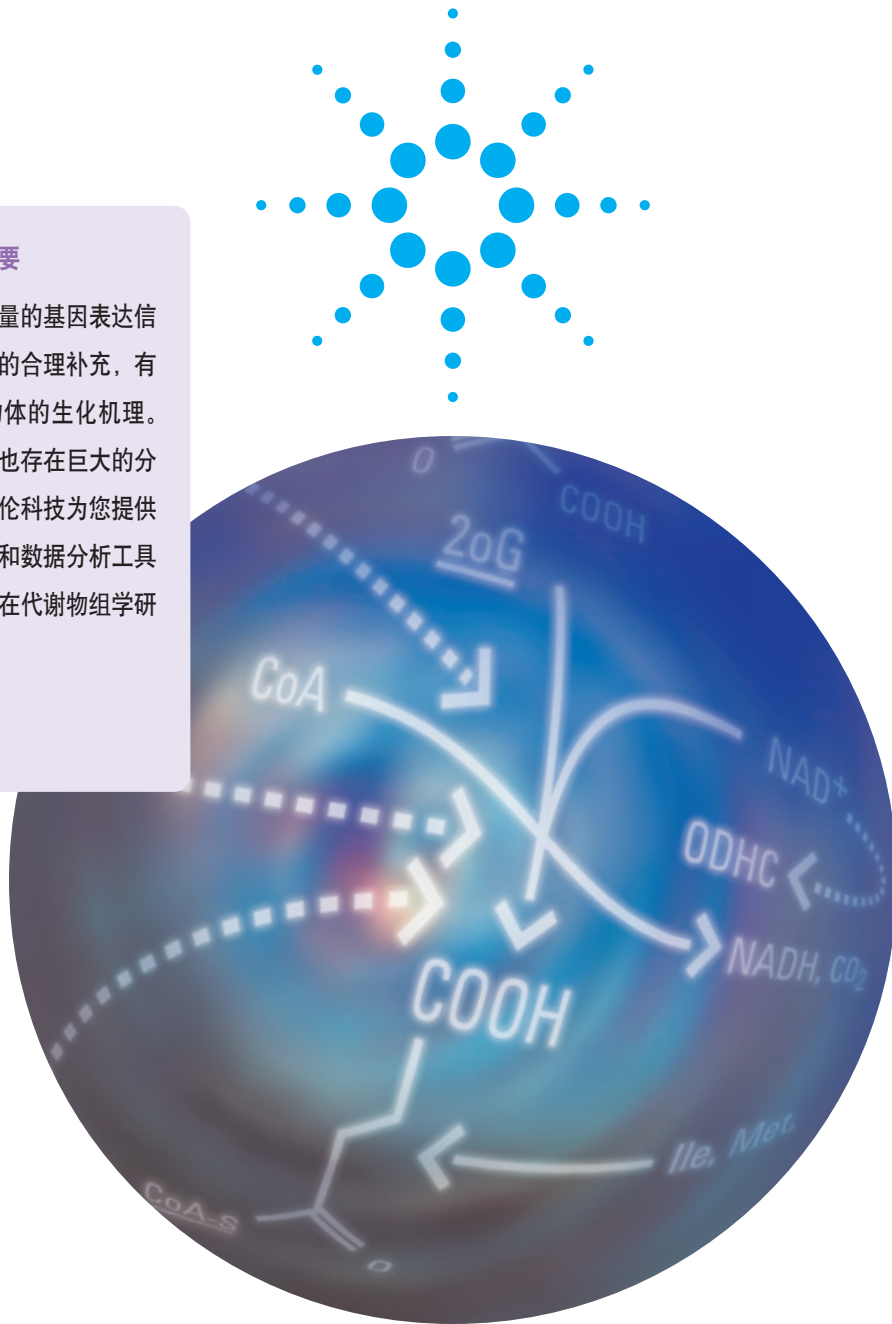


摘要

代谢物组学是对大量的基因表达信息和蛋白质组研究的合理补充，有助于有效洞察生物体的生化机理。但是，代谢物组学也存在巨大的分析技术挑战。安捷伦科技为您提供所需的知识、仪器和数据分析工具帮助您迎接挑战并在代谢物组学研究中取得成功。



安捷伦代谢物组学实验室：
成功的代谢物组学研究所需的
综合性工具



Agilent Technologies

了解生物体系的有效途径

代谢物在生物体系内起着至关重要的作用。代谢物组学是对一组相类似的生物样品中发现的代谢物进行比较分析，能够识别潜在的生物标志物，确定药效或疾病对已知生物途径的影响，或检测未知生物途径的药效或疾病。

代谢物是生物体系中至关重要的组成部分

代谢物在生物体系中起着至关重要的作用。它们运送能量、帮助细胞间的信息交流与控制，并对其它生理过程产生相当于搭积木的作用。代谢物的变化能够对潜在的生化反应进行有效的观测。它们能够作为疾病的标志物，并指出基因和功能之间的关系。

代谢物组学为了解生物体系提供了有效途径。它可作为基因组学和蛋白组学研究的有力补充。

代谢物组学——一种分析技术挑战

代谢物显示了巨大的化学多样性，在结构、功能基团和理化性质方面存在极大的差异。这些差异的范围非常大，使得代谢物组学的分析非常具有挑战性。分析要求根

据化合物的发现、鉴定、定量（或三者都有）而变化，进一步使得分析任务进一步复杂化。

单一的仪器或技术无法适用于所有代谢物组学研究。质谱与气相或液相色谱联用（GC/MS 或 LC/MS）是最广泛使用的分析技术。毛细管电泳与质谱联用（CE/MS）可作为亲水化合物分析的替换方案。代谢物组学研究通常涉及大量的样品以及复杂的数据处理。因此，强大的数据分析能力同样是必需的。

代谢物组学研究的出色工具

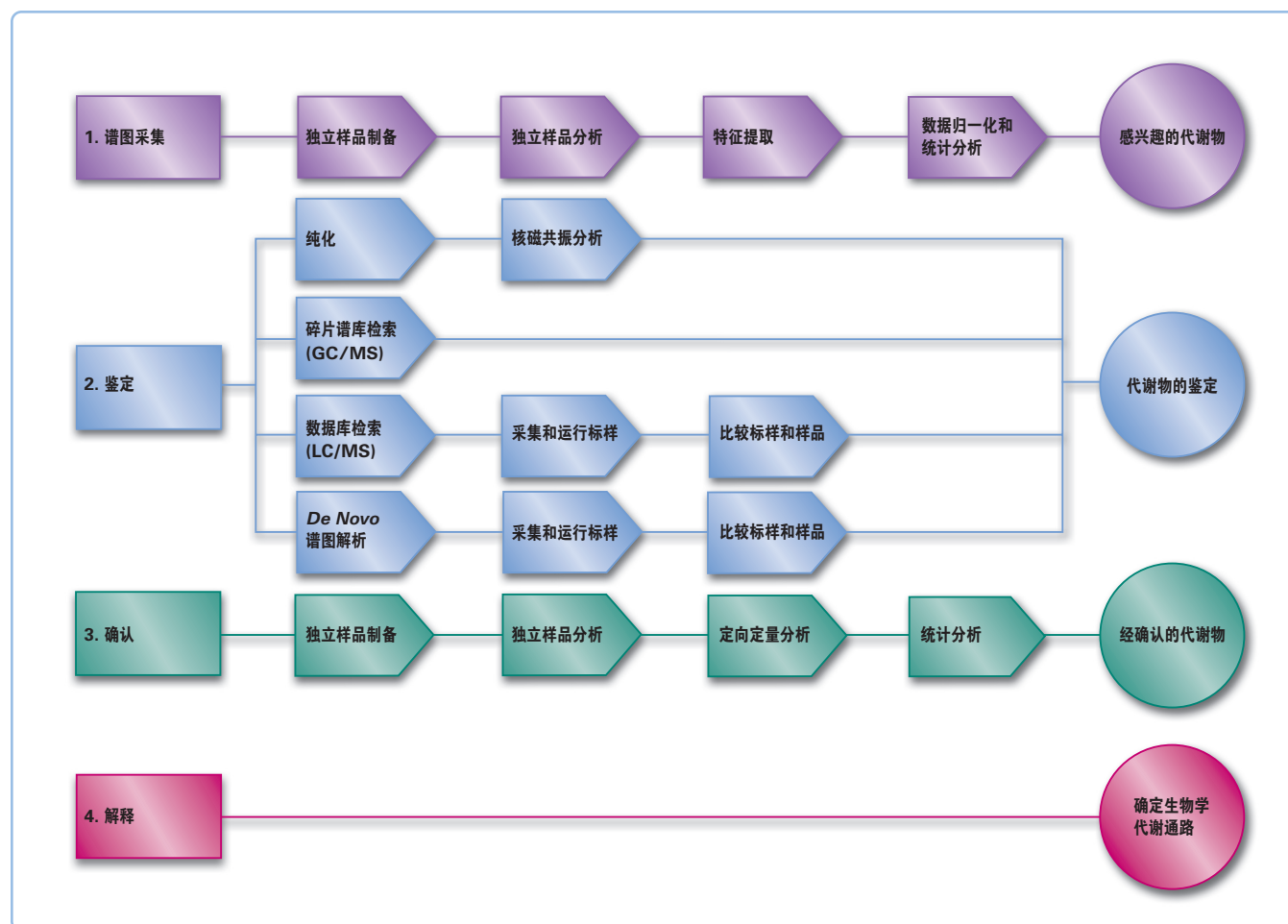
安捷伦科技提供行业中用于代谢物组学研究的最完备的工具选择——包括 GC、LC、CE、GC/MS、LC/MS 和 CE/MS，同时，提供强大的软件工具用于代谢物鉴定、定量和统计分析。

有了安捷伦，您就有信心拥有单一且可靠的供应商为您提供硬件、软件、消耗品、服务和技术支持。您同时得到一支知识渊博的应用科学家团队，他们了解您的工作，能够帮助您从每个实验中获得更多的生物学相关信息。



安捷伦提供多种用于代谢物组学研究的仪器和软件，包括完整的 GC/MS 和 LC/MS 系统

代谢物组学的工作流程：从样品到数据到生物学意义



代谢物组学分析的工作流程是个多步骤过程，包括不同的分析技术挑战，以及每个步骤多种分析方法的选择

复杂的代谢分析分为多个步骤。根据样品和涉及的代谢物的不同，具体分析步骤可能不同，但一般过程如下：

1. 谱图采集——通过对试验和控制样品的一系列小规模实验，发现具有统计学显著变量的代谢物。

2. 鉴定——对谱图中标记出的代谢物进行定性。

3. 确认——对原有样品中已鉴定代谢物的统计显著性进行确认，并通过更大规模的样品进行再确认，以消除自然变异的影响。

4. 解释——在相关的生物体系背景下，对发现的代谢组标志物进行评价。

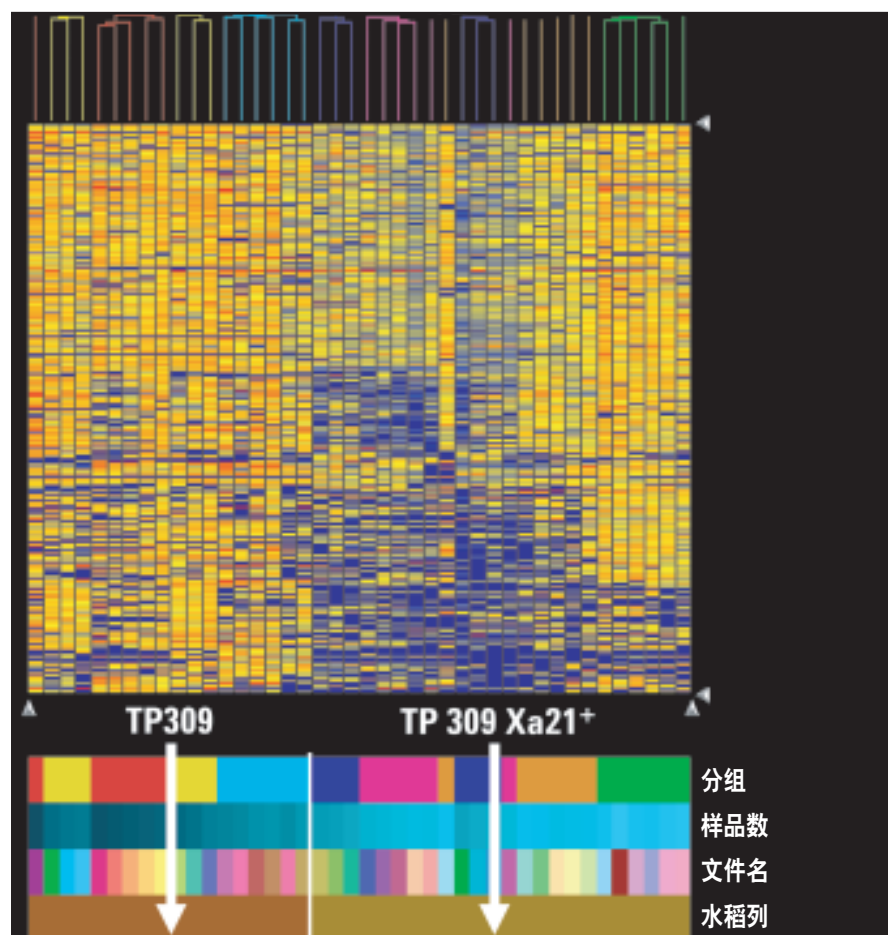
通过表达谱发现具有统计学意义的代谢物

样品表达谱的研究是通过对试验和控制样品的一系列小规模实验，发现具有统计学显著量变的代谢物。如果您有清晰的目的，但对涉及的或目标的系统理解有限，样品表达谱的研究可能是综合性的工作，但如您是用已了解的系统进行工作，样品表达谱的研究可以是有针对性的。通常，最佳方法包括这两方面：即对已知代谢物进行的有针对性的表达谱的研究和对未知代谢物的综合性研究。常用表达谱的工作流程如下：

- **选择方法**——对您的系统知识和目标进行评价，并选择获取谱图的最佳方法
- **样品制备**——根据样品性质决定提取、去蛋白质、初步分馏
- **分析**——分离和检测代谢物，通常用 GC/MS 或 LC/MS
- **特征提取**——发现和定量分析样品中所有代谢物
- **数据归一化**——校正所有保留时间或响应漂移

- **统计分析**——发现样品组间的统计学显著差异

分析重现性对于表达谱工作非常重要。正常样品方差和分析方差相结合决定了样品或样品组间有统计学显著差异所需要的平行样品数量。分析方差越小，需要的平行样品份数越少。



根据样品的质谱丰度谱图的相似性，通过分级聚类把样品分组。这是评估数据质量的好办法。同一试验组的平行样品间较不同组的样品聚类距离更近。在这个例子中，对于水稻数据的分级聚类使得我们立刻区分出野生水稻列 (TP309) 和转基因水稻列 (TP309 Xa21⁺)

对感兴趣的代谢物的鉴定

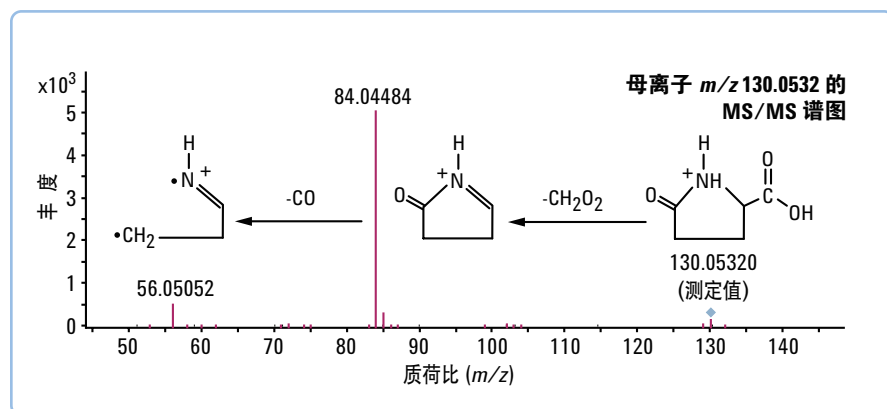
在采集谱图后，必须对有统计意义的代谢物进行鉴定。通常有 4 种方法：

- 谱库检索能够减少重新分析的需要并给出确定的鉴定。这种方法多用于 GC/MS 得到的重现性的 EI 谱
- 数据库检索常用于 LC/MS 数据以发现可能的一致性。一个好的数据库可能使

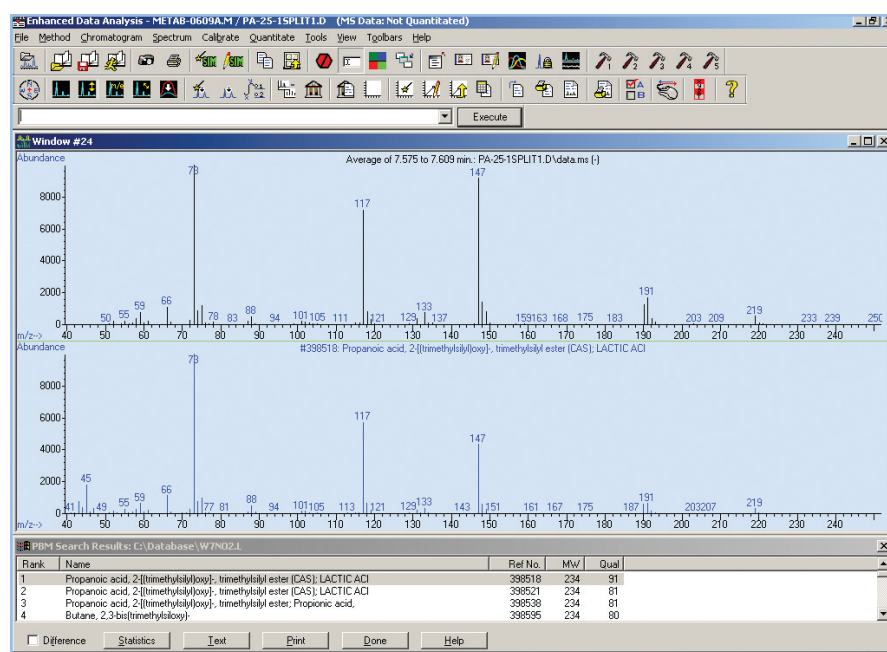
检索工作相对简单，但若得到确切的鉴定结果，必须要求有标样并进行标样分析

- *De novo* 谱图解析是可能的，尤其是对易于理解的系统的研究——但这需要很高的技巧。为获得确切的鉴定，仍需要对标样进行分析

- 纯化及核磁共振分析能够提供更可信的结果，但可能难度大、费时而且费用高



METLIN 数据库检索利用精确的 TOF 质谱数据得出分子量为 130.0494 (分子离子) 的代谢物的 6 种可能结构。随后的 Q-TOF 分析产生的 MS/MS 谱把对象缩小为两种对映异构体中的一种：焦谷氨酸或吡咯烷酮羧酸



GC/MS 光谱的谱库检索经常可以进行快速的、肯定的鉴定。在这个例子中，该化合物能够被确定地鉴定为一种特定的丙酸

通过确认确定显著性

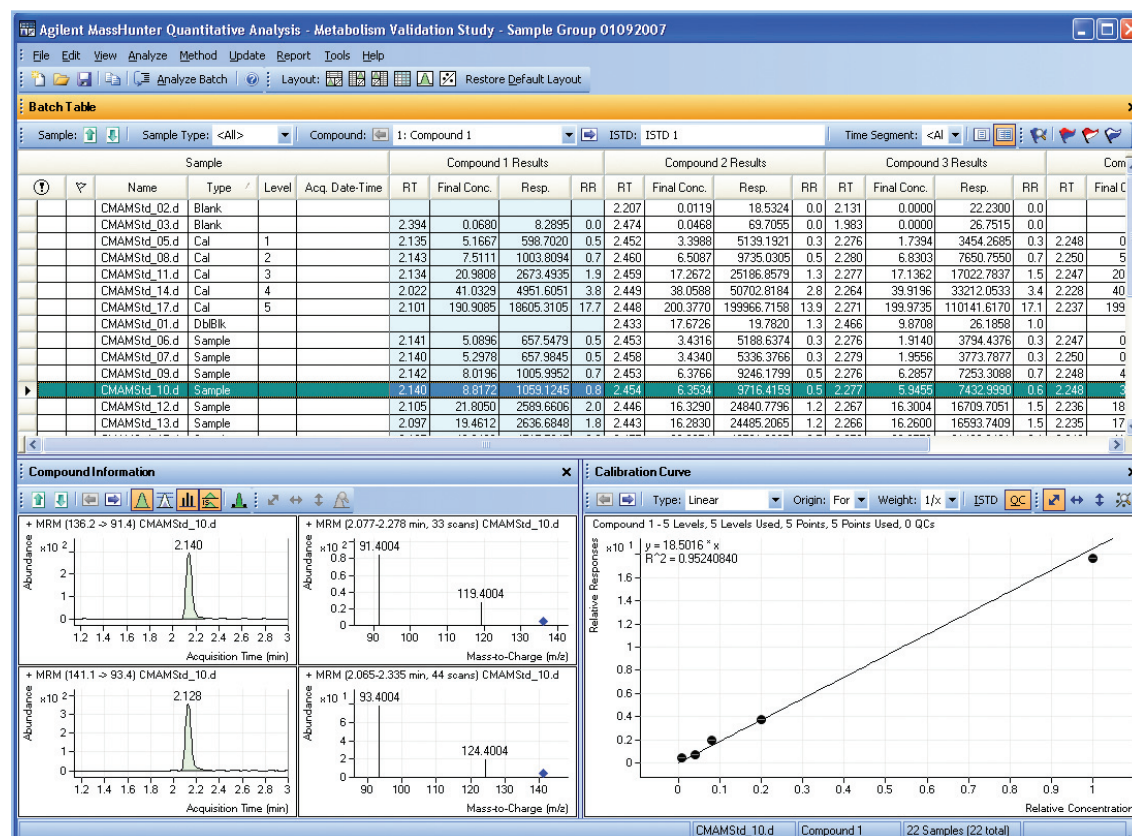
考虑到个体生物间的自然变异，而且存在外来的化学干扰，从上面几步得到的假定结论必须进行确认。通常，包括以下两个步骤：

- 对原有样品进行定向的重新定量分析，以便对谱图采集阶段确定的代谢物的统计显著性进行验证
- 对更大量的样品组进行定量分析，以验证原有谱图并消除自然变异的影响

当确认分析比谱图分析更为常规化时，必须处理几百或几千个样品。应对分析流程进行优化，以降低分析费用。通常，用具有选择离子检测分析 (SIM) 的 GC/MS 系统或具有定向 MS/MS (多反应监测分析 MRM) 的三重四极杆 LC/MS 系统进行这些定量分析。内标物质经常用以确保准确定量。

根据生物学背景进行解释

经过对代谢物的发现、鉴定、证实，您仍然有必要在相关生物学背景下对它们进行评价，可包括路径分析、翻转评价或基因和生物体功能显型的相关性。它可能要求将代谢物组学结合基因组和蛋白质组数据进行分析。



定量确认可包括目标化合物标样存在时的浓度对照（校正曲线）或不存在标样情况下的面积对照

获取所需数据需要的工具

即使是正常生物体，代谢物也显示出极大的自然变异。只有分析大量的样品才能发现真正的差别。具有低误差率和高通量的仪器就具备了优势。安捷伦的 GC/MS 和 LC/MS 系统因其可靠性和易用性，而适用于高通量代谢物组学分析，它们表现了出色的分析性能。

GC/MS 提供了灵敏、经济的谱图和鉴定

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。

安捷伦是世界领先的 GC/MS 系统和知识供应商。销售最好的 Agilent 6890N 以及 7890A 气相色谱仪和创新的 Agilent 5975 系列四极杆质谱仪，在性能和可靠性上是无与伦比的。

- 最高的灵敏度
- 重复的、可进行谱库检索的 EI 谱图
- 全自动化学离子化使其与电子轰击离子化同样简单
- 最高 6 个数量级的动态范围，适于分析丰度变化范围宽的代谢物
- 快速扫描 (10,000 u/s) 速率能与快速色谱同步，提高通量
- 最高的质量轴稳定性减小了仪器误差
- 化学惰性离子源避免代谢物降解

安捷伦技术领先的 J&W 牌气相色谱柱是为最难分析的样品类型提供优质和可重现性能而设计和生产的。这些色谱柱有以下特点：最低的流失，对酸、碱/混合官能团化合物表现出最好的惰性，柱与柱之间的重现性最高。



Agilent GC/MS 系统为代谢物组学分析提供最好的分离效能和最高的灵敏度。可进行谱库检索的 EI 谱图极大地简化了鉴定过程

LC/MS 系统应对许多代谢物组分析的挑战

液相色谱/质谱 (LC/MS) 能用于范围广泛的代谢物分析, 尤其适用于不挥发性和无法衍生化的代谢物分析。LC/MS 选择性强、灵敏度高, 并能同时提供分子离子和结构信息。安捷伦提供一系列可靠、高效的 LC/MS 系统。每种系统都定位于不同的代谢物组学工作流程, 并且每种系统结合了安捷伦一贯的可靠性和易用性而具有特别的性能。

在一个拥有多种仪器的代谢物组学实验室, 需要相容的交互平台性能以使通量最大化, 同时减小分析偏差。共享技术——如 Q-TOF 仪器和三重串联四极杆仪器的碰撞池、TOF 和 Q-TOF 仪器的 TOF 元件——很容易实现实验从一个仪器向另一个仪器的转换, 同时能保证结果更一致。可互换的离子源确保在工作流程的所有步骤中离子化的一致性, 消除了分析偏差的一个重要来源。

用 1200 系列高分离度快速液相色谱进行快速的、可重复的分离

良好的样品分离对于代谢物组学分析是必要的。Agilent 1200 系列高分离度快速液相色谱系统尤其适用于代谢物组学研究。它的最大运行压力更高, 允许使用填料粒径更小、柱长更长的色谱柱以提高色谱分离性能。

更高的压力同时有助于流动相中以甲醇替代乙腈。乙腈对大气压化学电离 (APCI) 有干扰, 而甲醇则好一些。无论是单个离子源或组合离子源, APCI 均有助于提高代谢物分析的覆盖面。1200 系列提供:

- 从分析级到制备级的完整系统
- 样品瓶和多孔板自动进样器
- 控温柱温箱和自动进样器
- 馏分收集器

ZORBAX 快速分离高通量 (RRHT) 柱最大程度提高样品分离度

安捷伦的 ZORBAX 快速分离高通量 (RRHT) 柱是专为 1200 系列快速分离 LC 设计的, 以更高分离度达到超高速 HPLC 分离。ZORBAX RRHT 柱使用 1.8 μm 填料以获得最佳分离度。短柱 (15–50 mm) 可用于快速分析, 而长柱 (100 或 150 mm) 可达到最大的分离度。

1200 系列高分离度快速液相色谱的快速和高分离度不仅提高了通量, 还增加了代谢物发现的数量



6210 飞行时间质谱提供快速、准确的结果

Agilent 6210 TOF LC/MS 易于使用并且非常稳定，是代谢物组谱图采集的理想系统。参比标样的连续进样能获得最佳质量准确度并确保重复性，减少统计可靠度所需的样品数。6210 的特点：

- 2 ppm 质量精度，可以更准确地比较不同样品中发现的代谢物
- 台式 TOF 仪器中最高的灵敏度
- 高于 13000 的分辨率，可分辨质量相似的代谢物

- 快速光谱采集，能进行更准确的峰面积测定和更准确定量

- 极好的稳定性和重复性

您可以用多种离子源配置 6210 TOF，包括非常通用的组合离子源。

6510 Q-TOF LC/MS 提供更有把握的代谢物鉴定

Agilent 6510 四极杆飞行时间 LC/MS 是非常通用的仪器，最适合于代谢物的谱图采集和鉴定。它将丰富的 MS/MS 结构信息与非常准确的质量测量相结合，以获得更有把握的代谢物鉴定。6510 的特点：

- 快速谱图采集——每秒钟采集 1 MS 和 5 MS/MS——提供更多数据用于鉴定

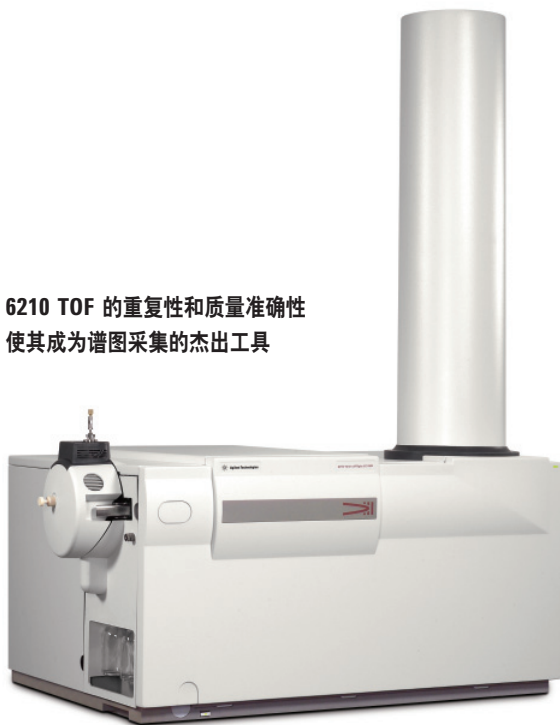
- 先进的碰撞池技术消除“记忆效应”

- 常规的 2 ppm MS 和 5 ppm MS/MS 质量精度，使代谢物鉴定更有把握

- 高于 13000 的分辨率，可分辨质量相似的代谢物

- 自动调谐和质量校正，以最小的工作量获得最高的性能

6210 TOF 的重复性和质量准确性
使其成为谱图采集的杰出工具



6510 Q-TOF 将测定精确质量和
MS/MS 谱相结合，可得到更有
可靠的代谢物鉴定结果



6410 三重串联四极杆液质用于高通量定量分析

确认研究所涉及的成千上万的样品需要进行准确且高通量的定量分析。三重四极杆多反应监测分析 (MRM) 适用于目标物的定量分析。Agilent 6410 三重四极杆能达到毫微微克级检测限，和 7 天 24 小时全天候连续的可靠性。定量软件极其易用，具有以化合物或样品为中心的浏览器和无需参数设定的积分等特点。

- 毫微微克级灵敏度
- 快速的 MRM 转换增加了单次运行中可以分析的待测物数量
- 先进的碰撞池技术消除化学干扰，可提高灵敏度和线性
- 简便的方法设置和无需参数设定积分可节省时间
- 自动调谐确保以最小的工作量获得最高性能

可互换的 LC/MS 离子源，具有最大的灵活性并确保一致性

代谢物极大的化学多样性意味着单个离子化模式对所有分析是不够的。安捷伦提供行业中最多的可互换离子源的选择。必要时您能够为仪器选择匹配的离子化模式。离子化模式的选择包括：

- 电喷雾 (ESI) 离子化，有标准、微升、纳升流速
- 大气压化学电离 (APCI)
- 组合模式 ESI/APCI
- 大气压光离子化 (APPI)

Agilent LC/MS 离子源使用正交喷雾和高温、反吹干燥气以得到最佳性能和重复性，并降低化学干扰。

特别需要注意的是组合离子源，它能够同时由电喷雾和 APCI 产生离子，与单一离子源相比，没有明显的灵敏度损失，可以成倍增加用于谱图采集和确认研究的样品通量。



可互换的 LC/MS 离子源允许您为预期的代谢物类型选择匹配的离子化模式，并确保在整个代谢物组学工作流程中获得相容的离子化结果

6410 三重串联四极杆为大样品量的确认提供了可靠的 MRM 定量分析



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 6210 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。

Agilent CE 系统有着卓越的分离效率, 并易于与质谱仪相连接。CE/MS 能够有效地替代 GC/MS 和 LC/MS, 尤其是对亲水性代谢物的分析



把数据转化为信息的软件

代谢物组学研究的目的是为了更好地了解生物系统工作的复杂程度。即使是高质量的数据，也需要有合适的软件工作将其转化为生物学相关的信息。安捷伦代谢物组学应用软件正是这样的软件。

通过方法专属的解卷积发现所有代谢物

有一个代谢物未检出就意味着失去了一个机会，有必要尽可能找出样品中所有存在的代谢物。这已不止是简单的寻找色谱峰，因为即使达到最佳分离，一个峰中仍可能包含多种成分。用于找出同时洗脱的代谢物的方法是解卷积。解卷积发现那些单独的丰度总是增大或减小的离子，表明它们是从同一化合物中产生的。通过解卷积把这些离子组合起来，为每个代谢物生成重建的单一组分的谱图。

根据其离子化过程和质量分析器的化学和物理特性的差别，GC/MS 和 LC/MS 谱

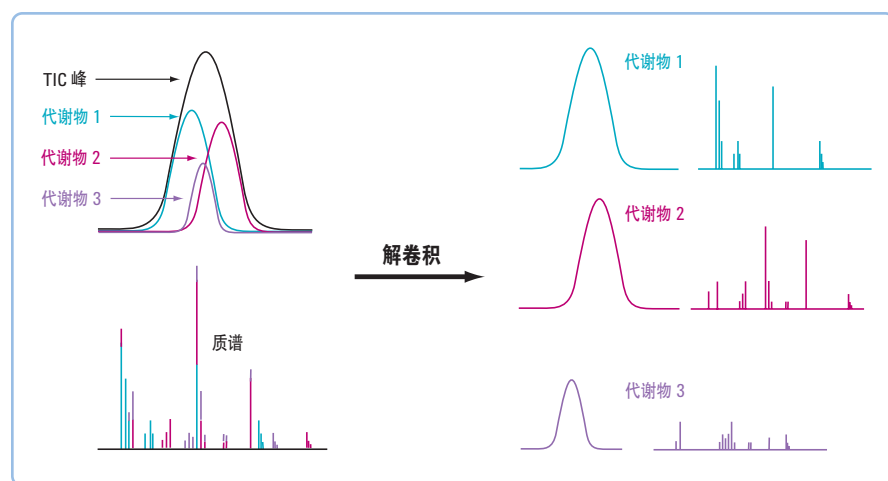
图有其独特的特征。由于这个原因，某一个解卷积程序并不适合于所有的应用。安捷伦提供不同的解卷积程序，专门设计适用于特定应用的 GC/MS 和 LC/MS 数据的处理。

AMDIS，有效的 GC/MS 解卷积

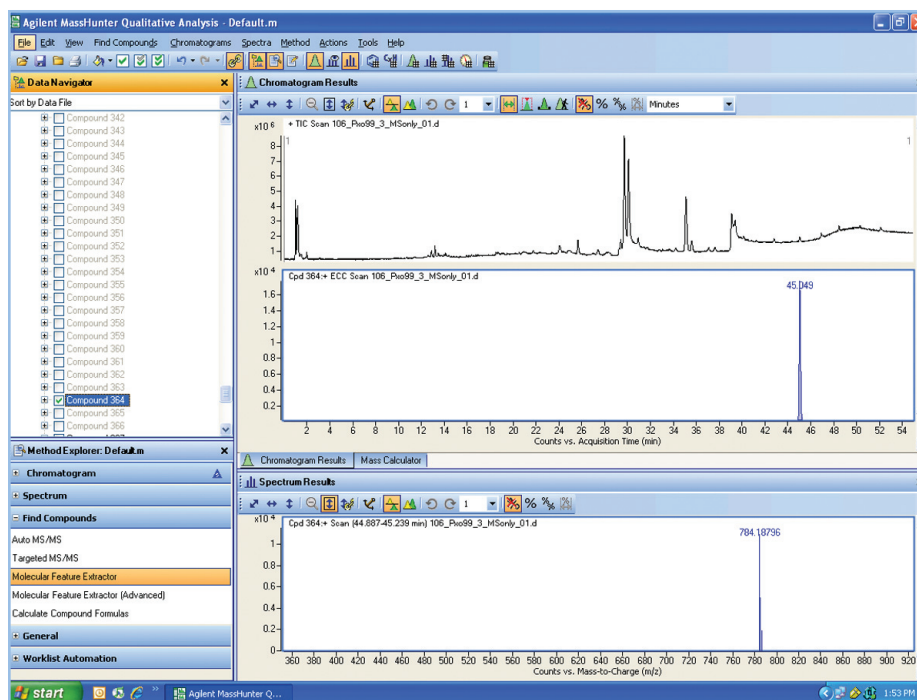
为进行 GC/MS 谱图的解卷积，安捷伦提供自动质谱解卷积和鉴定软件 (AMDIS) 作为 NIST 谱库检索工具包的一部分。AMDIS 从复杂的 GC/MS 数据中提取单一组分的谱图，并帮助您确定离子/峰的关联。AMDIS 生成可进行谱库检索的谱图并自动给出特征列表。

MassHunter 工作站用于更好的 LC/MS 解卷积

安捷伦用于 LC/MS 的 MassHunter 工作站软件包含一种专利的特征提取和相关性算法。经为 LC/MS 飞行时间数据进行的优化，它能识别单一化合物的协变离子。对这些离子的识别和组合可以提高随后的经验式确立或代谢物数据库检索的准确度。

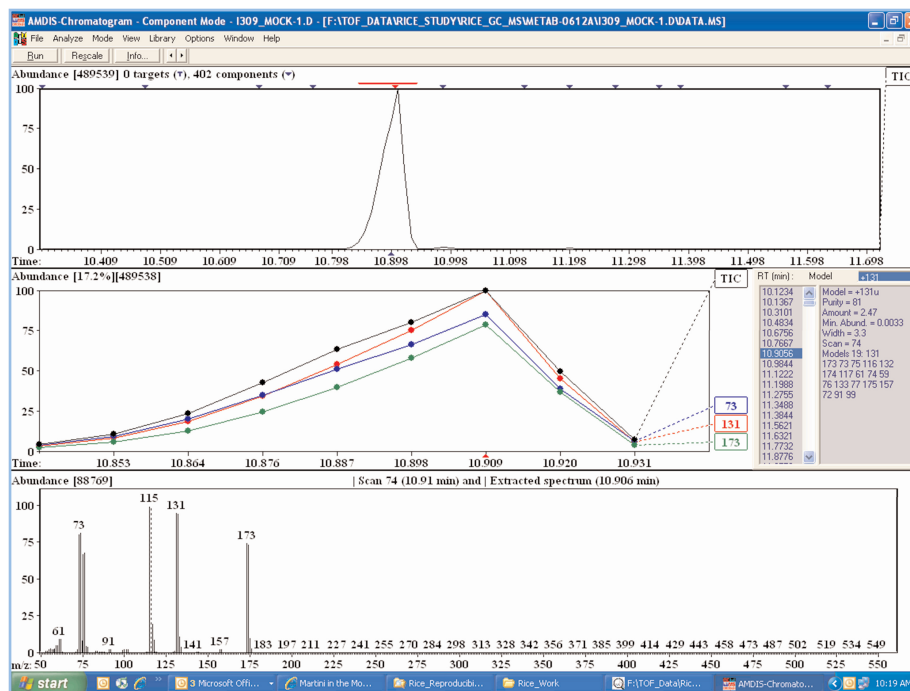


解卷积能够发现未达到色谱分离或分离差的代谢物。它为每一个代谢物生成一张提取离子色谱图和一张重建的单一组分的质谱图



MassHunter 软件中的分子特征提取和相关性算法找出色谱图中的所有成分，而非仅限于所有色谱峰。这个例子中，它从总离子色谱图（上部）中看起来很像噪音和基线上升的一段中发现了一个真正的组分

AMDIS 解卷积软件对总离子色谱图（上部）一个峰进行评价，发现是一组分的协变离子（中部）。下部显示这个峰的重建质谱



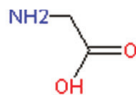
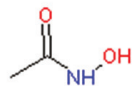
使用 METLIN 代谢物数据库简化鉴定过程

鉴定代谢物有多种方法。GC/MS 得到的 EI 谱图适合进行谱库检索。对于 LC/MS，检索有代谢物信息的数据库有助于缩小可能的候选物的范围。准确的质量数据缩小了需检索的质量窗，使这种数据库检索更有效，因此减少了可能的结构式的数目。

METLIN 代谢物数据库——Scripps 研究所质谱中心的努力成果——可能是当今世界上最有名和最全面的代谢物数据库。它包含 15000 多种内源性和外源性代谢物、二肽、三肽的注解列表，包括：

- 质量
 - 化学分子式
 - 结构式
- METLIN 数据库对公众开放。检索者可通过 Internet 一次检索一个化合物。然而，现在可能获取 METLIN 数据库的本地个人版。本地版的优点包括：
- 个人专用检索
 - 可添加专利化合物到数据库中
 - 从质量列表自动检索

安捷伦科技是 METLIN 个人代谢物数据库的独家代理商。安捷伦 MassHunter 工作站软件和 GeneSpring MS 软件带有指向 METLIN 个人数据库的链接，可增加通量并易于使用。

METLIN Metabolite Database						
Home About Metabolites MS/MS						
Metabolites						
(Metabolites 1-2 of 2)				Change Query		
MID	Mass	Name	Formula	CAS	KEGG	Structure
20	75.0320	Glycine	C ₂ H ₅ NO ₂	56-40-6	C00037	
3920	75.0320	acetohydroxamic acid	C ₂ H ₅ NO ₂	546-88-3		

METLIN 数据库包含 15000 多种内源性和外源性代谢物、二肽、三肽的质量、分子式和结构信息，是代谢物鉴定的有力助手

GeneSpring MS——质谱数据归一化和可比较的统一平台

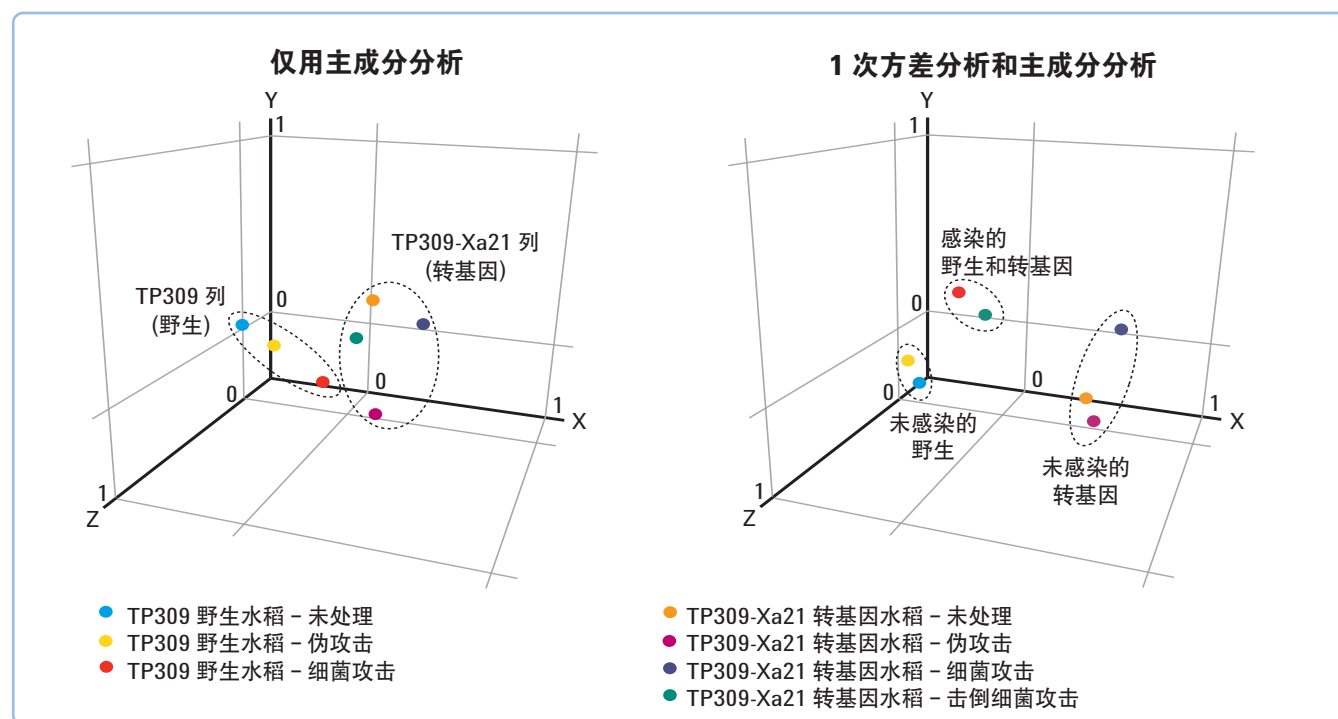
安捷伦的 GeneSpring MS 信息学软件是从质谱数据的分析中发现代谢物生物标志的有效工具。您可以从大量样品组和复杂的实验设计方便地进行质谱数据的导入、归一化和比较，包括 Agilent TOF、Q-TOF- 三重串联四极杆仪器的 GC/MS 数据、LC/MS 或 CE/MS 数据。

GeneSpring MS 软件包含用于统计分析、数据挖掘和可视化的综合工具，包括：

- 方差分析 (ANOVA)
- 主成分分析 (PCA)
- t-检验 (t-tests)
- 火山图
- 树状分级图 (系统树图)
- 自组织图 (SOM)

- 质量阈值 (QT) 聚类
- 支持矢量设计 (SVM)

GeneSpring MS 信息学软件经专门设计，与其它统计软件包能很好地结合。如果您有特别喜欢的专用分析数据软件包，GeneSpring MS 能与其一起使用。



由于代谢物分析的复杂性和多样性，有必要有多种统计分析和可视化方法供选择。在这种多重条件的复杂实验中，仅用主成分分析 (PCA) 只能显示基因型差异。而另一方面，在方差分析 (ANOVA) 后应用 PCA，可清楚地区分感染状态和未感染样品的基因型

安捷伦的服务使您专注于您擅长的 工作

安捷伦的服务机构是行业中最受推崇的。我们能够提供的服务以保证您的代谢组学研究仪器处于最佳状态，能够可靠运行并有最大通量。我们提供广泛的服务，包括：

- 固定年费的软件升级
- 现场预防性的维护 (PM) 确保可靠运行并减少计划外故障停机时间
- 电话技术支持查出并解决软、硬件问题
- 通过安全的 Internet 连接进行远程升级、诊断和修理
- 现场仪器维修

安捷伦服务可在需要时获取，或签订固定价格的经济的合同用于预防而免于支付意外维修费用。

安捷伦服务保证

我们对于我们的服务质量和仪器可靠性很有信心，并提供如下安捷伦服务保证：

一旦您的安捷伦仪器需要安捷伦服务协议包含的服务，我们保证免费维修或更换您的仪器。

没有其他生产商或服务供应商能够提供这种程度的承诺来保证您的实验室以最高效率运行。

关于安捷伦科技

安捷伦科技是世界领先的生命科学研究系统供应商，能够帮助科学家了解复杂的生物学过程，确定疾病机理，加速药物开发。安捷伦生命科学解决方案针对灵敏度、重现性、工作流程效率的设计，包括了仪器操作、微流控、软件、微阵列、耗材，和对于基因组学、蛋白组学和代谢物组学的服务。

在线购买：

www.agilent.com/chem/store

联系您所在国家的安捷伦用户中心：

www.agilent.com/chem/contactus

亚太区

adinquiry_aplsca@agilent.com

安捷伦科技有限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

仅用于研究。本出版物的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。安捷伦科技对本文中可能有的错误、或者与使用本材料所有事故及连带损失不负任何责任。

© 安捷伦科技公司，2007
2007 年 4 月中国印刷
5989-5472CHCN

