

# SCIEX 液相色谱串联质谱法对小麦苗中183种代谢物进行靶标代谢组学分析

## Targeted-metabonomics analysis of 183 metabolites in wheat seedling by SCIEX Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

侯朋艺, 肖梦晴, 龙志敏

Pengyi Hou, Mengqing Xiao, Zhimin Long

SCIEX应用支持中心, 中国

**Keywords :** SCIEX LC-MS/MS, Targeted-metabonomics, Wheat seedling

### 引言

代谢组学 (Metabonomics) 旨在研究生物体或组织甚至单个细胞中的糖类、脂类、氨基酸、核苷酸等全部小分子代谢物成分及其动态变化<sup>[1]</sup>。植物内源性代谢物对植物的生长发育有重要作用。植物中代谢物超过20万种, 有维持植物生命活动和生长发育所必须的初生代谢物, 还有利用初生代谢物生成的与植物抗病和抗逆关系密切的次生代谢物, 所以对植物代谢物进行分析是十分必要的。

靶向代谢组学 (Targeted Metabonomics) 是代谢组学研究的重要组成部分, 也是全代谢组研究的延伸与拓展。相对于全代谢组分析而言, 靶向代谢组分析具有特异性强, 检测灵敏度高和定量准确等几个特点。靶向代谢组学可以用于: 验证有非靶向代谢组学实验提出的假说; 进行基于假说的探索性实验, 针对特定代谢物, 研究代谢模型。靶向代谢组学分析成功的关键因素是准确度、高通量和可靠性。靶向代谢组学一般采用三重四极杆 LC-MS/MS 系统上用多反应监测 (MRM) 进行靶向 MS/MS。MRM 是进行质谱定量的选择方法, 具有高灵敏度、特异性好的特点, 可以产生独特的碎片离子, 可对非常复杂基质中的目标化合物进行监测和定量。

本文在前期利用高分辨质谱 TripleTOF™ 6600+ 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 183 种代谢物的靶标定量分析。结果表明, 该方法专属性好, 灵敏度高、稳定性好。

### 供试品溶液制备

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。

### 液相条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (100 × 2.1 mm, 1.8 μm)

流动相: A: 水 (含有 0.01% 甲酸) B: 乙腈

流速: 0.3 ml/min

柱温: 50 °C

进样体积: 2 μl

梯度条件:

Time (min)	A (%)	B (%)
0	100	0
0.5	100	0
10	60	40
18	5	95
27	5	95
27.1	100	0
30	100	0

### 质谱条件

离子源：电喷雾电离 (ESI)，正负离子切换模式

扫描方式：sMRM多反应监测

MRM检测窗口 (MRM detection window): 100 sec

气帘气 (CUR): 40 psi      离子喷雾电压 (IS): 5500V(+)/-4500V(-)

加热温度 (TEM): 500°C      雾化气 (GS 1): 50 psi

辅助气 (GS2): 50 psi      碰撞气 (CAD): 9

去簇电压 (DP): 80 V      入口电压 (EP): 10 V

碰撞池出口电压 (CXP): 10 V      碰撞能 (CE): 35 V

sMRM参数：如表1

### 实验结果

正离子模式下各目标化合物的提取离子流图见图1，负离子模式下各目标化合物的提取离子流图见图2。

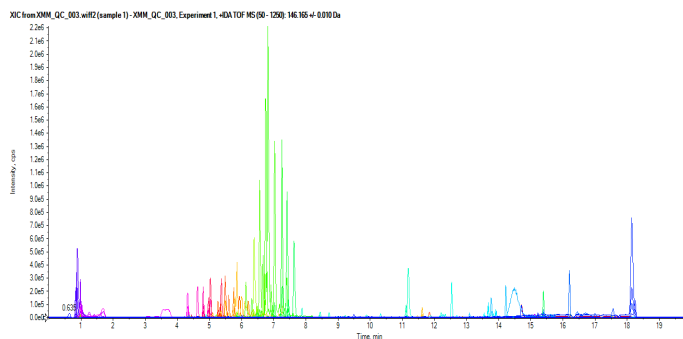


图1. 小麦苗正离子模式下各目标化合物的提取离子流图

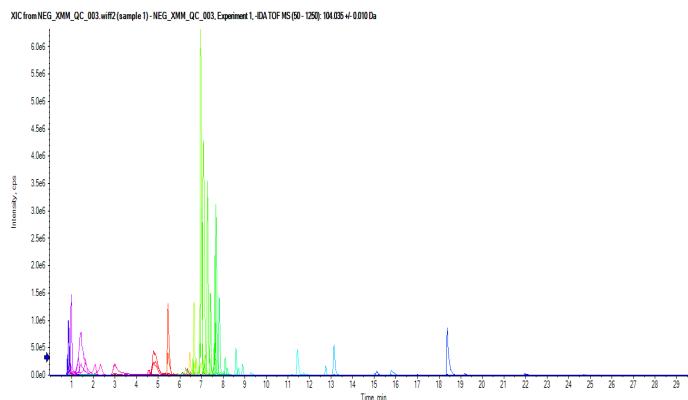


图2. 小麦苗负离子模式下各目标化合物的提取离子流图

表1. 小麦苗部分成分的质谱参数

Component Name	Q1	Q3	Polarity	Component Name	Q1	Q3	Polarity
Spermidine	146.17	72.08	POS	(S)-ibuprofen	207.14	91.05	POS
Arg	175.12	70.07	POS	3,4-dimethoxy-benzaldehyde	167.07	95.06	POS
GLUTAMINE	147.08	84.04	POS	Dihydrocapsiate	309.21	109.10	POS
L-alanin	90.06	44.05	POS	benzene-1,2-diol	111.04	57.93	POS
DL-threonine	120.07	74.06	POS	Olivetol	181.12	105.07	POS
Pyroglutamic acid	130.05	84.04	POS	Saccharopine	277.14	93.07	POS
Glutamic acid	148.06	84.04	POS	(+)-(S)-dehydrovomifoliol	223.13	191.00	POS



图3. 不同组小麦苗样品间主成分分析 (PCA) 图

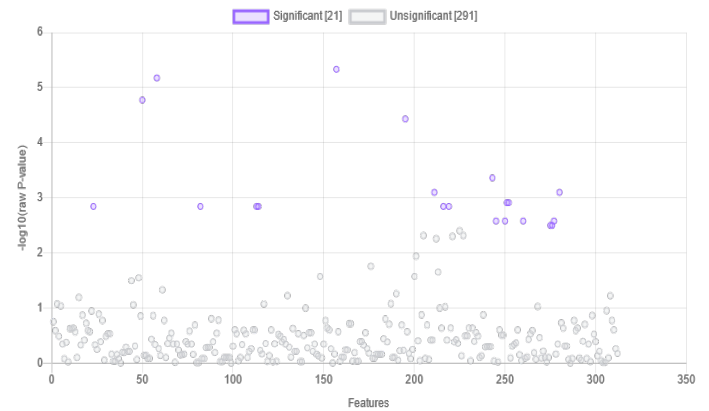


图4. 不同组小麦苗样品间含量具有显著性差异的离子

## 总结

本文使用SCIEX LC-MS/MS系统建立了小麦苗中183种成分同时检测的靶标代谢组学方法，同时该方法对前期建立的基于SCIEX TripleTOF™ 6600+系统进行非靶向代谢组学的试验结果进行了验证，证明了非靶向代谢组学结果标记物查找的可靠性。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-02-13585



### 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](http://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