

液质联用技术 (LC-MS) 在脂质组学中的应用进展

▶刘健安 李书沐

(分析测试中心质谱组 Email:lja@iccas.ac.cn)

摘要: 脂质组学 (Lipidomics) 作为系统生物学的重要组成部分, 侧重于研究生物系统内全谱脂质的结构与功能。由于脂质分子具有极高的化学多样性和广泛的浓度跨度, 对其进行精确分析极具挑战。液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 技术通过高效的物理化学分离与高灵敏度的质量检测, 已成为当前脂质组学研究的首选平台。本文系统综述了 LC-MS 的关键技术环节, 包括样品前处理、色谱分离模式、质谱鉴定策略, 并详细探讨了其在临床生物学中的前沿应用。

一、引言

脂质不仅是细胞膜的结构支架和能量储存载体, 更是信号传导路径中的核心小分子。根据 LIPID MAPS 系统分类, 脂质可分为脂肪酰、甘油酯、甘油磷脂、鞘脂、固醇脂等八大类。在生物体内, 由于脂肪酸链长度、不饱和键位置及空间构型的不同, 脂质异构体数量可达数十万种。传统的分析方法难以实现如此复杂体系的覆盖, 而 LC-MS 技术解决了“分离”与“鉴定”的双重难题^[1,2]。

二、样品前处理: 脂质组学的基石

在 LC-MS 分析之前, 如何从复杂的生物样本 (如组织、血浆、细胞) 中高效提取脂质至关重要。

2.1 经典液液萃取:

Folch 法与 Bligh-Dyer 法^[3]: 使用氯仿/甲醇/水体系。氯仿层处于下层, 虽然提取效率高, 但在自动化移液操作中容易吸收到中间层的蛋白质杂质。MTBE 法: 由 Matyash 等人提出, 使用甲基叔丁基醚。由于 MTBE 层 (有机相) 处于上层, 极大地便利了自动化高通量提取^[4]。

2.2 固相萃取:

用于针对性富集特定类别的脂质, 如利用氨基键合硅胶柱富集中性脂质或酸性磷脂。

2.3 衍生化技术:

用于针对某些离子化效率较低的脂质 (如胆固醇或某些脂肪酸), 通过化学

衍生化引入易离子化的基团，可将检测灵敏度提高 10-100 倍。

三、液相色谱分离模式的选择与优化

色谱分离是减少质谱共流出干扰、区分异构体的关键。

3.1 反相色谱 (RPLC)

RPLC 是目前应用最广的分离方式。通常采用 C18 或 C8 填充柱^[5]。分离机制：脂质根据其疏水性的脂肪酸链进行分离。脂肪酸链越长，保留时间越长；双键数量越多（不饱和度越高），保留时间越短。优势：RPLC 对甘油三酯 (TG) 和磷脂 (PL) 具有极佳的分离能力，且流动相（通常为乙腈/异丙醇/水，含甲酸铵）与质谱兼容性极好。

3.2 亲水作用色谱 (HILIC)

分离机制：根据脂质极性头部基团 (Headgroup) 进行分离^[6]。应用：同一类别的脂质（如所有 PC）会在相近的时间洗脱。这对于快速类别定量非常有用，因为它可以消除由于脂肪酸链长度不同导致的基质效应差异。

3.3 超高效液相色谱 (UHPLC)

UHPLC 使用粒径小于 2 μm 的填料，在极高压力下运行。相比传统 HPLC，UHPLC 极大地提升了峰容量，使原本在色谱图上重叠的脂质信号得以分开，是处理高复杂度生物样本的必备工具。

四、质谱鉴定策略与数据处理

4.1 离子化方式

电喷雾电离 (ESI) 是脂质组学的核心技术。正离子模式通常用于检测 PC、PE、TG（形成 $[M+H]^+$ 或 $[M+NH_4]^+$ ），负离子模式则擅长检测 FA、PI、PS 和 PG^[3]。

4.2 数据采集模式

非靶向 (Discovery Lipidomics)：利用 Q-TOF 或 Orbitrap 进行数据依赖型采集 (DDA) 或数据非依赖型采集 (DIA)。其目标是尽可能覆盖所有脂质信号^[7]。

靶向 (Targeted Lipidomics)：利用三重四极杆 (QQQ) 进行多反应监测 (MRM)。通过选定特定的母离子和特征碎片离子对，实现极高的定量准确度和动态范围。

4.3 结构鉴定的深度

目前的挑战在于确定双键的精确位置。新兴的技术如臭氧诱导解离 (OzID)

或紫外光解离 (UVPD) 正在被整合进 LC-MS 流程中, 用于定位脂质分子内 C=C 双键的具体位置^[8]。

五、LC-MS 在生物医学研究中的应用

5.1 慢性代谢性疾病

在糖尿病和肥胖研究中, LC-MS 揭示了神经酰胺 (Ceramide) 与胰岛素抵抗之间的直接联系。研究发现, 血浆中特定长度脂肪酸链的神经酰胺水平可作为心血管事件风险的独立预测指标。

5.2 肿瘤脂质组学

癌细胞为了满足快速增殖的需求, 会进行剧烈的脂质重构。通过 LC-MS 分析, 研究者发现肿瘤组织中饱和脂肪酸磷脂的比例显著升高, 这增加了膜的刚性并帮助癌细胞逃避氧化应激诱导的细胞凋亡。

5.3 神经科学

大脑是人体中脂质含量最高、最复杂的器官之一。LC-MS 被广泛用于阿尔茨海默症 (AD) 患者脑脊液的筛查, 发现了缩醛磷脂 (Plasmalogens) 水平的显著下降, 为疾病的早期诊断提供了潜在标志物。

六、结论与未来展望

目前, 质谱组有 LC-MS 相关仪器三台, 分别为 Thermo Fusion LUMOs, Waters Xevo G2-XS TOF, Bruker Compact, 并搭载不同数据库可做交叉比对。可以使用 Fusion LUMOs 对血液样本, 尿液样本, 细胞提取液等类型生物样本进行处理分析, 得到其中代谢物, 脂质的种类和含量信息, 用于进行某些特定疾病的早期诊断和相关标志物的筛选。

LC-MS 技术已将脂质组学推向了精细化研究的高度。然而, 未来的发展仍需解决以下问题: 空间脂质组学: 将质谱成像 (MSI) 与 LC-MS 结合, 在保持结构鉴定能力的同时, 获取脂质在组织中的空间分布信息。^[9]多组学整合: 将脂质组数据与基因组、蛋白质组数据进行关联建模, 构建完整的代谢调控网络。单细胞脂质组学: 开发极微量样本的处理技术, 以探索单细胞层面的脂质异质性。总之, 随着硬件分辨率的提升和生物信息学算法的不断完善, LC-MS 将继续为脂质组学在分子生物学, 新材料的生物学应用等方向提供深度支持。

参考文献:

- 1.Wenk, M. R. Lipidomics: new tools and applications. *Cell*, **2010** , 143(6), 888.
- 2.Sud, M., et al. LIPID MAPS-nature lipidomics gateway. *Nucleic Acids Research*, **2007** ,35, D527.
- 3.Han, X., & Gross, R. W. Global analyses of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry. *Journal of Lipid Research*, **2003**, 44, 1071.
- 4.Matyash, V., et al. Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics. *Journal of Lipid Research*, **2008** , 49, 1137.
- 5.Cajka, T., & Fiehn, O. Comprehensive analysis of lipids in biological systems by liquid chromatography-mass spectrometry. *Trends in Analytical Chemistry*, **2014**, 61, 192.
- 6.Zheng, L., et al. Liquid chromatography-mass spectrometry based metabolomics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2010**, 52, 747.
- 7.Köfeler, H. C., et al. High-resolution mass spectrometry-based lipidomics: From guidelines to confidence strategy. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. **2012**
- 8.Poad, B. L., et al. Ozone-induced dissociation on a traveling wave ion guide: Determination of double-bond positions in lipids. *Analytical Chemistry*, **2018**, 90, 1292.
- 9.Murphy, R. C., et al. Imaging specific lipids by mass spectrometry: a new frontier. *Journal of Lipid Research*, **2015**, 56, 1634.

致谢:

感谢分析测试中心丁丽萍老师对稿件的多次审读和编辑加工!