

# 基于GC-MS/MS的人标准血清中代谢物的分析

Analysis of Metabolites in Serum using GC-MS/MS

单四极杆型GC-MS具有出色的色谱分离能力，测定稳定，因此，广泛用于进行生物体内代谢物全面性解析的代谢组学解析。但是，生物样品含有较多的代谢物与多种基质，使用单四极杆GC-MS有时难以实施分离。而三重四极杆型GC-MS/MS的MRM在四极杆Q1和四极杆Q3进行2次MS分离，因此，较使用一个四极杆进行MS分离的扫描模式测定，可以除去由干扰成分造成的峰重叠影响，获得高灵敏度且准确的定量结果。

本应用方案利用GC/MS代谢成分数据库Ver. 2中的扫描及MRM方法测定人标准血清中的代谢物，并比较了测定结果。

## 分析条件

做前处理时，首先向50u1的人标准血清中添加内标2-Isopropylmalic acid，然后使用甲醇/ 水/ 氯仿溶液 (2. 5:1:1) 提取代谢物，进行甲胍和三甲基硅基衍生化[1]。对于前处理后的样品按照GC/MS代谢成分数据库Ver. 2的方法，以扫描及MRM模式分别各测定6次。Table 1表示分析条件。

Table 1 分析条件

GC-MS :GCMS-TQ8030	
色谱柱:DB-5 (长30m, 0.25mm I.D., df=1.00 5m)	
玻璃衬管:带无分流衬管石英棉(PN:221-48876-03)	
[GC]	[MS]
氮化室温度:280℃	接口温度:280℃
柱温箱温度:100℃ (4分) → (4℃/分) → 320℃ (8分)	离子源温度:200℃
进样模式:无分流	测定模式:扫描
载气控制:线速度(39.0 cm/秒)	质量范围: $m/z$ 45-600
进样量:1 5L	事件时间:0.3 秒
	测定模式:MRM
	循环时间:0.3 秒

MRM 监测  $m/z$  (与扫描比较的 4 个代谢物与内标物(I.S.))

Compound name	RT (min)	Quantitative Transition		Qualitative Transition	
		Precursor>Product	CE (V)	Precursor>Product	CE (V)
3-Hydroxyisovaleric acid-2TMS	15.480	131.10> 73.00	12	247.10> 73.00	18
Homocysteine-3TMS	30.360	234.10> 73.00	27	234.10>128.10	9
Aconitic acid-3TMS	32.490	285.10>147.10	15	375.10>147.10	15
Kynurenine-3TMS	43.890	307.10>218.10	9	307.10>192.10	18
2-Isopropylmalic acid-3TMS (I.S.)	27.930	349.10>259.10	6	349.10>147.10	24

[1] S. Nishiumi, M. Shinohara, A. Ikeda, T. Yoshie, N. Hatano, S. Kakuyama, S. Mizuno, T. Sanuki, H. Kutsumi, E. Fukusaki, T. Azuma, T. Takenawa, M. Yoshida, Metabolomics 6 (2010) 518-528

## 分析结果

Fig. 1表示基于扫描及MRM模式的血清中代谢物的质色图。这里表示的4个成分由于在扫描模式时受干扰成分影响，造成灵敏度不足，因此，或是没有检出或是重复分析精度在14%以上。而使用MRM模式，去除了干扰成分的影响，可以进行高灵敏度测定，获得了重复分析精度在6.5%以下的良好结果(Table 2)。

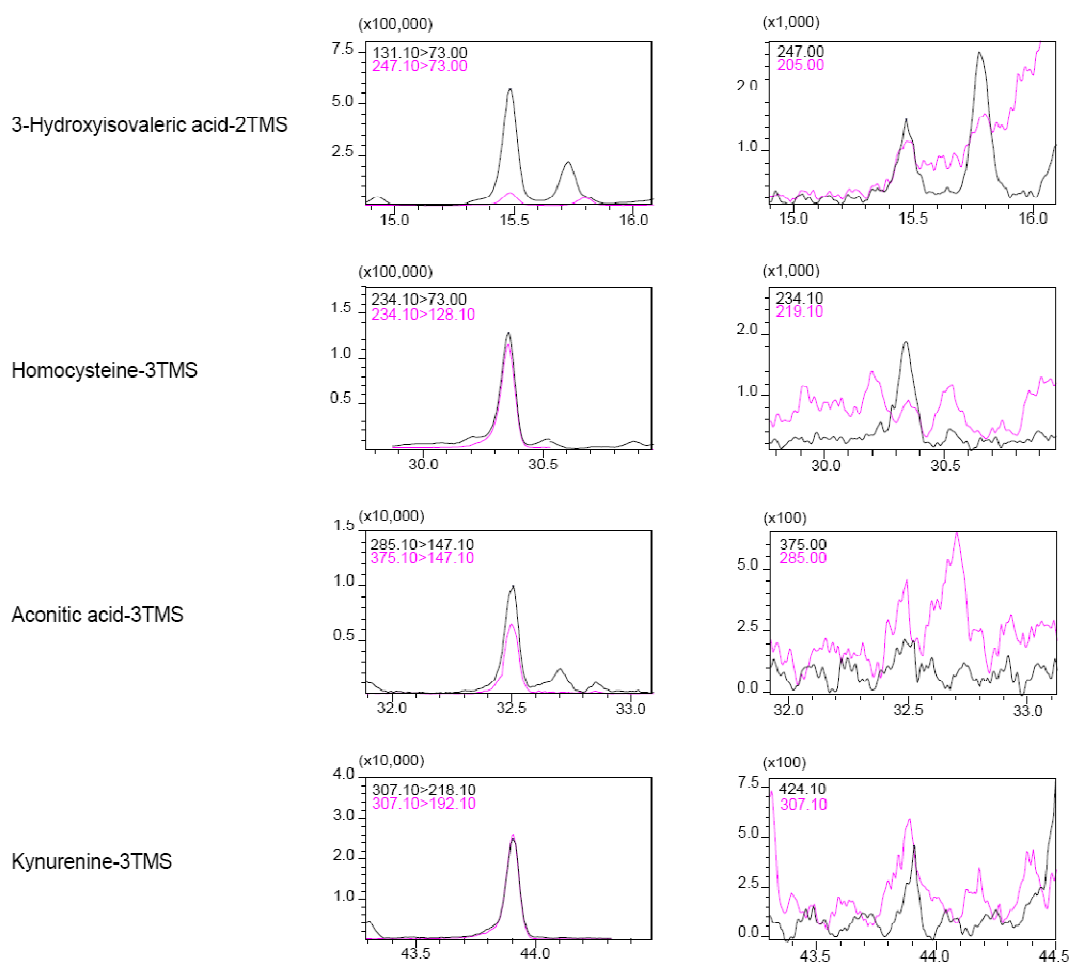


Fig. 1 标准血清中代谢物的 MRM (左) 和 Scan (右) 的质色图比较

Table 2 扫描与 MRM 的重复分析精度(内标校正)

Compound name	%RSD (n=6)	
	MRM	Scan
3-Hydroxyisovaleric acid-2TMS	3.99	14.0
Homocysteine-3TMS	5.04	23.4
Aconitic acid-3TMS	5.98	N/A
Kynurenine-3TMS	6.48	24.5