基于化学衍生化的靶向脂质组学质谱分析研究进展

赵先恩^{1,2}, 白玉¹, 刘虎威^{1*}

1. 北京分子科学国家实验室, 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871

2. 曲阜师范大学化学与化工学院, 曲阜 273165

*通讯作者, E-mail: hwliu@pku.edu.cn

收稿日期: 2017-07-16; 接受日期: 2017-11-17; 网络版发表日期: 2017-11-24

国家自然科学基金(编号: 21527809, 21775088, 21575007, 21775008)和北京分子科学国家实验室开放课题(编号: BNLMS20160147)资助项目

摘要 脂质组学研究与一些重大疾病(如心血管病、糖尿病、肿瘤等)密切相关, 是当今生命科学研究的重要领域. 质谱分析技术是目前脂质组学研究的核心手段之一. 化学衍生化策略可显著提高基于鸟枪法或液相色谱-质谱联用方法的脂质组学分析性能, 近年来已有一些相关研究报道. 本文重点介绍了基于化学衍生化的质谱分析方法在靶向脂质组学研究中的进展, 并提出了问题和展望. 希望在衍生化试剂的设计与合成, 特别是具有显著优势的稳定同位素标记衍生试剂开发, 以及新的衍生化策略和相应的质谱分析方法的开发与应用方面起到一定的推动作用.

关键词 脂质组学, 质谱, 化学衍生化, 稳定同位素标记, 脂肪酸, 磷脂

1 引言

2003年提出的脂质组学(lipidomics)是代谢组学(metabolomics)的一个重要分支^[1], 它是研究生物体、组织、细胞或体液中脂质的结构、功能及代谢途径的一门学科. 脂质大体分为8大类: 脂肪酸类(fatty acids)、甘油脂类(glycerolipids)、甘油磷脂类(glycerophospholipids)、鞘脂类(sphingolipids)、固醇脂类(sterol lipids)、异戊烯醇脂类(prenol lipids)、糖脂类(saccharolipids)、多聚乙炔类(polyketides). 已有研究表明, 脂质代谢异常与一些重大疾病密切相关, 如心血管病、糖尿病、肥胖症、神经退行性疾病、肿瘤等, 因此, 脂质组学研究已成为当今生命科学研究

热点^[2-6].

灵敏、可靠的脂类化合物分析方法是脂质组学研究的关键, 质谱(MS)分析技术作为脂质组学研究的核心手段发挥着越来越重要的作用^[4,7]. 目前, 基于MS的分析策略主要有3类: 直接进样的鸟枪法(shotgun lipidomics)、基于液相色谱-质谱联用(LC-MS)的非靶向或靶向脂质组学分析方法、基于基质辅助激光解吸/电离质谱的成像分析方法^[2]. 靶向脂质组学针对某几种或某几类特定的目标脂质进行半定量或定量分析, 进而对获得的脂质信息进行数据整合与处理. 拟靶向代谢组学是将非靶向分析的高通量、无偏向的代谢物信息获取和靶向分析的高特异性检测和准确定量相结合, 从而实现对待测样本中已知及未知的多个代

引用格式: 赵先恩, 白玉, 刘虎威. 基于化学衍生化的靶向脂质组学质谱分析研究进展. 中国科学: 化学, 2017, 47: 1392-1400
Zhao XE, Bai Y, Liu H. Advances in chemical derivatization-based targeted lipidomics by mass spectrometric analysis. *Sci Sin Chim*, 2017, 47: 1392-1400, doi: [10.1360/N032017-00121](https://doi.org/10.1360/N032017-00121)

谢物靶标进行同时检测^[8]. 脂质组学从非靶向走向靶向或拟靶向正在成为研究趋势^[2,4,9,10]. 随着研究的不断深入, LC-MS亦已成为脂质分析的主要方法之一^[4], 这得益于色谱分离能力强、分离模式多以及质谱强大的分析性能. 近年来出现的超高效液相色谱(UHPLC)技术, 也有一些用于脂质组学分析的报道^[11~15]. 然而, 基于LC-MS的靶向脂质组学研究尚面临如下问题^[16~20]. (1) 很多脂质化合物在生物样品中含量低、化学结构不稳定, 质谱离子化效率不高, 加之样本基质复杂, 这些都影响脂质的检测灵敏度; (2) LC常用梯度洗脱, 不同时间洗脱的脂质分子在不同组成的流动相存在离子化效率的差异, 因此, LC-MS在定量分析时, 需要采用同位素标记内标, 分析成本高, 而且内标不易得; (3) 不同种类脂质结构存在较大差异, 很难被一种溶剂同时提取, 因此, LC-MS分析需要复杂的样品前处理步骤; (4) 大量脂质存在同分异构体, 给LC或UHPLC分离带来困难. 与LC-MS相比, 直接进样的MS“鸟枪法”脂质组学因进样时样本溶液恒定, 内标和被分析物同时分析, 不存在流动相影响离子化效率的问题. 但是, “鸟枪法”未经色谱分离, 只能充分利用各类脂质的特征裂解碎片对相应脂质进行定性定量分析, 这对于同一类脂质中的同分异构体的定性定量分析是一个难题. 另外也常面临基质干扰严重、检测灵敏度低等问题^[2,3]. 对待分析样品进行化学衍生化(包括稳定同位素标记衍生化, SILD)处理可能是解决这些问题的有效办法之一, 它能够提高LC-MS分析中的脂质的色谱分离度, 改善鸟枪法中MS检测的质荷比分布, 提高MS离子化效率以及MS/MS结构解析能力. 鉴于此, 本文基于衍生化的靶向脂质组学分析的研究进展进行了评述, 并讨论其发展趋势.

2 脂肪酸的化学衍生化靶向分析

2.1 针对双键衍生化的脂肪酸MS分析

脂肪酸是一类重要的脂质分子, 特别是不饱和脂肪酸的成分变化与某些疾病的产生密切相关. 按照碳链长度、不饱和键数量及其位置分类, 不饱和脂肪酸具有多种不同结构及异构体. 检测不饱和脂肪酸中双键的数量和位置有助于研究人员确定脂肪酸结构, 研究其生物学功能. 一种重要的研究思路是针对脂肪酸所含双键进行化学衍生化, 之后进行MS分析, 如臭氧

分解^[21,22]和烯烃交叉复分解^[23]. Blanksby等^[21]用臭氧使碳-碳双键断裂, 特异性地鉴定脂质分子中的碳-碳双键位置. Cooks研究组^[22]利用低温等离子体离子源产生臭氧, 可以实现不饱和脂肪酸以及脂肪酸甲酯或乙酯所含双键的衍生化, 通过解析衍生物的碎片峰可判断双键的位置. 该方法可以实现原位分析, 无需样品前处理. 但是, 与Blanksby等的方法相同, 这种方法在分析复杂混合物时难以判断碎片的归属, 不能同时分析多种脂质的混合物, 限制了该法的实际应用. 一种改进的方法是将臭氧直接引入离子阱内, 与单一质量的脂质分子发生反应, 将复杂脂质混合物的分析变为可能, 该法可称为臭氧诱导解离法^[24], 但该法的缺点是需要改装质谱仪器, 以便臭氧可以直接被引入离子阱.

2014年, Xia等^[25]利用Paternò-Büchi反应(P-B反应)对不饱和脂肪酸中的双键进行快速化学衍生化, 用纳喷雾离子化MS对脂肪酸双键位置进行了鉴定. 在紫外灯照射下, 衍生试剂丙酮与脂质分子的碳-碳双键发生P-B反应生成四元氧杂环丁烷结构, MS检测到与丙酮的加成产物 $M+58$ 的分子离子峰, 对其进行MS/MS分析, 在碰撞诱导解离条件下四元环结构裂解, 生成一对分子量相差26 Da的特征离子峰, 通过该特征碎片峰的归属即可鉴定双键位置. 该方法成功实现了脂肪酸和磷脂的双键位置快速鉴定, 衍生反应速度快, 可实现在线反应. 2016年, Xia等用该技术实现了鼠脑组织中不饱和脂肪酸和磷脂的鉴定与鸟枪法定量分析^[26], 以及多种生物样本中不饱和脂肪酸和甘油磷脂的双键位置鉴定和定量分析^[27,28].

2.2 针对羧基衍生化的脂肪酸MS分析

2013年有3个研究组发表了基于charge-remote fragmentation的脂肪酸双键位置解析与高灵敏MS定性/定量分析方法^[29~31], 他们所用的衍生化试剂为 N -(4-苄氨基)吡啶(AMPP)或其结构类似物. AMPP含有一个分子内永久正电荷, 能够显著提高MS检测灵敏度. 具体来说, AMPP脂肪酸衍生物的近端双键位置是通过近端烯碳1,4-氢消除产生的特征碎片离子来确定的. 而且烯丙基碎裂规律也进一步证实了双键位置归属. 与未经衍生化的直接检测方法相比, AMPP衍生化后检测灵敏度可提高约60000倍, 显著优于其他小分子衍生化试剂(如丙酮、臭氧等), 这为一些低丰度脂质分子的定量分析提供了新的方法.

Mok等^[32]采用三甲基硅重氮甲烷(TMSD)作为脂肪酸衍生试剂,实现了小鼠肝组织和血浆中游离脂肪酸的高灵敏LC-MS/MS测定,衍生化反应(10 min)和定量分析(5 min)速度较快.该方法已用于脂质生物标志物筛选等相关研究. Kloos等^[33]已经对脂肪酸的衍生策略及衍生化试剂进行了综述.

2.3 脂肪酸稳定同位素标记衍生化MS分析

与常规化学衍生化技术相比, SILD技术在降低基质效应、提高准确度以及实现高通量检测方面具有较大潜力^[34-36]. Narayana等^[37]采用CH₃I/CD₃I/

C₂H₅I/C₂D₅I/C₃H₇I作为系列同位素标签引入原料,分别与3-羟甲基吡啶反应,合成得到类似“iTRAQ-like”原理的系列稳定同位素标记衍生化试剂N-(H/D烷基)-3-羟甲基吡啶,如图1所示.据此所建立的LC-MS/MS分析方法采用多反应监测模式(MRM)实现了生物样本中游离脂肪酸的定性或定量检测,脂肪酸衍生物的MS检测限低至nM水平.该方法可在4 min内完成测定,分析通量高,已经应用于神经元细胞胞吐作用中游离脂肪酸的分析测定及相关化学生物学研究.

此外,2014年,Tie等^[38]报道了一种H/D同位素标记的脂肪酸衍生试剂——2,4-二(二乙氨基)-6-胍基-1,3,5-

图1 多通道游离脂肪酸稳定同位素标记衍生化试剂合成及工作原理^[37]. (a) 稳定同位素标记试剂合成及其与脂肪酸衍生化反应; (b) 多通道游离脂肪酸稳定同位素标记定量分析工作原理; (c) 50 pg/mL脂肪酸标准品(each)同位素标记衍生物的LC-MS/MS图(网络版彩图)

三嗪. 该研究组使用轻标衍生化试剂标记血浆样品中的脂肪酸, 采用重标衍生化试剂标记标准品并作为内标物, 两种衍生物溶液混合后进行LC-MS/MS (MRM) 定量分析, 可实现血浆样本中脂肪酸的灵敏、准确测定. 将此方法应用于临床血浆样品的分析, 揭示了多种脂肪酸可作为衰老相关的潜在生物标志物.

3 甘油磷脂类的化学衍生化靶向分析

3.1 甘油磷脂的重氮甲烷衍生化MS分析

Manthorpe和Smith研究组^[39]提出了一种以重氮甲烷为衍生化试剂的甘油磷脂类MS分析方法, 该法针对磷脂酰乙醇胺类(PEs)、磷脂酰胆碱类(PCs)、磷脂酰丝氨酸类(PSs)、鞘磷脂等4类分子中的氨基、羧基、磷酸根进行同时甲基化衍生, 衍生产物含有一个永久的季铵氮正电荷. 与直接检测法相比, MS检测灵敏度提高了26.4~1110倍. 这类衍生物在MS/MS裂解时能产生一个与极性头基部分相关的特异性子离子, 易于进行MS定性鉴定和定量测定. 重氮甲烷衍生化速度快、效率高, 但缺点是重氮甲烷衍生化试剂合成及使用的条件苛刻、毒性大、易爆炸. 文献在衍生试剂合成部分明确指出其危险性: 需要在具备防爆设备的通风橱中进行, 衍生化试剂在保存和衍生化反应过程中需保证在无水状态下进行. 这些缺点对实验操作要求苛刻, 可能限制其实际应用.

3.2 磷脂类衍生化-鸟枪法MS分析

2012年, Reid研究组^[40]发展了一种基于化学衍生化技术显著提高鸟枪法高分辨MS同时鉴定和定量测定多种同分异构体、同类、相同亚类脂质分子的方法. 该方法使用 d_6 -S,S'-二甲巯基丁酰羧琥珀酰亚胺活性酯(d_6 -DMBNHS)作为衍生化试剂, 选择性地标记磷脂酰乙醇胺和磷脂酰丝氨酸类脂质分子中的氨基, 而其他生物样本提取物中共存的脂质分子不被标记, 在不经色谱分离的鸟枪法脂质组学MS图上, d_6 -DMBNHS脂质衍生物的质荷比与未经衍生化的其他脂质分子(特别是同分异构体)的质荷比分布区域差别显著, 大大减小了干扰, 提高了灵敏度, 这为鸟枪法脂质组学鉴定同类脂质或脂质同分异构体分子带来了极大的优势. 该研究组利用这种方法对直肠癌细胞系中的脂质进行了综合分析.

Reid研究组^[3]在2016年进一步总结了衍生化技术与超高分辨质谱(UHRAMS)相结合的鸟枪法脂质组学技术平台在多种脂质同分异构体结构解析中的特点及实际应用. 这种方法无需繁琐的样品前处理, 通过含氨基脂质分子的衍生化所带来的质量位移, 即可实现生物样本脂质提取物中同分异构体以及大量不同种类和亚类的脂质成分的鸟枪法分析. 使用该法同时鉴定和相对定量跨越4个类型脂质(包含36种脂质结构类型)的500~600个脂质分子仅需1~2 min, 样品消耗量少.

3.3 磷脂类稳定同位素甲基化MS分析

Canez等^[41]2016年报道了一种采用 $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ 重氮甲烷($^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ -TrEnDi)衍生化标记PEs、PCs、PSs的方法, 然后用MS分析能够实现复杂生物基质中相关脂质的定性定量分析. 脂质分子的 ^{13}C -TrEnDi衍生物能够产生特征碎片离子, PEs衍生物产生1个专属性的子离子 m/z 202.1, PSs衍生物产生2个专属性的子离子 m/z 148.1和 m/z 261.1, PCs衍生物(奇数质荷比)和鞘磷脂类衍生物(偶数质荷比)都产生1个专属性的子离子 m/z 199.1. 基于此, 采用母离子扫描模式(PIS)进行MS分析时, PEs、PCs和鞘磷脂的检测灵敏度(仪峰面积计)提高了1.05~10.72倍. 然而, 该衍生化试剂的毒性和易爆性不利于其实际应用. 因此, 继续探索合成易得、易用、MS分析性能好的同位素标记衍生化试剂仍然是必要的.

Cai等^[42]报道了磷脂的三甲基硅重氮甲烷甲基化的稳定同位素标记衍生化策略. 该方法成功应用于复杂生物样本中六类磷脂分子的鉴定和相对定量, 方法的灵敏度、准确度、重复性良好. 另外, Ejsing等^[43]报道了一种采用 D_3 -碘甲烷作为标记试剂的长链碱(Long-chain bases, LCBs)衍生化MS分析方法, 衍生化产物能够产生特征子离子. 采用该方法实现了区别检测3-酮鞘氨醇类脂质代谢物与其他同分异构体鞘氨醇类脂质分子.

3.4 基于化学衍生化提高磷脂类鸟枪法脂质组学MS分析性能

2005年, Han等^[44]提出了采用9-芴甲基碳酰氯(FMOC-Cl)作为衍生化试剂, 对生物组织中的PEs和lyso-PEs脂质分子的氨基进行衍生化的方法. 脂质衍生化产物带有负电荷, 在MS负离子模式下进行鸟枪

法脂质组学分析时,容易产生含有FMOC母核的特异性中性丢失,不但带来了灵敏度的提高,而且实现了衍生物与其他未被衍生的脂质化合物的分离,避免了在同一个质荷比区间内的干扰或同分异构体的重叠问题.与他们之前报道的方法相比,灵敏度提高了100倍以上,线性动态范围达15000倍以上.这一方法显著提高了MS鸟枪法脂质组学分析对低丰度脂质分子的覆盖率,同时为实现多种脂质化合物(特别是分子量相近或同分异构体脂质)的同时检测及定量提供了一种新的策略.该方法是较早报道的基于化学衍生化提高鸟枪法脂质组学MS分析性能的策略.

4 醛酮类脂质的化学衍生化靶向分析

4.1 4-羟基烯醛类脂质过氧化产物的原位衍生鸟枪法MS分析

4-羟基烯醛类化合物是多不饱和脂肪酸的脂质过氧化产物,被誉为细胞内的“毒性第二信使”.缺乏灵敏、可靠的分析鉴定和定量测定方法一直是细胞生物学相关研究中的瓶颈之一. Han研究组^[45]基于迈克尔加成反应,用肌肽作为衍生化试剂可与生物样本提取物中的4-羟基烯醛类化合物在温和的条件下反应(37°C, 24 h),衍生化产物经鸟枪法进行分析.该方法重现性好,线性动态范围达3个数量级,定量下限低至0.56 fmol/ μ L,并成功应用于小鼠心、肝、肾、肌肉组织中4-羟基烯醛类化合物的测定,为生物样本中相关化合物的测定提供了一种有效的方法.

4.2 醛酮脂质过氧化产物的稳定同位素标记衍生化MS分析

2016年, Zhang研究组^[44]报道了一种采用一对SILD试剂 d_0/d_{20} -2,4-二(二乙氨基)-6-胍基-1,3,5-三嗪(T3/D3)对脂肪醛进行衍生化,然后用LC-MS/MS (MRM)进行分析的方法. T3/D3与脂肪醛的衍生化条件温和(37°C, 15 min),具有良好的生物相容性,有利于高效标记生物样本中醛类化合物,方法检出限低至0.1~1 pg/mL.该方法成功应用于双侧颈总动脉痴呆大鼠与正常对照大鼠血浆和脑组织中脂肪醛轮廓分析,检测到超过80种脂肪醛.统计分析结果表明,其中几十种在痴呆模型组和正常对照组大鼠之间差异性显著.这些发现有利于进一步研究内源性脂肪醛在相关生物学问题中的作用.

2017年, Feng研究组^[46]报道了一种基于SILD技术分析羰基化合物的MS方法.采用4种衍生化试剂: d_0/d_7 -2-(2-胍基-2-乙酰)异喹啉溴噻(HIQB)、 N,N,N -三乙基-2-乙酰胍溴噻(THB)、吉拉德试剂T(GT)、吉拉德试剂P(GP)处理样品,然后进行MS分析,发现 d_0/d_7 -HIQB衍生化羰基化合物具有最高的检测灵敏度. d_0 -HIQB和 d_7 -HIQB标记的羰基化合物在MS碰撞诱导解离作用下分别产生两个含有同位素标签的特征产物离子: m/z 130.1和 m/z 137.1,故可采用双母离子扫描模式(DPIS模式)进行MS分析.采用该方法对人类血清进行检测,发现了156种潜在的羰基化合物,其中12种用标准品对照进行了确认.进一步采用该稳定同位素标记衍生化策略,联合靶向HPLC-MRM模式,对白血病人和正常人血清中的羰基化合物进行了相对定量分析(差异性分析).结果表明,在白血病人和正常人血清中有44种羰基化合物具有显著性差异,这些羰基化合物在白血病发病机理中可能具有重要作用.

5 类固醇类脂质的化学衍生化靶向分析

5.1 类固醇稳定同位素标记衍生化MS分析

Feng研究组^[47]于2016年报道了采用吉拉德试剂P(GP)和 d_5 -吉拉德试剂P(d_5 -GP)作为“轻”“重”SILD试剂标记雄激素和孕激素类固醇的LC-ESI-MS/MS分析方法.以 d_5 -GP类固醇标准品衍生物作为内标物进行HPLC-MRM检测,大大降低了基质效应,显著提高了灵敏度和准确度,这得益于衍生化试剂携带的分子内正电荷.与未经衍生化直接检测类固醇的方法相比,该方法的离子化效率提高了4~504倍.应用该方法分析人类卵泡样品中的类固醇发现,与健康对照组相比,多囊卵巢综合症患者卵泡内睾酮和雄烯二酮的含量显著增加,而孕烯醇酮的含量显著降低.这些类固醇激素与可能导致多囊卵巢综合症的发病机理有潜在关系.

Higashi等^[48]报道了一种采用2-胍基-1-甲基-吡啶噻(HMP)和2-胍基-1- 2H_3 甲基-吡啶噻(d -HMP)作为“轻”“重”SILD试剂标记神经类固醇,然后用LC-ESI-MS/MS进行相对定量/绝对定量的方法.基于脑神经类固醇在生理、病理、抗精神疾病药物研究等方面的重要作用,在相对定量方法中,对照组大鼠脑样品采用轻标HMP衍生化,而压力干预并给药组大鼠脑样品采用重标 d -HMP衍生化,上述两类衍生物等体积混

合后进行质谱分析. 在绝对定量方法中, 重标d-HMP对类固醇标准品进行衍生化, 轻标HMP对实际样品进行衍生化, 衍生物溶液混合后进行定量分析. 该方法的灵敏度、准确度、精密度均优于同类方法. 此外, Higashi等^[49]于2016年综述了提高生物样本中类固醇的LC/ESI-MS/MS检测灵敏度的衍生化试剂及方法.

Dai等^[50]的工作研究了尿液中多种类固醇的SILD LC-MS/MS (MRM)定量分析方法. 不同于上述两个研究工作针对类固醇羰基进行衍生化, 该方法是针对类固醇含有的羟基进行衍生化, 合成一对“轻”“重”同位素标记衍生化试剂: H_4 -4-(二甲氨基)-苯甲酸(DMBA)和 2H_4 -4-(二甲氨基)-苯甲酸(d_4 -DMBA), SILD定量分析原理同上. 该方法测定了24种类固醇类化合物的检出限低至亚ng/mL水平(个别类固醇如雌酮和 16α -羟雌酮检出限低至5 pg/mL). 该方法已成功应用于男性、女性、孕妇尿液中游离类固醇的相关研究.

5.2 基于化学衍生化提高类固醇的MS分析性能

胆固醇及其代谢物的定量分析在内分泌紊乱疾病的诊断及临床药物研究方面具有重要意义. 我们采用自行合成的衍生化试剂4'-羧基罗丹明(CSR, 合成及衍生化反应见图2), 以及超声辅助-分散液液微萃取联合微波辅助衍生化技术, 实现了生物样本中胆固醇代谢通路上的6种含有羟基类固醇的高灵敏UHPLC-MS/MS (MRM)定量分析^[51]. 衍生化试剂CSR因含有一个分子

内永久正电荷, 提高了类固醇衍生物的MS检测灵敏度, 检出限达0.08~0.15 pg/mL, 该方法成功应用于男性、女性(包括孕妇)的血浆、血清、尿液中游离类固醇的测定.

基于罗丹明含有分子内正电荷可显著提高MS检测灵敏度的优势, 我们还制备了一种罗丹明类衍生化试剂: *N*-羟基琥珀酰亚胺罗丹明B活性酯(RB-S)^[52], 用于标记代表性的磷脂酰乙醇胺标准品PE (16:0 18:1), 并考察了其衍生物的MS检测灵敏度及MS/MS碎片离子特征. 结果表明, RB-S衍生化策略与直接检测相比, 灵敏度提高了约50~100倍(按峰面积计算), MS/MS裂解特异性强, 能够产生非常强的罗丹明母体结构的报告离子(图3), 这为下一步设计、合成罗丹明类SILD试剂奠定了基础.

6 其他重要脂质的化学衍生化靶向分析

6.1 单甘脂类异构体的低温衍生鸟枪法MS分析

单甘脂类化合物是重要的脂质代谢物, 参与脂质合成、分解代谢、信号传递. 单甘脂类分子定量分析的困难之处在于 α -羟酰基迁移作用导致的分子内快速异构化. Gross研究组采用甲基叔丁基醚提取脂质, 用醋酸酐作为衍生化试剂, 4-(二甲氨基)-吡啶作为催化剂, 在-20℃氯仿中衍生反应30 min完成反应^[53]. 低温下的衍生化反应保留了羟基的位置特异性, 降低了分

图2 4'-羧基罗丹明(CSR)合成以及与类固醇的衍生化反应(网络版彩图)

图3 磷脂酰乙醇胺PE (16:0 18:1) RB-S衍生物的MS、MS/MS及其碎裂模式(网络版彩图)

子内异构化作用,采用鸟枪法MS可进行生物样本中相关单甘脂类异构体化合物的结构鉴定和定量测定.二乙酰化的单甘脂衍生物分子容易与铵根离子形成加合物,在正离子模式下检测灵敏度在 $\text{fmol}/\mu\text{L}$ 水平,对多种生物样本中单甘脂类异构体化合物轮廓分析、结构鉴定及定量测定结果令人满意.

6.2 二酰基甘油类脂质分子的衍生化质谱分析

Han研究组^[54]提出了一种采用 N,N -二甲基甘氨酸(DMG)作为衍生化试剂,对二酰基甘油类脂质分子中的羟基进行温和、快速的一步衍生化方法.然后采用鸟枪法多维MS技术,能够实现生物样本脂质提取物中多种二酰基甘油类脂质及其同分异构体的结构鉴定和定量测定.这种方法的定量下限可达 $\text{amol}/\mu\text{L}$ 水平,这得益于衍生产物分子中含有衍生试剂带来的叔胺氮极易在酸性溶液中质子化,显著增强了正离子模式ESI-MS检测的灵敏度.

7 结论与展望

在基于化学衍生化的靶向脂质组学MS分析方法

开发与应用领域,衍生化试剂的合成,特别是稳定同位素标记衍生化试剂的设计、合成是关键技术之一.虽然已报道的SILD试剂为MS分析提供了新的思路,但存在的问题也比较突出:(1)已报道的SILD试剂较少;(2)不易合成或同位素原料昂贵;(3)同位素标签设计与MS/MS碎片特异性在MS结构解析中的关联性有待提高;(4)衍生化反应条件苛刻且不具备生物兼容性;(5)有些SILD试剂的色谱分离性能欠佳.因此,继续探索合成具有更优异性能的SILD试剂,提高MS分析的离子化效率,在靶向脂质组学分析中具有重要的意义.纵观近年来国内外学者相关研究情况,并结合在该领域的研究经验,我们认为SILD试剂的设计、合成应考虑以下6个问题:(1)合适的分子刚性结构;(2)较高的质子亲和势(含N、O、S等原子)或带有分子内正电荷(极少数负离子检测模式不在此列);(3)合成原料与同位素原料廉价易得;(4)合成及纯化条件不苛刻;(5)衍生化反应快速高效且具有生物兼容性;(6)衍生化反应具有专一性,衍生产物稳定且MS/MS碎片信息丰富,副产物及过量衍生化试剂不干扰分离与检测等.我们相信,新的衍生化试剂的合成与应用,必将进一步推动脂质组学的发展.

参考文献

- 1 Han X, Gross RW. *J Lipid Res*, 2003, 44: 1071–1079
- 2 Han X. *Nat Rev Endocrinol*, 2016, 12: 668–679
- 3 Ryan E, Reid GE. *Acc Chem Res*, 2016, 49: 1596–1604
- 4 Cajka T, Fiehn O. *Anal Chem*, 2016, 88: 524–545
- 5 Li M, Yang L, Bai Y, Liu H. *Anal Chem*, 2014, 86: 161–175
- 6 Wang M, Wang C, Han RH, Han X. *Prog Lipid Res*, 2016, 61: 83–108
- 7 李琳, 张阳阳, 赵镇文. 中国科学: 化学, 2014, 44: 732–738

- 8 Chen S, Kong H, Lu X, Li Y, Yin P, Zeng Z, Xu G. *Anal Chem*, 2013, 85: 8326–8333
- 9 Luo P, Dai W, Yin P, Zeng Z, Kong H, Zhou L, Wang X, Chen S, Lu X, Xu G. *Anal Chem*, 2015, 87: 5050–5055
- 10 Zhao S, Luo X, Li L. *Anal Chem*, 2016, 88: 10617–10623
- 11 Chua ECP, Shui GH, Lee ITG, Lau P, Tan LC, Yeo SC, Duyen Lam B, Bulchand S, Summers SA, Puvanendran K, Rozen SG, Wenk MR, Gooley JJ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 14468–14473
- 12 Nie H, Liu R, Yang Y, Bai Y, Guan Y, Qian D, Wang T, Liu H. *J Lipid Res*, 2010, 51: 2833–2844
- 13 Wang H, Xu J, Chen Y, Zhang R, He J, Wang Z, Zang Q, Wei J, Song X, Abliz Z. *Anal Chem*, 2016, 88: 3459–3464
- 14 Tie C, Hu T, Jia ZX, Zhang JL. *Anal Chem*, 2016, 88: 7762–7768
- 15 Hewelt-Belka W, Nakonieczna J, Belka M, Bączek T, Namieśnik J, Kot-Wasik A. *J Chromatogr A*, 2014, 1362: 62–74
- 16 Yin P, Xu G. *J Chromatogr A*, 2014, 1374: 1–13
- 17 Theodoridis GA, Gika HG, Want EJ, Wilson ID. *Anal Chim Acta*, 2012, 711: 7–16
- 18 Cajka T, Fiehn O. *TrAC Trend Anal Chem*, 2014, 61: 192–206
- 19 Qi BL, Liu P, Wang QY, Cai WJ, Yuan BF, Feng YQ. *TrAC Trend Anal Chem*, 2014, 59: 121–132
- 20 Gika HG, Theodoridis GA, Plumb RS, Wilson ID. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2014, 87: 12–25
- 21 Thomas MC, Mitchell TW, Blanksby SJ. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 58–59
- 22 Zhang JI, Tao WA, Cooks RG. *Anal Chem*, 2011, 83: 4738–4744
- 23 Kwon Y, Lee S, Oh DC, Kim S. *Angew Chem*, 2011, 123: 8425–8428
- 24 Pham HT, Maccarone AT, Campbell JL, Mitchell TW, Blanksby SJ. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2013, 24: 286–296
- 25 Ma X, Xia Y. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 2592–2596
- 26 Ma X, Chong L, Tian R, Shi R, Hu TY, Ouyang Z, Xia Y. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 2573–2578
- 27 Ma X, Zhao X, Li J, Zhang W, Cheng JX, Ouyang Z, Xia Y. *Anal Chem*, 2016, 88: 8931–8935
- 28 Stinson CA, Xia Y. *Analyst*, 2016, 141: 3696–3704
- 29 Bollinger JG, Naika GS, Rohan G, Sadilek M, Gelb MH. *J Lipid Res*, 2013, 54: 3523–3530
- 30 Wang M, Han RH, Han X. *Anal Chem*, 2013, 85: 9312–9320
- 31 Yang K, Dilthey BG, Gross RW. *Anal Chem*, 2013, 85: 9742–9750
- 32 Mok HJ, Lee JW, Bandu R, Kang HS, Kim KH, Kim KP. *RSC Adv*, 2016, 6: 32130–32139
- 33 Kloos D, Lingeman H, Mayboroda OA, Deelder AM, Niessen WMA, Giera M. *TrAC Trends Anal Chem*, 2014, 61: 17–28
- 34 欧阳玥, 孙晓红, 闫静, 褚金芳, 闫存玉. 科学通报, 2013, 27: 2762–2778
- 35 Bruheim P, Kvitvang HFN, Villas-Boas SG. *J Chromatogr A*, 2013, 1296: 196–203
- 36 Higashi T, Ogawa S. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 130: 181–193
- 37 Narayana VK, Tomatis VM, Wang T, Kvaskoff D, Meunier FA. *Chem Biol*, 2015, 22: 1552–1561
- 38 Tie C, Hu T, Zhang XX, Zhou J, Zhang JL. *Analyst*, 2014, 139: 6154–6159
- 39 Wasslen KV, Canez CR, Lee H, Manthorpe JM, Smith JC. *Anal Chem*, 2014, 86: 9523–9532
- 40 Phaner CJ, Liu S, Ji H, Simpson RJ, Reid GE. *Anal Chem*, 2012, 84: 8917–8926
- 41 Canez CR, Shields SWJ, Bugno M, Wasslen KV, Weinert HP, Willmore WG, Manthorpe JM, Smith JC. *Anal Chem*, 2016, 88: 6996–7004
- 42 Cai T, Shu Q, Liu P, Niu L, Guo X, Ding X, Xue P, Xie Z, Wang J, Zhu N, Wu P, Niu L, Yang F. *J Lipid Res*, 2016, 57: 388–397
- 43 Ejsing CS, Bilgin M, Fabregat A. *PLoS One*, 2015, 10: e0144817
- 44 Han X, Yang K, Cheng H, Fikes KN, Gross RW. *J Lipid Res*, 2005, 46: 1548–1560
- 45 Wang M, Fang H, Han X. *Anal Chem*, 2012, 84: 4580–4586
- 46 Guo N, Peng CY, Zhu QF, Yuan BF, Feng YQ. *Anal Chim Acta*, 2017, 967: 42–51
- 47 Guo N, Liu P, Ding J, Zheng SJ, Yuan BF, Feng YQ. *Anal Chim Acta*, 2016, 905: 106–114
- 48 Higashi T, Aiba N, Tanaka T, Yoshizawa K, Ogawa S. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 117: 155–162
- 49 Higashi T, Ogawa S. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2016, 162: 57–69
- 50 Dai W, Huang Q, Yin P, Li J, Zhou J, Kong H, Zhao C, Lu X, Xu G. *Anal Chem*, 2012, 84: 10245–10251
- 51 Zhao XE, Yan P, Wang R, Zhu S, You J, Bai Y, Liu H. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2016, 30: 147–154
- 52 Meng Q, Yu M, Zhang H, Ren J, Huang D. *Dyes Pigment*, 2007, 73: 254–260
- 53 Yang K, Dilthey BG, Gross RW. *Anal Chem*, 2016, 88: 9459–9468
- 54 Wang M, Hayakawa J, Yang K, Han X. *Anal Chem*, 2014, 86: 2146–2155

Advances in chemical derivatization-based targeted lipidomics by mass spectrometric analysis

Xian-En Zhao^{1,2}, Yu Bai¹, Huwei Liu^{1*}

¹ Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

² College of Chemistry and Chemical Engineering, Qufu Normal University, Qufu 273165, China

*Corresponding author (email: hwliu@pku.edu.cn)

Abstract: Lipidomics plays a significant role in the related studies of some serious diseases such as cardiovascular disease, diabetes and tumor, that has become a hot area of life science. Mass spectrometry is currently one of the core methods for lipidomics study. The strategy of chemical derivatization can remarkably improve the performance of mass spectrometric technologies for both shotgun and liquid chromatography-mass spectrometry-based lipidomics, and some interesting results have been reported. Therefore, this review will focus on the research progress in chemical derivatization-based targeted lipidomics by shotgun method and liquid chromatography-mass spectrometry, and the current problems as well as prospects in this area are also discussed. It should be helpful for the design and synthesis of new derivatization reagents, especially the stable isotope labeling derivatization reagents. The development and applications of new chemical derivatization strategies will provide useful techniques for lipidomics research.

Keywords: lipidomics, mass spectrometry, chemical derivatization, stable isotope labeling, fatty acids, phospholipids

doi: [10.1360/N032017-00121](https://doi.org/10.1360/N032017-00121)