

# SCIEX 液相色谱串联质谱法对水稻中220种代谢物进行靶标代谢组学分析

## Targeted-metabonomics analysis of 220 metabolites in *Oryza sativa* Linn. by SCIEX Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

侯朋艺, 龙志敏

Pengyi Hou, Zhimin Long

SCIEX应用支持中心, 中国

**Keywords :** SCIEX LC-MS/MS, Targeted-metabonomics, *Oryza sativa* Linn.

### 引言

代谢组学作为系统生物学的一个重要分支, 主要研究生物体内受到内外环境扰动后产生的小分子代谢物的变化, 目前已被广泛应用于药理学、植物学、微生物学和食品安全等研究领域。20世纪90年代初, Sauter等首次将代谢组分析引入植物系统诊断, 最具代表性的是Fiehn等在拟南芥方面的研究工作<sup>[1]</sup>。

根据研究对象和目的的不同, 将代谢组学可以分为代谢物靶标分析 (Target analysis)、代谢轮廓分析 (Metabolite profiling)、代谢组学和代谢指纹分析 (Metabolic fingerprinting) 4个层次, 其中代谢物靶标分析为靶向分析方法, 而其余3个层次均为非靶向分析方法。

本文在前期利用高分辨质谱X500B Q TOF系统高分辨质谱将水稻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, 对水稻中220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

在前期提取好的水稻样品中, 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: 0.05%甲酸-水; B: 乙腈

流速: 0.4 ml/min

柱温: 40 °C

进样体积: 1 μl

梯度条件:

Time (min)	A (%)	B (%)
0	99	1
1	99	1
24	70	30
37	5	95
40	5	95
40.1	99	1
44	99	1

## 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): 35 psi      离子喷雾电压 (IS): 5500V(+)/-4500V(-)

加热温度 (TEM): 550°C      雾化气 (GS 1): 55 psi

辅助气 (GS2): 55 psi      碰撞气 (CAD): 9

去簇电压 (DP): 70 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。

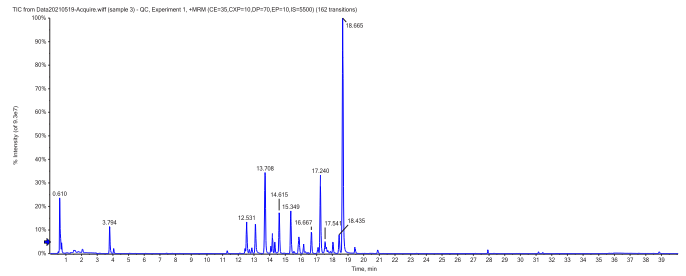


图1. 水稻正离子模式下各目标化合物的提取离子流图

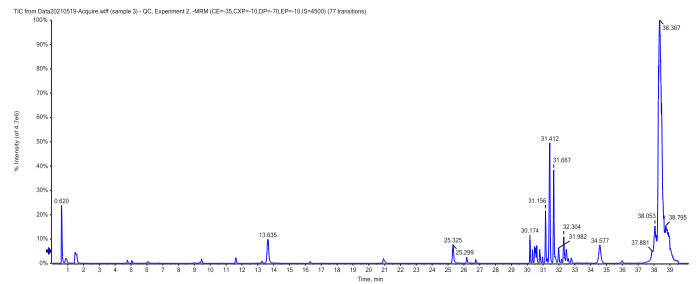


图2. 水稻负离子模式下各目标化合物的提取离子流图

表1. 水稻中部分成分的质谱参数

Component Name	Q1	Q3	Polarity	Component Name	Q1	Q3	Polarity
2-Oxobutyric acid	103.04	77.04	Positive	Epigallocatechin 3,3',-di-O-gallate	611.1	329.07	Positive
DL-3-Aminoisobutyric acid	104.07	58.06	Positive	Glutathione (oxidized)	613.16	355.07	Positive
Proline	116.07	70.06	Positive	Apigenin 7,4'-diglucuronide	623.12	271.06	Positive
Indole	118.07	91.05	Positive	methylluteolin-C-GLU-C-GLU	625.18	343.08	Positive
Valine	118.09	58.06	Positive	Apigenin 7- (6"-acetylalloside) -4'-alloside	637.18	313.07	Positive
Acetophenone	121.07	77.04	Positive	Rhamnazin 6-C-Rha-3-O-GLU	639.19	327.09	Positive
Benzoic acid	123.04	77.04	Positive	2methoxylApigenin-O-GLU-O-Rha	639.2	331.08	Positive
Pipecolic acid	130.09	84.04	Positive	Tricin 7-rutinoside	639.21	331.08	Positive
Isoleucine	132.1	86.1	Positive	Vitexin 6"-O-malonyl 2"-O-xyloside	651.16	337.18	Positive
Leucine	132.11	86.1	Positive	Kaempferol 3- (6"-acetylglucoside) -7-glucoside	653.17	331.08	Positive

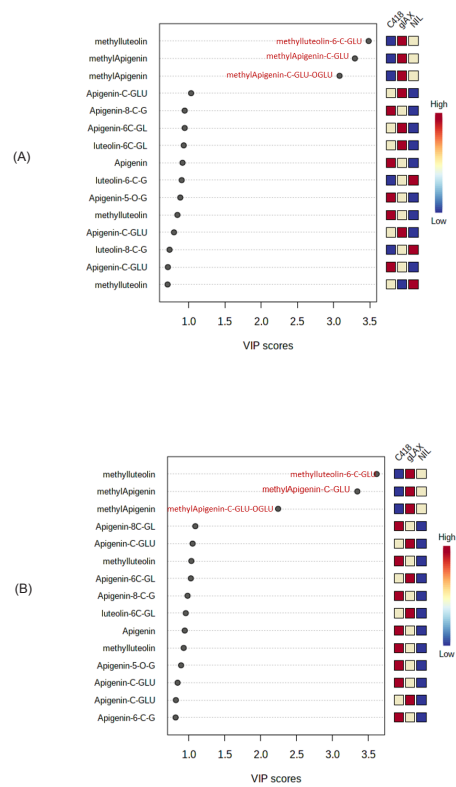
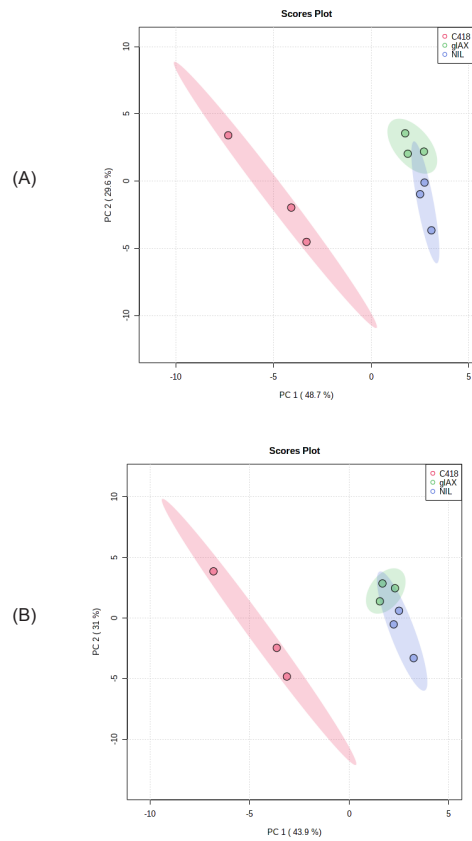


图3. 不同组水稻样品间主成分分析 (PCA) 图 (A)图为三重四极杆靶向验证结果; (B) 图为高分辨质谱X500R QTOF系统高分辨非靶向分析结果

图4. 不同组水稻样品间VIP分数结果 (A)图为三重四极杆靶向验证结果; (B) 图为高分辨X500R QTOF系统高分辨非靶向分析结果

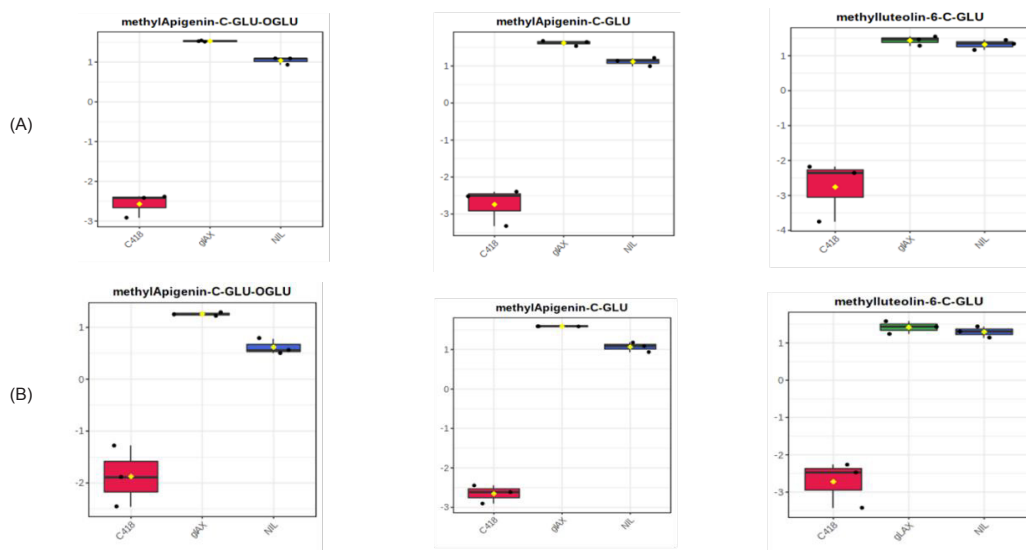


图5. 不同组水稻样品间ANOVA 分析  $p < 0.01$  化合物箱型图 (A)图为三重四极杆靶向验证结果; (B) 图为高分辨X500R QTOF系统高分辨非靶向分析结果

## 总结

本文使用SCIEX LC-MS/MS系统建立了水稻中220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X500R QTOF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，满足水稻大队列样本的检测需求。

## 参考文献

- [1] Oliver F. Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes [J]. Plant Molecular Biology, 2002 (48): 155-171.

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-02-13586



### 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