

三重四极杆靶向脂质组学方法应用于小麦苗中脂质化合物的分析

Targeted-lipidomics analysis in wheat seedling by SCIEX Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

肖梦晴; 龙志敏

Xiao Mengqing; Long Zhimin

SCIEX应用支持中心 (上海)

SCIEX Application and Support Center (Shanghai)

Key Words: Targeted Lipidomics, wheat seedling, LC-MS/MS

引言

代谢组学是通过质谱手段对生物体内所有代谢物进行定性定量分析, 并寻找各种病理变化与差异代谢物之间的相关关系的研究。代谢组学在不同物种中都有广泛的应用。其中, 植物代谢组学是对植物的某些特定部位在特定的生理时期时, 所有的代谢产物进行定性和定量分析, 植物中代谢物及其丰富, 代谢物种类远高于微生物和动物。因此, 植物代谢组学的分析具有重要的研究意义。脂质组学作为代谢组学的一个分支, 在植物中的种类也十分丰富, 通过对富含脂类的植物脂质组学的研究, 可以为解决海量植物代谢产物带来的科学研究困难提供巨大助力。

本文在前期利用高分辨质谱X500R QTOF系统将小麦苗中成分进行表征的基础上, 开发并验证了一种LC-MS/MS方法, 即在一针进样、正负离子同时监测模式下, 对小麦苗中219种脂质进行靶标定量分析。结果表明, 该方法专属性好、灵敏度高、稳定性好。

方法特点

1. 提供一套完整的样品液相方法和质谱方法, 与非靶向方法比无需进行定性分析;
2. QTRAP® 6500+系统灵敏度高, 稳定性好, 重现性强, 只需一次进样, 正负切换检测所有脂质化合物。

3. 采用MRM的采集方式, 可同时检测几百种脂类化合物。

样品前处理

在前期提取好的小麦苗样品中, 加入乙腈:水 (1:1) 混合溶液 1 ml, 涡旋5 min, 15000 rpm离心5 min后, 取上清液, 直接进样分析。

仪器设备

ExionLC™ AD系统+ SCIEX QTRAP® 6500 LC-MS/MS系统系统

液相条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18 (100mm × 2.1 mm, 1.7 μm)

柱温: 45 °C

进样体积: 1 μL

流动相: A为水; 甲醇: 乙腈 (1:1:1) 含5mM乙酸铵

B为异丙醇含5 mM乙酸铵

流速: 0.3 mL/min

梯度: 见表1

表1. 液相梯度洗脱，液相总运行时间为17 min

Time (min)	%A	%B
0	80	20
0.5	60	40
3	40	60
13	2	98
13.1	80	20
17	80	20

质谱条件

SCIEX QTRAP® 6500 LC-MS/MS系统系统

离子源：ESI源；

扫描方式：MRM采集模式，正负切换扫描；

IS电压：5500 V (-4500 V)； 气帘气CUR：40 psi；

雾化气GS1：55 psi； 辅助气：55 psi；

离子源温度为350 °C； 碰撞气：9 psi

部分化合物质谱参数见表2

实验结果

可检测到脂质种类情况

本方法中，在负离子模式下主要考察的是磷脂类和游离脂肪酸（FFA），其中磷脂类包含磷脂酰胆碱（PC）、溶血磷脂酰胆碱（LPC）、磷脂酰乙醇胺（PE）、溶血磷脂酰乙醇胺（LPE）、磷脂酰肌醇（PI）、磷脂酰甘油（PG）；在正离子模式下，主要考察的是甘油酯类、二半乳糖基酰基甘油（DGDG）、硫代异鼠李糖甘油二酯（SQDG）酰基乙醇胺（NAE）、神经酰胺（Cer）、糖脂（HexCer），其中甘油酯类包含单甘油酯(MG)、甘油二酯(DG)和甘油三酯(TG)。正负离子模式下检测到的脂类化合物总提取离子流色谱图如图1、2所示。

表2. 脂类化合物的质谱参数

No	Name	Q1	Q3	DP	CE
1	Cer 34:0;20(18:0;20/16:0)	540.5	284.3	80	43
2	HexCer 38:2;3O	752.6	262.4	80	43
3	DG(14:0/14:0)	530.4	285.2	80	26
4	MG 16:0	313.2	239.2	80	25
5	TG40:0-FA14:0	712.6	467.4	80	38
6	NAE(20:0)	356.3	356.3	80	15
7	DGDG(18:1/18:3)	958.6	617.5	80	35
8	SQDG(18:0/18:3)	862.6	335.3	80	35
9	LPC(22:6)+AcO	626.3	327.2	-80	-50
10	PC(14:0/18:1)+AcO	790.6	281.2	-80	-50
11	LPE(18:2)	476.3	279.2	-80	-40
12	PE(18:3/18:3)	688.5	253.2	-80	-50
13	PG(18:0/20:2)	801.6	307.3	-80	-50
14	PI(18:0/22:6)	909.6	327.2	-80	-60
15	FFA(20:4)	303.2	303.2	-80	-10

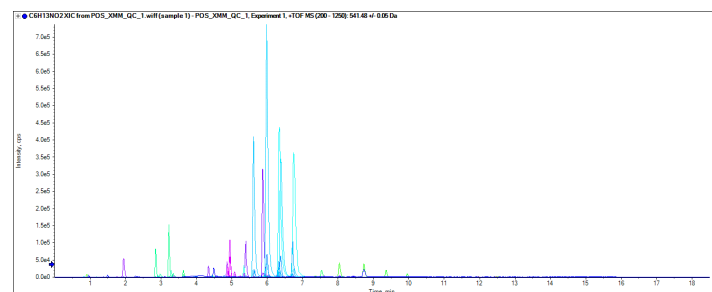


图1. 正离子模式下所有脂类化合物的提取离子流色谱图

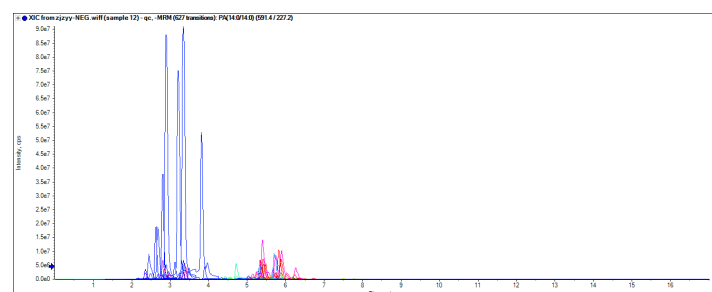


图2. 负离子模式下所有脂类化合物的提取离子流色谱图

小结

本文通过前期在非靶脂质组学数据分析鉴定到的脂类物质的基础上，建立了小麦苗植物中脂类物质的靶向检测方法，在正负离子模式下，共检测15类219种脂质；可通过正负切换的采集模式，一针进样可实现全部脂类化合物的检测。本文所建立的靶向代谢组学方法的特点是采用一针进样、正负离子同时监测模式进行样品采集，专属性好，灵敏度高，满足小麦苗大队列样本的检测需求。

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

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13678-ZH-A



SCIEX中国

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

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

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