

# Application News

## No. L505

高效液相色谱  
High Performance Liquid Chromatography

### Nexera-e 和 LCMS-IT-TOF 联用 对贻贝中脂质成分进行全二维分析

Comprehensive 2D Separation of Lipid Species in Mussels Using the Nexera-e System Combined with LCMS-IT-TOF Detection

在代谢组学中将整体脂质进行系统分析称为脂质组学。脂质是生物的能量之源，是生物膜的主要构成成分，也担负着参与生物体内信号传导的重要作用。但是，构成脂肪酸的种类和不饱和度的组合多种多样，因此，在同时检测中很难进行全面的分析。

图 1 为脂质组学的分析流程。由图可知，对生物样品进行整体脂质提取后，通常先根据脂质的种类采用正相或 HILIC（亲水相互作用色谱）进行分离，再对各部分脂质进行 LC/MS 分析。该方法的缺点是耗时较长。全二维液相色谱仪可组合一维和二维不同的分离模式，并根据其分离特性，在各维的单独分析中对难以分离的组分进行高度分离。

本文向您介绍使用可有效对多脂质组分进行全分离的 Nexera-e 系统对贻贝中的脂质进行分离的分析示例。在一维系统使用 HILIC 色谱柱进行半微量分离，在二维系统进行超快速反相分离，并联用了离子阱飞行时间质谱仪（LCMS-IT-TOF）作为检测器。表 1 为分析条件。

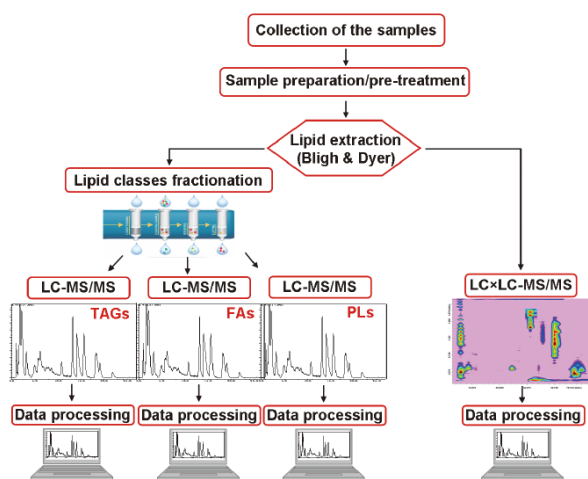


图 1 脂质组学的分析流程  
Lipidomics Research Workflow

### ■ 使用 LCMS-IT-TOF 对贻贝中脂质组分进行全分离检测

Comprehensive Separation of Lipid Species in Mussels with LCMS-IT-TOF Detection

贻贝是定居型双壳贝类，广泛生息于全球海域中。众所周知，其体内的脂质分子因外部环境而改变。例如，春夏季酰甘油会增加；秋冬季磷脂将有所增加，而胆固醇在各个季节都没有显著变化。脂肪酸则被用作生物标记以确认贻贝的营养状况。

贻贝的脂质属性因为会受重金属、多环芳烃（PAH）、多氯联苯（PCB）等环境污染物质而发生氧化或水解，所以可以作为判断环境污染的指标生物。简单测定整体脂质的分析方法的开发具有重要意义。

表 1 分析条件  
Analytical Conditions

[制备样品]	: 收集贻贝的组织后进行同质化，使用 Bligh-Dyer 法提取整体脂质。
[色谱柱 1]	: Ascentis Express HILIC 色谱柱 (Supelco, 150 × 2.1 mm; 2.7 μm fused core particles)
流动相	: A; 乙腈 : 10 mM 甲酸铵 = 98:2 (v/v/v) B; 乙腈 : 甲醇 : 10 mM 甲酸铵 = 55:35:10 (v/v/v)
时间程序	: B Conc. 0 % (0-15 min) → 100 % (40-80 min)
流速	: 50 μL/min
柱温	: 55 °C
进样体积	: 5 μL
调制周期	: 2.0 min
[色谱柱 2]	: Titan C18 色谱柱 (Supelco, 50 mmL × 4.6 mm I.D., 1.9 μm)
流动相	: A; 乙腈:甲醇:10 mM 甲酸铵 = 70:25:5 (v/v/v) B; 含 0.1 % 甲酸的异丙醇溶液
时间程序	: [0-40 min] B Conc. 0 % (0-0.35 min) → 15 % (1 min) → 20 % (1.01 min) → 70 % (1.7 min) → 100 % (1.75-1.85 min) → 0 % (1.86-2 min) [40-62 min] B Conc. 0 % (0-0.75 min) → 20 % (0.76-1.01 min) → 70 % (1.7 min) → 100 % (1.75-1.85 min) → 0 % (1.86-2 min) [62-80 min] B Conc. 0 % (0-1.01 min) → 20 % (1.85 min) → 0 % (1.86-2 min)
流速	: 将 3 mL/min 内的 0.3 mL/min 导入 MS
检测器	: LCMS-IT-TOF (ESI 正/负离子模式)扫描范围 ESI (+); m/z 300-1000, ESI (-); m/z 200-1000, MS/MS; m/z 50-1000
2D 数据处理	: 使用 ChromSquare 2.0 将原始数据转换为 2D 图

图 2 为贻贝脂质分子群的全二维分离图。由图可知，使用 ESI (-) 对 PE 和 PI 群的检测结果良好，其二维分离图与 ESI (+) 的二维分离图重合。

如上所述，从贻贝中提取的总脂质分子利用一维 HILIC 色谱柱，进行了脂质分子中极性的分离。由此可知，经一维分离后脂质组分按照三酸甘油酯 (TAGs) + 胆固醇酯 + 固醇 + 单酰甘油 (MGs) + 二酰甘油 (DGs) → 磷脂酰肌醇 (PI) → 磷脂酰乙醇胺 (PE) → 溶血磷脂酸 (LysoPA) → 磷脂酸 (PA) → 磷脂酰丝氨酸 (PS) → 磷脂酰胆碱 (PC) → 溶血卵磷脂 (LysoPC) 的顺序洗脱。并且，二维反相分离按照 Partition Number (PN-即总碳数减去 2 倍得双键数的值) 值的顺序进行洗脱。

将 LCMS-IT-TOF 作为二维液相后端检测器高精度地测定分子量，可以对多个洗脱成分进行详细的定性分析。由图 2 可知，白色椭圆中的峰混合了 2 种 PN 相同成分的三酰甘油，下方分别有 2 种成分的 MS/MS 质谱图。由此可知，从失去了 1 个侧链的甘油二酯的峰中可以得到结构信息，该结构归属为 OOP、OOO。

P: Palmitic acid

O: Oleic acid

综上所述，Nexera-e 和 LCMS-IT-TOF 联用可以得到受外部环境变化而变化的整体脂质的属性信息，从而可以对海洋生物的生物标记物及其脂质组分的变化进行更深层次的分析。

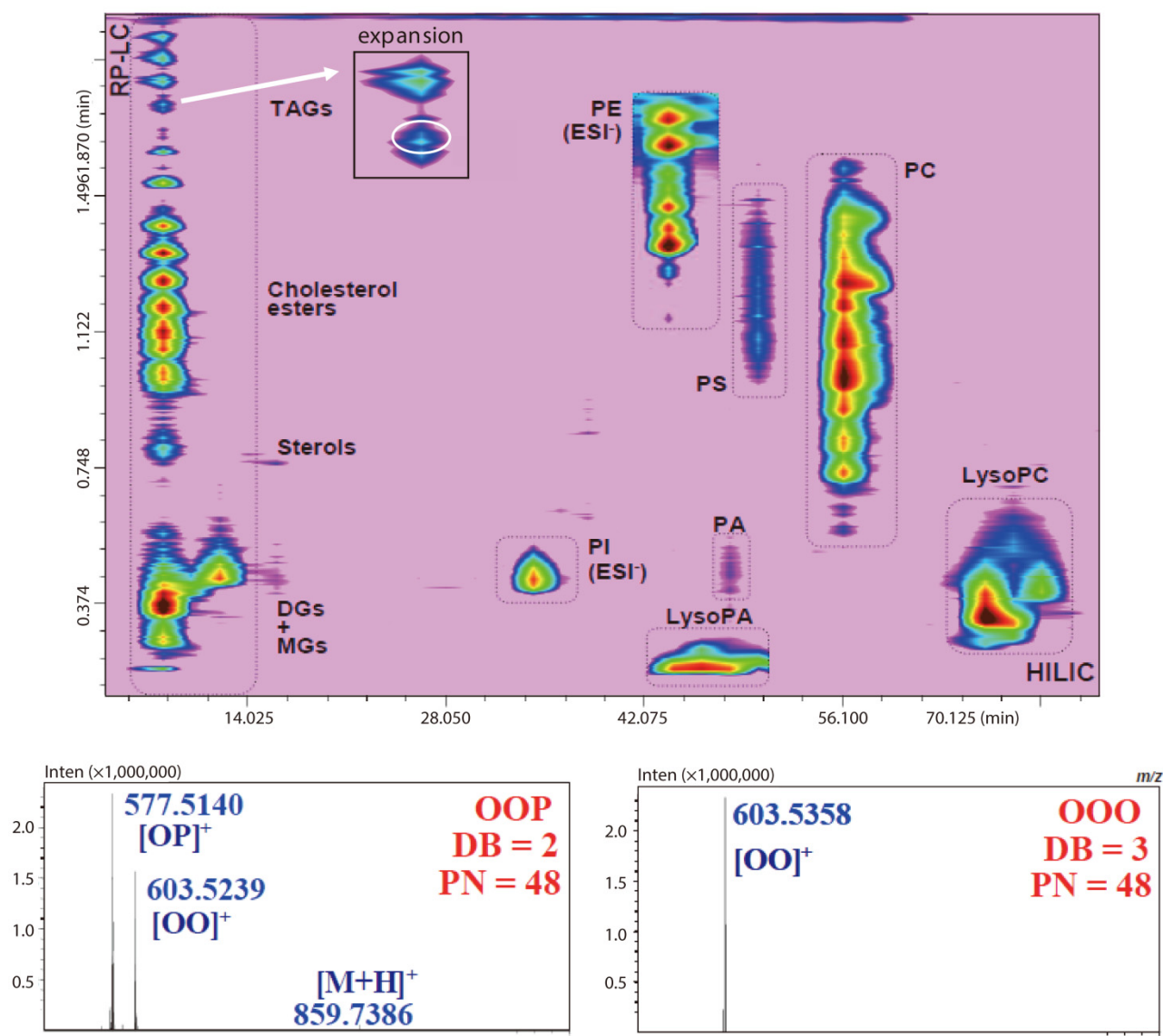


图 2 使用 LCMS-IT-TOF 质谱仪得到的贻贝脂质全二维分离图和特定部分的 MS/MS 质谱图  
Comprehensive 2D Plot Obtained from Analysis of Whole Lipids of Mussels with LCMS-IT-TOF, and MS/MS-spectra of Specific Areas

数据提供: Prof. Luigi Mondello of University of Messina and Chromaleont S.r.l.



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: 2016 年 6 月