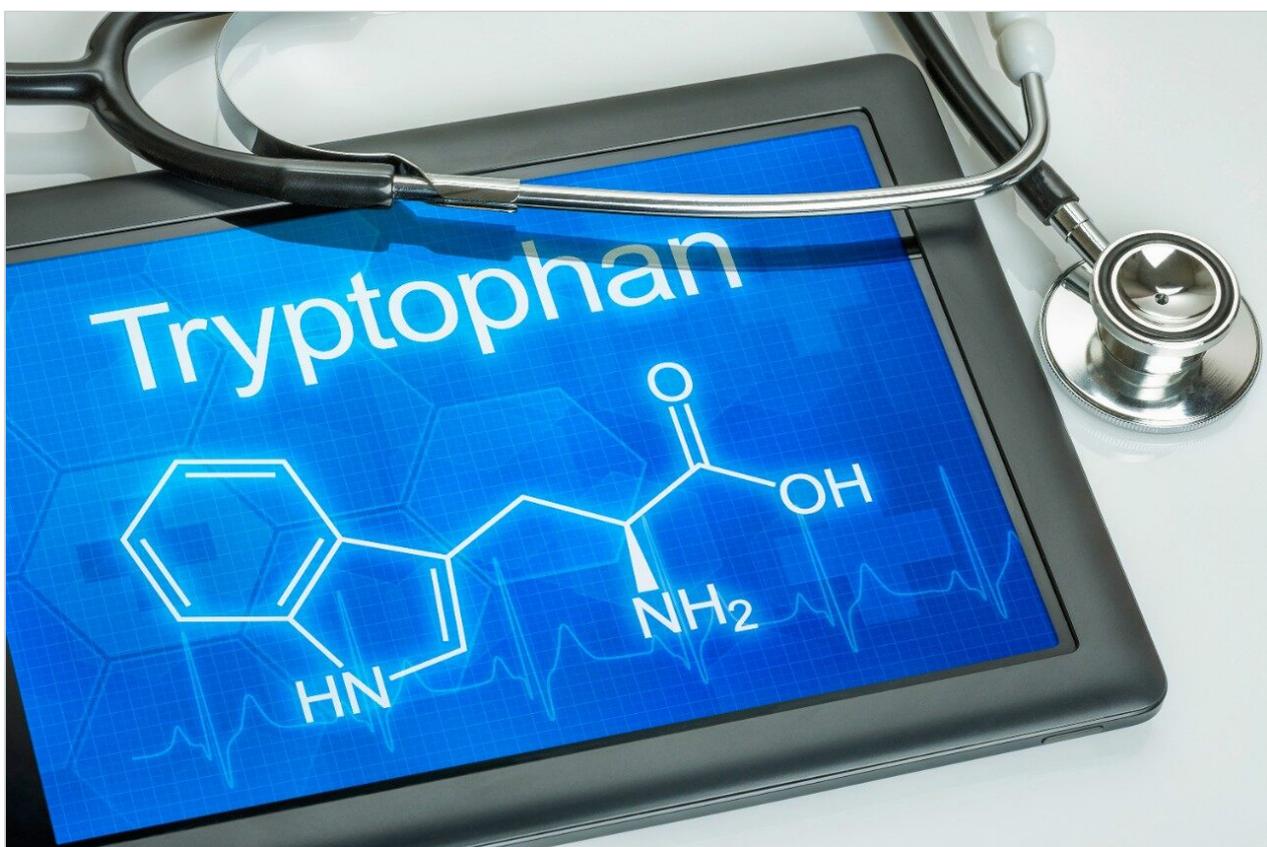


应用纪要

MetaboQuan-R法分析色氨酸及其代谢物

Billy J. Molloy

Waters Corporation



仅供研究使用，不适用于诊断。

摘要

开发出一种用于快速分析各种基质中的色氨酸及其七种代谢物的UPLC-MS/MS方法。该方法利用一款通用、灵活的LC-MS平台，可应用于多种化合物类别（包括代谢组学、脂质组学和蛋白质组学），这意味着它可以应用于靶向多组学工作流程中序列运行分析组的一部分。

优势

- 可在3 min内通过单次分析运行同时分析色氨酸及其七种代谢物
- 高通量分析意味着可以对更大的样品组进行快速分析
- 利用通用型LC-MS配置实现从一种化合物到另一种化合物的多功能切换

简介

色氨酸是一种氨基酸，它与其代谢物（图1）在多种生物学功能（包括脑健康和心血管代谢调节）中起到至关重要的作用。因此，色氨酸代谢研究是生物医学研究领域的热门研究，对色氨酸及其代谢物分析采用高通量分析方法可为大规模群体研究提供支持。本文介绍了一种利用灵活LC-MS平台的高通量UPLC方法。该方法可以与靶向组学方法库中包含的用于其它类别化合物的方法无缝结合，使实验室能够轻松便捷地拓宽分析物覆盖范围，并省去方法开发过程中的繁重任务。

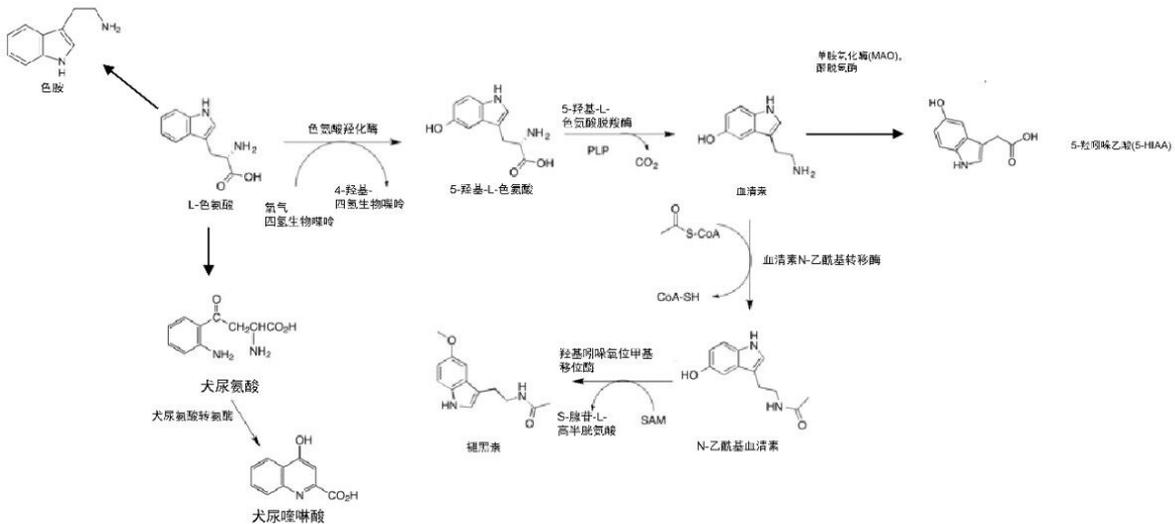


图1.色氨酸代谢途径示意图

实验

样品制备

人尿液样品

按1:10的比例，用900 μL LC-MS级水稀释100 μL 人尿液。取1 μL 所得溶液注入UPLC-MS/MS系统。

人血浆

利用固相萃取(SPE)技术处理150 μL 人血浆。萃取之前，对样品进行离心，避免其堵塞SPE板。然后将150 μL 各样品的等分试样用450 μL 水稀释，再上样至Oasis HLB PRiME $\mu\text{Elution}$ 板。然后用150 μL 水清洗板。用25 μL 甲醇从SPE板上洗脱分析物。然后按1:1的比例用25 μL 水稀释洗脱液，再取1 μL 进样至UPLC-MS/MS系统。

LC条件

采用配有CORTECS T3, 2.7 μm (2.1 \times 30 mm)分析柱的ACQUITY UPLC I-Class系统（固定定量环）进行UPLC分离。将1 μL 样品加载到色谱柱上，并在梯度条件下以0.45 mL/min的流速进行洗脱。流动相A为含0.01%甲酸的水溶液，流动相B为50%异丙醇（溶于含0.01%甲酸的乙腈中）。在初始0.75 min保持0%流动相B后，色氨酸及其相关代谢物从色谱柱上洗脱下来，在0.95 min内将流动相B由0梯度增加至70%使其分离，然后用98%流动相B清洗色谱柱1 min。接下来重新平衡色谱柱，使其恢复初始条件。分析柱温度维持60 $^{\circ}\text{C}$ 。

MS条件

使用Xevo TQ-S micro质谱仪通过多重反应监测(MRM)分析来检测分析物。所有实验均在正离子电喷雾电离(ESI+)模式下进行。离子源温度和毛细管电压保持不变，分别设置为150 $^{\circ}\text{C}$ 和2.0 kV。锥孔气流速为50 L/h，脱溶剂气温度为650 $^{\circ}\text{C}$ 。

信息学软件

利用MassLynx中的Quanpedia功能将方法信息导入LC-MS系统。这款可拓展且可搜索的数据库不仅可以生成LC和MS方法，还能生成在TargetLynx中用于化合物定量分析的处理方法。

结果与讨论

采用上述LC-MS平台和萃取方案，可有效分离并检测色氨酸及其代谢物。图2展示了使用该方法在人尿液样品

中进行分离得到的示例色谱图。使用分析标准品确认峰鉴定结果。除褪黑素外，表1中详述的所有分析物均在人尿液样品中检出。在人血浆中检出三种分析物（血清素、色氨酸和犬尿氨酸）。在表1中，部分分析物仅列出了一个MRM通道，而其他分析物则列出了多个MRM通道。采用单个和多个MRM获得的灵敏度水平接近。所有通道都被包括以提高特异性。

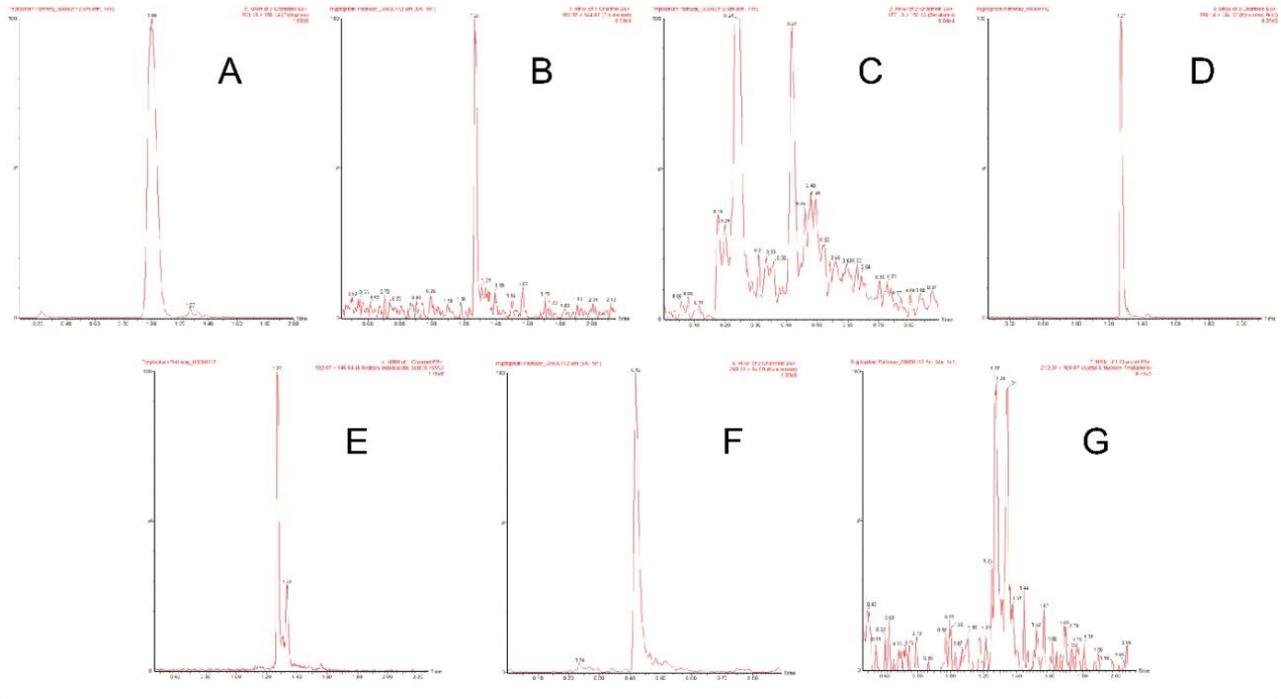


图2.使用MetaboQuan-R平台获得的人尿液样品中色氨酸及其代谢物的典型色谱图：(A) 色氨酸，(B) 色胺，(C) 血清素，(D) 尿酸，(E) 5-HIAA，(F) 犬尿氨酸，(G) 乙酰基-5-羟基色胺。

表1. 色氨酸及其代谢物分析的MS-MS条件和保留时间

分析物	MRM通道	RT (min)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
色氨酸	205.17 > 118.11	1.00	20	24
	205.17 > 118.11		20	16
	205.17 > 118.11		20	10
犬尿喹啉酸	190.14 > 89.08	1.27	40	34
	190.14 > 116.11		40	30
	190.14 > 144.12		40	15
犬尿氨酸	209.17 > 94.09	0.42	20	12
	209.17 > 192.14		20	6
色胺	161.07 > 144.01	1.27	20	14
血清素	177.13 > 115.10	0.41	30	24
	177.13 > 160.13		30	9
褪黑素	233.15 > 174.12	1.41	4	13
5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)	192.07 > 146.04	1.27	10	13
乙酰基-5羟色胺	219.07 > 160.17	1.28	35	8

结论

开发出一种用于快速分析各种基质中的色氨酸及其七种代谢物的UPLC-MS/MS方法。该研究方法经证实适用于在生理相关水平下分析人血浆和尿液样品中的分析物。该方法利用一款通用、灵活的LC-MS平台，可应用于多种化合物类别（包括代谢组学、脂质组学和蛋白质组学），这意味着它可以应用于靶向多组学工作流程中序列运行分析组的一部分。

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134798856>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

Quanpedia <<https://www.waters.com/10148049>>

©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.