

基于SCIEX TripleQuad™系统检测色氨酸代谢通路上的18个代谢物

Detection of 18 metabolites in tryptophan metabolism pathway based on SCIEX TripleQuad™ system

雷敏, 龙志敏

Lei Min, Long Zhimin

SCIEX, 中国

Key words: Tryptophan metabolism pathway, Amino acids, Indoles, metabolites, SCIEX Triple Quad™ System

引言

色氨酸及其代谢产物参与血浆蛋白的更新以及烟酸和褪黑素的合成,并在生理功能调节中发挥重要作用。色氨酸是人体必需氨基酸,必须通过膳食获取。它在蛋白质合成中发挥关键作用,并作为多种重要生物活性化合物合成的前体。色氨酸参与调控多种病理生理过程,包括神经功能、代谢、炎症反应、氧化应激、免疫反应以及肠道稳态。

色氨酸的代谢主要涉及犬尿氨酸途径(Kyn)、5-羟色胺途径(HT)和吲哚途径(图1)。犬尿氨酸(Kyn)途径中代谢物Kyn、葱尿酸、3-羟基犬尿氨酸和黄尿酸等分子可轻松穿越血脑屏障(BBB),调节神经功能。3-羟基葱莫酸(3-HAA)在3-羟基葱尿酸-3,4-双加氧酶的催化下进一步转化为神经毒性物质喹啉酸(QA)。QA与多种脑部疾病密切相关,包括阿尔茨海默病(AD)、抑郁症和精神分裂症。5-羟色胺(5-HT)途径中,5-HT作为一种重要的单胺类神经递质,调节情绪、焦虑、行为等多种中枢神经功能。此外,5-HT的生物功能依赖于不同细胞和组织中不同亚型的5-HT受体。5-HT还可以进一步转化为褪黑素,参与调节睡眠-觉醒周期^[1-3]。吲哚途径中,研究者发现吲哚及其衍生物是微生物-肠-脑轴中必不可少的信号分子,可影响脑功能和行为。因此,越来越多研究证明,吲哚及其衍生物与中枢神经系统疾病关系密切,影响着中枢神经系统疾病的发生和发展^[4]。近年来,随着与脑部相关的疾病如抑郁症等越来越年轻化,因此与此疾病相关的色氨酸代谢通路中的代谢物成为关注的焦点之一,因此该方案通

过建立色氨酸代谢通路中的18个代谢物,为该领域的研究者提供检测方法。18个代谢物信息见表1。

表1. 测试化合物列表

化合物名称(中文)	化合物名称(英文)	分子式
黄尿酸	Xanthurenic acid	C ₁₀ H ₇ NO ₄
3-羟基葱莫酸	3-Hydroxyanthranilic acid	C ₇ H ₇ NO ₃
褪黑素	melatonin	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₂
色氨酸	L-tryptophane	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂
犬尿氨酸	L-kynurenine	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃
5-羟基色氨酸	5-hydroxy-L-tryptophan	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₃
喹啉酸	Quinolinic acid	C ₇ H ₅ NO ₄
3-羟基犬尿氨酸	3-hydroxykynurenine	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₄
5-羟色胺	5-hydroxytryptamine	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O
葱酰胺酸	Anthranilic acid	C ₇ H ₇ NO ₂
犬尿酸	Kynurenic acid	C ₁₀ H ₇ NO ₃
吲哚-3-丙烯酸	3-Indoleacrylic acid	C ₁₁ H ₉ NO ₂
吲哚-3-醋酸甲酯	Methyl-3-indolylacetate	C ₁₁ H ₁₁ NO ₂
3-吲哚甲醛	Indole-3-carboxaldehyde	C ₉ H ₇ NO
3-甲基吲哚	3-Methylindole	C ₉ H ₉ N
吲哚乙酸	Indole-3-Acetic Acid	C ₁₀ H ₉ NO ₂
吲哚-3-乳酸	Indole-3-lactate	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃
3-吲哚丙酸	Indolyl-3-propionic acid	C ₁₁ H ₁₁ NO ₂

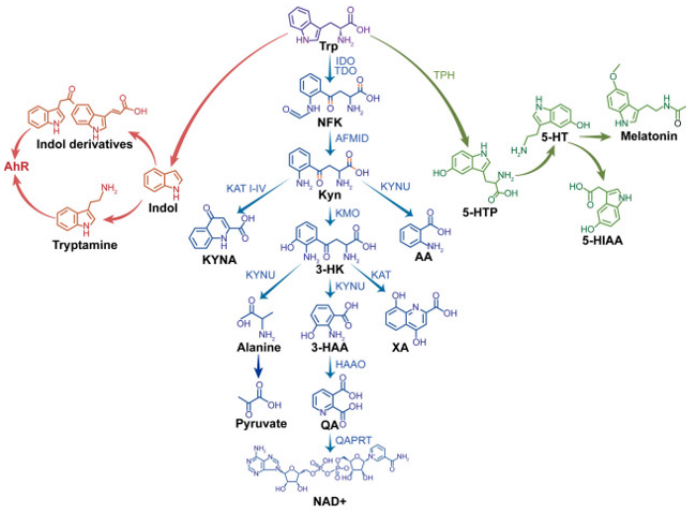


图1. 色氨酸经由犬尿氨酸、5-羟色胺和吲哚途径代谢的概述
(Trp: 色氨酸 (tryptophan); NFK: N-甲酰基犬尿氨酸 (N-formylkynurenine); Kyn: 犬尿氨酸(kynurenine); 3-HK: 3-羟基犬尿氨酸(3-hydroxykynurenine); 3-HAA: 3-羟基蒽莫酸(3-hydroxyanthranilic acid); QA: 喹啉酸(quinolinic acid); KYNA: 犬尿酸(kynurenic acid); AA: 蒽酰胺酸 (anthranilic acid); XA: 黄尿酸(xanthurenic acid); 5-HT: 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 血清素); 5-HTP: 5-羟色氨酸(5-hydroxytryptophan); 5-HIAA: 5-羟吲哚乙酸(5-hydroxyindoleacetic acid))

本文中实验方法特点

本方法使用本土化SCIEX Triple Quad™系统进行定量，方法特点如下：

- 1、使用本土化SCIEX Triple Quad™系统，建立11 min 色谱梯度，同时检测18个色氨酸代谢通路上的代谢物，包含11个氨基酸和7个吲哚类代谢物，实现高通量定量分析。
- 2、方法灵敏度高（其中13个代谢物标曲中最低点浓度低至 0.1~0.5 ng/mL，另5个代谢物最低点浓度在1-10 ng/ml）；标准溶液线性范围宽（其中10个代谢物线性范围在10000倍或以上）；线性关系良好（相关系数均在0.995以上）；各代谢物标曲中最低浓度点重现性好（3针RSD均在4.97%以内），表明仪器和方法重现性好。
- 3、该方案中包含的液质条件为研究与色氨酸代谢通路相关的疾病等检测提供参考。

实验方法

1、仪器设备



图2. ExionLC™ AE系统和SCIEX LC-MS/MS系统

2、液相条件

液相：SCIEX ExionLC™ AE系统

色谱柱：HSS T3 (2.1 × 100 mm, 1.8 μm)

流动相：A相：H₂O (含 0.1%甲酸)

B相：乙腈 (含 0.1%甲酸)

流速：0.3 mL/min

柱温：40 °C

梯度洗脱程序如表2：

表2. 液相梯度条件

时间 (min)	A%	B%
0	95	5
0.5	95	5
7	0	100
8	0	100
8.1	95	5
11	95	5

3、质谱条件

本土化SCIEX Triple Quad™ 系统

数据采集方法：schedule MRM（分时间窗口多反应监测）

离子源：ESI+/ESI-同时检测

离子源参数：

气帘气CUR: 35psi IS电压: 5500V (正) /-4500 (负) 源温度 TEM: 550℃ 雾化气Gas1: 55psi

辅助气Gas2: 55psi 碰撞气 CAD: Medium

多反应监测离子通道如表3.

表3-1. 正离子MRM离子对信息

化合物名称(中文)	英文名ID	母离子Q1(m/z)	子离子Q3(m/z)	保留时间(min)	DP(V)	CE(V)
黄尿酸	Xanthurenic acid 1	206.1	160.1	3	80	30
	Xanthurenic acid 2	206.1	188.2	3	50	20
3-羟基萘莫酸	3-Hydroxyanthranilic acid 1	154.1	80	3.2	20	33
	3-Hydroxyanthranilic acid 2	154.1	136.1	3.1	20	18
褪黑素	Melatonin 1	233.1	174.1	4.4	30	22
	Melatonin 2	233.1	216.2	4.4	30	17
色氨酸	Tryptophan 1	205.1	146.1	3.2	140	25
	Tryptophan 2	205.1	188.1	3.2	140	16
犬尿氨酸	L-Kynurenine 1	209.1	146.1	2.7	50	28
	L-Kynurenine 2	209.1	94	2.7	50	20
	L-Kynurenine 3	209.1	174	2.7	50	25
5-羟基色氨酸	5-Hydroxytryptophan 1	221.1	204.1	2.5	35	15
	5-Hydroxytryptophan 2	221.1	162	2.5	60	26
	5-Hydroxytryptophan 3	221.1	134.1	2.5	35	35
3-羟基犬尿氨酸	3-Hydroxykynurenine 1	225.1	162.1	1.7	50	28
	3-Hydroxykynurenine 2	225.1	110.1	1.7	50	22
	3-Hydroxykynurenine 3	225.1	190.2	1.7	50	24
5-羟色胺	5-HT 1	177.1	160.1	2.5	50	20
	5-HT 2	160.1	132.2	2.5	50	20
萘酰胺酸	Anthranilic acid 1	138.1	120.1	4.2	50	16
	Anthranilic acid 2	138.1	92	4.2	50	28
犬尿酸	Kynurenic Acid 1	190.1	144	3.3	70	30
	Kynurenic Acid 2	190.1	172.1	3.3	70	27
吲哚-3-醋酸甲酯	Methyl3-indolylacetate	190.1	130.1	5.5	45	24
3-吲哚甲醛	Indole-3-carboxaldehyde 1	146.1	118.2	4.2	150	20
	Indole-3-carboxaldehyde 2	146.1	91	4.2	150	37
3-甲基吲哚	3-Methylindole 1	132.1	117	3.1	150	26
	3-Methylindole 2	132.1	77	2.9	150	30
3-吲哚丙酸	Indolyl-3-propionic acid 1	190.1	130.11	4.9	45	24
	Indolyl-3-propionic acid 2	190.1	172.11	4.9	70	27

表3-2. 负离子MRM离子对信息

化合物名称(中文)	英文名ID	母离子Q1(m/z)	子离子Q3 (m/z)	保留时间 (min)	DP(V)	CE(V)
喹啉酸	Quinolinic acid 1	166.1	122.1	1.6	-40	-14
	Quinolinic acid 2	166.1	78	1.6	-40	-20
吲哚-3-丙烯酸	Indoleacrylic Acid 1	186.1	142.1	4.7	-35	-24
	Indoleacrylic Acid 2	186.1	116	4.7	-50	-41
吲哚乙酸	Indole-3-Acetic Acid	174.1	130.1	4.6	-40	-18
吲哚-3-乳酸	Indole-3-lactate	204.1	158.1	4.2	-25	-15

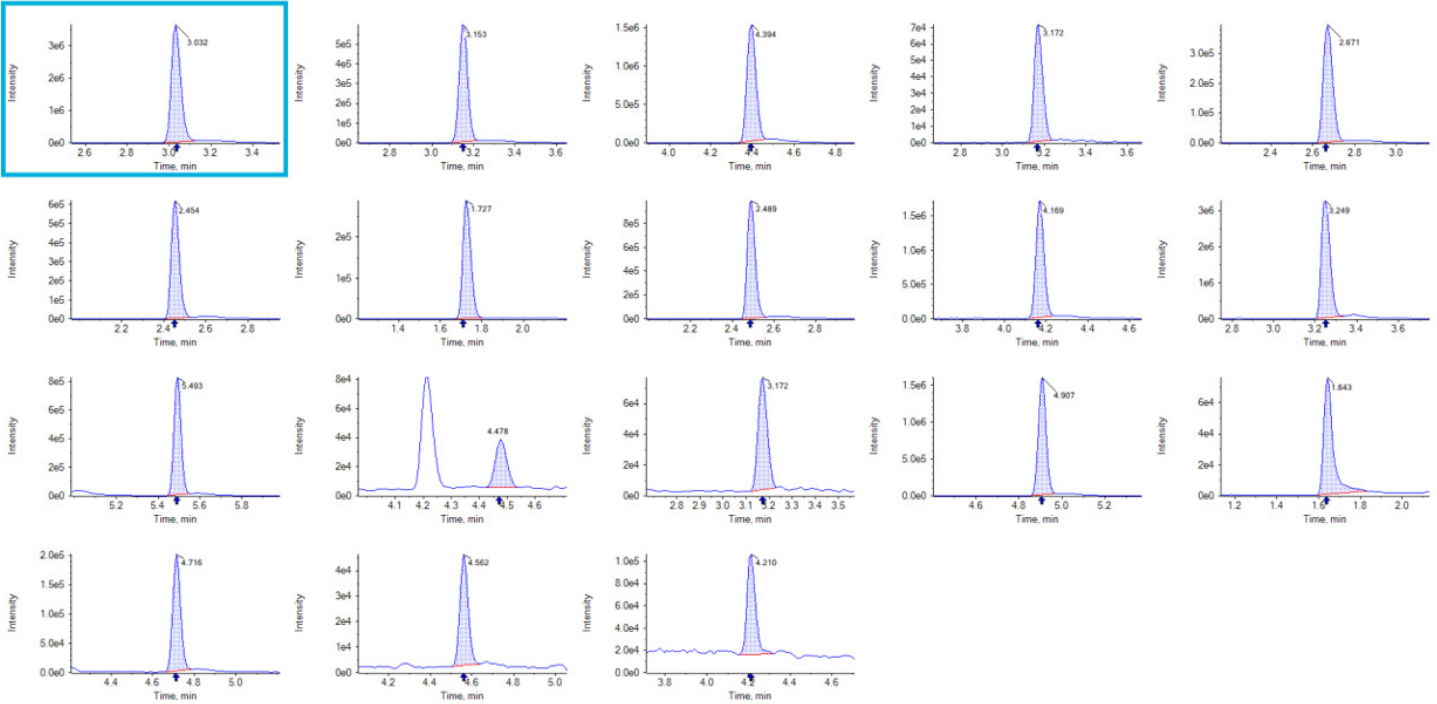


图3. 100 ng/ml标液典型色谱图（从左到右，第一行化合物分别为黄尿酸、3-羟基葱莫酸、褪黑素、色氨酸、犬尿氨酸；第二行分别为5-羟基色氨酸、3-羟基犬尿氨酸、5-羟色胺、葱酰胺酸、犬尿酸；第三行分别为吲哚-3-醋酸甲酯、3-吲哚甲醛、3-甲基吲哚、3-吲哚丙酸、喹啉酸；第四行分别为吲哚-3-丙烯酸、吲哚乙酸、吲哚-3-乳酸）

4、实验结果

典型色谱图

100 ng/mL 标准溶液典型谱图见图3。从图3可以看出，该色谱条件下，18个代谢物色谱峰峰形良好。

线性考察及重现性

以水作为溶剂配制不同浓度的标准溶液，浓度范围为0.1~2000ng/mL，进LC-MS/MS系统进行分析。不同浓度的峰面积及线性回归方程见图4。从图4可见，不同化合物在各自的标曲范围内，线性相关系数均在0.995以上，表明仪器线性关系良好，且线性范围宽。

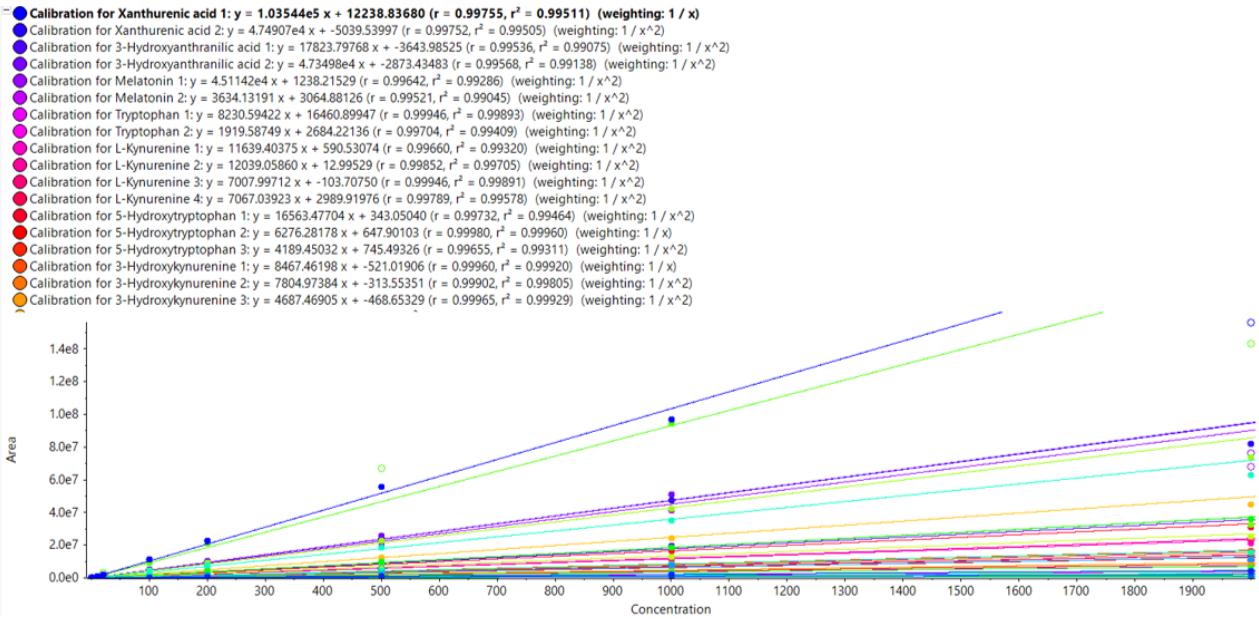


图4. 标准曲线和线性回归方程，线性相关系数均在 0.995 以上

表4. 18个代谢物的线性范围、标曲最低点浓度及最低浓度重复性

化合物名称(中文)	线性范围 (ng/ml)	标曲最低点浓度 (ng/ml)	RSD (%) -标曲最低点
黄尿酸	0.1-2000	0.1	3.83
3-羟基萘莫酸	0.5-2000	0.5	3.78
褪黑素	0.1-1000	0.1	2.43
色氨酸	1-2000	1	1.35
犬尿酸	0.2-2000	0.2	4.63
5-羟基色氨酸	0.1-2000	0.1	3.05
喹啉酸	0.5-2000	0.5	4.50
3-羟基犬尿酸	0.2-2000	0.2	2.42
5-羟色胺	0.1-2000	0.1	4.95
萘酰胺酸	0.2-2000	0.2	3.26
犬尿酸	0.1-1000	0.1	3.28
吲哚-3-丙烯酸	0.5-2000	0.5	2.76
吲哚-3-醋酸甲酯	0.1-2000	0.1	1.73
3-吲哚甲醛	2-2000	2	4.86
3-甲基吲哚	2-2000	2	4.42
吲哚乙酸	2-2000	2	4.97
吲哚-3-乳酸	10-2000	10	4.58
3-吲哚丙酸	0.1-2000	0.1	4.90

为考察方法和仪器的重现性，将18个代谢物标准溶液中的最低浓度点分别重复进样3次，计算RSD。3针样品(表4)连续采集，RSD均在4.97%以内，远满足方法学中对重复性要求，表明仪器和方法的重现性好。

5、结论

本方案中使用本土化SCIEX Triple Quad™系统，建立11 min 色谱梯度，实现高通量定量分析。该方法中18个代谢物峰形均很好；其中13个代谢物标曲中最低浓度低至0.1-0.5 ng/ml，5个代谢物低至1-10 ng/ml，表明仪器灵敏度高；其中10个代谢物线性范围为0.1-2000 ng/ml，线性关系良好，且线性范围达10000倍或以上，线性范围宽；各代谢物标曲中最低浓度点连续3针RSD均在4.97%以内，表明仪器和方法的重现性和稳定性好。该方案中包含的液质条件为研究与色氨酸代谢通路相关的疾病等检测提供参考。

参考文献

- [1]. Xue, C., Li, G., Zheng, Q., Gu, X., Shi, Q., Su, Y., Chu, Q., Yuan, X., Bao, Z., Lu, J., et al. (2023). Tryptophan metabolism in health and disease. *Cell Metab.* 35, 1304–1326. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.06.004>.
- [2]. Modoux, M., Rolhion, N., Mani, S., and Sokol, H. (2021). Tryptophan Metabolism as a Pharmacological Target. *Trends Pharmacol. Sci.* 42, 60–73. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.11.006>.
- [3]. 生物科研服务，肠道菌群的“操控术”：色氨酸代谢通路背后的秘密，<https://zhuanlan.zhihu.com/p/25898462473>
- [4]. Yi Zhou, Yue Chen, Hui He, Meichang Peng, Meiqin Zeng, Haitao Sun. The role of the indoles in microbiota-gut-brain axis and potential therapeutic targets: A focus on human neurological and neuropsychiatric diseases. *Neuropharmacology*.2023 Nov 15:239:109690. doi: 10.1016/j.neuropharm.2023.109690. Epub 2023 Aug 22.

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. 或在英国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-35839-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：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017
官方微信：[SCIEX-China](#)