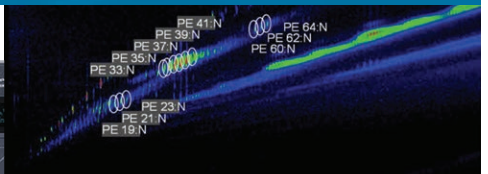


安捷伦脂质组学解决方案

深入了解脂类代谢

The Measure of Confidence

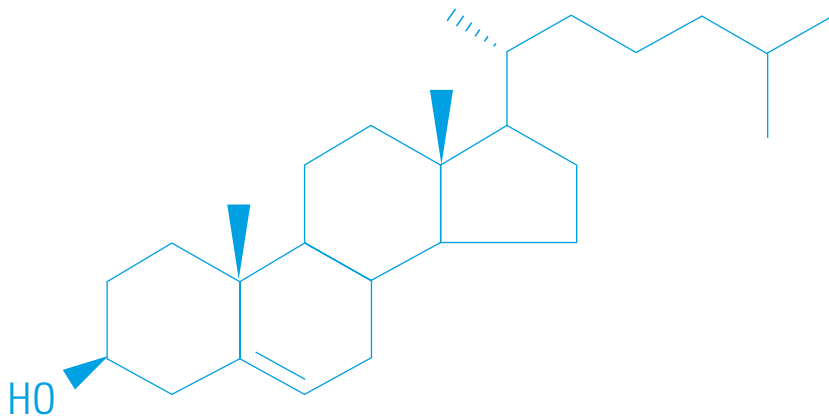


Agilent Technologies

了解脂质组学

脂质组学是什么？

“脂质组”这个术语指生物体中的所有脂类及其对多种细胞过程产生的作用。为了解脂质组，必须要在整体和个体水平上对脂类进行表征和定量分析。质谱仪作为强大的分析检测工具，可为脂质组学研究提供有效的脂质谱分析支持。



脂质组学工作流程

鸟枪法脂质组学工作流程是基于流动注射的成熟技术，旨在采用类别内标对少量脂质快速产生脂质类别定量数据。此方法能够提供脂质类别、组成和 R-基团的信息，但无法提供脂类的明确鉴定结果。鸟枪法脂质组学分析可在三重四极杆 (QQQ) 或四极杆飞行时间 (Q-TOF) 质谱仪中进行。用户可通过在 QQQ 质谱仪上使用母离子扫描或中性丢失扫描来定位具体脂质类别。与处于扫描模式的 QQQ 质谱仪相比，Q-TOF 质

谱仪表现出更高的灵敏度和质量精度，但缺乏 QQQ 中性丢失扫描所表现出的特异性。

鸟枪法脂质组学最大的局限性在于由脂类的化学多样性及其离子化效率的显著差异造成的离子抑制。在不对脂类进行分离的情况下，单凭 MS 和 MS/MS 信息无法分辨双键位置和 R-基团位置等与生物学相关的结构差异。脂类多样的化学性质为试图实现单个脂类分离与鉴定的分离方法学开发提出了一项艰巨的挑战。

脂质谱分析是一项基于分离的技术，如今已经成为了更全面的方法，在单次分析中即可获得数百种脂类的相对定量和鉴定结果。这项技术的发展得益于色谱技术的进步、离子淌度质谱 (IMS) 的发展和软件分析工具的改进。

用于多种应用的脂质组学工具

作为前沿供应商，安捷伦为全球跨多个应用领域的脂质组学研究提供色谱仪、质谱仪、备件、信息学工具和技术支持。

基础与临床研究

研究复杂生物体液中的脂类以识别脂类生物标记物，并以传统分析方法无法达到的深度支持对细胞代谢的理解。脂质组学可用于记录脂质谱、揭示代谢障碍中发生的脂类变化，并在了解动脉粥样硬化、中风、高血压和肥胖的机制中发挥举足轻重的作用。

农业

通过认识对土壤和植物生物学的影响，了解脂类在农业领域发挥的作用。

食品与营养

鉴定和评价脂类如何独自或与蛋白质共同作用，调节信号传递和基因表达等细胞和亚细胞功能。全面的脂质组学研究正在逐步揭示食物与健康之间联系的新奥秘。

制药行业

脂类鉴定能促进药物研发，并为衰竭性疾病提供更有效治疗的基础。

生物燃料

分析脂肪酸和产油微藻中的脂类，并将其作为测定生物柴油引擎兼容性和性能标准的重要标记物。脂质组学在设计用以生产生物柴油组分之一的脂肪酸乙酯 (FAEE) 的新菌种方面发挥重要作用。

“我们与安捷伦合作，采用捕获、分离、纳流色谱和高分辨串联质谱仪相结合，开发出了用于低丰度脂类检测的增强型工作流程。这一方法为我们的理解增加了关键的细节。通过与安捷伦的合作，我们也将研究范围拓展至脂质组学的相关领域，包括代谢组学、糖组学和蛋白质组学。”

MARKUS WENK 博士
新加坡国立大学



脂质组学的分离挑战

多种方法，多种解决方案

脂类的结构多样性决定了需要采用多种分离方法，单一解决方案无法适用于所有脂质类别的分析。通常采用气相色谱/质谱 (GC/MS) 进行脂肪酰的表征，此方法可给出详细的 R-基团信息，但由于采用了样品前处理（皂化反应）而无法给出脂质水平的信息。萜烯和固醇类可优先使用 GC/MS 分析，因为它们可实现出色的色谱分离与离子化。

液相色谱 (LC) 和超临界流体色谱 (SFC) 均是广泛适用的技术，可保留脂类水平的信息，无需衍生化处理，并能与大气压质谱轻松连接。不同的色谱方法会影响所分离和检测的脂质类别，因此需根据具体应用进行选择。

脂质类别	GC/MS	LC/MS	SFC/MS
脂肪酸（酰）
甘油酯（甘油三酯）
甘油磷脂	
鞘脂	
固醇类
异戊烯醇脂类	
糖脂类	
萜烯类（植物）
聚酮类

表 1. 应用于各种脂质类别的不同色谱分离技术的适用性概览。... 表明给定类别的理想分离技术

安捷伦可利用跨 GC/MS、LC/MS 和 SFC/MS 应用的统一数据分析平台支持一系列脂质组学解决方案（图 1）。

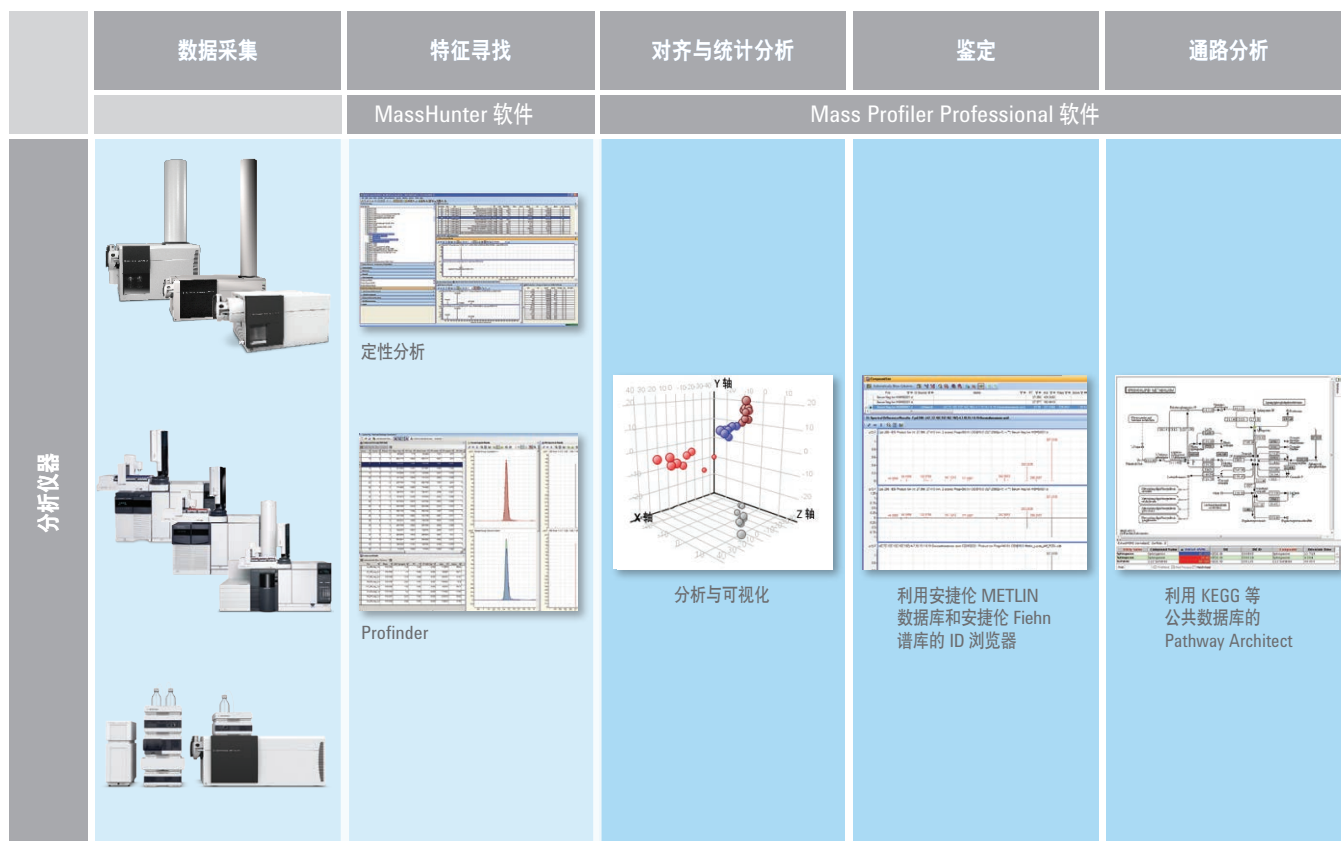


图 1. 安捷伦脂质组学工作流程解决方案

功能强大、灵活可靠的脂质组学技术

脂类的色谱分析

正相和反相 LC 技术在脂类分离方面各有优势。正相 LC 可快速评估脂质类别 (图 2), 而反相 LC 则具有出色的保留时间重现性, 并能实现同类脂质的分离 (图 3)。在全面的脂类分析中, 正相 LC 可用于进行不同类别脂质的分离, 之后再使用反相 LC 对同一类别的脂质进行进一步分离。

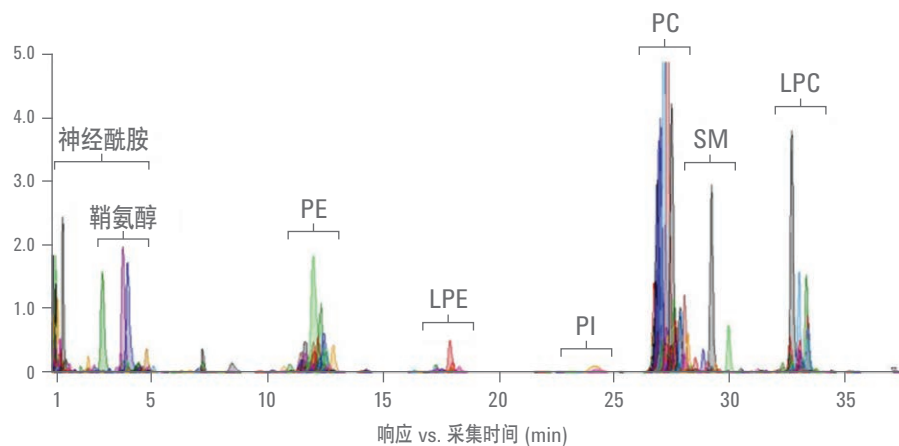


图 2. 肝脏提取物的正相 LC/MS 分离展示了按脂质类别进行的分离。PE = 磷脂酰乙醇胺; LPE = 溶血磷脂酰乙醇胺; PI = 磷脂酰肌醇; PC = 磷脂酰胆碱; LPC = 溶血磷脂酰胆碱

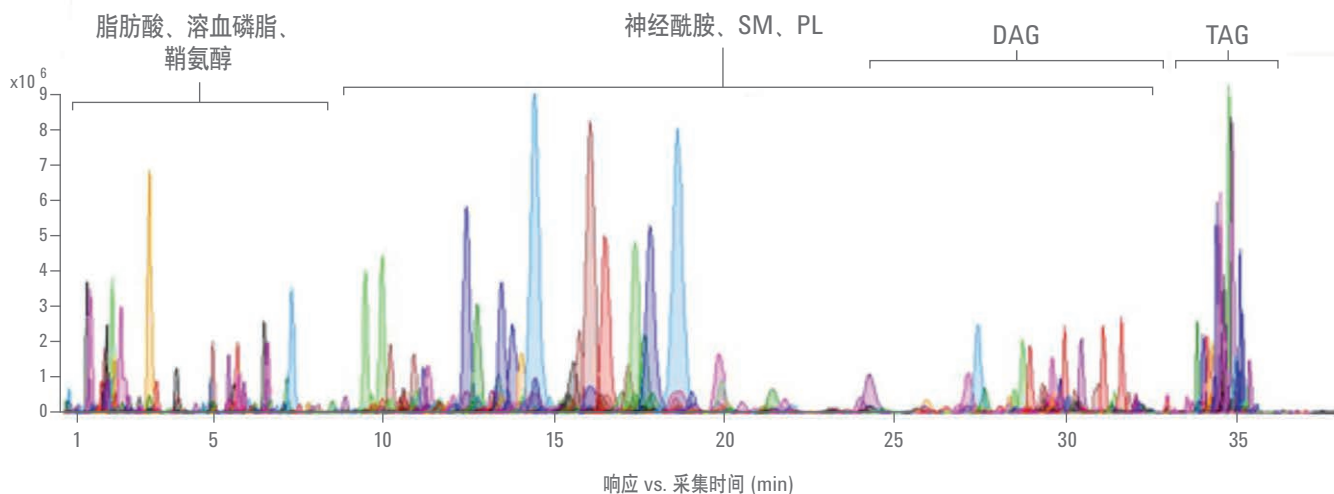


图 3. 肝脏提取物的反相 LC/MS 分离展示了同一类别脂质的进一步分离。PL = 磷脂; SM = 鞘磷脂; DAG = 甘油二酯; TAG = 甘油三酯

超临界流体色谱 (SFC)

SFC 使用超临界二氧化碳作为 SFC 流动相中的主要成分。作为正相色谱的一种形式，SFC 可与反相 LC 形成正交分离，在单次分析中即可实现极性与非极性脂类的高分离度分离。SFC 在分析复杂脂类混合物时非常有效（图 4）。Agilent 1260 SFC 系统设计巧妙，只需通过简单的阀切换即可在 LC 和 SFC 模式间轻松转变。

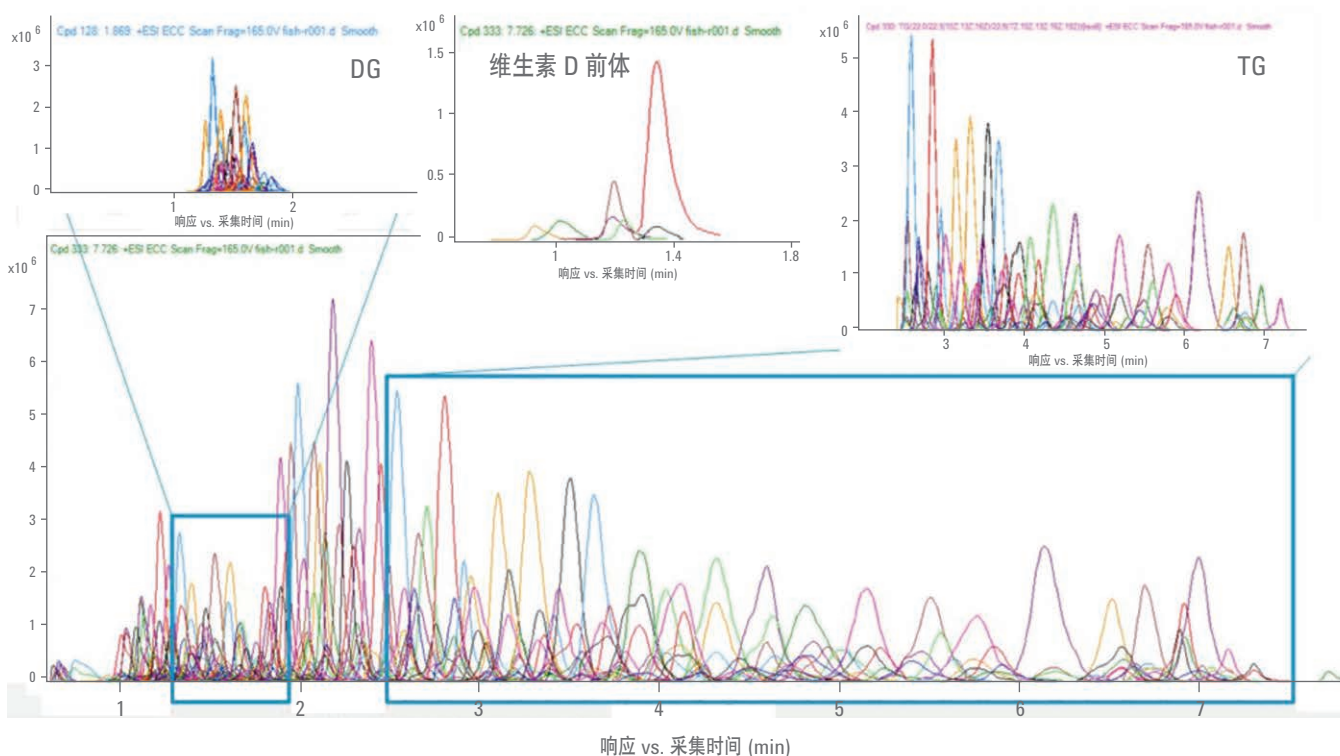


图 4. 市售膳食补充剂中鱼油的 SFC/MS 分析结果。提取离子色谱图展示了 SFC 对复杂脂类混合物的卓越分离性能

集成质谱 (MS) 作为附加检测器时，Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC/UHPLC 混合系统表现出更高的通用性。对于脂质组学分析来说，在 SFC-MS 和 HPLC-MS 间快速切换是一项非常强大有用的功能。

Agilent 1260 SFC 系统

- 一体化 — 如今可在所有安捷伦 LC/MS 平台上实现对先进 SFC 的单软件控制
- 环保 — 对 LC 方法无法轻松分离的化合物实现高分离度的快速分离，并大大减少有机溶剂的使用
- 功能强大 — 单次运行即可分离极性和非极性脂类
- 功能全面 — 具备极大灵活性以及高可靠性



离子淌度的优势

离子淌度技术为脂类等复杂样品提供了额外维度的正交分离。在色谱分离之后，气态的脂类被进一步分离，进而实现基于脂质离子碰撞截面的分离（图 5）。此外，离子淌度还可提供复杂样品的脂质类别分离。Agilent 6560 IMS Q-TOF 系统（图 6）可提供分辨率更高的淌度分离和准确的质量测定。

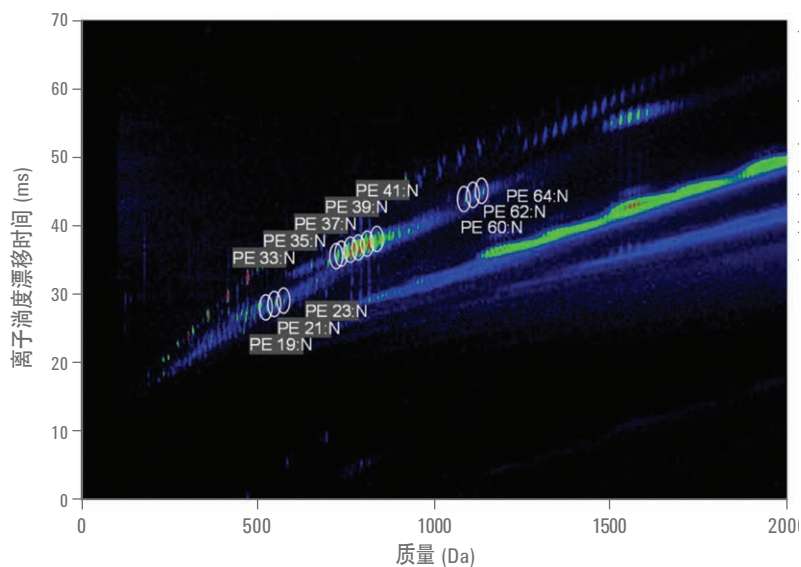


图 5. 磷脂酰乙醇胺 (PE) 混合物流动注射的 IMS 分离结果。漂移时间随碳原子数量的增加而增大。

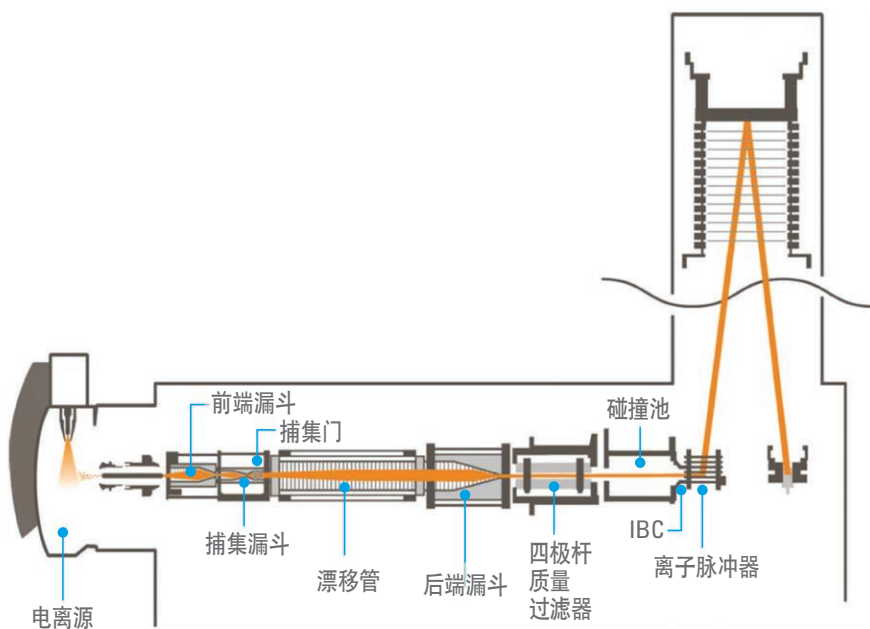


图 6. 动态漏斗装置各个部件，包括用于样品富集的前端漏斗、捕集离子漏斗、漂移管和聚焦后端漏斗，都经过精心设计，改善了从离子源到 Q-TOF 高分辨质量分析器的离子传输。这样，在利用 LC/IM/MS 分析进行复杂样品的分离和表征的同时还可保持较高灵敏度，为目标分子的结构多样性提供了一种研究途径。

脂类鉴定

LIPID Metabolites Pathways Strategy (LIPID MAPS) 是一个实验室联盟，其创建旨在开发一款全球公认的脂质分类系统，其中包括识别数量众多的脂质所需的脂质命名法和结构表达式。LIPID MAPS 分类系统包括 8 种脂质类别（图 7），分别依据因不同脂肪链、立体异构体、手性和头部基团产生的多种结构和功能多样性对每种类别进行表征。

完整的脂质标注和识别信息包括类别、元素组成、R-基团尺寸和位置、双键数量和位置，以及双键取向（顺/反）。

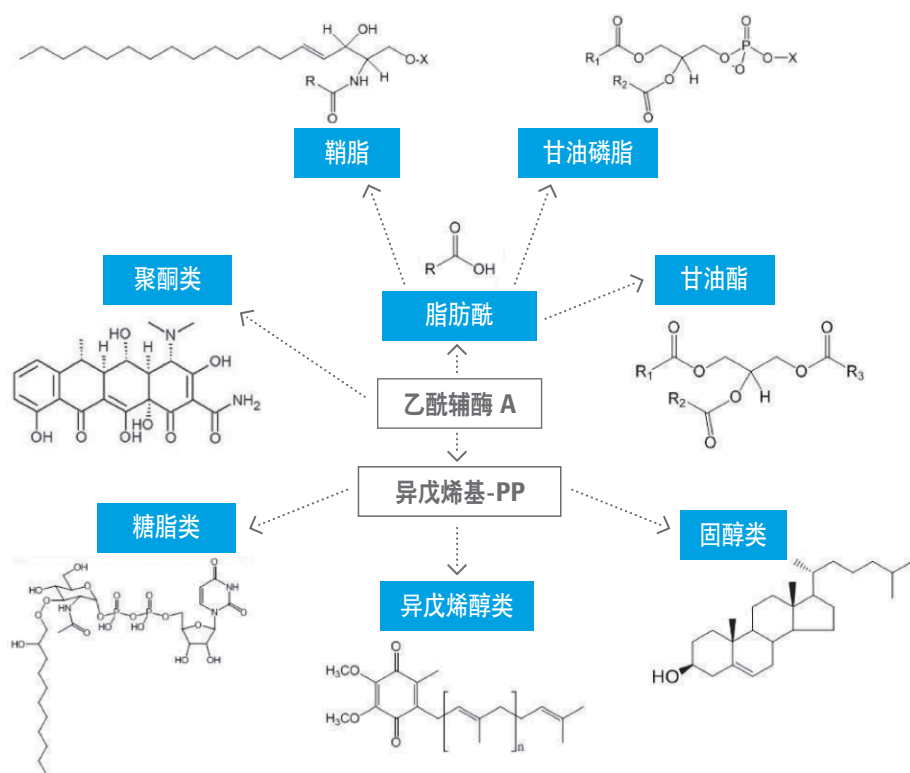


图 7. 由 LIPID MAPS 联盟定义的 8 种不同类别的脂质

安捷伦为脂类的标注与识别提供不同解决方案：数据库匹配、MS/MS 谱库匹配或 MS/MS 理论谱图匹配。用户可通过 Agilent-METLIN 数据库或来自 PREMIER BioSoft 的第三方软件包 SimLipid 执行数据库匹配。而 MS/MS 谱库匹配仅能采用以化学标准品建立的 Agilent-METLIN MS/MS 谱库进行。SimLipid 还可支持脂类谱图的 MS/MS 理论匹配。

Agilent-METLIN 数据库和 MS/MS 谱库可用于脂类标注与识别。库中包含约 36600 项来自 LIPID MAPS 的脂类条目，其中约 640 项拥有 MS/MS 标准品谱图。SimLipid 数据库含有 8 种脂质类别和 36224 项脂类条目。

采用灵活性设计的软件

在脂质谱分析中需对多个样品进行分析，旨在发现并对比不同样品组之间的脂类差异。安捷伦提供的 MassHunter Profinder 软件可用于不同样品间的脂类特征提取与对齐。单独的 MS 数据能导出到 SimLipid 进行鉴定，或导出到 Mass Profiler Professional (MPP) 进行统计分析。如果不用 SimLipid 鉴定，可在 MPP 中使用内置的 ID 浏览器和 Agilent-METLIN 数据库进行精确质量匹配的脂类鉴定。用户可通过利用多种安捷伦软件解决方案的结合，根据数据分析方法的不同采用各种工作流程（图 8）。

已经获得 MS/MS 数据后，可采用 MassHunter 定性分析软件进行分析，并通过 SimLipid 或 Agilent METLIN 代谢物个人化合物数据库和谱库 (PCDL) 进行鉴定（图 9）。

SimLipid 可通过 PREMIER Biosoft International 公司的网站

(www.premierbiosoft.com/lipid/index.html) 购买。

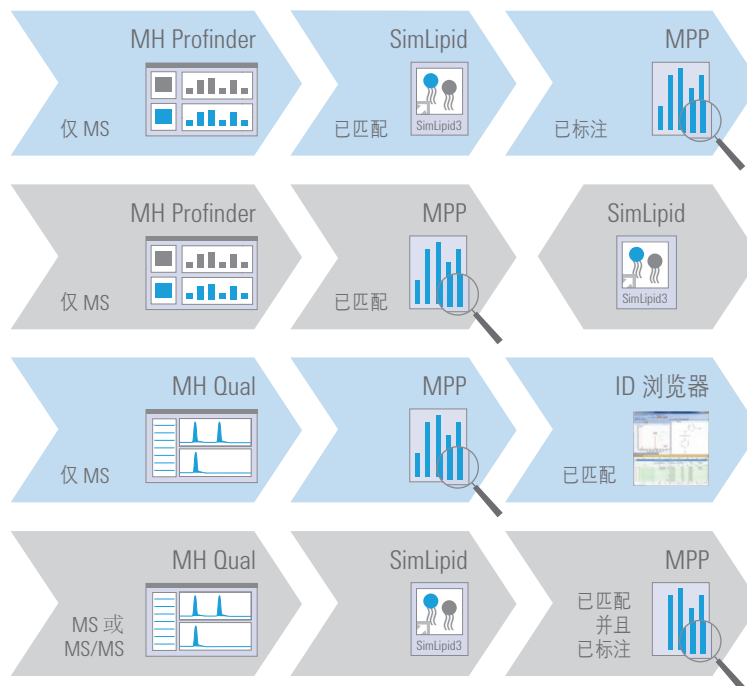


图 8. 整合入 MassHunter 软件的脂质组学工作流程

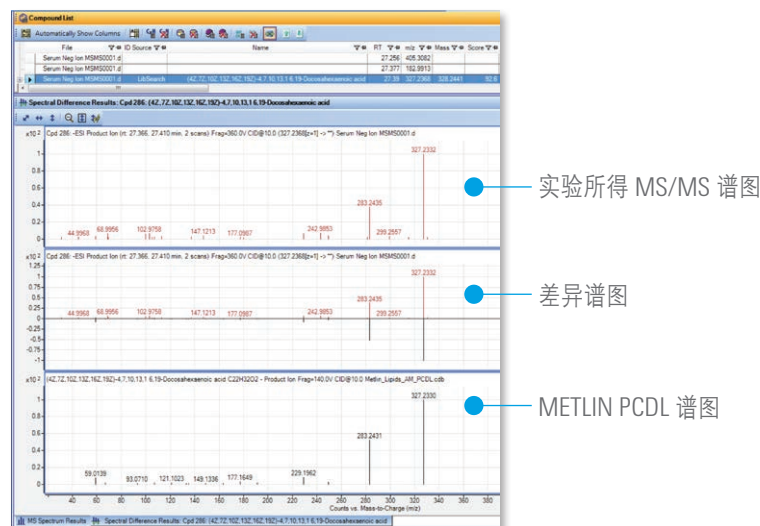


图 9. MassHunter 定性分析软件中血清样品基于 METLIN 代谢物 PCDL MS/MS 谱库的搜索结果。上图是其中一种化合物在安捷伦 Q-TOF 中采集到的 MS/MS 谱图，下图是来自 METLIN 谱库中的谱图。中间显示的是差异谱图。化合物列表中的得分 (92.6) 表明了匹配度较高

Pathway Architect 揭示重要生物学背景

由于对合适的色谱系统以及对所发现化合物的标注与识别的不同选择，采用 LC/MS 的脂类分析面临着特殊挑战。非靶向脂质谱分析方法能够提供大量候选脂类，但无法提供它们的生物学背景。

MPP 的 Pathway Architect 模块可在生物通路中进行数据搜索、过滤、绘制和查看。它可以支持两种通路分析类型，一种是基于出版文献的自然语言处理形成的文献网络分析，而另一种则专为分析 KEGG、BioCyc 和 Wikipathways 等公共生物通路而设计。用户可以将实验数据投射到这些通路中，从而实现数据的交互过滤、调节或选择。用户还可以选择任意通路并导出脂类、蛋白质、代谢物、转录本和基因列表，然后将其应用于其他程序以创建新的通路导向实验。

在本例中（图 10），脂类分析工作流程的初始阶段是通过 MS 和 MS/MS 对样品进行非靶向脂质谱分析，以便发现尽可能多的脂类化合物。SimLipid 识别软件可用于进行结果标注，此结果可显示在 Pathway Architect 的 KEGG 通路中。

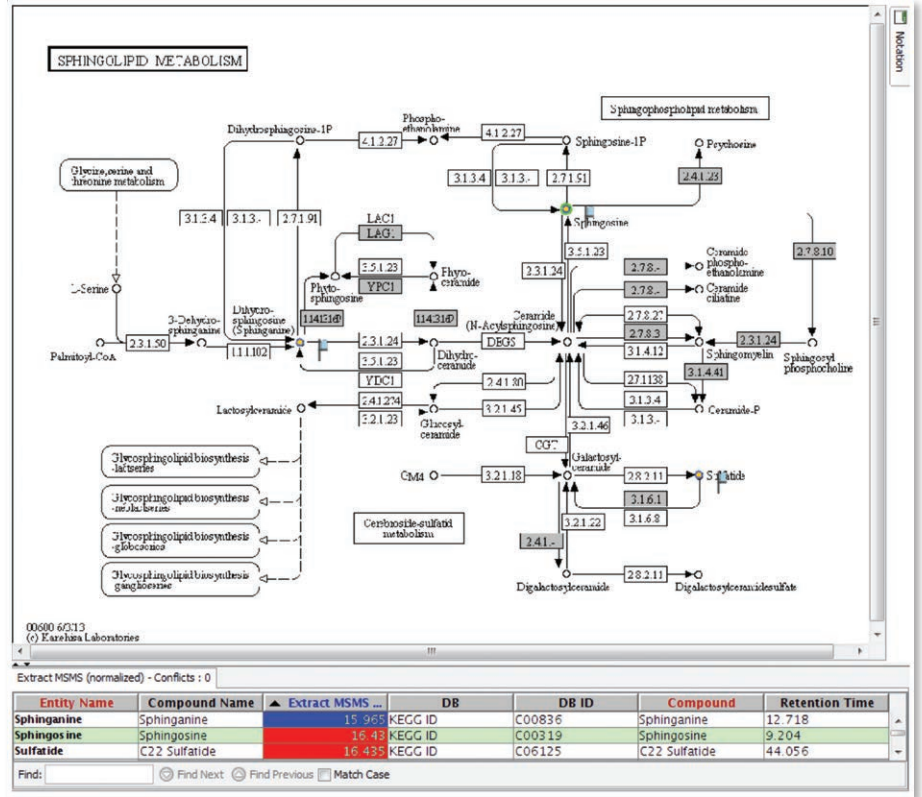


图 10. 利用 KEGG 通路数据库在 Pathway Architect 中进行的人血清样品通路分析结果。采用 SimLipid 软件鉴定出了三种脂类化合物，并确定其存在于鞘脂代谢通路中。化合物在通路中以黄色圆点突出显示；当前选择的化合物（鞘氨醇）则以绿色表示。

自动化的脂质组学分析

自动化的样品前处理方法可改善分析结果

自动化的脂质组学样品前处理方案提高了分析的重现性，同时减少了为分析准备样品所花费的时间。此外，自动化能够释放宝贵的人力资源，将他们分配到更复杂的工作中去，还能大大降低员工离职造成的影响，这一点对于长期研究非常重要。例如，新加坡国立大学脂质组学孵化中心 (SLING) Markus Wenk 博士的实验室利用安捷伦 Bravo 自动化液体处理平台开发了一种从人血浆中萃取磷脂和鞘脂的半自动化方法。

手动方案与半自动方案的步骤对比

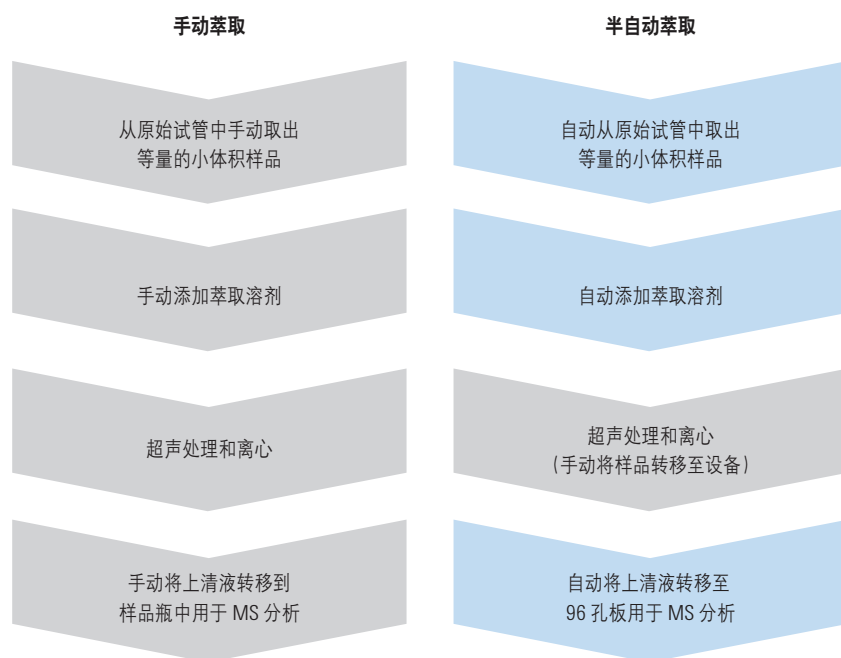
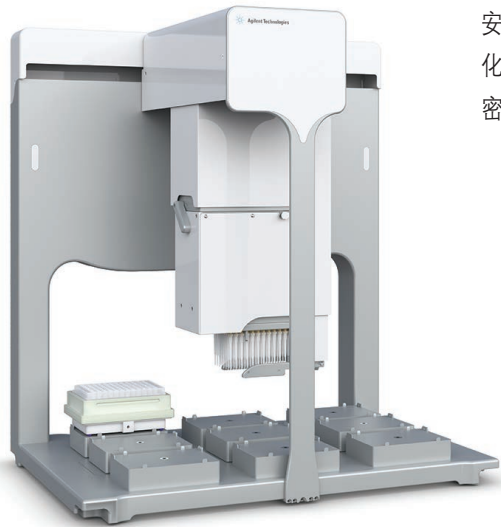
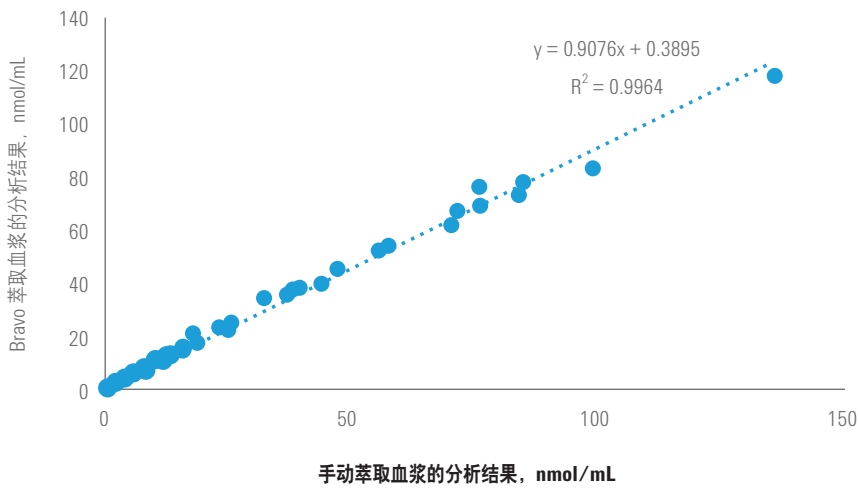


图 11：在 Wenk 博士的实验室中，采用 Bravo 液体处理平台的自动化方法替代了磷脂和鞘脂样品前处理方法中四个步骤的其中三个



安捷伦的自动化液体处理解决方案通过简化易出错的任务（例如液体处理、标记和密封）提高了通量，而不会影响数据质量。



脂质标准品	% RSD 半自动萃取	% RSD 手动萃取
PE 14:0/14:0	4.80	7.13
PC 14:0/14:0	5.85	5.72
C17 神经酰胺	7.32	11.97
LysoPC 20:0	5.27	5.05
SM 30:1	3.79	4.96
GluCer d18:1/8:0	6.81	6.34

图 12. 如回归点所示，采用 Bravo 液体处理平台的半自动前处理方法能够获得与手动方法相当的定量结果。右侧表格中的数据表明半自动方法定量分析标准脂类的能力更强

用于脂质组学的安捷伦 GC/MS 和 LC/MS 解决方案

气质联用仪



5977A 系列 GC/MSD 系统

常规目标分析和发现型分析的理想之选。Agilent 5977A GC/MSD 可实现大量样品筛选的可靠性与易用性。



7000C 和 7010 三重四极杆 GC/MS 系统

7010 可满足更加严苛的分析需求，让您获得理想的 MS/MS 定量性能和更低的检测限。



7200B GC/MS Q-TOF 系统

提供高分辨率 MS/MS 数据，可鉴定先前未知的脂类。Agilent 7200B GC/MS Q-TOF 可提供连续的高分辨率数据，完美补充了 7890B GC 的分离能力。



安捷伦拥有您实验室中所有仪器均适用的全系列 GC 和 LC 色谱柱与备件，可以为您的脂质组学研究提供支持。轻松为您的实验室查找理想的解决方案组合，请访问 www.agilent.com/chem/selectiontools

液质联用仪



1260 Infinity 分析型 SFC 系统

Agilent 1260 SFC/MS 能够快速、高分离度地分离其他方法无法轻松分离的脂类。此系统通过单次分析即可分离极性和非极性脂类，表现出高灵活性、高精度与卓越的可靠性。



6500 系列精确质量 Q-TOF

6500 系列 Q-TOF 具有 MS/MS 功能，是分析与鉴定低分子量化合物的理想之选。系统的典型质量准确度提高了脂类鉴定的可靠性，并减少了数据库搜索中的假阳性结果。



1290 Infinity II LC

具有无与伦比的分离和检测性能，可提供更高质量的数据，使您充满信心。无可比拟的样品容量、更短的进样周期，以及前所未有的可用性，使仪器实现更高的通量。



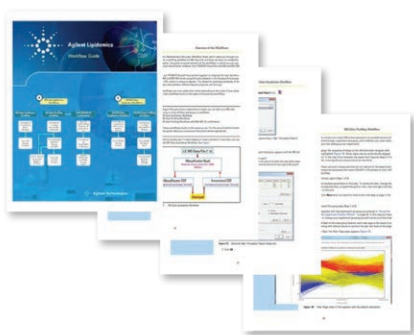
6400 系列三重四极杆 LC/MS

6400 系列三重四极杆 LC/MS 具有极快的 MRM 离子对与稳定可靠的性能，保证更长的仪器运行时间以便分析大量样品。亚飞克级灵敏度使其能够检测低丰度脂类。



Bravo 自动化液体处理平台

在脂类样品的前处理过程中，Bravo 平台能够将样品从收集管中转移到孔板上，并执行液体添加和样品萃取步骤。



如需了解详细信息，请下载脂质组学工作流程概述和脂质组学工作流程指南，其中详细介绍了采用 MassHunter 定性分析软件、Profiler、SimLipid 和 MPP 软件进行脂质组学分析的注意事项。此指南详细介绍了脂质组学工作流程的每一步骤。请访问 www.agilent.com/chem/library 并搜索 5991-1643EN 和 5991-1644EN，即可下载资料。

了解更多信息

www.agilent.com/chem/lipidomics

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

安捷伦培训中心：

<https://www.agilent.com.cn/zh-cn/training-events/events/agilent-education>

浏览和订阅 Access Agilent 电子期刊：

www.agilent.com/chem/accessagilent-cn

本文中的信息如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015
2015 年 5 月 11 日，中国印刷
5991-5419CHCN



Agilent Technologies