

Application News

No. B88

探针电喷雾电离质谱仪

利用 DPiMS™-8060 直接分析小鼠肝脏代谢组

在分析内源性代谢物（代谢组分析）过程中，难以完全消除预处理和采样带来的偏差。因此，为了准确掌握生物标本代谢组的变化，需要创建一种直接分析代谢组的方法。新型探针电喷雾电离技术（PESI）是一种直接电离方法，使用超细微创探针进行采样。向探针尖端施加高电压可以将获得的样品电离，因此无需色谱仪即可分析组分。当结合串联质谱的 PESI 时，使用 DPiMS-8060 探针电喷雾电离串联质谱仪（图 1）可直接分析生物样本的代谢组。

本文介绍了使用探针电喷雾电离质谱仪直接分析组织样品（完整代谢组分析）的方法，以及该方法在 CCl₄ 诱导急性肝衰竭模型小鼠中代谢组分析的应用。

T. Murata



图 1 DPiMS™-8060

■ 样品制备和分析条件

标准代谢物样品包括氨基酸、有机酸和糖（26 种代谢物），制备方法为用 50% 乙醇溶液分别进行稀释，得到样品溶液，分别取 10 μL 样品溶液滴到专用样板（岛津制作所）中。选择各化合物 MRM 通道，优化碰撞能量（CE）等质谱条件。26 种代谢物的 MRM 参数见表 1。

解剖小鼠以获得肝样品。分别从健康小鼠和肝衰竭模型小鼠（给药四氯化碳以诱导肝衰竭）取约 3 mm 大小的正方形切片。将切片放置在专用的样板中以获得固体样品，然后放置在仪器中。只需将样品放置在样板中即可使用 DPiMS-8060 分析固体样品，无需进行复杂的预处理。

表 1 26 种代谢物的 MRM 参数

名称	模式	离子对 (m/z)	CE (V)
3- 羟基丁酸脂	(-)	103.1>59.0	35
柠檬酸 / 异柠檬酸	(-)	191.0>111.1	20
D- 葡萄糖	(-)	179.1>59.2	20
葡萄糖 -6- 磷酸	(-)	259.1>96.9	20
戊二酸	(-)	131.0>87.3	20
甘氨酸	(-)	74.2>74.2	20
L- 天冬酰胺	(-)	131.0>113.3	20
L- 天冬氨酸	(-)	131.9>88.1	20
L- 谷氨酸	(-)	146.0>102.1	20
L- 乳酸	(-)	89.0>43.2	20
L- 苹果酸	(-)	133.0>114.9	20
L- 丝氨酸	(-)	103.9>74.2	20
丙酮酸	(-)	87.1>43.1	20
琥珀酸	(-)	117.1>73.0	20
牛磺酸	(-)	124.0>80.0	20
2- 氨基丁酸	(+)	104.1>58.1	20
L- 谷氨酰胺	(+)	147.1>84.2	20
L- 组氨酸	(+)	156.1>110.3	20
L- 亮氨酸 / L- 异亮氨酸	(+)	132.1>86.2	20
L- 蛋氨酸	(+)	150.3>104.1	20
L- 鸟氨酸	(+)	132.9>70.0	20
L- 苯丙氨酸	(+)	166.2>120.2	20
L- 脯氨酸	(+)	116.2>70.0	20
L- 苏氨酸	(+)	120.1>74.0	20
L- 色氨酸	(+)	205.2>146.1	20
L- 酪氨酸	(+)	182.1>136.1	20

健康小鼠和肝衰竭小鼠的完整代谢组分析

已知四氯化碳 (CCl₄) 会引起急性肝衰竭, 使用 DPiMS/MS 对 CCl₄ 诱导急性肝衰竭模型小鼠组 (以下称“模型组”) 和对照组开展完整的代谢组分析。主成分分析 (PCA) 结果显示, 两组沿图 2(a) 中 PCA 得分图所示的第一成分轴完全分离。图 2(b) 中的 PCA 载荷图表明牛磺酸严重影响分离, 因此创建图 2(c) 所示的牛磺酸箱线图, 并进行显著性检验。结果表明, 模型组和对照组之间存在显著差异 ($p < 0.001$, Welch t 检验)。

将释放的酶, 即丙氨酸转氨酶 (ALT) 和天冬氨酸转氨酶 (AST) 的量用作诊断急性肝衰竭的指标。观察这两种酶, 发现模型组存在显著增加, 并且与模型组的牛磺酸水平存在显著的负相关 (皮尔逊相关系数 $r = -0.975$ (ALT) 和 -0.785 (AST))。

在给药 CCl₄ 的小鼠中, 其肝脏通过代谢酶 CYP2E1 的作用从 CCl₄ 产生三氯甲基自由基, 其可引起急性肝衰竭, 即可理解为牛磺酸起到了清除肝脏中自由基的作用。由于 CCl₄ 产生了三氯甲基自由基, 故模型组中肝脏的牛磺酸浓度很可能已降低。

结论

使用 DPiMS-8060 在未进行任何复杂预处理的情况下成功分析了小鼠肝代谢组。

由于在 CCl₄ 诱导的肝衰竭模型小鼠中成功观察到代谢物因肝衰竭导致的变化, 因此可证实该方法适合实际使用。

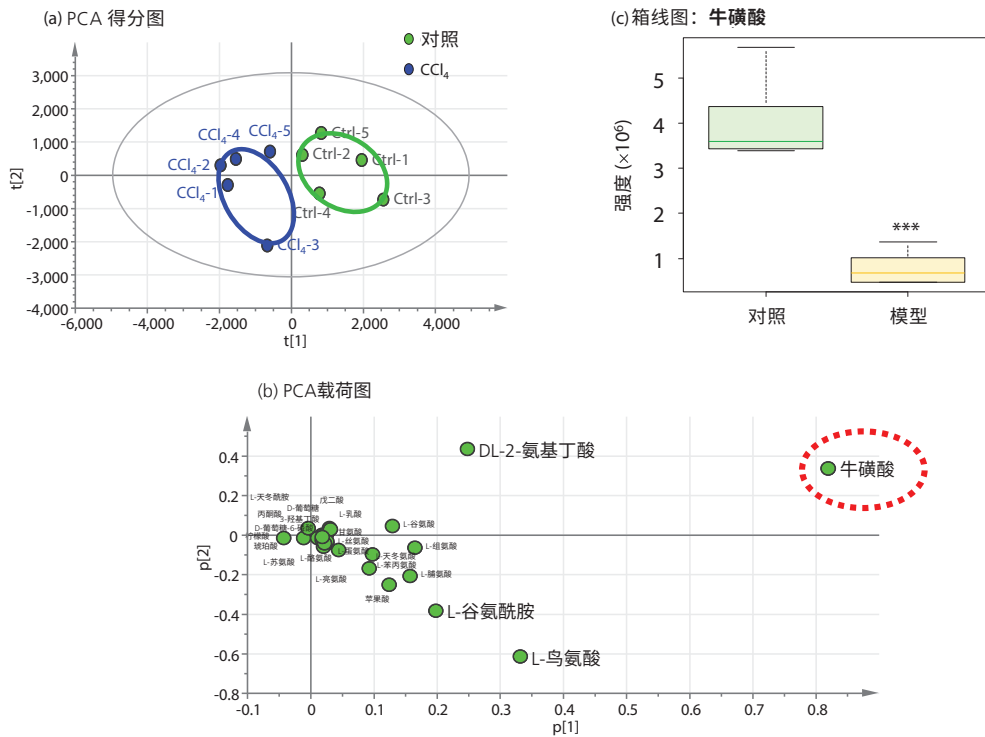


图 2 健康小鼠和肝衰竭模型小鼠的完整代谢组分析结果

鸣谢

本文中的数据系名古屋大学医学研究院的副教授 Kei Zaitzu 和讲师 Yumi Hayashi 通过合作研究而得。我们对他们的大力支持和合作表示感谢!

参考文献

Zaitzu, K.; Hayashi, Y.; Murata, T. 等. Anal.Chem.2016, 88, 3556-3561.

本文中所述产品尚未获得日本《药品与医疗器械法》的批准或认证为医疗器械。因此, 不得将其用于医学检查和治疗或相关操作。

DPiMS 是岛津制作所的商标。

岛津应用云



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2019 年 1 月