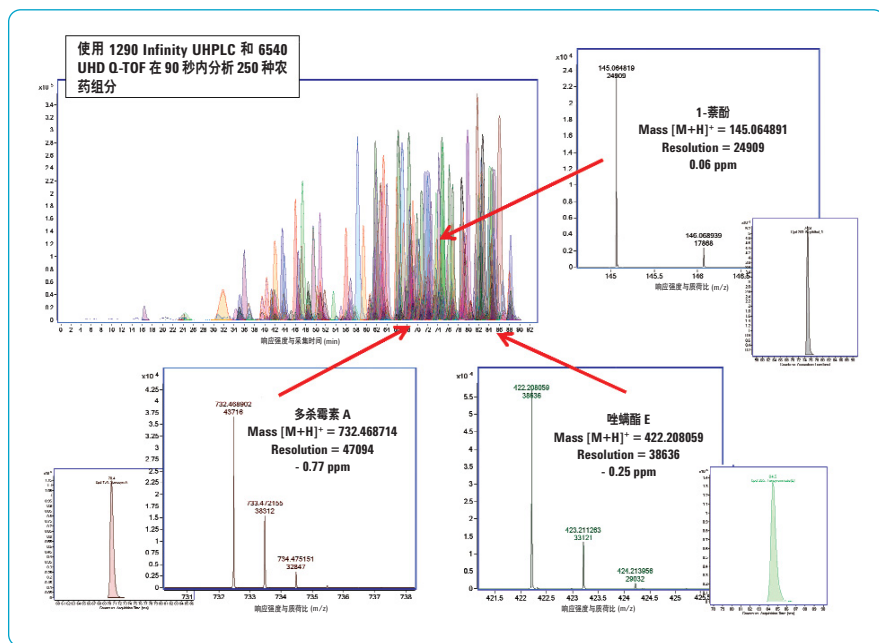
安捷伦喷射流离子聚焦技术将 LC/MS 与 LC/MS/MS 灵敏度提高 5 倍以上

安捷伦喷射流离子聚焦技术通过提高电喷雾带电液滴的空间聚焦来提高 MS 和 MS/MS 的灵敏度。创新的技术采用高温氮气提高离子化效率和去溶剂化效率以获得更高的信号响应同时降低噪音。对于很多的应用，包括候选药物和痕量的食品污染物，代谢物或者生物标记物的分析，其灵敏度提高了 5 倍以上。

出色的 MS 和 MS/MS 性能 — 与 UHPLC 完全兼容

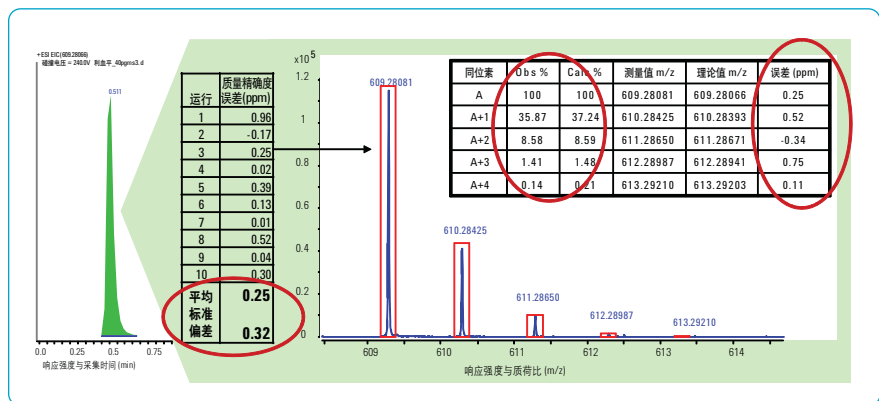
无论您是分析小分子化合物或是大分子的蛋白质，安捷伦的 6500 系列 Q-TOF 和 6200 系列 TOF 的精确度数据使您在筛查、鉴定和定量分析中获得最高可靠性的结果。诸如安捷伦喷射流技术、高速模数转换 (ADC) 采集和全自动的参比离子导入 (现在已经扩展到全部的安捷伦液质离子源) 的硬件创新使得今天的 TOF 和 Q-TOF 的性能远远超过以往 TOF 和 Q-TOF。

结果：出色的分析性能。灵敏度、精确质量、动态范围和分辨率 — 与 UHPLC 完全兼容。



出色的分辨率使您发现更多的组分

本应用举例采用 1290 Infinity UHPLC, ZORBAX RRHD 色谱柱和 6540 Q-TOF。90 秒钟即可分析 250 种农药，结果表明在整个农药的质量范围内具有出色的分离度和质谱分辨率。下面是其中三个农药的分析结果，它们分别代表低、中和高质量的组分。



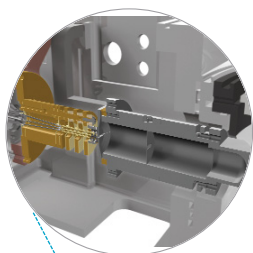
出色的质量精确度提高分析结果的可信度

6500 Q-TOF 碰撞池和离子光学透镜的创新设计可以使用同样的参比离子进行 MS 和 MS/MS 的数据采集。在本例中的 MS 的质量精确度是 0.32 ppm — 精确的同位素丰度数据大大提高了生成化学式的可信度。40 pg 利血平，10 次进样得到的同位素丰度比结构非常准确。

两级离子反射透镜提高了离子束的二次时间聚焦，提高了分辨率



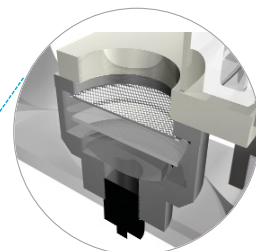
离子束压缩 (IBC) 技术使得离子束压缩比提高了 10 倍，所以离子损失更少，质量精确度更高。质量精确度和分辨率提高了 200%



先进的离子源设计，如专利的直角喷雾使得离子化效率最大化，同时降低了背景噪音，另外通过在线的参比离子导入保证了最佳的质量精确度

专利的 INVAR 材料制成的飞行管被密封在高真空中，消除了由于温度变化而导致的质量数漂移，可以保证 7 天 24 小时都具有最高的质量准确度。加长飞行管长度提高分辨率

与只记录单个到达离子时间的时间-数字 (TDC) 转换模式不同，模数转换 (ADC) 记录多个离子的总合，所以在宽质量范围和宽浓度范围内都能保证质量数的高准确度



4 GHz 速度的模数转换 (ADC) 具有 32 Gbit/s 的高速采集速度，所以大大提高分辨率、质量精确度、灵敏度。双增益信号放大器利用低增益和高增益的放大器进行信号的采集，使得动态范围达 10^5

在六极杆碰撞池中离子被线性电压加速，所以具有更快的 MS/MS 采集速度

更胜一筹的分析效率 — 用于任何类型的分析

有时候效率就是与速度有关。有时候是关于数据的质量。更多的时候，希望二者都能达到最佳。安捷伦的 TOF 和 Q-TOF 能提供最快的分离速度和高分辨率，高质量的 MS 和 MS/MS 的数据，以及 MassHunter 数据分析软件 — 所以它们能使您应对分析效率的挑战。

Agilent 1290 Infinity UHPLC 系统： 业界最高性能的液相色谱系统

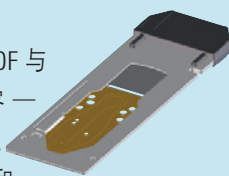
Agilent 1290 Infinity UHPLC 与超高解析度 Q-TOF 技术互为补充，使您可以优化分离条件以获得最大的分析效率。ZORBAX 超高压快速高分离度 (RRHD) 色谱柱提供了出色的 UHPLC 分离结果。利用快速液相色谱的全部优势，以实现高通量分析。对于每一个复杂样品分析，1290 Infinity UHPLC 出色的峰容量和色谱分离度将大大降低组分峰共流出和离子抑制效应。



Agilent 1290 Infinity UHPLC 可以提供前所未有的最快速度、最高分离度和高灵敏度的结果 — 胜过所有的 HPLC 和 UHPLC

液相色谱-芯片/质谱技术对于小量样品 提供了最高灵敏度

Agilent 6500 系列 Q-TOF 和 6200 系列 TOF 与 1200 液相色谱-芯片/质谱技术完全兼容 — 即插即用的设计取代了传统复杂的纳流液相色谱。易于使用的技术将样品富集和纳流色谱分离以及电喷雾针集成一体 — 所有的部件都集成在一个可重复使用的微流控芯片上，其体积就像一个载玻片大小。它可以提供耐用，超高灵敏度的结果，特别适合蛋白质和肽类小量样品的分析。



- 最高灵敏度可确保低浓度样本的准确分析
- 更窄、分离度更高的色谱峰降低了质谱的复杂程度，所以结果的可信度更高
- 新型的二代液相色谱-芯片采用了碳离子注入过滤器技术提高了芯片与芯片之间，分析与分析之间的结果重现性，实现了高效率的分析
- 更加可靠的纳流质谱可以用于生物标记物的发现和确认分析，完整单克隆抗体鉴别，磷酸化肽分析，以及小分子分析，例如药物代谢动力学

MassHunter 软件增强了您实验室的分析效率

从仪器参数设定到最终报告，安捷伦的 MassHunter 工作站软件使得您的质谱分析更加快速，简单以及高效率。数据分析功能让您更快速地发现、比较和鉴别复杂样品中的组分。化合物为中心的数据分析和浏览功能大大精简和简化了质谱数据分析。

一个方便学习的界面可以处理所有的基本定性和定量分析工作，将安捷伦其它功能强大的应用软件无缝连接。

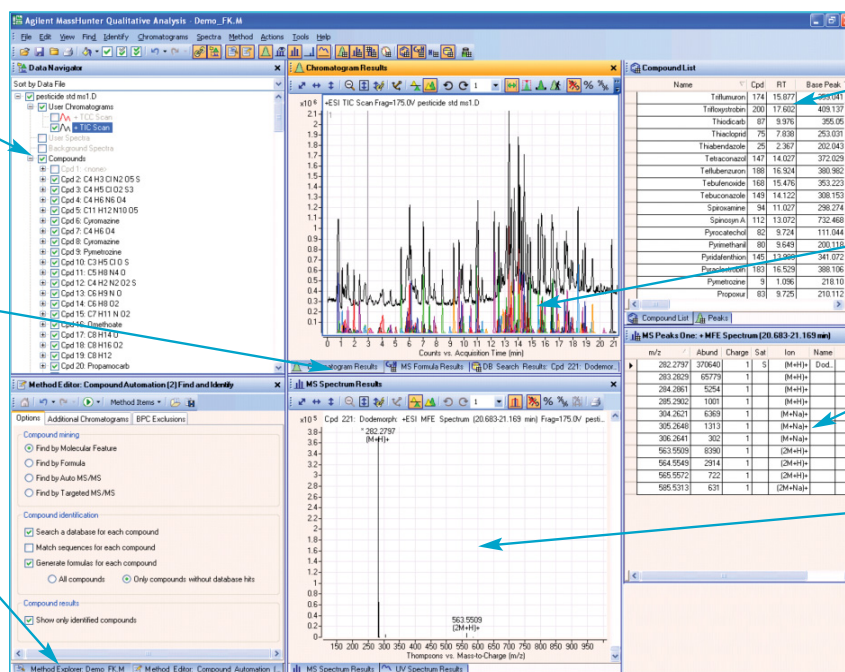
如果它存在，MassHunter 软件将帮助您寻找，比较，并作出鉴定。专有的算法使全面的数据挖掘能实现确定性最高级别的确认和鉴定未知组分。

集成的，各种应用数据库和谱库检索。为了提高您的生产力——并使化合物的鉴定更容易——MassHunter 软件可让您利用 METLIN 和其他公共和私人数据库进行自动、准确地检索。可以用来自精确质量数的 MS 或 MS/MS 数据生成的化学式以及精确质量数和保留时间数据库进行农药、法医、毒理学和其他小分子化合物的筛查和鉴定。

化合物为中心的数据浏览和选择

详细的化学式生成和精确质量数数据库检索结果

方法编辑器和浏览器



最匹配化学式和质量数据库结果的列表

每个组分化合物叠加着色谱图

对于每个组分的鉴别离子的质量数列表

对于得到的化学式组分，同位素的理论值和实测值的叠加图

定性分析中易于发现、比较，以及鉴别组分。MassHunter 工作站可以方便地创建、组织、浏览、存储，并报告结果

发现

比较

鉴别

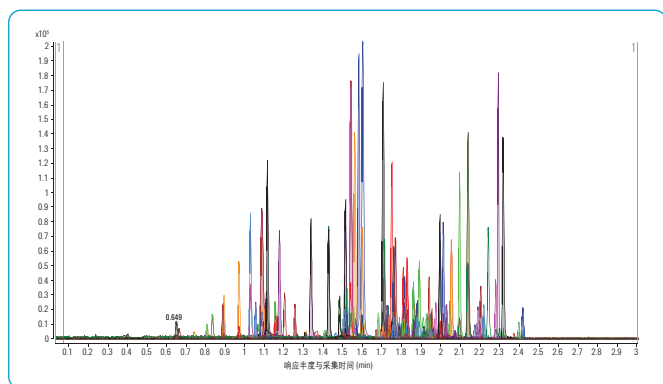
定量

使用 MassHunter 工作站独一无二的化合物为中心的数据处理功能自动地进行发现、比较和定量

用于食品安全和环境分析的强大功能及容易使用的解决方案

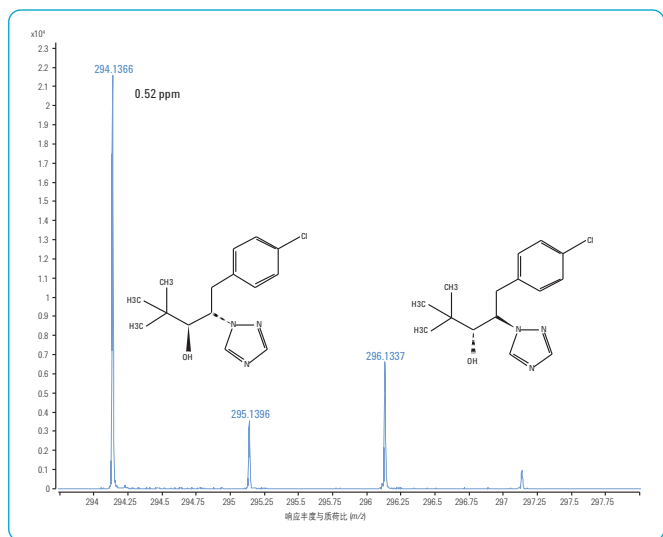
来自安捷伦的快速扫描速度、宽动态范围、质量准确度和分辨率的组合使您一次分析就可以筛查几百个组分——即使是复杂的样品基质。MassHunter 软件可以确定样品的组分以及自动地对公开的和定制的数据库进行检索以快速获得准确的答案。新推出的安捷伦分析方法包——包括分析方法、化合物、数据库等等——帮助您花更少的时间完成方法设定而有更多的时间产生专业的结果。

农药的快速筛查和鉴别



Q-TOF 在 3 分钟内鉴别 100 种农药。出色的峰容量和快速质谱采集速度使您完成大量的农药分析，以及获得高可信度的结果。Q-TOF 的快速采集速度使得分析速度更快，但是仍然可以得到全质谱图数据。(1290 Infinity LC, ZORBAX RRHD 色谱柱和 6540 超高解析度 Q-TOF)

高分辨率全扫描质谱，小于 1 ppm 的质量精度，以及在 10 谱图/秒速度下的同位素比的准确度



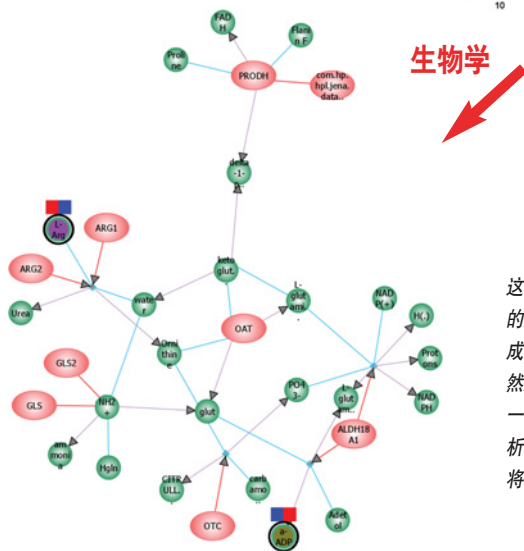
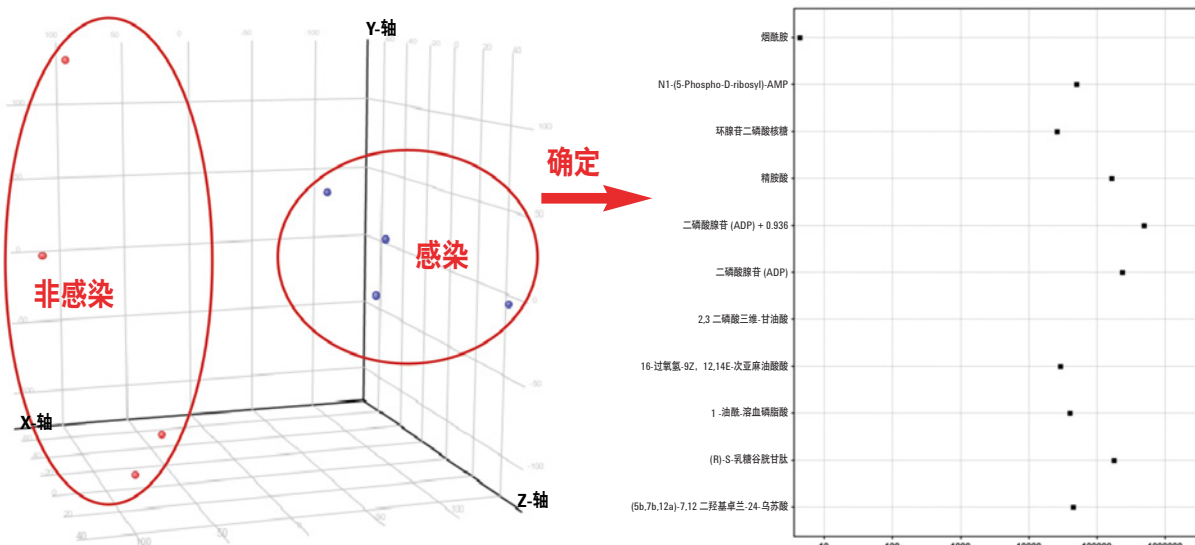
3 分钟内对上千种农药进行筛查。在这个举例中，每个 1 秒峰宽的色谱峰都有 10 个数据点，所以才能在 3 分钟内实现上千个农药的筛查分析

功能强大的工作流程助您更快速地发现更多的生物标志物

安捷伦的超高解析度 (UHD) Q-TOF 技术使您可以更快地发现样品组之间表达水平的差异，鉴别潜在的生物标志物。结合了集成的应用软件 — 例如安捷伦 METLIN 定制代谢物数据库和代谢组学研究软件 (Mass Profiler Professional, MPP) — 使您更好地了解更复杂的生物系统。

出色的 TOF 灵敏度和 5 个数量级的动态范围可以在高浓度组分的存在下也能检测低浓度的代谢物。当利用包含了 23000 个内源和外源代谢物、类脂和二和三肽的安捷伦 METLIN 定制数据库进行检索时，亚 pmm 的质量精确度提高了鉴别结果的可信度，降低了假阳性率。

代谢组学数据提取的组合软件系统为表达谱、多元分析、鉴别和途径分析提供有力的工具

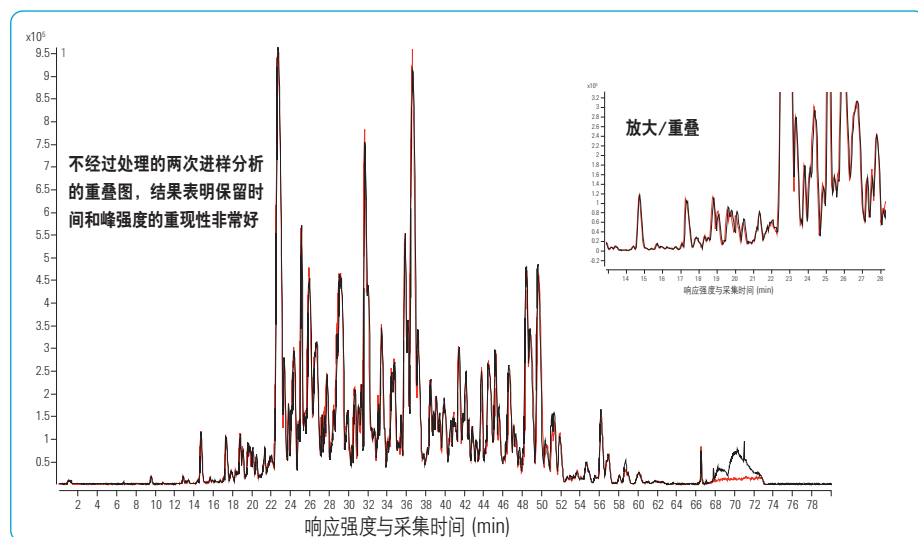


这一分析涉及两组重复的感染疟疾和未感染疟疾的红细胞样本。首先基于 750 种化合物的样本主成分分析 (PCA) 将 8 个样本进行了正确的分组。然后进行差异分析，确定了精氨酸是此项研究的一个重要的生物标志物。最后采用安捷伦途径分析软件 (Agilent Pathway Architect software)，将精氨酸正确地映射到精氨酸合成途径中。

高可信度的生物分子鉴定，表征和定量分析

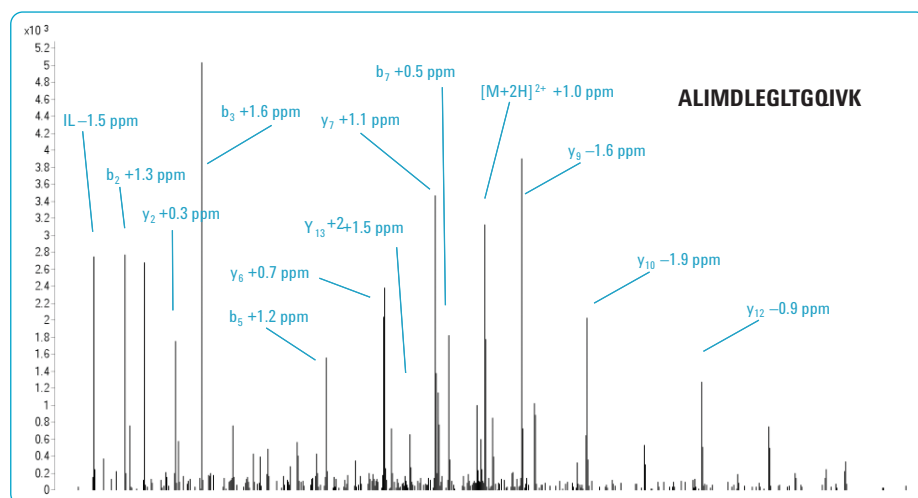
Agilent 1200 系列液相色谱-芯片/质谱系统是快速，高重复性的纳流液相色谱分离系统——对于能否取得高质量的差异分析结果至关重要，是精确质量数 Q-TOF 的理想补充。

出色的质谱重现性



粟酒裂殖酵母样品中体积排阻色谱 (SEC) 的一个馏分的酶解产物的两次进样的重叠图。结果表明，所有组分的保留时间和峰强度的完全重叠。(Agilent 1200 系列液相色谱-芯片和 6540 超高解析度 Q-TOF)

出色的 MS/MS 质量精确度



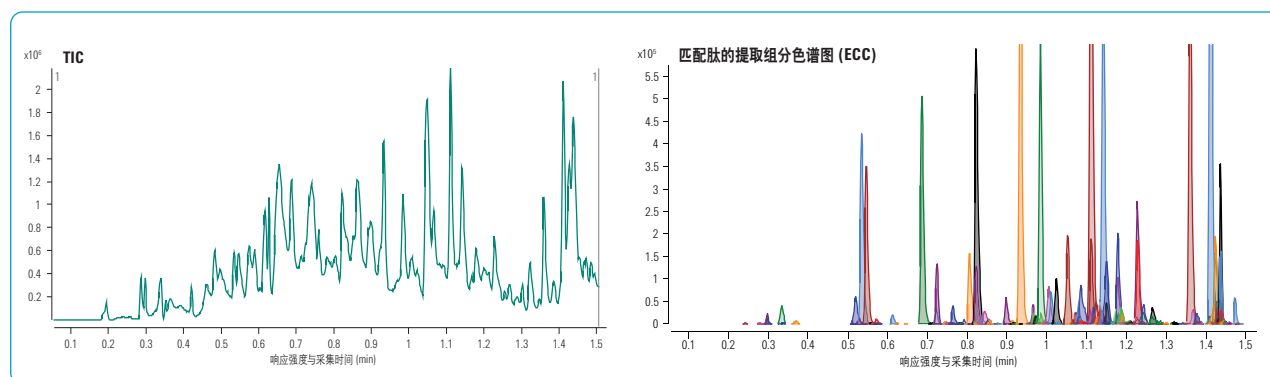
一个来自粟酒裂殖酵母中的肽 (ALIMDLEGLTGQIVK) 的 MS/MS 质谱图。子离子的平均质量精确度是 2.3 ppm。肽的所有 b- 和 y- 离子的质量精确度数值都表示在图中 (安捷伦的液相色谱-芯片和 6538 超高解析度 Q-TOF)

完整蛋白质的确认分析

目标蛋白质的全表征 — 包括分子组成和结构变异的详细信息 — 需要对完整蛋白质和酶解物进行详细的分析。在安捷伦的 Q-TOF 得到的精确的 MS 和 MS/MS 质谱图保证了完整蛋白质鉴别结果的可靠性。其高分辨率可以准确测量价态，使您准确找到由于后转录修饰、化学降解和改变导致的微小的结构变化。

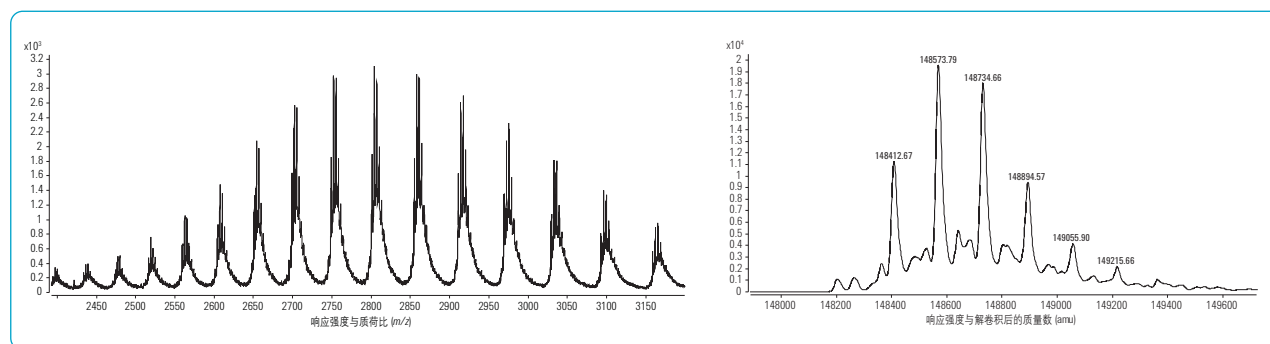
MassHunter 生化分析软件 (BioConfirm) 能进行解卷积分析和序列的编辑/肽谱匹配分析，以及蛋白质改变的预测和确认，使得重组蛋白质和合成肽的表征分析效率大大提高。

单克隆抗体酶解物，100% 的序列覆盖



两分钟就可以完成单克隆抗体 (mAb) 分析。结果表明匹配肽段的提取组色谱图与 IgG 序列匹配：对于轻链和重链，得到 100% 的序列覆盖率。液相流速 1.6 mL/min，柱压大于 1100 bar，分析时间小于 2 分钟。(Agilent 1290 Infinity LC, Poroshell 120 色谱柱和 6530 Q-TOF)

完整蛋白质的质谱测量和解卷积分析



去糖基 ANTI-FLAG 抗体的质谱图，柱上进样量是 600 pg (4 fmol)。右侧表示的解卷积后的谱图表明包含六个主要的糖基。分析是在带有 43 mm ZORBAX SB 300-C18 芯片的安捷伦液相色谱-芯片/质谱上完成的 (安捷伦液相色谱-芯片和 6530 Q-TOF)

分析流程解决方案提高了分析能力和效率

为了使实验室效率最大化、使用简单，应用软件平台可以与 MassHunter 无缝连接。它们是：

代谢组学软件 (Mass Profiler Professional)

功能强大的化学计量学软件包可以从精确质量数据中发掘大量有价值的信息

MassHunter 工作站生物信息学软件 (Spectrum Mill)

蛋白质鉴别，相对定量，表征

MassHunter BioConfirm 软件

完整蛋白质表征和寡核苷酸分析

MassHunter 代谢物鉴定软件

药物代谢鉴定

定制化合物数据库和谱库软件

- 定制的法医和毒物数据库
超过 7000 个化合物
- 定制农药数据库
超过 1600 个农药
- 安捷伦 METLIN 定制代谢物数据库
最完整的内源代谢物数据库 — 包括 23000 化合物，其中含 8000 个类脂化合物

安捷伦的专业服务保证您的实验室以最高效率运行

98% 的客户满意度，安捷伦的客户服务工程师是业界受过最佳训练的最受客户尊重的工程师。无论您是需要单机的支持还是多实验室，多个品牌仪器操作的支持，安捷伦都能帮助您在最短的时间内解决问题，提高正常运行时间，优化实验室的资源。根据您的实验室的要求和资金选择各种服务产品，我们提供：

- 现场维护服务，确保系统运行可靠，减少非计划停机时间
- 远程诊断和监控能力，为您提供额外的“正常运行时间保险”
- 为安捷伦和非安捷伦仪器进行快速、专业化故障排除和维修
- 专家级的安装、现场培训，以及高级培训课程让你很快上手和熟练操作仪器，保证您从安捷伦的仪器上获得最大的效益

更多信息

如需了解有关产品的更多信息：

www.agilent.com/chem/qtof:cn

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

customer-cn@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/quote:cn

安捷伦科技大学：

<http://www.lasca-china.com.cn/university>

浏览和订阅 Access Agilent 电子期刊：

www.agilent.com/chem/accessagilent:cn

本文仅限研究使用。本文中的信息、说明和规格，如有变更，恕不另行通知。

安捷伦公司对本材料中可能存在的错误或有关装备、性能或使用这一材料而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

© 安捷伦科技 (中国) 公司, 2010 年
2010 年 2 月 10 日中国印刷
5990-4052CHCN

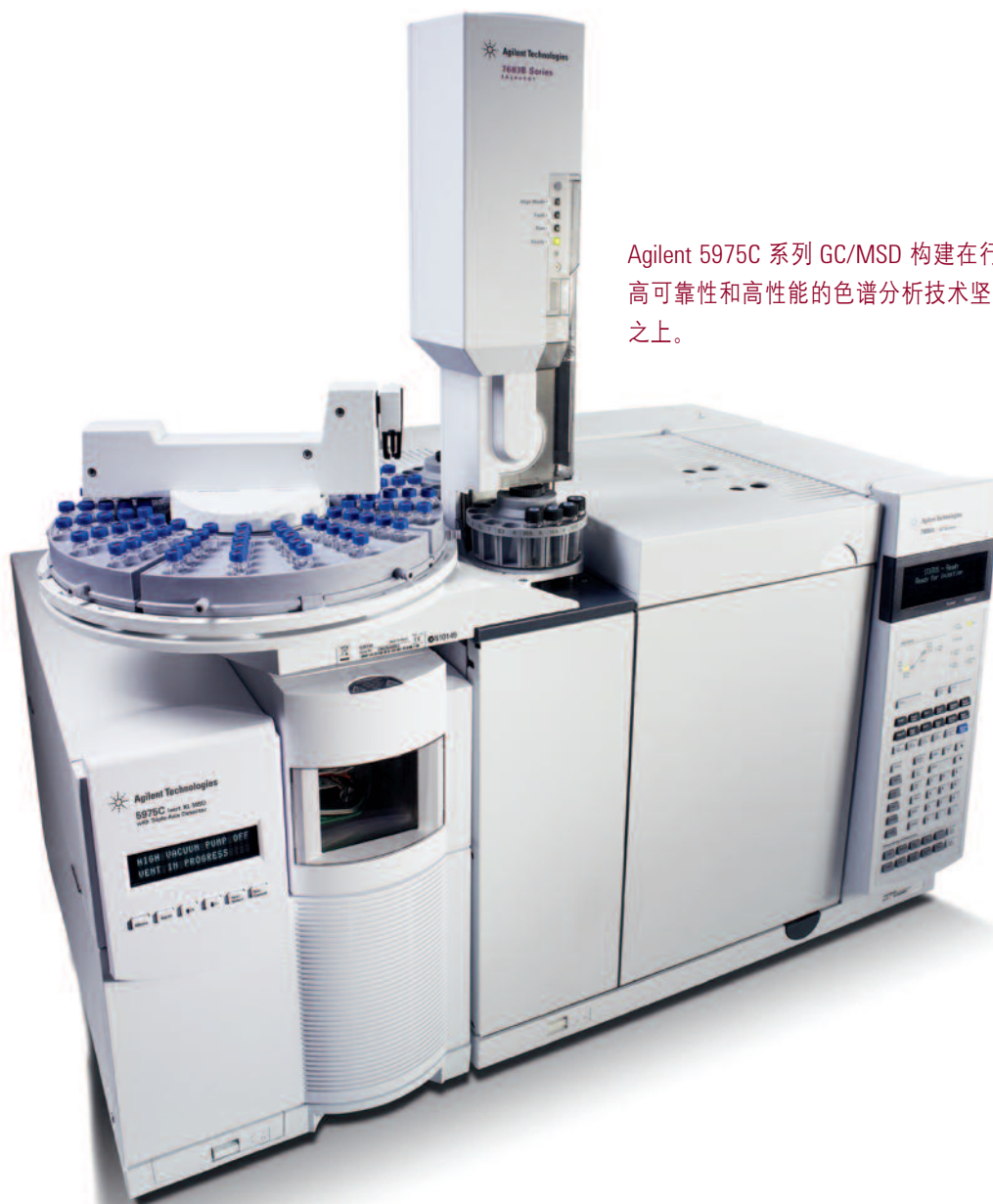


1.1 数据采集硬件平台 发现代谢组学研究中的有力 武器：

GC/MS 系统：Agilent 5975C 气相色
谱-单四极杆质谱联用仪

Agilent 5975C 系列 GC/MSD

新一代 Agilent 5975C 系列 MSD —— 一直是业界最受欢迎的 GC/MS。 Agilent 5975C 系列 MSD-配备三轴 HED-EM 检测器- 结合了创新设计特点以提高您实验室的工作效率, 先进的分析功能可帮助您更快地获得更好的结果。与新的 7890A GC 的完美配合, 使这一平台集所有创新技术为一体, 使化学分析达到最佳境界 —— 出色的性能、无与伦比的可靠性、更高的工作效率和更简便的操作。



Agilent 5975C 系列 GC/MSD 构建在行业领先、高可靠性和高性能的色谱分析技术坚实的基础之上。

领先的分析功能

模块化质量分析器将整体惰性离子源、专利的石英四极杆分析器和新的更高信噪比的 TAD 集成为一体。这一强有力的组合提供了更高的质谱分辨率、优异的质谱准确性和更低的检测限——从而使您对结果信心倍增。新的痕量离子检测技术提供更强大的痕量分析功能。

更高的分析通量

全自动化分离功能、更快的分离和更短的检测周期使您在更短的时间内处理更多的样品。高级分析程序使您从每次运行中获得最多的信息，新的自动化谱图解卷积软件可实现快速定性和定量分析。

仪器正常运行时间最长

设计周全、符合实际使用的功能使您可进行更快、更容易的日常维护，新系统的智能化功能能够预先报告仪器需要维护，增强了自行维护和强大的远程诊断功能——使您的实验室比以往更容易运行在最佳状态。

有关仪器的其它性能指标，请访问：

www.agilent.com/chem/5975C-Specs

5989-6351EN: 5975C 系列 GC/MSD 性能指标



350 °C 惰性离子源

离子源可程序升温最高至 350 °C，对于活化化合物和高沸点组分有更好的响应。第 4 页



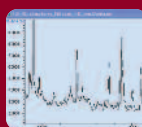
专利技术镀金石英四极杆具有 1050 u 的质量范围

在整个质量范围提供最佳的分辨率和灵敏度，最低的质量偏差保证调谐和校准的有效性时间更长。第 4 页



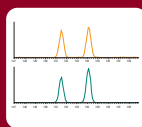
高信噪比的 TAD

新一代离轴检测使噪声最低，信号最强，因而具有更低的检测限。第 5 页



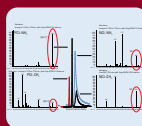
微量离子检测技术

对于复杂基质当中的目标化合物有很低的检测限；与高温惰性离子源相结合，这一新技术赋予您的实验室新的强有力的分析功能。第 5 页



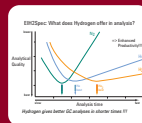
SIM/Scan 数据同步采集

在以最高 12,500 u/s 的速率采集全扫描谱图的同时，有选择性地以高灵敏度监测感兴趣的离子。第 6 页



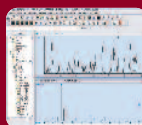
所有的离子化模式可以在一个序列中自动实现

标准 CI 源可以实现 PCI、NCI 和 EI 谱图的采集，自动 CI 功能使得 CI 的操作如 EI 一样容易。第 7 页



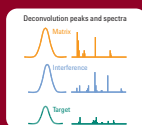
新的氢气 EI 信噪比指标

采用较低成本的氢气作载气，可以在安全条件下实现更快的分析。第 7 页



GC/MS 软件

适合于您的工作流程和应用——新的特点和先进的功能提高您实验室的性能和效率。第 10 页



解卷积报告软件

安捷伦的第二代软件可使您快速获得可靠的分析结果，DRS 与新的保留时间锁定数据库相结合，显著地缩短了数据处理的时间。第 12 页



GC/MS 色谱柱及配件

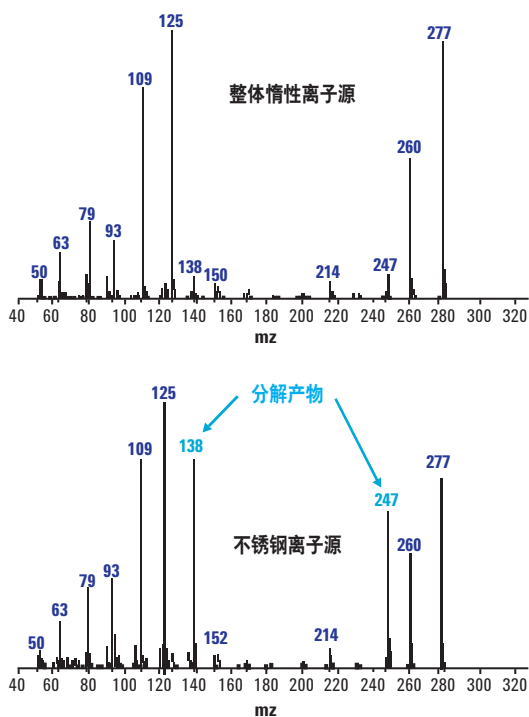
高性能安捷伦 J&W GC 柱和经质谱验证的备件使您的分析结果最佳化。第 15 页

从离子源到检测器，所有设计都侧重性能和工作效率

制造世界上最受信赖的 GC/MS 的过程是一个不断提高性能的过程。对于每一代新产品，我们绝不会改变我们的宗旨——帮助您的实验室在尽可能短的时间内获得可靠性更高的分析结果。

高温整体惰性离子源提升仪器的性能

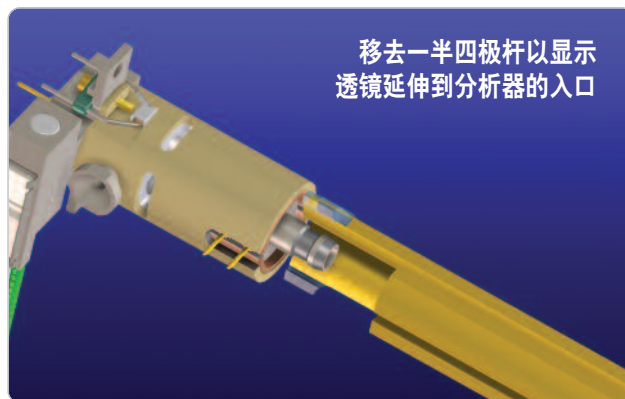
安捷伦专利技术惰性离子源现在可以升温至 350 °C，从而为活性化合物和高沸点的组分提供更高的响应信号。它能够提供更好的峰对称性、更高的 EI 响应、更少的降解离子和更可靠的谱库检索。更高的温度还意味着降低离子源清洗频率——从而显著提高实验室的工作效率。(1)



提高谱图准确性。新的惰性离子源消除了表面活性反应，使谱库匹配更可靠。

顶级标准四极杆设计

MSD 分析器是安捷伦科技专利和独家技术的结晶，提供卓越的性能和更高的可靠性。



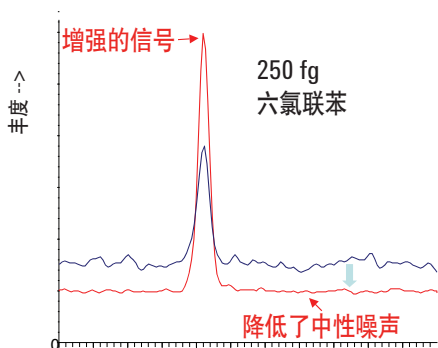
最后一个透镜延伸到加热的整体四极杆中，优化了离子源和分析器的耦合。该透镜的电压与分析器的电压同步动态变化，将每个 m/z 的最大离子信号聚焦到四极杆场的中心

单个石英分析器的尺寸稳定性是 MSD 设计的基本优势。与金属杆不同，温度从室温到 200 °C 变化时，石英的尺寸并不发生改变。因此即使分析复杂的高沸点样品，较高的分析器温度也可以使系统长久耐用，不用维护。

具有亚微米镀金层的双曲面电极表面消除了圆柱四极杆的场误差，在高达 1050 u 的整个质量范围实现了优异的分辨率、质量轴稳定性和离子传输效率。我们所提供的高分子量化合物测试标样套件确保了测定高分子量化合物时其高质荷比碎片的准确性。(2)

TAD 降低检测限和操作成本

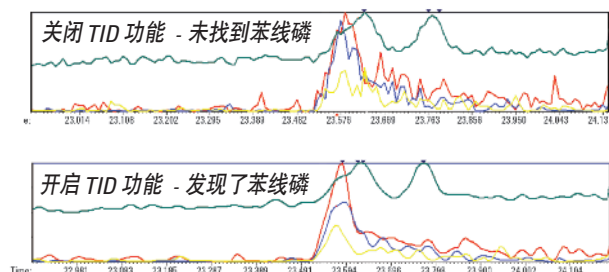
检测器模块的基本目标始终是：采集更多感兴趣的离子和消除背景噪音。为了实现这些目标，5975C 的检测器用一个新的离子轨和屏蔽墙，将新的长寿命三通道电子倍增器(EM)远离分析器出口。优化的离子通道增强了信号，消除了高能量的中性碎片的噪音。结果得到了市场上最佳的信噪比指标，与惰性离子源和专利双曲面分析器构成完美结合。



TAD 增强了信号，降低了噪音——改进了检测限

微量离子检测(TID) 提高仪器在处理复杂基质样品时的性能

创新的微量离子检测技术给出更好的谱图真实性，从而增强您对谱库检索匹配结果的信心。它降低方法检测限(MDL)和定量限(LOQ),降低假阴性出现的几率，进一步增强惰性离子源在痕量离子检测方面的性能。这一技术还能提高基线的重现性，大大减少峰积分过程中采用手动积分的次数。



苯线磷的分析。如果不采用微量离子检测功能(上图), 由于苯线磷是一个大峰上的不明显的肩峰, 所以没有被发现。当开启微量离子检测功能(下图)时, 噪音降低, 清楚地检测到苯线磷。

高灵敏度自动调谐更容易优化系统性能

用自动化过程取代手动调谐方法来优化操作条件。5975C 系统的自动调谐 (AutoTune) 节省时间, 提高性能, 并确保仪器与仪器之间分析结果的一致性。新的 EM 归一化调谐功能确保稳定的离子响应并延长电子倍增器的寿命。(3)

了解对您现有的 Agilent 5975 系列 GC/MSD 的检测器的升级信息。

(1) 5989-6051EN: 5975C 系列 MSD: 离子源高温操作指南

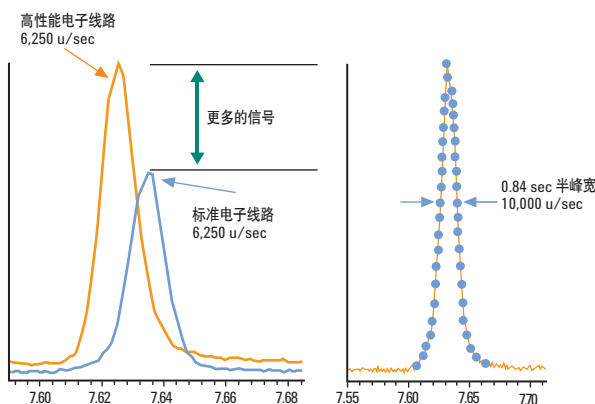
(2) 5989-3142EN: 将 5975 inert MSD 用于更高分子量的多溴联苯醚(PBDE)的分析

(3) 5989-7654EN: 归一化调谐的强大功能

强大的分析功能提高结果准确性和分析效率

快速电子线路增强仪器性能并实现 SIM/Scan 数据的同步采集

5975C 系列 GC/MSD 使用的快速电子线路使快速 GC/MS 在全扫描和选择离子检测(SIM) 模式的信号传输最大化。他们实现了同步 SIM/Scan 功能而没有损失分析性能。(4)

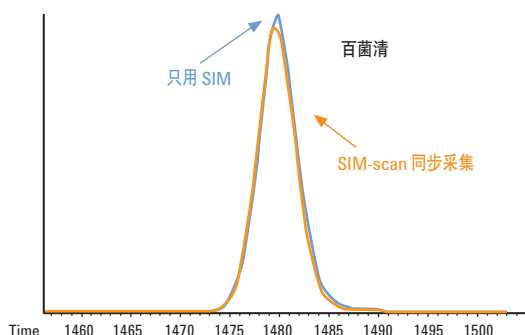


更多的信号，更多的数据点。七氯联苯的总离子流色谱图，将标准电子线路 (Agilent 5973 系列 MSD) 的结果与新的快速电子线路相比。两张色谱图是在同一台仪器上采用相同的扫描速率采集的 (为了清楚，调节了水平设置) 即使是窄径毛细管柱的色谱峰，高达 12,500 u/sec 的扫描速率也可以对其进行准确的积分

高性能选择离子检测(SIM) 和全扫描

安捷伦的 SIM/Scan 数据同步采集功能使您在一次分析过程中同时采集选择离子检测数据和全扫描数据。因为分析参数容易设置而且可以进行谱库检索，许多实验室大多使用全扫描方式进行数据采集。相比较而言，选择离子检测模式可提供比全扫描更高的灵敏度；然而，选择离子检测数据不能用来在商业谱库中进行检索以进行定性分析。

现在，采用 5975C 系统的 SIM/Scan 数据同步采集，您可以在一次运行中同时获得选择离子检测数据和全扫描数据！更有利的是，您不必是 GC/MS 专家就可以完成这一操作。安捷伦数据分析软件的 AutoSIM 功能可以将全扫描数据自动转换成选择离子检测或者 SIM/Scan 同步采集方法参数。选择离子检测的驻留时间以 1 毫秒为步长，可以在 1 毫秒到 100 毫秒范围内任意设置。



在 SIM/Scan 操作中 SIM 的灵敏度不会损失。上面的重叠图比较了采集 SIM 信号(蓝色)和用 SIM/Scan 数据同步采集模式得到的 SIM 信号(橙色)

(4) 5989-3108EN: 采用 SIM/Scan 同步数据采集功能提高工作效率

(5) 5989-4347EN: 5975 inert MSD——增强化学电离操作的优势

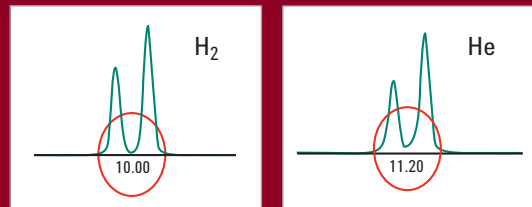
CI 源的操作像 EI 源一样简单

长期以来，由于参数设置复杂，反应气调节和离子源调谐困难，化学电离源(CI)一直被认为是一种高级 GC/MS 技术。新的 Agilent 5975C inert GC/MSD 使得 CI 分析就如 EI 一样简单——不必变换到 EI 源就可生成 EI 谱图。

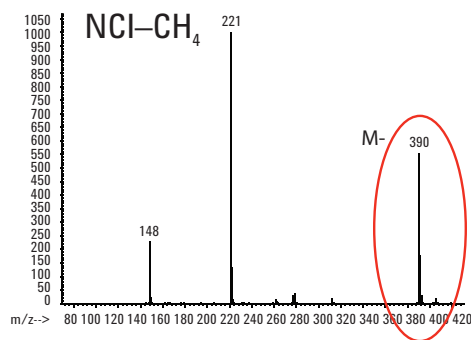
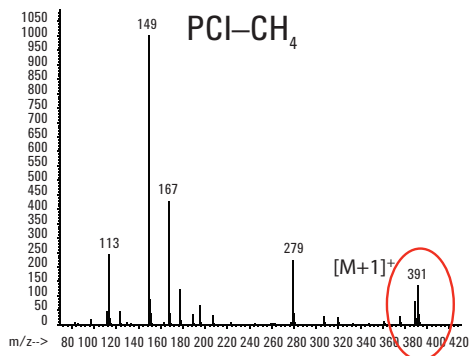
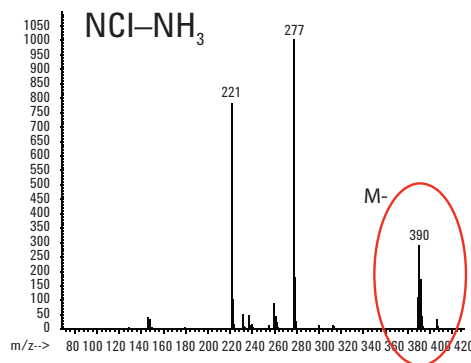
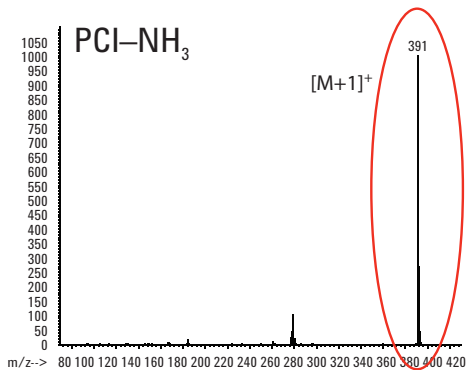
直观的用户界面和化学电离源流量控制模块一起工作来自动调节化学电离源反应气流量，以优化化学电离性能。反应气双通道很容易比较辅助反应气，如甲烷和氨气。自动校准试剂“蒸发”允许系统快速准备就绪，即使在超高灵敏度的 NCI 模式也是如此。

使用氢气降低每次分析的成本

5975C 系列 GC/MSD 新的氢气信噪比指标使得安捷伦成为第一个也是唯一一个证明氢气作为载气的性能和安全性仪器制造商。事实上，与氦气模式操作的 GC/MS 系统相比，氢气常常提供更快分析速度和更高的分辨率。



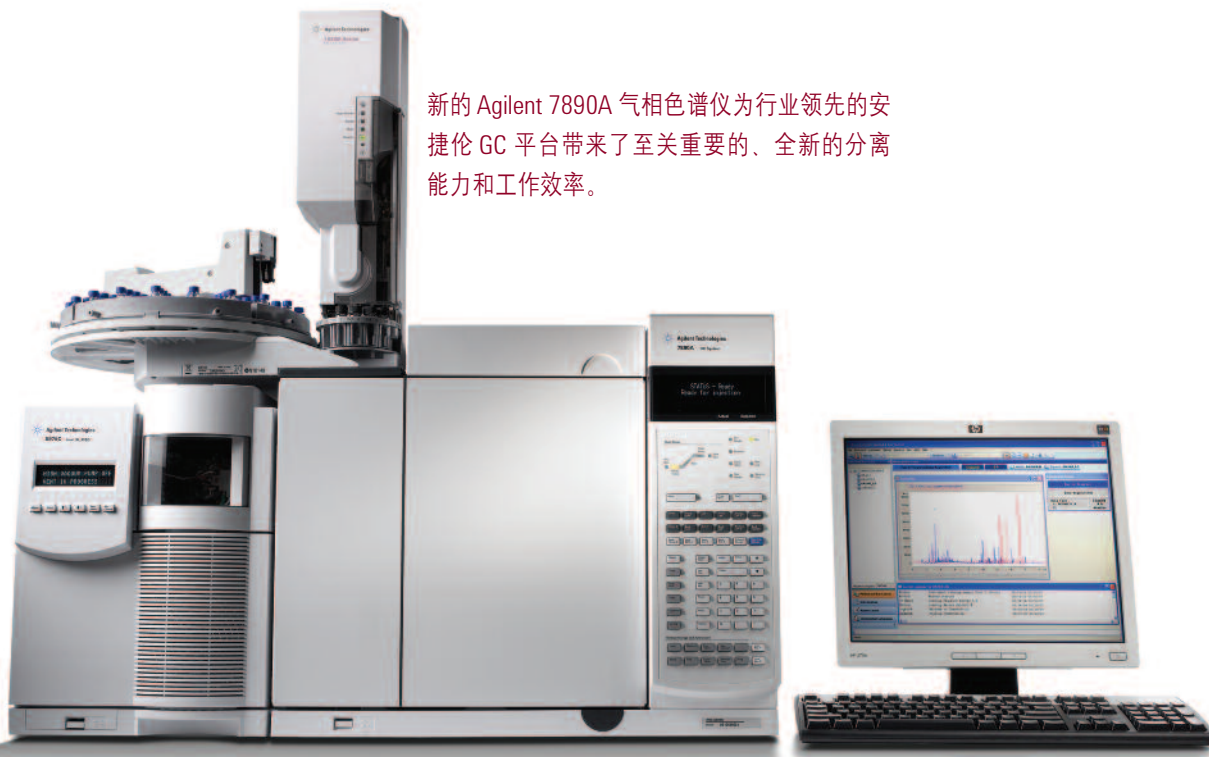
用 He 和 H₂ 分析多环芳烃。
在此例中，H₂ 实际上提供了更好的分离度



在各种化学电离模式下的邻苯二甲酸二辛酯质谱图。许多化合物在 EI 中产生很少的鉴定信息；比如，所有邻苯二甲酸酯类化合物的 MS 图非常相似。CI 提供了很有价值的谱图信息：PCI 用氨气（左上方）；PCI 用甲烷（左下方）；NCI 用甲烷（右下方）；以及 NCI 用氨气（右上方）。(5)

Agilent 7890A 气相色谱仪： 将 GC 的性能和效率推向新的高度

安捷伦新的 7890A 旗舰 GC 为其 40 年 GC 技术领导者的辉煌历史又谱写了新的篇章，它为将您实验室的 GC/MS 性能提高到新的水平提供了所需要的一切，包括先进的分离能力，强有力的新功能和智能化仪器实时监测。当然，还有安捷伦无与伦比的可靠性。



新的 Agilent 7890A 气相色谱仪为行业领先的安捷伦 GC 平台带来了至关重要的、全新的分离能力和工作效率。

安捷伦的性能与可靠性

第五代电子气路控制(EPC) 和数字电路为保留时间锁定(RTL) 的精度设置了新的基准，使得 Agilent 7890A GC 的可靠性达到了前所未有的高度。

更高的效率

更快的柱箱冷却速率、更强的反吹功能、先进的自动化特点和更快的 GC/MS 柱箱升温速率使您的分析时间更短，每个样品的分析成本更低——所有这些都很容易集成到您的现有方法中。

GC 检测器同步操作

对于非目标化合物，一个灵敏而有选择性的 GC 检测器是对 MS 的有力补充。在 ECD 基线上那个意料之外的小峰可能为一个关键的化合物提供仅有的线索。GC/MSD 高效化学工作站可同时采集两个 GC 检测器的信号和 MSD SIM/Scan 的信号。(6)

(6) 5989-7670EN – 15 min 的全扫描分析替代多次 50 min 的 FPD/ELCD/SIM 分析。使工作效率提高了 10 倍

Agilent 7890A GC 可方便使用您的现有 6890 分析方法，无需对其进行大的修改

您能够提高工作效率并利用 7890A 系统的新功能，而不会打乱您实验室的正常运作。只要将仪器安装就位，操作人员就很容易熟悉控制和用户界面——因为 7890A 系统是构建在享有盛誉的 6890 GC 进样口、检测器和 GC 柱箱的基础上，您可以放心地将方法转换到新的 7890A GC 上。

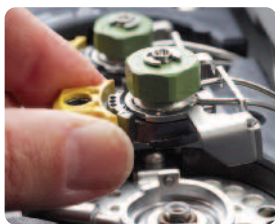
突破性的微板流路控制技术

安捷伦创新的微板流路控制技术实现柱箱内可靠的无泄漏连接。现在安捷伦提供多种有用的配置，这些惰性的、轻巧的、低死体积的装置不仅使连接更安全、更容易，而且在您需要的时候能精确控制气流的方向。这些为色谱分析技术开辟了广阔的前景，比如馏分分流、反吹和 Deans Switch，这些技术能够改善您的分析结果，并且节省时间和资源。

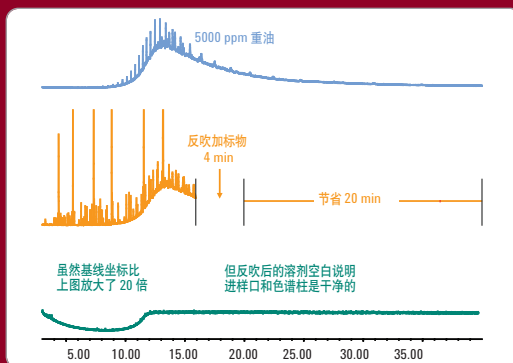


几秒钟完成分流/不分流(SSL) 进样口的维护!

操作方便的扳转式顶盖设计安装在每个分流/不分流(SSL) 进样口，使您比以前更快、更容易地更换衬管和色谱柱，而不用特殊的工具和培训。



7890A GC 使分析效率大为提高



有害废弃物（模拟样品，含有高沸点干扰物）中半挥发物 (5 ppm) 的分析。

上图 (蓝色): 感兴趣的峰在 16 min 前全部流出, 但需要在 320 °C 高温下烘烤 24 min 以去除保留在色谱柱中的重组分。

中图 (橙色): 用配置涡轮泵的 5975C MSD 使用 7890A 系统的反吹功能, 将同样的样品重新分析, 反吹 4 min —— 每次运行节省了 20 min (总分析周期节省 50%)。液体自动进样器重叠进样和柱箱更快的冷却还可以使每个分析周期缩短再缩短 4 min。

下图 (绿色): 将基线坐标放大, 检测溶剂空白的结果证明了反吹的效率。



Agilent 6850 系列 II GC —— 小巧，耐用，操作方便

您的实验室是进行简单的常规分析还是在线分析? 如果您只需要单一进样口和检测器, Agilent 6850 GC 与 5975C VL GC/MSD 相结合是最佳选择。这一小巧的仪器具有很多先进的功能——以及公认的安捷伦稳定性。

GC/MS 软件适合您的工作流程，提高您的工作效率

即使是非专业人员也可以通过安捷伦 MSD 高效化学工作站而轻松使用 Agilent 5975C inert GC/MSD 系统所具有的全部先进功能。您将发现所有的设计都帮助您在每个工作日顺利完成每次分析。

先进的仪器控制

- 一台 PC 可控制两台 GC/MS 系统
- 改进的调谐过程确保获得准确一致的结果，延长了 EM 的寿命(归一化调谐)
- SIM 和 Scan 数据同步采集获得了高灵敏度定量结果和可进行谱库检索的质谱图
- 集成控制液体进样器、G1888 顶空进样器和 PAL 自动进样器
- 同步采集 MSD 和 GC 检测器信号
- 自动提示要进行的维护

简化方法配置

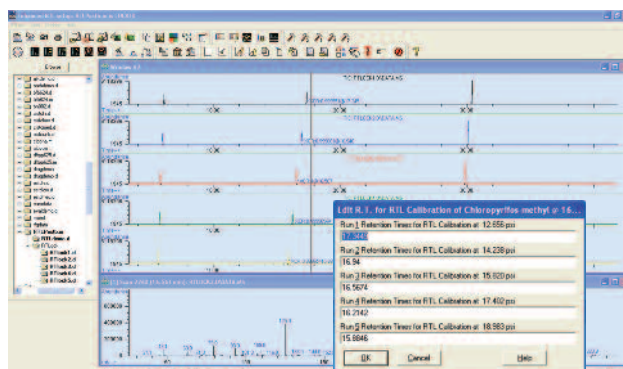
- 共享方法的输入/输出(电子方法)
- 可输入 LIMS 样品列表
- 基于自动积分和谱库检索结果指导设置新校正表(AutoQuant)
- 可将任何全扫描方法自动转换为高灵敏度的 SIM 或 SIM/Scan 方法(AutoSIM)
- 保留时间锁定(RTL)功能，保证多台仪器之间分析结果的一致性

高效数据处理

- 可以建立 20 个校正点的校正曲线，有 4 种曲线拟合选项，可对 2000 多种化合物进行定量分析
- 采集数据的同时重新处理上一个运行序列所得结果
- 连续检索多达 3 个不同的数据库
- 直接比较来自多个检测器 (MS 和/或 GC) 的多种数据文件
- 同时分析多个数据文件 (Enhance Data Analysis Plus)

保留时间锁定 (RTL)

- 在世界任何地方的实验室之间、仪器之间的保留时间都重现。
- 锁定的保留时间可用于对质谱鉴定的化合物进行确认
- 第五代电子气路控制 (EPC) 的精度为 0.001 psi



保留时间锁定 (RTL) 功能稳定、通用、灵活。在校正保留时间方法时，每个色谱图的保留时间都可以手动编辑。

报告和定制功能

- 通用和定制的报告格式：Enhanced、EnviroQuant (USEPA)、DrugQuant 和汽油中的芳烃(ASTM)等格式
- 用户报告具有多达 240 种图形和相应的数据库，用于总结浏览和绘图
- 以 XLS、HTML 或 XML 格式输出报告
- 具有索引和电子签名的 PDF 报告
- 宏程序自动实现重复步骤(如：鼠标操作，菜单选择和键入)的操作和用户指定操作
- MSD 安全化学工作站增强数据的安全性、完整性和可追溯性，符合 FDA 21 CFR Part 11 的要求

SemiQuant——快速而简便地估算未校准化合物的浓度

安捷伦的 SemiQuant 功能与保留时间锁定 (RTL) 数据库配合使用，增加您对化合物鉴定的信心且加速定量分析过程。

当出现未知峰时，谱库检索只显示与样品质谱图可能的匹配。使用适当的 RTL 数据库，除了质谱图数据之外，您可以通过化合物的保留时间与锁定保留时间的匹配来增加鉴定的可信度。如果您希望对化合物进行定量，SemiQuant 可以帮助您估算浓度，根据计算结果您再将此化合物适当浓度的标准样品进样分析，进行准确定量。(7)

Quantitation Report (Not Reviewed)

Data Path : C:\msdchem\1\data\
Data File : evaldemo.d
Acq On : 7 Sep 1999 12:59
Operator : D. Peterson
Sample : demscan sample
MISC : 10 ng per component
ALS Uial : 1 Sample Multiplier: 1

Quant Time: Mar 10 15:39:59 2006
Quant Method : C:\msdchem\1\METHODS\EVALDEMO-SQ-UM.M
Quant Title : Semi quant tests
QLast Update : Thu Mar 09 12:51:45 2006
Response via : Initial Calibration

Internal Standards	R.T. (Min)	Response	Conc. Units	Dev (Min)
1) Dodecane	5.288	57 9737444	1000.00 ng	8.00

Target Compounds	R.T. (Min)	Response	Conc. Units	Quality
2) Biphenyl	6.481	154 27588844	1000.00 ng	99
3) 4-Chlorobiphenyl	7.741	188 18794921	1000.00 ng	99

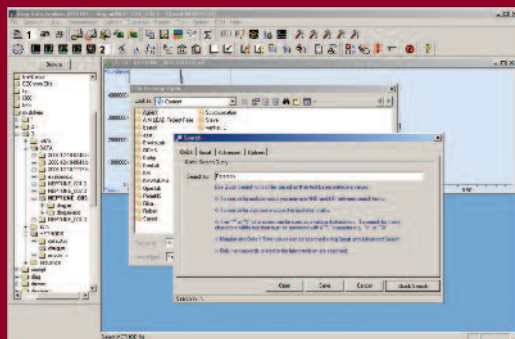
Semi-Quant Compounds - Not Calibrated on this Instrument	R.T. (Min)	Response	Conc. Units
4) Uncalibrated Compound #1	9.776	74 13182292	697 ng

半定量的化合物在定量报告的底部标出来

电子方法(eMethods)——复制、共享和传递方法

现在采用安捷伦的电子方法，使重新创建和复制一个新的 GC/MS 方法成为一个快速和全自动化的过程。无论是在实验室不同的仪器上，还是在世界各地的仪器上，您可以在最短的时间内在线调用一个新的 GC/MS 方法，通过这种方法标准化形式，可以提高实验室的工作效率。

与安捷伦的 OpenLAB ECM 集成,使数据处理和管理方便快捷



安捷伦的 OpenLAB ECM 软件是基于互联网的应用软件，它为您的单位所生成的全部电子数据提供安全的集中管理。(8) 全面的检索和合作工具允许用户有效地查找、使用和重新使用所需要的信息，以便作出明智的业务决策。安捷伦的 OpenLAB ECM 通过采集各种分析数据并将其转换为准确而可利用的信息，使您的实验室运转效率更高。

(7) 5989-4997EN: SemiQuant: 新的 GC/MS 软件估算化合物浓度的方法

(8) 5989-6104EN: GC/MSD 化学工作站和安捷伦 OpenLAB ECM 的集成

快速解卷积、对复杂基质中的化合物定性和定量分析

安捷伦简单而易于使用的解卷积报告软件(DRS) 是一个可选的软件, 它可以节省数小时的数据分析和处理时间。基于行业标准的 AMDIS —— 我们的第二代解卷积软件可快速检测到其它数据分析软件包未检测到的化合物。事实上, 它可以将几小时繁重的数据处理工作通过计算机的自动分析而缩短到几分钟。

突破性的解决方案完全集成了三个不同的软件包:

- 安捷伦的 GC/MSD 化学工作站
- NIST 谱库和 NIST 质谱检索程序
- NIST 自动质谱图解卷积和鉴定软件(AMDIS)

DRS 软件自动完成下列操作:

- 通过 GC/MSD 化学工作站的 QEdit 实现对 MSD 目标离子定量或 AMDIS 解卷积的离子定量
- 谱图解卷积, 获得干净的全扫描谱图
- 对于干净的谱图进行谱库检索
- 将 MSD 和 AMDIS 解卷积结果以图形和文本方式显示出来供快速浏览

用户 RTL 数据库的更多选择

用安捷伦的 RTL 数据库 (质谱图和保留时间) 的其中一个数据库确保实现快速准确的定性定量分析。这些数据库包括多环芳烃 (PAH)、多氯联苯 (PCB)、香料、脂肪酸甲酯 (FAME)、挥发性有机物 (VOC)、半挥发性有机物 (Semi-VOC)、农药和内分泌干扰物、有毒化学品、有机锡和室内空气有毒物等数据库, 还增加了以下三个数据库:

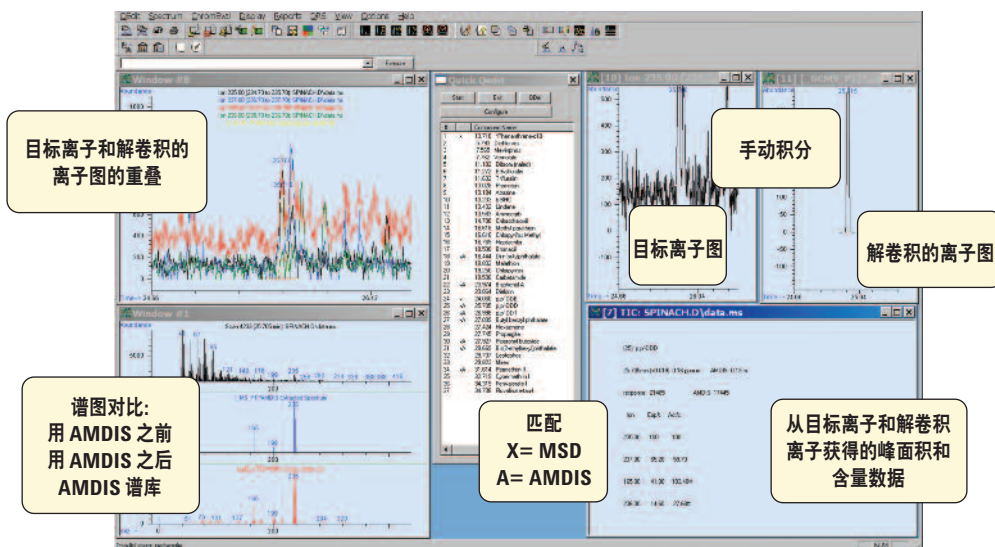
- 日本肯定列表农药库
- 法医毒物库
- 代谢组学库

	加州食品和农业部 (CDFA)	解卷积报告软件 (DRS)
匹配的农药数目	37	相同的 37 个化合物及另外 99 种化合物
不匹配的农药数目	1	0
处理所需时间	8 小时	32 min

处理 17 个地表水样品的时间比较

加州食品和农业部 (CDFA): 一个资深的分析人员需要约 8 小时去分析 17 个样品结果并排除假阳性

安捷伦的 DRS: 全自动过程只需 30 min, 而且还检测到另外 99 种化合物。(9)



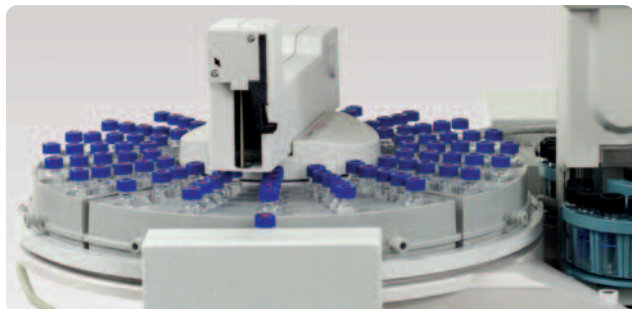
GC/MSD 化学工作站的 QEdit 全面集成了来自 AMDIS 的解卷积数据, 包含 EIC 和质谱图

(9) 5989-5076EN: GC/MSD 用解卷积报告软件全面筛选农药

配套附件和选件使 5975C 更通用、更高效

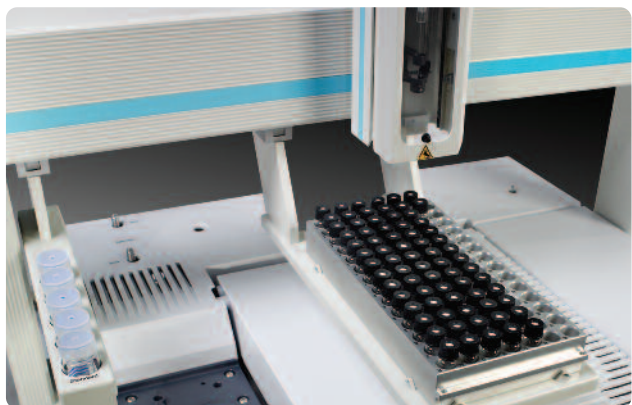
自动液体进样器是 5975C 系列 GC/MSD 提高工作效率的有力工具

Agilent 7683 系列自动液体进样器是所有 GC 自动进样器中进样速度最快、溶剂容量更大的自动进样器，能提供多种进样方式，双进样口同时进样功能，经过认证的自动进样器样品瓶，此外，7683 自动进样器随时可以开始工作。



自动化样品前处理提高实验室的产出

选择全能的 CombiPAL 可进行液体进样、顶空进样和固相微萃取 (SPME)。经济实用的 GC PAL 平台虽然只可进行液体进样，但可以提供 CombiPAL 的许多其它功能，包括大体积进样(LVI)、多种样品瓶和注射器尺寸和扩展的样品瓶容量。

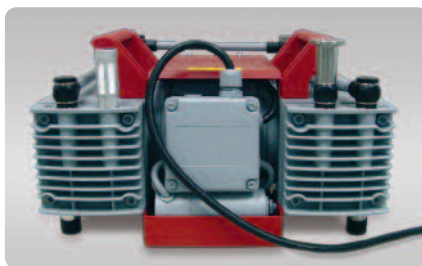


Agilent G1888A 顶空进样器增加更多的分析功能

将任何基质当中的挥发性化合物直接自动引入 GC 或 GC/MS。从样品瓶到色谱柱直至离子源，全惰性的样品通道表现出优异的化学性能，分析物不会由于产生降解而受到损失。

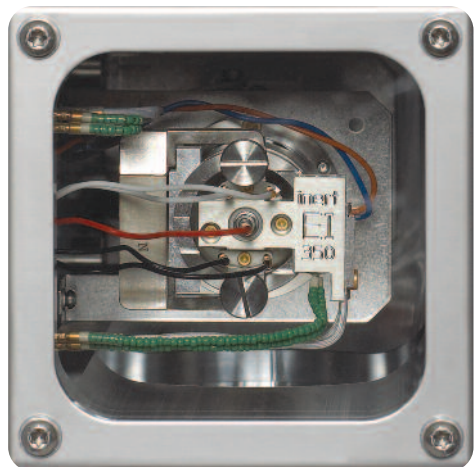
无油泵——干净，几乎不需维护

安捷伦是第一个提供这种独特泵的质谱仪厂家。它几乎不需要日常维护，不用泵油，所以没有油污染或泄漏的风险。



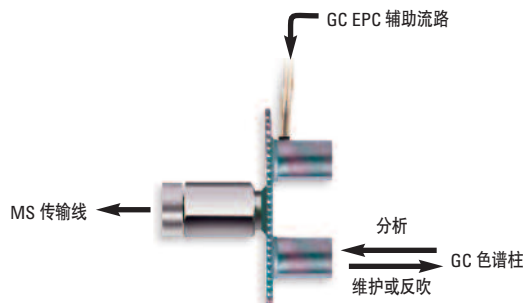
易于支持和维护

安捷伦 GC/MSD 系统在设计上始终将维修和维护更容易进行作为重要的考虑——新的 Agilent 5975C 系列 GC/MSD 继承了这一设计理念，并使之提高到一个全新的水平。

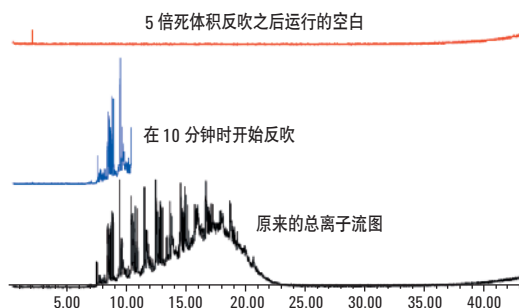


- **模块化分析器组件** 让您可完全接触到灯丝、离子源和电子倍增器，以便快速进行日常维护——事实上，整个分析器组件可以在 2 分钟内取下，而不用任何工具！这样一个模块本身已经包含电子线路，避免使用电缆和线槽与外部连接，最大限度地减少故障发生
- **玻璃前窗** 可以直接观察离子源，以及看到整个关键线路的连接——所以，您可以看到色谱柱是否安装正确
- **可靠性高的真空系统** 保证更长期的性能：可选无油前级泵几乎不需要维护并减少噪声，可以使用腐蚀性气体，如氨气
- **TAD 采用新的三通道电子倍增器 (EM)**，使 EM 的寿命翻番。在 SIM 操作过程中，对于浓度高的峰，电子倍增器的节省功能进一步延长了 EM 的寿命。
- **离子规选件** 有助于尽可能快地发现泄漏位置并进行故障排除

QuickSwap 微板流路控制装置节省每次更换色谱柱和进行系统维护的时间和费用



您是否在更换色谱柱或执行日常进样口维护之前，要等待质谱仪完全放空？使用“QuickSwap”微板流路控制装置，您可以在约 30 秒钟内安全地断开色谱柱而不用放空，也不会降低真空度！



QuickSwap 装置还可以用于色谱柱反吹，以减少高沸点样品组分对 MSD 的污染、缩短分析时间，并减少清洗离子源的次数。
(注意：反吹操作需要考虑分子涡轮泵的抽速) (10)

(10) 5989-6018EN: Improving Productivity and Extending Column Life with Backflush

用于 Agilent 5975C 系列 GC/MSD 的高性能安捷伦 J&W 色谱柱和备件

为帮助您更好更快地获得结果，安捷伦不断改进用于安捷伦 GC/MSD 系统的色谱柱和备件的清洁度、方便性和可靠性。无论是经过严格的质量控制和 QC 测试，保证高重复性、柱效和惰性的、市场领先的 J&W 色谱柱，还是 GC 流路备件，都经过精心设计、制造和包装，保证被测试样品的完整性。安捷伦的色谱柱和备件将提高实验室仪器的分析性能、重现性和可靠性。



高性能

选择安捷伦 J&W 色谱柱和备件得到无泄漏、惰性气路，保证最低的柱流失和最好的安捷伦 GC/MSD 系统的信噪比性能。

从品种齐全的安捷伦低流失 J&W 色谱柱中选择惰性的 HP-5MSi 色谱柱作为新的 5975C 系统的标准配置柱。通过特别的测试保证了强酸强碱化合物的最大峰面积响应，这一色谱柱还与安捷伦的 MS 农药数据库兼容。

为保持质谱系统最佳性能需要拧紧进样口密封件。安捷伦经过预清洁的衬管和老化过的 O 形圈与我们新的专利技术设计的镀金分流平板相结合，可以防止引起色谱柱流失和信号变差的微小泄漏。

高效率

安捷伦的备件有助于日常维护常规化。我们的毛细管色谱柱密封圈、O 形圈和隔垫都是清洁包装，一次取一个，即开即用，以实现进样口快速维护。

内径为 0.18 mm 的安捷伦新的 J&W 高效毛细管气相柱可以提供比传统 GC/MS 快 50% 以上的分析速度，而不会损失分离度。提高的样品分析通量减少了载气消耗量，故降低了每次分析的成本。

高可靠性

安捷伦的 J&W 色谱柱和备件保证 Agilent 5975C 系统实现所承诺的性能。事实上，我们的 GC 和 GC/MS 仪器技术指标就是使用行业领先的安捷伦 J&W 色谱柱和安捷伦品牌色谱备件测定的。

通过使用安捷伦认证的自动进样器样品瓶、隔垫和瓶盖、以及金标注射器，消除了由于意外序列中断而造成的样品损失或工作效率降低。每个产品都附有性能测试证书，保证满足您需要的所有指标。

安捷伦 J&W GC 色谱柱和我们的色谱备件系列产品均可通过安捷伦及其授权的代理商而购得。

安捷伦的服务使您专注于您的核心工作

安捷伦的服务在行业内交口皆碑。无论您需要对单台仪器的支持还是对多个实验室的解决方案，我们均可快速解决您的问题，延长仪器的正常运行时间并优化您的实验室资源。我们提供完整的 GC/MS 产品系列服务：

- 现场预防性维护以确保仪器可靠地运行，并最大限度地减少意外停机时间
- 安捷伦以及非安捷伦仪器的故障排除、维护和维修
- 远程诊断和监测服务使仪器正常运行时间和实验室工作效率最大化
- 行业领先的法规遵循服务和教育
- 专家咨询和培训

安捷伦的超值承诺 —— 10 年保值

除了继续改进我们的产品外，我们还提供业内独有的服务 —— 我们的 10 年保值承诺。安捷伦的超值承诺保证您的仪器自购买之日起至少使用 10 年，或者当仪器升级到新型号时我们将认可您原有仪器的剩余价值。安捷伦不仅保证您现在购买仪器的安全性，我们还确保您仪器的长期价值。

安捷伦的服务保证



如果您的仪器在安捷伦的服务合同期内需要服务时，我们保证维修，或者免费为您更换仪器。没有其它制造商或服务提供商可以做出这样的承诺，我们承诺使您的实验室运行在最佳性能状态。

如需了解详细信息

了解更多：

www.agilent.com/chem/5975C

安捷伦科技公司生命科学与化学分析部用户服务中心免费专线：

800-820-3278

400-820-3278 (手机用户)

在线询价：

www.agilent.com/chem/qoute:cn

查找在您的国家的安捷伦用户中心：

www.agilent.com/chem/contactus

亚太地区

adinquiry_aplsca@agilent.com

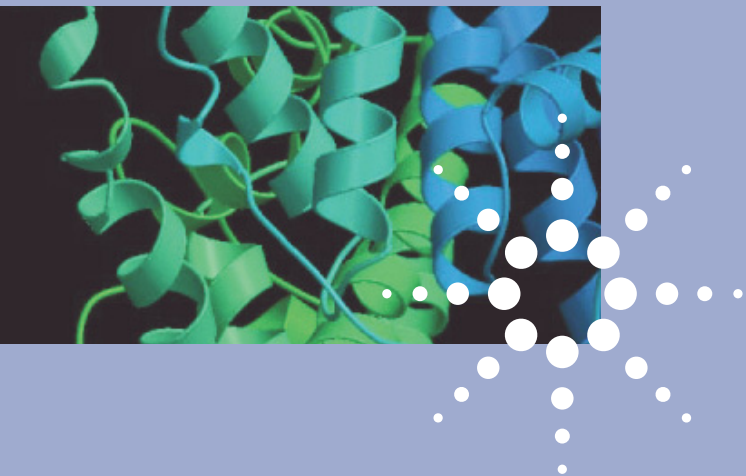
仅用于研究。本出版物的信息、技术指标和说明若有变更，恕不另行通知。

安捷伦科技对于本材料可能的错误或使用本材料所造成的事故或相关损害不负任何责任。

© 安捷伦科技 2008

2008 年 3 月 18 日，中国印刷

5989-7827CHCN



1.1 数据采集硬件平台 发现代谢组学研究中的有力 武器：

CE/MS 系统：Agilent 7100 毛细管电泳系统

CE/MS 将出色的分离与快速分析相结合

毛细管电泳 (CE) 是液相色谱的可替换方法。它表现出一定的灵敏度和出色的分离效率。毛细管电泳与质谱联用 (CE/MS) 与 GC/MS 和 LC/MS 相比不常用于代谢组学研究，但可能很有应用价值，尤其是用于亲水性代谢物的分析。CE/MS 将毛细管电泳的分析时间缩短和分离效率卓越的特性与质谱的分子量和结构信息结合到了一起。

行业领先的安捷伦 CE 系统可与多种质谱仪联接。例如，CE 和 Agilent 6200 系列飞行时间质谱或 6500 系列四极杆-飞行时间质谱联用，将突出的分离效率和出色的质量准确性及质量分辨率相结合，创造出卓越的代谢物谱图采集方案。安捷伦离子源使用的接地雾化器使得 CE 的电路设置与 MS 离子源的电路设置互相独立，排除了在其它 CE/MS 系统中发现的主要缺陷。

为您最具挑战性的分离提供更高的灵敏度

毛细管电泳 (CE) 为带电物质, 比如生物分子、小分子碱性或酸性药物和离子提供快速分离、出色的效率和分离度, 而这些分离使用 HPLC 常常难以实现。CE 还适合于样品量很有限的分离应用, 所需要的缓冲液要比液相色谱或离子色谱少得多。使用单机模式、作为 CE/MS 的分离组件、或者作为液相色谱的辅助和正交技术, 新的 Agilent 7100 CE 系统对于广泛的分析挑战带来了无可匹敌的、与 HPLC 相当的灵敏度。

该系统具有业内最佳的分析性能, 是业内可配置检测器类型最多的毛细管电泳系统, 而且与安捷伦 6000 系列质谱仪完全兼容。享有盛誉的安捷伦可靠性、熟悉的化学工作站软件和同一供货商解决方案, 所有这些都使得 Agilent 7100 物超所值, 成为您实验室下一台 (或第一台) CE 或 CE/MS 系统的首选。

体积更小、噪音更低、更省电的 Agilent 7100 毛细管电泳系统具有无可匹敌的灵敏度和操作性能, 而且与安捷伦上一代毛细管电泳系统 100% 的兼容



世界上最耐用，最易拥有的 CE

7100 CE 系统集中了工作效率高、可靠性强和易于使用的特点，采用耐用的内部压力系统和改进的毛细管冷却功能，可使用更大内径的毛细管。此外，改进的缓冲液更新系统允许更长时间的无人看管操作，新的样品瓶传感器防止了运行前或运行中装载样品瓶时可能发生的冲突。

系统的模块式结构允许快速而简便地接触电极和预穿孔器、电子线路板和管线，以便进行日常维护和服务。更快替换、自定位的毛细管卡套 – 与所有市售毛细管兼容 – 可在几分钟内完成安装。安捷伦的实验室监控与诊断软件使得正常运行时间最大化，在故障发生之前就可确定。

行业领先的分析能力

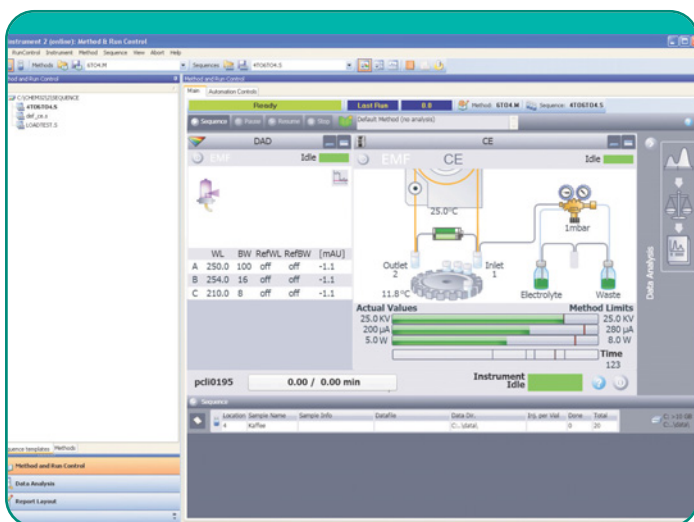
新的内置二极管阵列检测器显著提高了灵敏度。 1×10^4 的线性动态范围与 < 20 AU 的基线噪声相结合可检测到相当于主峰含量的 0.05% 的杂质。如果采用安捷伦的鼓泡池毛细管，灵敏度比竞争厂商的仪器还要高 10–15 倍！因为采用了 7100 系列的 40 Hz 数据采集速率，分离度也大为提高。氙灯寿命也显著提高。



7100 CE 允许快速方便地接触电极、预穿孔器、电子线路板和管线

安捷伦的化学工作站软件极大缩短安装和培训时间

由于系统采用了我们在 GC 和 LC 系统中使用的相同的行业标准控制和采集软件，新操作人员会感到得心应手。法规依从性工具是软件包的一部分。此外，Agilent 7100 CE 系统允许用第三方软件分析原始数据，或者用 LIMS 归档处理。



毛细管电泳的化学工作站软件易于使用的图形用户界面展现所有功能，方法设置功能明显改善

CE 的分离效能 HPLC 的灵敏度

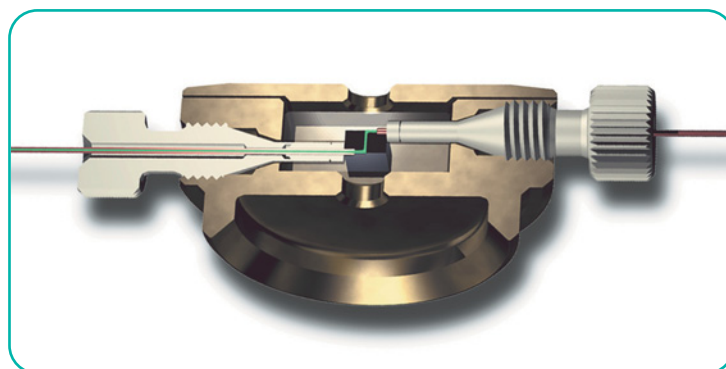
毛细管电泳由于高效和高分离度、快速分析、样品和溶剂用量少的特点，已经成为许多实验室分析带电或可电离化合物，以及极性化合物的成熟技术。Agilent 7100 CE 系统可以实现各种 CE 分离模式，包括毛细管电色谱和 CE-MS。其灵活性大大扩展其在各个行业的应用，从药物发现与研发到质量控制和离子分析。



- | | |
|---------|--------------------------|
| • 药物 | 杂质检测、手性化合物和药物配方、离子和反离子分析 |
| • 生物制药 | 蛋白质、多肽、寡核苷酸、糖、聚糖、代谢产物 |
| • 化工 | 电镀池、质量保证测试 |
| • 食品和饮料 | 有机酸分析 |
| • 法医分析 | 氨基酸和有机酸测定，滥用药物筛查 |
| • 环境分析 | 无机离子、农药、痕量有机物分析 |

安捷伦为您的毛细管电泳应用助一臂之力！

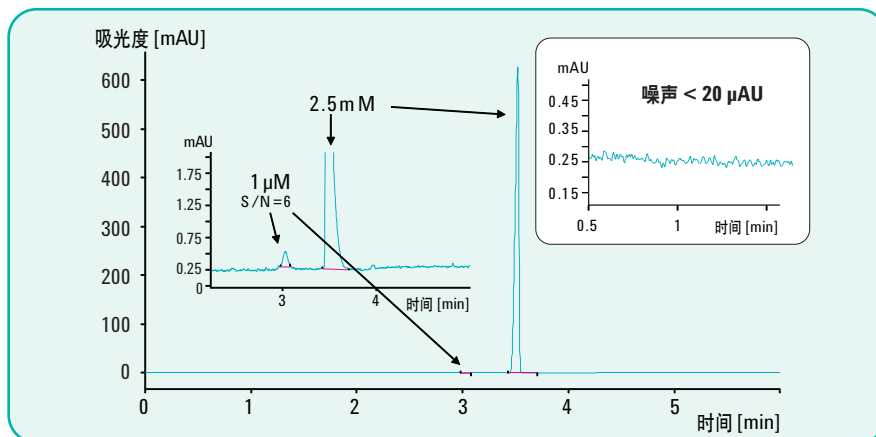
作为我们的“一站式”CE 解决方案的一部分，安捷伦提供各种仪器备件、毛细管和试剂—包括我们的鼓泡池毛细管和专利技术高灵敏度检测池，以延长线性动态范围并提高灵敏度。



安捷伦的高灵敏度检测池可提高 10 倍的检测灵敏度，扩展了仪器的线性检测范围，且使毛细管的更换更容易。

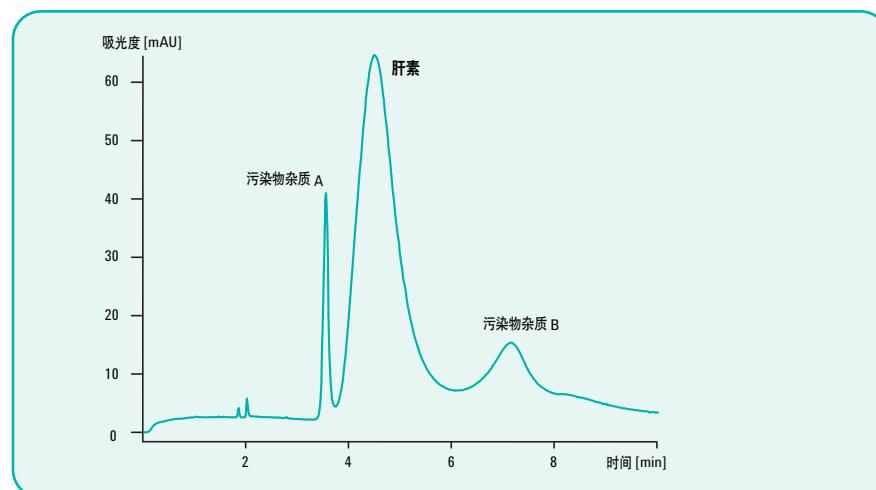
药物化合物中的痕量杂质分析

具有世界一流灵敏度的 7100 CE 系统允许检测相当于主峰含量 0.05% 的杂质 – 这在严格的药物 QA/QC 分析具有显著优势。



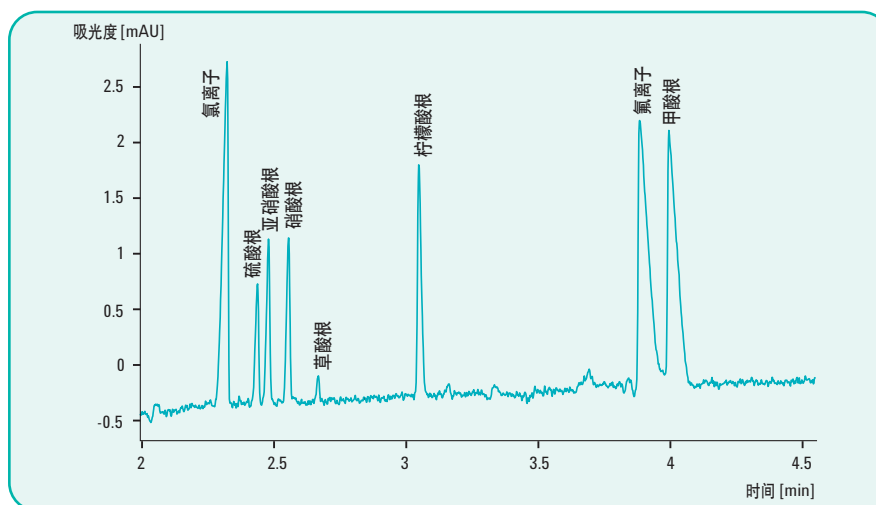
肝素的快速、高分离度 CE 分析

安捷伦的扩展光程毛细管在这一快速、耐用的药物质量保证方法中为检测肝素相关的杂质提供了显著的灵敏度优势。



CE 是离子色谱强有力的替代工具

无论是检测核电站冷却系统的金属腐蚀，还是检测饮用水中的离子污染物，CE 都是一个更快速、更简便和更环保的解决方案。我们还可提供间接 UV 检测或电化学检测选项（见第 6 页的合作伙伴解决方案）。



经验丰富的 CE 和 CE/MS 合作伙伴

过去 15 年以来，安捷伦一直与不同应用领域的实验室密切合作，以开发更快、更好的 CE 和 CE/MS 解决方案。无论您分析什么，也无论您的应用是什么，安捷伦雄厚的技术实力，加上我们丰富的方法开发经验和溶液试剂盒，都可以改善分析结果，提高您实验室的工作效率。

同一供货商完全集成的 CE/MS 解决方案

CE/MS 将 CE 快速分析和高效分离与 MS 可提供分子量和结构信息的优势结合在一起。与其他厂家不同，安捷伦提供完全集成的解决方案 – 所有系统部件来自同一供货商，耐用的 ESI-CE-MS 接口可用于连接所有的安捷伦 6000 系列 MS 系统。当然，还有来自同一资源的安捷伦毛细管电泳专家为您提供的支持和服务。



Agilent 7100 CE 系统可与所有安捷伦 6000 系列质谱仪无缝连接 – 质谱包括单四极、TOF、Q-TOF、离子阱、ICP-MS 和三重串联四极杆系统。安捷伦的“即插即用”样品引入系统无需费时的微调谐，MS 入口的独特设计使得 CE 分离条件独立于 MS 的操作条件。



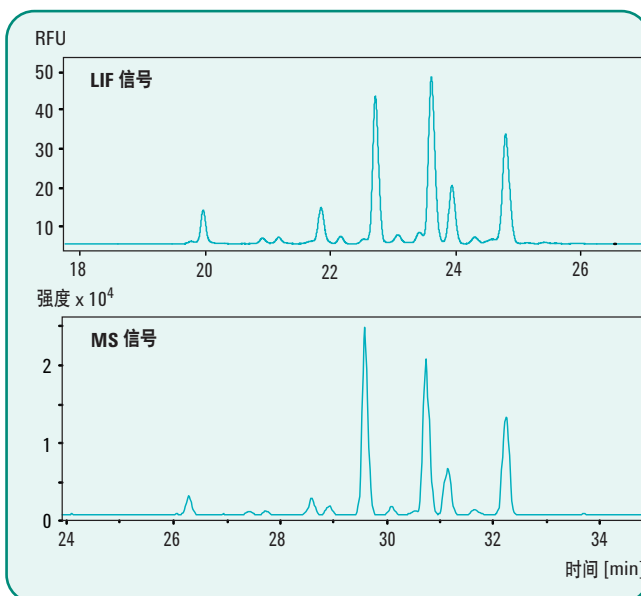
ESI 喷雾系统

安捷伦的 ESI 喷雾系统非常容易使用。它不需要位置调整，操作非常简单和稳定。它还能够使用常规的电泳缓冲液或添加剂，比如磷酸盐或环糊精。



蛋白质和聚糖分析

了解抗体上糖的结构是评价其治疗潜力的关键。CE/MS 是高灵敏度、高分离度、重现性好、快速分析复杂蛋白质组成及其结合的聚糖的理想工具。采用 CE-LIF-TOF 解决方案（见下面的合作伙伴解决方案）能够发现从抗体样品酶切下来的聚糖种类。



合作伙伴解决方案

安捷伦可以提供您的 CE 应用所需的合适的检测器。7100 CE 系统具有集成的 A/D 转换器的接口，可以快速容易地与外部检测器连接。所以，除了安捷伦自己的内置二极管阵列检测器或质谱仪，您还可以从安捷伦的合作伙伴那里得到激光诱导荧光或电导检测器：

Picometrics
激光诱导荧光 (LIF) 检测：
www.picometrics.com

Istech
电化学检测
www.istech.at/capillary_electrophoresis.htm

I.S.T.
Innovative Sensor
Technologies GmbH

picometrics

如果您的实验室将来要有一台 CE 或 CE/MS 系统，奉上一些所需读物

安捷伦新的 CE Discovery 工具包包含丰富的 CE 基本读物，加上有价值的应⽤信息和最新的安捷伦 CE 和 CE/MS 产品文献 – 这些都是您选择下一台（或第一台）CE 系统时作出正确决定所需要阅读的。要得到您的免费副本，请与当地的安捷伦分公司联系或访问 www.agilent.com/chem/ce:cn。



安捷伦的服务为您的实验室保持最高效率提供保障

安捷伦的服务获得 98% 的用户满意度，我们的服务工程师是行业最受尊重的和最训练有素的。无论您需要单机支持或多个实验室、多个供货商仪器的支持，我们都可以帮助您快速解决问题，延长您的正常工作时间，优化您的实验室资源。

通过选择适合于您实验室需求和预算的服务计划，我们可以提供：

- 现场预防性维护，保证可靠的系统操作，最大程度地减少意外停机时间
- 远程诊断和监控功能给您增加了额外的“正常运行时间保障”
- 对安捷伦和非安捷伦的仪器实行快速、专业的故障排除和维修
- 专业安装，现场培训和高级培训可使您尽快开始正常运行，保证您从新的安捷伦仪器获得最大的回报

如需了解更多信息：

www.agilent.com/chem/ce:cn

在线购买：

www.agilent.com/chem/store

在线询价：

www.agilent.com/chem/quote:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278
400-820-3278（手机用户）

联系我们：

customer-cn@agilent.com

安捷伦科技大学：

<http://www.lasca-china.com.cn/university>

© 安捷伦科技公司版权所有，2009
2009年5月4日中国印刷
出版号 5990-3963CHCN



1.1 数据采集硬件平台 靶向代谢组学研究中的制胜 法宝：

LC/MS 系统：Agilent 6400 系列三
重串联四极杆液质联用仪

Agilent 6400 系列三重串联四极杆液质联用仪

无与伦比的灵敏度提高分析结果质量

不管是选择可靠耐用的 6410 型或者高性能的 6460 型三重串联四极杆质谱仪，您都可以获得高灵敏度和高分析效率的结果。

已被业界广泛认可的 6410 三重串联四极杆质谱仪具有飞克级的灵敏度，出色的可靠性以及易操作性，同时具有出色的价格吸引力。

带有安捷伦喷射流离子聚焦技术的 6460 串联四极杆液质联用仪，将灵敏度提高了至少 6 倍，对于很多化合物来讲，6460 串联四极杆突破了检测限的极限。对于当今热点的应用，6460 串联四极杆质谱仪为医药分析，环境样品中痕量化合物分析以及食品污染物、代谢物和生物标记物的检测提供了最高的灵敏度。

全新的 6460 串联四极杆质谱仪比前一代串联质谱仪的灵敏度提高了至少 6 倍以上，是业界同类质谱中性能最高的串联质谱仪。可靠耐用的 6410 和 6430 串联四极杆质谱仪具有飞克级的常规检测灵敏度。两个型号的系统都与安捷伦的快速高分离度液相色谱 (RRLC) 完全兼容。

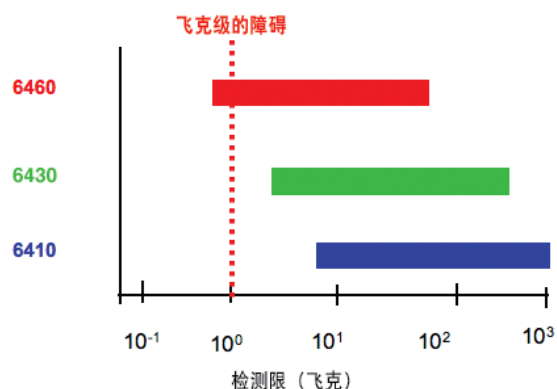


降低检测限和定量限

有很多种方法来测量灵敏度，但是对于实验室的应用，只有一种可以信任，那就是你将要分析的样品。这就是为什么每台安捷伦的四极杆质谱仪都可以满足最严格的安装要求——来确保每天每个样品的分析都可以获得所期望的灵敏度。

- **飞克级灵敏度 (femtogram) – 适合各种应用。**最高的离子化效率和离子传输效率保证了最低的检测限和定量限
- **快速、多组分化合物同时定量分析。**利用 150 MRM/秒的多反应检测采集速度 (MRM) 可使您一次进样分析几百个化合物
- **最高的分析灵敏度。**利用安捷伦喷射流离子聚焦技术，不管是常规液相色谱或者液相色谱 - 芯片，6460 三重串联四极杆质谱仪可以提供业界同等质谱中最高的分析灵敏度

- **优化的定量分析方法。**安捷伦的 MassHunter 的方法自动优化软件可以自动进行质谱参数的优化以获得最高灵敏度。创新的动态多反应监测 (MRM) 软件可基于化合物的保留时间自动创建和更新离子碰撞参数。使得分析方法的建立更加简单并确保获得一致的离子统计数据，同时帮助您获得最好的定量结果
- **6410 三重串联四极杆质谱仪的性能升级。**为了使您应对更加严格的分析挑战，6430 三重串联四极杆质谱可以使分析灵敏度提高两倍以上



提高检测灵敏度。对于多数的分析，6410 三重串联四极杆质谱可以提供出色的性能。全新的 6460 串联四极杆质谱把分析灵敏度提高了一个新的水平。图中显示了极性和弱极性化合物的离子效率和解离效率提高而导致的灵敏度提高的范围

大大提高实验室的分析效率

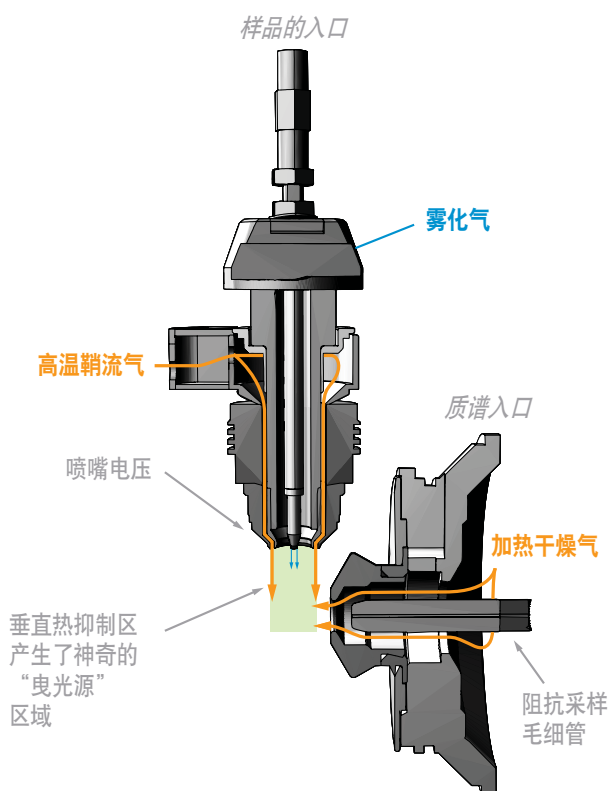
Agilent 6460 串联四极杆质谱具有您所期望的采集速度 and 数据分析速度，将 Agilent 1200 系列液相色谱的优势发挥到极致。已经被证明的出色的分析精确度、分析性能和可靠性，Agilent 1200 系列液相色谱与 6460 串联四极杆质谱完全兼容，助您获得出色的分析结果。

- 耐用、可靠的硬件平台和先进的自动化功能可以使您实现 7 天 24 小时的分析要求
- 全新设计的专利 Porshell 分离色谱柱，无需高压就可以实现亚二微米色谱柱的快速高分离度性能，即使复杂的气浆样品也可实现 7 天 24 小时的分析
- 六秒钟的进样间隔，使得您在 10 分钟内完成 96 孔板的样品的分析，真正实现了高通量的样品分析



不断创新的四极杆技术

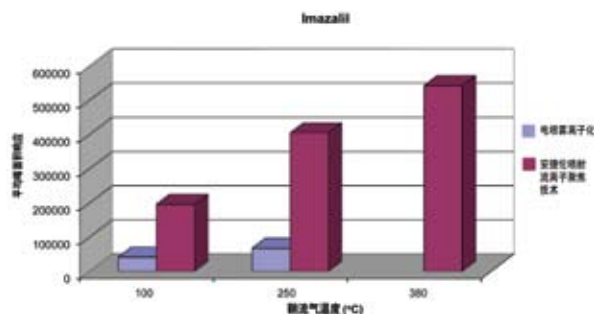
仅仅两年的时间，6400 系列串联四极杆质谱就为分析化学家和研究学者提供了许多分析性能的增强 — 分析灵敏度的提高，快速极性切换，更快的多反应监测采集速度，以及全自动的分析方法优化软件。安捷伦将一如既往地提升四极杆质谱的性能以保证您应对越来越严格的分析挑战。



安捷伦喷射流离子聚焦技术是安捷伦技术创新的典型例子。配置喷射流离子聚焦技术的 6460 串联四极杆质谱仪大大提高了雾化和去溶剂化效率，同时减少了离子的发散，因此大大提高了进入到质谱的离子数量同时降低了背景噪音。结果显著提高了信号响应，提高了在检测限水平的精密度

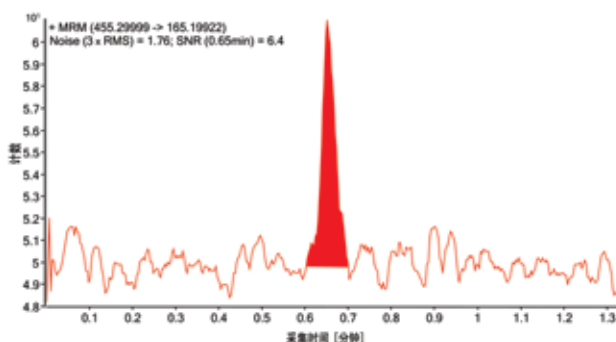
6460 串联四极杆质谱集成了安捷伦喷射流离子聚焦技术，改进的离子传输透镜和真空系统，使得其分析灵敏度达到了亚飞克水平，这些技术创新包括：

- 安捷伦喷射流离子聚焦技术大大提高分析灵敏度
- 宽质量范围四极杆和高精度射频控制提高了全质量范围的离子分析性能
- 阻抗镀白金毛细管提高了离子传输效率和极性切换速度而不损失离子
- 高效真空系统 — 配置两大抽速分子涡轮泵大大提高了离子平均自由程，将离子传输效率最大化，从而提高灵敏度
- 安捷伦先进的六极杆碰撞反应池技术 — 消除背景噪音和“记忆效应”，从而保证了痕量样品的准确定量分析结果



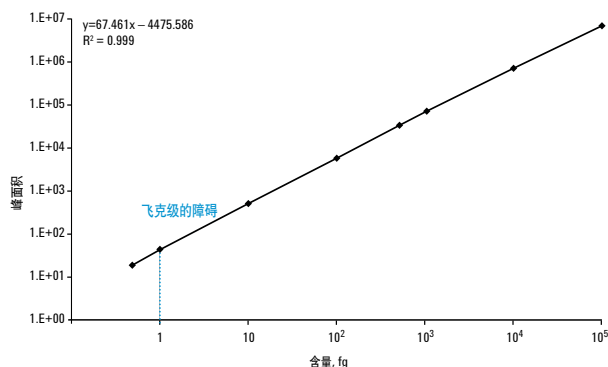
在安捷伦喷射流离子聚焦的 6460 串联四极杆质谱仪和常规电喷雾串联质谱上分析 11 个农药残留的结果比较。对于抑霉唑，在鞘流气温度是 380 度时，其信号提高了 8 倍。对 11 个农药残留化合物，平均灵敏度提高了 5.8 倍。喷射流的温度可以根据要求进行优化

出色的分析灵敏度



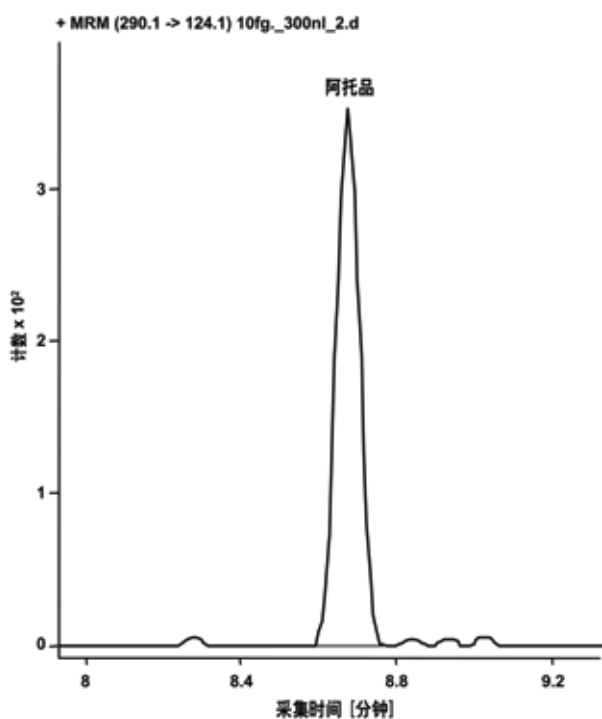
无与伦比的分析灵敏度

安捷伦喷射流离子聚焦 6460 串联四极杆质谱仪突破了飞克级检测限的极限。图中是柱上进样量为 500 纳克戊茂胺的分析灵敏度结果。Q1 和 Q3 都设定为单位质量数分辨率。



定量线性范围可达到 5 个数量级

安捷伦喷射流离子聚焦 6460 串联四极杆质谱仪具有出色的线性范围，具有从 500 ng 到 100 皮克 5 个数量级的线性范围



对于 10 飞克的阿托品，液相色谱 - 芯片联用的安捷伦 6460 串联四极杆质谱仪表现出优异的性能。检测限已经突破 1 飞克的极限

液相色谱 - 芯片 / 质谱技术具有最高的检测灵敏度

与创新的液相色谱 - 芯片技术联用。安捷伦 6460 串联质谱仪与其完全兼容。插拔式的色谱柱技术彻底消除了传统纳流液相色谱 / 质谱的不足。从微量样品的多肽到小分子样品定量的分析，液相色谱 - 芯片 / 6460 串联质谱技术提供了可靠而高灵敏度的分析结果。



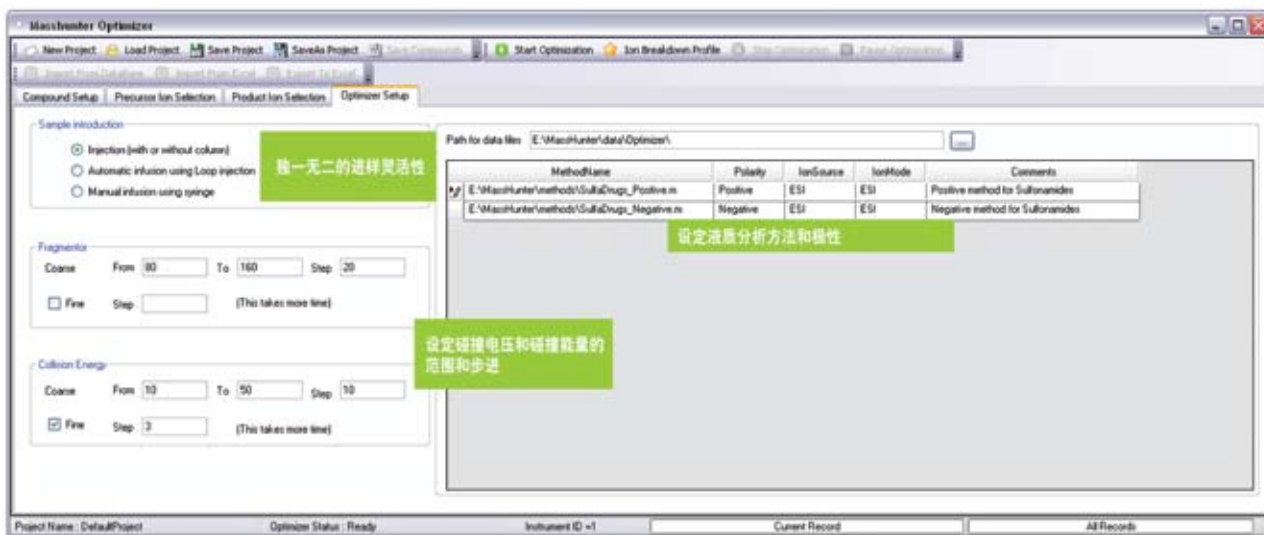
化合物为中心的软件系统大大简化了软件的使用和提高了分析速度

安捷伦 MassHunter 软件具有简单易操作的控制界面，化合物为中心的数据处理，大大缩短了原始数据与最终报告之间的进程。

简化了分析方法建立，提高了灵敏度

安捷伦 MassHunter 分析方法优化软件可以对单质荷比的小分子化合物和多价态的肽进行离子碰撞电压和二级质谱碰撞能量参数的自动优化。独一无二的连续注射进样，有色谱柱及无色谱柱的进样分析功能为方法自动优化提供了最大的成功保障。安捷伦 MassHunter 分析方法优化软件可以用于：

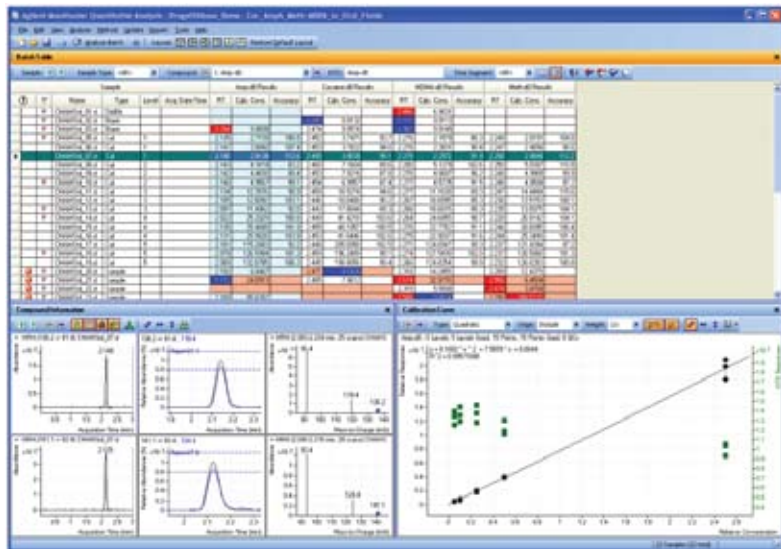
- 药物代谢动力学研究和 ADME 的应用
- 食品，环境和法医分析
- 用于几百个肽的多反应监测 (MRM) 的生物标记物确认分析



安捷伦 MassHunter 分析方法优化软件可以自动对每个化合物进行离子的碰撞反应电压和二级质谱碰撞能量的优化，从而简化分析方法建立和提高分析方法的性能

快速而方便地定量分析

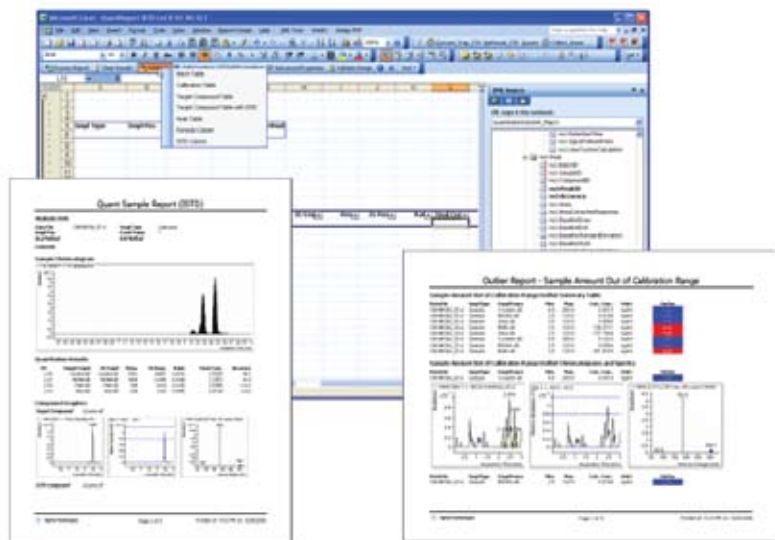
安捷伦 MassHunter 工作站可以进行方便快速地定量数据的处理和报告。定量软件将包括免参数积分功能的积分计算和报告完美地结合在一起，从而大大减少了质谱数据处理时人为干预的繁琐工作。



MassHunter 定量分析软件 - 简单易用。对于多化合物的批处理数据分析，定量软件具有优异的分析效率，包括诸如直观数据结果浏览，定量曲线拟合，定量结果动态链接，离子比例计算在内的有用功能

用户定制报告可以使您显示最大信息的数据结果总结

从质谱分析数据提取关键信息可以帮助您或您的实验室作出重要的科学或商业决定和判断。MassHunter 软件可将数据以 XML 和微软的 Excel 以及客户定制宏指令的格式存储以进行最后的报告。在微软的 Excel 的环境下，可以生成各种应用报告模板或客户定制报告模板。



Microsoft is a U.S. registered trademark of Microsoft Corporation



支持法规实验室的软件和服务

MassHunter 软件具有完整的功能使您满足严格的法规要求，GLP/GMP 和 21 CFR Part 11 利用审核追踪、多用户登录安全保障、用户权限设置，以及电子签名等，软件可以使您的在严格的法规要求条件下轻松运行。安捷伦还提供一整套的安装和运行认证服务，从而大大缩短安装与分析关键样品之间的时间。

更低的检测限和定量限，同时提到实验室的分析效率

安捷伦 6400 系列串联四极杆质谱仪的优异灵敏度和可靠性帮助您的实验室进行复杂样品中的痕量有机化合物或者肽的分析，药物代谢物定量分析，食品中农药残留分析或地下水中的有机污染物检测。

更多信息：

参阅：

www.agilent.com/chem/qqq:cn

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

customer-cn@agilent.com

在线询价：

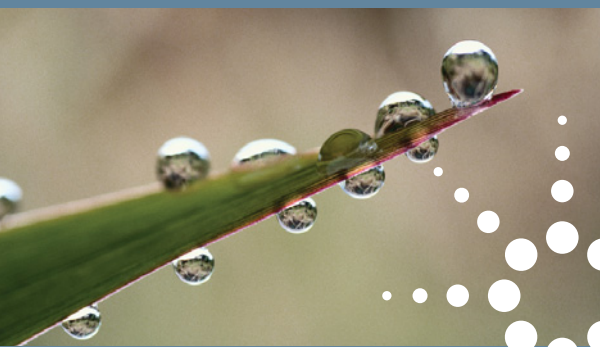
www.agilent.com/chem/quote:cn

安捷伦科技大学：

<http://www.lscs-china.com.cn/university>

仅用于研究。本出版物的信息、技术指标和说明若有变更，恕不另行通知。安捷伦科技对于本材料可能的错误或使用本材料所造成的事故或相关损害不负任何责任。

© 安捷伦科技公司，2009
2009 年 2 月 3 日，中国印刷
5989-8621CHCN



1.1 数据采集硬件平台 靶向代谢组学研究中的制胜 法宝：

GC/MS 系统：Agilent 7000B 三重
串联四极杆气质联用仪

Agilent 7000B 三重串联四极杆气质联用仪

卓越的灵敏度和选择性——以及日复一日的可靠性

安捷伦新推出的7000B三重串联四极杆GC/MS联用仪提供了先进的高速气相色谱/质谱/质谱定量分析，可用于最复杂样品的超痕量分析。先进的工程设计使其使用方便，并具有更高的性能，是世界上第一款专为气相色谱分析设计的MS/MS。

三重串联四极杆分析仪完美地补充了业界领先的Agilent 7890A气相色谱仪的前端分离能力。由于有新的进样操作选件和突破性的微板流控技术，通过强有力的组合就可以快速而高效地处理最具挑战性的分析任务——帮助实验室获得最高灵敏度、最长正常运行时间和最大分析效率。



Agilent 7000B三重串联四极杆气质联用仪具有业界领先的可靠性，对复杂基质样品分析可达fg级灵敏度。

业界领先的灵敏度和选择性

无论您是分析食品和水中的农药残留，还是复杂生物基质中的滥用药物，或者是环境样品中的污染物，您都需要一致的超痕量检测限。分析信号必须最大化；而所有的噪音都尽可能降到最低，因此7000B的每一个组件——离子源、四极杆、碰撞池以及检测器——都进行了优化。

- 飞克级 (10^{-15}) 检测限和定量限
- 超低噪音水平
- 优异的选择性

更快的分析，更高的分析通量

多化合物筛选方法对气相色谱/质谱/质谱联用系统的电子器件、离子传输、离子解离以及固件和软件都有严格的要求。即使是在1毫秒的驻留时间和每秒500 transitions（同时确保碰撞反应池无记忆效应）的采集速度下，7000B都保持了优越的灵敏度和精确度。现在，您将能够对数百种分析物进行筛选和定量，并增加更多的功能以满足新方法的要求。

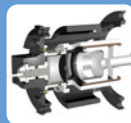
日复一日的可靠运行和简便、耐用的操作

几十年来，在全球成千上万的实验室，安捷伦的MSD解决方案由于其可靠性和无障碍操作而获得了传奇般的声誉。7000B系统先进的设计包含了专为GC/MS应用而设计并已被证实具有高可靠性的安捷伦技术，且所有新的元件都遵循同样严格的工程标准。因此获得了一个独特的组合——最稳定的气相色谱，性能最优异的MS/MS分析以及功能最强大的软件。



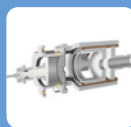
7890A气相色谱新组件

新型7693自动进样器、新型多模式进样口（不分流、程序升温汽化、分流）以及高效反吹功能可以将大量目标化合物传输至MS，同时避免样品当中高沸点基质对整个系统的污染。



新型高灵敏度 EI 离子源

更多的母离子进入到四极杆中可提高信噪比和精度。离子源全惰性材质——没有涂层——和高达350°C的可编程温度程序确保了分析复杂基质时稳定的兼容性。



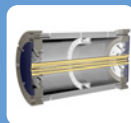
正/负化学离子 (CI) 源

化学电离 (CI) 的高分子离子强度为质谱/质谱分析提供了理想的前体离子。基于5975C质谱仪 (MSD) 稳定的高灵敏度源，正/负化学离子源提供了无故障的化学电离性能。



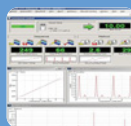
热石英双曲面四极杆

高温对于离子源非常重要，对四极杆分析器也是如此。安捷伦的镀金双曲面石英四极杆是唯一的可被加热到200°C而没有任何分辨率或灵敏度损失的分析器。



独创的六极杆碰撞反应池技术

高效解离、宽谱离子传输、无记忆效应和新型氦气淬灭降噪——所有这些均有利于高性能MS/MS分析。



Agilent MassHunter软件

从简单、省时的自动调谐到“一览全貌”预览，再到可定制的Excel报告，MassHunter软件使您的气相色谱/质谱/质谱联用仪的效率达到最高。

气相色谱/质谱/质谱联用仪的卓越性能源自世界上最佳的气相色谱仪

气相色谱/质谱/质谱仪的选择性进行复杂基质样品分析的强有力的工具，但它的全部价值必须通过气相色谱进样口和色谱柱的精确、稳定操作来实现。由于样品复杂性的增加，前端分离性能变得更加重要，并且气相色谱必须能够提供如下功能：

- 精确进样，不存在由于进样量大小不同而产生的质量歧视效应
- 精确分离，不存在由于样品基质对色谱柱选择性的影响而造成的保留时间的太大变化

Agilent 7890气相色谱满足所有这些要求——并为您最困难的质谱/质谱分析提供始终如一的高效分离。当然，还包括业界领先的安捷伦的可靠性。



Agilent 7693A自动液体进样器为您的气相色谱仪注入更高的效率

除了安捷伦独创的快速注射技术和扩展的150个样品瓶容量，全新的进样器在各方面增强了仪器的各种功能，如三明治式注射使用了多达3层的空气间隙。如果添加第二个注射器和加热器/混合器/条形码读取器，7693A就成为一个多功能的样品制备站，可自动化完成许多操作任务。

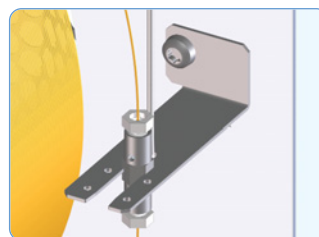
安捷伦的微板流路控制技术使色谱柱反吹变得更为简单

复杂的基质为气相色谱/质谱/质谱分析带来一系列的问题：影响分离效率、缩短色谱柱使用寿命以及降低离子源性能。反吹——当最后的目标化合物洗脱后立即使载气反相流动——可以大大改善您的分析结果并最大限度地提高您的气相色谱/质谱/质谱联用仪的投资回报率。

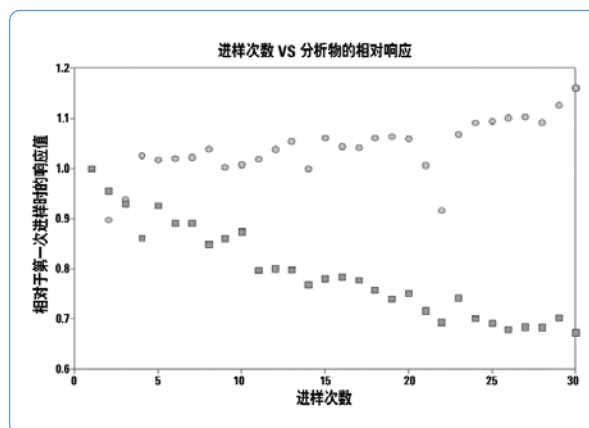
安捷伦新颖的微板流路控制技术降低了柱反吹的复杂程度，使得这项先进技术能够简单、常规地应用于任何气相色谱/质谱联用实验室。¹

安捷伦微板流路控制中反吹的益处

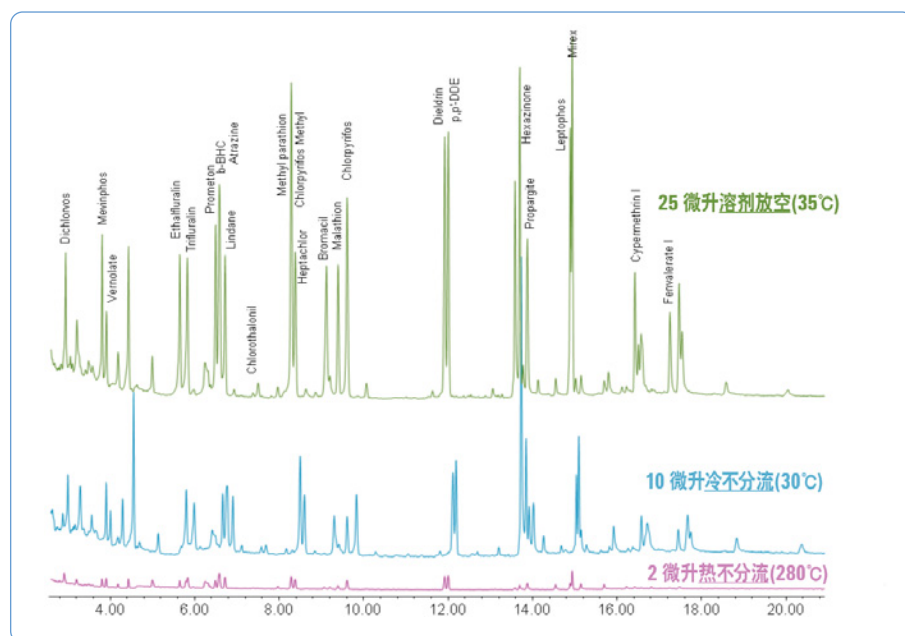
- 消除了长时间的高温烘烤，从而延长了色谱柱的寿命
- 减少了柱流失和高沸点组分进入到质谱仪，从而降低了离子源清洗次数
- 消除了交叉污染及由其造成的色谱柱选择性的改变，从而提高了保留时间精度
- 减少烘烤（在某些配置下，烘烤甚至要在分析完成之前开始），从而提高了样品分析效率



用带吹扫的Ultimate Union反吹。这种新型超高惰性、重量轻、低死体积的设备保证了最佳峰形和对最难分析的化合物的响应。



反吹保持了灵敏度。在全血的脂质过氧化产物分析中，不进行反吹导致了灵敏度的迅速损失。反吹不仅消除了灵敏度降低，而且由于整个系统烘烤更完全，实际上是使系统慢慢得到改善。²



多模式进样口。现在，安捷伦的星型分流/不分流进样口的性能通过添加两种进样模式而得到完美的补充：冷不分流和具有更高灵敏度或最高灵敏度的大体积注射(LVI)。软件可以计算出合适的进样口参数，因此设置非常容易。

¹ 产品简介 5989-9804CHCN: 缩短运行时间和提高实验室分析通量——微板流路控制技术的反吹

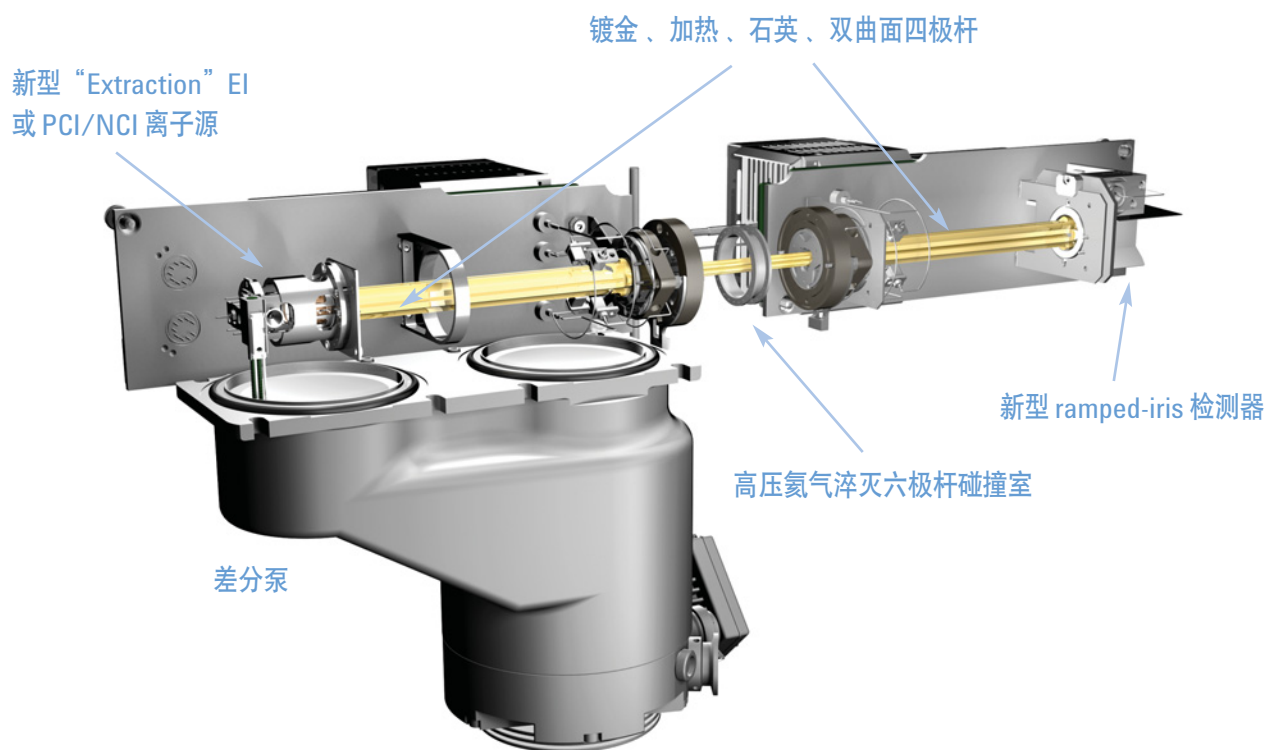
² 应用摘要 5989-9359EN: 在气/质联用仪中使用微板流路控制技术: 用快速反吹清除样品基质考察简单的三通配置对稳定分析的影响效果

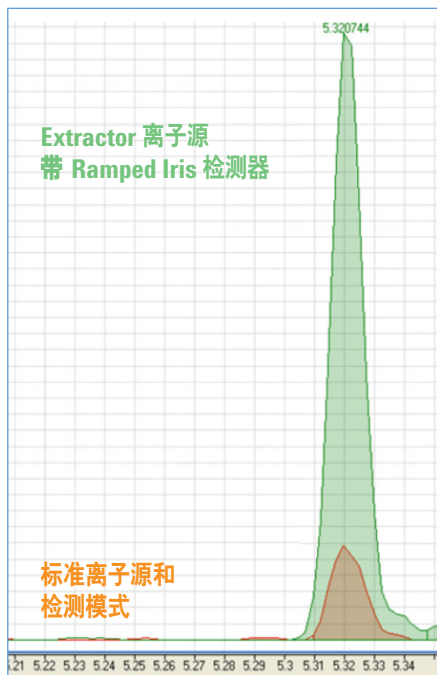
专为气相色谱设计的先进的质谱/质谱技术

在分离的最后阶段从气相色谱柱中流出的高沸点分子对离子源和质量分析器提出了特殊的要求。实际上，对于通常采用GC/MS/MS法分离的复杂基质样品，其高沸点组分的浓度往往会污染质谱仪。

安捷伦的7000B系统是唯一专为200°C高温工作环境设计的质谱/质谱仪。由于四极杆在高温、高真空下恒定，即使对高沸点及复杂的样品分析，它也能保持干净状态，消除频繁费时的维护并确保质量分析器具有最好的性能。

石英超低的膨胀系数使得在加热四极杆时也不会发生尺寸的较大变化——同时也不会造成离子传输损失和分辨率损失。因此，即使经过多年对复杂样品的高通量分析，安捷伦的热石英分析器仍然无需维护。

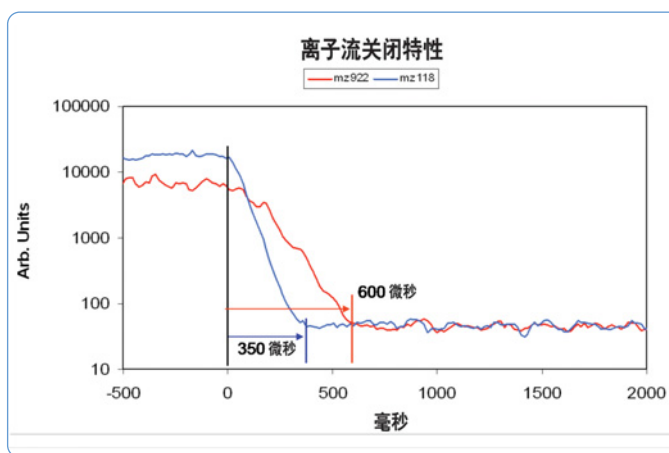




新型 EI 离子源和检测器提高了质谱灵敏度。灵敏度在整个质量范围内得到了提高，甚至包括检测下限。

为气相色谱应用优化的碰撞反应池

由于多反应监测 (MRM) 过程基本上消除了所有化学品的噪音，来自于高能亚稳态氮的中性噪音成为气相色谱/质谱/质谱联用仪的主要噪音来源。安捷伦的工程师首先从经验证的6400系列液相色谱/质谱/质谱联用仪的碰撞反应池设计，并开始为气相色谱应用重新调整尺寸和电压。他们还增加了新式氦气淬灭技术，就是在氮气碰撞气中混合入一个低流量的补充氦气流。这就可以实现高效分离、快速重新聚焦离子和碰撞池的快速清洗(无记忆效应)，以及显著降低了中性噪音。



测量得到的碰撞反应池清洗时间不超过 1 毫秒，确保碰撞反应池无记忆效应。(请索取海报拷贝：美国质谱学会 2009 年海报 MPZ 656：高速定量气相色谱/质谱/质谱的数据采集。)

驻留时间 (毫秒)	10	5	3	2	1
# Transitions	18	33	50	66	99
分析时间	198	198	200	198	198
MRM/秒	91	167	250	333	500
n	10	10	10	10	10
平均峰面积	37686	37673	37465	36887	35180
峰面积标准偏差	940	1925	1439	1557	1447
% 相对标准偏差	2.5%	5.1%	3.8%	4.2%	4.1%

高精度，高精度，高精度

缺乏精确度的灵敏度会导致不可接受的MRM比和差的定量结果。由于质谱/质谱基线噪音趋近于零，信噪比(S/N)几乎变成了一个毫无意义的性能衡量标准；在超低噪音条件下，峰响应值的相对标准偏差(RSD)是一个更好的基准。即使是在驻留时间低至1毫秒或2毫秒的条件下，7000B也为您提供了基本精度以便于您做出准确的定性和定量分析的决定。(样品：10 ppb戊炔草胺)

Agilent MassHunter软件帮助您充分利用每一个分析和每个工作日

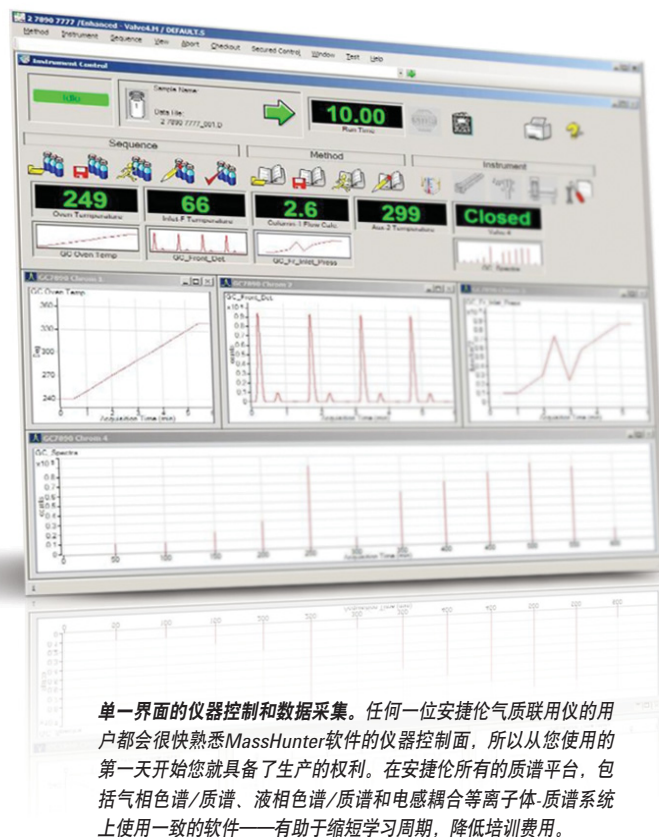
MassHunter软件无缝集成了数据采集、分析和报告，并且即使是非仪器专家也能轻易掌握Agilent 7000B三重串联四极杆气质联用仪的先进功能。MassHunter工具的强大组合能更快地提供精确的结果，使您能够分析更多的样品而只需较少的数据浏览。其突出功能包括：

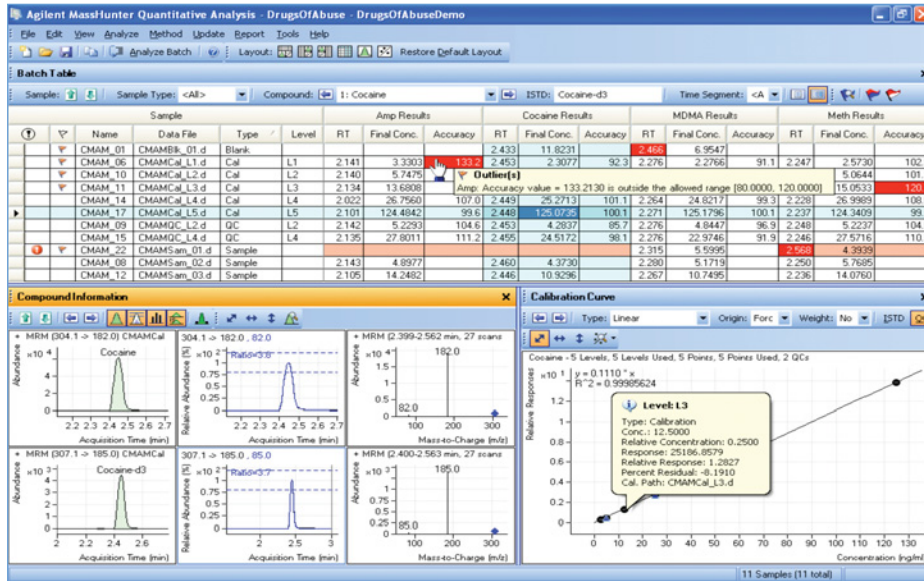
- 动态多反应监测（将于2010年第一季度推出）和优化程序简化了方法的建立
- 以样品为导向，以化合物为中心的数据浏览和数据处理功能
- 快速“一览全貌”的数据浏览功能
- 易于使用的气相色谱/质谱峰的无参数设置积分功能
- 用户可选的20多种标准用于异常值检测
- 基于Microsoft Excel® 2007 + XML的定制报告功能

可对其它质谱仪和气相色谱检测器的数据进行处理

MassHunter软件除了支持7000B质谱/质谱仪的先进功能外，还支持传统的气相色谱/质谱分析：

- 支持7000系列系统中气相色谱检测器数据的采集/处理，以及质谱数据的分析
- 使用NIST、Wiley和安捷伦保留时间锁定（RTL）谱库进行EI谱库检索
- 使用集成的解卷积工具、保留指数数据和RTL数据库对未知物进行高级分析处理





带异常值检测的“一览全貌”预览功能。颜色编码的异常值检测赋予了数据灵活的数据表格组织功能，可以提示您注意需要进一步检查的结果。点击结果以及所有相关的峰，可立即显示谱图和校准数据。大多数的数据都能弹出相关的数据信息。

This figure illustrates the flexibility of the report generation process using Microsoft Excel. Callouts point to various features:

- 使用工具按钮添加表格和图形**: A callout pointing to the 'Insert' menu in Excel, highlighting options like 'Table', 'Chart', and 'Image'.
- 从XML结果中拖放数据列**: A callout pointing to a data column in the Excel spreadsheet, indicating that data is imported from the XML report.
- 用不同颜色标记异常值**: A callout pointing to a cell in the 'Outlier Report' table that is highlighted in red, indicating an outlier.
- 打印预览**: A callout pointing to a preview window showing a chromatogram and a table of results.
- 使用Excel来设置页眉和页脚**: A callout pointing to the header and footer areas of the Excel spreadsheet.
- 使用Excel数字格式**: A callout pointing to a cell in the 'Outlier Report' table where the numerical value is formatted with a specific color and font style.

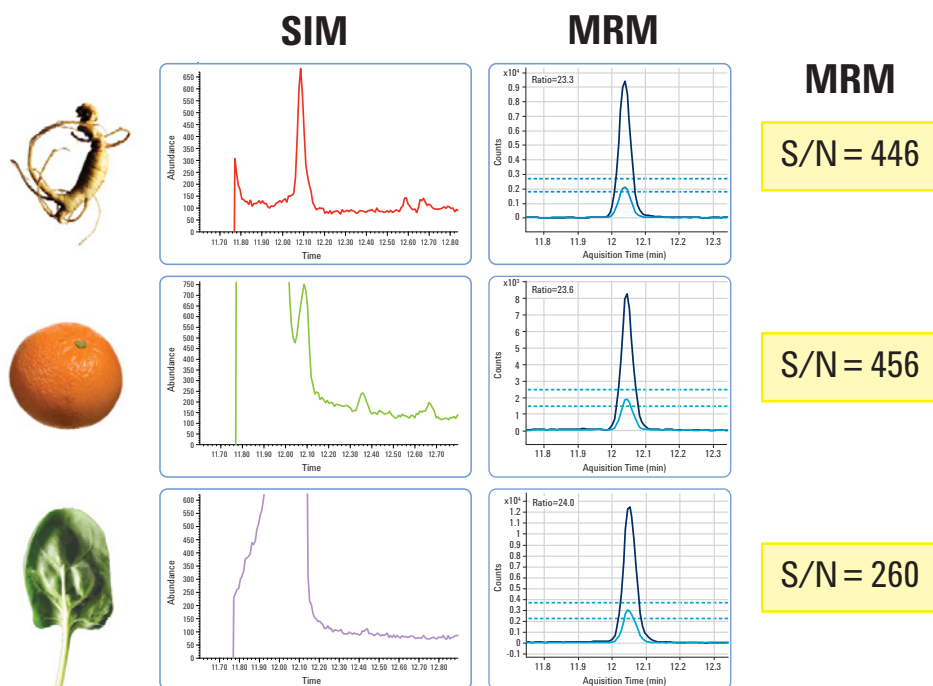
灵活、完全可自定义的报告功能。MassHunter 软件利用 XML 和 Microsoft Excel 提供强大的报告功能。在这种类似于 Excel 的环境中，可以使用适用范围广泛的特定应用模板或自定义的报告。

先进的气相色谱和质谱/质谱技术为日常分析带来高性能

质谱/质谱技术经常应用于要求恒定超低检测限、基质非常复杂的样品分析。多目标化合物筛选法——如食品中农药残留检测、生物体液中的药物检测以及土壤和水中的环境污染物检测——已在许多文献所采用的方法中占据了主导地位。但常常被忽视的是，MS/MS分析比任何选择离子检测（SIM）法更具有优势，并得到更好的定性与定量结果。其优势包括：

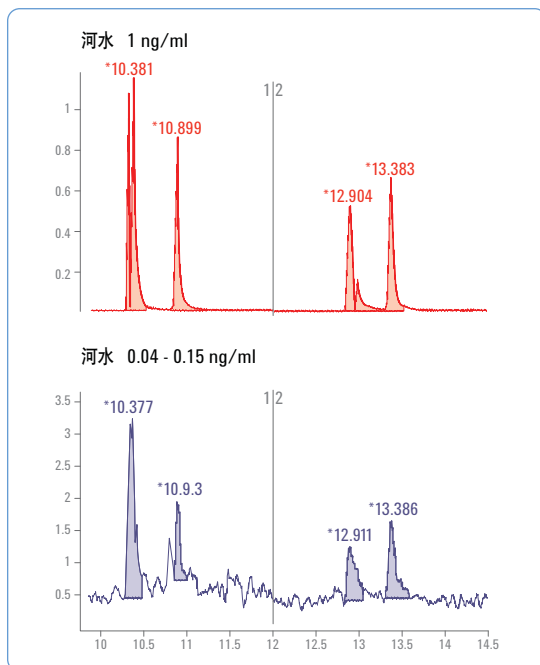
- 消除了子离子光谱区域中的化学和中性噪音——产生比SIM还低的检测限
- 提高了产生更独特（更高选择性）的子离子的概率——比选择离子检测得到更少的假阴性和假阳性结果

对于复杂样品，甚至是强基质峰中的同位素离子（A+1, A+2等等）都有可能对选择离子检测法造成干扰。质谱/质谱技术提供了比选择离子检测低的检测限，从而消除了干扰源。

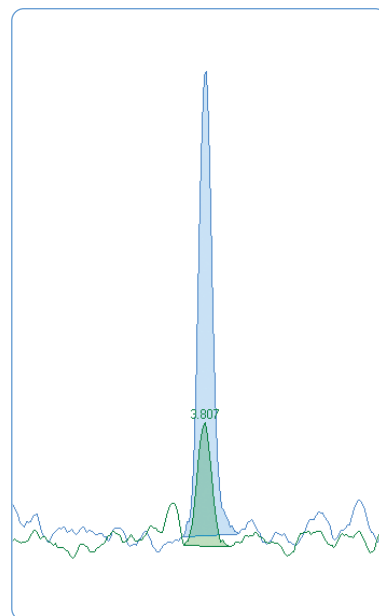


与基质无关的质谱/质谱分析获得一致性结果。采用 Agilent J&W HP-5ms 超高惰性色谱柱分析加入 10 ppb 的 *p,p'*-DDE。进样均为 1 微升。选择离子检测 m/z 246。多反应监测 transition 为 246.0→176.1。¹

¹ 应用摘要 5990-3578CHCN：安捷伦三重串联四极杆气质联用仪分析 175 种农药残留



河水中多环芳烃检测的卓越灵敏度。上图：上样 3 皮克多环芳烃 (PAH) 的标准混合物。下图：河水样品中多环芳烃的浓度为 0.04-0.15 ppb，或柱上 120-450 fg。从 EI-MRM 分析重建总离子流色谱图 (RTIC)。



NCI 模式/氨气条件下，四氢大麻酚酸的超痕量定量。重建多反应监测(MRM)色谱图以获得羧基-四氢大麻酚-三氟乙酸衍生物 (1 皮克样品；柱上 40fg) 的标准物。定量 transition 为 m/z 590.0→422.0，而定性 transition 为 m/z 422.0→402.0 (定量 transition 峰面积的 22%)。

如需更多有关 MS / MS 分析的信息，包括在水果、蔬菜、生物、婴儿奶粉、中药、体液、水和空气基质中农药、多氯联苯、硝基多环芳烃、有机锡、三聚氰胺、药物筛选、多溴联苯醚阻燃剂、类固醇以及其它化合物的质谱/质谱分析，请与安捷伦分公司联系或访问安捷伦网站。

质谱/质谱分析的选择性和灵敏度可以提高您的工作效率

质谱/质谱分析的另一个实用方面就是：质谱/质谱分析的选择性和灵敏度能够让您调整工作流程的其它方面，以提高您实验室的工作效率。例如：

质谱/质谱的灵敏度

- 可以允许柱上上样量更少，对进样口、色谱柱和离子源需要更少的维护

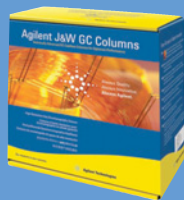
质谱/质谱的选择性

- 使样品制备的工作量更少
- 允许使用更短、分离度相对低的色谱柱，进行快速分析和更快的烘烤或反吹
- 峰积分更快、更简便，从而简化了数据预览，获得更可信的分析结果

事实上，对许多实验室，MS/MS 的高效率能够在购买仪器的第一年就能补偿 GC/MS/MS 的价格差异，安捷伦为 7000B 系统提供 10 年的支持服务！

Agilent J&W超高惰性色谱柱 确保您获得更快、更好的 气/质联用分析结果

安捷伦公司的新型超高惰性气相色谱柱系列是专为满足气相色谱/质谱/质谱分析的需求而开发。它们具有极低的柱流失和最高柱惰性——能够为检测器提供的分析物量最大，使活性化合物获得更好的峰形，更快的基线稳定以降低平衡时间，以及出色的热稳定性以降低仪器停机时间。



安捷伦认证的质谱消耗品 保证日常的仪器维护

安捷伦的毛细管色谱柱密封圈、O形圈和进样隔垫独特包装便于保持清洁以备随时使用。专有的非粘性等离子预处理的进样隔垫和预清洁的O形圈使维护更加快捷和方便——不会因为进样隔垫表面的残留而导致非计划性维护，并缩短维护后的烘烤时间，这一切都可以帮助您在更短的时间里重新开始样品分析。

安捷伦的专业服务保证您的实验室获得最佳的效率

安捷伦的服务工程师具有98%的客户满意度，是业界最受尊敬和最训练有素的服务人员。无论您是需要对单台或是多实验室的仪器的支持，安捷伦都可以助您快速解决问题，延长仪器正常运行时间，优化您实验室的资源。

- 现场维护服务，保证仪器的正常运行以减少非计划性停机
- 远程诊断和监控功能可以提供额外的“仪器正常运行保障”
- 为安捷伦仪器提供快速的专家故障诊断和维修
- 专业的安装、现场培训和高阶培训可以使您在最短的时间里操作仪器



查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

customer-cn@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/quote:cn

安捷伦科技大学：

<http://www.lasca-china.com.cn/university>

仅限研究使用。本文中的信息、说明和规格，如有变更，恕不另行通知。安捷伦公司对本文材料中可能存在的错误或有关装备、性能或使用这一材料而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

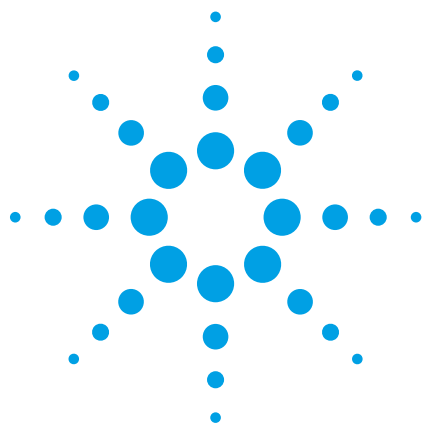
© 安捷伦科技公司，2009

2009年10月1日 中国印刷

5990-4584CHCN



1.2 生物信息学软件系统 安捷伦代谢组学软件概述



1.2 生物信息学软件系统

安捷伦代谢组学软件概述

用于代谢组学数据分析各步骤的软件工具

代谢组学呈现出重大的分析挑战。安捷伦科技提供强大的软件工具来解决代谢谱分析、鉴定、定量和统计分析的难题。通过两款针对 GC/MS 和 LC/MS 代谢物提取设计的解卷积程序、以及用于代谢物检索的 METLIN 个人数据库和 GeneSpring MS 平台提供的一系列统计分析工具，安捷伦提供了全方位的软件解决方案，能够将原始代谢组学数据转化为有用的生物学结果。

将代谢组学数据转化为结果

代谢组学正迅速发展为大规模表达谱分析和蛋白质组学研究的必要补充。然而，代谢组学在获得最终结果方面面临巨大的挑战。包含大量不同化学结构代谢物的样品通常需要特殊的分析方法。

此外，对大量样品进行研究需要强大的数据分析能力。

除了上述挑战，代谢组学数据分析通常包含若干步骤，每一步都需要特殊的软件工具。因此，亟需能够进行特征提取、特征定位、标准化、统计分析和鉴定的高效工具。



完成数据采集后，代谢组学数据分析通常包含以下几个步骤——特征提取、特征定位、数据标准化、统计分析和代谢物鉴定——每一步都需要用软件处理来自复杂样品的大量数据。

安捷伦科技提供有效的软件工具来应对代谢谱分析、鉴定、定量和统计分析方面的挑战。通过专为代谢物提取设计的解卷积程序、用于代谢物检索的 METLIN 个人数据库和 GeneSpring MS 平台提供的一系列统计分析工具，安捷伦提供了全方位的软件解决方案，能够将原始代谢组学数据转化为有用的生物学结论。

最佳的代谢物检测

要最大程度地利用您的时间和资源，必须从您的质谱数据中检测出尽可能多的代谢物。解卷积程序通过寻找丰度随时间一起增大或减小的协变离子（表示这些离子来自相同的化合物），解决了这一难题。然后，该程序将这些离子进行分组进而为每一个代谢物生成单一成分的重构谱图。

单独一种解卷积程序并不能适用于所有应用。因此，安捷伦针对 GC/MS 和 LC/MS 各自独特的离子化方式和质谱分析特点提供了不同的解卷积程序。

对于 GC/MS 数据的解卷积，安捷伦提供了作为 NIST（美国国家标准技术研究院）数据库检索包一部分的自动质谱图解卷积和

鉴定软件（AMDIS）。AMDIS 能够从复杂的 GC/MS 数据中提取出纯净的组分峰从而确定离子/谱峰之间的联系。AMDIS 能生成可用于谱库检索的谱图，并能自动导出一个适合安捷伦 GeneSpring MS 软件进行统计分析的特征列表。

用于 LC/MS 的安捷伦 MassHunter 工作站软件包含一种专利的分子特征提取算法。该算法专为 LC/MS 飞行时间数据设计，能够识别出同一个化合物相关的协变离子。此外，它还能识别钠离子加合或者二聚体形成等常见的电喷雾假象。对这些离子进行识别和分组可以改善用于统计分析的数量估值，还能为进一步的分析消除虚假数据。该软件通过使用重构谱图中的同位素信息来提高经验式测定的准确度。

两款强大的代谢谱分析软件包

对于像实验组与对照组差异研究这样的简单分析，安捷伦 Mass Hunter Profiling 软件专为 TOF 和 Q-TOF LC/MS 表达谱分析应用如代谢物生物标志物发现而设计。该软件能够将保留时间和丰度数据标准化，并提供可视化工具以确定样品之间的统计学差异，还可以计算丰度比并明确鉴定差异表达的特征分子。

安捷伦 GeneSpring MS 软件支持复杂的实验设计，可以通过质谱数据分析进行代谢物生物标志物的快速发现。研究人员可以轻松导入、分析和可视化来自大样品集的 GC/MS 数据，TOF、Q-TOF 和三重串联四极杆 LC/MS 数据，以及 CE/MS 数据。通过使用一系列有用的统计分析和可视化工具（包括单因素和双因素方差分析，主成分分析和类预测算法），GeneSpring MS 软件可以筛选出与细胞功能变化关联的代谢物，从而迅速发现可用于检测疾病或药物毒性的生物标记物。GeneSpring MS 软件可以进行类似 MassHunter Profiling 软件的倍性分析。此外，GeneSpring MS 软件支持元数据分析，可以在各种不同应用的复杂实验设计中发现数据间的联系。

在进一步的深入研究中，GeneSpring MS 软件可以进行像代谢物识别和确认这样基于 MS/MS 数据的后续分析。而且重要的是，GeneSpring 平台能够将代谢组学、基因组学和蛋白质组学的数据结合起来，以利于在整体框架下了解数据的生物相关性。

Experiment Parameters for GCMS_Diabetes_Study

Please select values for experimental parameters.
Warning: Modifying parameters may invalidate existing condition trees built from this experiment.

Parameter Name	Age	Sex	Weight (pounds)	Height (inches)	Condition
Parameter Units					
Numeric	yes	no	yes	yes	no
Logarithmic	no	no	no	no	no
1: Z09140602A.txt	51	male	180	68	diabetic
2: Z09140602B.txt	48	male	186	67	diabetic
3: Z09140602C.txt	65	male	191	72	non-diabetic
4: Z09140603A.txt	38	female	141	62	diabetic
5: Z09140603B.txt	39	female	139	68	non-diabetic
6: Z09140603C.txt	75	female	115	59	non-diabetic
7: Z09140604A.txt	48	male	274	73	diabetic
8: Z09140604B.txt	66	female	153	63	non-diabetic
9: Z09140604C.txt	32	female	146	61	diabetic
10: Z09140605A.txt	69	male	195	65	non-diabetic
11: Z09140605B.txt	47	female	165	64	non-diabetic
12: Z09140605C.txt	29	male	178	71	diabetic

Buttons: Save, Save As..., Cancel, Help

Buttons on the right: New Parameter..., Import Parameter..., Delete Parameter, Replace Text..., Extract Subvalues, Fill Down, Fill Sequence Down, Sort, Set Value Order..., Inspect...

GeneSpring MS 软件是一款支持元数据分析的强大的统计分析平台，可以发现复杂实验中的数据关联

安捷伦 METLIN 个人数据库

——实现安全、高效的代谢物检索

安捷伦科技公司是 METLIN 个人代谢物数据库的独家供应商，该数据库可基于 LC/MS 数据进行桌面式代谢物检索。METLIN 数据库是美国克利夫斯研究所质谱研究中心的一项研究成果，它是目前世界上最著名和最全面的代谢物数据库。该数据库目前收录了超过 15000 个内源性和外源性的代谢物，以及二肽和三肽；其中每一个条目都包含质量数、化学分子式和结构信息。

METLIN 数据库在网上是对公众开放的，但是一次仅能检索一个化合物，而且缺乏信息安全保护。与此相反，安捷伦 METLIN 个人数据库能够使您：

- 同时对多个化合物进行自动检索以节约时间
- 执行个人的、本地的检索，利于知识产权保护
- 能够添加专有的化合物来自定义您的数据库

安捷伦非常乐意代谢组学研究人员提供 METLIN 数据库的个人版，并致力于该数据库与安捷伦其他代谢组学软件工具的无缝整合。为了提高通量和易于使用，MassHunter 工作站软件和 GeneSpring MS 软件的最新版本将增加到 METLIN 个人代谢物数据库的链接。

其它信息

- GeneSpring MS from Agilent
(安捷伦 GeneSpring MS 软件)
出版号 5989-5553EN
- Introducing the New Agilent
MassHunter Workstation Software for
6000 Series LC/MS Systems
(介绍一款新的用于 6000 系列 LC/MS
系统的安捷伦 MassHunter 工作站软件)
出版号 5989-4895EN
- MassHunter Profiling Software for the
Agilent 6210 TOF LC/MS
(安捷伦 6210 TOF LC/MS 的 Mass
Hunter Profiling 软件)
出版号 5989-5085EN
- <http://www.amdis.net/>

关于安捷伦科技

安捷伦科技公司是生命科学研究设备的领先供应商，致力于帮助科学家理解复杂的生物过程，确定发病机理和加快新药开发速度。安捷伦的生命科学解决方案专为提高灵敏度、重现性和工作效率而设计，为基因组学、蛋白质学和代谢组学应用提供分析仪器、微流控技术、软件、芯片、耗材以及服务。

了解更多:

www.agilent.com/chem/metabolomics

在线购买:

www.agilent.com/chem/store:cn

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心:

免费专线: 800-820-3278
400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

customer-cn@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/quote:cn

本文仅限研究使用，不可用于诊断目的。本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

©安捷伦科技(中国)有限公司, 2007
2007年1月31日, 中国印刷
5989-6172CHCN



1.2 生物信息学软件系统

Agilent Mass Profiler

Professional 生物信息学软件

探究复杂质谱数据中各种相互关系的最快速、最便捷的手段

欢迎了解 Agilent Mass Profiler Professional 软件——专门用于质谱数据分析的化学计量学软件包。

一次质谱分析实验就能产生几兆字节的质谱数据，获取其中的有意义信息就像大海捞针。Agilent Mass Profiler Professional 软件，凭借高级的数据处理功能和强大的统计方法和数学模型，可以对复杂的质谱数据进行统计分析。Mass Profiler Professional 软件使您能方便快捷地对样品组进行归类、比较和分析。您不仅可以“找到针”还可以对杂草进行表征。



气质联用、液质联用、毛细管电泳/质谱联用和电感耦合等离子质谱——集多种质谱数据分析功能于一身

功能强大、拥有独立解决方案的 Mass Profiler Professional 软件可以处理各种安捷伦质谱数据，包括气质联用、液质联用、毛细管电泳/质谱联用和电感耦合等离子质谱。您甚至可以在一个项目中分析不同类型的实验数据——比如气质联用和液质联用数据。您还可以使用可选的 m/zXML 文件包处理非安捷伦的质谱数据。

单一而相容的用户界面支持所有的数据类型，这样可以大大减少培训时间，最大限度地减少了操作者误差——因此大大提高了实验室的工作效率。

发现您正在寻找的相互关联

Mass Profiler Professional 与安捷伦 MassHunter 质谱工作站和化学工作站完全兼容，是您利用质谱研究样品组和变量之间关系的理想手段，适用于：

- 代谢组学
- 蛋白质组学
- 食品安全
- 环境分析
- 法医分析
- 毒物分析
- 石油化工
- 生物燃料

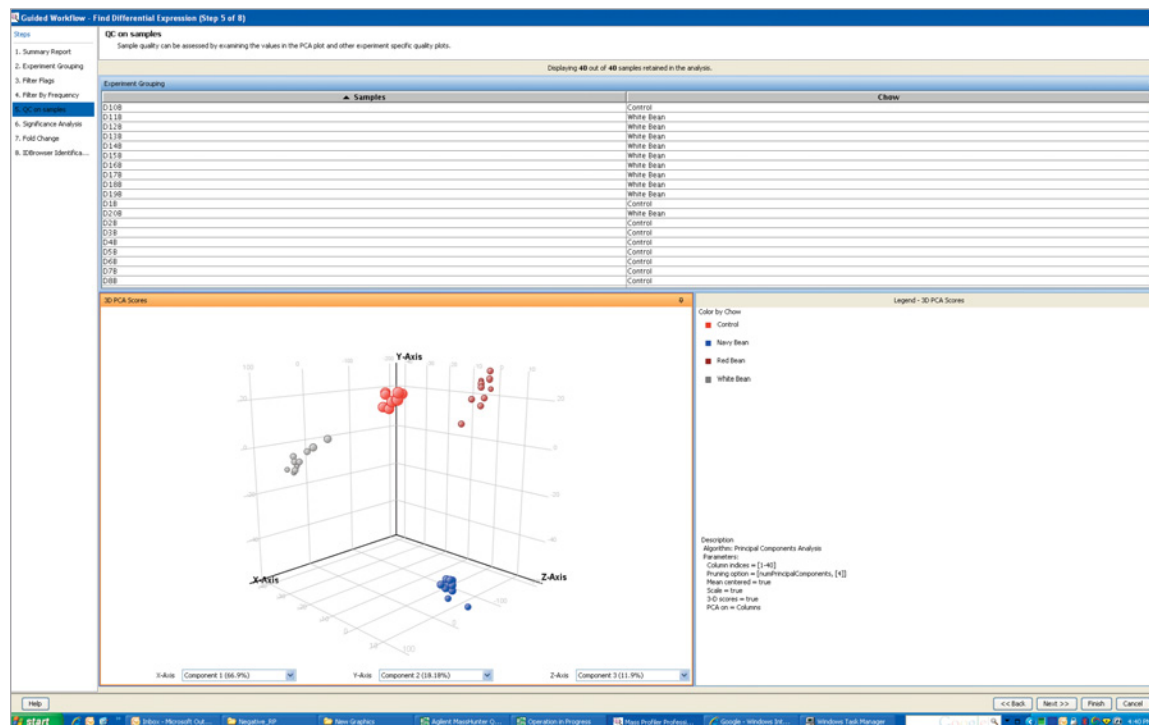
即使您不是统计学家，也能获得优异的结果

Mass Profiler Professional软件专为质谱数据的统计分析而设计。即使您正在使用的是其中的一个功能强大的统计分析过程，您也会发现Mass Profiler Professional界面导航简捷而直观。根据您的数据类型和实验条件，可以事先定义导向工作流程，初学用户只需要遵循这个导向流程就可以迅速完成基本的统计分析。

对于专家级的用户，则可以遵循高级工作流程，完成数据导入，进而使用多种您所需要的统计分析功能——包括基于不同的数据过滤方式，数据标准化和标准统计学分析方法的综

合分析和可视化特征显示。所有的统计分析过程，都带有分析向导，即可基于预先精心设置默认参数完成数据分析，用户也可以自定义设置，从而使您在统计分析中具有最大的灵活性。

递归分析——Mass Profiler Professional软件的一项独特功能——您可以针对原始数据轻松地进行数据的再分析，以提高统计分析结果的质量。该软件还能够很容易地导出质量数列表，用于QTOF进行二级质谱分析，然后再将分析结果重新导入到Mass Profiler Professional中进行分析。



导向工作流程简化了您的数据分析任务。所有的分析工具都基于预先精心设置默认参数（也可根据用户自定义设置）的向导，帮助您在分析中获得最大的灵活性

深入理解您的数据的方法

Mass Profiler Professional中强大的分析功能可以全面发掘质谱数据中的丰富信息。利用无监督（无预先分组）或者有监督（使用预先分组）的分析模式，您可以：

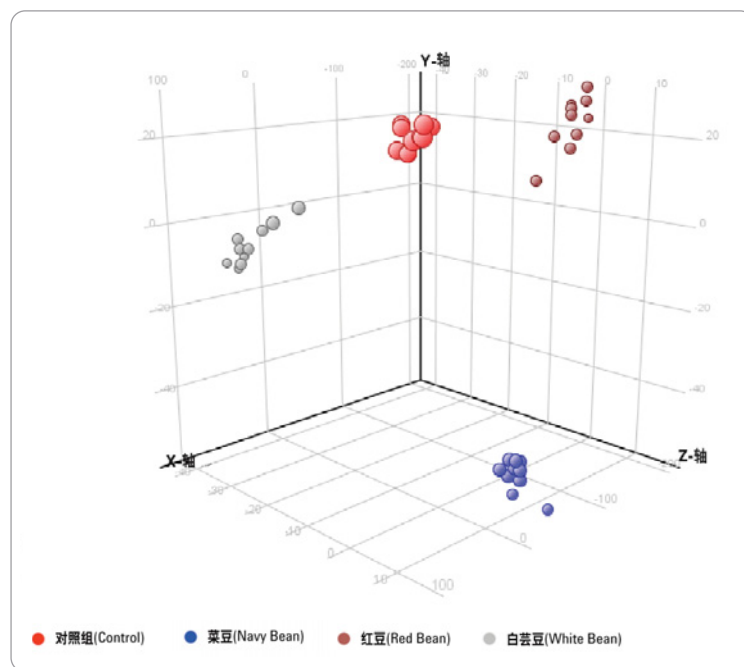
- 快速而方便地发现样品之间的差异
- 对化合物丰度随时间变化做描点图
- 建立用于分类预测的多变量模型

先进的图形化工具使您用新的方式检查和注释结果——您具备更有效进行数据关联分析的能力，并使其更易理解。

发现数据中重要的化学差异

复杂的化学样本及它们的表型特征是具有不同丰度的化学成分之间相互影响的结果。这种现象可以通过比较样本丰度来研究，通常采用的方法是主成分分析(PCA)，一种将复杂数据缩减成几个变量的数学方法。

主成分分析(PCA)可用于无监督分析，以发现样本组之间的差异，确定样本组之间的关联度，并评估化合物对样本组差异的相对贡献。Mass Profiler Professional还包括一个查找最小质量算法，用于发现能解释样本组之间的差异的最重要的化合物。



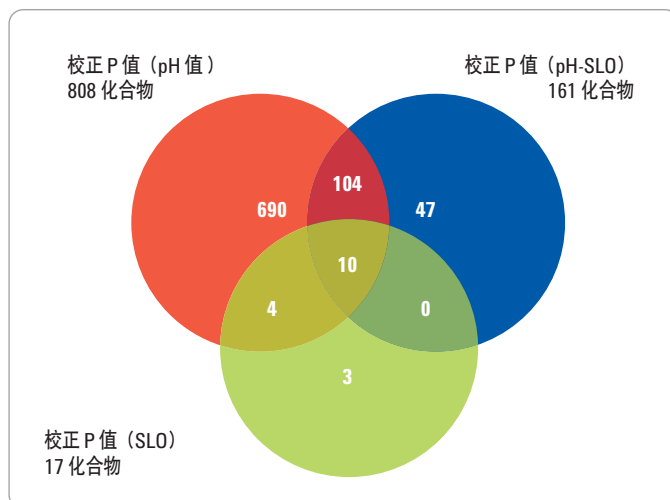
对生物样品重复分析的数据的主成分分析(PCA)显示出分别喂食菜豆、红豆和白芸豆的老鼠代谢组的差异

测定各样品组间化合物丰度的显著差异

您得到的数据在统计学上有效吗？或者您看到的结果是样品之间的正常波动吗？Student t 检验(Student t-tests)和方差(ANOVA)分析可以通过比对两组或两组以上的实验数据，发现丰度具有显著变化的化合物，从而帮助您回答这个问题。

要查找具有严格统计学意义的感兴趣化合物，Mass Profiler Professional提供了广泛的检验方法，包括：

- Student t检验(Student t-tests)和方差(ANOVA)分析
 - 配对和非配对t检验
 - 配对和非配对曼-惠特尼检验
 - ANOVA: 等方差或不等方差
 - 秩瓦利斯(Kruskal Wallis)非参数单因素方差分析
 - 弗里德曼非参数双因素方差分析
 - 重复测量方差分析
- 多因素方差分析
 - 误差率判断族(FWER)和假阳性率
 - 多重测试修正
 - 事后检验
 - 图基检验
 - Student-Newman-Keuls (SNK)检验



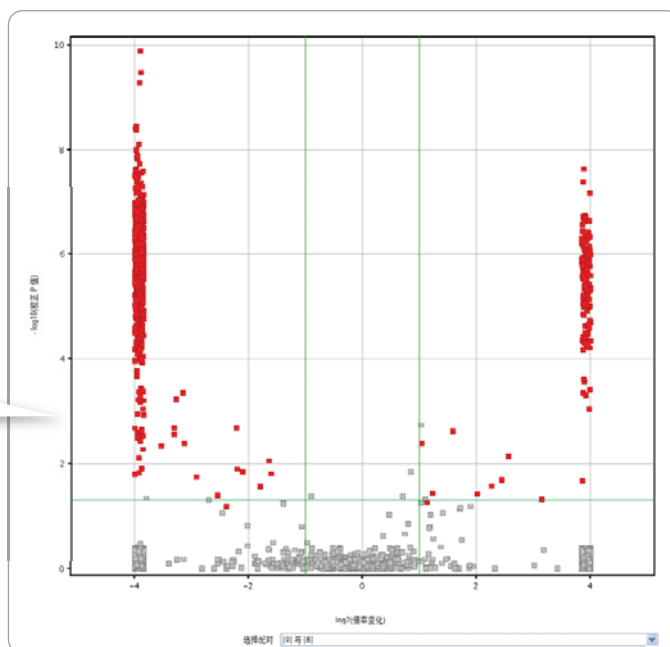
维恩图显示了双因素方差分析的结果。在该实验中，pH值和链球菌溶血素O (SLO)这两个变量对疟疾感染的红细胞提取代谢物的影响。将双因素方差分析的结果绘制成维恩图清楚地表明各变量所具有的统计学意义上的贡献

通过倍率变化分析可视化差异

小样本组和欠采样数据集得出的p值其统计有效性值得怀疑。在这种情况下，您可以使用倍率过滤器来寻找两组样本的差异，并根据您对数据集的了解评估这些差异的显著性。

Compound	p-value	Corrected ...	FCAbsolute	regulation
1-hexadecanoyl-2-(8-[3]-laddera...	3.667E-8	1.333E-6	16.0	down
SM(d18:1/22:0)	1.708E-8	7.982E-7	16.0	down
1-(10-methylhexadecanoyl)-2-(8-...	9.659E-9	5.533E-7	16.0	down
SM(d18:0/22:0)	1.808E-4	3.225E-3	16.0	down
1,2-di-(9Z-hexadecenoyl)-3-(9Z...	1.398E-8	6.976E-7	16.0	down
1-(9Z-hexadecenoyl)-2-(9Z,12Z-...	1.143E-9	1.681E-7	16.0	down
Ceramide_C16:0	3.417E-4	6.051E-3	11.72	down
PC_C32:0	3.165E-6	6.058E-5	16.0	down
PE_C36:2	2.939E-5	5.415E-4	16.0	down
TAG_C48:0	1.128E-4	2.027E-3	4.82	down
3-keto palmitic acid	1.140E-8	6.063E-7	16.0	up
Galabiosylceramide (d18:1/16:0)	4.851E-7	1.063E-5	16.0	up
GPEn(19:0/24:0)[U]	2.954E-7	6.798E-6	16.0	up
GPEn(22:0/20:1(11Z)) + 62.8049...	2.747E-8	1.100E-6	16.0	up
Ubiquinone 9	5.297E-8	1.682E-6	16.0	up
SM(d18:1/26:0)	2.226E-6	4.342E-5	16.0	up
GPCro(17:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))...	2.467E-7	5.775E-6	16.0	up
267.1594@7.607479	5.223E-6	9.860E-5	16.0	down
671.8996@15.183417	8.084E-5	1.465E-3	16.0	down
671.3969@15.253203	1.265E-4	2.266E-3	16.0	down
778.2841@34.171165	5.200E-11	3.282E-8	16.0	down

火山曲线 (Volcano Plot) 功能使您可以同时计算每个质谱化合物的丰度变化倍数以及p值是否有统计学意义。您可以交互式地改变P值和倍率设置，以图形或表格的形式查看结果



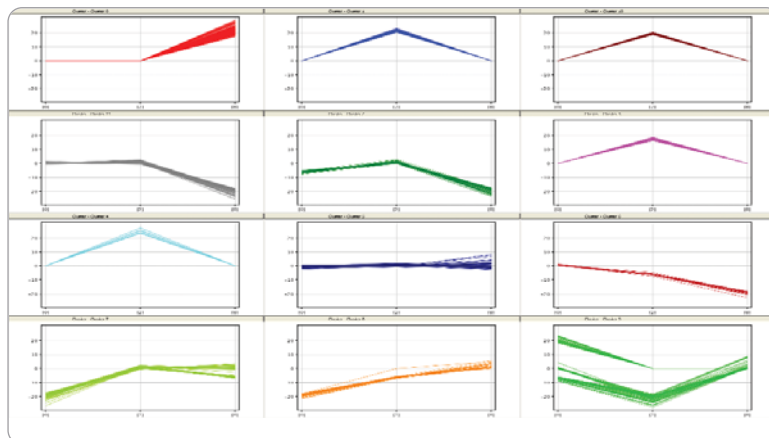
数据聚类以发现隐藏的关联

依据质谱图中化合物的丰度相似性进行聚类分析，使您能在数据中发现最显著的关联模式。

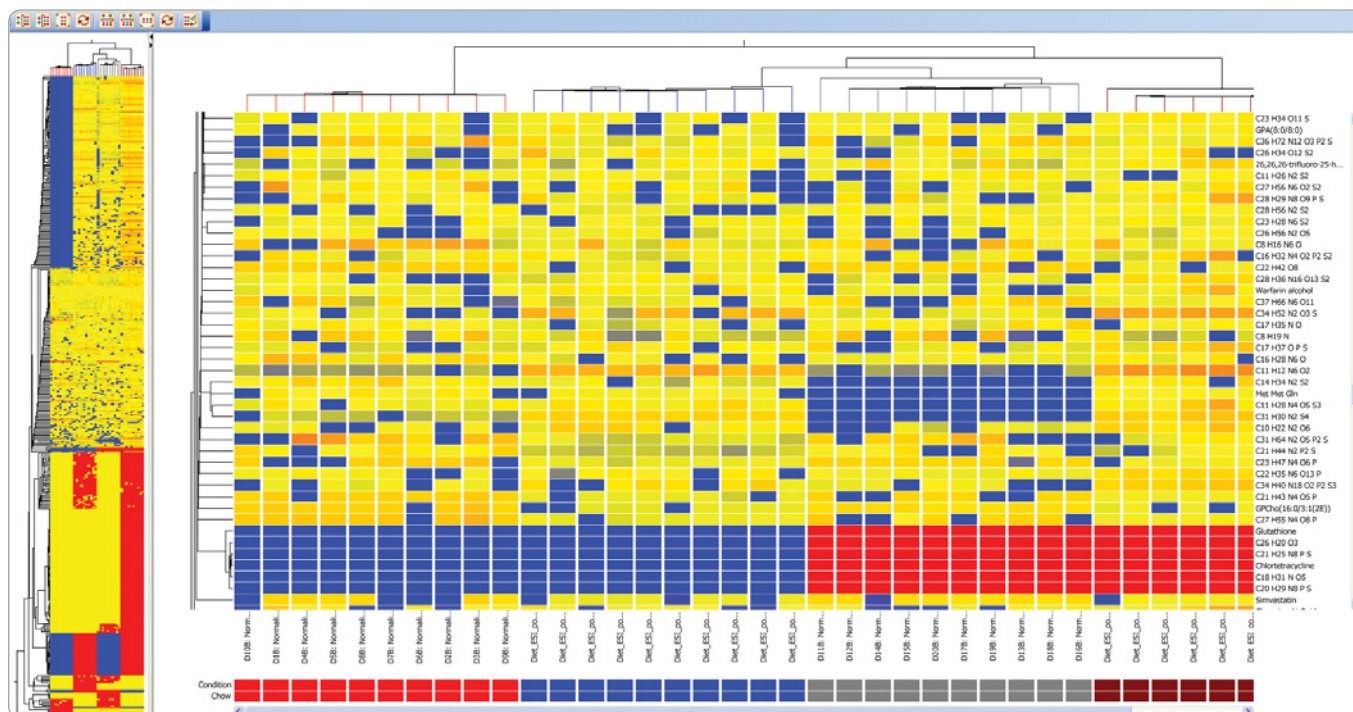
通过将样品间具有相似丰度的化合物进行聚类分析，您可检验具有类似丰度或镜像的化合物。这种分析通常用于研究化学反应或酶反应中底物和产物之间随时间变化的关系，从而发掘出一些有趣的关联，因为在一系列实验条件下显示相似行为的化合物可能具有相似的反应路径。

Mass Profiler Professional软件可以提供多种聚类方法，包括：

- 均值聚类
- 分级聚类
- 自组织映射图(SOM)



K均值聚类分析将化合物分配为特定数目(K)的“类”，每一类中的化合物的条件相似，而各类之间的化合物则不具有相似性



分级聚类将具有相似丰度的化合物聚类为树状结构中一个集合。系统树图一方面揭示了单个样本大量代谢物个体之间的关联，另一方面揭示了多个样本之间的关联。在这个例子中，喂食不同豆类的大鼠的重复样品之间具有相似的丰度

使用预测模型将样本分配到样本组

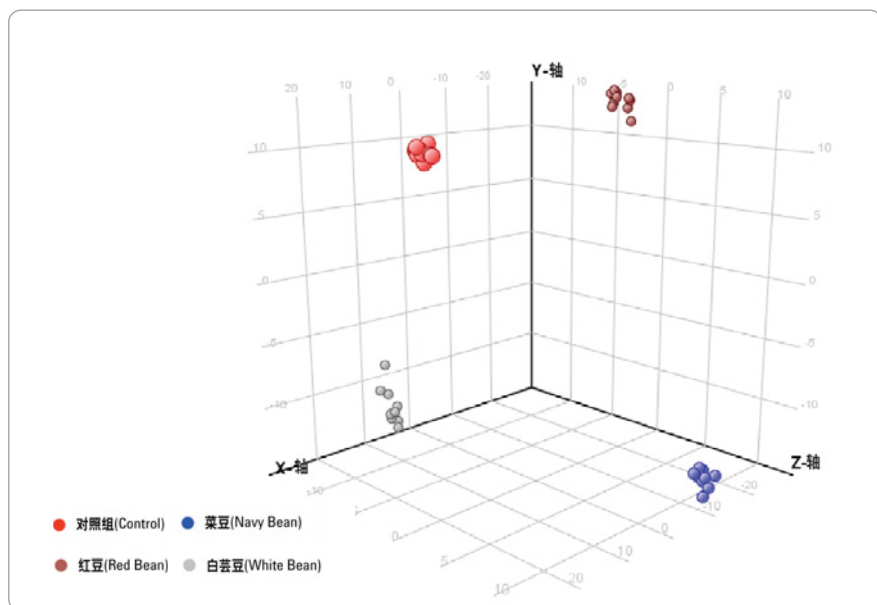
如果您的长期目的是将新样本归入具有重要意义的一组，那么类别预测分析是一种很有用的方法。在排定化合物优先次序，避免造成在药物开发过程中，因排除无效化合物而造成无谓的巨大花费，类别预测分析正日益成为有效工具。这种技术也被用于复杂样品的质量控制，如啤酒和葡萄酒。

样品基于预测模型被分配到相应的组；区别于以往的仅凭借测定个别化合物来判定样品的归属，它能让您使用预测模型根据业已确定的某些化合物来确定分类。

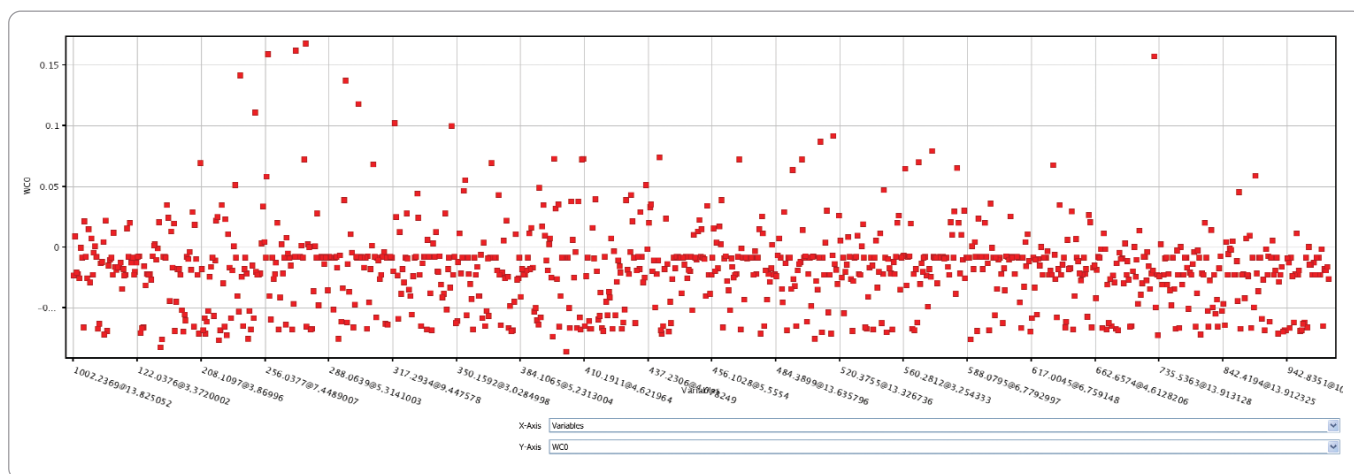
Mass Profiler Professional软件提供多种类别预测算法：

- 偏最小二乘判别分析法(PLSDA)
- 决策树
- 支持向量机
- 朴素贝叶斯 (Naive Bayes)
- 神经网络

菜单驱动的用户向导协助您进行预测模型的建立和运行预测的过程、收集使用有关化合物列表的输入数据、选择解释类型并选择适用的算法。



类别预测分析。类别预测算法（本例中指PLSDA）用于生成分类结果，总结为图形化输出结果，其中包括样品（左图）的t-分值得曲线和一种单个化合物列表中的质量数载荷图（下图）



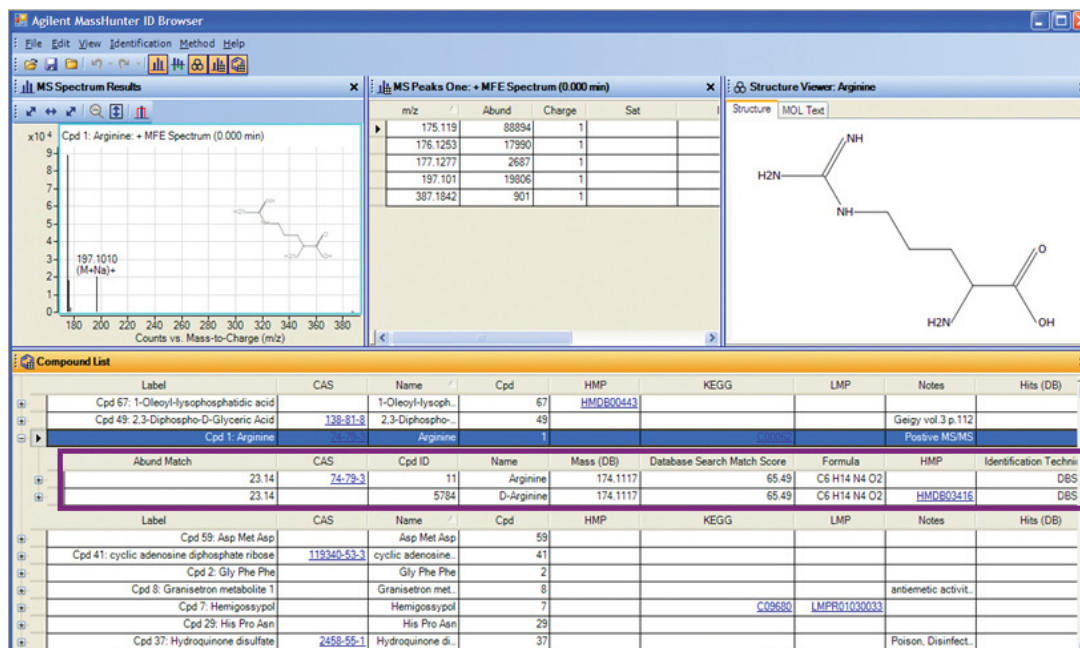
内置鉴别浏览器可自动进行数据库检索和质谱谱库检索

在您研究的某些阶段，您希望将质量数据转换成相关的化合物信息，以便理解分析结果并鉴别与差异相关的化合物。根据使用的分析技术——液质联用或气质联用，将测定结果与数据库或质谱谱图库进行精确质量数或质谱图的匹配，以完成化合物的鉴别。数据库和质谱谱库可来自于安捷伦公司公开发布的产品或用户个人建立的数据。检索过程还可以包含保留时间的信息。

Mass Profiler Professional软件内置一个体现MassHunter定性分析功能的鉴别浏览器，利用以下数据库实现化合物鉴定：

- 用于液质联用数据的个人化合物数据库(METLIN、农药库、毒物库)
- 气质谱库 (NIST 和 Fiehn谱库)
- 使用安捷伦分子式生成器(MFG)算法的分子经验式计算

这意味着您能快捷地鉴别化合物——Mass Profiler Professional软件即可完成。该软件会自动注释化合物名单并将化合物名称添加到各种统计分析和生物通路分析中。



MassHunter的化合物鉴别浏览器可以鉴别出Mass Profiler Professional软件生成的化合物列表。在本例中，质量数为174.1117的组分经过METLIN数据库检索得到的结果是精氨酸，显示结果包括分子式、数据库匹配分值、化合物名称、KEGG和CAS号

将加化学计量学分析的强大功能加到任何一款安捷伦质谱平台中

无论您使用哪一款安捷伦质谱仪，Mass Profiler Professional软件的先进功能都能使您发挥仪器的独一无二的分析能力。无论您的实验室是分析生物标记物还是生物燃料、分析农药还是石化，该软件可以帮助您充分挖掘质谱数据中的各种关联。

更胜一筹的质谱解决方案涵盖了所有的应用领域

安捷伦的TOF和Q-TOF液质联用仪——更胜一筹的扫描速度、质量精确度和性能

安捷伦的TOF和Q-TOF液质联用系统具有能应对要求最苛刻的科学分析的数据采集功能和各种高级分析功能。超高解析度Q-TOF技术，使得质谱具有业界领先的质量精确度、动态范围、高灵敏度，同时不会降低数据采集速度、扫描范围或分辨率——其他竞争对手的Q-TOF和价格昂贵的Orbitrap则没有上述的分析能力。

安捷伦三重串联四极杆液质联用仪——出色的灵敏度和长期稳定的高品质定量结果

安捷伦三重串联四极杆液质联用家族具备优异的分析性能——包括常规的亚fg级灵敏度——无可比拟的耐用性和操作方便性。正负离子模式切换速度只有30 ms，即使对UHPLC上得到的1秒峰宽的组分峰也能得到优异的结果，对于复杂样品的定量分析具有更大的灵活性。动态多反应监测模式(DMRM)在没有时间编程的条件下，一次可以分析4000个组分。



安捷伦气质联用仪——业界最可靠的性能和分析效率

安捷伦新一代气质联用仪传承业界一直以来最著名的气质联用仪，使检测限达到了史无前例的低水平。强大的分析功能提高了实验室分析效率并提高了分析结果的可靠性。



安捷伦三重串联四极杆气质联用仪——世界上第一台专为气相色谱设计的二级串联质谱仪

安捷伦的三重串联四极杆气质联用仪具有先进的GC/MS/MS快速定量分析功能，适用于复杂样品中痕量组分的分析。它操作简单方便，将安捷伦旗舰气相色谱的领先分离能力与三重串联四极杆检测器完美结合。

配置全新的样品进样选件和突破性的新型微板流路控制技术，此系统能快速有效地完成最具挑战性分析任务——是要求最高灵敏度、最长运行时间和最高分析效率实验室的最理想的选择。



安捷伦电感耦合等离子质谱——更优越的性能、可靠性和易用性

安捷伦电感耦合等离子质谱系列产品特别适合复杂样品的分析，如食品、废水和土壤消化物。全新设计的碰撞反应池和安捷伦独特的高基体进样引入(HMI)技术结合了安捷伦专利的八极杆碰撞反应池系统，具有世界上最可靠和最有效的干扰消除能力，特别适合复杂样品和未知类型样品的分析。



更多信息

如需了解有关安捷伦Mass Profiler Professional软件的更多信息，请访问：

www.agilent.com/chem/mpp

如需了解有关安捷伦Mass Profiler Professional如何辅助代谢组学分析，请访问：

www.metabolomics-lab.com

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278
400-820-3278（手机用户）

联系我们：

customer-cn@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/quote:cn

安捷伦科技大学：

<http://www.lasca-china.com.cn/university>

浏览和订阅Access Agilent 电子期刊：

www.agilent.com/chem/accessagilent:cn

仅作参考使用。本文涉及的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。安捷伦对本资料中出现的错误，以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担任何责任。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2009年

2009年12月22日

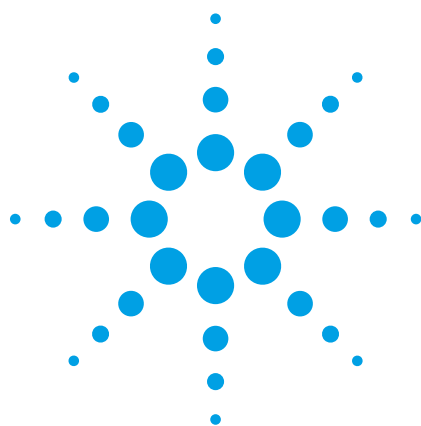
中国印刷

5990-4164CHCN



1.2 生物信息学软件系统

安捷伦 METLIN LC/MS
个人代谢数据库



1.2 生物信息学软件系统

安捷伦 METLIN LC/MS 个人代谢物数据库

让代谢物鉴定检索更加容易的强大数据库

代谢物鉴定是非靶向代谢组学实验中的关键步骤。使用精确质量 MS 信息进行代谢物数据库检索可以显著缩小可能的候选代谢物数量，从而极大地提高代谢物的鉴定效率。由美国斯克利普斯研究院质谱研究中心编制的 METLIN 代谢物数据库是目前世界上最全面的代谢物数据库之一。它收录了超过 15000 种内源性和外源性代谢物及二肽和三肽的质量数、化学式和结构信息。安捷伦科技公司是 METLIN 个人代谢物数据库的独家供应商，该数据库可以安装在您的个人电脑上，从而有助于在高通量研究中进行更快、更简单的多化合物检索。这些检索不基于网络，因而私密性更好，而且您还可以向 METLINE 个人数据库中添加您专有的化合物。该数据库软件无缝集成了安捷伦用于 LC/MS 代谢组学研究的其他软件工具，可使您更深入地了解您的代谢组学样品。

代谢物信息的宝库

METLIN 代谢物数据库是目前世界上最全面的代谢物数据库之一。它收录了超过 15000 种内源性和外源性代谢物及二肽和三肽的质量数、化学式和结构信息。大部分化合物都同时注有化学式和结构信息。很多化合物还包括 CAS 号、HMD 号或者 KEGG 号及分别指向 PubChem、人类代谢组数据库 (Human Metabolome Database) 和京都基因与基因组百科全书数据库条目的网络链接，方便您获得更详细的信息。

功能更强、安全性更高的个人数据库副本

METLIN 代谢物数据库在网上对公众开放 (<http://metlin.scripps.edu>)，用于代谢物检索，但是在您的本地电脑上安装 METLIN 个人代谢物数据库将拥有更多优势：

- 检索更快
- 每次可检索几乎不限数目的化合物
- 可以向数据库条目中添加保留时间信息，并将其作为检索标准
- 向数据库添加专有化合物
- 创建稳定同位素标记的代谢物条目
- 向数据库添加未匹配的质量数，并在整个实验中追踪这些未知代谢物

快速、强大和便捷的检索

METLINE 个人代谢物数据库软件使检索变得更加容易。您可以对单个化合物或者在批处理模式下对几乎不限数目的化合物进行检索。您可以通过以下方式进行检索：

- 仅质量数
- 质量数和保留时间
- 仅保留时间

您也可以基于以下信息进行检索：

- 关键词
- 分子式
- 化合物名称
- KEGG 号、CAS 号、HMP 号或者 METLIN 号

灵活的单一化合物检索

单一化合物检索通常用于鉴定实验分析中发现的单个离子。由于精确质量数测定具有专一性，因此通常使用质量数进行检索。然而，即使质量数能与数据库中的某一代谢物匹配，也无法给出一个明确的鉴定结果。而在代谢物条目中添加标准物质的液相保留时间数据，并同时使用这两个参数进行检索，就能得到更加可信的鉴定结果。

高效的批量检索和汇总报告

METLIN 个人代谢物数据库使您能够一次性自动检索几乎不限数目的化合物。相对于逐个的手工检索，极大地提高了检索效率，这对于实现快速、高效的研究非常重要。

每一次批量检索完成后都会创建一个可导出的批量汇总报告。它为每个提交的质量数列出了最佳的数据库匹配结果。所得结果可以打印和/或保存，用于代谢通路研究等其它分析。您也可以在指定化合物后更新数据库中的保留时间信息。

Mass Submitted	Mass	Delta Mass (ppm)	RT Submitted	RT (min)	Delta RT	Name	Formula	CAS	METLIN	KEGG	HMP
268.0732	268.07291	-1.08	1.98			Homolanthionine	C8H16N2O6S		6449		HMD802024
270.2565	270.25588	-2.29	23.12			Margaric acid	C17H34O2		4206		
280.2409	280.24023	-2.39	22.01			Linoleic acid	C18H32O2	60-33-3	191		
282.2565	282.25588	-2.20	22.96			Oleic acid	C18H34O2	112-80-1	190		
284.2723	284.27153	-2.71	24.12			Stearic acid	C18H36O2	57-11-4	189		
294.187	294.18648	-1.76	21.63			Sodium tetradecyl sulfate	C14H30O4S	133-88-8	2463		
298.1425	298.14164	-2.88	9.99			Idebenone Metabolite (Benzenhexanoic acid, 2,5-di...	C15H22O6	58185-92-5	772		
302.1741	302.17562	5.03	18.94			3-Oxa-9-azoriatricyclo[3.3.1.0(2,4)]nonane, 9-ethyl-9-m...	C18H24NO3	752160-28-4	1678		
306.0315	306.02950	-6.53	0.91			Pelargonidin	C15H11ClO5		6868		HMD803263
338.2441	338.24571	4.76	22.61			(+/-)-5,6-DIHETrE	C20H34O4		3832		
340.2081	340.21106	8.69	23.47			Pro Lys Pro	C16H28N4O4		19795		
341.2938	341.29299	-2.36	22.98			N-Acetylsphingosine	C20H39NO3	3102-57-6	411		
354.0576	354.05767	0.19	12.19			5-Amino-6-(5-phosphoribosylamino)uracil	C9H15N4O9P		3497	C01288	
358.1645	358.16411	-1.10	9.22			Pro Gly Trp	C18H22N4O4		15856		
388.1741	388.17467	1.47	9.22			Ser Trp Pro	C19H24N4O5		16638		
410.3195	410.31848	-2.49	25.12			3,3',5,5'-Tetra-tert-butyl-4,4'-dihydroxybiphenyl	C28H42O2	128-38-1	2100		

批量检索能够提高效率，而且批量汇总报告使查看、保存和导出结果更加容易

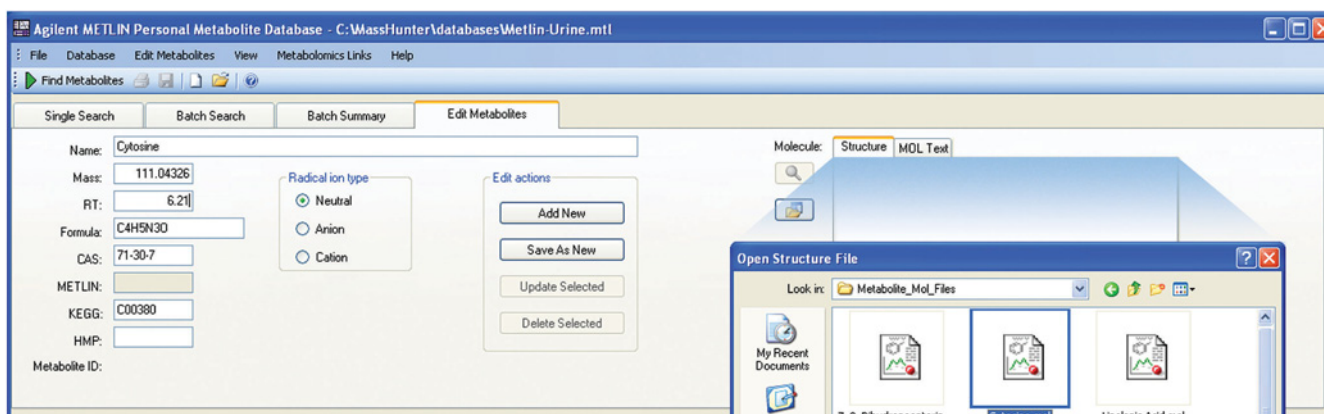
自定义您的数据库以进一步提高效率

为了最大程度提高效率，您可以自定义您的 METLIN 个人代谢物数据库以满足您的分析需求。您可以：

- 添加专有化合物——如果化合物的 *.mol 文件存在，还可添加其结构信息

- 通过指定同位素的数目和类型来为同位素标记的代谢物创建自定义条目
- 生成子数据库以消除与您研究不相关的条目，从而使检索更加快速
- 为代谢物指定色谱保留时间以提高检索结果的特异性和可信度

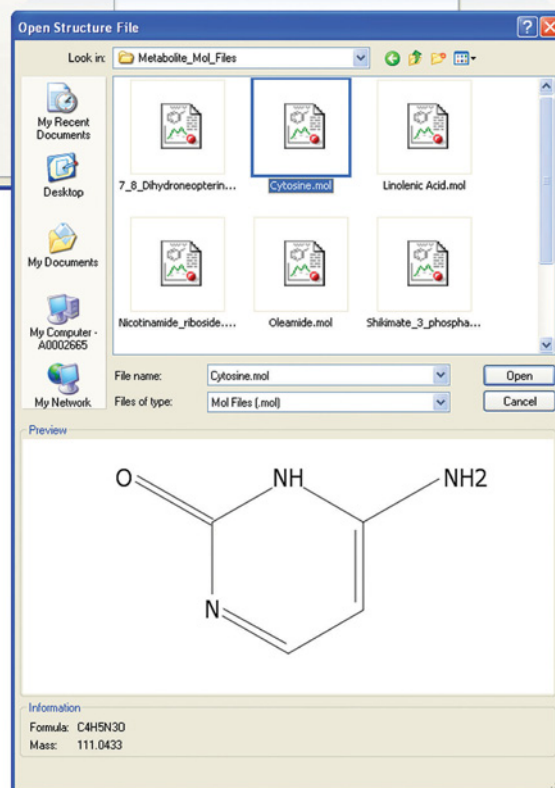
对 METLIN 数据库进行的添加操作属于您个人的修改行为，消除了专利化合物和知识产权方面的法律风险。

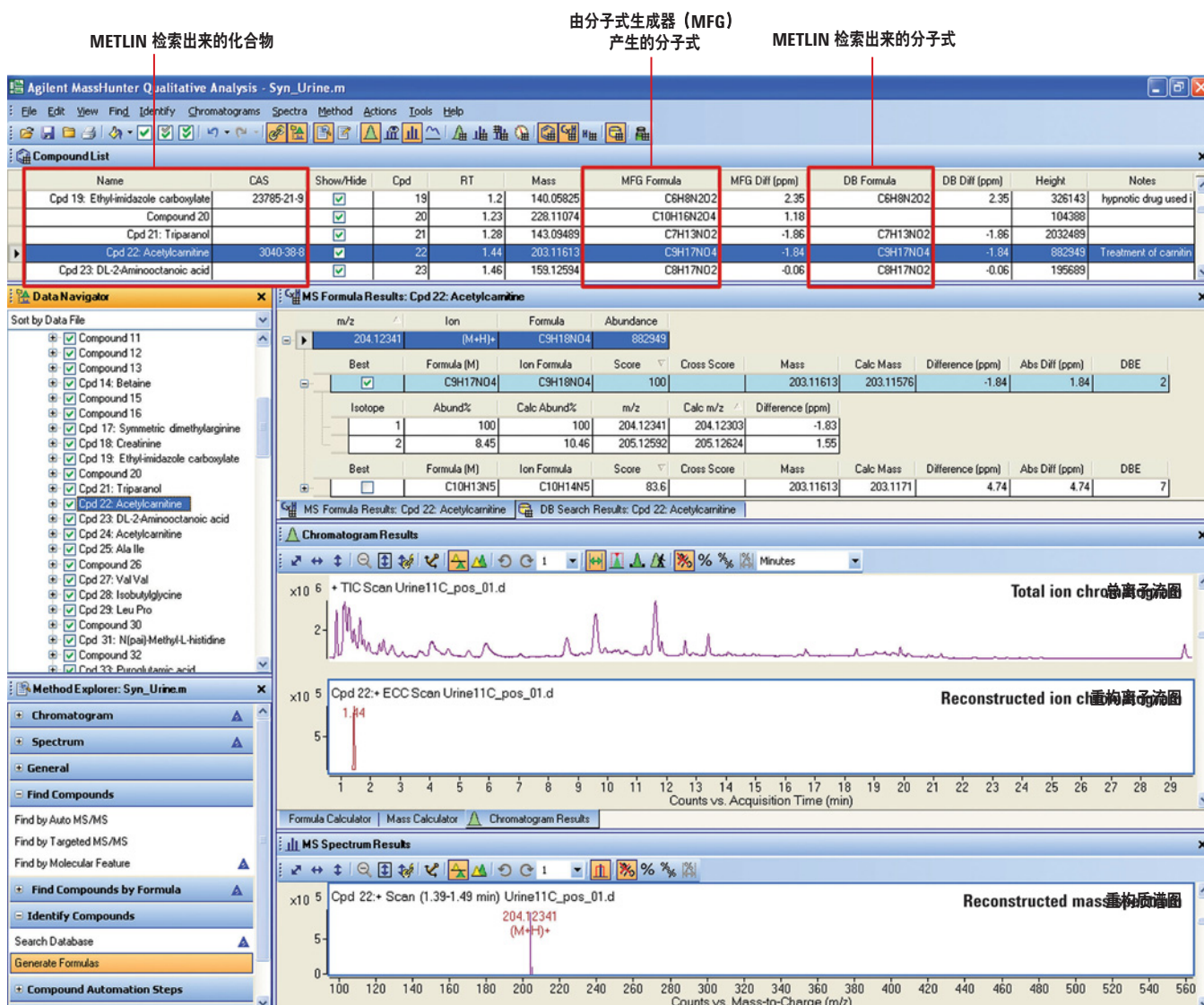


通过在已有条目中添加色谱保留时间等信息或者创建包含色谱保留时间和来自 *.mol 文件的分子结构信息的新条目，您可以自定义您的 METLIN 个人代谢物数据库

与其它软件集成提高了处理通量和易用性

一些安捷伦软件包允许您直接启动 METLIN 数据库的单一或批量化合物检索。在 MassHunter 定性分析软件中，您可以交互式或者自动执行检索，并能够将检索结果与样品的其它数据自动整合起来（见第 4 页图）。您也可以在 MassHunter Profiling 软件中执行检索，并将结果保存、编辑和导出。您还可以将安捷伦 GeneSpring MS 统计分析软件得到的结果导入到 METLIN 软件中，对具有显著统计学差异的化合物进行批量检索。METLIN 数据库的检索结果可以很方便地导出到通路分析软件等其它数据分析软件包。





METLIN 个人代谢物数据库检索可以通过 MassHunter 定性分析软件直接启动。如图所示，检索结果可以自动与色谱图、质谱图及分子式生成器得到的分子式等定性信息进行整合。这种整合极大地简化了数据查看

关于安捷伦科技

安捷伦科技公司是生命科学研究设备的领先供应商，致力于帮助科学家理解复杂的生物过程，确定发病机理和加快新药开发速度。安捷伦的生命科学解决方案专为提高灵敏度、重现性和工作效率而设计，为基因组学、蛋白组学和代谢组学应用提供分析仪器、微流控技术、软件、芯片、耗材以及服务。

更多信息

了解更多:

www.agilent.com/chem/metlin:cn

在线购买:

www.agilent.com/chem/store:cn

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心:

免费专线: 800-820-3278

400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

customer-cn@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/quote:cn

本文仅限研究使用，不可用于诊断目的。本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2007
2007 年 12 月 31 日, 中国印刷
5989-7712CHCN



1.2 生物信息学软件系统

安捷伦 Fiehn GCMS

代谢组学 RTL 谱库

1.2 生物信息学软件系统

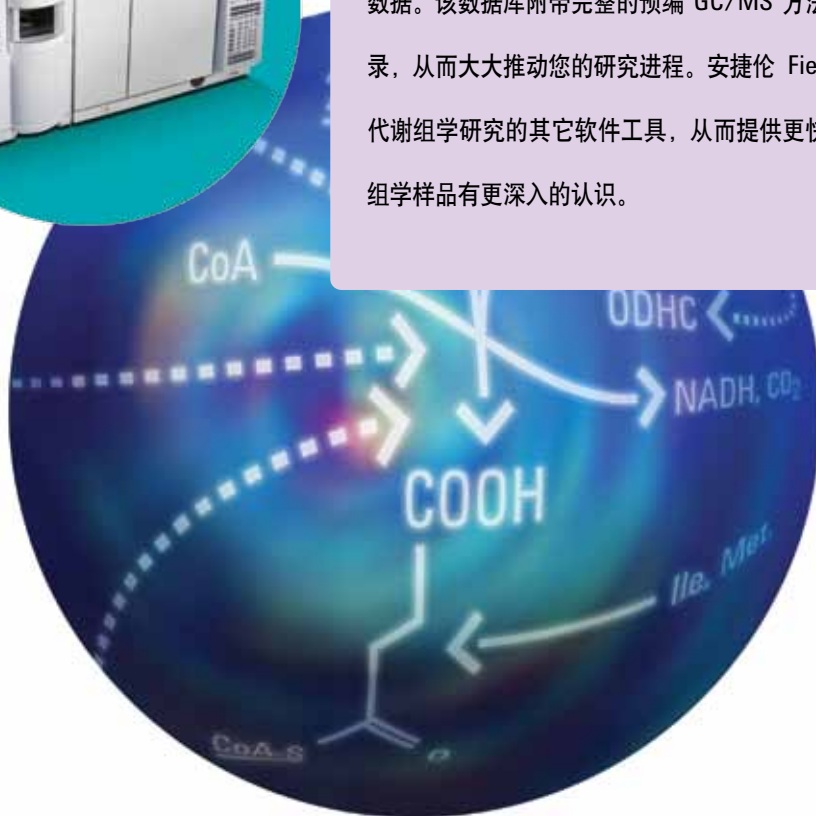
安捷伦 Fiehn GCMS 代谢组学 RTL 谱库

GC/MS 代谢物鉴定的完整解决方案

产品通讯



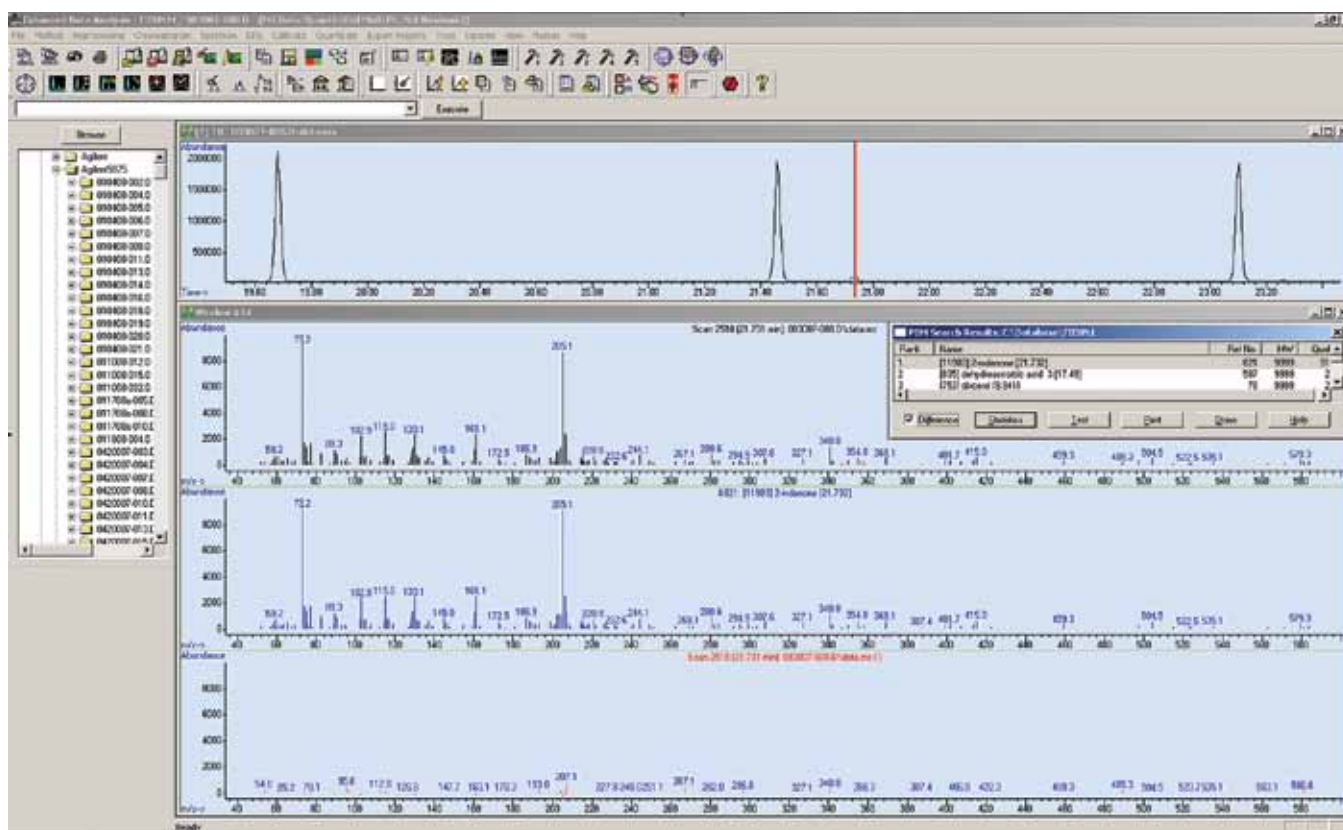
气相色谱/质谱 (GC/MS) 为代谢组学研究提供了高分离度和高灵敏度。高质量、可检索的 EI 谱图可以得到代谢谱分析中标记出的代谢物的阳性鉴定结果。为进一步使非靶向代谢组学中已知代谢物的鉴定更加容易，安捷伦科技推出了 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL (保留时间锁定) 数据库。由 Oliver Fiehn 博士开发的这一不断增长的代谢物数据库包含了大约 700 种常见代谢物的可检索 GC/MS EI 谱图和保留时间数据。该数据库附带完整的预编 GC/MS 方法并能对 GC/MS 代谢组学分析进行记录，从而大大推动您的研究进程。安捷伦 Fiehn 数据库集成了安捷伦用于 GC/MS 代谢组学研究的其它软件工具，从而提供更快代谢物鉴定结果并让您对您的代谢组学样品有更深入的认识。



数据库化合物越多，阳性鉴定结果就越多。安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库是市售最全面的代谢物 GC/MS 谱图数据库。当前，这个不断扩充的数据库收录

有大约 700 种常见代谢物的 1050 个检索条目，其中包括衍生化不完全导致的部分衍生化代谢物条目。每个条目都包含可检索的 EI 谱图和保留时间数据，还包括母体

分子的化学名称和 CAS 号，以便于化合物的识别和后续的文献或软件检索。



安捷伦 Fiehn 数据库可以用化学工作站软件自带的概率匹配算法 (PBM) 进行检索。在本图中，通过 PBM 对一个小峰进行检索获得了高可信度的数据库匹配结果

保留时间索引提高了鉴定可信度

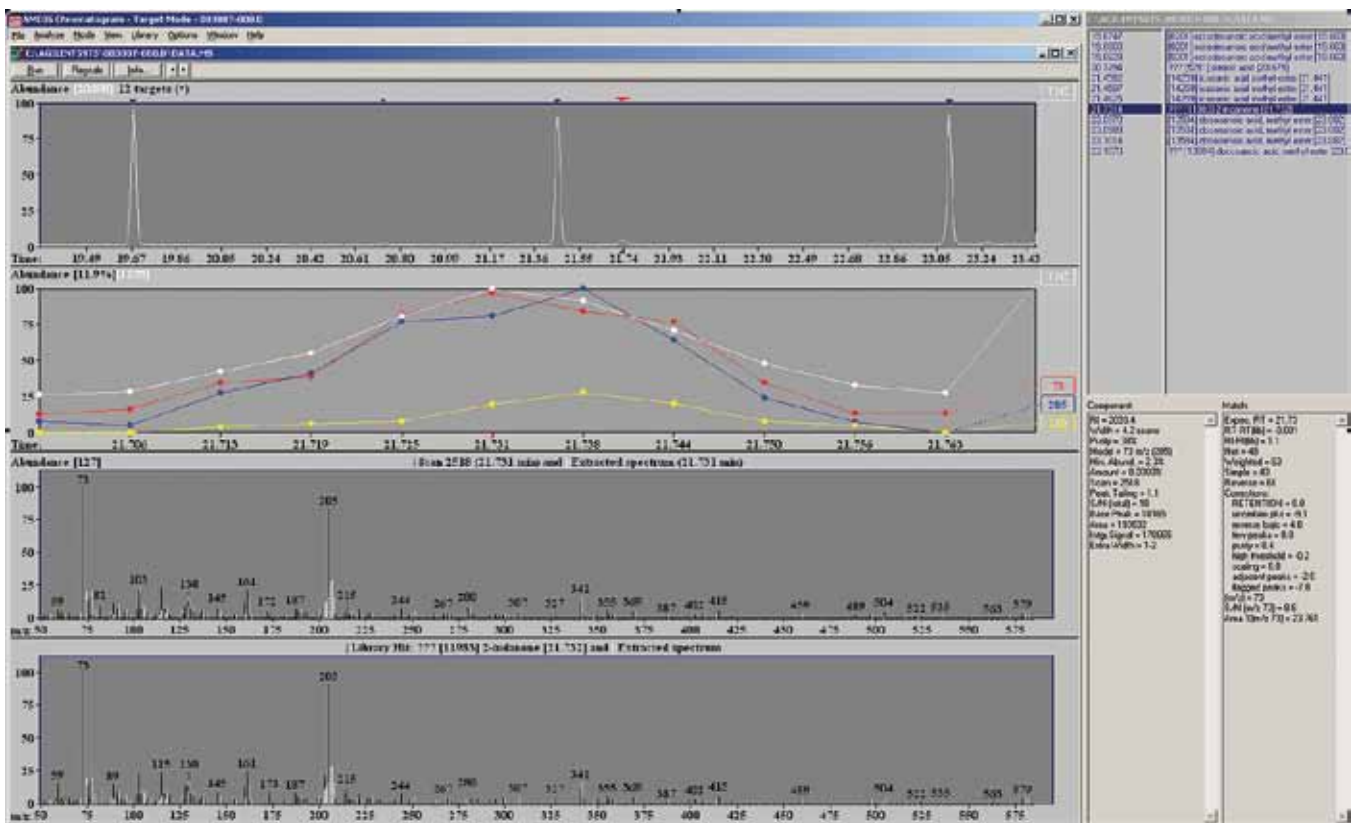
安捷伦 Fiehn 数据库利用保留时间索引和保留时间锁定提高您检索结果的可信度。保留时间索引和梯度保留化合物（拥有适当保留时间间距的内标化合物）的使用允许您对方法进行较大的修改，并且仍可使用色谱保留时间作为一个独立的代谢物鉴定标准。保留时间锁定技术减少了每两次分析之间保留时间的漂移，同时也减少了需要分析梯度保留化合物的次数。

快速、灵活、高通量的检索

与安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢物 RTL 数据库同时提供的，是美国国家标准与技术研究所著名的 AMDIS（自动质谱图解卷积和鉴定系统）自动 GC/MS 鉴定软件。GC/MS 数据分析方法能够自动调用 ADMIS 对重叠的色谱组分进行解卷积处理进而鉴定代谢物。

ADMIS 结果可以导入到安捷伦 GeneSpring MS 软件中，利用其强大的统计分析和数据可视化功能进行数据处理。

安捷伦 Fiehn 数据库也可以使用安捷伦 MSD Productivity 化学工作站软件的概率匹配 (PBM) 算法进行检索。该数据库还提供了用于定量数据分析和定性筛选的化学工作站方法。



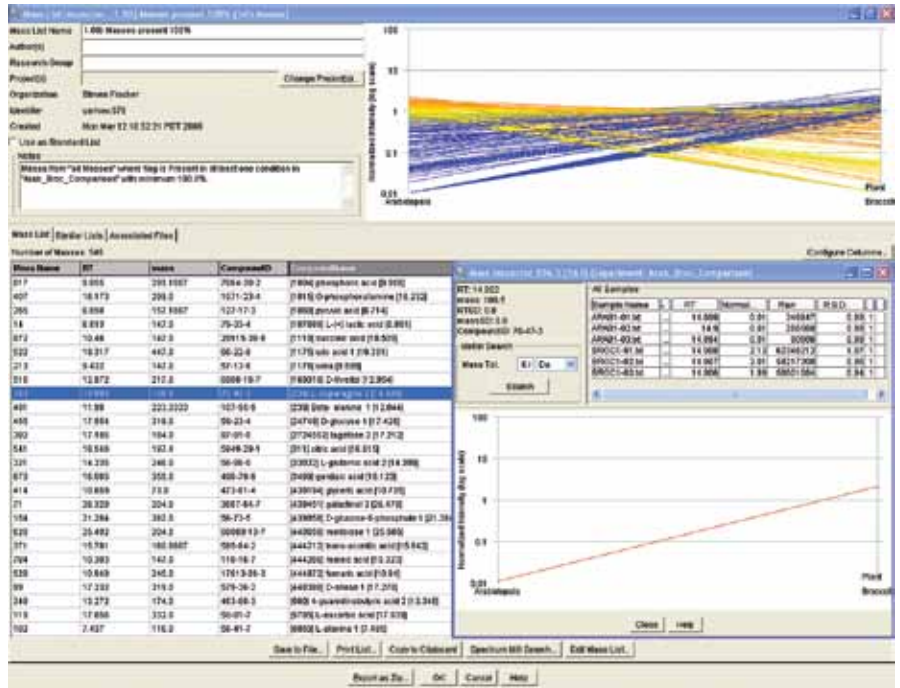
安捷伦 Fiehn 数据库提供 ADMIS 自动 GC/MS 鉴定程序。它可用于共流出色谱组分的解卷积处理和数据库检索

完善工作流程，最大化研究成果

除了通过数据库检索来发现和鉴定代谢物，安捷伦 Fiehn 数据库还包含能够辅助您完成整个非靶向代谢组学研究流程的额外功能。该数据库包含适合于 6890 或 7890 GC 及 5973 或 5975 MSD 的经过验证的、预配置的数据采集方法。它还包含一份用户指南，内容涉及实际分析中几乎每个方面的问题，如衍生化、标准物质、保留时间索引和保留时间锁定等。

订购信息

G1676AA —— 安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学保留时间锁定数据库



ADMIS 结果可以导入到安捷伦 GeneSpring MS 软件中，该软件具有强大的统计分析和数据可视化功能，有助于您从非常复杂的实验中获得更多信息

关于安捷伦科技

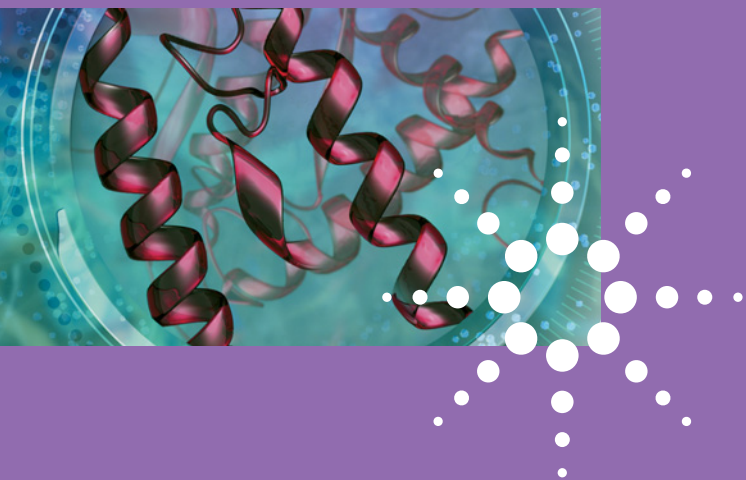
安捷伦科技公司是生命科学研究设备的领先供应商，致力于帮助科学家理解复杂的生物过程，确定发病机理和加快新药开发速度。安捷伦的生命科学解决方案专为提高灵敏度、重现性和工作效率而设计，为基因组学、蛋白质组学和代谢组学应用提供分析仪器、微流控技术、软件、芯片、耗材以及服务。

- 了解更多:**
www.agilent.com/chem/Fiehnlibrary.cn
- 在线购买:**
www.agilent.com/chem/store.cn
- 查找当地的安捷伦客户中心:**
www.agilent.com/chem/contactus.cn
- 安捷伦客户服务中心:**
免费专线: 800-820-3278
400-820-3278 (手机用户)
- 联系我们:**
customer-cn@agilent.com
- 在线询价:**
www.agilent.com/chem/quote:cn

本文仅限研究使用，不可用于诊断目的。本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

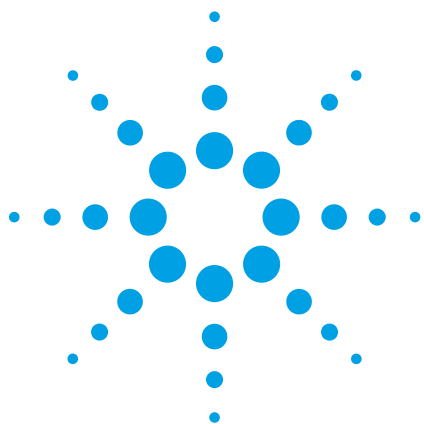
安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

©安捷伦科技(中国)有限公司, 2008
2008年12月5日, 中国印刷
5989-8310CHCN



1.3 选择指南

代谢组学研究选择 GC/MS
或 LC/MS 的考虑因素



1.3 选择指南

代谢组学研究选择 GC/MS 还是 LC/MS 的考虑因素

由于内源性代谢产物种类繁多，因此进行真正全面的代谢组学研究同时需要 GC/MS 和 LC/MS 两项技术。实际上，大部分代谢组学实验是不全面的，而且诸如代谢产物的化学性质、样品基质及成本等因素也影响着 GC/MS 和 LC/MS 的选择。本选择指南讨论了 GC/MS 和 LC/MS 在的一些典型特征，并提出了在二者之间进行选择时必须考虑的因素。同时，本指南还介绍了代谢组学工作流程的各个步骤中所需要的 GC/MS 和 LC/MS 系统的主要组成部分。

GC/MS 分析

气相色谱和质谱 (GC/MS) 的组合为挥发性化合物分析提供了一种有效的解决方案。气相色谱使用载气携带分析物通过带有涂层的熔融石英毛细管，根据分析物在气相和毛细管内壁涂层之间分配的不同进行分离。为了使分析物能够通过毛细管，分析物必须首先被气化。因此，GC/MS 的分析物必须易于挥发或者能够通过化学衍生化变得易于挥发。

某些类型的样品特别适合 GC/MS 分析 (见图 1)。他们主要包括易挥发且不能通过 LC/MS 技术有效离子化的植物萜类和挥发油类化合物。游离脂肪酸经过衍生化处理，也能进行 GC/MS 分析。GC 的高色谱分离度使它能够分离结构相似、在 HPLC 上极难分离的脂肪酸。GC/MS 对于游离脂肪酸的检测灵敏度要高于 LC/MS。其他通常适合用 GC/MS 分析的化合物包括类固醇、甘油二酯、单糖、双糖、三糖以及糖醇等。

电子轰击电离 (EI) 是 GC/MS 中最常用的一种离子化技术。EI 极为耐用，并且重复性好。某些化合物会抑制其共流出化合物的离子化，但 EI 不受这种离子抑制的影响。EI 能产生特征的质谱碎片图，因此，可以通过在 EI 谱图数据库中检索未知化合物的 EI 谱图对其进行鉴定。

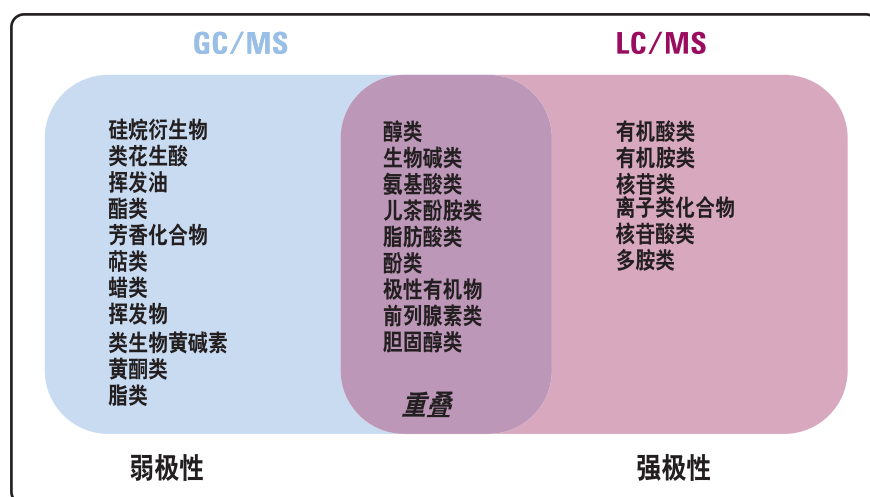


图 1. 化合物种类及其最适合的分析技术

一种简单的鉴定方法就是只使用扣除背景的 EI 谱图在 NIST 这样的通用数据库中进行检索。另一种更有效的鉴定方法是在含有化合物预期保留时间和 EI 谱图的针对特定应用的数据库中，同时对分析物的色谱保留时间和质谱图进行检索。目前尚无对公众开放的专门针对内源性代谢产物的 EI 数据库。

使用 EI 很难获得分子离子。如果检索的数据库中缺少代谢产物的谱图，由于缺乏分子离子的质量数信息，将很难限定可能的化合物数目。而与此互补的化学电离 (CI) 可以保护分子离子不被破坏，但却缺少像 EI 质谱裂解碎片这样的结构信息。因此 GC/MS 最适合鉴定已知和预期的代谢产物。

GC/MS 系统的运行成本要远低于 LC/MS 系统。

LC/MS 分析

液相色谱可以分离非挥发性和不用衍生化处理的代谢产物。因此，LC/MS 可分析化合物的种类要远远多于 GC/MS。通常被 LC/MS 分析的样品包括氨基酸 (20 种氨基酸中有 18 种可以衍生化，但仍有 2 种不能) 和大于三糖的糖类。

电喷雾电离 (ESI) 和大气压化学电离 (APCI) 是 LC/MS 中最常用的离子化技术。不像 GC/MS 中的 EI，ESI 和 APCI 都会发生离子抑制现象，从而使共流出化合物的响应降低甚至完全无法检测。因此，对于复杂样品，为了获得可靠的 LC/MS 结果往往需要实现更好的分离。LC/MS 不像 GC/MS，它总能形成分子离子，可用于限定给定分析物中可能的化合物数量。

目前还没有用于 LC/MS 化合物鉴定的谱图数据库。然而，LC/MS 分析中总会出现分子离子，因此其质量数可以用来在像 METLIN 这样的代谢物数据库中进行检索。此外，随着精确质量飞行时间质谱的发展，我们能够根据分子离子计算出化合物的经验分子式。要真正明确未知代谢产物的结构，需要在下一步的鉴定过程中，使用 Q-TOF 获得的 MS/MS 质谱裂解数据进行手工从头解析。

LC/MS 最适合用于未知代谢产物研究或者由于挥发性原因不适合使用 GC/MS 进行分析的目标代谢产物研究。

LC/MS 系统的运行成本要远高于 GC/MS 系统。

LC/MS 代谢组学系统订购信息

用于代谢组学研究的 LC/MS 系统相比 GC/MS 系统更加种类繁多。不同类型的

LC/MS 系统适合代谢组学工作流程的不同环节。TOF LC/MS 系统非常适合低成本代谢谱分析。Q-TOF LC/MS 系统也可以用于代谢谱分析，但能同时得到用于鉴定的 MS/MS 数据和精确质量数。三重串联四级杆 LC/MS 系统最适合用于高通量靶向验证。

推荐用于代谢组学研究的 LC/MS 系统

部件号	说明	LC/MS 基本 代谢谱分析系统	LC/MS 高级 代谢谱分析系统	LC/MS 鉴定系统	LC/MS 验证系统
液相色谱					
1260 infinity 二元泵液相色谱系统					
G1312B	二元泵				X ¹
Opt 031	溶剂选择阀				
Opt 030	在线柱塞清洗组件				
Opt 001	启动工具包				
Opt 003	连接管线及附件				
G1379B	真空脱气机				
G1367E	高性能自动进样器				
G1330B	自动进样器温控器				
G1373A	自动进样器增强清洗组件				
G1316C	增强型柱温箱				
Opt 058&960	阀驱动				X ¹
G4232A	ACR 阀				X ¹
Opt 003	毛细管套件				X ¹
G4212B	二极管阵列检测器	X ²	X ²	X ²	X ²
请咨询您的安捷伦色谱柱及配件销售代表 ³					
质谱					
G6224AA	6224 TOF LC/MS, 配有 ESI 源、MassHunter 软件 and 数据处理系统 (电脑)	X			
G6520BA	6520 Q-TOF LC/MS, 配有 ESI 源、MassHunter 工作站软件 and 数据处理系统 (电脑)		X	X	
G6410BA	6410 三重串联四级杆 LC/MS, 配有 ESI 源、MassHunter 工作站软件 and 数据处理系统 (电脑)				X
G1978A	多模式 ESI/APCI 源	X ⁴	X ⁴	X ⁴	X ⁴

1. 对于高通量验证分析，推荐增加第二个泵及 ACR 阀。

2. DAD 可选。

3. 色谱柱及相关配件根据分析样品类型和样品前处理方法不同而不同，您的安捷伦销售代表或者应用工程师会帮助您选择最适合您应用的色谱柱。

4. 升级离子源，可选。

GC/MS 代谢组学系统订购信息

基本的 GC/MS 硬件和软件用于代谢组学工作流程的所有环节。在鉴定系统中增加化学电离配件，可以采集分子离子和碎片信

息。这样有助于鉴定谱图数据库中检索不到的代谢产物。GeneSpring MS 用于代谢谱分析和验证，但无需用于鉴定。

推荐用于代谢组学研究的 GC/MS 系统

仪器	说明	GC/MS 代谢谱 分析系统	GC/MS 鉴定 系统	GC/MS 验证 系统
7890A GC	7890A GC, 带分流/不分流进样口和质谱检测器接口	X	X	X
5975C GC/MS	5975C 惰性 XL 质谱检测器, 配有电子轰击离子源、化学工作站软件和电脑	X	X	X
7000 系列 GC/MSMS	7000 惰性 XL 质谱检测器, 配有电子轰击离子源、化学工作站软件和电脑	X	X	X
5975T Transportable GC/MS	5975T 惰性 XL 质谱检测器, 配有电子轰击离子源、化学工作站软件和电脑	X	X	X
	含有 AMDIS 解卷积软件的 NIST 05 数据库	X	X	X
	GeneSpring 质谱工作站 1 年使用许可	X		X
	5975C 惰性 XL 检测器, 配有 EI/CI 源、化学工作站软件和电脑		X ¹	
	色谱柱及配件	X	X	X

咨询您的
安捷伦
销售代表²

1. 配置 EI/CI 源的 G3245A 可以取代仅有 EI 源的 G3243A。
2. 色谱柱及相关配件根据分析样品类型和样品前处理方法不同而不同，您的安捷伦销售代表或者应用工程师会帮助您选择最适合您应用的色谱柱。

选择指南

安捷伦科技公司是生命科学研究设备的领先供应商，致力于帮助科学家理解复杂的生物过程，确定发病机理和加快新药开发速度。安捷伦的生命科学解决方案专为提高灵敏度、重现性和工作效率而设计，为基因组学、蛋白组学和代谢组学应用提供分析仪器、微流控技术、软件、芯片、耗材以及服务。

了解更多：

www.agilent.com/chem/metabolomics:cn

在线购买：

www.agilent.com/chem/store:cn

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278
400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

customer-cn@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/quote:cn

本文仅限研究使用，不可用于诊断目的。本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

©安捷伦科技（中国）有限公司，2007
2007年2月24日，中国印刷
5989-6328CHCN



第二章

安捷伦代谢组学知名国际期刊发表文章
列举（部分）

第二章. 安捷伦代谢组学知名国际期刊发表文章列举 (部分)

2.1 健康/临床/疾病代谢组学	105
2.1.1 液质联用篇	
☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	105
☞ 三重串联四极杆质谱	107
2.1.2 气质联用篇	110
2.2 植物/微生物代谢组学	112
2.2.1 液质联用篇	
☞ 三重串联四极杆质谱	112
2.2.2 气质联用篇	112
2.3 农业/食品/保健品研究中的代谢组学	114
2.3.1 液质联用篇	
☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	114
☞ 三重串联四极杆质谱	114
2.3.2 气质联用篇	115
2.4 方法学及机理研究中的代谢组学	116
2.4.1 液质联用篇	
☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	116
☞ 三重串联四极杆质谱	119
2.4.2 气质联用篇	
2.5 药物发现中的代谢组学	120
2.5.1 气质联用篇	
2.6 中药代谢组学	121
2.6.1 液质联用篇	
☞ 三重串联四极杆质谱	121
2.7 环境/毒理研究中的代谢组学	122
2.7.1 气质联用篇	



2.1 健康/临床/疾病代谢组学

2.1.1 液质联用篇

☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱

1. 用非靶向脂代谢谱分析鉴定乙肝病毒复制细胞中过量的胆固醇前体

Rodgers MA, Saghatelian A, Yang PL *J Am Chem Soc.* 2009 Apr 15; 131(14): 5030-1

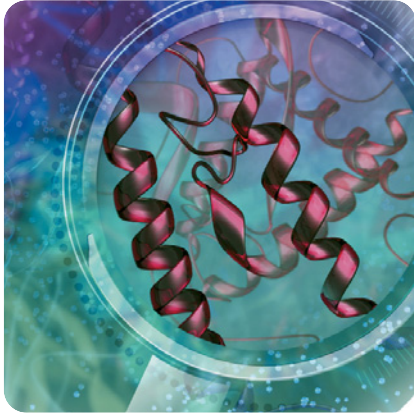
摘要：病毒依赖宿主脂代谢通路进行成功复制，目前这些通路作为潜在的抗病毒药物研究的治疗靶标，日益引起人们的关注。除此之外，关于病毒感染对细胞脂代谢的影响，人们也知之甚少，还没有找到被病毒利用的特定脂代谢物。我们采用基于非靶向代谢谱分析的液相色谱-质谱法，鉴定了被乙肝病毒（一种重要的人类病原体）的复制显著改其稳态丰度的脂代谢产物。非靶向代谢谱分析表明，虽然主要脂类未受 HBV 影响，但在 HBV 阳性细胞中一个 367 m/z 的离子丰度增高了 18 倍。通过离子裂解质谱分析以及与标准品共进样，鉴定出这一离子为 7-脱氢胆固醇 (7-DHC)，一种胆固醇直接脱氢前体。虽然过去已经证明胆固醇在许多病毒的复制中非常重要，但本研究首次发现病毒复制与选择性的 7-DHC 蓄积有关。迄今为止大多数病毒学研究都采用了去除所有甾醇的方法，以排除病毒病原体对甾醇的任何选择性利用。我们的研究表明，HBV 可能选择性地利用了 7-DHC 而不是其它甾醇，进而用实验探讨这种富集的功能性意义，并解释其机制。结果表明非靶向代谢谱分析作为鉴定病毒感染关键代谢物方法具有重要价值。

2. 用 LC-MS 分析冬眠期黄鼠肝脏代谢组学

Nelson CJ, Otis JP, Martin SL, Carey HV. *Physiol Genomics.* 2009 Mar 3; 37(1): 43-51. Epub 2008 Dec 23.

摘要：哺乳动物冬眠的标志特征是其代谢的灵活性，最典型的是可逆性的代谢抑制（冬眠）和从夏到冬的季节性地代谢转变，从以碳水化合物代谢为主转变为以脂肪代谢为主。为了对冬眠期控制和结局的关系进行研究，我们采用 LC/MS 代谢组学方法，测定了黄鼠肝脏小分子在 5 种活性状态（夏季、进入冬眠期、冬眠后期、冬眠苏醒期，及恢复清醒期）下的差异。在季节和冬眠-复苏周期中，酶辅因子代谢、氨基酸代谢和嘌呤、嘧啶代谢均发生明显变化，所测的代谢物水平均在冬眠过程中降低，在复苏时升高。多种脂类也发生了变化，包括 1-油酰基磷脂酰胆碱、胆固醇硫酸酯和鞘氨醇等，在冬眠时最低，而十六烷基二酸在冬眠过程中发生蓄积。结果显示几类代谢都发生了明显改变，说明了代谢组学分析在揭示冬眠表型中的重要作用。





3. 用代谢组学鉴定丙酸代谢异常病人的代谢紊乱

Wikoff WR, Gangoti JA, Barshop BA, Siuzdak G. Clin Chem. 2007 Dec; 53(12): 2169-76. Epub 2007 Oct 19.

摘要：我们用非靶向代谢组学质谱法研究了甲基丙烯酸甲酯血症 (MMA) 和丙酸血症 (PA)。方法：我们采用非靶向的、基于质谱的代谢组学筛查平台研究 MMA 和 PA 患者和正常人血浆样品的甲醇提取物，寻找代谢谱中有显著差异的特征分子。将毛细管反相液相色谱 (4 微升/分钟) 与 TOF 质谱仪联用，用非线性校正软件 (XCMS) 和一个在线数据库 (METLIN) 进行数据处理，以发现和鉴定与疾病相关的差异代谢物。结果：在测定的约 3500 个特征化合物中，丙酰左旋肉碱被很容易地鉴定为疾病最佳标志物 (P 值为 1.3×10^{-18})，表明非靶向代谢组学可用于临床化学发现的实证研究。

另外有 5 种脂肪酰肉毒碱代谢物在患者和正常人血浆中也呈显著差异，部分患者的 丁内酸盐呈显著增高。MMA 和 PA 之间两种脂肪酰肉毒碱和多个未鉴定化合物存在明显差异。许多在正常、MMA 和 PA 之间有显著差异的代谢物从公共数据库中并没有查到，因而还不能鉴定，这些差异表明某明酶缺乏造成了复杂的下游代谢的改变。结论：本实证研究表明，代谢组学研究可以扩大疾病相关代谢物的范围，本方法可能有助于疾病的诊断和病人的临床评价。

4. 代谢组学分析探讨肠道微生物对哺乳动物血浆代谢物的巨大影响

Wikoff WR, Anfora AT, Liu J, Schultz PG, Lesley SA, Peters EC, Siuzdak G. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Mar 10; 106(10): 3698-703. Epub 2009 Feb 20.

摘要：虽然人们早已认识到人体远端肠道菌群对人体健康具有广泛影响，但产生这些影响的具体生化机制还不明确。本文报导了一项广泛的基于质谱的代谢组学研究，揭示了“肠道微生物组”对哺乳动物血浆代谢物的令人惊讶的巨大影响。用各种 MS 方法，对无菌大鼠和普通动物的血浆提取物进行了比较。1 组样品中即检测出了几百种特征化合物，其中大部分与普通动物不同，约 10% 的特征化合物在两组样品间的相对信号强度有显著变化。氨基酸代谢物受到的影响特别大。例如，细菌介导产生的色氨酸衍生的生物活性的含咪唑代谢物，如咪唑磺酸酯和抗氧化剂咪唑 3-丙酸 (IPA) 受到影响。结果显示 IPA 的产生完全取决于肠道微生物是否存在，可以由生孢梭菌菌落诱导产生。肠道微生物存在时，多种含苯基的有机酸也明显增加。研究显示，宿主对肠道微生物组产生的代谢物表现出广泛的、类似药物的 II 期代谢响应，提示，肠道微生物生态对宿主的药物代谢功能有直接影响。总体而言，这些结果说明细菌与哺乳动物代谢之间存在明显的相互作用。

5. 通过脑脊液代谢组分析研究 SIV 感染恒河猴中枢神经系统中磷脂酶表达的变化

Wikoff WR, Pendyala G, Siuzdak G, Fox HS. J Clin Invest. 2008 Jul; 118(7): 2661-9.

摘要：HIV 能在感染早期侵入中枢神经系统 (CNS)，在疾病晚期引发痴呆和脑炎。本文采用总体代谢组学方法查找并鉴定了 SIV 诱导 CNS 疾病的恒河猴脑脊液中的差异调节代谢物，我们推断可将其作为病毒诱导 CNS 损伤的生物标志物。筛查平台采用非靶向、基于质量的代谢组学方法，首先采用毛细管反相色谱分离，再用电喷雾电离进行精确质量测定，然后用新的非线性数据校正和在线数据库筛查鉴定代谢物。对病毒感染前后的 CSF 进行了对比。发现 SIV 诱导脑炎的代谢组有明显变化。在感染引发脑炎期间增加的代谢物包括肉碱、乙酰肉碱、脂肪酸和磷脂分子等。游离脂肪酸和溶血磷脂的水平与脑炎动物脑中特异性磷脂酶表达增加相一致。其中，一种能释放大量的已知脂肪酸的磷脂酶 A2 同功酶，在神经胶质激活的脑的不同区域，而不是与 SIV 感染和炎症相关的区域表达增加，提示感染后的脑部存在广泛的变化。对特异性代谢物的出现及其表达增加机制的解读，说明基于质量的代谢组学方法可用于解决 CNS 生化和神经病毒学，以及神经退化疾病方面的问题。

6. 嗜嗜热菌环境适应中转录组、蛋白质组和代谢组的相互关联

Trauger SA, Kalisak E, Kalisiak J, Morita H, Weinberg MV, Menon AL, Poole FL 2nd, Adams MW, Siuzdak G. *J Proteome Res.* 2008 Mar; 7(3): 1027-35. Epub 2008 Feb 2.

摘要: 我们用转录组 (DNA 微阵列)、蛋白质组和代谢组分析对一种模式生物嗜嗜热菌从 95 °C (最适温度) 到 72 °C 低温适应时的总体分子变化进行了全面表征。相同组别样品的代谢谱分析表明, 许多代谢物出现下调。但也发现一些代谢物明显上调。我们用一种利用精确质量、同位素模式、数据库检索和保留时间的方法对几种感兴趣的代谢物进行了鉴定。结果发现许多上调的代谢物都属于一条非经典多胺生物合成通路, 该通路是之前在一种嗜热嗜热菌中发现的。根据天然代谢物和高纯度标准品的精确质量数、同位素模式和二者在相同条件下 MS/MS 数据的匹配度, 明确鉴定出了精氨酸、胍丁胺、亚精胺和支链多胺 N4-氨基丙基胍丁胺和 N4-(N-乙酰氨基丙基) 胍丁胺。用 DNA 微阵列和非标记质谱计数的半定量蛋白质组分析显示, 大部分下调的基因具有多种与生长相关的预期功能, 如转录、氨基酸生物合成和翻译。但通过测量相关 mRNA 和蛋白质的水平, 也发现某些基因上调。上述用各种“组学”技术所得到的信息可用于阐释总体分子变化及其内在关联。

7. DNA 免疫干扰脂代谢, 增加粥样硬化的风险

Yang F, Yan S, Wang F, He Y, Guo Y, Zhou Q, Wang Y, Zhang X, Zhang W, Sun S. *J Proteome Res.* 2008 Feb; 7(2): 741-8. Epub 2008 Jan 1.

摘要: 除常规疫苗接种外, DNA 介导的免疫已成为预防和治疗包括乙肝在内的感染性疾病的另一种方法。为了确定几组能够用于 DNA 疫苗有效性和安全性评估的血清蛋白质和代谢物生物标志物, 用综合的多系统生物学方法对分别接种 DNA 疫苗、重组蛋白、质粒载体和磷酸盐缓冲液的大鼠进行了研究。用双向电泳和 HPLC-飞行时间质谱对其血清进行了分析。我们检测出 DNA 免疫大鼠的血清中植物鞘氨醇、二氢鞘氨醇、棕榈酰肉碱和神经酰胺升高, 并且有 7 种蛋白分子发生了改变, 包括载脂蛋白 A-I 前体。总体来看, 这些结果提示 DNA 疫苗刺激了肝脏鞘脂合成, 后者可能改变循环脂蛋白的结构并促进动脉粥样硬化。本研究还证实了代谢组学和蛋白质组学在确定 DNA 疫苗介导的代谢表型中具有重要作用。

☞ 三重串联四极杆质谱

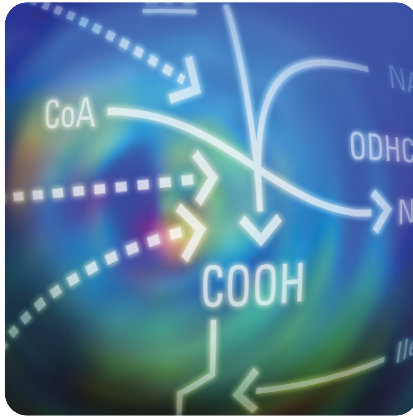
1. 多种方法分析斑马鱼 (*Danio rerio*) 肝脏代谢谱

Ong ES, Chor CF, Zou L, Ong CN. *Mol Biosyst.* 2009 Mar; 5(3): 288-98. Epub 2008 Dec 24.

摘要: 用多种平台方法, 包括 ¹H NMR、GC/MS 和 LC/MS, 对雄性和雌性斑马鱼 (*Danio rerio*) 的肝脏生化谱进行了代谢组学研究。测定前验证了三种方法的重现性和可靠性。某种方法检测到的主要生物分子, 再用其它方法进行交叉验证。这些代谢物包括用 ¹H NMR 和 GC/MS 测定的碳水化合物、脂类、氨基酸, 用 ¹H NMR 和 LC/MS 测定的乙酰肉碱、胆碱和各种磷脂。我们的结果表明, ¹H NMR 能够提供了斑马鱼肝脏中葡萄糖、氨基酸、丙酸酯和其它小分子生化组分的全面信息。另外, GC/MS 适用于分析



胆固醇、饱和和不饱和脂肪酸, 而 LC/MS 最适合分析脂类/磷脂。这些技术显示, 雄性和雌性斑马鱼肝组织提取液的生化谱有明显差异。特别地, 我们注意到虽然雄性和雌性斑马鱼肝脏的碳水化合物谱没有明显区别, 但氨基酸谱差异却相当明显。另外, 三种技术的数据表明, 虽然饱和脂肪酸谱相似, 但两种表型中不饱和脂肪酸谱却不同。上述结果提示, 这种多平台方法可对代谢组进行全面检测, 并为人们理解生物系统中差异性生化谱的意义提供了有价值的信息。



2. 1H 核磁共振和液相色谱/质谱法结合模式识别技术研究蛋白尿相关的代谢谱
Law W, Huang P, Ong ES, Sethi S, Saw S, Ong CN, Li S. J Proteome Res.
2009 Feb 2. [Epub ahead of print]

摘要: 用 1H NMR 和 LC/MS 法, 结合模式识别工具, 如主成分分析 (PCA) 和潜在结构判别正交投影分析 (O-PLS-DA, orthogonal projection to latent structure discriminant analysis), 对正常人群尿蛋白增高相关的尿代谢谱进行了研究。1H NMR 和 LC/MS 中得到的标准化峰强度用非参数双尾 Mann-Whitney 检验, 以确定尿蛋白增高相关的潜在生物标志物的网络关系。证明了用 1H NMR 和 LC/MS 检测指定代谢物的特异性。我们初步获得的实验数据显示, LC/MS 可以得到更有特色的代谢谱图。患者组中, 丙氨酸、犬尿酸和黄尿酸的变化可能与色氨酸代谢的改变相关。同时, 患者组中参与三羧酸循环、氨基酸代谢和细胞功能的其它代谢物也受到了影响。本方法能

够对尿蛋白增高所引起的代谢变化进行了全面描述, 证明了采用多种诊断标志物的优势。同时, 目前的工作表明, 本方法有望用于临床, 是一种经济的带有模式识别工具的高通量分析解决方案。

3. 罗格列酮在糖尿病肾病治疗中降低肾脏和血浆氧化损伤标志物水平并逆转尿代谢物异常

Zhang H, Saha J, Byun J, Schin M, Lorenz M, Kennedy RT, Kretzler M, Feldman EL, Pennathur S, Brosius FC 3rd.
Am J Physiol Renal Physiol. 2008 Oct; 295(4): F1071-81. Epub 2008 Jul 30.

摘要: 最近的研究显示, 噻唑烷二酮类药物对糖尿病肾病 (DN) 的改善与其对高血糖症的作用无关。在本研究中, 我们对低剂量链脲佐菌素诱导的糖尿病 DBA/2J 小鼠使用罗格列酮, 结果 DN 发展出现抑制并出现多个氧化损伤标志物的逆转。这些糖尿病小鼠患糖尿病 12 周后尿蛋白增高 14.2 倍, 肾小球细胞间质增生 53%。注射链脲佐菌素 2 周后开始罗格列酮给药, 可使这些改变大大缓解。罗格列酮不影响血糖控制。罗格列酮给药对糖尿病 24 周的胰岛素治疗小鼠也有类似作用。罗格列酮作用于 12 和 24 周糖尿病模型后抑制了足细胞减少和肾小球纤维连接蛋白聚集, 及其它早期 EN 标志物。令人惊讶的是, 糖尿病动物中肾小球 GLUT1 水平没有增加, 而肾蛋白 nephrin 水平也未下降; 罗格列酮对其变化也没有影响。胰岛素治疗的 24 周糖尿病动物的蛋白氧化和脂质过氧化的血浆和肾脏标志物仍明显升高, 而罗格列酮可使其水平接近正常。最终, 尿代谢物因糖尿病而明显改变。用电喷雾电离飞行时间质谱鉴定了 1,988 种代谢物, 其中 56 种在糖尿病小鼠中有 2 倍以上的改变。其中的 21 种经罗格列酮治疗恢复正常。因此, 罗格列酮能够直接作用于肾小球, 以减少活性氧的聚集, 从而防止 1 型糖尿病小鼠发展成 DN。

4. 可溶性环氧化物水解酶是人体疾病大鼠模型心力衰竭的敏感因素

Monti J, Fischer J, Paskas S, Heinig M, Schulz H, Gösele C, Heuser A, Fischer R, Schmidt C, Schirdewan A, Gross V, Hummel O, Maatz H, Patone G, Saar K, Vingron M, Weldon SM, Lindpaintner K, Hammock BD, Rohde K, Dietz R, Cook SA, Schunck WH, Luft FC, Hubner N. Nat Genet. 2008 May; 40(5):529-37.

摘要: 我们的目的是用人体疾病大鼠模型研究与心力衰竭相关的基因变异。我们对用杂交 F2 代自发性高血压心脏衰竭 (SHHF) 大鼠和对照组大鼠进行了介入性心脏血液动力学测量。我们将连锁分析与全基因组表达谱分析结合, 从 SHHF 大鼠中鉴定出 Ephx2 为心力衰竭易感基因。特别是, 我们发现 Ephx2 与心力衰竭及转录表达、蛋白表达和酶活性增高呈顺式变化, 导致心脏保护性环氧二十碳三烯酸的快速水解。为了验证这一结果, 我们用基因敲除小鼠研究了 Ephx2 在心脏衰竭中的作用。Ephx2 基因敲除对压力诱导的心力衰竭和心律失常有保护作用。我们进一步证明了在人心力衰竭中 EPHX2 的差异调节, 提示在这类复杂疾病中 Ephx2 的物种间交叉作用。

5. 转基因先兆子痫大鼠模型的子宫血管功能

Verlohren S, Niehoff M, Hering L, Geusens N, Herse F, Tintu AN, Plagemann A, LeNoble F, Pijnenborg R, Muller DN, Luft FC, Dudenhausen JW, Gollasch M, Dechend R. Hypertension. 2008 Feb;51(2):547-53. Epub 2008 Jan 14.

摘要: 我们研究了肾素-血管紧张素系统激活的转基因先兆子痫大鼠模型的子宫内发育迟缓、内皮功能和子宫动脉血流量特征。我们对怀孕的先兆子痫 (SD-PE) 大鼠、怀孕的正常大鼠和未怀孕的正常大鼠进行了比较。通过经腹超声发现, SD-PE 胚胎子宫内发育迟缓。剥离 SD-PE 大鼠子宫动脉, 与苯肾上腺素一起孵育, 显示收缩响应增加, 与对照组相比, 单次高剂量乙酰胆碱的血管舒张作用减弱。低剂量时, 乙酰胆碱剂量增加能够促进 SD-PE 血管舒张, 但在高剂量乙酰胆碱作用下, 却引起反常收缩。消炎痛和血栓烷受体拮抗剂 (SQ 29,548) 能够阻断这一作用, 提示为母系遗传的前列腺素依赖的内皮机能障碍。与正常怀孕 SD 大鼠或未怀孕 SD 大鼠相比, SD-PE 大鼠血清中前列环素 (6-酮基-前列腺素 F1): 血栓烷比例降低。出乎意料的是, 与正常怀孕的 SD 大鼠相比, SD-PE 大鼠怀孕期间其多普勒阻力指数降低, 提示其子宫动脉胎盘血流量未减少。所有各组中的脐血流量未随舒张末期血流缺失而改变。肾素-血管紧张素系统激活诱导的先兆子痫与胎盘改变、阻力指数改变及内皮功能障碍有关。前列环素: 血栓烷的比例失调可能是一个重要因素。

6. 用液相色谱/三重串联四极杆质谱多反应监测检测并定量人血清中脂溶性维生素及代谢物

Priego Capote F, Jiménez JR, Granados JM, de Castro MD. Rapid Commun Mass Spectrom. 2007; 21(11):1745-54.

摘要: 建立了用液相色谱/电喷雾电离串联质谱 (LC/ESI-MS/MS) 正离子模式测定人血清中脂溶性维生素 K(1), K(3), A, D(2), D(3) 和 E (和维生素 E) 及代谢物 25-羟基维生素 D(2) 和 D(3), 以及 1,25-二羟基维生素 D(3) 的方法。利用母离子到子离子的最典型跃迁, 高选择性地鉴定了血清中的目标化合物。通过对每个分析物最灵敏的跃迁离子进行定量 MS/MS 多反应监测分析, 以获得低检测限 (血清浓度从 0.012 到 0.3 ng/mL)。分析使用 1 mL 血清, 先沉淀蛋白, 然后经液-液萃取入有机相, 蒸发干燥后用甲醇复溶。整个方法的精密度日内变异为 3.17-6.76%, 日间变异为 5.07-11.53%。方法通过标准品检测进行了验证, 证实能够提供临床和代谢组学研究感兴趣的脂溶性维生素谱的全部信息。

7. 通过液相色谱串联质谱测定血清中的泛醇-10 和泛醌-10 (辅酶 Q10) 评价氧化应激

Ruiz-Jiménez J, Priego-Capote F, Mata-Granados JM, Quesada JM, Luque de Castro MD. J Chromatogr A. 2007 Dec 21; 1175(2): 242-8. Epub 2007 Oct 25.

摘要: 建立了快速并且同时测定人血清中泛醌-10 (辅酶 Q10, CoQ(10)) 及其还原型泛醇-10 (CoQ(10)H(2)) 的 LCMS-MS 正离子模式电喷雾电离方法。通过监测从母离子到子离子的跃迁实现了对两种分析物的高选择性鉴定和高灵敏度定量。在色谱分析之前, 对血清样品 (100 微升) 进行了蛋白沉淀、液-液萃取、蒸发干燥和用 95:5 甲醇/己烷 (V/V) 复溶等常规前处理。整个方法 CoQ(10) 和 CoQ(10)H(2) 的血清最低检测限分别达 5.49 和 15.8 ng/mL。通过检测加标血清检验了准确度和潜在的基质效应, 测得回收率在 92.82 到 106.97 % 之间。将此方法用于健康中年女性血清样品的测定, 将 CoQ(10)H(2)/CoQ(10) 比值作为衡量氧化应激的标志物。

2.1.2 气质联用篇

1. 用气相色谱质谱联用对肝移植大鼠血清和肝脏代谢组进行综合分析

Wang Y, Tao Y, Lin Y, Liang L, Wu Y, Qu H, Liang T, Cheng Y. Anal Chim Acta. 2009 Feb 2;633(1):65-70. Epub 2008 Nov 25.

摘要: 在本文中, 我们报导了一个研究肝移植大鼠血清和肝脏组织异常代谢过程的代谢组学方法。为雄性 Lewis 大鼠进行了同基因移植。分别在移植 1、3 和 7 天后取血清和移植的肝脏, 用气相色谱质谱联用法 (GC-MS) 对内源性代谢物进行分析。经验证, 该方法具有良好的线性范围、精密度和重现性。使用该方法鉴定出血清中的 34 种代谢物和肝脏中的 29 种代谢物。相关性分析结果表明肝脏和血清中具有相似功能的代谢物出现了类似的变化。主成分分析 (PCA) 显示了时间相关的生化改变。根据现有研究可以提出原位肝移植病理生理机制中的特异通路。

2. 化学衍生后采用气相色谱质谱联用研究肝癌病人的血清代谢组

Xue R, Lin Z, Deng C, Dong L, Liu T, Wang J, Shen X. Rapid Commun Mass Spectrom. 2008 Oct;22(19):3061-8.

摘要: 本文的目的是研究肝癌 (HCC, n=20) 男性病人和正常男性 (n=20) 之间的血清代谢差异。经衍生化修饰后用气相色谱/质谱 (GC/MS) 检测血清代谢组。所收集的 GC/MS 数据用逐步判别分析法 (SDA) 和支持向量机 (SVM) 进行分析。多种代谢物包括丁酸、乙亚胺酸、甘油、L-异亮氨酸、L-缬氨酸、氨基丙二酸、D-赤藓糖、十六酸和 9,12-二烯十八酸, 在两组中呈现明显差别。利用这些差别, 我们的方法给出了能够完全判别 HCC 病人和正常人的诊断模型。更重要的是, 每组的错误计数为 0%。经 SVM 20 折交叉验证, 判别功能的聚类准确度为 75%。这项技术与传统方法不同, 有望成为 HCC 诊断的有用工具。

3. 用相异性指数、主对应分析和秩检验建立人体汗液代谢组气相色谱/质谱峰列表

Xu Y, Gong F, Dixon SJ, Brereton RG, Soini HA, Novotny MV, Oberzaucher E, Grammer K, Penn DJ. Anal Chem. 2007 Aug 1; 79(15):5633-41. Epub 2007 Jun 30.

摘要: 代谢组学中的主要工作是运用主成分分析法 (PCA) 和偏最小二乘法, 首先确定样品是否处于大组之中。但是, 分析化学家很少处理单独的指纹识别问题, 为了更有效地进行这一工作, 需要研究大量小组别, 而不是少量大组别, 并需要本文所报导的不同方法。另外, 许多哺乳动物和人的代谢组学研究涉及到分析只在某部分样品中存在的化合物 (或色谱峰), 而 PCA 的常规方法不适宜处理稀的基质, 可能会有很多个 0。但可以通过主对应分析 (principal coordinates analysis (PCO)), 可以开发出大量定性相似度测量方法, 来完成这一工作。可以看出, PCA 值是采用定量相似度测量的 PCO 值的特例。我们用将近 1000 个人体汗液标本的气相色谱/质谱分析数据进行了大样本研究, 这些标本来自 Carinthia (南奥地利) 200 个不同个体, 10 周内每两周取样一次, 并按家庭分组。第一步是制作了一张色谱峰列表, 需要进行色谱峰识别、校准和积分。从 5080 个峰中选出了 373 个, 这些峰至少在某个人连续 5 次的取样中存在 4 次。进行定性 (存在与否) 和定量 (相当于 PCA) 相似度测量计算。对这些相似度矩阵进行 PCO 和 Kolomorogov-Smirnoff (KS) 秩检验。结果表明这些数据组中存在可重现的个体指纹, 最好用 Hotelling t₂ 统计的 PCO 值和 KS 秩检验相关的可能性赋值表示的定性相似度来表示。

4. 肾上腺功能初现的尿液标志物: 3-18 岁正常人参考值

Remer T, Boye KR, Hartmann MF, Wudy SA. J Clin Endocrinol Metab. 2005 Apr;90(4):2015-21. Epub 2005 Jan 25.

摘要: 目前还没有正常人生长过程中尿中排泄脱氢表睾酮 (DHEA) 及其直接代谢产物的信息。我们用气相色谱-质谱尿类固醇谱分析, 无创研究了 400 名 3-18 岁正常人肾上腺功能初现的代谢组。在 7-8 岁之前 24 小时尿中 DHEA 的分泌水平无明显增加。但 DHEA 与其 16-羟基化下游代谢物, 16-羟基-DHEA 和 3-羟基-DHEA 和 3, 16, 17-雄烯三酮 (DHEA&M), 以及 DHEA 代谢物, 5-雄烯-3, 17-二醇 (ADIOL), 以及总的尿雄激素代谢物 (C19) 从最小年龄组到最大年龄组均出现持续升高。从 3 岁到 8 岁, 男性和女性

24 小时尿液排泄的 C19、ADIOL 和 DHEA&M 增加了 2 到 4 倍 ($P < 0.01$)。例如, 在这一阶段, DHEA&M 从 20 毫克/日升高到 80 毫克/日 ($P < 0.0001$)。到 16 岁, DHEA&M 分泌继续增加到接近 1000 毫克/日。评估了类固醇生成酶的活性状态 (根据尿类固醇代谢物的特定比值), 包括 21 羟化酶、3-羟基类固醇脱氢酶、17-羟基类固醇脱氢酶和 5 还原酶。我们的结果表明, 正常男孩和女孩肾上腺功能初现是一个渐进过程, 它的出现明显早于目前公认的时间。DHEA 的有效代谢, 尤其是生成 16 羟基化类固醇, 或许可以解释 7-8 岁前体内 DHEA 水平的恒定。我们所给出的 DHEA、DHEA&M、ADIOL、C19 (包括雄激素和雌激素), 以及尿中类固醇生成酶活性参数的参考值, 有助于了解肾上腺功能初现的渐进成熟过程中营养、环境和病理生理的相互关系。这些数据还可以作为类固醇相关疾病的诊断参考值。

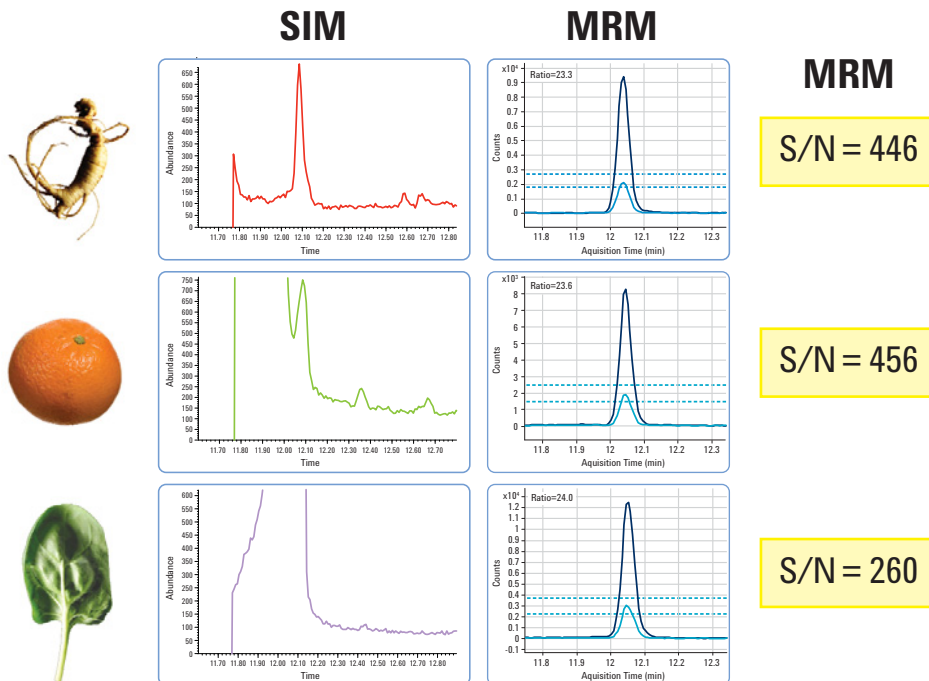
5. 异戊酸血症相关氨基酸异常产生的 19 种新代谢物的鉴定

Loots DT, Erasmus E, Mienie LJ. *Clin Chem*. 2005 Aug; 51(8): 1510-2.

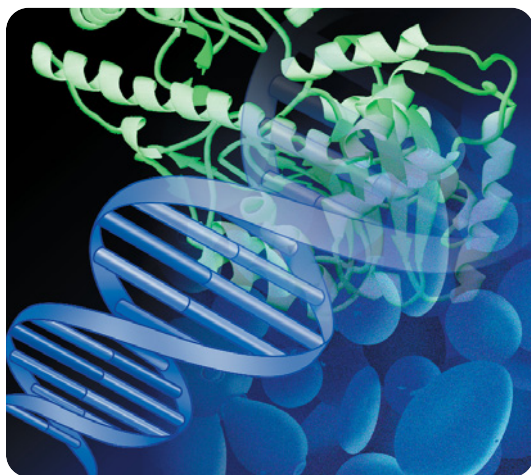
6. 用 1H NMR 和 GC/MS 研究蚯蚓接触亚致死量 DDT 和硫丹后的代谢谱变化

McKelvie JR, Yuk J, Xu Y, Simpson AJ and Simpson MJ *Metabolomics* 2009 5:84–94

摘要: 用质子磁共振 (1H NMR) 和主成分分析 (PCA) 表征了蚯蚓 (赤子爱胜蚓) 对两种农药 (双对氯苯基三氯乙烷 (DDT) 和硫丹) 的代谢响应。PCA 载荷散点图显示, 给药组 (两种化合物给药剂量 0.5, 1.0 和 2.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) 与对照组之间主要的差异代谢物有麦芽糖、亮氨酸和丙氨酸。用气相色谱/质谱 (GC/MS) 对赤子爱胜蚓中的代谢物进行了定量, 以确定麦芽糖、亮氨酸和丙氨酸对 DDT 和硫丹响应 (0.5 和 1.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) 的改变是否可重复, 是否大于自然变异。GC/MS 的定量结果显示, 麦芽糖不是可靠的生物标志物, 因为蚯蚓接触 DDT 时它的含量有的增加有的减少, 而接触硫丹时也仅增加 3%。亮氨酸在本研究所用的 GC/MS 衍生反应中不稳定, 不能确定为可靠的生物标志物。然而, 丙氨酸在赤子爱胜蚓接触 DDT 和硫丹两种杀虫剂时却一致性地增加。对照组蚯蚓中丙氨酸含量呈相当大的波动 ($\pm 41.6\%$), 而丙氨酸与甘氨酸的比值变异只有 $\pm 10.5\%$ 。1.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ DDT 和 0.5 与 1.0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 硫丹作用下, 丙氨酸与甘氨酸的比值相比对照组有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示丙氨酸与甘氨酸比例偏离正常稳态值 1.5, 可以作为进一步研究 DDT 和硫丹接触的潜在生物标志物。



2.2 植物/微生物代谢组学



2.2.1 液质联用篇

☞ 三重串联四极杆质谱

1. 饱和极长链脂肪酸通过活化乙烯生物合成促进棉纤维和拟南芥细胞伸长 Qin YM, Hu CY, Pang Y, Kastaniotis AJ, Hiltunen JK, Zhu YX. *Plant Cell*. 2007 Nov; 19(11): 3692-704. Epub 2007 Nov 9.

摘要：脂肪酸是所有有机体膜生物合成的基本物质，并在许多动物中充当信号分子。在这里，我们发现向胚胎培养基中加入外源性的饱和极长链脂肪酸 (VLCFAs; C20:0 到 C30:0)，可明显促进棉花 (*Gossypium hirsutum*) 纤维细胞伸长，而能够抑制 VLCFA 生物合成的乙草胺 (2-氯-N-[乙氧甲基]-N-[2-乙基-6-甲基苯基]-乙酰胺; ACE)，可抑制纤维生长。木蜡酸 (C24:0) 可以对抗这种抑制。伸长中的纤维具有比野生型或无絮突变胚胎中

明显增高的 VLCFA 含量。乙烯不能被 ACE 抑制，而 C24:0 在乙烯生物合成抑制剂 (1-[2-氨基乙氧基乙烯基]-甘氨酸) 存在时不活跃，表明 VLCFA 可能在乙烯上游发生作用。C24:0 诱导 ACO (1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶) 转录水平快速、明显升高，从而使乙烯大量产生。C24:0 还促进了后期丝氨酸十六酰转移酶的表达，从而增加鞘脂生物合成。C24:0 的应用不仅刺激拟南芥根细胞生长，而且能够弥补 cut1 表型。CUT1 背景中编码棉 3-酮脂酰-辅酶 A 合成的 Gh KCS13/CER6 的转基因表达，也能得到类似结果。拟南芥茎伸长的促进伴随着 ACO 转录本水平的增加。所以，VLCFA 可能通过激活乙烯生物合成参与棉纤维和多种拟南芥细胞类型的最大化生长。

2.2.2 气质联用篇

1. 拟南芥 10-甲酰基四氢叶酸去甲酰酶在光呼吸作用中的重要性

Collakova E, Goyer A, Naponelli V, Krassovskaya I, Gregory JF 3rd, Hanson AD, Shachar-Hill Y. *Plant Cell*. 2008 Jul; 20(7):1818-32. Epub 2008 Jul 15.

摘要：在原核生物中，PurU (10-甲酰基四氢叶酸 [THF] 去甲酰酶) 在嘌呤和甘氨酸生物合成中将 10-甲酰基 THF 代谢成甲酸和 THF。拟南芥基因组含有两个公认的 purU 基因，At4g17360 和 At5g47435。同时敲除这些基因后，植物会比野生型更小、颜色更浅。在上述基因双敲除 (dKO) 的植物中甘氨酸水平提高了 70 倍，5-和 10-甲酰基 THF 水平持续增长。dKO 的胚胎在胚芽和早期子叶形成阶段发育终止。dKO 的成熟种子外表皱缩，内含脂质少，且不能发芽。但 dKO 只是在某些条件下导致死亡，并且在无光呼吸的环境下可被生长所修复。另外，培育的 dKO 长角果在蔗糖存在的条件下可恢复正常的胚胎发育和种子活性，提示种子和胚胎的发育表型是母体效应的结果。我们的发现与光呼吸中 At4g17360 和 At5g47435 蛋白的参与相符，这两种蛋白能阻止 5-甲酰基 THF 过量蓄积，是甘氨酸脱羧酶/丝氨酸羟甲基转移酶复合物的潜在抑制剂。去除编码多功能 5,10-亚甲基 THF 脱氢酶/5,10-次甲基 THF 环水解酶 (作用于 5-甲酰基 THF 形成的上游) 的 At2g38660 基因后，dKO 植物恢复了其野生型表型，进一步证明了这一点。

2. 颤杨叶片生长中库源过渡的代谢谱分析

Jeong ML, Jiang H, Chen HS, Tsai CJ, Harding SA. *Plant Physiol.* 2004 Oct; 136(2): 3364-75.
Epub 2004 Sep 24.

摘要: 对杨树 (*Populus tremuloides* Michx.) 叶片生长库源过渡带的小分子极性代谢物进行了比较。250 到 300 个常规分离峰的约 25% 得到了鉴定, 其中丰度最高的有碳水化合物、有机酸和氨基酸。其中三分之二的代谢物在叶片生长过程中呈 4 倍以上的变化。在光合成和光呼吸测量中, 代谢谱数据得到的信息与碳异养和碳自养代谢预测趋势相一致。Suc 浓度在整个展叶期均增高, 而六碳糖的浓度在展叶中期达到峰值, 然后锐降。展叶期间氨基酸浓度普遍降低, 但苯丙氨酸在初期增高, 随后甘氨酸和丝氨酸增高, 分别反映了生长对二级代谢和光呼吸的影响。苹果酸盐浓度和天门冬酰胺转移酶活性的持续改变标志着硝酸盐的吸收和贮存的天门冬酰胺的利用。主成分分析和聚类分析有助于对涉及碳和氮吸收动态变化的细胞壁成熟(果胶质、半纤维素和草酸盐)和细胞膜生物发生相关的标志物进行分组。代谢谱分析将促进对库源发育期间生长方式和碳分配模式以及对刺激应有很大差别的杨树的氮利用和细胞发育研究。



3. 气相色谱/质谱法在微生物代谢组学中的应用

Koek MM, Muilwijk B, van der Werf MJ, Hankemeier T. *Anal Chem.* 2006 Feb 15; 78(4): 1272-81

摘要: 建立了用于细菌代谢组学分析的方法, 包括肟化和硅烷化衍生反应及后续的气相色谱与质谱联用分析。微生物基质中含有许多可能干扰生化或分析过程的化合物, 如高浓度盐、复杂基质或缓冲液组分, 或浓度很高的底物及产物。用不同微生物, 如枯草杆菌、费氏丙酸杆菌和大肠杆菌对这一方法进行了广泛验证。本法能够分析许多类别的代谢物: 醇类、醛类、氨基酸、胺类、脂肪酸、(含磷-)有机酸、糖类、糖酸、(酰基-)糖胺、糖磷酸盐、嘌呤、嘧啶和芳香化合物等。实验证明衍生反应有效(>50% 转化为衍生形式) 而且可重复(相对标准偏差 <10%)。大多数代谢物的线性度令人满意, 回归系数大于 0.996。定量限为柱上 40-500 pg, 或微生物细胞(干重) 0.1-0.7 mmol/g。一般情况下, 细胞提取物代谢物分析的批内精密度和批间精密度的(重现性) 分别优于 10 和 15%。尽管该方法并非靶向手段, 并且微生物基质成分复杂, 但大多数代谢物的分析结果均能满足生物分析中靶向分析的要求。通过分析不同生长期的大肠杆菌样品验证了该方法的适用性。

2.3 农业/食品/保健品研究中的代谢组学

2.3.1 液质联用篇

☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱

1. 用 LC/TOF-MS 对培养基和干无花果培养真菌的二级代谢物进行快速分析

Senyuva HZ, Gilbert J, Oztürko lu S. *Anal Chim Acta*. 2008 Jun 9; 617(1-2): 97-106. Epub 2008 Jan 16.

摘要: 建立了液相色谱-飞行时间质谱 (LC/TOF-MS) 分析真菌代谢谱的方法。通过向空白培养基中添加黄曲霉素、赭曲霉素、单端孢霉烯族毒素和其它代谢物, 考察了方法的质量准确度、选择性(特异性)和重现性。经过提取和 LC/TOFMS 分析后, 用一个专门构建的含 465 个二级代谢物的数据库对标准品进行了正确鉴定。用在各种培养基上生长 7-14 天的 11 种产毒真菌和 4 种非产毒真菌验证了方法的可行性。还用本法检测了两种在 γ 射线照射灭菌的干无花果中培养 7-14 天的产毒真菌 *A.flavus* (200-138) 和 *A. parasiticus* (2999-465)。取附带部分培养基或干无花果的菌丝样品, 用溶剂法提取, 然后用快速分离微径 LC 柱进行 LC/TOF-MS 分析。数据用聚类分析进行处理, 结果表明, 用电喷雾 (ESI)-TOF-MS 可以对粗提的代谢物进行明确鉴定。采用基础代谢物数据库, 可以鉴定培养基分离液中的预期代谢物。方法快速而简便, 可用于每日监测灭菌无花果中这些代谢物的浓度。在 14 天当中, 黄曲霉素和曲酸在 5-6 天时达到最大值, 而 5-甲氧基柄曲霉素则保持相对恒定。除了预计产生的已知代谢物, 还鉴定出了异烟棒曲霉素 A、烟曲霉素、烟曲霉文 B、畸形素(多肽)、曲霉酸、土曲菌酮、青地霉素和青霉酸。

☞ 三重串联四极杆质谱

1. 利用液相色谱/三重串联四极杆质谱多反应监测优化离子选择评估油橄榄类保健品

Luján RJ, Capote FP, Marinas A, de Castro MD. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2008; 22(6): 855-64

摘要: 选定了对橄榄树原料提取物中最受重视的亲水性生物酚进行鉴定和定量的最佳跃迁离子, 该生物酚因其保健功能而受到重视。测试原料为特级初榨橄榄油、榨油后的废料(通常称为 alperujo), 以及橄榄树材料, 如树叶、小枝和果核。采用配备三重串联四极杆(QQQ)质量检测器的液相色谱/串联质谱(LC/MS/MS)对目标生物酚进行检测和定量。色谱仪和QQQ之间的接口为负离子模式电喷雾离子源。对最具代表性的母离子转化为不同子离子的离子跃迁进行多反应监测(MRM), 验证了本方法对生物酚的高特异性鉴定能力。用每个分析物优选的最灵敏的离子跃迁进行定量 MS/MS 分析, 各提取物的检测限为 5.10 到 11.65 ng/mL 不等。用不同方法从检测样品中提取生物酚: 初榨橄榄油用液液萃取、橄榄叶、树枝和果核用微波辅助浸出、废弃物用加压液体浸出。本研究所提供的信息将有助于了解分离各种保健生物酚的最适合原料及橄榄的完整成分谱。



2. 葡萄果实中多酚的快速分离液相色谱/质谱检测和定量

Cavaliere C, Foglia P, Gubbiotti R, Sacchetti P, Samperi R, Laganà A. Rapid Commun Mass Spectrom. 2008 Oct; 22(20):3089-99.

摘要: 建立了葡萄皮和葡萄籽中多酚的快速分离液相色谱/质谱 (RRLC/MS) 检测和定量方法。无果肉葡萄皮用液氮处理, 并研磨; 对葡萄籽也进行研磨。然后取 3 g 样品用 30 mL 甲醇/水/甲酸 70:30:1 (v/v/v) 超声下提取, 将 1 微升最终提取物注入两根串联的 100 x 2.1 mm 内径, 1.8 微米 Zorbax Eclipseplus C18 柱中。用酸化的乙腈/甲醇 50:50 (v/v) /水进行梯度洗脱, 对化合物进行分离。柱温恒定在 70 °C。用配置电喷雾离子源的安捷伦 6410 三重串联四极杆质谱仪进行质谱分析。采用正离子和负离子 MS/MS 子离子扫描进行化合物鉴定, 采用 m/z 范围 200-1400 的正离子全扫描质谱进行定量。通过对质谱图进行比对, 鉴定出了多种黄酮醇、黄烷-3-醇、花青素和芪类化合物。用外标法进行定量, 浓度值扣除了基质效应, 基质效应由其它实验检测。对没有市售标准品的化合物进行了半定量测定。回收率为 90-102%, 相对标准偏差 (RSD) <5%, 样品之间的 RSD 为 4-12%。用两种代用标准品进行质量控制。用上述方法比较了三种成熟期和贮存 6 周的酿酒葡萄中的多酚的含量。结果显示, 贮存过程中多酚含量减少了一半。

3. 采用气相色谱/质谱、液相色谱/质谱和 (1)H NMR 研究饮用绿茶后的人尿代谢组学的变化

Law WS, Huang PY, Ong ES, Ong CN, Li SF, Pasikanti KK, Chan EC. Rapid Commun Mass Spectrom. 2008 Aug; 22(16):2436-46.

摘要: 用气相色谱/质谱 (GC/MS)、液相色谱/质谱 (LC/MS) 和 (1)HNMR 法, 结合模式识别技术如主成分分析 (PCA), 研究了饮用绿茶后的人尿代谢谱的变化。根据 GC/MS 和 LC/MS 中得到的标准化峰面积和 (1)H NMR 得到的峰高, 采用统计学分析鉴定潜在的生物标志物。GC/MS 的代谢谱分析提供了代谢物不同的定量特征, 可以用于表征人体尿样中的分子变化。对 LC/MS 和 (1)H NMR 测定的饮用绿茶前后人体尿样代谢物标准化代谢组学数据进行比较, 其中重叠峰的存在证明了这一方法及标准化程序的可靠性。LC/MS 与 (1)H NMR 数据高度一致, 表明 LC/MS 对早期洗脱代谢物的离子抑制效应并不明显。同时, 也证明了 (1)H NMR 和 LC/MS 对指定代谢物检测的特异性。我们的数据显示, 饮用绿茶后, 与糖代谢、三羧酸循环和氨基酸代谢相关的许多代谢物立刻受到影响。这一方法更为完整地反映了饮用绿茶后人尿的代谢物变化。这种多分析方法与模式识别工具的组合是研究植物萃取液及药用植物摄入后代谢谱变化的有用平台。

2.3.2 气质联用篇

1. 田间栽培转基因小麦实质等同性的代谢组学研究

Baker JM, Hawkins ND, Ward JL, Lovegrove A, Napier JA, Shewry PR, Beale MH. Plant Biotechnol J. 2006 Jul; 4(4): 381-92.

摘要: 为检测表达额外高分子量亚单位基因的三种转基因小麦及相应亲本系 (两个品系加无效转化体) 的“实质等同性”, 我们连续 3 年对英国两地 (Rothamsted, Hertfordshire 和 Long Ashton, near Bristol) 重复田间试验的栽培样品进行了代谢谱分析。对氘代甲醇-水提取的极性代谢物进行质子核磁共振谱多变量对比, 表明地点和年份的影响比基因型更大。但仍然可以看到转基因和亲本品系之间的区别, 特别是转基因品系 B73-6-1 (其转基因表达水平最高) 与其亲本品系 L88-6 之间。图谱的比较显示, 转基因品系中的麦芽糖和/或蔗糖水平高, 游离氨基酸差异也很明显。采用气相色谱-质谱法测定了生长于 2000 年样本的详细氨基酸组成。最显著的差异是生长于 Rothamsted 的样品含大量酸性氨基酸 (谷氨酸、天门冬氨酸) 及其酰胺 (谷氨酰胺、天门冬酰胺)。此外, 生长于 Long Ashton 的相关品系 L88-6 和 B73-6-1 的脯氨酸和氨基丁酸的水平比生长于 Rothamsted 的要高。结果清楚地表明, 环境能够对代谢组产生影响, 而且对对照组和转基因组之间的差异, 一般都不会超出对照品系在不同地区和不同年份的差异范围。

2.4 方法学及机理研究中的代谢组学

2.4.1 液质联用篇

👉 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱

1. 一种鉴定蛋白质-代谢物相互作用的总体代谢谱分析方法

Tagore R, Thomas HR, Homan EA, Munawar A, Saghatelian A J
Am Chem Soc. 2008 Oct 29; 130(43): 14111-3. Epub 2008 Oct 3

摘要: 了解蛋白质的生化功能是评价其细胞和生理功能的重要因素。鉴于生物大分子相互作用在生物学上的重要地位,人们已设计出了许多研究和鉴定与 DNA、RNA 和其它蛋白发生生物相互作用的蛋白质的方法。而一些补充方法可以评价蛋白质和小分子代谢物之间的相互作用,将对理解蛋白质-代谢物相互作用产生影响,并填补了当前方法的空白。在这里,我们用一个总体代谢谱分析平台,结合蛋白介导的小分子富集步骤,能够分析复杂代谢混合物中天然蛋白-代谢物的相互作用。



2. 用分子式和 METLIN 个人代谢物数据库匹配对 LC/TOF-MS 得到的数据进行化合物鉴定

Sana TR, Roark JC, Li X, Waddell K, Fischer SM. J Biomol Tech. 2008 Sep; 19(4): 258-66.

摘要: 为了简化从液相色谱-飞行时间质谱所得代谢组学数据中鉴定化合物的步骤,我们编写了构建个人代谢物数据库的软件,该数据库包含从公共 METLIN 数据库 (<http://metlin.scripps.edu/>) 中获取的 15,000 多种化合物。此外,我们还为数据库增添了其它功能,如,(a) 用户可以在数据库中添加保留时间并将其作为独立的检索参数,作为精确质量数检索的补充;(b) 可以外接独立的分子式生成软件 (MFG),为精确质量质谱数据与数据库的匹配提供可靠的解释。为了验证这一鉴定策略的实用性,我们将 78 个合成尿标准品的保留时间添加到该数据库的子集中。然后对这些合成物的混合物进行分析并用上述 METLIN 尿数据库筛查,结果有 46 个的精确质量和保留时间都匹配。接下来,在同样条件下用该数据库对人体尿液样品进行了分析和筛查。人体尿液中共检测到 1387 个离子;其中有 16 个的精确质量数和保留时间与数据库相匹配。另有 374 个只有精确质量数与数据库匹配,其中 163 个质量数的 MFG 分值最高。另外, MFG 计算出了与数据库无法匹配的 849 个离子的分子式。总体而言,这些结果表明 METLIN 个人代谢物数据库和 MFG 软件为验证数据库匹配化合物的分子式提供了可靠的策略。对于数据库无法匹配的离子,也会提出可能的分子式,可能对实验结果的解释有所帮助。

3. 使用氢化硅胶基质固定相对亲水性代谢物进行高效液相色谱-质谱分析

Pesek JJ, Matyska MT, Fischer SM, Sana TR. J Chromatogr A. 2008 Sep 12; 1204(1): 48-55. Epub 2008 Jul 31.

摘要: 用一种新型氢化硅胶基质固定相评价了代表三类代谢物的标准品在含水正相 (ANP) 模式中保留行为。通过改变柱温、向流动相和样品溶剂中加入不同添加剂,考察了氨基酸、碳水化合物和小分子有机酸保留行为的改变。梯度模式所得结果表明,这些类别的化合物保留时间重现性非常稳定。在 15 和 30 °C 条件下,氨基酸混合物重复进样 50 次测得 RSD 值良好,变异小于 1%。验证了这种填料分离 19 种未衍生氨基酸标准品、有机酸和碳水化合物的能力,并证明其具有分离复杂液体(如尿液)中极性代谢物的潜在能力。

4. 采用多模式电离质谱策略解读代谢组学的复杂性

Nordström A, Want E, Northen T, Lehtiö J, Siuzdak G. *Anal Chem.* 2008 Jan 15; 80(2): 421-9. Epub 2007 Dec 18.

摘要: 本文介绍了一种分析人血清提取物的多模式质谱策略。将色谱分离与正、负离子两种模式的大气压电离技术——电喷雾电离 (ESI) 和大气压化学电离 (APCI) 在线联用。另外, 还通过组分收集和离线质谱法, 将分离与表面基质辅助激光解吸附/电离 (MALDI) 和多孔硅表面解吸附质谱 (DIOS) 结合。用 XCMS 软件对原始数据进行处理, 得到与时间对应的离子特征, 定义为特定保留时间的特定 m/z 。通过对比 ESI 和 APCE+/- 模式所获得的 LC/MS 离子特征列表, 得到特征离子列表。将非冗余的特征离子定义为, 在相同保留时间内用其它电离方法未观察到 $[M + H]^+$ 、 $[M - H]^-$ 或 $[M + Na]^+$ 离子的质量数。用 ESI+/- 两种模式分析血清提取物, 可以使 (-) ESI 模式检测到的额外特征离子增加 90% 以上。用 APCI 辅助 ESI 分析, 可以使特征离子数增加 20%。最后, 将 ESI/APCI 电离与馏分收集和离线 -MALDI 和 DIOS 质谱法相结合。将 LC-MS 总离子流色谱中相当于收集的馏分的各部分加总, 将得到的 m/z 列表与 DIOS/MALDI 质谱图所得到的 m/z 列表进行比较。可以看出, 每个馏分 DIOS 能检测到的特定离子约占 50%。结果表明, 真正全面的代谢组学, 需要采取多种电离技术, 以解决固有的代谢物多样性造成的代谢组学研究的复杂性。

5. 稳定同位素辅助确定代谢组学的元素组成

Hegeman AD, Schulte CF, Cui Q, Lewis IA, Huttlin EL, Eghbalnia H, Harms AC, Ulrich EL, Markley JL, Sussman MR. *Anal Chem.* 2007 Sep 15; 79(18): 6912-21. Epub 2007 Aug 21.

摘要: 如何从生物提取物中成千上万个代谢物混合物中鉴定出单个化合物, 是代谢组学技术的最大难题。质谱对于大范围的丰度和分子量信息具有高灵敏度, 但其局限是不能区分同重化合物。本文中, 我们在使用同位素标记方法解析元素组成的前期研究 (Rodgers, R. P.; Blumer, E. N.; Hendrickson, C. L.; Marshall, A. G. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2000, 11, 835-40) 基础上, 通过对比不同同位素组合培养条件下一 (I) $(^{12}C$ 和 $(^{14}N$ (天然丰度)、(II) $(^{12}C$ 和 $(^{15}N$ 、(III) $(^{13}C$ 和 $(^{14}N$ 或 (IV) $(^{13}C$ 和 (^{15}N) ——拟南芥代谢提取物的成分, 用精确质量测量限定了相符的分子式。通过分析用两种方法得到的 4 种提取物的精确质量数据, 在大幅度提高的质量范围内确定了唯一的元素组成。在第一种方法中, 使用包含 11000 种已知的活细胞化合物的数据库, 用四种同位素组合各自的计算值进行代谢物质量匹配, 第二个方法是用代谢物质量数在计算得到的质量中进行检索, 限定所有四种同位素组合的可能的原子组合。在两个方法中, 每个标记状态所得到的元素组成表, 对比其 HPLC 保留特征, 找到至少在 3 种组合中一致的元素组成, 进一步确定共同的分子式。结果表明, 可以用代谢物标记方法进一步限定可能的分子式, 在更大的质量范围内提高分子式解析的可信度。

6. 提高红细胞代谢组 LC/MS 检测覆盖率的样品提取和色谱策略

Sana TR, Waddell K, Fischer SM. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2008 Aug 15; 871(2): 314-21. Epub 2008 Apr 26.

摘要: 从生物基质中对物理化学性质差异巨大的代谢物进行可重复而全面的样品提取和检测, 是一个极具挑战性的过程。我们建立了一种单独的 LC/MS 分离方法, 采用 2.1 mm x 100 mm, 1.8 微米 ZORBAX SB-Aq 柱分离人红细胞代谢物, 样品提取溶剂 pH 为中性, 或调节至 pH 2、6 或 9。为了追踪样品提取效率, 添加了内标进行评价。通过正 (+) 负 (-) 离子模式电喷雾电离 (ESI) 和大气压电离 (APCI) 技术联用, 在各 pH 条件下共检测出 2370 个特征离子 (化合物及相关组分: 同位素、加合体和二聚体)。在下列条件下检测到的代谢组覆盖较宽: (1) pH 2 和 9, 总的特征离子比单独 pH 7 条件下检测到的特征离子增加了 92%; (2) 所有 pH 下联用 APCI 可使检测到的特征离子比单用 ESI 检测的总数增加 34%。可以看出, 提取溶剂 pH 对原血红素和其它化合物有明显影响, 指出代谢谱实验中需要采用全面的样品提取策略并进行 LC/MS 分析。

7. XCMS2: 处理串联质谱数据进行代谢物鉴定和结构表征

Benton HP, Wong DM, Trauger SA, Siuzdak G. *Anal Chem.* 2008 Aug 15; 80(16): 6382-9. Epub 2008 Jul 16.

摘要: 代谢组学质谱法代表着生物信息学技术发展的一个新领域。虽然目前使用的计算工具, 如 XCMS 可以通过统计评估和排列 LC-MS 特征离子, 但还是不能提供结构鉴定方面的信息。XCMS(2) 是一个开放的资源软件包, 用于从参考数据库 (MELIN) 所含已知代谢物的高质量实验 MS/MS 数据中自动检索串联质谱 (MS/MS) 数据。命中分值的计算是基于“共有峰计数 (shared peak count)”法, 即鉴定分析 MS/MS 图谱和参考图谱之间同有的碎片离子数。XCMS(2) 的另一功能是可以提供 METLIN 数据库中没有的未知代谢物的结构信息。这种“相似性检索”方式, 专为检测未知代谢物中可能的结构基序而设计, 这些代谢物可能产生与 METLIN 所含参考化合物相关的特征碎片离子和中性丢失, 甚至母离子质量并不相同。

8. 用反相液相色谱-质谱和体外 (13) C 标记同时定量测定中心碳代谢和能量代谢相关的代谢物

Yang WC, Sedlak M, Regnier FE, Mosier N, Ho N, Adamec J. *Anal Chem.* 2008 Nov 14. [Epub ahead of print]

摘要: 细胞内代谢物的全面分析是阐释细胞内生物过程的重要手段。虽然反相液相色谱-质谱法 (RPLC-MS) 的分辨率和灵活性已使其成为代谢物分析最强大的工具, 但即使是最简单的代谢组, 其结构的多样性仍对分析提出了巨大的挑战。本文报导了一种实用的 RPLC-MS 方法, 用于鉴定和定量检测各类代谢物, 包括糖、磷酸化糖, 以及羧酸到磷酸化羧酸、核苷酸和同功酶等。本法利用 (13) C 标记的标签进行体外衍生, 从而实现内标定量, 并能从单次色谱分析中分离出结构异构体化合物对 (如葡萄糖-6-磷酸盐和果糖-6-磷酸盐)。各代谢物的校正曲线线性范围在 2 个数量级以上, 相关系数 $R(2) > 0.9975$ 。大多数化合物信噪比为 3 时检测限低于 1.0 μM (20 pmol)。鉴定并定量测定了酵母裂解液中三种与糖酵解、戊糖磷酸盐通路和三羧酸循环相关的常见代谢物, 相对标准偏差小于 10%。

9. 鉴定一种新的内源性代谢物, 并用固定方法表征其与蛋白质的相互作用

Kalisiak J, Trauger SA, Kalisiak E, Morita H, Fokin VV, Adams MW, Sharpless KB, Siuzdak G. *J Am Chem Soc.* 2009 Jan 14; 131(1):378-86.

摘要: 新兴的基于质谱的总体代谢组学研究领域为发现未知代谢物及其特异性的生化通路提供了平台。我们报导了一种新内源性代谢物, N(4)-(N-乙酰氨基丙基) 亚精胺的鉴定, 并利用新的蛋白质组学方法将代谢物固定在琼脂糖微球上, 研究其与蛋白质的相互作用。从嗜热菌中分离代谢物, 通过与合成的候选分子之间相互作用进行结构表征, 用精确质量 LCMS/MS 进行对比分析。建立了选择性制备 N(1) 热精胺 (未知代谢物的可能结构之一) 的方法, 通过在热精胺骨架的 N(8) 和 N(4) 位进行甲基化制备新的多胺衍生物。用代谢物固定并与天然蛋白孵育的方法研究了新代谢物, 以及其它两种多胺: 亚精胺和胍丁胺的生化作用。鉴定了 11 种与 N(4)-(N-乙酰氨基丙基) 亚精胺特异性结合的蛋白质, 为研究这一新代谢物在天然有机体中的作用提供了信息。鉴定的蛋白质包括假定蛋白 PF0607 和 PF1199, 以及参与翻译、DNA 合成和尿素循环的蛋白质, 如翻译启动因子 IF-2、50S 核糖体蛋白 L14e、DNA 指导的 RNA 聚合酶, 以及鸟氨酸氨甲酰基转移酶。这里报导的固定方法对其它通过非靶向代谢组学发现的新的内源性代谢物具有潜在应用价值, 可作为初步筛查, 得到可以进一步研究其特异活性的蛋白列表。

10. 总体 exo 代谢组学分析的跨平台 Q-TOF 验证: 应用于标准 PI 3-激酶抑制剂 LY294002 处理的人胶质母细胞

Pandher R, Ducruix C, Eccles SA, Raynaud FI. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2008 Dec 6. [Epub ahead of print]

摘要: 评价了检测肿瘤细胞代谢物变化的一种代谢组学方法的重现性。在安捷伦和 Waters LC-Q-TOF 仪器上用反相色谱分析了组织培养基提取物, 色谱柱为 Waters Acquity T3 柱, 用 0.1% 甲酸: 乙腈 13 分钟梯度洗脱。用 MarkerLynxtrade mark (Waters) 和 Molecular Feature Extractor (安捷伦) 软件提取正离子和负离子模式的特征离子 (m/z , RT)。两个仪器上得到的特征离子数相近, 10 次分析的重现性变异 $< 35\%$, 以正/负离子模式检测的所有离子的信号变异分别约为 50% 和 40%。添加到基质中的外标其峰面积的日内及日间变异 $< 25\%$ 。87MG 胶质母细胞在 PI 3-激酶抑制剂 LY294002 的作用下, 几种已证实的特征离子呈明显变化。其中包括甘油磷酸胆碱, 已由 NMR 证明其受 LY294002 调节, 说明这项技术具有发现生物标志物的能力。

三重串联四极杆质谱

1. 用亲水相互作用色谱/串联质谱法定量测定皮下组织微透析液中的乙酰胆碱

Fu B, Gao X, Zhang SP, Cai Z, Shen J. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2008 May; 22(10): 1497-502.

摘要: 最近有报导乙酰胆碱在组织炎症调节方面发挥重要作用。为了进一步探讨这一新发现的类胆碱能抗炎途径, 需要追踪组织中乙酰胆碱的浓度变化。本文报导了一种亲水相互作用色谱与电喷雾电离串联质谱 (HILIC/ESI-MS/MS) 联用方法, 用于分离和定量测定正常与局部炎症大鼠微透析液样品中的乙酰胆碱。采用两性固定相色谱柱等度洗脱实现了乙酰胆碱与干扰性内源性化合物和无机阳离子的分离。用正离子模式的低能量碰撞诱导解离串联质谱 (CID-MS/MS) 分析, 采用以下质量跃迁进行多反应监测 (MRM): 乙酰胆碱 m/z 146 \rightarrow 87, 内标乙酰胆碱 D-9 m/z 155 \rightarrow 87。乙酰胆碱的柱上检测限为 0.075 fmol (信噪比 3:1)。柱上最低定量限为 0.25 fmol。绘制了乙酰胆碱在空白微透析液中的校正曲线, 线性范围为 0.025-50 nM 和 0.025-0.5 nM, 相关系数分别等于或大于 0.9994 和 0.9969。高浓度 (2 nM) 和低浓度 (0.5 nM) 乙酰胆碱的回收率分别为 90-96% 和 95-109%。日内和日渐重现性的变异系数分别等于或小于 7.3% 和 10.4%。已将本方法成功地用于正常和炎症大鼠组织微透析液中乙酰胆碱的测定。

2. 反相液相色谱与电喷雾串联质谱联用分析未衍生的多胺

Häkkinen MR, Keinänen TA, Vepsäläinen J, Khomutov AR, Alhonen L, Jänne J, Auriola S. *J Pharm Biomed Anal.* 2007 Nov 30;45(4):625-34. Epub 2007 Sep 7.

摘要: 建立了一种能够分离和检测经最少前处理, 未经衍生的多胺样品的反相液相色谱-电喷雾电离-串联质谱法。在 MS/MS 分析前, 用七氟丁酸作为挥发性离子对改性剂进行线性梯度洗脱, 对多胺进行完全色谱分离, 向柱流出物中添加含 75% 丙酸的异丙醇溶液, 以防止信号抑制。此方法成功用于重组人多胺氧化酶催化反应中 N(1), N(12)-二乙基精胺代谢物的鉴定, 并检测了标准混合物中的 8 种不同多胺。

3. 固体废弃物中极性和非极性化合物的同步微波辅助固-液萃取

Pérez-Serradilla JA, Japón-Luján R, Luque de Castro MD. *Anal Chim Acta.* 2007 Oct 17; 602(1): 82-8. Epub 2007 Sep 14.

摘要: 使用甲醇-水和正己烷提取剂系统, 用微波辅助提取 (MAE) 从固体废弃物中同时分离极性和非极性化合物。使用多变量方法学建立了优化的提取条件。14 分钟内完成目标组分 (酚类化合物和脂肪酸) 的定量提取。两相浸出和分离后进行离心, 分别用 LC-MS-MS 和 GC-MS 分析极性和非极性组分。将此方法与参考方法 (Folch 方法和搅拌法分别提取脂肪酸和生物酚) 针对每个组分分离的分离效率和提取物组分进行了对比。考虑到这两类组分的重要性, 以及 MAE 法的简便性和原料的低成本, 建议在工业规模推广此法。

2.4.2 气质联用篇

1. GC/MS 数据中保守代谢物的系统鉴定, 在代谢组学和生物标志物发现中的应用

Styczynski MP, Moxley JF, Tong LV, Walther JL, Jensen KL, Stephanopoulos GN. *Anal Chem.* 2007 Feb 1; 79(3): 966-73.

摘要: 通过气相色谱-质谱 (GC/MS) 测定分析代谢谱数据时, 要进行结构鉴定和代谢物追踪, 通常依赖于代谢物质谱图的参考谱库。通常, 计数和追踪未鉴定代谢物的技术不够系统, 需要进行手工干预。我们提供了一种方法和软件, 您可以从以下网址 <http://spectconnect.mit.edu> 免费下载, 不需要参考谱库, 也不用手工干预, 即可系统地检测样品之间的保守组分。我们通过正确鉴定已知混合物中的组分和分辨加入到混合物中的组分, 对方法进行了验证。最后, 我们用本方法对大肠杆菌代谢组进行的简单的分析。在运行数据分析方法之前, 系统地列出了保守代谢物峰, 我们的方法扩展了代谢组学的范围, 促进了生物标志物的发现。

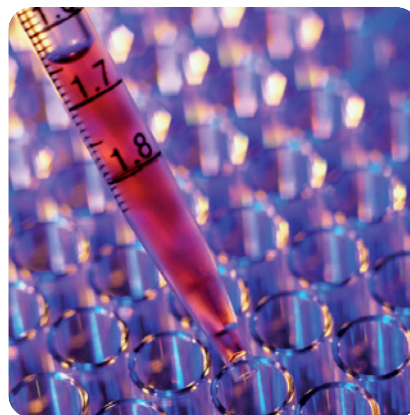
2.5 药物发现中的代谢组学

2.5.1 气质联用篇

1. 酿酒酵母——一种抗病毒药物筛选中优选宿主靶标的辅助工具——代谢谱研究

Schneider K, Krömer JO, Wittmann C, Alves-Rodrigues I, Meyerhans A, Diez J, Heinzle E. *Microb Cell Fact.* 2009 Jan 30; 8:12.

摘要：某些正链病毒的复制需要细胞蛋白 Pat1p、Lsm1p 和 Dhh1p，因此这些蛋白可以作为新型抗病毒药物的潜在靶标。为了优选宿主靶标进行抗病毒药物筛选，我们对酿酒酵母标准株 BY4742、Matalpha、his3Delta1、leu2Delta0、lys2Delta0、ura3Delta0 和缺失突变株 pat1Delta、lsm1Delta 和 dhh1Delta 进行了比较代谢组学分析。结果：GC/MS 分析能够对 47 种极性代谢物进行定量，并鉴定出其中的 41 种。通过对特征结构进行了偏最小二乘分析 (PLS-DA)，鉴定了两种病毒株之间存在明显差异的代谢物。分析表明，pat1Delta 与标准株之间的最小差异可以用标准化峰面积的欧几里得距离表征。该株的生长速度和乙醇与甘油的产生速度也最为相似。结论：根据这些结果，我们推断人酵母类似物 Pat1p 最有可能成为良好的药物靶标。



2.6 中药代谢组学

2.6.1 液质联用篇

☞ 三重串联四极杆质谱

1. 丹参毛状根培养中紫草酸 B 对银离子 (Ag^+) 的响应比迷迭香酸更强

Xiao Y, Gao S, Di P, Chen J, Chen W, Zhang L. *Biosci Rep.* 2009 Feb 11. [Epub ahead of print]

摘要: 紫草酸 B (LAB) 是迷迭香酸 (RA) 的二聚体, 已有研究提出其由 RA 衍生而成, 但其具体的生物合成过程尚不清楚。已有众多文献针对紫草科和唇形科植物中 RA 的蓄积进行了深入研究。我们的研究报导了一种非生物激发因子— 银离子 (Ag^+ , 15 mM) 不能引起 RA 蓄积, 但能显著提高培养的丹参毛状根中 LAB 的量 (从干重 5.4% 到 18.8%), 而且其含量在处理后每个时间点都明显升高。同时, 进行了 RA 合成通路相关基因和代谢物 (中间体) 的谱型分析, 结果显示, 几种基因转录本和代谢物发生蓄积, 具有与 LAB 生成相一致的短暂丰度变化。由此推断出从 RA 到 LAB 的生物合成途径 (假说), 这一途径可能被丹参毛状根培养液中的 Ag^+ 激活。进一步进行了中间体监测和化合物干预实验, 以评价这一假说。我们的研究首次为证明 RA 是 LAB 合成的前体提供了证据。



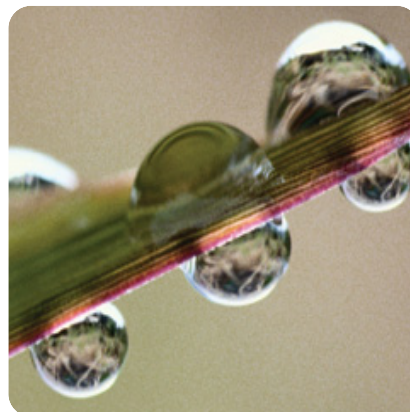
2.7 环境/毒理研究中的代谢组学

2.7.1 气质联用篇

1. 美国人血浆样品中多溴联苯醚的羟基化代谢物

Qiu X, Bigsby RM, Hites RA. *Environ Health Perspect.* 2009 Jan; 117(1): 93-8. Epub 2008 Aug 1.

摘要：背景：本实验室此前的研究表明，多溴联苯醚 (PBDE) 在小鼠体内代谢为羟基化 PBDEs，其中对-HO-PBDEs 丰度最高，是潜在毒性最高的代谢物。目的：本研究的目的是测定意外接触或因工作关系接触这类阻燃剂的怀孕女性及其新生儿血浆中的 HO-PBDEs 浓度。方法：从印第安纳印第安纳波利斯的一家医院中取得 20 份人血浆样品，用电子捕获负离子化气相色谱质谱检测 PBDEs 和 HO-PBDEs 含量。结果：人血浆中 HOPBDEs 的代谢谱与小鼠中完全不同；5-HO-BDE-47 和 6-HO-BDE-47 是丰度最高的 BDE-47 代谢物，而 5'-HO-BDE-99 和 6'-HOBDE-99 是丰度最高的 BDE-99 代谢物。前体和相应代谢物的相对浓度表明，BDE-99 比 BDE-47 和 BDE-100 更容易代谢。另外，还检测出三种溴代酚，为双酚醚骨架的断裂产物。总羟基化代谢物相对于其 PBDE 前体的比例在 0.10 到 2.8 之间，提示 PBDEs 的羟基化代谢物会在人血浆中发生蓄积。结论：人与鼠完全不同的 PBDE 代谢谱表明，不同的酶参与了其代谢过程。虽然人血浆中 HO-PBDE 代谢物的浓度很低，但这些代谢物可能会发生蓄积。





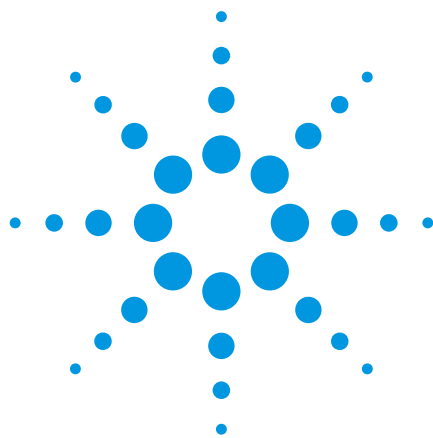
第三章

安捷伦代谢组学应用文章列举（部分）

第三章. 安捷伦代谢组学应用文章列举 (部分)

3.1 农业/食品/保健品研究中的代谢组学	
液质联用篇	125
☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	
3.2 健康/临床/疾病代谢组学	
3.2.1 液质联用篇	141
☞ 飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱	
3.2.2 气质联用篇	149





3.1 农业/食品/保健品研究中的代谢组学

液质联用篇

飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱

水稻白叶枯病的代谢谱分析

作者

Steven Fischer
高级应用化学家
安捷伦科技公司
美国加利福尼亚州圣克拉拉市

Theodore Sana
高级研究员
安捷伦实验室
美国加利福尼亚州圣克拉拉市

摘要

水稻（亚洲稻 *Oryza sativa* 和非洲稻 *Oryza glaberrima*）是世界上最重要的粮食作物之一，为超过 30 亿人提供食物。由水稻白叶枯菌（*Xoo*, *Xanthomonas oryzae* *pv.* *oryzae*）引起的水稻白叶枯病（BLB）可导致作物减产高达 50%。目前，使用抗性水稻品种是抵抗白叶枯病最经济、最有效的方法。*Xoo* 和水稻之间的相互作用是由水稻中的抗性基因和 *Xoo* 中的致病性无毒基因决定的。

为了更好地了解水稻白叶枯病的感染和免疫机制，本文进行了与感染和抗性相关的代谢物鉴定。采用两个水稻品种进行了研究：一个是容易受到 *Xoo* 菌株 PX099 感染品种 TP309；另一个是抗性转基因品种 TP309-Xa21。此外，还进行了 PX099 中敲除 *raxST* 基因对转基因 TP309-Xa21 抗性效果影响的评价，其中设置了相应的对照样品。

采用两步 LC/MS 法。首先采用飞行时间质谱（TOF MS）进行样品的快速差异表达分析，然后采用四级杆飞行时间（Q-TOF MS/MS）质谱进行差异表达代谢物的靶向鉴定。不同的水稻/细菌条件获得了迥然相异的代谢物谱。根据少数几个代谢物的变化可明确区分水稻品种及其感染状况。

引言

水稻（亚洲稻 *Oryza sativa* 和非洲稻 *Oryza glaberrima*）是世界上超过 30 亿人的主要食物。超过 6 亿人从食物获得的热量中，有超过一半都是由水稻提供的。水稻是仅次于小麦和玉米的第三大经济作物。2005 年，全世界生产了 7 亿吨水稻，市值 1200 亿美元。据估计，由于细菌、真菌和病毒引起的病害会导致世界水稻减产 50%。在 2005 年，由于病害导致了 3 亿吨水稻损失。

在非洲和亚洲，最严重的水稻细菌性病害是由水稻白叶枯菌 (*Xoo*, *Xanthomonas oryzae* *pv.* *oryzae*) 引起的白叶枯病 (BLB) (图 1)。BLB 是有记载的最古老的水稻病害之一，一个多世纪以来一直是个难题。*Xoo* 通过水滴在水稻作物之间和区域之间迅速传播。被感染的病叶从起斑、变黄到枯萎只需要几天时间。在感染严重的地区，白叶枯病会使农民损失掉一半的收成。

培育和种植含主要抗性基因的水稻品种是对抗 BLB 最有效的办法。其中一种抗性基因 *Xa21* 已被成功地克隆到 Taipei 309 (TP309) 水稻品种中。¹ 一旦克隆成功，*Xa21* 基因可以通过自花授粉传到



图 1. 水稻白叶枯病叶片 (左) 和正常叶片 (右)

下一代。*Xa21* 基因控制编码的蛋白质具有富亮氨酸重复基序和类丝 / 苏氨酸激酶结构域，这意味着该蛋白受体可在细胞表面识别病原体配体并激活细胞内的防御反应。该受体能直接或间接地“识别”由致病菌产生的相应的无毒 (*avr*) 基因编码产物信号，本例中的无毒 (*avr*) 基因编码产物为 *Xoo* 的 *AvrXa21* 多肽。由此可推测，该受体配体复合物的形成能激活阻止病原体侵入的防御机制的信号级联放大反应。²

TP309-*Xa21* 抗性水稻必须在 *AvrXa21* 多肽存在的条件下才能激活免疫反应，避免被 *Xoo* 感染。*Xoo* 中 *raxST* 基因编码的类磺基转移酶蛋白是产生 *AvrXa21* 多肽的必需蛋白质。本实验中使用了两种菌株：一种是能产生 *AvrXa21* 肽，含 *raxST* 基因的 PX099 致病性 *Xoo* 菌株 (图 2)；另一种是敲除 *raxST* 基因，不产生 *AvrXa21* 肽的 PX099-*raxST*⁻ 菌株。

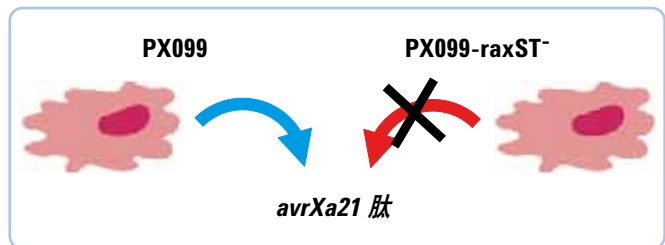


图 2. *Xoo* 中 *raxST* 基因编码的类磺基转移酶蛋白，是产生 *AvrXa21* 多肽的必需蛋白质，这个多肽可激活抗性水稻品种 TP309-*Xa21* 的免疫反应。本实验中使用了两种细菌菌株：一种是含 *raxST* 基因的野生型 PX099 菌株，能产生 *AvrXa21* 肽；另一种是敲除 *raxST* 基因的 PX099-*raxST*⁻ 菌株，没有 *raxST* 基因，不能产生 *AvrXa21* 肽

为了深入了解水稻对 BLB 的感染和免疫机制，进行了 LC/MS 代谢谱分析，以寻找并鉴定与感染和免疫相关的代谢物。本研究采用 Agilent 1200 系列 LC 和 Agilent 6210 飞行时间质谱组成的 LC/MS 系统进行代谢谱分析，该系统具有亚 2 ppm 质量准确度、卓越的重现性和耐用性。采用安捷伦 GeneSpring MS 生物信息学软件分析实验得到的各种复杂数据。

采用 Agilent 1200 系列 LC 和 Agilent 6510 四级杆飞行时间 LC/MS 联用的安捷伦 LC/MS 系统进行代谢物的鉴定，以发现这些代谢物在对照组和实验组中的丰度是否具有统计学显著差异。选择该分析系统是因为其具有精确质量测定和 MS/MS 二级质谱分析的功能。使用 METLIN 个人代谢物数据库检索缩小鉴定过程中候选化合物的范围。

研究采用了两个水稻品种 (TP309 和转基因 TP309-Xa21) 和两种菌株 (PX099 和 PX099-raxST⁻) 及相应对照。如表 1 所示，共研究了七组不同的样本。由于水稻和致病菌存在个体差异，应进行多次生物学重复分析。以前研究表明 LC/MS 系统重复性很好，本研究中未进行技术性重复分析。

鉴定了 TP309 和抗性转基因 TP309-Xa21 在防御细菌感染过程中一些可能的生物标志物。基于少数的几个代谢物，两个水稻品种、感染状态以及每个品种的感染状态都可得到明确表征。

表 1. 测试条件及各个条件下的生物重复样本数

条件 (分组)	TP309 (野生型)	TP309-Xa21 (转基因)
PX099 (野生型)	6	6
模拟对照	6	6
空白 (NT) 对照	6	6
PX099-raxST ⁻ (raxST 基因敲除)	NA	6

实验部分

水稻接种细菌

Xoo 菌株 (PX099 和 PX099-raxST⁻) 分别在 30 °C 的蛋白胨蔗糖琼脂 (Tsuchiya 等人, 1982 年) 中培育 72 小时。从六周龄水稻 (TP309 和 TP309-Xa21) 完全展开的叶片尖端剪下约 4 厘米后浸入每毫升 10⁹ 个细胞的细菌悬浮液 (Kauffman 等人, 1973 年) 或蛋白胨蔗糖琼脂 (模拟条件) 中。接种后, 将植株置于生长箱中生长。

水稻样品制备

样品制备方法使用 Weckwerth 等人³ 报道的方法, 并进行了如下改动: 将约 20 mg 水稻叶剪碎, 称重, 放入液氮预冷的 2 mL 的 Eppendorf 管, 每个管中预先放置一个直径 5 mm 的不锈钢球 (图 3)。这些样品管被转移到液氮预冷的 MM301 Retsch 匀浆器中。以 25 Hz 匀浆 30 秒后, 加入 1 mL 2:3:3 (v/v/v) 的水 / 乙腈 / 异丙醇溶剂 (-20 °C) 用于提取匀浆样品中细胞膜和细胞壁成分的代谢物。使用该提取溶剂体系最大程度避免了蜡类化合物的萃取, 利于后续的 LC/MS 和 GC/MS 分析。

LC/MS 分析

采用 Agilent 1200 系列 LC 和 ZORBAX SB-Aq 色谱柱 (2.1×150 mm) 分离水稻提取物。从 1 mL 样品中进样, 进样体积为 2 μL。流速为 0.3 mL/min, 流动相为水 / 乙腈, 梯度条件为在 46 分钟内乙腈比例从 2% 线性升至 98%, 然后保持该比例, 直到 54.9 分钟分析结束停止采集数据。流动相中加入 0.1% 的甲酸作为改性剂。

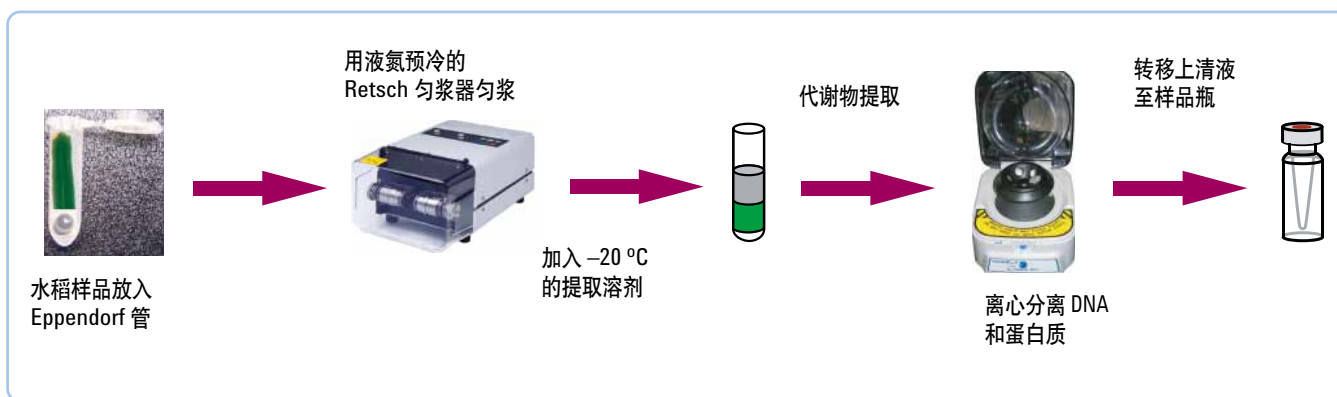


图 3. 水稻叶样品制备流程

代谢谱分析采用配备电喷雾 (ESI) 离子源的 Agilent 6210 飞行时间 LC/MS 系统。ESI 源的特点是具有一个独立的喷雾器可以持续、低流量地引入参比离子。参比离子有助于补偿仪器漂移。数据采集速率为每秒正负离子模式各采集 1 张 MS 谱图, 扫描范围为 m/z 50 至 950。

采用配备了电喷雾离子源的 Agilent 6510 四级杆飞行时间 LC/MS 系统采集代谢物鉴定所需的精确质量数 MS/MS 数据。ESI 源具有一个独立的喷雾器可以持续、低流量地引入参比离子, 最大限度提高质量数准确度。

数据分析

首先采用安捷伦 MassHunter 软件进行精确质量数 MS 谱图数据的初步分析。采用 MassHunter 软件中的特征提取和相关性算法, 将每个色谱图中的协变离子组进行定位。每组离子代表一个特定的化合物。这样, 通过这种算法即可定位色谱图中所有组分的信息, 而不是仅定位色谱峰, 后者往往会丢失很多化合物。

仪器条件 – LC/TOF MS

LC 条件

色谱柱: ZORBAX SB-Aq 色谱柱 2.1×150 mm, $3.5 \mu\text{m}$

流动相:

A = 0.1% 甲酸水溶液

B = 0.1% 甲酸乙腈溶液

梯度条件

0-46 min, B 含量由 2% 线性提升至 98%

46-54.9 min, B 含量保持 98%

54.9-55 min, B 含量由 98% 降至 2%

MS 停止时间: 54.9 min

LC 停止时间: 55 min

柱温: 20°C

流速: 0.3 mL/min

进样量: $2 \mu\text{L}$, 洗针 3 s

MS 条件

离子化模式: 电喷雾

离子化极性: 正离子*

干燥气流速: 10 L/min

干燥气温度: 250°C

喷雾器压力: 35 psi

扫描范围: m/z 50-950

碰撞电压: 170 V

毛细管电压: 4000 V

参比离子: m/z 121.922

参比离子流速: $10 \mu\text{L/min}$

* 同时采集了正离子和负离子数据, 但本应用报告中仅介绍了正离子数据的处理。

仪器条件 – LC/Q-TOF MS/MS**LC 条件**

色谱柱: ZORBAX SB-Aq 色谱柱 2.1×150 mm, 3.5 μm

流动相:

A = 0.1% 甲酸水溶液

B = 0.1% 甲酸乙腈溶液

梯度条件:

0-46 min, B 含量由 2% 线性提升至 98%

46-54.9 min, B 含量保持 98%

54.9-55 min, B 含量由 98% 降至 2%

MS 停止时间: 54.9 min

LC 停止时间: 55 min

LC 后运行时间: 7 min

柱温: 20 °C

流速: 0.3 mL/min

进样量: 2 μL

MS 条件

离子化模式: 电喷雾

离子化极性: 正离子

干燥气流速: 10 L/min

干燥气温度: 250 °C

喷雾器压力: 40 psig

扫描范围

MS: m/z 100–1000, 250 ms/spectrum

MS/MS: m/z 100–1000, 250 ms/spectrum

碰撞能量: 5×10 eV

分离: 中等

碰撞电压: 170 V

锥孔电压: 65 V

八极杆 RF 电压: 750 V

毛细管电压: 4000 V

参比离子: m/z 121.922

参比离子流速: 10 μL/min

参比喷雾器压力: 15 psig

定位组分信息后, 进行背景扣除。电荷状态设为 1。该算法将盐加合物 (Na^+ 和 K^+)、质子化分子 [$\text{M}+\text{H}^+$] 以及相关加合离子确认为单一化合物。最后鉴定同位素。软件将报告每个特征分子的单同位素分子量和保留时间。用单同位素分子量和同位素比例为每个特征分子计算相应的经验式。

MassHunter 工作站软件生成的保留时间 / 质量数数据对随后导出至安捷伦 GeneSpring MS 软件进行后续分析。工作流程如下 (见图 4) :

1. 峰归类和标准化
 2. 层次聚类分析检查数据质量
 3. 用单因素和多因素方差分析 (ANOVA) 鉴定不同组间具有差异丰度的分子特征
 4. 进行主成分分析 (PCA) 以区分样品组类别
 5. 通过倍率过滤分析显示差异
- 分析结果会给出一张质量数列表, 标明这些代谢物在不同的试验组之间丰度存在统计学显著差异。
6. 将该质量数列表在 METLIN 个人代谢物数据库中进行检索。样品随后采用 Q-TOF LC/MS 系统重新进行靶向 MS/MS 分析, 并进一步进行数据分析。
 7. 比较代谢物数据库检索结果和采集的 Q-TOF 二级质谱结果

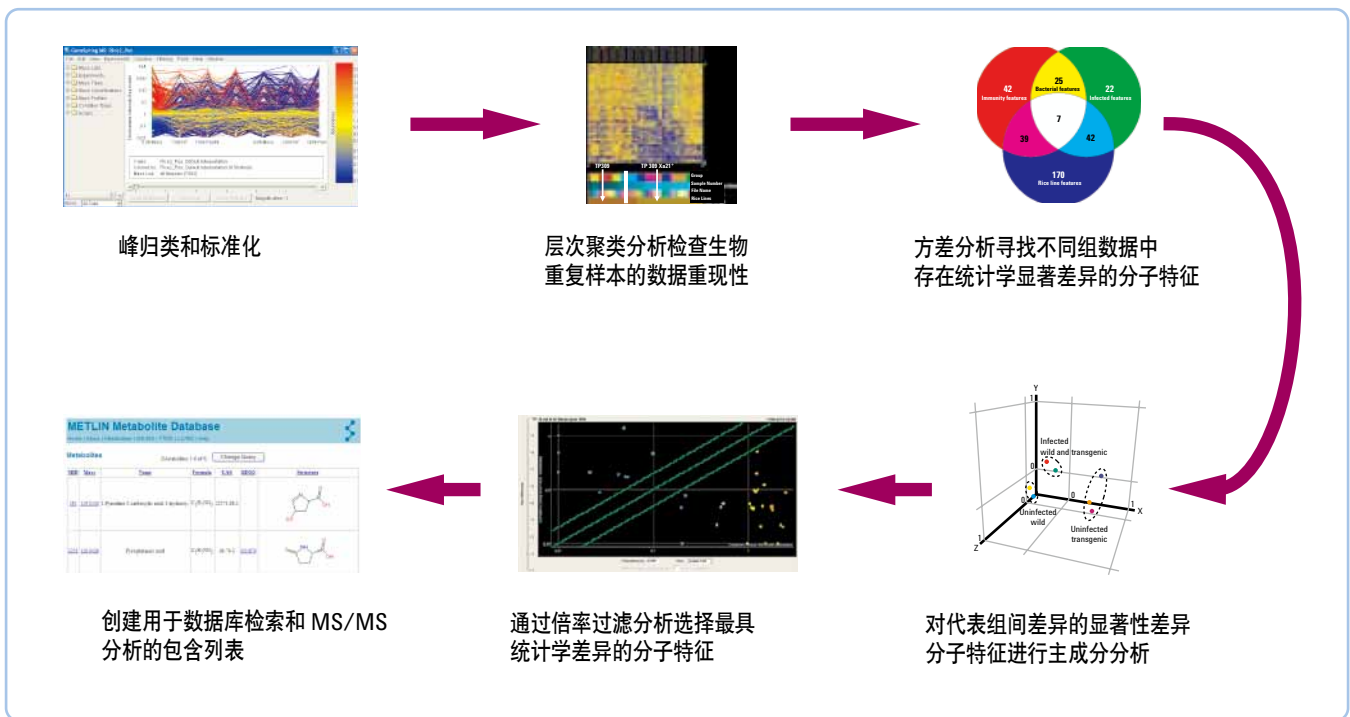


图 4. GeneSpring MS 软件分析 MS 代谢谱分析数据的流程

结果与讨论

水稻 / 细菌相互作用的形态学研究

TP309 水稻对 PX099 或基因敲除 PX099-raxST⁻ 都不具有抗性 (图 5)。TP309 缺乏能识别这两种 *Xoo* 菌株并激活免疫反应的机制。

TP309-Xa21 水稻对 PX099 有抗性。Xa21 基因导致了这种抗性，它能产生一种受体蛋白识别并结合 PX099 产生的 AvrXa21 肽，从而触发免疫反应。

TP309 - Xa21 对 PX099-raxST⁻ 没有抗性。由于 PX099-raxST⁻ 不能产生 AvrXa21 肽，TP309-Xa21 无法识别致病细菌，不能发生免疫反应。

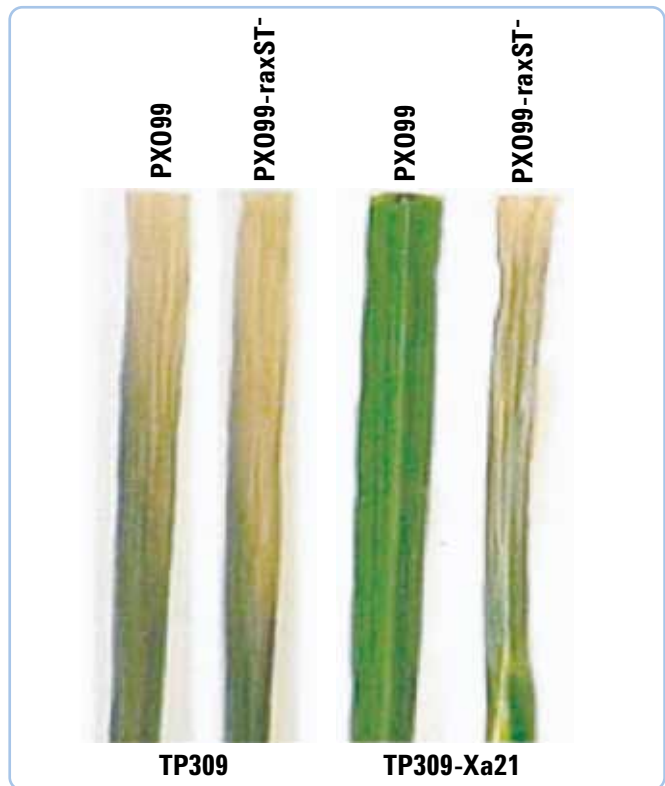


图 5. 实验组水稻叶的病变和健康状态

单因素方差分析确定组间差异

方差分析 (ANOVA) 是对实验得到的不同组数据进行差异分析的一种有效工具。与 t 检验只能进行两两比较不同, 方差分析可以分析多组数据之间的差异。多个 t 检验之间是独立的, 因此会累积误差。本水稻实验中有七个试验组, 如果采用 t 检验需要进行 21 次。如果每次 t 检验出现 I 类错误 (假阳性) 的概率为 0.05, 累积误差概率就会大于 1.00。单因素方差分析的主要优点是不管进行几组数据的比较, 出错概率不变。在本实验中, 采用单因素方差分析出现 I 类错误的几率比累积 t 检验小得多。

图 6 显示了所有试验组数据通过 Tukey 检验进行两两比较后的方差分析 ($P < 0.05$) 结果。蓝色部分表示没有统计学显著差异的分子特征, 红色部分是存在统计学显著差异的分子特征。这些存在统计学显著差异的分子特征是潜在的生物标志物, 可能具有更大的生物学意义。对这些数据进行进一步分析。

为了找到与不同水稻品种间差异相关的关键代谢物, 分析了 PX099 对传染性的影响。结合以下三组数据方差分析的结果进行进一步研究 (图 7):

- TP309-Xa21—PX099 vs. TP309-Xa21—模拟
- TP309—PX099 vs. TP309—模拟
- TP309—模拟 vs. TP309-Xa21—模拟

共发现 347 个独立的、具有统计学显著差异的分子特征。分析发现了:

- 免疫相关的分子特征 (42) —— 可能与抗性有关的代谢物
- 感染相关的分子特征 (22) —— 可能与感染反应有关的代谢物
- 细菌相关的分子特征 (25) —— 可能由细菌产生或与细菌相关的代谢物
- 不同水稻品种的分子特征 (170) —— 与不同水稻品种有关的代谢物

	Xa21-Mock	Xa21-NT	Xa21-Pxo99	Xa21_Pxo99/RaxST-	TP309-Mock	TP309-NT	TP309-Pxo99
Xa21-Mock	564	124	113	167	258	290	219
Xa21-NT	44	564	109	178	236	264	210
Xa21-Pxo99	45	456	564	168	242	289	204
Xa21_Pxo99/RaxST-	39	386	396	564	141	197	111
TP309-Mock	30	328	322	423	564	78	96
TP309-NT	27	300	275	367	486	564	141
TP309-Pxo99	34	354	360	453	469	423	564

图 6. MS 代谢谱分析数据的方差分析 ($P < 0.05$) 结果。图中显示了各试验组间两两比较不具有统计学显著差异 (蓝色) 和具有显著差异 (红色) 的分子特征。例如, 模拟感染的 TP309-Xa21 和 PX099 感染的 TP309-Xa21 二者间有 113 个分子特征表达水平存在显著统计学差异

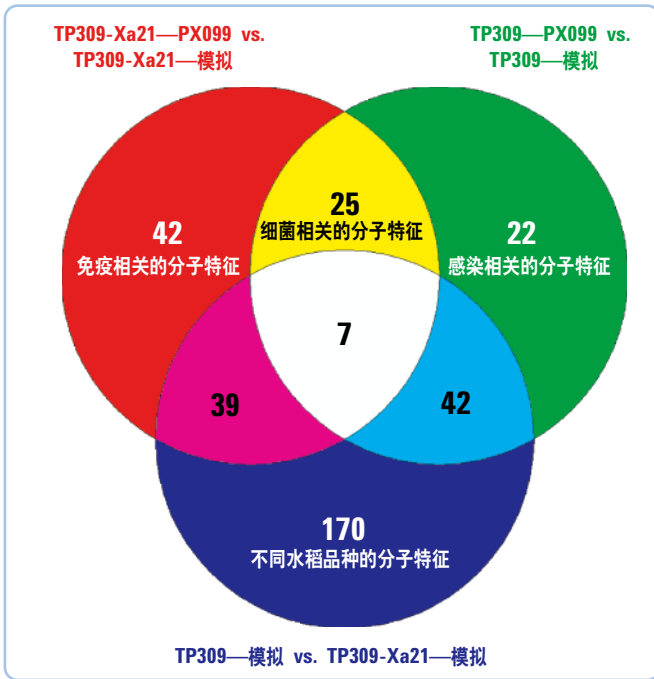


图 7. 结合 3 对两两比较的方差分析结果，共发现 347 个存在统计学显著差异的分子特征。其中，42 个与免疫有关，22 个与感染有关，25 个与细菌有关，170 个与水稻品种相关

主成分分析 (PCA)

PCA 是将复杂数据进行降维处理的数据分析方法。其目的是要发现新的变量，即导致差异的主要影响因素——主成分。在不进行任何数据预处理的情况下，在 GeneSpring MS 中进行 PCA 分析可区分 TP309 和 TP309-Xa21 水稻品种 (图 8a)。

然而，本实验是为了获得免疫和防御相关的分子特征信息，而不仅仅是区分两个水稻品种。结合 PCA 分析和单因素方差分析可将水稻品种区分得更清楚，也能比较容易区分各种水稻品种的感染状态 (图 8b)。

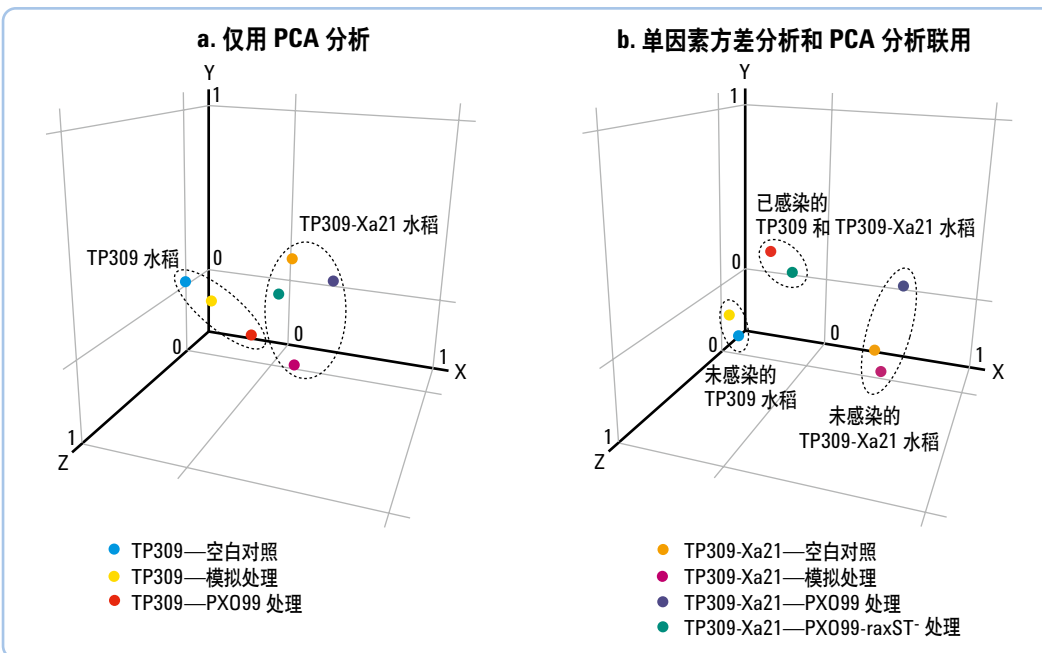


图 8. 数据未经预处理进行 PCA 分析 (a)，可区分不同的水稻品种。PCA 分析和单因素方差分析联用 (b)，能更容易地区分水稻品种和各种水稻品种的感染状态

多因素方差分析同时分析水稻品种和试验组组间差异

多因素方差分析是对多个干预因素进行同步分析的强大的数据处理工具。它能够对各参数的所有组合进行比较。没有必要预先了解这些分子特征的功能。进行多因素方差分析后可得到一个 Venn 图 (图 9)。结果包括:

- 360 个分子特征可表征两种水稻品种的差别
- 41 个分子特征可完全区分所有的试验组
- 30 个分子特征可区分所有的水稻品种和试验组

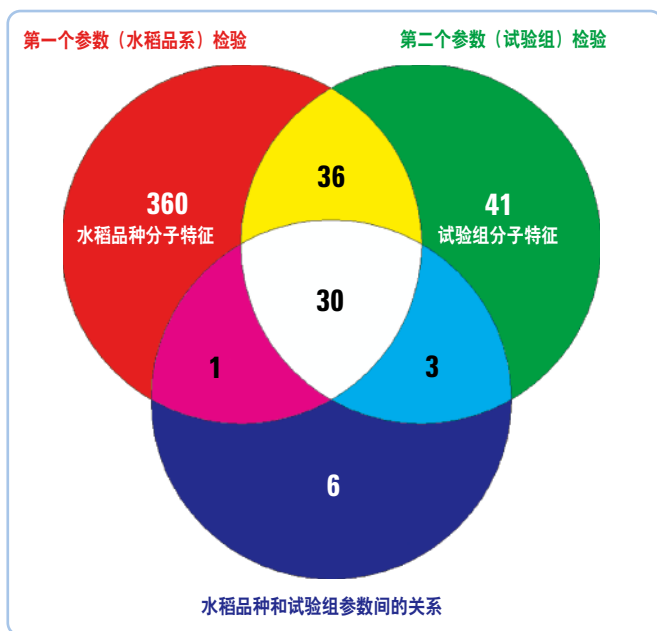


图 9. 多因素方差分析发现同时使用 30 个分子特征即可区分所有品种和不同实验组

对这 30 个显著差异的分子特征进一步进行主成分分析, 区分了不同的水稻品种和不同的试验组。除 PX099-raxST⁻ 处理的 TP309-Xa21 水稻组外, 所有的 TP309-Xa21 水稻组被归到一起。PX099-raxST⁻ 处理的 TP309-Xa21 水稻组和感染的 TP309—PX099 处理水稻组被归到一起 (图 10)。

这些结果与已发表的关于水稻品种和细菌基因型和表型的文献结果一致。

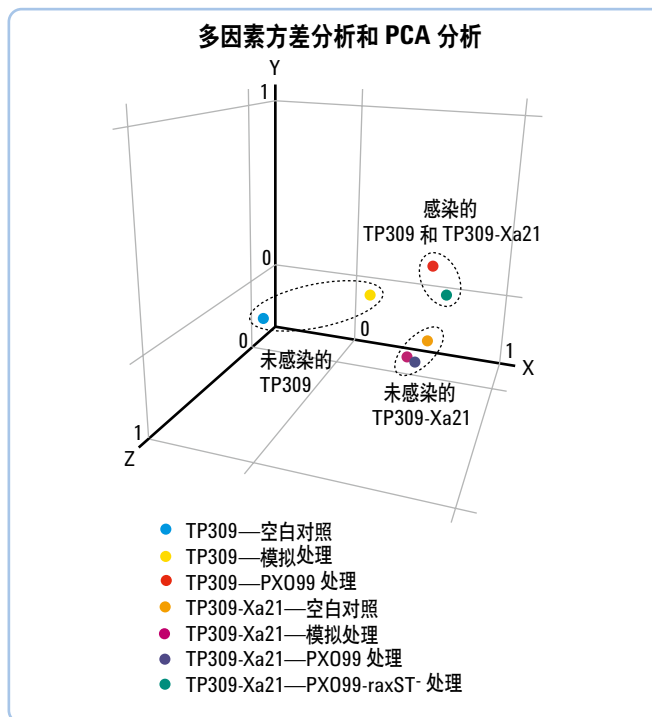


图 10. 对多因素方差分析筛选到的 30 个显著性分子特征进行 PCA 分析, 可清楚区分水稻品种, 还可同时将感染组归类到一起

倍率过滤分析和作图

倍率过滤 (图 11) 是另一种统计工具, 用于确定哪些分子特征 (代谢物) 是最可能相关的。相对于模拟感染的倍数变化越大的分子特征, 越有可能是关键的代谢物。在 GeneSpring MS 软件中, 倍率过滤是可调的, 通过简单调节倍率过滤阈值, 能够改变通过倍率过滤的分子特征数目。

在 GeneSpring MS 软件中的另一种分析和作图功能是火山图, 但在本文中没有使用。火山图将倍率过滤结果和 t 检验结果结合起来进行作图。通过改变两种检验的参数可以发现最相关的分子特征。

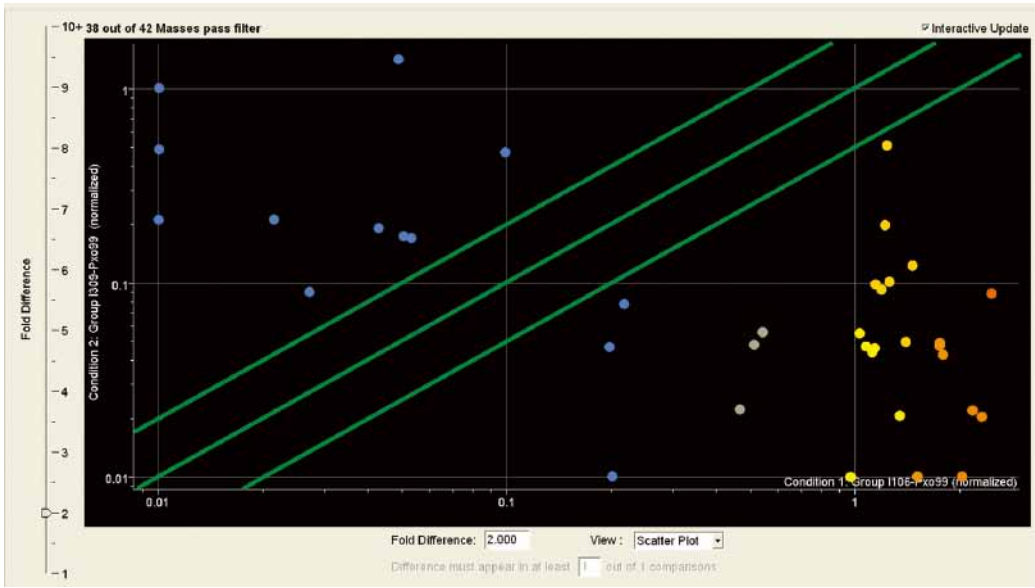


图 11. 对单因素方差分析的结果进行交互式倍率过滤分析有助于确定最有可能相关的分子特征 (代谢物)

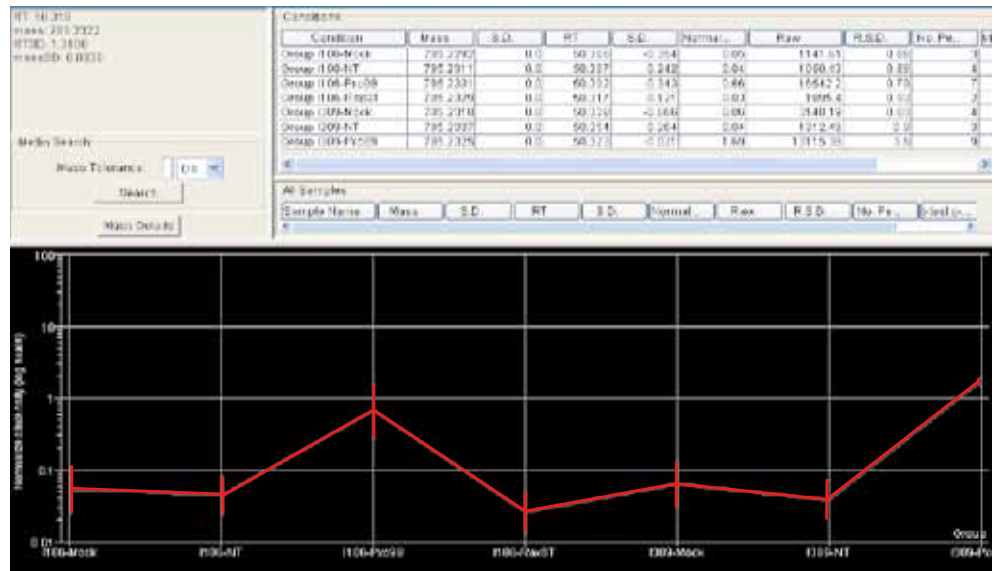
分子特征检查

单个分子特征的进一步分析可采用 GeneSpring MS 软件的另外两个附加功能来实现。第一个是“质量检查”，检查每个分子特征数据。第二个功能能够与 Microsoft® Excel 格式兼容的表格格式，将与分子特征相关的数据导出为质量数列表。

质量检查器视图

GeneSpring MS 软件中的质量检查器视图可比较所有试验组中同一个特定分子特征的相对丰度 (图 12)。这样就能很容易地发现某个特别的分子特征，比如存在于某些试验组而不存在于其它组的分子特征。这样的开关行为 (On/off behavior) 对于可能的关联研究是非常有用的线索。质量检查器视图同时还可提供被检查分子特征的其他信息，如保留时间、分子量、标准差、t 检验显著性等。

图 12. GeneSpring MS 软件中的质量检查器视图可进行各试验组间单个分子特征 (代谢物) 丰度的全面比较。它还可显示如保留时间、分子量、标准差、t 检验显著性等其它有用的信息



Microsoft 是微软公司在美国的注册商标。

导出到 Excel

使用 GeneSpring 软件的另一功能，将所有通过倍率过滤与免疫有关的所有数据导出为表格格式。通过处理电子表格中的数据，可以将上调和下调的代谢物分开（表 2 和 3）。有趣的是部分分子特征（表中突出显示部分）在一个或多个试验组中均不存在。这些分子特征很可能是重要的开关代谢物，应进行进一步研究。

表 2. TP309-Xa21—PX099（免疫）试验组中通过倍率过滤的上调的代谢物

保留时间 (min)	质量 (u)	倍率变化
32.64	771.4705	2.4
1.11	296.9389	2.8
32.76	710.4604	4.2
41.36	167.0575	6.1
43.74	401.3279	9.7
40.60	849.5386	10.7
31.24	295.2517	11.5
25.80	329.2925	11.9
27.20	453.2855	12.4
32.66	739.4514	12.9
47.38	934.5473	18.6
46.41	660.5333	20.3
50.91	565.8811	20.7
49.41	948.5989	23.2
2.38	221.0538	24.8
45.17	817.5082	25.0
37.68	608.2646	27.8
38.53	861.5044	28.0
2.07	129.0414	35.5
2.10	122.0383	36.2
37.25	624.2587	41.8
53.60	945.6066	64.5
53.31	93.0454	97.1
2.06	385.1011	98.6
52.22	157.9583	112.7
51.76	580.4290	151.1
51.35	225.9444	203.8

靶向代谢物鉴定

代谢谱分析研究结果给出了上调的免疫分子特征表，这些分子特征需要进行进一步代谢组学研究：靶向代谢物鉴定。这些代谢物的鉴定分两步进行。

首先，将代谢物谱分析研究中确定的每个目标质量数在 METLIN 代谢物数据库中进行检索。该数据库检索时质量偏差窗口为 ± 10 ppm。

表 3. TP309-Xa21—PX099（免疫）试验组中通过倍率过滤的下调的代谢物

保留时间 (min)	质量 (u)	倍率变化
1.09	213.9057	3.2
45.66	452.3297	3.3
32.52	600.4134	3.4
1.09	73.0268	4.4
36.95	281.6063	4.9
1.09	109.1268	10.0
47.21	524.3837	21.3
1.28	103.0648	21.6
46.57	652.4474	29.2
1.43	95.9816	48.3
47.20	540.3579	101.8

这个值明显高于 6210 飞行时间质谱约 2 ppm 的质量准确度，但是考查额外的匹配总好过因偏差窗口过窄丢失正确的匹配。经验式计算的质量偏差设为 5 ppm，最大不能超过 100 ppm。表 4 示出了 METLIN 检索的设置参数。

METLIN 代谢物数据库检索的结果已与原质量数列表整理到一起（表 5 和 6）。并未检索到所有的代谢物，这并不意外。

表 4. METLIN 数据库检索中不同元素最大和最小原子个数设置

元素	最小个数	最大个数
Carbon	1	100
Hydrogen	1	400
Nitrogen	0	20
Oxygen	0	20
Phosphorous	0	1
Sulfur	0	1
Fluorine	0	6

更宽的质量窗口会增加可能检索到的代谢物个数，同时也会增加假阳性结果。METLIN 数据库中有超过 15000 个的化合物，可能是市面上最全面的数据库，但这个数目仍只是可能代谢物的一小部分。正如所示的一样，数据库检索的匹配结果对代谢物的鉴定至关重要。

鉴定的第二步，选择表 5 中上调的免疫分子特征 m/z 129.0414 进行进一步研究。样品再次进行 Q-TOF LC/MS 分析。分离条件和离

表 5. TP309-Xa21—PX099 (免疫) 试验组中上调的代谢物及其 METLIN 数据库检索结果

保留时间 (min)	质量 (u)	倍率变化	经验式	经验式个数	METLIN 检索结果 (匹配数)
32.64	771.4705	2.4	C27H68N10013P	93	0
1.11	296.9389	2.8	C7HN08F2S	13	0
32.76	710.4604	4.2	C38H60N7O6	71	0
41.36	167.0575	6.1	C6H7N4O2	3	3
43.74	401.3279	9.7	C24H41N4O	9	0
40.60	849.5386	10.7	C29H72N17O10P	100	0
31.24	295.2517	11.5	C18H33N02	2	0
25.80	329.2925	11.9	C19H39N03	2	0
27.20	453.2855	12.4	C9H31N19O3	20	0
32.66	739.4514	12.9	C32H65N7O10S	85	0
47.38	934.5473	18.6	C53H79N2O10P	100	0
46.41	660.5333	20.3	C25H62N19O2	32	0
50.91	565.8811	20.7	C4HN6O16F6PS	32	0
49.41	948.5989	23.2	C58H76N8O4	100	0
2.38	221.0538	24.8	C6H7N5O3	4	0
45.17	817.5082	25.0	C34H63N19O3S	100	0
37.68	608.2646	27.8	C25H45N4O9PS	75	Hardero 卟啉
38.53	861.5044	28.0	C47H70N6O7P	100	红霉素琥 珀酸乙酯
2.07	129.0414	35.5	C5H7N03	1	6
2.10	122.0383	36.2	C7H6O2	2	苯甲酸
37.25	624.2587	41.8	C30H33N12O2P	85	0
53.60	945.6066	64.5	C60H79N7O5	100	0
53.31	93.0454	97.1	C5H5N2	2	0
2.06	385.1011	98.6	C17H18N6OPS	36	0
52.22	157.9583	112.7	C3HN3OPS	1	0
51.76	580.4290	151.1	C24H57N10O4P	30	维生素 K2
51.35	225.9444	203.8	C4HF6PS	4	0

表 6. TP309-Xa21—PX099 (免疫) 试验组中下调的代谢物及其 METLIN 检索结果

保留时间 (min)	质量 (u)	倍率变化	经验式	经验式个数	METLIN 检索结果 (匹配数)
1.09	213.9057	3.2	none	0	0
45.66	452.3297	3.3	C23H44N6OS	17	0
32.52	600.4134	3.4	C22H57N12O3PS	40	紫黄质, 新黄质
1.09	73.0268	4.4	CHNF2P	1	0
36.95	281.6063	4.9	none	0	0
1.09	109.1268	10.0	none	0	0
47.21	524.3837	21.3	C30H48N6O2	24	0
1.28	103.0648	21.6	none	0	0
46.57	652.4474	29.2	C29H59N13PS	48	0
1.43	95.9816	48.3	none	0	0
47.20	540.3579	101.8	C29H47N7OP	32	0

子化参数均与上次实验相同。对于目标质量数列表上的每个代谢物均采集 MS/MS 谱图。

其中一个选定的代谢物的 MS/MS 谱 (图 13) 中有一个基峰, 是母离子失去羧酸基团 (甲酸—— CH_2O_2) 的碎片离子峰, 第二个明显的峰是该碎片离子继续失去 CO 的碎片离子。

通过 MS/MS 谱研究 METLIN 数据库检索结果所包含的分子结构 (图 14), 发现六个可能的代谢物中仅有两个逻辑上会发生此类基团丢失——焦谷氨酸和吡咯烷酮羧酸。这两个化合物是对映异构体, 因此用质谱难以区分。如果精确鉴定该代谢物具有至关重要的意义, 需进一步采用标准品和手性液相色谱柱进行再分析。

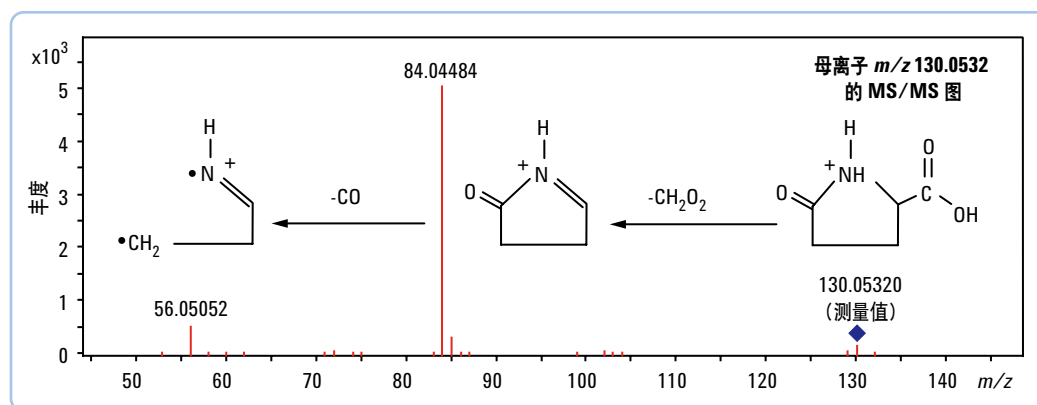


图 13. 母离子 m/z 130.0532 的 MS/MS 图中有一个峰是母离子失去甲酸 (CH_2O_2) 的碎片离子, 另一个峰是该碎片离子进一步失去 CO 形成的碎片离子。结合该信息对 METLIN 数据库检索结果进行评估, 6 个可能的代谢物减少到了 2 个

METLIN Metabolite Database

Home | About | Metabolites | MS/MS | FTMS | LC/MS | Help



图 14. METLIN 个人数据库检索到的 6 个可能的代谢物, 分子量均接近 129.0414 u

Metabolites

(Metabolites 1-6 of 6)

Change Query

MID	Mass	Name	Formula	CAS	KEGG	Structure
284	129.0426	1-Pyrroline-5-carboxylic acid, 3-hydroxy-	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$	22573-88-2		
3251	129.0426	Pyroglutamic acid	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$	98-79-3	C01879	
5769	129.0426	Pyrrolidonecarboxylic acid	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$			
6196	129.0426	Pyrroline hydroxycarboxylic acid	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$			
6343	129.0426	N-Acryloylglycine	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$			
6564	129.0426	1-Pyrroline-4-hydroxy-2-carboxylate	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$			

结论

为了更好地了解水稻和白叶枯病 (BLB) 的感染和免疫机制, 进行了与感染和抗性相关代谢物的鉴定。采用两步 LC/MS 方法。用飞行时间质谱 (TOF MS) 进行试验组样品差异表达快速筛查, 采用四级杆飞行时间二级质谱 (Q-TOF MS/MS) 进行差异表达的靶向鉴定。

共进行了七个不同的试验组比较。在不同的水稻 / 细菌试验组中代谢物存在显著差异。基于少数几个代谢物, 可清楚地区分水稻品种和感染状态。

同时也了解了这类研究对仪器和软件的要求。例如, 自然 (样品) 变异和技术 (仪器) 变异将决定所需的重复次数。本实验中, 基于水稻和细菌的自然变异进行了多个生物性重复实验。然而, 由于 Agilent 6210 TOF LC/MS 在代谢谱分析方面具有卓越的重现性, 没有进行技术性重复实验。

数据分析在大规模的代谢组学研究中具有重要作用。本研究有力地表明, 多个统计分析工具联合使用对于得到最佳结果是必要的。对谱图数据只进行主成分分析 (PCA) 能区分不同的水稻品种。

而将 PCA 分析和单因素或多因素方差分析 (ANOVA) 联合使用不仅能清楚地区分不同的水稻品种, 还可清楚地区分各个品种的感染状态。进一步采用倍率过滤并进行可视化差异分析能很容易地比较代谢物丰度的差异, 并选择目标化合物进行下一步研究: 代谢物鉴定。如果没有采用具有多种数据分析功能的安捷伦 GeneSpring MS 软件进行数据分析, 本研究不可能得到这么多信息。

从代谢谱分析到代谢物结构鉴定的研究离不开两个重要的因素: 质量精确度极高的 TOF 代谢谱数据和功能强大的 METLIN 代谢物数据库, 二者共同作用使得可能的代谢物数目缩减到可处理的范围。用 Agilent 6510 Q-TOF LC/MS 再次分析得到的 MS/MS 谱图确认出代谢物为两个对映体中的一个。这也突出了代谢组学研究的挑战。即使采用具有最多代谢物信息的市售数据库和精确质量数 MS/MS 谱图, 某些代谢物仍需要进行进一步分析鉴定。在这种情况下, 还需采用标准品和手性液相色谱柱进行再分析。

参考文献

1. Song et. al. (1995) *Science* 270: 1804–1806
2. Sang-Wong Lee et. al. *PNAS*, 103(49) 18395–18400, 2006
3. Weckworth et. al. *Proteomics* 2004, 4, 78–83

致谢

特别感谢加州大学戴维斯分校基因组研究中心的 Pamela Ronald 博士和 Oliver Fiehn 博士。

Ronald 博士是加州大学戴维斯分校植物基因组计划研究主席，同时也是该校植物病理系教授，还是诸如水稻和柳枝稷草等乔本科植物基础研究的学术带头人。

Fiehn 博士是加州大学戴维斯分校分子和细胞生物学和基因组研究中心副教授，同时也是新兴代谢组学的领导者。

Ronald 和 Fiehn 博士提供了本应用报告中的样品，并提供了有重要意义的相关背景知识和建议。

关于安捷伦科技

安捷伦科技公司是生命科学研究设备的领先供应商，致力于帮助科学家理解复杂的生物过程，确定发病机理和加快新药开发速度。安捷伦的生命科学解决方案专为提高灵敏度、重现性和工作效率而设计，为基因组学、蛋白组学和代谢组学应用提供分析仪器、微流控技术、软件、芯片、耗材以及服务。

了解更多：

www.agilent.com/chem/metabolomics:cn

在线购买：

www.agilent.com/chem/store:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

customer-cn@agilent.com

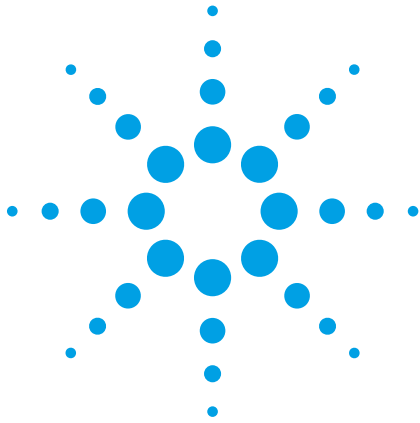
在线询价：

www.agilent.com/chem/quote:cn

本文仅限研究使用，不可用于诊断目的。本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2007 年
2007 年 2 月 14 日，中国印刷
5989-6234CHCN



3.2 健康/临床/疾病代谢组学

3.2.1 液质联用篇

飞行时间质谱/四极杆-飞行时间质谱

红细胞全面代谢组学研究的最大化代谢物提取方法

作者

Theodore Sana 和 Steve Fischer
安捷伦科技有限公司
美国加利福尼亚州圣克拉拉市

摘要

代谢组学是对一系列相似的生物样本中的代谢物进行比较分析的学科。代谢物在生物系统中起着至关重要的作用，因此代谢组学可用于发现和鉴定生物标志物，或更好地了解药物或疾病对已知和未知生物通路的影响。

成功的代谢物组学研究依赖于有效的代谢物提取。对于非靶向代谢组学研究，需要提取细胞和体液中的多种代谢物，并去除无需分析的蛋白质等成分。再加上代谢物的理化性质多样，丰度动辄相差若干数量级，更进一步增加了提取的难度。

液液萃取这种两相分离方法常被用于代谢物的提取。液液萃取中有机溶剂和水溶液的性质、体积、溶剂比例、水溶液的 pH 值都必须仔细考虑。这些因素会显著影响提取的代谢物数量和实验的重现性。

本应用报告介绍了采用液液萃取提取红细胞代谢物的方法。结果表明，调整水相/有机相的比例对于两相分离非常重要。同时水相 pH 值对提取的代谢物数量也有很大影响，为了提取尽可能多的代谢物，需要采用多个 pH 值进行提取。

引言

萃取是选择性地将所需的化合物，如代谢物，与其它通常不需要的化合物进行分离的过程。液液萃取是最常用的提取方法之一，它利用化合物在不同溶剂中的溶解度差异和溶剂间的不互溶性进行分离。通过向待萃取溶液中加入对于目标化合物溶解性更好、但与样品溶剂不互溶的溶剂，实现化合物从一液相到另一液相的转移。

极性水溶液通常与非极性有机溶剂如氯仿搭配。氯仿易挥发，反应活性差，与水不互溶，密度比水大，因此其与水形成的液液萃取两相体系（图 1）可以进行极性和非极性代谢物的分离，以便进行后续的色谱分离分析。“Folch”¹法及其改良方法“Bligh & Dyer”²法，一直被用于组织中脂类物质的提取以及后续的非极性代谢物的分离。

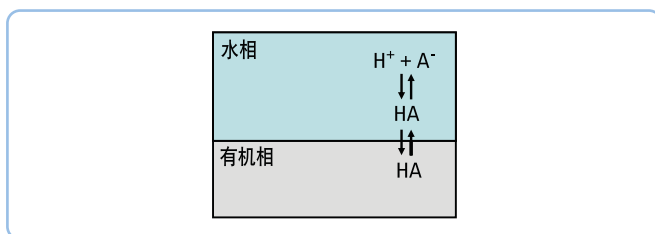


图 1. 如果将一个化合物加入到两种不互溶的溶剂中，该化合物将根据其在两种溶剂中的相对溶解度在两种溶剂中进行分配

醇类物质，如甲醇、乙醇和异丙醇可与水互溶，因此可用作水相助溶剂，以提高提取过程中弱极性代谢物的溶解度。

代谢物的液液萃取通常都是在中性 pH 条件下进行。但是如能利用代谢物酸碱性质的差异，改变水相提取溶剂的 pH，那么无论是复杂的生物体液还是细胞，其代谢物提取均可得到改善。

例如，大多数含酸性官能团（如，羧酸）的化合物不溶或微溶于水。加稀碱溶液，如 2% 氨水（ NH_4OH ，pH 值 = 9），就会形成水溶性好的羧酸根阴离子（图 2）。向细胞中加入稀氨水/甲醇的碱性溶液和氯仿，所有有机酸都会被提取到碱性极性层，而不是像在中性 pH 条件下一样存在于氯仿层中。

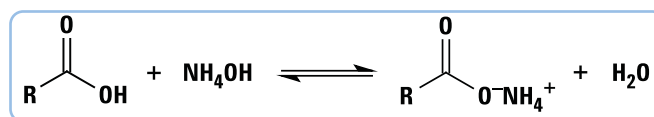


图 2. 向质子化羧酸中加入 2% 氨水（ NH_4OH ，pH 值 = 9）的稀碱溶液形成了水溶性更好的羧酸根阴离子。R - 可以是与官能团 COOH 相连的任意基团

同样，弱酸的存在也会使碱性化合物形成可溶性盐，水溶性变得更好（图 3）。水相中加入稀酸如稀甲酸（ HCOOH ），可提高有机碱类化合物的提取率。甲酸非常适合用于液液萃取，因为它可与水以及大多数可用作水相助溶剂的极性有机溶剂互溶。

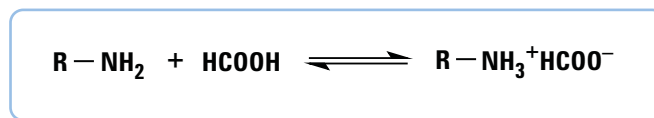


图 3. 向质子化胺中加入 1% 的甲酸（ HCOOH ，pH = 2）形成了水溶性更高的羧酸根阴离子。R - 可以是与 NH_2 官能团连接的任意基团

甲酸和氨水是调节水相 pH 值很好的选择，因为它们是挥发性物质，适合后续的 LC/MS 分析。

实验部分

第一个实验的目的是确定有利于两相分离并满足红细胞代谢物液液萃取要求的水相和有机相溶剂的体积和比例。第二个实验是采用第一个实验中确定的水相/有机相比例对实际红细胞样品进行提取，验证该方法的有效性和实用性。第三个实验使用不同 pH 值的水相进行红细胞代谢物提取，并通过 LC/MS 分析考察水相 pH 值的变化如何影响提取代谢物的数量和种类。

优化相分离条件

通过第一个实验确定实现最佳相分离所需的水和有机溶剂的比例。向 6 个 1.7 mL 微量离心管中分别加入等体积 (0.75 mL) 的 80:20 甲醇/水溶液。使用该比例是因为甲醇/水的比例更低时溶液在提取过程中有可能冻结。分别向六个离心管中加入 0.1 mL、0.2 mL、0.3 mL、0.4 mL、0.5 mL 和 0.6 mL 氯仿 (图 4)。

苏丹红 I 是一种脂溶性重氮染料³，可溶于非极性溶剂并使氯仿溶液呈现明亮的黄/橙色，将其加入氯仿中以清楚地观察氯仿相并指示极性和非极性相互溶的程度。此时，所有的离心管中都未实现两相分离。向每管中加入 0.20 mL 水以促进相分离，随后进行离心，即可观察到不同程度的相分离。

即使在离心后，也未能在氯仿体积较小 (0.1 和 0.2 mL) 的离心管中观察到明显的相分离。对于明显实现相分离的离心管，回收氯仿并进行测定。氯仿体积超过 0.4 mL 的离心管回收率相近。由于氯仿和甲醇部分互溶，在水相中仍可以观察到有部分残留染料。同样，氯仿相的体积增加了约 10%，也是源于氯仿与甲醇的互溶。因此可以预见，一些非极性化合物也可能出现在水相中。

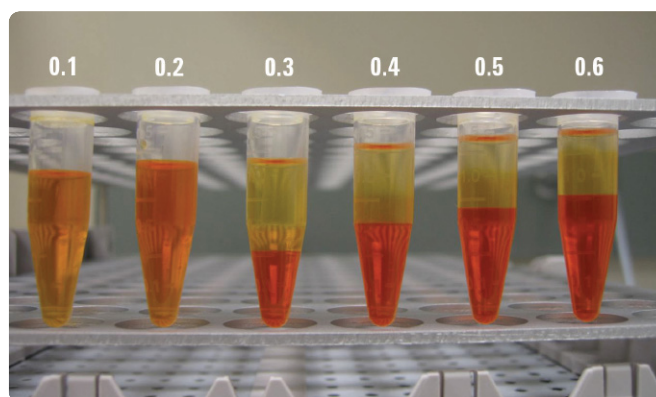


图 4. 在 0.75 mL 80:20 的甲醇/水等份溶液中逐渐增加氯仿体积模拟提取步骤。稍后加入额外的 0.2 mL 水促进相分离。加入一种脂溶性重氮染料苏丹红 I 观察相分离。在水相 (上层) 出现的色带是由于氯仿与甲醇互溶进入了水相

提取测试

接下来的实验采用之前确定的水相/有机相比例进行红细胞代谢物提取。实验流程如图 5 所示。

经柠檬酸钠抗凝处理的供体红细胞 (斯坦福大学血液中心) 以 0.5 mL 等分加入 6 支 1.7 mL 微量离心管中。4°C 以 1000g 离心 2 分钟，于冰浴中吸出上清液。

此时可进行清洗循环，包括将红细胞在磷酸缓冲盐 (PBS) 中重悬、离心并吸出上清液 (本实验中并未采用)。清洗可以去除非红细胞代谢物和仍可能存在于细胞外的其它化合物，但同时也会推迟样品冷却和裂解，并可能造成少量的磷酸盐残留。

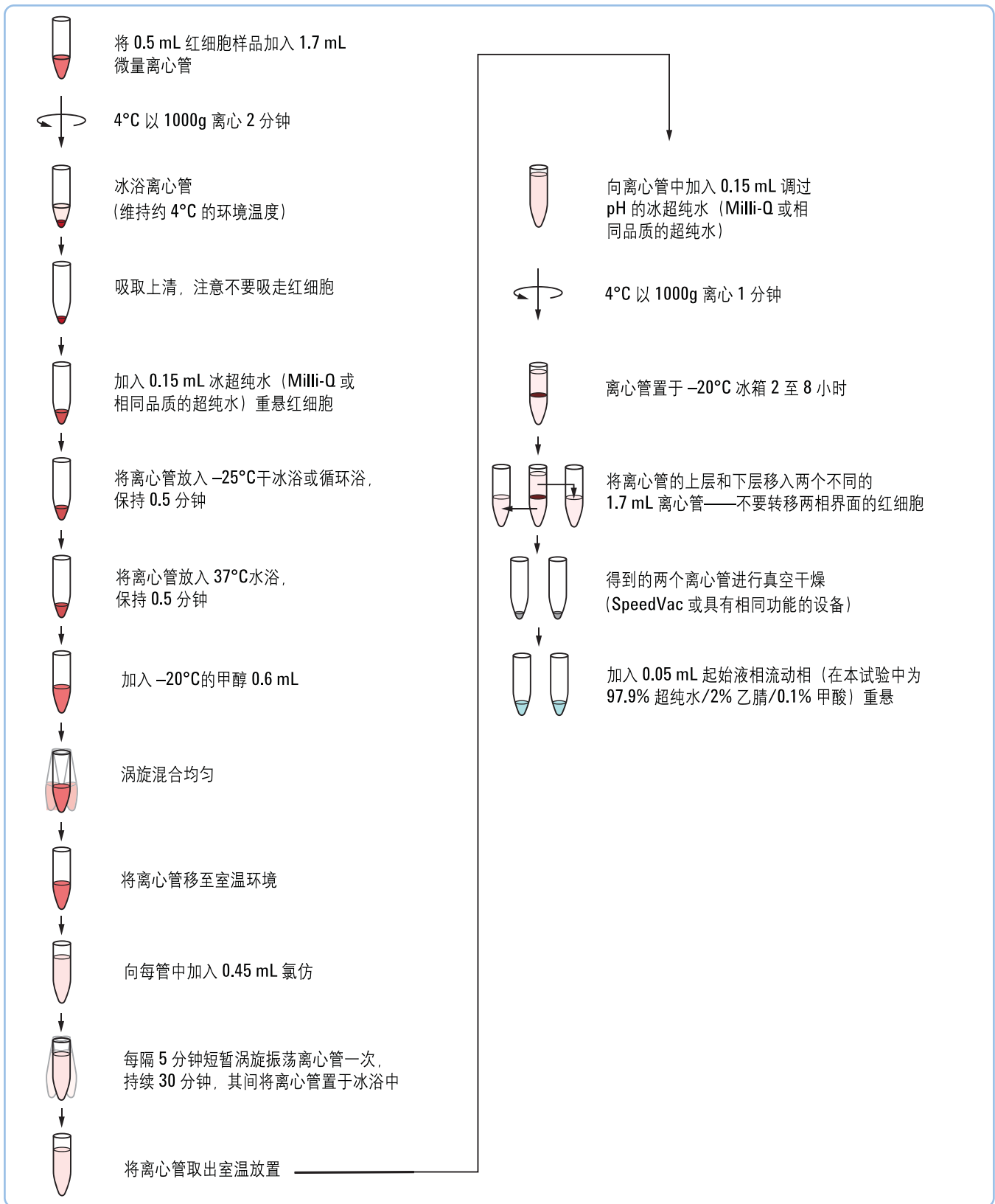


图 5. 用 1.7 mL 离心管进行红细胞代谢物液液萃取的流程图

每个离心管加入 0.15 mL 超纯水 (Milli-Q) 重悬红细胞。先放入 -25°C 循环浴中 0.5 分钟, 再放入 37°C 水浴 0.5 分钟, 以停止细胞代谢并进行细胞裂解。

向每管中加入 0.6 mL -20°C 的甲醇, 涡旋混合均匀。将离心管置入 -25°C 的循环浴。向每个离心管中加入不同体积的氯仿, 第一个离心管中加入 0.35 mL, 从第二管开始每管多加入 0.05 mL (表 1)。每隔 5 分钟短暂涡旋振荡离心管一次, 持续 30 分钟, 其间将离心管置于冰浴中。将离心管转移至室温, 并加入 0.15 mL 冰超纯水促进相分离。本实验中加入 0.15 mL 冰水而不是第一个实验中采用的 0.2 mL, 这是因为离心管中的红细胞占有一定体积。4°C 以 1000g 离心 1 分钟后即可在紧密的红细胞层的上方和下方观察到明显的两相分离。离心管置于 -20°C 过夜, 让残留的氯仿与水/甲醇相分开。

图 6 显示了代谢物提取的结果。虽然实际上所有离心管中的水相体积是一样的, 但看起来并不相同, 这是由氯仿与甲醇的互溶导致的。

6 个离心管中分别加入少许苏丹红 I 颗粒 (图 7)。要实际进行 LC/MS 分析的样品不会进行此操作, 本实验中加入苏丹红 I 颗粒只是为了更容易评估氯仿相的最终体积, 并估计约有多少氯仿由于与甲醇互溶进入水相。

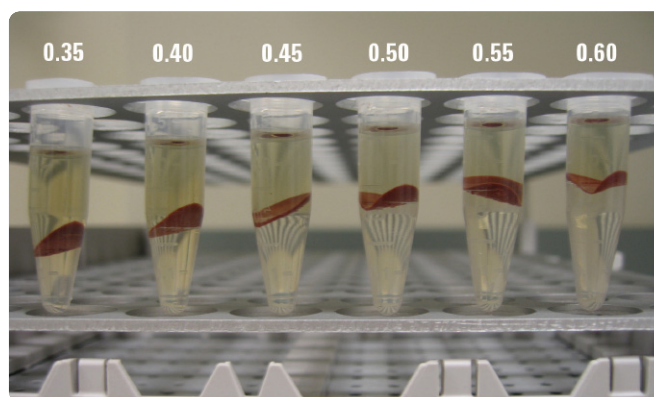


图 6. 采用表 1 中的溶剂体积进行红细胞代谢物的提取。虽然每管中实际加入的水相 (上层) 体积相同, 但由于氯仿和甲醇互溶导致混合后各管中的水相体积看起来不同

每管中的上下层液相分别转移到不同的 1.7 mL 微量离心管中。注意不要扰动红细胞层也不要将红细胞带出。由于 3 号管氯仿回收体积与初始加入体积 (0.45 mL) 相同, 故可以认为最完全的相分离发生在 3 号管 (见表 1)。因此, 后续试验采用了 3 号管的溶剂比例和体积。即使用体积比为 4:2:3 甲醇/水/氯仿进行提取和相分离。采用该比例, 水相和有机相的互溶性最小, 可在后续分析前进行很好的相分离。

表 1. 各离心管中加入的水相和有机相体积

管号	用于细胞裂解的水体积 (mL)	甲醇体积 (mL)	氯仿体积 (mL)	用于相分离的水体积 (mL)	总体积 (mL)
1	0.15	0.60	0.35	0.15	1.25
2	0.15	0.60	0.40	0.15	1.30
3	0.15	0.60	0.45	0.15	1.35
4	0.15	0.60	0.50	0.15	1.40
5	0.15	0.60	0.55	0.15	1.45
6	0.15	0.60	0.60	0.15	1.50

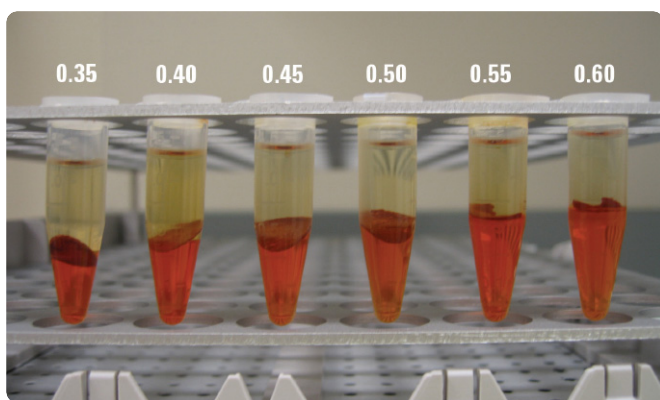


图 7. 离心管中加入苏丹 I，以帮助观察氯仿相，并评估氯仿与甲醇/水的互溶程度

实验 2 中的测试样品并没有进行进一步的 LC/MS 分析，但在处理实际样品时，此时两个管均应进行真空干燥，并采用初始液相流动相重悬。

多个水相 pH 值条件下的萃取

第三个实验主要考察水相 pH 值对非靶向代谢物提取的影响程度，并进一步考察多 pH 值萃取能否改善代谢物提取。

三个 50 mL 锥形瓶中各装入 50 mL 超纯水 (Milli-Q)。第一瓶中加入浓甲酸至甲酸终浓度为 1%，pH = 2。第二瓶中加入 30% 浓氨水至氨水终浓度为 2%，pH = 9。第三瓶仍保持中性 pH = 7。

三个红细胞样品采用图 5 中描述的流程进行制备。溶剂量和比例采用之前实验中确定的最佳分离条件。在第一次样品重悬时（步骤 4），第一个样品用 0.15 mL pH 为 2 的甲酸水溶液，第二个样品用 0.15 mL 中性 pH 值的超纯水，第三个样品用 0.15 mL pH 为 9 的稀氨水。

提取和相分离过程结束后，对每个样品的水相进行真空干燥，然后用初始液相流动相复溶，用于后续分析。

数据采集和分析

这三个样品都采用 Agilent 1100 系列液相色谱仪和带电喷雾离子源的 Agilent 6210 飞行时间质谱仪组成的 LC/MS 系统进行分析。该 TOF 系统采用 m/z 121.050873 和 m/z 922.009798 的外标进行校正以确保最佳的质量准确度。

安捷伦 MassHunter 工作站软件中的分子特征提取 (MFE) 算法被用来在这三个数据文件中寻找分子特征——未识别的非靶向化合物。MFE 算法寻找随时间协变的质量信号（离子），分析可能的化学关系（同位素、加合物、二聚体、多价态），并生成每个分子特征相应的化合物色谱图和质谱图。该方法可发现色谱中分离度较差的化合物，提高发现化合物的总数。结果得到为每个样品中所含的分子特征（化合物）列表，每个分子特征都有相应的色谱和质谱信息。

LC 条件

色谱柱:	Zorbax SB-Aq, 2.1 × 150 μm, 3.5 μm
流速:	0.4 mL/min
柱温:	20 °C
进样量:	2.0 μL
流动相:	A: 0.1% 甲酸水溶液 B: 0.1% 甲酸乙腈溶液
梯度条件:	0.0-28.0 min 2% B 28.0-30.0 min 100% B 30.0 min 结束分析

MS 条件

离子化模式:	正离子模式
干燥气流速:	10 L/min
干燥气温度:	250 °C
雾化器压力:	40 psig
毛细管电压:	4000 V
最大质量数:	1700
参比离子流速:	10 μL/min
扫描范围:	m/z 50–1000
采集速度:	2 Hz

为了鉴定每个样品中的溶剂提取化合物，分别将这三个分子特征列表在安捷伦 METLIN 代谢物数据库中进行检索。METLIN 数据库由斯克里普斯研究所质谱中心编制，包含超过 15000 种内源性和外源性代谢物，以及二肽和三肽的大量质谱数据、化学式和结构信息。METLIN 数据库的检索结果（质量匹配偏差小于 10ppm 的化合物）以 Microsoft Excel 表格输出。

图 8 是不同 pH 值时提取化合物总数的柱状图。pH = 7 和 pH = 9 时提取化合物的总数有明显差异，pH = 9 时提取的化合物数量是 pH = 7 时提取化合物数量的两倍。图 8 中的原始数据包含一些冗余数据，包括单个分子特征在 METLIN 数据库中匹配了多个具有相同质量数的化合物。在 Microsoft Excel 中分别对这三个化合物（质量数）列表进行过滤去除冗余数据，保证三个列表中的各个特定化合物（质量数）只在每个 pH 值提取物列表中出现一次。这样就可以对不同 pH 值条件下的提取物进行 1 对 1 的比较。

接下来，将这三个列表合并，建立一个无冗余化合物库。该库和各 pH 值提取物列表一起导入安捷伦的 GeneSpring MS 数据分析软件，就可以得到一个 Venn 图（图 9），该图是基于三个列表和库构建的，显示了单个 pH 值条件下可以提取到的化合物数量，以及在两个或三个 pH 值条件下可以提取到的化合物数量。

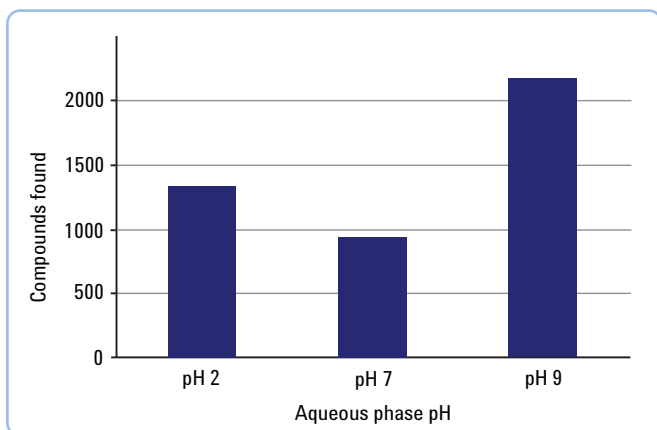


图 8. 各个 pH 值条件下 MassHunter 检测到的化合物总（原始）数量

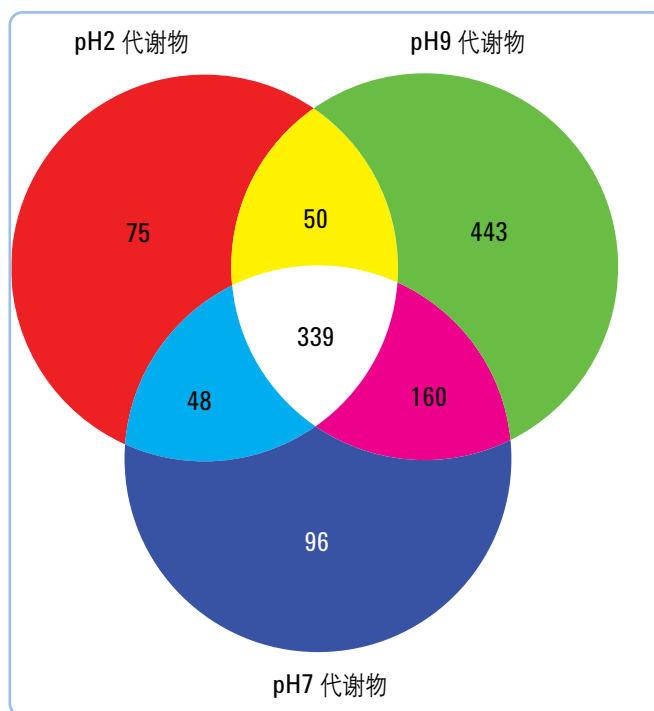


图 9. GeneSpring MS 得到的 Venn 图显示了单个、两个或三个 pH 值条件下能够提取到的化合物数量

在该库的总共 1211 个无冗余化合物中，有相当数量（339 个）的化合物在三个 pH 值条件下均能提取得到，这表明它们对提取 pH 值的变化不敏感。这就意味着这些化合物能在单一 pH 值条件下如 pH = 7 时，也可以毫无遗漏地全部提取。然而，超过总数三分之一（443 个）的化合物只能在 pH = 9 时提取得到。该 pH 值条件可提取到含羧酸基团的化合物。最终 pH = 9 时提取到的许多代谢物被鉴定为脂肪酸，涉及花生四烯酸代谢、白三烯代谢以及脂质合成。虽然其中许多化合物在中性 pH 值条件下稳定，也可在 pH = 7 条件下提取，但若仅在中性 pH 值条件下提取，仍得不到这些化合物，这一点已经得到共识，这一结论也同样适用于只能在 pH = 7 时提取得到的 96 个化合物和只能在 pH = 2 时提取时得到的 75 个化合物。

结论

本文介绍了一种在微量离心管中进行红细胞代谢物液液萃取的有效方法。正确的水相和有机相比比例既能满足高有机相终止代谢的要求，又能在加水后达到良好的两相分配，对于在二者间取得良好的平衡至关重要。两相分配使得极性和非极性代谢物分别回收成为可能。最终，在多个 pH 值条件下（如 pH 2、7 和 9）进行代谢物的提取，可显著增加提取到的代谢物数量。对于该特定样品，如果只在单一中性 pH 值条件下进行代谢物提取，那么超过 45% 的代谢物都不能被有效地提取回收——这在本领域已成为共识。

参考文献：

1. Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. Preparation of lipid extracts from brain tissue. *J. Biol. Chem.*, 226, 497–509 (1957).
2. Bligh, E.G. and Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911–917 (1959).
3. Green, Floyd J., *The Sigma-Aldrich Handbook of Stains, Dyes, and Indicators*, ©1990, Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, Wisconsin.

关于安捷伦科技

安捷伦科技公司是生命科学研究设备的领先供应商，致力于帮助科学家理解复杂的生物过程，确定发病机理和加快新药开发速度。安捷伦的生命科学解决方案专为提高灵敏度、重现性和工作效率而设计，为基因组学、蛋白组学和代谢组学应用提供分析仪器、微流控技术、软件、芯片、耗材以及服务。

了解更多：

www.agilent.com/chem/metabolomics:cn

在线购买：

www.agilent.com/chem/store:cn

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

customer-cn@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/quote:cn

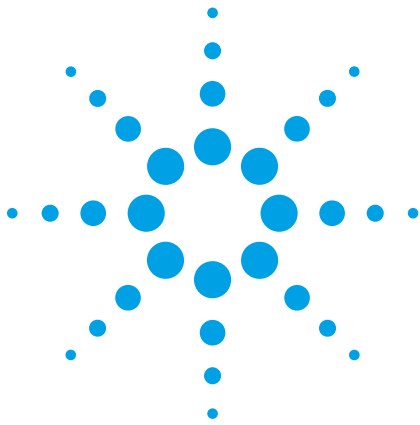
本文仅限研究使用，不可用于诊断目的。本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

安捷伦对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失不承担任何责任。

©安捷伦科技（中国）有限公司，2007

2007年10月31日，中国印刷

5989-7407CHCN



3.2 健康/临床/疾病代谢组学

3.2.2 气质联用篇

应用 GC/MS 及安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库鉴定血浆中的代谢物

应用通讯

作者

Mine Palazoglu 和 Oliver Fiehn
加州大学戴维斯分校基因研究中心
Davis, CA 95618

摘要

气相色谱/质谱 (GC/MS) 联用技术可为代谢组学研究提供高分离能力和高灵敏度。代谢组学筛选的效用很大程度上取决于被鉴定代谢物的数目并与其生物学解释有关。通常，最难的步骤是对这些代谢物进行鉴定。最新的安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL (保留时间锁定) 数据库正是专为简化代谢物鉴定而开发的一款数据库。

本文以人血浆样品为例阐释了复杂生物基体中代谢物的鉴定。通过质谱解卷积和快捷、灵活、高通量的安捷伦 Fiehn 谱库检索匹配，对常规的鉴定流程进行补充。判断鉴定结果是否准确的一个最重要指标就是样品保留时间，即通过与内标物 d27-肉豆蔻酸的绝对保留时间进行锁定判断保留时间的一致性。安捷伦 Fiehn 谱库特有的保留时间锁定技术增加了鉴定结果的可信度。平均保留时间偏差小于 0.15 min，更是增加了代谢物鉴定结果的可靠性和可信度。正如 NIH/NIDDK 和代谢组学学会近期所建议的那样，采取类似措施对化合物鉴定程序进行补充，在代谢物鉴定报告的规范化过程中发挥着越来越重要的作用。

引言

即使使用现代仪器,对复杂生物基体中小分子代谢物(30-1500 Da)的全面定性与定量,即“代谢组学”,依然是分析化学中极具挑战性的课题。单一的方法无法完成此项任务。例如,萜烯类等强挥发性物质不能使用以液相色谱进行分析,而必须使用气相色谱。同样,液相色谱比毛细管电泳(CE)技术更适于分离多酚类物质,而二磷酸肌醇和三磷酸肌醇(如糖酵解和卡尔文循环途径中)最适合毛细管电泳分离。然而,这三种主要分离技术的任意一种都能对一系列不同种类化合物进行并行检测及定量,特别是当采用质谱进行准确、灵敏的检测时,更是如此。GC/MS可为代谢组学研究提供高分离能力和高灵敏度。尽管分离机制有很大不同,但各主要分离方法所能鉴定的化合物种类有很大重叠。而高重叠度(即使与核磁共振技术相比)的内在原因在于这些丰富的代谢中间产物所具有的固有特性。

复杂生物基体中各种代谢物的浓度差异很大,在提取时必须保证各物质结构的完整性和相对丰度的一致性。然而,不同物种(比如小白鼠、大白鼠和人,甚至亲缘关系更远的哺乳动物、鸟类和酵母菌之类的简单的真核生物)之间的核心代谢途径在设计上是高度相似的。这些固有的代谢途径有助于满足生物体共同的代谢需求,比如氧化碳源以获取能量,或者相反地,利用碳水化合物、氨基酸和脂肪酸合成蛋白质、复合脂类和能量存储的生物高分子如糖原和脂肪,用于细胞生长。随后可根据生物体

内分解代谢和生物合成途径的活性来解释各固有中间代谢产物的相对丰度。因此,代谢组学筛选的效用很大程度上取决于被鉴定代谢物的数量以及其相关的生物学解释。本文使用一种溶剂混合物实现蛋白质的沉淀和提取,随后进行化学衍生化、GC/MS分析、谱图解卷积数据处理,再通过一系列代谢产物列表进行验证,鉴定了人血浆中的代谢物,并演示了外部化学及生物学数据库的相关应用。

实验

于中午12:00至下午3:00采集志愿者血液,并在15 min内离心去除血小板。整个过程样品均用冰冷却,随后冻于-80°C。样品初次解冻后分为若干等份待GC/MS分析。量取30 μ L血浆,加入1 mL单一相混合提取液(异丙醇:乙腈:水3:3:2, v/v),于20°C提取5 min。离心后,量取0.5 mL上清液于试管中,置于SpeedVac浓缩器中充分浓缩至干。之后,通过以下两个步骤进行样品的衍生化反应。首先,向试管中加入10 μ L浓度为40 mg/mL的甲氧基胺盐酸盐吡啶溶液,于30°C放置90 min进行甲基化反应,以保护羰基。然后,为增强化合物的挥发性,加入90 μ L含有1%三甲基氯硅烷的N-甲基三甲基硅三氟乙酰胺溶液(MSTFA + 1% TMCS, Pierce)于37°C环境中静置30 min进行衍生化。衍生化步骤使得醛类和酮类化合物在检测结果中出现两个色谱峰:即顺式和反式异构体,例如葡萄糖1和葡萄糖2。

GC/MS条件如下:6890 GC柱温箱从60°C以10°C/min速率升至325°C(含启动时间1 min和最终平衡时间10 min),整个过程共37.5 min,再冷却至60°C。用10 μ L进样针,采用分流/不分流进样口,进样体积为1 μ L,进样口温度为250°C,每次进样萃取4次,进样前后都用溶剂A和溶剂B洗针,洗针次数分别为1次和2次。使用高柱塞速度,无粘度延迟和驻留时间。样品采用不分流和分流进样。不分流进样:氮气吹扫流速10.5 mL/min,吹扫时间1 min(8.2 psi)。气体节省装置打开,气体流速20 mL/min,保持3 min。所用色谱柱为长29 m配有10 m Duragard预柱的DB5-MS色谱柱,内径0.25 mm,膜厚0.25 μ m。载气为氦气,恒定流速1 mL/min。质量选择检测器(MSD)的信号数据速率设为20 Hz,管线温度290°C。5.90 min的溶剂延迟时间过后,打开四极杆质谱,扫描范围为50-600 u。离子源温度设为230°C,四极杆温度设为150°C。数据采集前,先根据仪器操作手册用FC43对MSD进行自动调谐。分流进样时,除将分流比设为1:10,分流速率设为10.3 mL/min外,其他参数设置与上述相同。利用安捷伦化学工作站的RTL系统锁定内标物d27-肉豆蔻酸绝对保留时间。保留时间的锁定减少了各次运行之间的保留时间变异。采用安捷伦Fiehn GC/MS代谢组学RTL数据库(2008年6月版)进行代谢物的鉴定。该数据库是目前市场上最全面的代谢物GC/MS谱库,包含了约700种常见代谢物的可检索GC/MS EI谱图及保留时间数据。

结果

本实验对一位正在参与药物遗传学实验项目的 22 岁女性志愿者的两份血浆样品进行了代谢物检测，两份样品抽取时间间隔为 4 周。该项目旨在通过评估个体患者的代谢状态以预测治疗措施的效果。分别利用不分流和分流方式进行

后，对血浆样品进行 GC/MS 分析。血浆的主要成分为葡萄糖，有时候也称作“血糖”，人体内的血糖浓度保持在 5mM 左右，为人体各器官特别是大脑提供所需能量。其他预期的含量较高的代谢物包括游离胆固醇，饱和游离脂肪酸和一系列氨基酸，特别是作为骨髓肌与肝脏之间三碳载体的丙氨酸。不同临床实验室之

间血浆提取方法的不统一可能导致分析结果的偏差。一些倾向于用 EDTA 抗凝，而另一些则喜欢用肝素或柠檬酸盐。为得到准确的分析结果，必须控制抗凝剂的使用。美国国家卫生研究院正致力于制订“最佳方法”标准文件以规范和协调众多方法。然而，目前还没有相关文件发布。

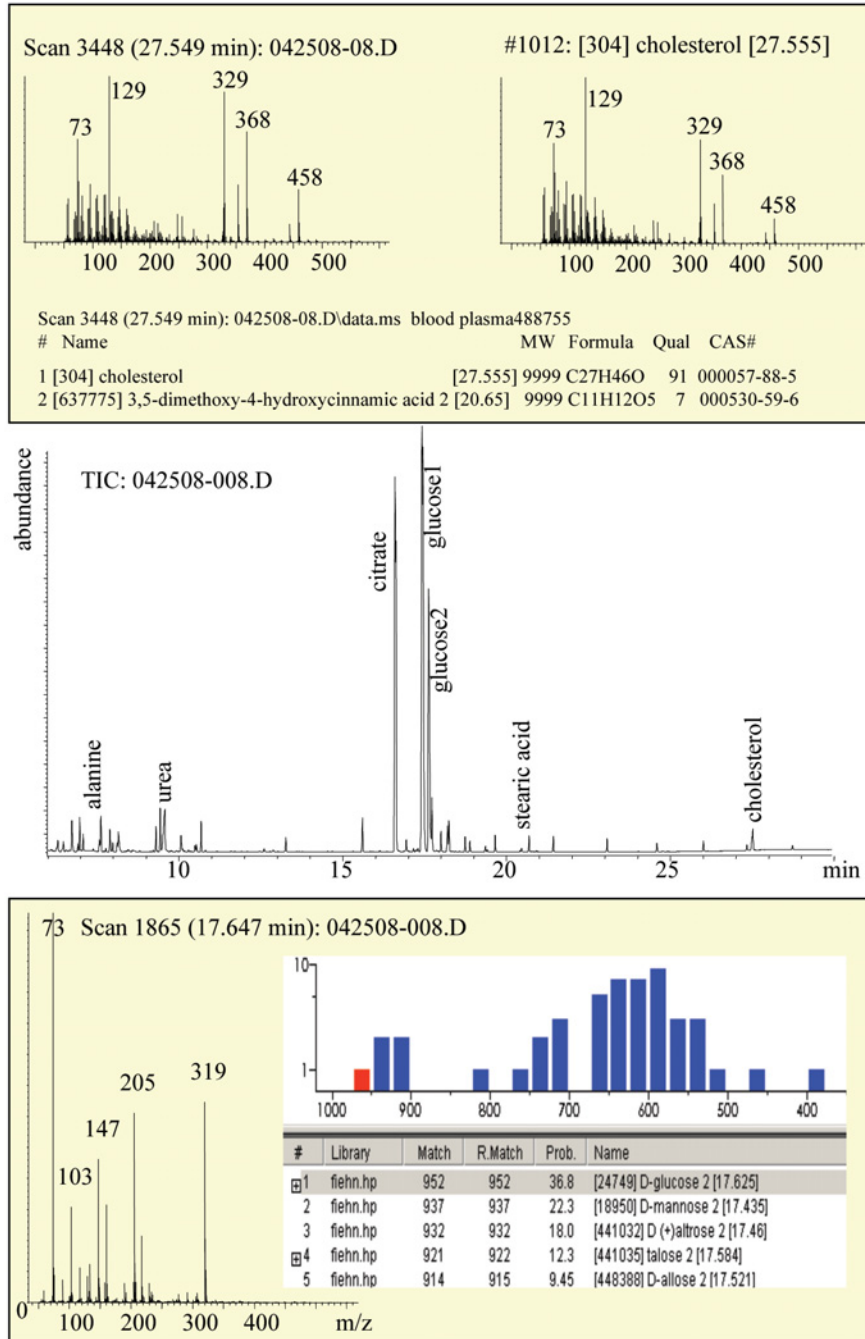


图 1. 甲基化及三甲基硅醚化处理后进行 GC/MS 分析和安捷伦 Fiehn 数据库匹配的人血浆代谢物鉴定结果

中图: 总离子流图, 分流比 1:10

上图: 使用安捷伦化学工作站中的 PBM 快速检索得到的胆固醇鉴定结果

下图: 使用 NIST MS 检索及保留时间信息得到的葡萄糖 2 鉴定结果

样品经 1:10 分流进样后，利用安捷伦化学工作站软件可检测到许多丰度峰。扣除本底后利用 NIST MS 检索或化学工作站 PBM 查询将质谱结果与安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库进行相似度比对，结果在保留时间 7.72、16.59、17.65 和 27.55 min 轻松鉴定出丙氨酸、柠檬酸、葡萄糖和胆固醇 (图 1)。即使未进一步净化，这些化合物质谱图通过 PBM 和 NIST MS 搜索，其质谱匹配因子分别能达到 90 和 900 以上。质谱图中柠檬酸盐的丰度很高而缺少 EDTA 峰，表明临床采血后加入了柠檬酸盐进行抗凝，这使得内源性柠檬酸盐的测定变得不可能。安捷伦 Fiehn 谱库中包含由美国标准与技术研究院研发的用于 GC/MS 鉴定的自动质谱解卷积 (AMDIS) 程序，可对低丰度化合物进行分析。质谱解卷积程序可以自动寻找色谱峰，并使用最能描述特征峰的典型示踪离子从共提取物中解卷积谱图，之后在用户定义的质谱库中进行相似度匹配，使搜索变得快速简便。

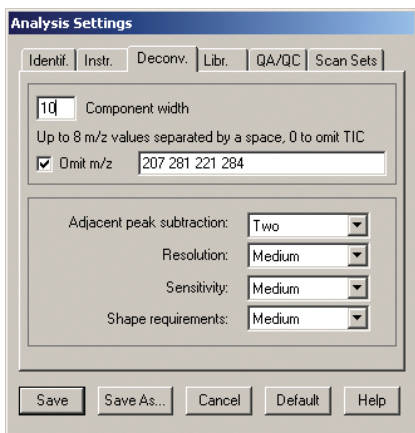


图2. 质谱解卷积的AMDIS设置

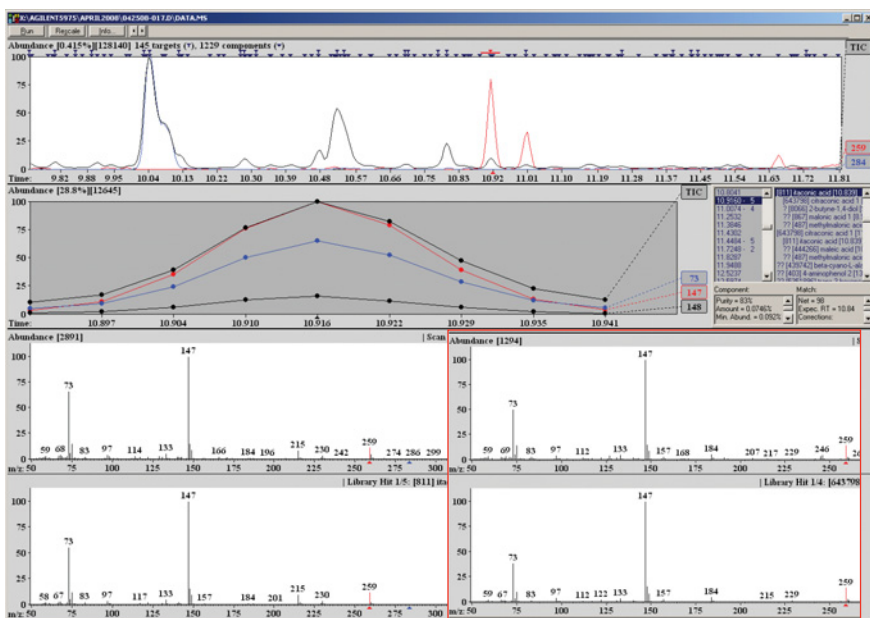


图3. 人血浆中衣康酸和柠康酸尽管谱图相似(下图), 保留时间相近, 但仍可得到鉴定(上图中的红色标记峰)

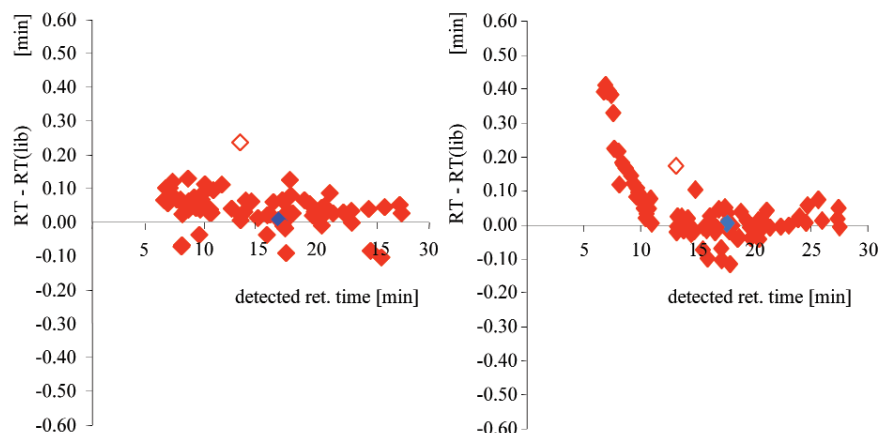


图4. 测得的保留时间与 Fiehn 库中保留时间的偏差。左图: 1:10 分流比进样(用于生成数据库谱图)。右图: 不分流进样。蓝色菱形: 保留时间锁定化合物 d27-肉豆蔻酸。空棱形: 苏丁醇, 可能被错误鉴定, 因保留时间漂移 > 0.15 min。洗脱时间 < 9 min 的代谢物保留时间漂移(右图)的原因是分流进样和不分流进样时载气流速的改变

显然, 质谱峰数量与解卷积谱图质量取决于样品色谱图的复杂性及 AMDIS 的设置。系统中并没有优化好的 AMDIS 设置。用户必须先将分辨率、灵敏度和峰形设置为“中等”, 利用两个相邻峰进行本底扣除(图2), 之后根据检测到的假阳性和假阴性峰来评估结果的优劣

在分流进样和不分流进样时, 通过改变“中等”、“高”、“特高”设置时发现, 不同设置对检测的峰数量有影响, 但对样品中检测到的代谢物数量影响不大。综合各方法之后, 采用不分流方式进样, 首先将解卷积后的谱图与安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库谱图进行匹配, 然后通过对比二者保留时间的差异缩小了命中范围, 最后对匹配的质谱峰进行人工验证, 鉴定出血浆样本中的 102 个峰(表1)。在约 90% 的情况下, AMDIS 峰列表中匹配度最高的峰是正确的色谱峰。在图3中, 以两种有机酸(衣康酸和柠康酸, 检测信噪比分别为 319 和 172)为例说明了这种自动匹配程序。当对比离子 m/z 73, 147, 215 的丰度时, 这两种酸的质谱图非常相似并且其洗脱时间极为相近(相差约 5 s)。尽管相似度很高, 应用低丰度离子和保留时间差异仍可准确鉴别这些不常见的酸。在另外一些情况下(约 10% 质谱峰), 当正确代谢物的谱图的匹配度仅比它其中一个异构体略低时, 代谢物的鉴定就必须依赖于保留时间的微小差异了。这种情况在糖类和糖醇类化合物中时有发生, 比如葡萄糖、果糖、核糖及核糖醇。不过绝大多数情况下, 利用安捷伦 Fiehn 数据库中候选代谢物和测定代谢物的保留时间差异可轻易将错误的鉴定结果区分出来(图4)。然而, 不分流进样时, 必须考虑到一种情况: 由于气流条件的改变, 9 min 之前洗脱的代谢物会比预期中出峰时间晚 0.4 min, 这是由于 1:10 的分流条件所造成的(图4)。在几乎所有情况下, 鉴定出的质谱峰其保留时间差异都在 0.15 min 以内。当保留时间的差异大于 0.15 min 时, 尽管谱图有很高的相似度, 鉴定结果很有可能是错误的, 如苏丁醇。苏丁醇的异构体赤藓醇并没有被收录到 2008 版的安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库中。

名称	CAS	PubChem	MSnet	RT	RT (lib)	RT-RT(lib)	纯度	m/z	S/N m/z
4-羟脯酸 2	51-35-4	5810	68	13.29	13.27	0.02	21%	230	37
丙氨酸 1	56-41-7	5950	95	7.72	7.50	0.22	33%	116	125
β -氨基-L-丙氨酸	45159-34-0	439742	83	11.25	11.29	0.05	29%	158	73
肌酸酐	60-27-5	588	95	13.65	13.63	0.02	64%	329	44
胱氨酸 3	56-89-3	67678	90	21.15	21.10	0.04	31%	266	19
ϵ -己内酰胺	105-60-2	7768	97	6.78	6.39	0.39	67%	170	252
谷氨酸 1	56-86-0	33032	53	13.33	13.34	-0.01	12%	174	17
谷氨酸 2	56-86-0	33032	76	14.41	14.40	0.01	20%	246	35
谷氨酸 3 (氧代脯氨酸)	56-86-0	33032	98	13.21	13.23	-0.02	73%	156	152
谷氨酰胺 3	56-85-9	738	96	16.12	16.09	0.03	96%	156	185
甘氨酸	56-40-6	750	97	10.48	10.46	0.02	91%	174	245
异亮氨酸 2	443-79-8	791	84	10.28	10.23	0.05	10%	158	73
亮氨酸 1	61-90-5	6106	91	8.48	8.30	0.18	62%	86	123
亮氨酸 2	61-90-5	6106	66	9.99	9.95	0.05	39%	158	102
L-甲硫氨酸 1	63-68-3	6137	84	11.83	11.84	-0.04	12%	396	20
赖氨酸 2	56-87-1	5962	88	17.68	17.64	0.03	57%	317	142
鸟氨酸	70-26-8	6262	60	14.35	14.35	0.00	21%	142	22
苯丙氨酸 1	63-91-2	994	79	13.55	13.55	0.00	23%	120	61
脯氨酸 1	147-85-3	145742	85	8.73	8.57	0.17	53%	70	177
脯氨酸 2	147-85-3	145742	74	10.35	10.32	0.03	66%	142	102
丝氨酸 1	56-45-1	5951	96	9.80	9.71	0.10	76%	132	98
丝氨酸 2	56-45-1	5951	87	11.18	11.17	0.01	31%	204	62
苏氨酸 1	72-19-5	6288	95	10.29	10.22	0.07	81%	147	71
色氨酸 2	73-22-3	6305	89	20.44	20.47	-0.02	40%	202	207
酪氨酸 2	60-18-4	6057	97	17.84	17.86	-0.02	93%	218	242
尿素	57-13-6	1176	99	9.68	9.60	0.08	93%	147	479
缬氨酸 1	72-18-4	6287	91	7.63	7.30	0.33	31%	72	168
缬氨酸 2	72-18-4	6287	88	9.26	9.15	0.11	85%	144	159
2-羟基吡啶	142-08-5	8871	92	6.93	6.52	0.41	23%	152	83
3-吡啶乙酸	87-51-4	802	80	18.09	18.09	0.00	5%	202	36
3-吡啶乙酸 2	1821-52-9	92904	65	20.06	20.08	-0.02	5%	202	24
4-羟基苯甲酸	114-63-6	135	62	14.48	14.51	-0.03	47%	267	29
6-羟基烟酸	5006-66-6	72924	90	13.82	13.83	0.04	8%	266	19
苯-1,2,4-三醇	533-73-3	10787	94	14.18	14.16	0.02	29%	342	47
苯甲酸	65-85-0	243	97	9.70	9.59	0.11	18%	179	61
咖啡酸	331-39-5	1549111	84	19.72	19.75	-0.04	13%	396	20
烟酸	59-67-6	938	71	10.32	10.27	0.05	8%	180	25
对甲酚	95-48-7	2879	90	8.39	8.21	0.18	4%	165	30
吡啶甲酸	98-98-6	1018	78	10.68	10.60	0.00	6%	202	36
邻苯三酚	87-66-1	1057	89	13.48	13.46	-0.01	35%	312	61
尿酸1	66-22-8	1175	98	19.34	19.33	0.01	89%	441	184
阿拉伯糖醇	488-82-4	94154	77	15.53	15.60	-0.07	37%	217	30
果糖 1	57-48-7	5984	92	17.11	17.18	-0.07	85%	307	138
果糖 2	24259-59-4	5984	75	17.18	15.11	-0.11	75%	217	77
岩藻糖 1	2438-80-4	17106	91	15.61	15.61	0.09	5%	147	184
葡萄糖 1	59-23-4	24749	95	17.48	17.43	0.05	100%	319	420
葡萄糖 2	87-78-5	18950	94	17.62	17.62	0.00	100%	205	497
甘油	56-81-5	753	91	10.03	9.94	0.09	27%	147	184
甘油 1-磷酸	34363-28-5	754	93	15.96	16.06	-0.10	44%	357	45
乙醇酸	79-14-1	757	87	7.43	7.05	0.38	21%	147	72
异麦芽糖 1	499-40-1	439193	93	25.70	25.63	0.07	44%	361	54
来苏糖 1	1114-34-7	65550	65	14.85	14.74	0.10	21%	217	19
麦芽糖 1	69-79-4	6255	88	24.76	24.70	0.06	67%	361	69

表 1. 应用保留时间锁定和不分流进样四极杆 GC/MS, 结合 AMDIS-安捷伦 Fiehnlib 查询对血浆中 102 种化合物的鉴定结果。未完全衍生的化合物会产生多种衍生物类型, 由化合物名称后加 1、2、3 等数字表示。该表由 AMDIS 中的“生成报告”选项生成

名称	CAS	PubChem	MSnet	RT	RT (lib)	RT-RT(lib)	纯度	m/z	S/N m/z
麦芽糖 2	69-79-4	6255	98	24.96	24.92	-0.03	12%	218	244
肌醇	87-89-8	892	94	19.39	19.35	0.03	75%	318	78
糖(二)酸	87-73-0	5460673	64	18.57	18.61	-0.04	14%	333	22
蔗糖	111-11-5	5988	96	24.01	23.99	0.02	46%	361	55
苏糖醇	6968-16-7	169019	93	13.13	12.95	0.17	43%	217	31
癸酸甲酯	110-42-9	C10	93	10.70	10.65	0.05	71%	74	110
甘二烷甲酸甲酯	929-77-1	C22	96	23.08	23.08	0.00	66%	74	70
二十烷酸甲酯	1120-28-1	C20	88	21.43	21.44	-0.01	43%	74	75
二十六烷酸甲酯	5802-82-4	C26	94	26.03	26.02	0.01	40%	74	58
月桂酸甲酯	111-82-0	C12	84	13.24	13.25	-0.01	54%	74	80
methyl linocerate	2442-49-1	C24	96	24.61	24.60	0.01	49%	74	55
肉豆蔻酸甲酯	124-10-7	C14	90	15.59	15.60	-0.01	70%	74	119
二十八酯甲酯	55682-92-3	C28	91	27.37	27.35	0.02	15%	74	38
棕榈酸甲酯	112-39-0	C16	93	17.74	17.72	0.01	60%	74	129
壬酸甲酯	1731-84-6	C9	95	9.37	9.25	0.12	48%	74	107
硬脂酸甲酯	112-61-8	C18	93	19.65	19.66	-0.01	65%	74	81
肉豆蔻酸 d27	60658-41-5	C14 RTL	80	16.72	16.73	-0.01	21%	312	72
花生酸	506-30-9	10467	95	22.36	22.37	-0.01	51%	369	38
山萘酸	112-85-6	8215	89	23.91	23.90	0.02	23%	397	25
癸酸	334-48-5	2969	85	12.41	12.40	0.15	8%	200	39
辛酸	124-07-2	379	87	9.89	9.81	0.09	13%	201	37
十七烷酸	506-12-7	10465	92	19.80	19.80	0.00	38%	327	36
月桂酸	143-07-7	3893	69	14.77	14.79	-0.02	23%	257	32
亚油酸	60-33-3	5280450	94	20.41	20.40	0.01	81%	337	85
肉豆蔻酸	544-63-8	11005	70	16.93	16.89	0.05	2%	285	58
油酸	112-80-1	445639	90	20.46	20.50	-0.04	64%	339	106
棕榈酸	64519-82-0	985	98	18.88	18.85	0.04	93%	313	293
棕榈油酸	373-49-9	445638	62	18.69	18.73	-0.04	2%	311	29
庚二酸	111-16-0	385	60	14.19	14.19	0.00	23%	155	20
硬脂酸	57-11-4	5281	98	20.69	20.68	0.02	95%	341	330
10-羟基癸酸	362-06-1	74300	92	16.36	16.51	-0.02	76%	202	207
1-十六醇	36653-82-4	2682	75	17.93	18.05	-0.12	3%	299	30
2-糠酸	88-14-2	6919	73	8.19	8.07	0.12	2%	125	18
2-羟基丁酸	565-70-8	11266	75	8.07	7.85	0.22	33%	147	41
2-酮己酸 2	4502-00-5	70	85	9.19	9.04	0.15	65%	200	39
己二酸	124-04-9	196	86	13.02	13.00	0.00	27%	120	60
α酮戊二酸	328-50-7	51	74	13.84	13.86	-0.02	35%	147	21
柠檬酸 1	498-23-7	643798	91	11.01	11.00	0.00	70%	147	107
柠檬酸	5949-29-1	311	96	16.59	16.61	-0.02	100%	347	290
甘油酸	473-81-4	439194	87	10.78	10.73	0.05	30%	189	38
衣康酸	97-65-4	811	95	10.92	10.84	0.08	87%	147	180
乳酸	79-33-4	107689	95	7.24	6.85	0.39	60%	147	293
磷酸	7664-38-2	1004	97	10.04	9.97	0.08	88%	299	633
丙酮酸	127-17-3	1060	76	7.11	6.71	0.39	24%	174	64
琥珀酸	29915-38-6	1110	82	10.54	10.51	0.03	22%	148	88
反式乌头酸	585-84-2	444212	95	15.83	15.84	-0.02	91%	229	146
乙二酸	144-62-7	971	63	7.78	7.88	-0.11	25%	147	367
维生素E	10191-41-0	2116	84	27.43	27.38	0.05	15%	502	67
胆固醇	57-88-5	304	97	27.55	27.56	-0.01	89%	368	198

接表 1

进一步研究鉴定结果发现，信噪比和峰纯度共同决定了血浆代谢物质谱峰的最终数据库匹配度（图 5）。当信噪比超过 100 时，所有峰与安捷伦 Fiehn 数据库中谱图的匹配值都可达到 80 以上。对于峰纯度，总趋势为质谱峰纯度越高，匹配度越好。然而，这种峰纯度的相关性趋势并没有像信噪比那样明确清晰的关联和阈值范围。随后根据主要化学基团将鉴定出的 102 种代谢物归类到“甾醇类和芳香族化合物”、

“氨基化合物”、“羟基酸”、“碳水化合物”和“脂肪酸和脂肪醇”中。每一类别都含有 15 种或 15 种以上的特征峰（图 6），在氨基酸和其他含氨基的化合物中所具有的特征峰数目会更多（比如尿素）。该特征峰的数目表明 GC/MS 可以分析和鉴定血浆中几乎所有主要类别的主要代谢物。

安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库的搜索结果不仅能够用于鉴别代谢物，而且能够提供化合物的识别码，即 PubChem 号码。利用该识别码可进行代谢物相关的生理学和生物化学信息检索。这对于一些非常见化合物非常有用，如“衣康酸”。当用户用 PubChem 号码（安捷伦 Fiehn 数据库中每种化合物名称前面括号中的编码）进行查询时，PubChem 网站会提供关于其生物化学代谢途径数据库 KEGG 的链接（图 7）。打开相关链接，KEGG 会提供化合物涉及的酶及代谢途径的信息。例如衣康酸酯的“C5-支路二元酸代谢机制”，该机制同时包含柠檬酸和衣康酸（图 3 中的鉴定结果），根据鉴定结果推导出柠檬酸和衣康酸丰度受柠檬酸调控的假设。当利用 KEGG 途径进行人血浆代谢物的查询时，不应将查询范围局限在“人类”的代谢途径，这一点非常重要，因为多种微生物会将其代谢物分泌到人类血管系统，并且会有许多外源性化合物随人类的饮食而被摄入（比如，植物源性化合物）。因此，化合物的高度多样性和血浆代谢物鉴定结果的复杂性是可以预期的。这就是血浆代谢物谱图中仍有很多质谱峰有待鉴定的原因。

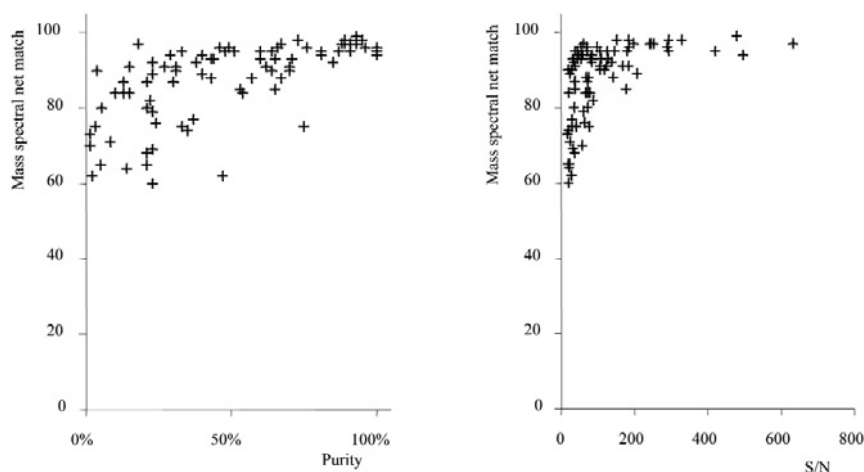


图 5. 鉴定代谢物的质谱匹配度相关性。左图：AMDIS 解卷积后质谱的纯度。右图：定量离子的信噪比

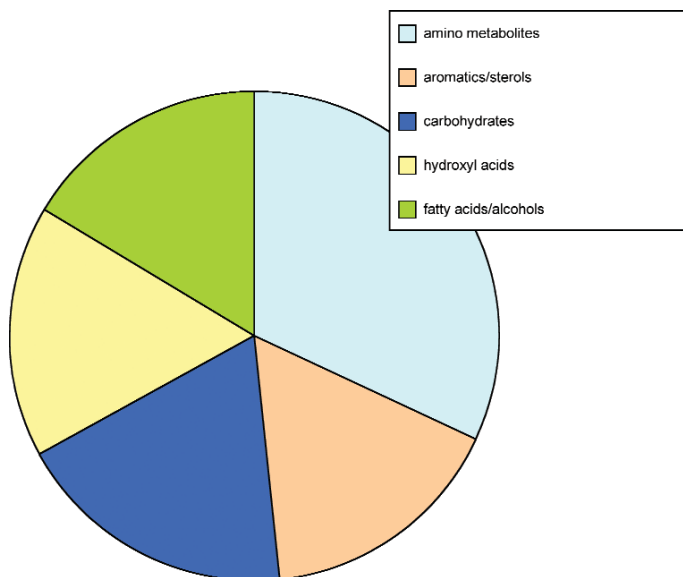


图 6. 鉴定出的血浆代谢物的类别组成

结论

本文在人血浆代谢物的分析过程中应用了最新的安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库。例行鉴定程序结束后,通过 AMDIS 质谱解卷积和样品谱图在安捷伦 Fiehn 谱库中进行快捷、灵敏、高通量检索匹配,对鉴定结果进行确证。判断鉴定结果是否准确的一个最重要的标准就是保留时间的一致性。该保留时间与内标物 d27-肉豆蔻酸的绝对保留时间锁定。安捷伦 Fiehn 数据库特有的保留时间锁定功能增加了鉴定结果的可靠性。保留时间偏差小于 0.15 min,更增加了代谢物鉴定结果的可靠性和可信度。正如 NIH/NIDDK 和代谢组学学会所建议的那样,采取类似措施对化合物鉴定程序进行补充,在代谢物鉴定报告的规范化过程中发挥着越来越重要的作用。

参考文献:

Sumner LW, Amberg A, Barrett D, Beger R, Beale MH, Daykin C, Fan TWM, Fiehn O, Goodacre R, Griffin JL, Hankemeier T, Hardy N, Higashi R, Kopka J, Lindon JC, Lane AN, Marriott P, Nicholls AW, Reilly MD, Viant M (2007) Proposed minimum reporting standards for chemical analysis. *Metabolomics* 3, 211-221

Castle LA, Fiehn O, Kaddurah-Daouk R, Lindon JC (2006) Metabolomics standards workshop and the development of international standards for reporting metabolomics experimental results. *Brief. Bioinformatics* 7, 159-165

Halket JM, Przyborowska A, Stein SE, Mallard WG, Down S, Chalmers RA (1999) Deconvolution gas chromatography mass spectrometry of urinary organic acids - Potential for pattern recognition and automated identification of metabolic disorders. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 13, 279-284

安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库产品说明书。2008年5月,安捷伦文献:5989-8310EN

G1676AA 安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库:化合物清单。2008年6月安捷伦文献:5990-3311EN

安捷伦 G1676AA 安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库使用指南。2008年6月,安捷伦出版号:G1676-90000

PubChem Compound Search for [111][wd]
Display Summary | Show 20 | Sort by | Send to | Tools | Links: Related Structures, BioAssays, Literature, etc.
BioAssay: 1 | Protein3D: 0 | Rule of 5: 1 | X
CD: 611

Itaconic acid; Itaconate; Methylenebutanedioic acid.
IUPAC: 2-methylenebutanedioic acid
MW: 130.056740 g/mol | MF: C₅H₆O₄
Tested in 7 BioAssays; BioActivity Analysis

KEGG COMPOUND: C00490
Entry: C00490 Compound
Name: Itaconate; Itaconic acid; Methylenebutanedioic acid
Formula: C₅H₆O₄
Mass: 130.0266
Structure: OC(=O)C=C(O)C(=O)O
Reaction: R02243 R02404 R02405 R02406 R02407
Pathway: PATH: ko00640 C5-branched dibasic acid metabolism
Enzyme: 2.8.3.7 4.1.1.6 6.2.1.4 6.2.1.5

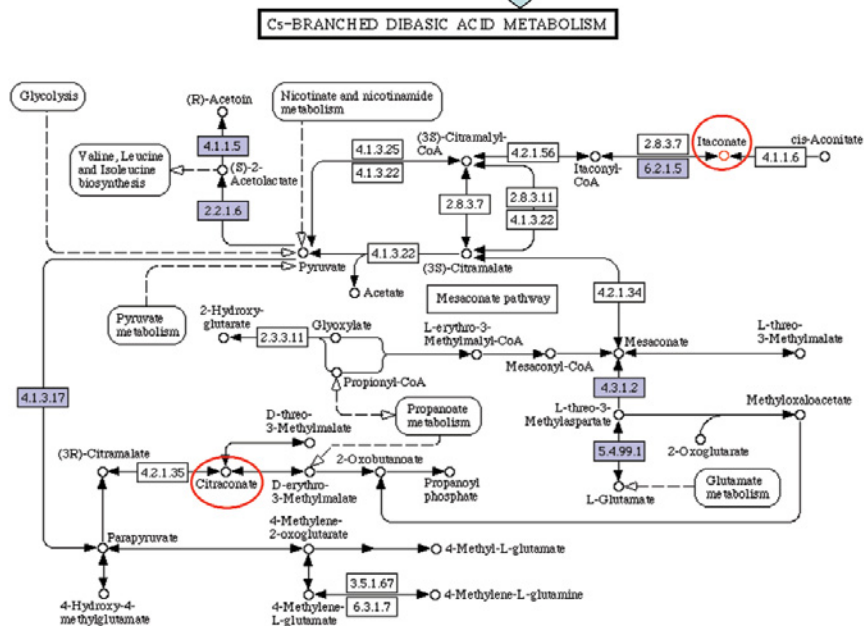


图7. 根据 PubChem 号码查询被鉴定代谢物的相关生物学信息

www.agilent.com/chem/cn

本文仅限研究使用,不可用于诊断目的。文中涉及的信息、说明和指标,如有变更,恕不另行通知。

安捷伦科技公司对本资料中出现的错误,以及由于提供使用本资料所造成的意外或间接损害不承担责任。

© 安捷伦科技(中国)有限公司,2009

2009年4月1日,中国印制
5990-3638CHCN

附录



安捷伦代谢组学

采用安捷伦 LC/MS 和 GC/MS 系统的代谢组学研究摘要合集。



基于质谱（MS）的代谢组学是一种可用于许多生物学问题研究的技术。代谢产物的化学性质差异很大，各个代谢产物的丰度变化也很大，因此，代谢组学研究通常需要多种技术联合使用，特定分析技术可能更适用于某类特定样品分析。其中，最常用的两种技术是 GC/MS 和 LC/MS 分析。进行全面代谢组学研究的实验室经常综合采用这两种方法。

发现代谢组学是通过比较对照组和试验组的代谢组（有机体的所有代谢产物），发现代谢谱的差异。接下来进行代谢产物化学结构的鉴定和确证，最后阐释发现的代谢产物与生物过程或研究条件的关系。

靶向代谢组学成功的关键在于质量精度、分析通量和结果可靠性。虽然与表达谱相比，这些分析是比较常规的分析，但需处理大量的样品。一般来说，这些研究通常采用 GC/MS 系统的选择性离子监测（SIM）模式，或采用三重串联四极杆 LC/MS 系统的多反应监测（MRM）模式进行目标化合物的 MS/MS 分析。

LC/MS

发现代谢组学

飞行时间质谱 (TOF)

1. 通过非靶向脂质代谢谱分析鉴定乙型肝炎病毒复制细胞中的超高丰度的胆固醇前体。

Rodgers MA, Saghatelian A, Yang PL
J Am Chem Soc. 2009 Apr 15;131(14):5030-1

病毒依赖于宿主的脂质代谢通路进行成功复制，目前越来越多的研究开始关注这些通路，以期将其做为新的抗病毒药物治疗靶点。尽管如此，人们对于病毒感染对细胞脂质代谢的影响仍知之甚少，也尚未发现被病毒利用的特定脂质代谢物。我们采用基于液相色谱/质谱 (LC-MS) 的非靶向代谢谱分析发现，由于一种重要的人类病原体 HBV 的复制，脂质代谢产物的稳态丰度发生了明显变化。非靶向代谢谱分析表明，虽然主要脂类代谢产物不受 HBV 的影响，但荷质比为 367m/z 的代谢产物在阳性 HBV 细胞中的丰度比正常细胞高 18 倍。根据碎片离子的质谱图以及与标准品一起进样的结果，该离子被鉴定为 7-脱氢胆固醇 (7-DHC)，是胆固醇的直接脱氢前体。已有研究表明，胆固醇是许多病毒复制所必需的物质。本文首次证明病毒复制与 7-DHC 的选择性累积相关。目前大部分病毒学研究方法都通过消除所有固醇，以阻止病毒病原体对固醇的任何选择性利用。本研究证明乙型肝炎病毒可以选择性地利用 7-DHC 而非其它类固醇，并试图探寻这种富集的功能性意义以及阐明相应的机理。研究结果还突出了非靶向代谢谱分析作为病毒感染关键代谢产物鉴定方法的重要价值。

2. 通过基于 LC-MS 的地松鼠肝代谢组学研究分析冬眠周期。

Nelson CJ, Otis JP, Martin SL, Carey HV.
Physiol Genomics. 2009 Mar 3;37(1):43-51. Epub 2008 Dec 23.

哺乳动物冬眠的特点是新陈代谢的灵活性，主要表现为可逆的代谢抑制（蛰伏）和夏冬更替过程中以糖类代谢为主的代谢方式和以脂质代谢为主的代谢方式交替变化。为了更深入地了解不同休眠阶段的生理信息，我们采用基于 LC/MS 的代谢组学研究方法，进行了地松鼠肝五个不同时期的小分子代谢产物差异研究：夏天、进入冬眠、深度冬眠、从冬眠中苏醒以及完全觉醒阶段。在不同的季节和冬眠-苏醒循环的不同阶段，酶辅助因子代谢、氨基酸分解代谢，以及嘌呤和嘧啶代谢均有明显的不同，且可观察到冬眠期间代谢产物的减少和苏醒期间代谢产物的增加。多种脂类代谢产物也发生了变化，1-油酰溶血卵磷脂、胆固醇硫酸盐和鞘氨醇等在冬眠期间达到最低水平，而十六烷二酸在冬眠期内逐渐积累。研究结果展示了几类代谢产物在冬眠期间的含量具有显著差异，并突出了代谢组学分析在破译冬眠信息中的重要意义。

3. 鉴定蛋白质-代谢产物相互作用的总体代谢谱分析方法。

Tagore R, Thomas HR, Homan EA, Munawar A, Saghatelian A
J Am Chem Soc. 2008 Oct 29;130(43):14111-3. Epub 2008 Oct 3

了解蛋白质的生化功能对于阐明其细胞和生理功能具有重要意义。鉴于生物大分子的相互作用在生物学中的重要性，人们设计了许多方法来研究并确定蛋白质与 DNA、RNA 以及其它蛋白质的生物相关性。能阐明蛋白质和小分子代谢产物结合的辅助方法会进一步加深对蛋白质-代谢产物相互作用的理解，并作为现有方法的补充。本研究表明，采用总体代谢谱分析研究平台，结合蛋白介导的小分子富集步骤可实现复杂代谢产物基质中天然蛋白质-代谢产物相互作用的鉴别。

4. 分子式和 METLIN 个人代谢物数据库匹配在 LC/TOF-MS 检测化合物鉴定中的应用。

Sana TR, Roark JC, Li X, Waddell K, Fischer SM.

J Biomol Tech. 2008 Sep;19(4):258-66.

为了简化并优化液相色谱-飞行时间质谱代谢组学数据的化合物鉴定过程，我们从公共 METLIN 数据库 (<http://metlin.scripps.edu/>) 中抽取了 15000 多个化合物构建了个人化的代谢物数据库软件。此外，我们还在数据库的基础上增加了其它功能：(a) 增加了允许用户指定保留时间作为辅助搜索参数的功能，弥补仅靠精确质量数进行检索的不足；以及 (b) 允许调用独立软件——分子式生成器 (MFG)，对精确质量数检索结果进行可靠的解释。为了检验这种鉴定策略的实用性，我们将混合标样中 78 个合成尿样标准品的保留时间加入到数据库中各自的精确质量数条目下。对混合标样进行分析并通过 METLIN 尿样数据库进行检索，结果表明其中 46 个化合物的精确质量数和保留时间可匹配。接着在相同的条件下进行了人尿样的分析和数据库检索。人尿样中共检测到 1387 个离子，其中 16 个离子的精确质量数和保留时间均可与 78 个标准品中的相应化合物相匹配。另外 374 个离子仅能与数据库中的精确质量数匹配，其中 163 个离子具有最高的 MFG 得分。用 MFG 计算得到了其它 849 个数据库检索未得到匹配结果的离子的分子式。综上所述，METLIN 个人代谢物数据库和 MFG 软件联用可提供用于确认数据库检索匹配化合物分子式的可靠策略。即使在经过数据库检索后未得到匹配结果，该策略仍能给出可用于解释实验结果的可能分子式。

5. 采用氢化硅胶固定相的高效液相色谱质谱联用技术分析亲水性代谢产物。

Pesek JJ, Matyska MT, Fischer SM, Sana TR.

J Chromatogr A. 2008 Sep 12;1204(1):48-55. Epub 2008 Jul 31.

采用一种新型的氢化硅胶固定相评价了代表三类代谢产物的标准品在含水正相 (ANP) 模式下的保留行为。考察了改变柱温或在流动相和样品溶剂中加入不同的添加剂对氨基酸、糖类和小型有机酸类物质保留行为的影响。采用梯度洗脱分析模式，结果表明这几类化合物的保留时间重现性极好。在 15°C 和 30°C 两个柱温条件下，氨基酸混合物样品的 50 多次进样获得了卓越的结果重现性，RSD 小于 1%。该技术可分离 19 种非衍生化氨基酸标准品、有机酸和糖类，说明该固定相具有分离复杂基质如尿液中极性代谢产物的潜力。

6. 用 LC/TOF-MS 快速分析真菌培养基和无花果干中的次级代谢产物。

Senyuva HZ, Gilbert J, Oztürko lu S.

Anal Chim Acta. 2008 Jun 9; 617(1-2):97-106. Epub 2008 Jan 16.

建立了真菌代谢谱分析的高效液相色谱-飞行时间质谱 (LC/TOF-MS) 法。通过将黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、单端孢霉烯族毒素和其它代谢产物添加到空白培养基中并分析，考察了该方法的分析性能，即质量精确度、选择性 (特异性) 和重复性。进行样品提取和 LC/TOF-MS 分析后，将这些标准品在由 465 个次级代谢产物组成的数据库中进行检索，实现了准确鉴定。以在各种基质上生长了 7 到 14 天的 11 种产生毒素的真菌和 4 个不产生毒素的真菌为分析对象，验证了该方法的可行性。还用该方法进行了两种产生毒素的真菌——在 γ 射线灭菌的无花果干上生长了 7 到 14 天的黄曲菌 (200-138) 和寄生菌 (2999-465) 的代谢谱分析。对真菌菌丝和其生长的培养基或无花果干一起进行溶剂萃取，并用快速高分离度微径液相色谱柱进行 LC/TOF-MS 分析。数据进行聚类分析，表明电喷雾离子化 (ESI)-TOF-MS 可用于准确鉴定粗提物中的代谢产物。使用元素代谢产物数据库检索，结果表明从收集到的培养基提取液中分离鉴定出了预期的代谢产物。该方法的高分析速度和操作简便性意味着它可用于灭菌无花果中这些代谢产物含量的日常监测。在 14 天内，黄曲霉毒素及曲酸含量在 5 到 6 天达到最高水平，而 5-甲氧基赭曲霉素的含量保持相对稳定。除了这些已知的可预期由真菌产生的代谢产物外，还鉴定出了一些其他的代谢产物，如：萎地青霉素 A、烟曲霉毒素、烟曲霉文 B、畸形素 (肽)、曲霉酸、黑曲霉毒素、土曲菌酮、青地霉酸和青霉酸等。

7. 采用多重电离质谱法揭示代谢组学的复杂性。

Nordström A, Want E, Northen T, Lehtiö J, Siuzdak G.

Anal Chem. 2008 Jan 15; 80(2):421-9. Epub 2007 Dec 18.

采用多重电离质谱分析策略进行了人血清提取物的分析。色谱分离产物采用大气压电喷雾电离 (ESI) 和大气压化学电离 (APCI) 质谱进行正离子 (+) 模式和负离子 (-) 模式在线分析。此外, 还结合表面基质辅助激光解吸/电离 (MALDI) 和硅表面解吸电离 (DIOS) 离线质谱对分流收集器收集到的样品组分进行了鉴定。使用 XCMS 软件处理原始数据得到时间对应的离子特征, 即每个保留时间对应的唯一的 m/z 值。将 LC-MS 采用 ESI 和 APCI 的正离子和负离子模式分析得到的离子特征列表进行比较, 去除重复离子得到每种模式下的专有离子列表。即在其它离子化模式下一保留时间没有观察到同一化合物的 $[M + H]^+$ 、 $[M - H]^-$ 或 $[M + Na]^+$ 离子的非冗余、独一无二的离子特征列表。血清提取物在 ESI 模式下同时进行正离子和负离子模式分析得到的离子与仅进行负离子模式分析相比得到的专有离子多了 90%。APCI 分析对 ESI 分析是个补充, 可增加约 20% 的专有离子。最后, 将 ESI/APCI 离子化与分流收集和离线 MALDI 和 DIOS 质谱结合。将 LC-MS 采集到的数据中与流分相对应的各部分总离子流色谱图汇总, 并将得到的 m/z 列表与 DIOS/MALDI 质谱得到的 m/z 列表进行比较。对于每个流分, DIOS 分析可得到约 50% 的专有离子。上述结果表明, 真正全面的代谢组学研究需要采用多种离子化技术以应对代谢产物固有的多变性和随之而来的代谢组学研究的复杂性。

8. 代谢组学鉴定人体丙酸盐代谢紊乱。

Wikoff WR, Gangoiti JA, Barshop BA, Siuzdak G.

Clin Chem. 2007 Dec; 53(12):2169-76. Epub 2007 Oct 19.

采用非靶向质谱代谢组学方法进行甲基丙二酸血症 (MMA) 和丙酸血症 (PA) 研究。方法: 使用非靶向质谱代谢组学筛选平台分析血清甲醇提取物, 寻找 MMA、PA 病人和健康人血清样品中存在的差异分子特征。采用毛细反相液相色谱 ($4\mu\text{L}/\text{min}$) 与飞行时间质谱联用技术进行分析, 数据处理采用非线性校准软件 XCMS 和在线数据库 METLIN 检索, 以寻找和鉴定疾病中差异调控的代谢产物。结果: 检测到约 3500 个分子特征, 其中丙酰肉碱被认定为疾病的最佳标志物 (P 值 1.3×10^{-18}), 结果证明了非靶向代谢组学方法用于临床化学发现的可行性。五种额外的肉毒碱代谢产物在病人血清和健康人血清中存在显著性差异, γ -丁基甜菜碱在一组病人中显著增加。两种肉毒碱代谢产物和大量未鉴定的组分在 MMA 和 PA 组中存在显著性差异。许多代谢产物在所有公共数据库中都检索不到, 因此仍无法准确鉴定, 但其含量在正常对照组、MMA 组和 PA 组中存在显著性差异, 表明单一酶缺陷对复杂的下游代谢会产生重要影响。结论: 本概念验证研究表明, 代谢组学分析能扩大与人类疾病相关的代谢产物范围, 同时也表明该方法有望用于疾病诊断和患者的临床评价。

9. 稳定同位素标记辅助代谢组学分析中元素组成的确定。

Hegeman AD, Schulte CF, Cui Q, Lewis IA, Huttlin EL, Eghbalnia H, Harms AC, Ulrich EL, Markley JL, Sussman MR.

Anal Chem. 2007 Sep 15; 79(18):6912-21. Epub 2007 Aug 21.

从包含成千上万种代谢产物的生物提取物中鉴定出个别的化合物是代谢组学技术面临的主要挑战。质谱可以在极大的丰度和分子量动态范围内提供卓越的灵敏度, 但是受限于无法区分同重的化合物。本文中, 通过比较生长在四种不同环境 (I) ^{12}C 和 ^{14}N (天然丰度), (II) ^{12}C 和 ^{15}N , (III) ^{13}C 和 ^{14}N , 或 (IV) ^{13}C 和 ^{15}N 中的拟南芥提取物中的代谢产物, 我们将早期研究中采用同位素标记进行元素组成分析 (Rodgers, R. P.; Blumer, E. N.; Hendrickson, C. L.; Marshal, A. G. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2000, 11, 835-40), 测量精确质量数以限定分子式组成的分析方法进行了扩展。通过两种方法在显著扩大的质量数范围内对 4 个样品进行精确质量数测定, 确定了化合物唯一的元素组成。第一种方法, 将代谢产物质量数与数据库中的 11000 个已知活体细胞中的化合物进行匹配, 代谢产物质量数值分别采用四种同位素条件下的计算值。在第二种方法中, 首先计算四种同位素条件下可能的原子组合的质量数, 然后针对这些质量数对代谢产物质量数进行检索。在这两种方法中, 均对每个同位素标记条件下得到的元素组成列表进行比较, 寻找在四种同位素条件下的至少三种条件下, 在 HPLC 中具有相似保留行为的共有分子式。结果表明, 代谢标记可提供其它限制条件, 从而在更宽的质量范围中更可靠地确定分子式组成。

四级杆飞行时间质谱 (QTOF)

1. 代谢组学研究揭示了肠道微生物对哺乳动物血液代谢产物的巨大影响。

Wikoff WR, Anfora AT, Liu J, Schultz PG, Lesley SA, Peters EC, Siuzdak G.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Mar 10; 106(10):3698-703. Epub 2009 Feb 20.

虽然人们早已认识到居住于人类肠道内的微生物菌群对人类健康有着广泛的影响，但产生这些影响相关的生化机理仍不明确。本文通过一项全面的基于质谱的代谢组学研究，揭示了肠道“微生物菌群”对哺乳动物血液代谢产物产生的惊人影响。研究采用各种质谱联用技术对无菌小鼠血浆和一般小鼠血浆的代谢组进行了比较。仅在 1 组样品中就观察到数以百计的分子特征，其中的大多数分子特征是一般小鼠所独有的，约 10% 的两个样品组中都可以观察到的分子特征信号强度存在显著性差异。氨基酸代谢物的差异尤为明显。例如，细菌介导产生的色氨酸衍生物——含生物活性吲哚的代谢产物，如硫酸吲哚酚和抗氧化吲哚-3-丙酸 (IPA) 受到了明显影响。研究表明 IPA 的产生完全依赖于肠道菌群的存在，可以由生孢梭菌定植产生。在肠道微生物的存在下，多种含苯基的有机酸含量也大幅增加。本研究还观察到宿主对肠道菌群代谢产物的广泛类药性 II 期代谢应答，说明肠道菌群对宿主药物代谢能力有直接的影响。总之，研究表明细菌代谢和哺乳动物代谢存在显著的相互作用。

2. 鉴定新的内源性代谢产物并通过固定化方法表征其与蛋白质的相互作用。

Kalisiak J, Trauger SA, Kalisiak E, Morita H, Fokin VV, Adams MW, Sharpless KB, Siuzdak G.
J Am Chem Soc. 2009 Jan 14; 131(1):378-86.

全面的基于质谱的代谢组学新兴研究领域为未知代谢产物的发现及其具体的生化通路研究提供了新的平台。本文报道了一种新的内源性代谢产物 N(4)- (N-乙酰氨基丙基) 亚精胺的鉴定，并采用创新的蛋白组学研究方法，用琼脂糖珠固定化代谢产物进行了蛋白相互作用的研究。该代谢产物是从嗜热古菌中分离出来的，通过反复合成候选分子并采用精确质量数 LC-MS/MS 比较分析进行了结构表征。建立了选择性制备 N(1)-乙酰热精胺 (未知代谢产物的一种可能结构) 的方法，这一方法可以方便地通过热精胺支架 N(8) 和 N(4) 甲基化合成聚胺衍生物。通过代谢产物固定化和与天然蛋白孵育，对新代谢产物和其它两种多胺化合物亚精胺和鲟精胺进行生化作用研究。只与 N(4)- (N-乙酰氨基丙基) 亚精胺键合的 11 种蛋白的鉴定为新代谢产物在天然生物中的作用提供了信息。鉴定了包括 PF0607 和 PF1199 在内的假想蛋白以及参与翻译、DNA 合成以及尿素循环有关的蛋白质，如翻译起始因子 IF-2、50S 核糖体蛋白 L14e、DNA 指导的 RNA 聚合酶以及鸟氨酸氨甲酰转移酶。研究表明，该固定实验有望用于非靶向代谢组学研究中发现其它新的内源性代谢产物，可以作为初步筛查步骤生成一个蛋白质列表，用于进一步的特定活性研究。

3. 全面外部代谢组学分析的跨平台 Q-TOF 验证：用于经典 PI 3 激酶抑制剂 LY294002 处理的人脑胶质瘤细胞代谢组学研究。

Pandher R, Ducruix C, Eccles SA, Raynaud FI.
J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2008 Dec 6. [Epub ahead of print]

评估了代谢组学方法鉴定肿瘤细胞代谢产物改变的重现性。在 Waters Acquity T3 色谱柱上进行了组织培养基提取物的反相色谱分析，分析时间为 13min，流动相为 0.1% 甲酸乙腈，进行梯度洗脱，分别采用安捷伦和沃特世的 LC-Q-TOF 系统进行分析。采用沃特世的 MarkerLynxtrade mark 软件和安捷伦的 Molecular Feature Extractor 软件分别对相应的正离子模式数据和负离子模式数据进行了分子特征 (m/z, 保留时间) 提取。两台仪器得到的分子特征数相似，十次重复分析中正离子模式下约 50% 的离子特征和负离子模式下 40% 的分子特征信号变异小于 35%。基质加外标分析显示日内和日间的峰面积的变异系数 CV 小于 25%。PI 3 激酶抑制剂 LY294002 处理的 U87MG 胶质瘤细胞中，几个重要的分子特征有显著变化，其中包括已由核磁共振证实由 LY294002 调控的甘油磷酸胆碱。本研究突出了该技术对于生物标志物发现研究的重要意义。

4. 扩大红细胞代谢组 LC/MS 检测覆盖范围的样品提取和色谱分离策略。

Sana TR, Waddell K, Fischer SM.

J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2008 Aug 15; 871(2):314-21. Epub 2008 Apr 26.

从生物基质中可重复和全面地提取及检测具有复杂理化性质的代谢产物是个颇具挑战性的工作。本文开发了一种单一的 LC/MS 分离方法，采用 2.1mm x 100mm, 1.8 μ m ZORBAX SB-Aq 色谱柱进行了人红细胞代谢产物的分离，样品提取溶剂条件分别为中性 pH 值及 pH 值 2、6 或 9。添加内标以评估样品提取效率。结合电喷雾电离 (ESI) 和大气压化学电离 (APCI) 技术同时进行正 (+) 离子和负 (-) 离子模式质谱分析，所有 pH 值条件下共检测到 2370 个分子特征 (化合物及其相关组分：同位素、加合物以及二聚体)。代谢产物覆盖范围得到扩大：(1) 与仅在 pH 7 条件下进行提取相比，增加 pH 值 2 和 9 条件下的提取，检测到的分子特征增加了 92%；(2) 在所有 pH 值条件下，与只进行 ESI 分析相比，采用 APCI 和 ESI 双模式分析的分子特征增加了 34%。红细胞代谢产物提取中血红素和一些其它化合物的回收率表现出了明显的提取溶剂 pH 值依赖性，说明了代谢谱分析研究中全面的样品提取策略和 LC/MS 分析策略的重要性。

5. XCMS2：用于代谢产物鉴定和结构解析的串联质谱数据处理。

Benton HP, Wong DM, Trauger SA, Siuzdak G.

Anal Chem. 2008 Aug 15; 80(16):6382-9. Epub 2008 Jul 16.

基于质谱的代谢组学分析是生物信息学技术发展的一个新领域。虽然目前的软件工具，如 XCMS 可进行 LC-MS 分子特征的统计学评估和分级，但无法提供有关化合物结构的信息。XCMS (2) 是一个开放源码软件包，可用于在参考数据库 METLIN 中自动检索已知代谢物的高质量 MS/MS 实验数据。基于“共有峰计数”法计算匹配得分，即根据分析 MS/MS 谱和参考 MS/MS 谱之间共有的碎片离子峰计算分值。XCMS (2) 的另一个功能是能提供 METLIN 中没有的未知的代谢物的结构信息。这一功能利用“相似性搜索”算法，即使在母离子不同的情况下，也可根据与 METLIN 中参考化合物相关的特征碎片离子和中性丢失判断出未知代谢物可能的结构基序。

6. 脑脊液代谢组学研究表明 SIV 病毒感染的猕猴中枢神经系统的磷脂酶表达发生了改变。

Wikoff WR, Pendyala G, Siuzdak G, Fox HS.

J Clin Invest. 2008 Jul; 118(7):2661-9.

HIV 感染后可迅速侵入中枢神经系统，并在病程晚期导致痴呆症和脑炎等中枢神经系统疾病。本研究采用全面代谢组学研究方法对 SIV 病毒感染导致中枢神经系统疾病的恒河猴脑脊液 (CSF) 进行了差异代谢组学研究。我们设想该研究将为病毒感染导致的中枢神经系统损伤提供新的生物标志物。筛选采用非靶向、基于质谱的代谢组学分析平台，首先进行毛细反相液相色谱和电喷雾离子化精确质量数测定，然后进行首创的非线性数据分组和在线数据库检索，鉴定代谢产物。进行了病毒感染前后 CSF 的差异代谢组学研究。在 SIV 感染引起的脑炎组中观察到了代谢产物的明显变化。感染引起的脑炎组中含量增加的代谢产物包括肉碱、酰基肉碱、脂肪酸、磷脂分子等。游离脂肪酸和溶血磷脂的增加与脑炎动物脑中特定的磷脂酶表达增加有关。其中，一种可释放大量脂肪酸的磷脂酶 A2 同工酶被鉴定出来。它可以在脑中与神经胶质细胞激活有关的区域表达，而不是与 SIV 感染和炎症有关的区域，说明在细菌感染脑发生了广泛的变化。上述对特定代谢产物的鉴定以及特定代谢产物增加机理的研究表明，基于质谱的代谢组学技术有望用于解决中枢神经系统生物化学、神经病毒学和神经变性疾病难题。

7. 嗜嗜热菌环境适应性的转录组、蛋白组和代谢组研究。

Trauger SA, Kalisak E, Kalisiak J, Morita H, Weinberg MV, Menon AL, Poole FL 2nd, Adams MW, Siuzdak G.
J Proteome Res. 2008 Mar;7(3):1027-35. Epub 2008 Feb 2.

采用转录组学（DNA 芯片）、蛋白组学和代谢组学方法研究了模型生物嗜嗜热古菌从最适温度 95-72°C 逐渐降温过程中的温度适应性反应，对相关分子变化进行了全面表征。对同组样品的代谢谱分析表明有许多代谢产物下调，同时也发现了一系列明显上调的代谢产物。利用精确质量数、同位素分布模式、数据库检索和保留时间对几个感兴趣的代谢产物进行进一步鉴定。结果表明，许多上调的代谢产物都与嗜嗜热古菌之前建立的聚胺生物合成替代通路相关。精氨酸、胍丁胺、亚精胺、N4-氨基亚精胺支链聚胺和 N4-（n-乙酰氨基丙基）亚精胺可通过精确分子量、同位素分布模式以及相同条件下获得的天然代谢产物和高纯度标准品的 MS/MS 二级质谱数据匹配结果进行准确鉴定。采用无标记谱计数法的 DNA 芯片和半定量蛋白质组分析表明，许多与生长相关（如转录、氨基酸生物合成和翻译）的预期具有不同功能的基因发生了下调。然而，通过检测相关 mRNA 和蛋白水平，发现某些基因出现上调。通过各种“omics”技术得到的补充信息可用于所有分子变化的分类和生物关联的研究。

8. DNA 免疫影响脂质代谢并增加动脉粥样硬化的风险。

Yang F, Yan S, Wang F, He Y, Guo Y, Zhou Q, Wang Y, Zhang X, Zhang W, Sun S.
J Proteome Res. 2008 Feb;7(2):741-8. Epub 2008 Jan 1.

除了传统的疫苗，DNA 介导的免疫已发展成为另一种预防和治疗包括乙型肝炎在内的各种传染病的方法。为确定可用于评估 DNA 疫苗有效性和安全性的一系列血清蛋白和代谢物生物标志物，采用综合的多系统生物学方法对 DNA 疫苗、重组蛋白、质粒载体以及磷酸盐缓冲液免疫小鼠进行研究。对小鼠血清进行双向电泳和高效液相色谱-飞行时间质谱联用分析。我们发现 DNA 免疫小鼠血清中植物鞘氨醇、二氢（神经）鞘氨醇、棕榈酰肉毒碱和神经酰胺含量增加。同时发现 DNA 免疫小鼠中包括载脂蛋白 A-I 前体在内的几种蛋白质发生了变化。总而言之，这些结果表明，DNA 疫苗刺激肝脏鞘磷脂的合成，这可能改变循环脂蛋白的结构，促进动脉粥样硬化。本研究还展现了代谢组学和蛋白质组学技术用于 DNA-疫苗介导的代谢表型研究的能力。

三重串联四极杆质谱法

1. 多种分析方法联用进行斑马鱼肝脏的代谢谱分析。

Ong ES, Chor CF, Zou L, Ong CN.

Mol Biosyst. 2009 Mar;5(3):288-98. Epub 2008 Dec 24.

综合核磁共振氢谱 (1H NMR)、GC/MS 和 LC/MS 等多种分析平台进行雄性和雌性斑马鱼肝脏的生化谱分析。预先对这三种方法的重复性和可靠性进行了验证。一种方法检测到的主要生物大分子用其它两种方法进行交叉验证。碳水化合物、脂类、氨基酸等代谢产物采用 1H NMR 和 GC/MS 进行检测, 乙酰肉毒碱、胆碱和各种磷脂采用 1H NMR 和 LC/MS 进行分析。我们的研究表明, 对于斑马鱼肝脏中的葡萄糖、氨基酸、丙酮酸和其他小分子生化成分, 1H NMR 能提供全面的信息。此外, GC/MS 能够测定胆固醇、饱和和不饱和脂肪酸, LC/MS 是脂类/磷脂分析的理想手段。这些技术的分析研究表明, 雄性和雌性斑马鱼肝脏的组织提取物生化谱存在显著差异。特别地, 我们注意到虽然雄性和雌性斑马鱼肝脏的碳水化合物表达谱无显著差异, 但氨基酸表达谱非常不同。此外, 三种不同分析技术的结果均表明, 虽然两个不同表型中的饱和脂肪酸表达谱相似, 但不饱和脂肪酸的组成不同。上述结果表明, 这种多平台方法可以全面覆盖代谢组, 能够为生物体系中不同生化谱的研究提供有价值的信息。

2. 联合核磁共振氢谱、液相色谱/质谱与模式识别技术进行蛋白尿相关的代谢组学研究。

Law W, Huang P, Ong ES, Sethi S, Saw S, Ong CN, Li S.

J Proteome Res. 2009 Feb 2. [Epub ahead of print]

联合 1H NMR、LC/MS 与模式识别工具如主成分分析 (PCA) 和 O-PLS-DA 分析进行一般人群尿蛋白增加的尿代谢谱研究。首先将 1H NMR 和 LC/MS 的峰强度标准化, 再采用非参数双尾曼-惠特尼分析进行尿蛋白增加相应的潜在生物标志物网络的鉴定。对已知代谢产物的检测特异性进行了验证。初步研究表明, LC/MS 可以产生更清晰的代谢谱。疾病组中的丙氨酸、犬尿喹啉酸和黄尿烯酸含量变化可能与色氨酸代谢改变有关。同时, 其他与柠檬酸循环、氨基酸代谢和细胞功能有关的代谢产物在疾病组中也发生了变化。本方法给出了尿蛋白增加引起代谢变化的全面信息, 说明了采用多个诊断性生物标志物的优点。与此同时, 本研究还表明, 高通量分析结合模式识别进行实际临床样品分析是一种潜在的低成本高效率的解决方案。

靶向代谢组学

三重串联四级杆质谱

1. 丹参毛状根培养物中紫草酸 B 对银离子 (Ag⁺) 的响应比迷迭香酸好。

Xiao Y, Gao S, Di P, Chen J, Chen W, Zhang L.

Biosci Rep. 2009 Feb 11. [Epub ahead of print]

紫草酸 B (LAB) 是迷迭香酸 (RA) 的二聚体, 可能由 RA 衍生而来, 但具体的生物合成机理尚不明确。紫草科和唇形科植物中的 RA 累积得到了广泛的关注。本研究报道了一种非生物诱导剂银离子 (Ag⁺, 15μM), 它不引起 RA 的累积但可将丹参毛状根培养物中的 LAB 含量从干重的约 5.4% 增加到 18.8%。银离子处理后各个时间点 LAB 和 RA 的含量处于完全竞争平衡状态。同时, 进行了与 RA 合成途径相关的基因和代谢产物 (中间产物) 谱分析。结果表明, 几种基因转录本和代谢产物的累积呈现出与 LAB 生成一致的暂时丰度变化。由此, 我们提出一个可能的从 RA 到 LAB 的生物合成路线, 该合成路线是由丹参毛状根培养物中的 Ag⁺ 激活的。进行了进一步的中间体监测和化合物原料添加试验以增强该假说的可信度。本研究首次提供了 RA 是 LAB 合成前体的证据。

2. 采用液相色谱/三重串联四级杆质谱多反应监测分析选择最佳离子对进行橄榄树材料中营养成分的评价。

Luján RJ, Capote FP, Marinas A, de Castro MD.

Rapid Commun Mass Spectrom. 2008;22(6):855-64.

本文对橄榄树材料提取物中感兴趣的营养物质——亲水性生物酚类的定性和定量离子对进行了优化。供试材料包括初榨橄榄油、橄榄油生产过程中的废料 (alperujo)、橄榄树材料如树叶、树枝和果实。采用三重串联四级杆 (QQQ) 液质联用系统进行目标生物酚类化合物的鉴定和定量。液相色谱和三重串联四级杆质谱的接口为负离子模式的电喷雾离子源。生物酚类化合物的高选择性鉴定通过对母离子和子离子之间最具代表性的离子对进行多反应监测 (MRM) 得以进一步确认。通过优化和选择每个被分析物最灵敏的离子对进行定量 MS/MS 分析, 相应的提取物检出限在 5.10 到 11.65ng/mL 之间。不同测试样品的生物酚提取方法不同, 其中初榨橄榄油采用液液萃取, 橄榄叶、树枝和果实采用微波辅助浸提, 橄榄油废料采用加压液浸。本研究提供了关于分离每种生物多酚营养素最佳原料的宝贵信息, 并使我们得到了橄榄中生物酚的完整表达谱。

3. 利用快速高分离度液相色谱/质谱进行葡萄中多酚化合物的检测和定量。

Cavaliere C, Foglia P, Gubbiotti R, Sacchetti P, Samperi R, Laganà A.

Rapid Commun Mass Spectrom. 2008 Oct; 22(20):3089-99.

建立了快速高分离度液相色谱/质谱 (RRLC/MS) 检测和定量葡萄皮和种子中多酚类物质的方法。去除果肉的葡萄皮采用液氮处理并磨碎, 种子直接磨碎。然后将 3g 样品用 30mL 的甲醇/水/甲酸 (70:30:1 v/v/v) 混合溶液超声提取, 进样 1μL 提取物到串联的两根 100 × 2.1mm, 内径 1.8μm 的 Zorbax Eclipse plus C18 色谱柱。化合物采用酸化的乙腈/甲醇 50:50 (v/v) /水进行梯度洗脱。柱温为 70°C, 采用配置电喷雾离子源的 Agilent 6410 三重串联四级杆质谱仪进行 MS 分析。正模式和负模式的 MS/MS 的子离子扫描用于化合物鉴定, 正离子模式 m/z 范围 200-1400 的全扫描用于定量。通过质谱比较, 鉴定出了各种黄酮醇、黄烷-3-醇、花青素和芪类。采用外标法定量, 测定的浓度根据单独实验测得的基质效应进行校正。对于没有市售标准品的化合物进行了半定量检测。回收率为 90-102%, 相对标准偏差 (RSD) 小于 5%, 而样本之间的相对标准偏差范围为 4% 到 12%。两个替代标准品用于质量控制。用该法对刚成熟和保存六周的三种酿酒用葡萄品种的多酚含量进行分析。结果表明, 保存期间, 大约一半的多酚消失了。

4. 罗格列酮可降低血浆和肾脏氧化损伤标志物水平，并逆转糖尿病肾病痊愈期间的尿代谢物异常。

Zhang H, Saha J, Byun J, Schin M, Lorenz M, Kennedy RT, Kretzler M, Feldman EL, Pennathur S, Brosius FC 3rd.
Am J Physiol Renal Physiol. 2008 Oct;295(4):F1071-81. Epub 2008 Jul 30.

最近研究表明，噻唑烷二酮类化合物改善糖尿病肾病（DN）的作用与它们对血糖的影响无关。本研究中，我们确认并发展了这一结果，我们发现罗格列酮能阻止糖尿病肾病的发展并使低剂量链脲菌素致糖尿病 DBA/2J 小鼠氧化损伤的多个指标趋于正常。这些小鼠糖尿病 12 周时，蛋白尿增加了 14.2 倍，肾小球细胞外基质扩增了 53%。在注射链脲菌素 2 周后进行罗格列酮给药，这些变化大部分会消除。罗格列酮对血糖控制并无影响。对于采用胰岛素治疗的糖尿病 24 周的小鼠，罗格列酮给药仍有相似的效果。早期 DN 的其它标志如足细胞损失和肾小球纤连蛋白累积在罗格列酮治疗的 12 周和 24 周糖尿病模型中消失。令人惊讶的是，用罗格列酮治疗的糖尿病小鼠中肾小球 GLUT1 的含量没有增加，肾病蛋白的含量也没有下降。蛋白质氧化和脂质过氧化的血浆和肾脏标志物含量在胰岛素治疗的 24 周糖尿病小鼠中显著增加，采用罗格列酮治疗则可接近正常水平。最终，糖尿病使尿中的代谢物发生了明显改变。电喷雾飞行时间质谱鉴定到的 1988 个代谢产物分子特征中，糖尿病小鼠尿液中的 56 个代谢产物含量改变了两倍以上。罗格列酮治疗后，其中 21 个代谢产物的含量回到正常水平。因此，罗格列酮可直接减少肾小球活性氧的积累，防止 I 型糖尿病发展成糖尿病肾病。

5. 采用气相色谱/质谱、液相色谱/质谱和 (1) H 核磁共振光谱进行摄入绿茶后的人体尿液代谢组学研究。

Law WS, Huang PY, Ong ES, Ong CN, Li SF, Pasikanti KK, Chan EC.
Rapid Commun Mass Spectrom. 2008 Aug; 22(16):2436-46.

采用气相色谱/质谱（GC/MS）、液相色谱/质谱（LC/MS）和 (1) H NMR 分析结合模式识别工具如主成分分析（PCA），进行摄入绿茶后的人体尿液代谢谱分析。对 GC/MS 和 LC/MS 的标准化峰面积和 (1) H NMR 的标准化峰高进行统计分析得到潜在的生物标志物。GC/MS 代谢谱分析给出了可表征人尿样中分子变化的代谢产物的另一组的定量信息。通过比较饮用绿茶后人体尿液样品中选定代谢产物在存在潜在重叠峰的条件下的 LC/MS 和 (1) H NMR 标准化代谢组学数据，展示了该分析方法和标准化方法的可靠性。LC/MS 和 (1) H NMR 数据的高度一致性，说明在 LC/MS 分析中对弱保留代谢产物的离子抑制并不明显。同时，验证了 (1) H NMR 和 LC/MS 检测已知代谢产物的特异性。结果表明，摄入绿茶后，与糖代谢、柠檬酸循环、氨基酸代谢相关的代谢产物立刻发生了变化。本方法提供了更全面的摄入绿茶后人尿样代谢产物变化信息。采用多种分析手段结合模式识别工具，可为食用植物和药用植物后的代谢谱分析研究搭建有用的平台。

6. 可溶性环氧化物水解酶是心脏病大鼠模型心力衰竭的易感因子。

Monti J, Fischer J, Paskas S, Heinig M, Schulz H, Gösele C, Heuser A, Fischer R, Schmidt C, Schirdewan A, Gross V, Hummel O, Maatz H, Patone G, Saar K, Vingron M, Weldon SM, Lindpaintner K, Hammock BD, Rohde K, Dietz R, Cook SA, Schunck WH, Luft FC, Hubner N.
Nat Genet. 2008 May; 40(5):529-37.

本研究的目的是鉴定与人类心脏病大鼠模型心力衰竭相关的基因变异。对自发性高血压心力衰竭（SHHF）大鼠和对照大鼠交叉培养的 F2 子代进行微创心脏血流动力学测定。我们结合连锁分析和全基因组表达谱分析，确定 Ephx2 是 SHHF 大鼠的心力衰竭易感基因。具体来说，我们发现，与心力衰竭，转录本表达、蛋白表达和酶活性增加分离的心血管系统中 Ephx2 基因的顺式变异，会导致心脏环氧化二十碳三烯甘油的加速水解。为了证实这个结果，我们采用基因敲除小鼠进行了心力衰竭模型中 Ephx2 基因的作用研究，表明 Ephx2 基因的敲除会起到保护作用，避免压力诱导的心力衰竭和心律失常。我们进一步研究了人心力衰竭中 EPHX2 基因的差异表达，表明 Ephx2 基因在不同物种的心脏病中起相同的作用。

7. 亲水作用色谱/串联质谱法定量检测皮下组织微渗透液中的乙酰胆碱。

Fu B, Gao X, Zhang SP, Cai Z, Shen J.

Rapid Commun Mass Spectrom. 2008 May;22(10):1497-502.

最近有研究表明,乙酰胆碱在组织炎症过程中起着重要的调节作用。为了进一步理解新发现的胆碱抗炎途径,需要进行组织中乙酰胆碱浓度的跟踪检测。本文建立了亲水作用色谱-电喷雾串联质谱联用(HILIC/ESI-MS/MS)法进行正常大鼠和局部炎症大鼠微渗透液样品中乙酰胆碱的分离和定量方法。采用两性离子固定相色谱柱进行梯度洗脱,从内源性化合物和无机阳离子干扰中成功地分离了乙酰胆碱。利用低能量碰撞诱导解离串联质谱(CID-MS/MS),采用多反应监测模式,在正离子模式下,对乙酰胆碱和内标乙酰胆碱-D9分别采用离子对 m/z 146 \rightarrow 87和 m/z 155 \rightarrow 87进行了检测。乙酰胆碱的检测限为信噪比为3:1时相应的浓度,本方法检出限为柱上0.075 fmol。定量限为柱上0.25 fmol。空白微渗透液中测得的乙酰胆碱校准曲线线性范围为0.025-50 nM和0.025-0.5 nM,相关系数分别大于或等于0.9994和0.9969。高浓度(2nM)和低浓度(0.5nM)乙酰胆碱的回收率分别在90%到96%和95%到109%之间。日内和日间重复性变异系数分别小于或等于7.3%和10.4%。该方法已成功地应用于正常大鼠组织和发炎大鼠组织微渗透液中乙酰胆碱的测定。

8. 转基因子痫前期动物模型的子宫血管功能。

Verlohren S, Niehoff M, Hering L, Geusens N, Herse F, Tintu AN, Plagemann A, LeNoble F, Pijnenborg R, Mul er DN, Luft FC, Dudenhausen JW, Gol asch M, Dechend R.

Hypertension. 2008 Feb;51(2):547-53. Epub 2008 Jan 14.

我们研究了肾素-血管紧张素系统激活的转基因子痫前期动物模型的宫内生长受限、血管内皮功能以及子宫动脉血流量特征。比较了子痫前期 Sprague-Dawley (SD-PE) 大鼠、正常妊娠 SD 大鼠和未妊娠 SD 大鼠。采用经腹超声检查,发现 SD-PE 大鼠胚胎宫内生长受限。将从 SD-PE 大鼠分离得到的子宫动脉加去氧肾上腺素进行孵育,发现与对照组相比,其收缩反应增强,而单独高剂量乙酰胆碱处理则显示血管舒张受损。低剂量时乙酰胆碱剂量的增加会使 SD-PE 大鼠血管更放松,但乙酰胆碱剂量的进一步增加会引起反常收缩,吲哚美辛和血栓素受体拮抗剂(SQ 29548)可阻断这种作用,揭示有母体前列腺素依赖性血管内皮功能障碍。与正常妊娠或未妊娠的 SD 大鼠相比,妊娠 SD-PE 大鼠血清中的前列环素(6-酮-前列腺素 F1 α)与血栓素的比值降低。出人意料的是,与正常妊娠的 SD 大鼠相比,SD-PE 妊娠大鼠的多普勒阻力指数下降,表明子宫动脉的子宫胎盘血流未受到损害。所有试验组的脐血流量保持不变,都没有舒张末期血流。肾素-血管紧张素系统激活诱导的先兆子痫与胎盘形成改变、阻力指数改变及血管内皮功能障碍有关。前列环素和血栓素的比值变化可能是重要原因。

9. 采用液相色谱/三重串联四极杆质谱多反应监测模式鉴定并检测人血清中的脂溶性维生素和代谢产物。

Priego Capote F, Jiménez JR, Granados JM, de Castro MD.

Rapid Commun Mass Spectrom. 2007; 21(11):1745-54.

建立了液相色谱/电喷雾质谱技术检测人血清中的脂溶性维生素 K (1)、K (3)、A、D (2)、D (3) 和 E (α -和 δ -生育酚) 以及 25-羟基维生素 D (2) 和 D (3) 和 1,25-二羟基维生素 D (3) 等代谢产物的分析方法。采用母离子到子离子最具代表性的转化进行血清中目标化合物高选择性鉴定的确认。定量 MS/MS 分析采用每个化合物多重反应监测模式下最灵敏的转化条件进行以得到低检出限(血清中 0.012 到 0.3ng/mL)。采用 1mL 体积的血清进行分析,进行蛋白沉淀、有机相液液萃取、蒸干并用甲醇复溶。该方法的日内精密密度为 3.17% 到 6.76%, 日间精密密度为 5.07% 到 11.53%。采用标准添加法进行了方法学验证,给出了脂溶性维生素谱的全部信息,这些信息在临床和代谢组学研究中具有非常重要的意义。

10. 通过液相色谱串联质谱法测定人血清中的泛醇-10 和泛醌-10 (辅酶 Q10) 进行氧化应激的评估。

Ruiz-Jiménez J, Priego-Capote F, Mata-Granados JM, Quesada JM, Luque de Castro MD.
J Chromatogr A. 2007 Dec 21;1175(2):242-8. Epub 2007 Oct 25.

建立了同时快速检测人血清中的泛醌-10 (辅酶 Q10, CoQ (10)) 及其还原形式泛醇-10 (CoQ (10) H (2)) 的正离子模式电喷雾电离 LC-MS-MS 方法。通过监测母离子到子离子的转化进行了所有被分析物的高选择性鉴定和高灵敏度定量。色谱分析之前, 先将血清样品 (100 μ L) 进行蛋白沉淀、液液萃取、蒸干并用 95:5 甲醇/正己烷 (v/v) 复溶等样品预处理步骤。该方法对 CoQ (10) 和 CoQ (10) H (2) 的检出限分别为 5.49 和 15.8 ng/ml (血清中浓度)。采用加标血清确定反应的准确度和可能的基质效应, 回收率在 92.82% 和 106.97% 之间。该方法已用于中年健康女性血清样品的检测, 其中 CoQ (10) H (2) / CoQ (10) 比值用作氧化应激的衡量指标。

11. 反相液相色谱-电喷雾串联质谱法进行未衍生化多胺的分析。

Häkkinen MR, Keinänen TA, Vepsäläinen J, Khomutov AR, Alhonen L, Jänne J, Auriola S.
J Pharm Biomed Anal. 2007 Nov 30;45(4):625-34. Epub 2007 Sep 7.

建立了反相液相色谱-电喷雾串联质谱 (RP-LC-ESI-MS/MS) 分离并检测经过最少预处理步骤的样本中未衍生化多胺的方法。MS/MS 分析前, 采用全氟丁酸作为挥发性离子对改性剂, 进行线性梯度洗脱实现了多胺完全色谱分离, 在柱后添加 75% 丙酸的异丙醇溶液以避免离子抑制。该法已成功应用于重组人多胺氧化酶催化的 N(1),N(12)-二乙基精胺反应产物以及标准混合溶液中八种不同的多胺的检测。

12. 极长链饱和脂肪酸通过激活乙烯生物合成促进棉纤维和拟南芥细胞伸长。

Qin YM, Hu CY, Pang Y, Kastaniotis AJ, Hiltunen JK, Zhu YX.
Plant Cell. 2007 Nov;19(11):3692-704. Epub 2007 Nov 9.

脂肪酸是有机体细胞膜生物合成的重要因素, 并在许多动物体中充当信号分子。本研究发现, 外源极长链饱和脂肪酸 (VLCFA; C20:0 到 C30:0) 加入胚珠培养液中可显著促进棉花 (陆地棉, *Gossypium hirsutum*) 纤维细胞伸长, 但是乙草胺 (2-氯-N-(乙氧甲基)-N-(2-乙基-6-甲基苯基) 乙酰胺, ACE) 会抑制 VLCFA 合成, 从而阻止纤维生长。这种抑制作用可采用 酸 (C24:0) 消除。伸长的纤维中的 VLCFA 明显多于野生型或无毛絮突变体胚珠。乙烯可以使 ACE 的抑制作用失效, 而 C24:0 在乙烯生物合成抑制剂 (L-(2-氨基乙氧基乙基)-甘氨酸) 存在下失活, 这表明 VLCFA 可能是乙烯的上游信号分子。C24:0 可诱导 ACO (1-氨基环丙烷-1-羧酸氧化酶) 转录本水平快速、明显地增加, 这将会导致大量乙烯的产生。C24:0 还可促进丝氨酸棕榈酰转移酶的后期表达, 从而促进鞘脂的生物合成。C24:0 不仅能刺激拟南芥根细胞的生长, 而且还可以弥补 cut1 基因表型。编码棉花 3-酮脂酰辅酶 A 合成酶的 KCS13/CER6 在 cut1 中的转基因表达也能产生相似的结果。拟南芥茎的伸长与 ACO 转录水平增加有关。因此, VLCFA 促进棉纤维和拟南芥多种细胞类型的伸长作用可能是通过激活乙烯生物合成实现的。

13. 微波辅助固液萃取实现 alperujo 中极性和非极性化合物的同时提取。

Pérez-Serradilla JA, Japón-Luján R, Luque de Castro MD.
Anal Chim Acta. 2007 Oct 17;602(1):82-8. Epub 2007 Sep 14.

采用甲醇-水和正己烷作为萃取剂的微波辅助萃取 (MAE) 系统已被用于同时提取 alperujo (橄榄油生产中的产生的废渣) 中极性和非极性化合物。测试了多种方法最终建立了最佳的提取条件, 目标组分 (酚类化合物和脂肪酸) 可在 14 分钟内完成定量提取。通过离心进行两相分离, 极性和非极性组分分别进行 HPLC-MS-MS 和 GC-MS 的分析。比较了本文的提取方法与参考方法 (Folch 法提取脂肪酸, 搅拌法提取生物酚) 各个分离组分的提取效率和萃取物组成。鉴于这两类提取分极其重要, MAE 法的简单和原材料的低成本优势使该方法值得推广到工业生产中。

飞行时间质谱 (TOF)

1. 采用反相液相色谱/质谱及体外 (13) C 标记进行中心碳和能量代谢相关代谢产物的同时定量。

Yang WC, Sedlak M, Regnier FE, Mosier N, Ho N, Adamec J.

Anal Chem. 2008 Nov 14. [Epub ahead of print]

细胞内代谢产物的综合分析是阐明细胞生理过程的重要途径。虽然反相液相色谱-质谱 (RPLC-MS) 的分辨率和灵活性使得它成为代谢产物分析中最有力的分析工具之一, 但即使是最简单的代谢组中化合物结构的多样性也对分析提出了巨大的挑战。本文建立了鉴定并定量代谢组学研究中从糖、糖磷酸、羧酸到磷酰基羧酸、核苷酸、辅酶等广泛代谢产物的 RPLC-MS 分析方法。该方法对样品进行体外 (13) C 标记标签的衍生化处理, 实现同位素内标定量, 并且使得同分异构体如葡萄糖-6-磷酸和果糖-6-磷酸的分离可在一次色谱分析中完成。各个代谢产物校准曲线的线性范围均超过两个数量级, 且相关系数 R^2 大于 0.9975。信噪比为 3 时相应的浓度定义为检出限, 大部分代谢产物的检出限小于 1.0 μM (20 pmol)。鉴定了酵母细胞裂解液中 30 个与糖酵解、磷酸戊糖通路、三羧酸循环有关的常见代谢产物, 相对标准偏差小于 10%。

GC/MS 分析

发现代谢组学

1. 气相色谱-质谱联用全面分析肝移植大鼠的血清和肝脏代谢组。

Wang Y, Tao Y, Lin Y, Liang L, Wu Y, Qu H, Liang T, Cheng Y.

Anal Chim Acta. 2009 Feb 2;633(1):65-70. Epub 2008 Nov 25.

本文建立了肝移植大鼠血清和肝脏异常代谢过程的代谢组学研究方法。采用雄性 Lewis 大鼠进行同系肝移植，采集移植后 1、3、7 天的血清样品和移植肝样品，对其中的内源性代谢产物进行气相色谱-质谱（GC-MS）分析。验证表明该分析方法的线性、精密度和重复性均符合要求。鉴定了血清中的 34 个代谢产物和肝脏中的 29 个代谢产物。相关分析表明血清和肝脏中具有类似功能的代谢产物也呈现出类似的变化。主成分分析（PCA）显示了生化变化的时间依赖关系。综上，本研究可能为原位肝移植的病理生理机制研究提供特定的通路预测。

2. 美国人血液样本中多溴联苯醚羟基化代谢产物分析。

Qiu X, Bigsby RM, Hites RA.

Environ Health Perspect. 2009 Jan;117(1):93-8. Epub 2008 Aug 1.

研究背景：本实验室前期研究表明，大鼠中的多溴二苯醚（PBDE）可代谢为羟基化 PBDE（HO-PBDE），其中对-HO-PBDE 是丰度最高并具有最高潜在毒性的代谢产物。研究目的：本研究的目的是要测定无意中接触或因职业接触这些阻燃剂的妊娠妇女和新生儿血样中的 HO-PBDE 浓度。实验方法：从印第安纳州的印第安纳波利斯医院采集了 20 个血液样本，采用电子捕获负离子气相色谱质谱进行 PBDE 和 HO-PBDE 的分析。结果：人体血液中的 HO-PBDE 代谢模式与已发现的大鼠的代谢模式明显不同。5-HO-BDE-47 和 6-HO-BDE-47 是 BDE-47 的主要代谢产物，5'-HO-BDE-99 和 6'-HO-BDE-99 是 BDE-99 的主要代谢产物。母离子和相应的代谢产物之间的相对浓度表明 BDE-99 比 BDE-47 和 BDE-100 更容易代谢。此外，检测到了二苯醚键断裂产生的三种溴酚离子。羟基化代谢产物与其 PBDE 母离子的比值在 0.10 至 2.8 之间，这表明 PBDE 的羟基化代谢产物在人血液中发生蓄积。结论：人类与大鼠 PBDE 的代谢模式完全不同，说明在人和大鼠的 PBDE 代谢过程中存在着不同的酶。虽然人血中的 HO-PBDE 代谢产物水平较低，但这些代谢产物似乎会发生蓄积。

3. 采用化学衍生化及气相色谱/质谱法进行肝细胞癌病人血清代谢组学研究。

Xue R, Lin Z, Deng C, Dong L, Liu T, Wang J, Shen X.

Rapid Commun Mass Spectrom. 2008 Oct;22(19):3061-8.

本研究旨在探讨肝细胞癌（HCC，20 例）男性患者和正常男性组（20 例）的血清代谢差异。血清代谢组通过化学衍生化及气相色谱/质谱（GC/MS）法进行检测。采集到的 GC/MS 数据进行了逐步判别分析（SDA）和支持向量分析（SVM）。结合丁酸、乙酰羟酸、甘油、L-异亮氨酸、L-缬氨酸、氨基丙二酸、D-氨基丙二酸、棕榈酸、硬脂酸等代谢产物的变化可明显区分这两个试验组。该方法通过这些变量提供了能很好地区分 HCC 病人和正常人的诊断模型。更重要的是，每组的误判率均为 0%。由 SVM 20 倍交叉验证测得的总体判别准确度为 75%。这种技术不同于传统的方法，是可用于肝癌诊断领域的有力工具。

4. 拟南芥10-甲酰四氢叶酸酯去甲酰酶是光呼吸中不可或缺的重要因素。

Colakova E, Goyer A, Naponelli V, Krassovskaya I, Gregory JF 3rd, Hanson AD, Shachar-Hill Y. *Plant Cell*. 2008 Jul; 20(7):1818-32. Epub 2008 Jul 15.

在原核生物中，PurU（10-甲酰四氢[THF]去甲酰酶）可将10-甲酰四氢咪唑代谢为甘氨酸和嘌呤生物合成所需的甲酸和四氢咪唑。拟南芥基因组中包含两个推定的purU基因At4g17360和At5g47435。同时敲除这两个基因会使植物比野生型变矮、变白。双基因敲除（dKO）植物突变体中的甘氨酸水平增加70倍，5-和10-甲酰四氢咪唑蓄积含量提高。dKO突变体胚胎发育在心形期到子叶早期停滞。成熟后的种子干瘪，脂肪含量少，无法发芽。然而，dKO突变体只是偶尔会死亡，它可在非光呼吸条件下继续生长。此外，在dKO角果培养液中加入蔗糖可恢复正常的胚胎发育和种子活力，表明种子和胚胎发育表型是母性效应的结果。我们发现At4g17360和At5g47435蛋白与光呼吸相关。光呼吸可以防止5-甲酰四氢咪唑的过量蓄积，而5-甲酰四氢咪唑是甘氨酸脱羧酶/丝氨酸羟甲基转移酶复合物的潜在抑制剂。At2g38660基因能编码在5-甲酰THF形成上游起作用的双功能5,10-亚甲基四氢咪唑脱氢酶/5,10-甲基四氢咪唑环化酶，At2g38660基因敲除后dKO植物恢复了野生型表型，这一现象明显支持本文的研究结果。

5. 应用差异指数分析、主坐标分析和秩和检验分析人体汗液气相色谱/质谱代谢组学峰表数据。

Xu Y, Gong F, Dixon SJ, Brereton RG, Soini HA, Novotny MV, Oberzaucher E, Grammer K, Penn DJ. *Anal Chem*. 2007 Aug 1; 79(15):5633-41. Epub 2007 Jun 30.

代谢组学研究中的大部分数据处理是基于主成分分析（PCA）和偏最小二乘法进行的，主要是为了确定样品是否落入某个大组。然而，分析化学家很少研究个体的指纹图谱，为了有效地解决这类问题，有必要采用大量的小试验组而不是几个大的试验组，并且采用本文中介绍的多种不同的方法进行分析。此外，哺乳动物和人类的代谢组学研究中涉及到许多仅存在于一部分样品中的化合物（峰）的分析，传统的主成分分析法不能很好地处理这种可能存在多个零的稀疏矩阵。然而，可通过主坐标分析（PCO）开发大量的相似度定性评估方法用于这一目的。定量衡量相似度的PCA得分是PCO得分的特例。本文对一个包含约1000次气相色谱/质谱分析的大规模研究进行分析，这些样本为卡林西亚（奥地利南部）地区一个孤立群体中200个人的汗液样本，连续10周每两周取样一次，对这些样本按家族进行分组。第一步是制作一张峰表，需要将检测到的峰进行定位和积分。从5080个峰中选出了373个，这些峰至少在某个人连续5次的取样中存在4次。进行了定性（存在与否）和定量（相当于PCA）的相似度测量计算。对这些相似度矩阵进行PCO分析和Kolomorogov-Smirnoff（KS）秩和检验。结果表明，这些数据组中存在可重现的个体指纹，最好用PCO得分的Hotelling t²统计评估和KS秩和检验的相关概率分析等定性相似度测量来表示。

6. GC/MS数据中保守代谢物的系统鉴定，在代谢组学和生物标志物中的应用。

Styczynski MP, Moxley JF, Tong LV, Walther JL, Jensen KL, Stephanopoulos GN. *Anal Chem*. 2007 Feb 1; 79(3):966-73.

气相色谱/质谱（GC/MS）代谢谱分析通常依靠代谢物质谱参考数据库进行结构鉴定和代谢物跟踪。通常，计数和追踪未鉴定代谢物的技术不够系统，需要进行手工干预。我们提供了一种方法和软件，您可以从以下网址<http://spectconnect.mit.edu>免费下载，不需要参考谱库，也不用手工干预，即可系统地检测样品之间的保守组分。我们通过正确鉴定已知混合物中的组分和分辨加入到混合物中的组分，对方法进行了验证。最后，我们用本方法对大肠杆菌代谢组进行的简单的分析。在运行数据分析方法之前，系统地列出了保守代谢物峰，我们的方法扩展了代谢组学的范围，促进了生物标志物的发现。

7. 酿酒酵母代谢谱研究：优选抗病毒药物靶标的辅助工具。

Schneider K, Krömer JO, Witmann C, Alves-Rodrigues I, Meyerhans A, Diez J, Heinzle E.
Microb Cell Fact. 2009 Jan 30;8:12.

某些正链病毒的复制需要细胞蛋白 Pat1p、Lsm1p 和 Dhh1p，因此这些蛋白可以作为新型抗病毒药物的潜在靶标。为了优选宿主靶标进行抗病毒药物筛选，我们对酿酒酵母标准株 BY4742、Matalpha、his3Delta1、leu2Delta0、lys2Delta0、ura3Delta0 和缺失突变株 pat1Delta、lsm1Delta 和 dhh1Delta 进行了比较代谢组学分析。结果：GC/MS 分析能够对 47 种极性代谢物进行定量，并鉴定出其中的 41 种。通过对特征结构进行了偏最小二乘分析（PLS-DA），鉴定了两种病毒株之间存在明显差异的代谢物。分析表明，pat1Delta 与标准株之间的最小差异可以用标准化峰面积的欧几里得距离表征。该株的生长速度和乙醇与甘油的产生速度也最为相似。结论：根据这些结果，我们推断人酵母类似物 Pat1p 最有可能成为良好的药物靶标。

8. 肾上腺功能初现的尿液标志物研究：3-18 岁正常人的参考值。

Remer T, Boye KR, Hartmann MF, Wudy SA.
J Clin Endocrinol Metab. 2005 Apr;90(4):2015-21. Epub 2005 Jan 25.

目前还没有正常人生长过程中尿中排泄脱氢表雄酮 (DHEA) 及其直接代谢产物的信息。我们用气相色谱-质谱尿类固醇谱型分析，无创研究了 400 名 3-18 岁正常人肾上腺功能初现的代谢组。在 7-8 岁之前 24 小时尿中 DHEA 的分泌水平无明显增加。但 DHEA 与其 16a 羟基化下游代谢物，16a-羟基-DHEA 和 3b-羟基-DHEA 和 3b,16a,17b-雄烯三酮 (DHEA&M)，以及 DHEA 代谢物，5-雄烯-3b, 17b-二醇 (ADIOL)，以及总的尿雄激素代谢物 (C19) 从最小年龄组到最大年龄组均出现持续升高。从 3 岁到 8 岁，男性和女性 24 小时尿液排泄的 C19、ADIOL 和 DHEA&M 增加了 2 到 4 倍 ($P < 0.01$)。例如，在这一阶段，DHEA&M 从 20 毫克/日升高到 80 毫克/日 ($P < 0.0001$)。到 16 岁，DHEA&M 分泌继续增加到接近 1000 毫克/日。评估了类固醇生成酶的活性状态（根据尿类固醇代谢物的特定比值），包括 21 羟基化酶、3b-羟基类固醇脱氢酶、17b-羟基类固醇脱氢酶和 5a 还原酶。我们的结果表明，正常男孩和女孩肾上腺功能初现是一个渐进过程，它的出现明显早于目前公认的时间。DHEA 的有效代谢，尤其是生成 16 羟基化类固醇，或许可以解释 7-8 岁前体内 DHEA 水平的恒定。我们所给出的 DHEA、DHEA&M、ADIOL、C19（包括雄激素和雌激素），以及尿中类固醇生成酶活性参数的参考值，有助于了解肾上腺功能初现的渐进成熟过程中营养、环境和病理生理的相互关系。这些数据还可以作为类固醇相关疾病的诊断参考值。

9. 异戊酸血症相关的氨基酸异常结合产生的 19 种新代谢物的鉴定。

Loots DT, Erasmus E, Mienie LJ.
Clin Chem. 2005 Aug;51(8):1510-2.

10. 颤杨叶片生长过程中库源过渡的代谢谱分析。

Jeong ML, Jiang H, Chen HS, Tsai CJ, Harding SA.
Plant Physiol. 2004 Oct; 136(2):3364-75. Epub 2004 Sep 24.

对颤杨 (*Populus tremuloides* Michx) 叶片生长库源过渡带的小分子极性代谢物进行了比较。250 到 300 个常规分离峰的约 25% 得到了鉴定，其中丰度最高的有碳水化合物、有机酸和氨基酸。其中三分之二的代谢物在叶片生长过程中呈 4 倍以上的变化。在光合成和光呼吸测量中，代谢谱数据得到的信息与碳养和碳自养代谢预测趋势相一致。Suc 浓度在整个展叶期均增高，而六碳糖的浓度在展叶中期达到峰值，然后锐降。展叶期间氨基酸浓度普遍降低，但苯丙氨酸在初期增高，随后甘氨酸和丝氨酸增高，分别反映了生长对二级代谢和光呼吸的影响。苹果酸盐浓度和天门冬酰胺转移酶活性的持续改变标志着硝酸盐的吸收和贮存的天门冬酰胺的利用。主成分分析和聚类分析有助于对涉及碳和氮吸收动态变化的细胞壁成熟（果胶质、半纤维素和草酸盐）和细胞膜生物发生相关的标志物进行分组。代谢谱分析将促进对库源发育期间生长方式和碳分配模式以及对刺激的反应有很大差别的杨树的氮利用和细胞发育研究。

靶向代谢组学

1. 用 ¹H NMR 和 GC/MS 研究蚯蚓接触亚致死量 DDT 和硫丹后的代谢谱变化。

McKelvie JR, Yuk J, Xu Y, Simpson AJ 和 Simpson MJ

Metabolomics 2009 5:84–94

用质子核磁共振 (¹H NMR) 和主成分分析 (PCA) 表征了蚯蚓 (赤子爱胜蚓) 对两种农药 (双对氯苯基三氯乙烷 (DDT) 和硫丹) 的代谢响应。PCA 载荷散点图显示, 给药组 (两种化合物给药剂量 0.5, 1.0 和 2.0 μg/cm²) 与对照组之间主要的差异代谢物有麦芽糖、亮氨酸和丙氨酸。用气相色谱/质谱 (GC/MS) 对赤子爱胜蚓中的代谢物进行了定量, 以确定麦芽糖、亮氨酸和丙氨酸对 DDT 和硫丹响应 (0.5 和 1.0 μg/cm²) 的改变是否可重复, 是否大于自然变异。GC/MS 的定量结果显示, 麦芽糖不是可靠的生物标志物, 因为蚯蚓接触 DDT 时它的含量有的增加有的减少, 而接触硫丹时也仅增加 3%。亮氨酸在本研究所用的 GC/MS 衍生反应中不稳定, 不能确定为可靠的生物标志物。然而, 丙氨酸在赤子爱胜蚓接触 DDT 和硫丹两种杀虫剂时却一致性地增加。对照组蚯蚓中丙氨酸含量呈相当大的波动 (±41.6%), 而丙氨酸与甘氨酸的比值变异只有 ±10.5%。1.0 μg/cm² DDT 和 0.5 与 1.0 μg/cm² 硫丹作用下, 丙氨酸与甘氨酸的比值相比对照组有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示丙氨酸与甘氨酸比例偏离正常稳态值 1.5, 可以作为进一步研究 DDT 和硫丹接触的潜在生物标志物。

2. 气相色谱/质谱法在微生物代谢组学中的应用。

Koek MM, Muilwijk B, van der Werf MJ, Hankemeier T.

Anal Chem. 2006 Feb 15;78(4):1272-81.

建立了用于细菌代谢组学分析的方法, 包括肟化和硅烷化衍生反应及后续的气相色谱与质谱联用分析。微生物基质中含有许多可能干扰生化或分析过程的化合物, 如高浓度盐、复杂基质或缓冲液组分, 或浓度很高的底物及产物。用不同微生物, 如枯草杆菌、费氏丙酸杆菌和大肠杆菌对这一方法进行了广泛验证。本法能够分析许多类别的代谢物: 醇类、醛类、氨基酸、胺类、脂肪酸、(含磷-) 有机酸、糖类、糖酸、(酰基-) 糖胺、糖磷酸盐、嘌呤、嘧啶和芳香化合物等。实验证明衍生反应有效 (>50% 转化为衍生形式) 而且可重复 (相对标准偏差 < 10%)。大多数代谢物的线性度令人满意, 回归系数大于 0.996。定量限为柱上 40-500 pg, 或微生物细胞 (干重) 0.1-0.7 mmol/g。一般情况下, 细胞提取物代谢物分析的批内精密性 (重复性) 和批间精密性 (重现性) 分别优于 10% 和 15%。尽管该方法并非靶向手段, 并且微生物基质成分复杂, 但大多数代谢物的分析结果均能满足生物分析中靶向分析的要求。通过分析不同生长期的大肠杆菌样品验证了该方法的适用性。

3. 转基因小麦植物的实质等同性代谢组学研究。

Baker JM, Hawkins ND, Ward JL, Lovegrove A, Napier JA, Shewry PR, Beale MH.

Plant Biotechnol J. 2006 Jul;4(4):381-92.

为检测表达额外高分子量亚单位基因的三种转基因小麦及相应亲本品系 (两个品系加无效转化体) 的“实质等同性”, 我们连续 3 年对英国两地 (Rothamsted, Hertfordshire 和 Long Ashton, near Bristol) 重复田间试验的栽培样品进行了代谢谱分析。对氘代甲醇-水提取的极性代谢物进行质子核磁共振谱多变量对比, 表明地点和年份的影响比基因型更大。但仍然可以看到转基因和亲本品系之间的区别, 特别是转基因品系 B73-6-1 (其转基因表达水平最高) 与其亲本品系 L88-6 之间。图谱的比较显示, 转基因品系中的麦芽糖和/或蔗糖水平高, 游离氨基酸差异也很明显。采用气相色谱-质谱法测定了生长于 2000 年样本的详细氨基酸组成。最显著的差异是生长于 Rothamsted 的样品含大量酸性氨基酸 (谷氨酸、天门冬氨酸) 及其酰胺 (谷氨酰胺、天门冬酰胺)。此外, 生长于 Long Ashton 的相关品系 L88-6 和 B73-6-1 的脯氨酸和 γ-氨基丁酸的水平比生长于 Rothamsted 的要高。结果清楚地表明, 环境能够对代谢组产生影响, 而且对照组和转基因组之间的差异, 一般都不会超出对照品系在不同地区和不同年份的差异范围。

安捷伦文献：

请联系您当地的销售代表进行预订：

宣传册

5989-5472CHCN：安捷伦代谢组学实验室：成功进行代谢组学研究所需要的工具。

应用报告：

5989-8546CHCN：将保留时间添加到METLIN 个人代谢数据库中以提高化合物鉴定。

5989-7407CHCN：红细胞代谢组学研究中代谢物提取的优化。

5990-3638CHCN：应用 GC/MS 和安捷伦 Fiehn GC/MS 代谢组学 RTL 数据库鉴定血浆中的代谢物。

5989-6234CHCN：水稻白叶枯病代谢谱分析。

选择指南：

5989-6328CHCN：代谢组学研究选择 GCMS 还是 LCMS 的考虑。

产品通讯：

5989-8310CHCN：安捷伦 Fiehn GCMS 代谢组学 RTL 谱库。

5989-6172CHCN：安捷伦代谢组学软件——用于代谢组学数据分析各步骤的软件工具。

5989-7712CHCN：安捷伦 METLIN 个人代谢数据库——让代谢产物鉴定检索更加容易的强大数据库。

5989-8692EN：Agilent Mass Profiler Software - Essential Tool Set for Differential Profiling（安捷伦 Mass Profiler 软件——差异代谢谱分析的重要工具）。

5989-5553EN：GeneSpring MS from Agilent - Comprehensive Software Solution for Protein and Metabolite Biomarker Discovery（安捷伦 GeneSpring MS 软件——蛋白和代谢产物生物标志物发现的全面软件解决方案）。

海报：

5989-9797EN：Metabolomics: Sample Preparation（代谢组学样品制备）。

视频资料：

5990-3213EN：代谢组学研究者 Chris Beecher 博士（密西根大学）和 Kyu Rhee 博士（康奈尔大学）的视频故事，1GB。



更多信息

安捷伦代谢组学基于质谱的研究方法基础导论：
[http://www.chem.agilent.com/Library/primers/
Public/5990-4314CHCN.pdf](http://www.chem.agilent.com/Library/primers/Public/5990-4314CHCN.pdf)

了解更多：
www.agilent.com/chem/cn

在线购买：
www.agilent.com/chem/store

查询您所在国家安捷伦客户中心：
www.agilent.com/chem/contactus:cn

在线询价：
www.agilent.com/chem/quote:cn

联系我们：
customer-cn@agilent.com

安捷伦客户服务中心免费专线：
800-820-3278
400-820-3278 (手机用户)

安捷伦科技大学：
<http://www.agilent.com/chem/university>

浏览和订阅 Access Agilent 电子期刊：
www.agilent.com/chem/accessagilent:cn

本资料仅供参考。本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。安捷伦公司对本资料中可能的错误或或使用这一资料而带来的可能意外伤害和问题不负法律责任。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2010 版权所有
2010年7月13日中国印刷



Agilent Technologies