

邀 请 报 告

复杂样品快速检测前处理技术研究进展

夏凌, 胡玉斐, 张卓旻, 肖小华, 李攻科*

中山大学化学学院, 广东省广州市, 510275

*E-mail: cesgkl@mail.sysu.edu.cn

关键词: 复杂样品; 样品前处理; 快速检测; 研究进展。

样品前处理作为分析过程中最耗时、易引起误差的关键环节, 严重制约了复杂样品快速检测的速度、准确度和精密度。样品制备是将被分析物从样品基体转移到定性、定量评价的过程, 因其在物理、化学、生物性质上的差异, 应具有较好的适用性。从混沌到有序, 这种传质过程不会自动发生, 加速样品制备的策略是如何使热力学第二定律的自发过程逆转并快速定量进行。为提高样品制备效率, 包括分离和富集过程, 必须在传质系统中引入能量以减少熵增。通过引入新相、膜和场, 改变系统中化学势的分布, 是降低系统熵, 提高制样效率有效途径。随着快速灵敏检测系统的发展, 快速样品制备技术成为快速检测的瓶颈[1]。首先, 为提高样品制样速度, 在样品制备过程中引入额外的能量有助于加速传质和换热, 利用声波、微波和电场等辅助场, 可提高样品制样效率[1]。其次, 通过引入新相(介质)加速制样过程中传质, 包括相吸附、相分配、化学转化、空间识别以加速传质[2]。第三, 缩小样品量是直接缩短样品制备时间有效方式, 包括微萃取、微流体分离等[3]。第四, 阵列/集成策略, 可同时完成一批样品的制备, 结合高通量分析技术可减少单样的平均制备时间。通过联用技术实现分离、富集、净化与检测步骤一体化加快检测速度[4-5]。本文综述了复杂样品快速检测中场辅助、相分离、衍生化、微量化、阵列化和集成化等样品制备的加速策略。

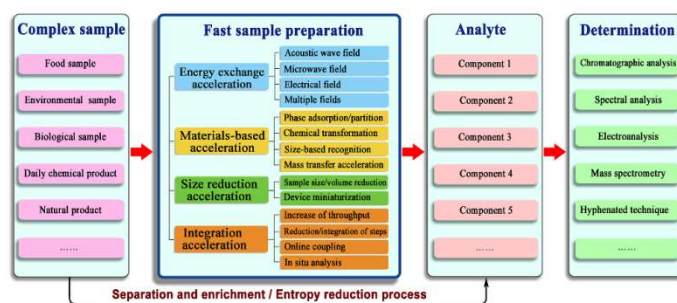


Fig.1 Fast Sample Preparation Techniques for Rapid Analysis[1]

参考文献

1. Xia L.;Yang J.N.; Su R.H; Zhou W.J.; Zhang Y.S.; Zhong Y.H.;Huang S.M.; Chen Y.L.; Li G.K. Analytical Chemistry, 2020, 92:34-48.
2. Zhang H.D.; Lai H.S.; Wu X.R.; Li G.K.; Hu Y.F. Analytical Chemistry, 2020, 92:4607-4613.
3. Xia L.; Li Y.X.; Liu Y.L.; Li G.K.; Xiao X.H. Journal of Separation Science,2020,43(1): 189-201.
4. Chen Z.Y.; Li G.K.; Zhang Z.M. Analytical Chemistry, 2017, 89:9593-9600.
5. Yang J.N.; Xiao X.H.; Xia L.; Li G.K.; Shui L.L. Analytical Chemistry, 2021, 93:8273-8280.

基于共价有机骨架吸附材料的食品有害化学物质的分离分析

陈安¹, 郭洪影¹, 何锡文¹, 陈朗星^{1,*}, 张玉奎^{1,2}

1 南开大学化学学院, 天津, 300071 邮编

2 中国科学院大连化学物理研究所, 大连, 116023

*E-mail: lxchen@nankai.edu.cn

关键词: 共价有机骨架, 磺胺, 氨基甲酸酯, 固相萃取, 食品

近年来, 食品安全领域中滥用农药、抗生素等危害到人民健康和社会稳定。因此, 为保障我国人民的身体健康、需要发展有效监控化学有害因子在食品中残留量的分析方法。食品中目标物分析面临样品基质复杂, 分析物含量低等技术瓶颈和难题。发展有效的样品前处理分离富集技术, 消除基质干扰, 提高分析物的浓度是实现复杂样品分析的关键步骤。共价有机骨架(COFs)是一类新型的多孔结晶聚合物材料, 具有密度低、孔径均匀可调、比表面大、易于功能化、稳定性好等优点。近年来, 基于COFs的固相吸附剂在食品中污染物的分离与检测方面表现出较大的应用潜力[1-4]。

本论文中我们合成了三种COFs吸附剂用于食品中化学有害物质的分离分析。(1) 以静电纺丝技术制备了聚丙烯腈(PAN)和共价有机框架材料(COFs)Tp-BD的复合纳米纤维, 将其作为一种新型的薄膜固相微萃取材料用于分离富集肉类样品中7种磺胺类药物。(2) 通过溶剂热法合成了一种亚胺类COF(COF-TpDb)材料, 并将其作为固相萃取填料, 结合HPLC-UV技术, 建立了蔬菜中氨基甲酸酯类农药的检测方法。(3) 将磁性纳米粒子(Fe_3O_4 NPs)作为基底材料, 与COFs材料结合, 合成具有强磁响应、稳定性好和吸附容量大的功能化磁性多孔材料, 发展一种基于硝基功能化磁性共价有机框架材料($\text{Fe}_3\text{O}_4@$ COF-(NO_2)₂)作为吸附剂的HPLC分析检测方法, 将所建立的方法用于蔬菜样品中6种新烟碱类杀虫剂的富集和检测分析。

参考文献

- [1] P.J. Waller, F. Gandara, O.M. Yaghi, Chemistry of Covalent Organic Frameworks. Accounts of Chemical Research, 2015, 48(12): 3053-3063.
- [2] K. Geng, T. He, R. Liu, S. Dalapati, K.T. Tan, Z. Li, S. Tao, Y. Gong, Q. Jiang, D. Jiang, Covalent Organic Frameworks: Design, Synthesis, and Functions. Chemical Reviews, 2020, 120(16): 8814-8933.
- [3] J.J. Feng, J.Q. Feng, X.P. Ji, C.Y. Li, S. Han, H.L. Sun, M. Sun, Recent advances of covalent organic frameworks for solid-phase microextraction. TrAC Trends Analytical Chemistry, 2021, 137:116208.
- [4] Q.Q. Wang, T. Gao, L. Hao, Y.X. Guo, W.H. Liu, L.Y. Guo, C. Wang, Z. Wang, Q.H. Wu, Advances in magnetic porous organic frameworks for analysis and adsorption applications. TrAC Trends Analytical Chemistry, 2020, 132: 116048.

纳米材料生物组织亚器官质谱成像研究

聂宗秀*

单位：中国科学院化学研究所，城市：北京，邮编：100190

*E-mail:znjie@iccas.ac.cn

关键词：纳米材料、生物组织、质谱成像

纳米材料作为有保护药物小分子在血液循环中不被快速清除、克服生理屏障、特异性地在肿瘤区域蓄积等，成为药物载体研究的热点。传统的分析技术存在空间分辨率有限、贴标过程复杂、难以同时跟踪纳米载体和药物等问题。我们发展了一种通用、免标记纳米颗粒在生物组织中的质谱成像及药物原位释放新方法，使用激光脱附电离质谱成像（LDIMSI）方法，通过在生物组织内同时追踪纳米载体和药物的质谱信号，实现纳米材料及药物释放行为的研究。在激光剥蚀下同时产生的质谱指纹峰来追踪纳米载体和药物在体内的分布，无需任何标签，且不受生物体内源性的分子干扰，通过原位监测纳米载体和药物的质谱指纹峰强度比值的变化得到定量测量，发现了在正常和肿瘤模型小鼠中，药物在组织间和组织内的释放呈现组织依赖性。

参考文献：

1. X. Huang, H.H. Liu, D.W. Lu, Y. Lin, J.F. Liu, Q. Liu*, Z.X. Nie* and G.B. Jiang, Chem. Soc. Rev. 2021, 50 5243-5280.
2. J. Han, X. Huang, H.H. Liu, C.Q. Xiong*, and Z.X. Nie*, Chem. Sci., 2019, 10, 10958-10962.
3. J. Xue, H. Liu, S.M. Chen*, C.Q. Xiong*, L. Zhan, and Z.X. Nie*, Science Advances, 2018, 4, eaat9039.
4. C.Q. Xiong, Q. He, X. Huang, W.-P. Peng, H.-C. Cheng, and Z.X. Nie*, Anal. Chem. 2016, 88, 11913.
5. S.M. Chen, C.Q. Xiong, H.H. Liu, Q.Q. Wan, J. Hou, Q. He, A. Badu-Tawiah, and Z.X. Nie*, Nature Nanotech. 2015, 10, 176.

痕量有机污染物筛查与定量分析样品前处理方法

陈吉平

中科院大连化学物理研究所, 大连, 116023

*E-mail: chenjp@dicp.ac.cn

关键词: 固相萃取, 分子印迹, 树状大分子固定相, 高选择性, 新型有机污染物

正文: 由于对人类和生态环境的严重危害, 痕量有机污染物筛查与定量分析一直是环境科学研究的重点。由于环境介质的复杂性、痕量或超痕量的污染物浓度水平以及有机污染物组成复杂的特点, 发展高效的样品前处理方法成为对其进行准确定量分析的关键, 其中高效、高选择性的样品制备材料得到越来越广泛的重视和应用。针对高关注新型有机污染物, 我们研制出氧化镁、高效分子印迹类材料及树状大分子混合模式材料等一系列新型固相萃取材料, 并开展了它们在痕量有机污染物分析中的应用研究。(1) 由于氧化镁基固定相对高共平面芳构化合物具有优秀的分离选择性, 在相关样品富集或者净化过程中表现出独特的能力。基于氧化镁的新型固相萃取复合柱净化程序用于复杂样品中多氯萘和类二噁英多氯联苯的分析, 具有操作简单、分析周期短、吸附剂和溶剂用量少、成本低的优点[1]。(2) 发展了基于非印迹柱保留的超高选择性模板筛选技术, 获得 1-三对羟基苯基乙烷和酚酞两种高效双酚类替代模板, 建立了环境水、底泥、牛奶等复杂样品中双酚类物质的高效选择性富集净化方法, 不仅具有卓越的选择性净化能力, 而且解决了痕量分析中的模板泄露问题[2]; 利用皮克林乳液聚合方法, 首次制备了粒径均一可控、产量高的双酚类化合物表面分子印迹微球, 克服了传统本体聚合方法需研磨筛分、产量较低的缺点[3]。(3) 针对强极性离子型类污染物的分析难题, 制备了一系列树状大分子多机制固相萃取材料, 实现了复杂样品中更精细的酸性、中性和碱性组分的分离, 发展了多组分目标污染物同时分析技术, 主要包括环境水中酸中碱性药物污染物的分离分析[4], 以及人群暴露研究中酞酸酯类代谢物与双酚 A、类固醇激素三类环境激素的分离分析。由于超支化多机制固定相具有超高离子交换容量, 更少的吸附剂用量便可取得与商品化 Oasis MAX 相媲美的分离和净化效果。

参考文献:

1. F. Li, J. Jin, D.Q. Tan, J.Z. Xu, Dhanjai, Y.W. Ni, H.J. Zhang, J.P. Chen*. High performance SPE cleanup method coupled with GC-triple quadrupole mass spectrometry for analysis of polychlorinated naphthalenes and dioxin-like polychlorinated biphenyls in complex samples. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1448: 1-8.
2. X.L. Sun, J.C. Wang, Y. Li, J. Jin, J.J. Yang, F. Li, J.P. Chen*. Highly class-selective solid-phase extraction of bisphenols in milk, sediment and human urine samples using well-designed dummy molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1360: 9-16.
3. J.J. Yang, Y. Li, J.C. Wang, X.L. Sun, R. Cao, J.P. Chen*. Molecularly imprinted polymer microspheres prepared by Pickering emulsion polymerization for selective solid-phase extraction of eight bisphenols from human urine samples. *Anal. Chim. Acta* 2015, 872: 35-45.
4. C.N. Huang, Y. Li, J.J. Yang, J.Y. Peng, J. Tan, Y. Fan, L.X. Wang, J.P. Chen*. Hyperbranched mixed-mode anion-exchange polymeric sorbent for highly selective extraction of nine acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs for human urine, *Talanta*, 2018, 190: 15-22.

磁固相萃取用于元素及其形态分离分析

练鸿振*

生命分析化学国家重点实验室, 南京大学化学化工学院, 南京大学现代分析中心, 南京,
210023

*E-mail: hzlian@nju.edu.cn

关键词: 元素形态分析, 磁固相萃取, 纳米复合物, 有机-无机杂化, 离子印迹

随着对金属组学和毒理学研究的不断深入, 人们发现元素因其存在的方式不同, 表现出的活性和毒性也有所不同, 即元素的行为不仅取决于总量, 更重要的是取决于其存在形态, 因此对元素形态进行分离分析具有非常重要的意义[1,2]。然而, 由于元素形态的低赋存水平和高易变性, 在样品分析过程中, 实现元素形态的原生态、无扰动、高选择性分离分析是一个严峻的挑战。目前基于固相材料的分离技术如固相萃取(SPE)包括磁固相微萃取(MSPE)是元素形态分离的核心技术之一。磁性纳米材料具有良好的磁相应, 可迅速地从环境和生物样品中分离出来, 从而简化分离步骤, 缩短分离时间。尽管MSPE在有机分子和生物分子分离分析中已经受到广泛关注, 但用于元素形态的报道尚不多见。本文简单介绍近十年本课题组合成的几种有磁性纳米复合物及其在元素形态分离富集中的应用。

我们通过共沉淀法制备 Fe_3O_4 纳米粒子(MNPs), 利用四乙氧基硅烷(TEOS)的水解和缩合反应在MNPs表面包覆一层硅胶(Si-MNPs), 再将螯合试剂锌试剂(Zincon)通过酯化反应结合到硅胶层, 合成锌试剂修饰的硅胶包覆磁性 Fe_3O_4 核壳纳米复合物(Zincon-Si-MNPs)作为MSPE材料, 与石墨炉-原子吸收光谱(GF-AAS)联用分析饮用水和环境水样中痕量的Pb(II), 并进一步将这种材料用于总铬、Cr(III)形态的分离富集; 还利用TEOS在溶剂热法合成的MNPs表面包覆 SiO_2 层, 接着分别以硅烷化试剂3-巯基丙基三甲氧基硅烷(MPTMS)和3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES)对Si-MNPs进行功能化修饰, 制备了巯基化和氨基化磁性纳米复合物, 分别对As(V)和As(III)进行MSPE分离富集, 结合ICP-MS对饮用水和环境水样进行了分析。

为了提高磁性材料的稳定性, 我们将有机-无机杂化材料引入到磁性纳米复合物中。在制备辛基功能化 Fe_3O_4 纳米粒子时, 将正辛基三乙氧基硅烷(C_8 -TEOS)和TEOS同时与MNPs反应, 通过Sol-gel“一锅法”生成辛基功能化杂化层包覆的磁性纳米复合物, 再将水溶性的Sb(III)和Sb(V)转变为疏水性的吡咯烷二硫代甲酸(APDC)配合物, 实现了饮用水和环境水样中锑形态的MSPE分离富集。

为了提高分离富集的选择性, 我们又结合离子印迹(II)技术, 合成了磁性离子印迹聚合物(MIIP)。以TEOS和 γ -甲基丙烯酸三甲氧基硅烷(γ -MAPS)在

MNPs 表面“一锅法”合成乙烯基化的杂化材料 ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{HM}$), 然后以 1-烯基咪唑 (1-VI) 为功能单体, Au(III) 为模板离子, 二甲基丙烯酸乙二醇酯 (EDMA) 为交联剂, 偶氮二异丁腈 (AIBN) 为引发剂, 通过自由基聚合反应在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{HM}$ 表面制备了磁性金离子印迹聚合物 (Au(III)-MIIP), 结合 IIT-MSPE 和 ICP-MS 用于环境、地质和矿物样品中 Au(III) 的高选择性测定, 又在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{HM}$ 表面, 以丙烯酰胺 (AA) 为功能单体制备了稀土 Ce(III)-MIIP , 用于环境、地质和矿物样品中 Ce(III) 的高选择性测定。结果显示, 将杂化材料用作 Fe_3O_4 磁核和功能基团之间的插层, 提高了材料的机械和化学稳定性。另一方面, 由于具有立体的三维空穴和结合作用位点, 印迹聚合物可以高选择性地分离富集金属离子及其形态。

参考文献:

1. D.M. Templeton*, H. Fujishiro, Terminology of elemental speciation - An IUPAC perspective. *Coordination Chemistry Reviews*, 2017, 352: 424-431
2. R. Clough*, C.F. Harrington, S.J. Hill, Y. Madrid, J.F. Tyson, Atomic spectrometry update: Review of advances in elemental speciation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2020, 35: 1236-1278

环境与人体中磁性纳米颗粒的分离分析与表征

张庆华, 刘琳, 杨航, 张伟灿, 刘倩*, 江桂斌

中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京, 100085

*E-mail: qianliu@rcees.ac.cn

关键词: 磁性纳米颗粒, 大气细颗粒物, 空气污染, 磁性分离, 化学指纹

空气中磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒的长期暴露与多种心血管疾病及神经退行性疾病具有潜在的关联, 如心肌损伤、阿尔兹海默病等疾病。空气中的 Fe_3O_4 纳米颗粒有可能穿透肺泡进入血液循环系统, 或通过嗅觉神经通路进入大脑中。同时, Fe_3O_4 纳米颗粒是一种高毒性物质, 可以在生物体内催化生成强氧化性和反应活性的羟基自由基($\cdot\text{OH}$), 对机体造成严重损伤。但是, 目前仍缺乏可靠的 Fe_3O_4 纳米颗粒分析方法, 对大气中 Fe_3O_4 纳米颗粒的赋存状况及其来源还不清楚。

我们使用碱加热消解对 $\text{PM}_{2.5}$ 石英滤膜样品进行完全消解, 并利用3D打印技术设计和制造了一种自动循环磁性分离(CME)装置对消解后的样品进行高效的分离提取, 随后使用乙酸溶液对收集的磁性组分进行纯化, 得到纯净的 Fe_3O_4 颗粒物成分, 可直接用于后续的定量和表征。这种新颖的CME装置可以简化样品提取步骤、显著提高样品提取效率, 而乙酸纯化可以有效排除样品中单质铁、 Fe_2O_3 及其它铁盐等干扰。使用该方法对北京地区2016年 $\text{PM}_{2.5}$ 样品进行了分析, 发现空气中 Fe_3O_4 纳米颗粒浓度与 $\text{PM}_{2.5}$ 具有类似的季节变化趋势, 二者具有明显的正相关性。但是, Fe_3O_4 纳米颗粒在 $\text{PM}_{2.5}$ 中的丰度随着 $\text{PM}_{2.5}$ 浓度升高反而下降, 表明空气中 Fe_3O_4 纳米颗粒可能主要来自于一次污染源排放, 因此 $\text{PM}_{2.5}$ 的二次生成过程对 Fe_3O_4 的丰度具有稀释效应。对 Fe_3O_4 颗粒的形貌表征表明, 从 $\text{PM}_{2.5}$ 样品中提取到的 Fe_3O_4 颗粒主要为球形和不规则性颗粒; 机动车排放的 Fe_3O_4 颗粒中除了球形颗粒, 含有更多的不规则颗粒; 而从燃煤飞灰中提取到的 Fe_3O_4 颗粒, 粒径形貌较为均匀, 大多为球形颗粒。高分辨晶体结构、电子衍射及元素指纹表明空气中的 Fe_3O_4 纳米颗粒可能来自于高温燃烧过程, 且机动车和燃煤是空气中 Fe_3O_4 纳米颗粒的主要来源。

到目前为止, 磁性颗粒物还未受到任何政策监管或纳入空气污染标准中。一些措施可能能够有效降低这种污染物的排放和健康风险, 如在机动车尾气净化系统和燃煤电厂的除尘系统中增加针对磁性纳米颗粒的捕集单元、研发一些针对空气磁性颗粒的个人防护装备等。总之, 这种新型的空气污染物在未来的研究和政策制定中值得重点和优先关注。

参考文献:

1. Zhang, Q., et al. (2020). Separation and tracing of anthropogenic magnetite nanoparticles in the urban atmosphere. *Environmental Science & Technology* 54: 9274-9284.

固相萃取与分离分析技术研究

师彦平

中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州, 730000

E-mail: shiyp@licp.cas.cn

关键词: 固相萃取, 分离分析技术, 食药分析

样品前处理主要是实现分析物分离、纯化、富集的目的, 减少其它物质或杂质等的干扰, 便于后续分析。开发快速、简便、准确、选择性高和环境友好的样品前处理材料与技术已成为现代分析化学领域亟待解决的关键问题。固相萃取 (SPE) 是一种重要的样品前处理技术, 具有操作简单、萃取效率高、固液分离快等优点, 目前已广泛用于食品、药物、环境和生物等复杂基质样品中痕量或超痕量目标分析物的高效萃取及快速分析。SPE 技术的核心在于高效的功能化萃取剂的制备。近年来, 我们科研组以固相萃取与分离分析一体化理念, 完成了食品药品安全性评价的分离分析新方法, 研制了修饰中空纤维管 (图 1)、功能化磁性碳纳米粒子 (图 2)、药物和生物分子印迹聚合物 (图 3) 等 50 多种微萃取富集新材料, 建立了 80 多种食品药品色谱分析新技术, 并应用于食品安全、药品安全和生物毒物等的分析检测方面[1-6]。

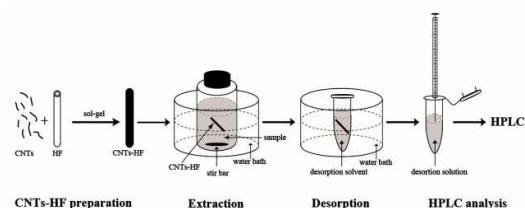


图 1 碳纳米管增强中空纤维管萃取剂

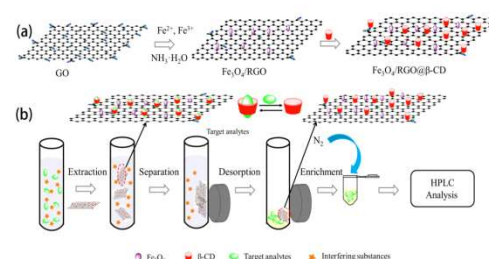


图 2 磁性还原氧化石墨烯萃取剂

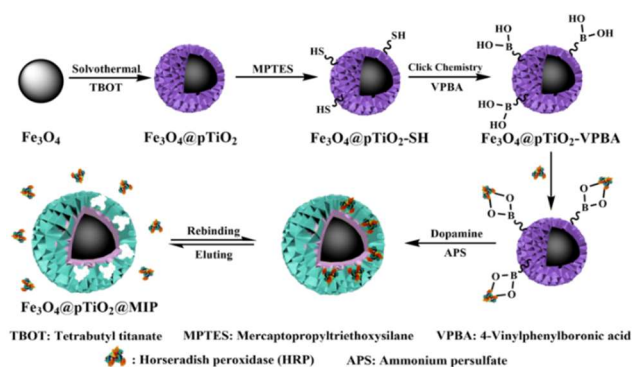


图 3 磁性多孔二氧化钛核壳型糖蛋白印迹聚合物萃取剂

参考文献:

1. Talanta, 201 (2019) 194-203.
2. Talanta, 191 (2019) 526-534.
3. Journal of Materials Chemistry B, 2019, 7: 6187-6194.
4. Microchimica Acta, 186 (2019) 375.
5. Microchimica Acta, 2018, 185: 565.
6. 国家自然科学基金项目 (Nos. 21974145, 21775153, 21575150) 资助。

固相微萃取技术研究与应用

朱芳, 郑娟, 徐剑桥, 刘舒芹, 欧阳钢锋*
中山大学化学学院 广州 510275

关键词: 固相微萃取; 探针研制; 活体检测

固相微萃取 (SPME) 是一种国际前沿绿色采样及样品前处理技术, 该技术的核心之一就是萃取涂层材料。材料的萃取性能对 SPME 方法的灵敏度起着决定性的作用, 从而影响到相关技术的应用, 而活体检测已经成为 SPME 技术的重要研究方向。

我们制备了一种基于苯硼酸修饰的碳纳米管材料的新型 SPME 探针, 并成功地对糖类小分子进行特异性识别。由于碳纳米管在涂层里的特殊堆叠, 该探针萃取相具有 3D 相互连通的多孔结构, 大大提高了糖类识别位点的可利用率。相比基于传感器的糖类检测方法, 该方法具有更低的检测限, 更宽的线性范围和更强的定性及定量能力; 研制了基于聚苯乙烯@聚多巴胺芯鞘纳米纤维的新型 SPME 探针, 该探针被成功应用于活鱼背部肌肉中药物的高效萃取; 同时也通聚电解质掺杂制备出新型 SPME 探针用于中性及质子化的分析物的萃取, 并被成功应用于活鱼背部肌肉中及脑部药物的高效萃取。

此外, 我们也合成了 MIL-101 和 MOF-100 等材料, 并通过原位生长、溶胶凝胶、直接涂覆等方法制备了新型 SPME 探针用于多种有机污染物的萃取, 部分探针被用于进行活体检测。

参考文献:

- [1] G. Chen, J. Qiu, J. Xu, et al. *Chem. Sci.*, 2016, 7, 1487.
- [2] J. Zheng, J. Huang, F. Xu, et al. *Nanoscale*, 2017, 9, 5545.
- [3] J. Zheng, Y. Liang, S. Liu, et al. *Nanoscale*, 2015, 7, 11720.
- [4] S. Liu, D. Chen, J. Zheng, et al. *Nanoscale*, 2015, 7, 16943.
- [5] J. Qiu, G. Chen, S. Liu, et al. *Anal. Chem.*, 2016, 88, 5841.
- [6] J. Xu, S. Huang, R. Wu, et al. *Anal. Chem.*, 2015, 87, 3453.
- [7] J. Xu, R. Wu, S. Huang, et al. *Anal. Chem.*, 2015, 87, 10593.

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 21477166, 21377172, 21527813)

纳米生物界面相互作用分析

李瑞宾^{1,*}

¹ 苏州大学放射医学与辐射防护国家重点实验室, 苏州, 215123

*E-mail: liruibin@suda.edu.cn

关键词: 纳米毒理学, 纳米抗菌, 蛋白组学

人工纳米颗粒由于其独特的物理化学性质, 已被越来越多地应用于工业、生活、医疗等领域, 极大地增加了纳米颗粒和人体组织器官及微生物的暴露风险。纳米颗粒与细胞/微生物细胞相互作用机制的研究对于纳米医药的临床推广, 纳米产品的暴露风险评估意义重大。纳米生物界面相互作用对于胞内级联信号的传递及生物学效应的产生具有决定性的作用。界面相互作用经常涉及生物分子与纳米颗粒之间一系列复杂的物理、化学反应, 例如, 蛋白吸附, 电子传递等。团队对 100 多种纳米颗粒物与巨噬细胞的相互作用进行了系统研究。发现大部分人工纳米颗粒(例如, 金属氧化物, 碳纳米管, 硫族二维纳米材料等)主要通过胞吞的方式进入细胞溶酶体, 或者与细胞膜结合。因此, 细胞溶酶体及细胞膜是纳米生物相互作用的主要界面。团队借助液相色谱-质谱技术, 对上述界面发生的生化反应进行了系统表征。发现部分纳米颗粒可以与磷脂分子、蛋白及细胞辅酶因子发生相互作用。例如: 稀土氧化物与含磷酸生物分子具有独特的相互作用, 能够使得细胞膜磷脂、磷酸化蛋白发生去磷酸化反应, 而影响生物分子功能, 损伤细胞溶酶体, 激活 NLRP3 炎性小体, 干扰细胞自噬; BN 纳米片可以特异性影响细菌分裂过程中 Z 环的收缩相关蛋白的功能, 抑制微生物的增殖。综上, 色谱-质谱技术在纳米-生物相互作用研究及标志物分子的分析鉴定具有独特的优越性, 借助此技术团队发现纳米生物界面相互作用的三类化学过程: i) WS_2/MoS_2 具有类脂氧合酶活性, 能够引发溶酶体内脂质分子氧化; ii) SnSe 纳米片具有类脱氢酶活性, 能够引发还原性应激; iii) 金属-氮-碳纳米材料具有类 NADPH 氧化酶活性, 能够激活免疫响应。

参考文献:

1. Wang, W.; Kong, Y.; Jiang, J.; Xie, Q.; Huang, Y.; Li, G.; Wu, D.; Zheng, H.; Gao, M.; Xu S.; Pan, Y.; Li, W.; Ma, R.; Li, X.; Zuilhof, Z.; Cai, C.; Li, R.*, Engineering the Protein Corona Structure on Gold Nanoclusters Enables Red-Shifted Emissions in the Second Near-infrared Window for Gastrointestinal Imaging, *Angew Chem*, 2020, 22431.
2. Wu, D.; Li, J.; Xu, S.; Xie, Q.; Pan, Y.; Liu, X.; Ma, R.; Zheng, H.; Gao, M.; Wang, W.; Li, J.; Cai, X.; Jaouen, F.*; Li, R.*, Engineering Fe-N Doped Graphene to Mimic Biological Functions of NADPH Oxidase in Cells, *J. Am. Chem. Soc.*, 2020, 19602.
3. Gao, M.; Wang, Z.; Zheng, H.; Wang, L.; Xu, X.; Liu, X.; Li, W.; Pan, Y.; Wang, W.; Cai, X.; Wu, R.; Gao, X.*; Li, R.*, Two-Dimensional Tin Selenide (SnSe) Nanosheets Capable of Mimicking Key Dehydrogenases in Cellular Metabolism, *Angew. Chem.*, 2020, 132, 3618-3623.
4. Xu, S.; Zheng, H.; Ma, R.; Wu, D.; Pan, Y.; Yin, C.; Gao, M.; Wang, W.; Li, W.; Liu, S.; Chai, Z.; Li, R.*, Vacancies on 2D transition metal dichalcogenides elicit ferroptotic cell death, *Nature Communications*, 2020, 11, 3484.
5. Huang, Y.; Li, X.*; Xu, S.; Zheng, H.; Zhang, L.; Chen, J.; Hong, H.; Kusko, R.; Li, R.*, Quantitative Structure-Activity Relationship Models for Predicting Inflammatory Potential of Metal Oxide Nanoparticles, *Environmental Health Perspectives*, 2020, 128, 067010.

6. Cai, X.; Liu, X.; Jiang, J.; Gao, M.; Wang, W.; Zheng, H.; Xu, S.; Li, R. *, Molecular Mechanisms, Characterization methods and Utilities of Nanoparticle Biotransformation in Nanosafety Assessments, *Small*, 2020, 1907663.

7. Zheng, H.; Ji, Z.; Roy, K.; Gao, M.; Pan, X.; Cai, X.; Wang, L.; Li, W.; Chang, C.; Kaweeteerawat, C.; Chen, C.; Xia, T.; Zhao, Y.; Li, R. *, *ACS Nano*, 2019, 11488.

8. Cai, X.; Dong, J.; Liu, J.; Zheng, H.; Kaweeteerawat, C.; Wang F., Ji Z. *; Li, R. *, Multi-hierarchical profiling the structure-activity relationships of engineered nanomaterials at nano-bio interfaces, *Nature Communications*, 2018, 9, 4416.

微量样品蛋白质组分析新方法

李一岚, 贺映云, 袁辉明, 张丽华*, 张玉奎

中国科学院大连化学物理研究所, 大连, 116023

*E-mail: lihuazhang@dicp.ac.cn

随着生命科学研究的不断深入, 微量样品的蛋白质组分析受到了越来越多的关注。因此, 如何实现蛋白质组样品的高效、低损失、抗基质干扰的制备对分离分析科学提出了更高的挑战。

针对组织切片样品的蛋白质组分析, 研制了固相烷基化材料。通过在微球表面固载的烷基化试剂和蛋白质中巯基的共价键合, 实现了样品中微量蛋白质的高效捕获, 以及同时可以去除样品基质中的干扰物质; 通过原位酶解, 减少了样品转移的损失, 从而提高了蛋白质组的分析覆盖度。针对微量血浆样品的蛋白质组分析, 研究了全自动蛋白质组样品制备系统。利用中空纤维膜和固定化酶反应器的双重限域效应, 实现了蛋白质组样品的在线变性、还原和酶解, 不仅将样品制备时间从十几小时缩短到 20 分钟, 而且显著提高了蛋白质组分析的覆盖度。此外, 通过发展原位样品制备技术, 实现了单细胞蛋白质组的分析。

Hydrophilic polydopamine-derived mesoporous channels for loading Ti(IV) ions for salivary phosphoproteome research

Zixing Xu¹, Yonglei Wu¹, Wu Hao², Sun Nianrong², Deng Chunhui^{1,3*}

¹ Department of Chemistry, Fudan University, Shanghai, 200433, China

² Department of Gastroenterology and Hepatology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai, 200032, China

³ Institutes of Biomedical Sciences, Collaborative Innovation Center of Genetics and Development, Fudan University, Shanghai, 200433, China

*E-mail: chdeng@fudan.edu.cn.

Keywords: Mesoporous polydopamine, Phosphopeptides, Immobilized metal ions affinity chromatography, Mass spectrometry

Salivary phosphoproteome holds great promise in clinic diagnosis. For profiling of salivary phosphoproteome, it is essential to develop an efficient method for salivary phosphopeptides enrichment prior to mass spectrum (MS). Among phosphopeptide enrichment strategies, immobilized metal ions affinity chromatography (IMAC) has been demonstrated to have out-standing performance. In this work, we report a coherent approach where polydopamine (PDA) was first utilized to form mesoporous structure through soft templating method, then chelated with Ti^{4+} to construct the hydrophilic polydopamine-derived magnetic mesoporous composite (denoted $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mPDA}@\text{Ti}^{4+}$) for the first time. In virtue of the merits covering ordered mesoporous channels, appropriate superparamagnetism, and abundant Ti^{4+} , the enrichment strategy based on $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mPDA}@\text{Ti}^{4+}$ was employed to combine with MS for accurate identification of phosphopeptides in β -casein as well as human saliva. As expected, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mPDA}@\text{Ti}^{4+}$ revealed a great selectivity (1:200) and a low detection limit ($0.1 \text{ fmol } \mu\text{L}^{-1}$) toward phosphopeptides in β -casein. More importantly, the further successful capture of phosphopeptides from complex human saliva indicated the prominent potential of this method for seeking phosphopeptide biomarkers in further analysis.

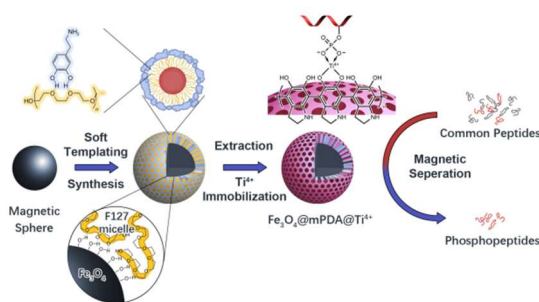


Fig. 1 A polydopamine-derived magnetic mesoporous composite denoted as $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{mPDA}@\text{Ti}^{4+}$ was prepared and applied in phosphopeptide identification from human saliva.

References:

1. P. Pan,, T. Zhang,, Q. Yue,, A.A. Elzatahry, A. Alghamdi, X. Cheng, Y. Deng*, Interface Coassembly and Polymerization on Magnetic Colloids: Toward Core-Shell Functional Mesoporous Polymer Microspheres and Their Carbon Derivatives. *Adv. Sci.*, 2020, 7: 2000443.
2. A.L. Capriotti, A. Cerrato, A. Lagana, C.M. Montone, S. Piovesana*, R.Z. Chiozzi, C. Cavaliere, Development of a Sample-Preparation Workflow for Sulfopeptide Enrichment: From Target Analysis to Challenges in Shotgun Sulfopeptomics. *Anal. Chem.*, 2020, 92: 7964-7971.
3. J. Huang, J. Dong, X. Shi, Z. Chen, Y. Cui, X. Liu, M. Ye*, L. Li*, Dual-Functional Titanium(IV) Immobilized Metal Affinity Chromatography Approach for Enabling Large-Scale Profiling of Protein Mannose-6-Phosphate Glycosylation and Revealing Its Predominant Substrates. *Anal. Chem.*, 2019, 91: 11589-11597.
4. X. Hu, Y. Lu, X. Shi, T. Yao, C. Dong*, S. Shuo*, Integrating in situ formation of nanozymes with mesoporous polydopamine for combined chemo, photothermal and hypoxia-overcoming photodynamic therapy. *Chem. Commun.*, 2019, 55: 14785-14788.

毛细管电泳新方法及其编码药物筛选应用

王敏, 钱鑫, 黄一可, 潘静苗, 夏之宁*

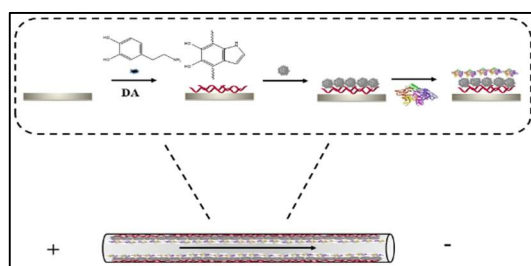
(重庆大学药学院, 重庆, 401331)

*E-mail: znxia@cqu.edu.cn

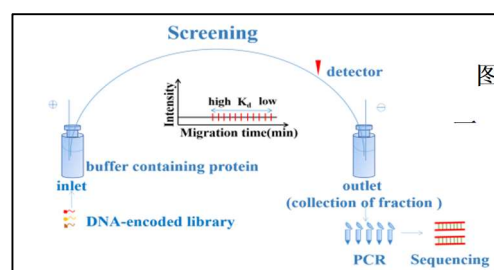
关键词: DNA编码化合物库; 受体固定化; 亲和毛细管电泳; 金属有机框架材料; 活性筛选

亲和毛细管电泳法(ACE)以其多模式、低成本的特点在众多研究药物-受体相互作用的技术中脱颖而出, 得到了广泛的应用。目前普遍采用的ACE研究模式所消耗的受体量较大。受体固定化ACE将受体固定于毛细管内壁, 与传统ACE相比, 其可以有效减少靶标蛋白的消耗, 有利于那些昂贵或稀有靶标蛋白的研究。研究一构建了一种基于聚多巴胺和MOF的新型固定化受体毛细管电泳(示如图一), 用于药物与蛋白间相互作用研究。通过引入聚多巴胺和金属有机框架材料, 将靶标蛋白固定于毛细管内表面, 进一步增加了固定靶标蛋白的量并有效地保持了靶标蛋白的生物活性。在40种药物上研究表明, 该法可快速筛选和评价未知药物的活性。荧光光谱法和分子对接靶标蛋白与配体的结合机制。体现了该方法在药物活性筛选中的应用潜力。

另以ACE原理为基础, 建立了针对DNA编码化合物、靶标蛋白以及复合物这三类物质的分离分析方法; 开展了针对DECL的KCE液液筛选研究。建立了获得具有亲和力的DNA编码化合物的CE方法, 并对其适用范围作了评价和研究。利用PCR技术, 提出了CE用于痕量DNA的馏分收集方法, 对不足以在吸收检测器检测的痕量DNA进行追踪检测, 以判断其在毛细管内的位置及其与靶蛋白的结合状态, 解决了低浓度COMP无法检测到的难题。为DECL的筛选提供了可选方案。



MOF和多巴胺固定蛋白的亲和毛细管电色谱



图二 DNA编码化合物馏分收集ACE筛选

参考文献

1. Lecas, L.; Hartmann, L.; Caro, L.; Mohamed-Bouteben, S.; Raingeval, C.; Krimm, I.; Wagner, R.; Dugas, V.; Demesmay, C., *Anal Chim Acta* 2020, 1113, 26-35.
2. Wang, Y.; Adeoye, D. I.; Ogunkunle, E. O.; Wei, I. A.; Filla, R. T.; Roper, M. G., *Anal Chem* 2021, 93 (1), 295-310.
3. Gunther, Z.; Dario, N. *Drug Discov Today*. 2016, 21(11): 1828-1834.
4. Drabovich, AP.; Berezovski, MV.; Musheev, MU.; Krylov, SN. *Anal Chem*. 2009, 81(1): 490-494.

气相色谱亚纳米孔的动力学调控研究

古志远*, 陶泽榕, 汤雯淇, 徐铭, 孟莎莎

1 南京师范大学, 南京, 210023

关键词: 气相色谱, 纳米孔, 动力学, 金属有机框架, 固定相

具有超薄厚度的二维层状纳米材料, 如石墨烯、二硫化钼等, 由于其独特的性质, 受到广泛关注, 被成功应用于电池、传感器、医疗电子等多个领域。最新的研究报道指出, 二维层状材料层间的扭转和堆积会对材料的导电性、传热性、稳定性等具有重要影响。例如, 约 1.1 度魔角扭转的双层石墨烯展现出超导特性。因此, 调控二维层状材料层间的扭转和堆积具有重要意义。

我们^[1-3]提出了一种客体分子诱导策略, 调控 2-D MOFs 纳米片层间扭转或规整堆积。规整堆积的纳米片可以高效分离六组二取代苯异构体。首先合成具有较薄厚度和良好热稳定性的 2-D Zr-BTB 纳米片, 采用不同的溶剂在分子水平上精确调控纳米片扭转和堆积。甲苯 (MB) 和乙酸乙酯 (EA) 溶剂分子分别与纳米片骨架之间产生不同的 π - π 相互作用和静电作用, 进而诱导纳米片形成特定角度的扭曲堆积。MB 诱导纳米片层间形成 12°、18°、24° 的扭转角度; EA 诱导纳米片层间形成 6°、18°、24°、30° 的扭转角度。采用分子力学模拟计算不同角度下纳米片的能量, 结果显示在 0°-30° 内纳米片能量呈上下波动, 且在特定角度 (6°、12°、18°、24°、30°) 下纳米片具有区域能量最低值, 这与实验结果一致。扭曲堆积的纳米片形成无序纳米孔道, 无异构体分离能力。与 MB 和 EA 不同, 直链烷烃分子可以从垂直方向插入纳米片孔道中。骨架与直链烷烃分子之间产生疏水相互作用, 诱导纳米片形成规整堆积。规整堆积的纳米片能够高效分离六组取代苯异构体, 且分离效果明显优于扭曲堆积纳米片色谱柱和商业柱 (HP-5MS 和 VF-MAXMS)。这项工作通过调控溶剂分子与 MOFs 纳米片之间的相互作用, 为定向调控纳米片堆积提供了一个新的策略。

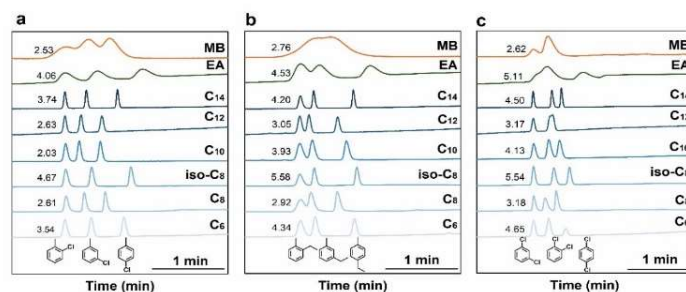


Fig. 1 Different chromatograms obtained with different Zr-MOF nanosheets through host-guest tuning.

参考文献:

1. Angew. Chem. Int. Ed., 2021, 60, 6920-6925.
2. Nat. Commun., 2019, 10, 2911.
3. Chem. Sci., 2021, 12, 4104-4110.

色谱质谱精准测量与标准物质研究

张庆合*, 李秀琴, 李晓敏, 高燕
中国计量科学研究院, 北京, 100029

*E-mail: zhangqh@nim.ac.cn

关键词: 色谱-质谱, 标准物质, 同位素稀释, 准确测量

标准物质 (reference material, RM)是具有一个或多个足够均匀的特性值的物质或材料, 在校准测量仪器和装置、评价测量分析方法、测量物质或材料特性值和考核分析人员的操作技术水平, 以及产品质量控制等领域起着不可或缺的作用。目前食品安全、环境监测等领域标准物质的需求日益急迫, 同时对标准物质质量值的准确性的要求也越来越高。色谱-质谱联用分析是目前复杂基质样品痕量成分定性确认和定量分析的最主要技术, 在高纯物质主成分和杂质定性确认、纯度测量, 复杂基体中常量和痕量成分标准物质研制中占据重要地位, 但是在提取、净化、质谱检测等环节准确度评估和测量不确定度的控制方面仍面临巨大挑战。

针对食品、环境样品中兽药、环境污染物等单组分、多组分成分测量中的问题, 基于同位素稀释色谱-有机/无机质谱方法。以蜂蜜中磺胺兽药检测为例, 研究了磺胺与单糖结合态的检测、追溯技术, 实现了提取效率的定量评估; 比较了不同的同位素元素取代的三聚氰胺内标的离子化路径与效率、基质影响; 研究了多组分分析中的提取和净化的歧视效应、基质效应与化合物结构性质的相关规律。基于系统的研究, 建立了系列高准确度测量方法, 国际计量比对取得良好结果, 研制系列高准确度标准物质。

参考文献:

1. X.M Li, H.M. Li, Q.H. Zhang, X.H. Lu, A. Mikheeva. CCQM-K146 Low-Polarity Analyte in high fat food: Benzo[a]pyrene in Olive Oil. *Metrologia*, 2020, 57.1A: 08017-08017.
2. X. Zhou, Y. Gao, Q.H. Zhang*, X.Q. Li, H.M. Li. Cloud point extraction coupled with ultrasound-assisted back-extraction for determination of trace legacy and emerging brominated flame retardants in water using isotopic dilution high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry, *Talanta*, 2020, 224, 121713
3. Y. Zhang, X.Q Li, Z. Guo, X. Zhou, S.Q. Li, X.M. Li, H. Jiao, Q.H. Zhang, Assessment of the impact of hydrolysis on bound sulfonamide residue determination in honey using stable isotope dilution ultrahigh performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Food Chemistry*, 2021, 361, 130094

蛋白质糖基化的分离分析新方法

陆豪杰

复旦大学生物医学研究院和化学系, 上海, 200032

E-mail: luhaojie@fudan.edu.cn

关键词: 糖基化, 糖链, 糖肽, 分离分析

糖基化是一种常见但重要的蛋白质翻译后修饰, 在细胞识别和粘附、细菌感染、病毒附着等多种生物过程中起着关键作用, 虽然糖基化较为常见, 但糖蛋白的丰度通常很低, 因此对其质谱分析造成了困难。另外, 糖链的不同组成和连接方式进一步使糖基化的分析尤其复杂^[1]。

我们长期从事蛋白质糖基化的分离分析新方法研究, 针对糖链, 糖肽的分离分析发展了系列基于新型化学衍生和标记的质谱分析方法。如我们开发了一种化学标记策略, 提高了质谱分析中的电子转移解离效率, 使 IgG 所有亚类中的 N-糖肽的序列覆盖率达到 100%, 实现了 IgG 糖基化图谱的精细绘制, 这种全面的糖基化分析策略首次实现可以鉴别在序列上具有高度相似性的 IgG3 和 IgG4 完整 N-糖肽, 而无需基于抗体的预分离, 我们使用这种策略, 发现了与肝硬化和肝细胞癌相关的四种血清 IgG 亚类的异常 N-糖基化^[2]。

最近, 针对于唾液酸化 N-糖连接异构体分离, 我们发展了一种唾液酸衍生并结合芯片电泳质谱的分离分析方法, 分别用甲胺和 N, N-二甲基乙二胺对 α -2,6-和 α -2,3-唾液酸进行选择性标记, 使 α -2,3-连接的唾液酸化 N-糖链带正电荷, 从而可以利用微芯片电泳在 10 min 内对 α -2,3-连接的唾液酸化 N-糖链进行快速高效的在线纯化、浓缩和质谱鉴别, 最终, 我们将该方法用于分析宫颈癌患者血清中的唾液酸化 N-糖, 成功鉴定到了 52 个唾液酸糖, 筛选出 6 个有望成为潜在肿瘤标志物的唾液酸糖^[3]。另外, 我们还开发了一种顺序选择性衍生方法, 利用不同连接类型的唾液酸糖的反应性的不同, 将 α -2,6-和 α -2,3-连接的唾液酸糖链及糖肽顺序标记上不同的稳定同位素标签, 经过同位素试剂顺序衍生后, α -2,3-和 α -2,6-连接的唾液酸糖链或糖肽质量数不同但理化性质保持相似从而在质谱中产生对峰, 使得它们在质谱中实现其区分并可以对它们进行相对定量, 所开发的方法衍生选择性高(>95%), 且在 2 个数量级的动态范围内具有高定量准确度和重复性, 为利用糖链和糖肽异构体的定量分析发现生物标志物提供了有效方法^[4,5]。

参考文献:

- 1.Y. Zhang, C.Y. Fang, H.M. Bao, W.J. Yuan, H.J. Lu*. Discover the post-translational modification proteome using mass spectrometry. Chinese Journal of Chemistry, 2021, 39: 550-558.
- 2.L.J. Yang, Z.Y. Sun, L. Zhang, Y. Cai, Y. Peng, T. Cao, Y. Zhang*, H.J. Lu*, Chemical labeling for fine mapping of IgG N-glycosylation by ETD-MS. Chemical Science, 2019, 10: 9302-9307
- 3.M.X. Cheng, H. Shu, Y. Peng, X.X. Feng, G.Q. Yan, L. Zhang, J. Yao, H.M. Bao, H.J. Lu*. Specific analysis of α -2,3-sialylated N-Glycan linkage isomers by microchip capillary electrophoresis-mass spectrometry. Analytical Chemistry, 2021, 93: 5537-5546.
- 4.Y. Peng, L.M. Wang, Y. Zhang, H.M. Bao, H.J. Lu*. Stable isotope sequential derivatization for linkage-specific analysis of sialylated N-Glycan Isomers by MS. Analytical Chemistry, 2019, 91: 15993-16001.

5.Y. Peng, B. Gu*, Z.Y. Sun, Y.Y. Li, Y. Zhang*, H.J. Lu*. Linkage-selective derivatization for glycosylation site- and glycoform-specific characterization of sialic acid isomers using mass spectrometry. *Chemical Communications*, 2021, doi.org/10.1039/D1CC04142H

基于亲水分子印迹树脂的色谱样品前处理方法研究

闫宏远^{1,2*}, 王明伟^{1,2}, 乔凤霞³

1 河北省公共卫生安全重点实验室, 河北大学公共卫生学院, 保定, 071002

2 药物化学与分子诊断教育部重点实验室, 河北大学药学院, 保定, 071002

3 保定学院生物化工与环境工程学院, 保定, 071000

*E-mail: yanhy@hbu.edu.cn

关键词: 样品前处理, 色谱分离, 亲水印迹树脂, 痕量检测

色谱技术作为一种重要的分离技术, 在环境监测、食品安全和生物医学中起着重要的作用。然而, 复杂样品中痕量目标物通常需要高效快速的样品前处理技术对其进行分离、富集和净化后才能用于色谱分析检测, 因此样品前处理技术的开发是色谱分析中最关键和最耗时的一步。目前, 开发吸附容量高、传质速率快、吸附机制丰富的新型吸附剂材料以萃取富集复杂样品中痕量目标物已成为色谱分析领域的研究热点之一。分子印迹聚合物由于具有特异分子识别性和良好的稳定性, 广泛应用于药物分析、食品安全等领域, 但目前仍存在水相识别性能较差、作用机制单一和萃取效率低的问题。因此, 开发极性环境下具有特异识别能力的亲水印迹材料成为研究的热点和难点。本课题组围绕新型亲水印迹吸附剂开发和提高色谱样品前处理技术选择性为中心, 将亲水树脂制备工艺与分子印迹技术结合, 以水为反应溶剂, 制备了亲水分子印迹树脂吸附剂, 解决了传统分子印迹材料水相识别能力差的问题^[1]。为了进一步提高其比表面积和孔隙率, 采用低共熔溶剂为致孔剂, 通过优化制备过程相关参数, 合成了分子识别能力好、吸附容量高的低共熔溶剂-亲水印迹树脂材料^[2]。考察优化合成条件, 并对其分子识别机理、微观形态进行深入研究。以合成的亲水印迹树脂材料为吸附剂, 利用其多吸附机制和强特异选择性等优点实现了复杂体系中痕量目标物的快速分离检测。

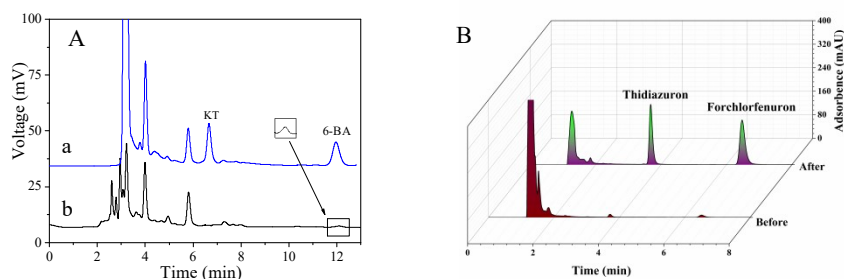


Fig. 1 Chromatograms of spiked sample (a) and bean sprout sample with 6-BA detected (b) (A); Chromatograms of spiked tomato sample before and after extraction with DES-HMIR (B)

参考文献:

1. M.W. Wang, S.R. Liang, L.G. Bai, F.X. Qiao*, H.Y. Yan*. Green protocol for the preparation of hydrophilic molecularly imprinted resin in water for the efficient selective extraction and determination of plant hormones from bean sprouts. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1064: 47-55

2. M.W. Wang, F.X. Qiao, H.Y. Yan*. A simple and benign protocol for the synthesis of a deep eutectic solvent-based hydrophilic molecularly imprinted resin in water for excellent selective molecular recognition in aqueous phase. *Green Chemistry*, 2021, 23: 5179-5188

基于非天然氨基酸系统的光催化蛋白质固定化方法

左海玥, 赵雪, 王静, 李倩, 赵新锋*

*E-mail: zhaoxf@nwu.edu.cn

关键词: 非天然氨基酸, 血管紧张素II受体I型受体, 固定化

非天然氨基酸由于编程改造性能强, 功能基团多样和生物兼容性好的特点, 已广泛应用于蛋白质精准修饰、生物标记和生物催化等领域, 是生命科学、生物医药和化学等众多学科领域的研究热点之一^[1]。本研究以非天然氨基酸4-叠氮-L-苯丙氨酸^[2]为例, 将血管紧张素II受体I型受体(AT₁R)碳末端苯丙氨酸密码子突变为TAG, 通过突变体质粒与含非天然氨基酸识别酶(CNF)质粒共转染至大肠杆菌, 将非天然氨基酸引入至AT₁R碳末端。利用AT₁R中非天然氨基酸的叠氮基团与氨基微球表面修饰的戊炔酸间的点击化学反应, 将AT₁R捕获于氨基微球表面, 获得高活性固定化AT₁R色谱固定相, 建立基于非天然苯丙氨酸系统的受体固定化新方法。与传统的蛋白质标签(His-tag, Halo-tag, SNAP-tag等)技术为核心的固定化方法相比, 该方法仅在功能蛋白质末端引入了侧链修饰的非天然氨基酸, 标签小, 能最大程度上保持功能蛋白质的天然构型与活性, 有望为其他功能蛋白质的高活性固定提供方法学借鉴。

参考文献:

- [1] J. W. Chin*. Expanding and reprogramming the genetic code. *Nature Review*, 2017, *Nature*, 550, 53-60.
- [2] S. K. Thomas, W. D. Jamieson, R. E. A. Gwyther, B. J. Bowen, A. Beachey, H. L. Worthy, J. E. Macdonald, M. Elliott*, O. K. Castell*, D. D. Jones*. Site-specific protein photochemical covalent attachment to carbon nanotube side walls and its electronic impact on single molecule function. *Bioconjugate Chemistry*, 2020, 31, 584-594.

多孔有机骨架材料的制备及在蛋白质分离分析中的应用

贾琼*

吉林大学化学学院, 长春, 130012

*E-mail: jiaqiong@jlu.edu.cn

关键词: 有机骨架材料, 蛋白质, 分离, 质谱

有机骨架材料具有固定尺寸的孔隙结构, 存在丰富的多孔通道、空腔结构和颗粒间隙。有机骨架材料可分为金属有机骨架材料、共价有机骨架材料、超分子有机骨架材料等。由于具有诸多优点, 有机骨架材料已被广泛应用于各个领域[1-5]。近年来, 多孔有机骨架材料在蛋白质分离富集中的应用备受关注。本工作设计制备了一系列基于多孔有机骨架材料的用于蛋白质(磷酸化/糖基化蛋白质等)分离富集的介质, 并用于实际生物样品中(血样、尿样、细胞)目标物的分析鉴定。

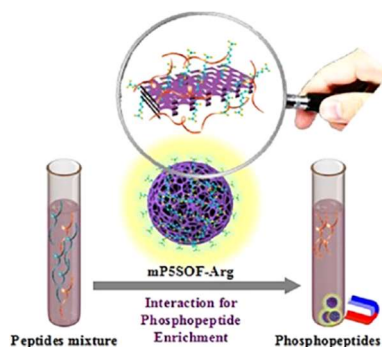


Fig. 1 Enrichment of phosphopeptides with organic framework materials

参考文献:

H. Zheng, J. Jia, Z. Li, Q. Jia*, Bifunctional magnetic supramolecular-organic framework: a nanoprobe for simultaneous enrichment of glycosylated and phosphorylated peptides, *Anal. Chem.*, 2020, 92: 2680-2689.

Q. Yu, Z. Li, Q. Cao, S. Qu, Q. Jia*, Advances in luminescent metal-organic framework sensors based on post-synthetic modification, *Trends Anal. Chem.*, 2020, 129: 115939.

H. Zheng, J. Zhang, J. Ma, Q. Jia*, Engineering magnetic guanidyl-functionalized supramolecular organic framework for efficient enrichment of global phosphopeptides, *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 51: 57468-57476.

F. Xiong, L. Jiang, Q. Jia*, Facile synthesis of guanidyl-based magnetic ionic covalent organic framework composites for selective enrichment of phosphopeptides, *Anal Chim Acta*, 2020, 109, 103-110.

S. Qu, Z. Li, Q. Jia*, Detection of purine metabolite uric acid with picolinic acid functionalized metal organic framework, *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 34196-34202.

高速逆流色谱法分离薄荷油中萜类化合物

曾加佳¹, 林君君¹, 魏芸^{1,*}

¹ 北京化工大学, 中国北京, 100029

*E-mail: weiyun@mail.buct.edu.cn

关键词: 薄荷, 萜类化合物, 乙酸薄荷酯, 薄荷醇, 高速逆流色谱

采用高速逆流色谱对薄荷油进行分离纯化。首先用水蒸气蒸馏法提取薄荷油粗品, 安徽太和薄荷的得油率为 1.31%。经气相色谱-质谱分析和鉴定, 安徽薄荷油粗品中共含有 39 种化合物, 其主要成分为二萜及以下的萜烯类化合物以及一些含氧衍生物。其中成分含量较高的几种化合物为薄荷醇(27.09%)、d-柠檬烯(13.98%)、左旋薄荷酮(5.68%)、乙酸薄荷酯(14.87%)。根据 GC-MS 结果, 确定了分离的目标化合物为薄荷醇和乙酸薄荷酯, 并优化其分离的溶剂体系和检测条件。以正己烷/乙腈(13:7, v/v)为两相溶剂体系结合显色反应紫外吸收检测方法, 对薄荷油粗品高速逆流色谱分离, 所得馏分经 GC-MS 检测能够得到纯度为 84.84% 的薄荷醇和 96.43% 的乙酸薄荷酯。

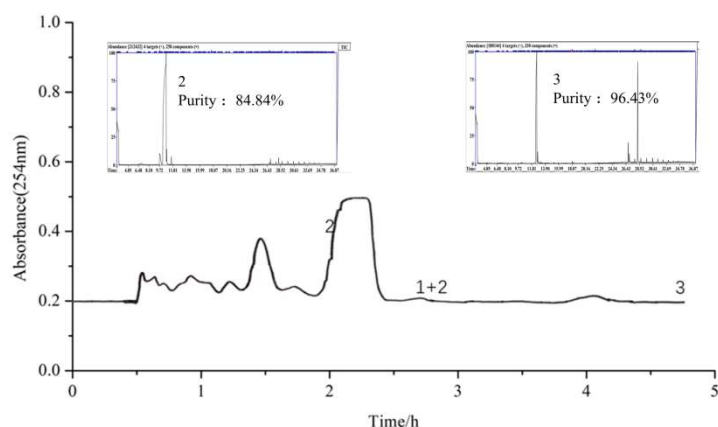


图1 薄荷油HSCCC分离谱图(进样量800.0 mg, 溶剂体系正己烷/乙腈(v/v, 13:7), 转速800 r/min, 流动相流速2 mL/min, 固定相保留率70.0%)。

Fig. 1 HSCCC separation spectra of peppermint oil(The injection volume is 800.0 mg.The solvent system is n-hexane/acetone(v/v, 13:7).The rotate speed of column is 800 rpm.Mobile phase flows at 2 mL/min.The retention rate of stationary phase is 70.0%).

氟基功能化分离介质及其应用

张志琪*, 马诗瑶, 樊莉, 王军, 林猷铭, 孙佳凝
陕西师范大学化学化工学院, 陕西省西安市, 710119
*E-mail: zqzhang@snnu.edu.cn

关键词: 氟亲和作用, MOFs, COPs, 磁性含氟材料, QuEChERS

氟是电负性最强的元素,它能改变化合物的电子效应和理化性质;氟基功能化可降低材料的亲水性,提高脂溶性,因而显著地改善分离介质的吸附分离特性。特别是氟亲和作用使氟基功能化材料对含氟化合物具有特异的吸附选择性和吸附能力。据此,以含氟配体合成了几种氟基功能化的 MOFs 和 COPs,后修饰制备了磁性含氟多孔碳材料和磁性氟化多壁碳纳米管,应用于土壤、环境水样中痕量全氟化合物的 GC-MS、UPLC-MS 测定和含氟工业废水处理,也用作食品 QuEChERS 分析基质净化材料,均获得了满意结果。

参考文献

1. S.-Y. Ma, J. Wang, L. Fan, H.-L. Duan, Z.-Q. Zhang*. Preparation of a fluorinated metal-organic framework and its application for the dispersive solid-phase extraction of perfluorooctanoic acid. *Journal of Chromatography A*, 2020, 1611, 460616.
2. L. Fan, H.-L. Duan, J. Wang, Y.-M. Lin, J.-N. Sun, Z.-Q. Zhang*. Preparation of fluorinated covalent organic polymers at room temperature for removal and detection of perfluorinated compounds. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 420, 126659.
3. J. Wang, H.-L. Duan, L. Fan, J. Zhang, Z.-Q. Zhang*. A magnetic fluorinated multi-walled carbon nanotubes-based QuEChERS method for organophosphorus pesticide residues analysis in *Lycium ruthenicum* Murr. *Food Chemistry*, 2021, 338, 127805.

高重现毛细管电泳理论、方法与若干应用

陈义^{1,2,*}

1 中国科学院化学研究所, 北京, 100190

2 淮阴工学院, 江苏淮阴, 223001

*E-mail: chenyi@iccas.ac.cn

关键词: 毛细管电泳, 高稳定, 理论, 实验, 应用

随着组学研究的深入和涉及面的不断扩展, 毛细管电泳 (CE) 可能正在迎来新的应用机遇。大家知道, CE 可分离的对象极其广泛, 小到无机离子, 大到细胞、细菌; 样品的消耗不到 1nL, 下皮单分子水平; 溶液的消耗也不过数毫升, 且多水溶液, 既环境友好, 又便宜易得。CE 尤其适合于分离生物体系中的高极性物质, 但也无惧疏水物质, 能做非水分离, 正是目前许多组学研究所稀缺的一种多能高效分离分析工具。遗憾的是, CE 至今并未在组学研究中发挥应有的作用。原因不少, 但追根溯源, 无非是现有 CE 方法的可移植性、重复性和重现性差; 另外, CE 中所用的毛细管易出气泡、易堵、易断, 其更换后可导致分离结果发生不可预测的变化, 这也给用户造成了不小的心理负担。为使这样一类高效、微量、省钱、安全、环境友好的先进微纳分离分析工具能再次焕发青春, 我们展开了长期的理论和实验研究, 发现: CE 之所以不稳定、不重现, 原因全在于现有的理论不好, 它以时间为变量来描述分离, 影响因素众多且互相牵连。据此构造仪器和建立方法, 自然无法稳定。为要改变这种局面, 我们摒弃了时间变量, 发展了非测时 CE 理论¹, 进而构建新的装置, 发展新的方法。先后建立了以迁移电量、迁移电荷密度、摩尔电荷密度等为自变量的新式 CE¹⁻², 以自主设计搭建的装置所做的实验显示: 新方法能在不同层次上抵抗毛细管尺寸、分离电压、缓冲液浓度、温度等变化带来的影响。换换毛细管、变变分离电压, 不会影响出峰位置²。电泳谱图之稳定不变, 可与质谱媲美。于是, 新式 CE 不仅保持了原有 CE 的定量能力, 还大幅提高了其峰的定性能力, 极具推广应用潜力, 可能为解决组学以及其他相关领域的研究提供更为可靠的手段。具体的理论、方法、装置、结果, 届时将在会上交流, 欢迎有意者现场观摩研讨。

参考文献:

1. 陈义. 电动分离统一理论. 色谱, 2020, 38: 1211-1216
2. 陈义. 超重现毛细管电泳的理论及例证. 色谱, 2020, 38: 1217-1233

功能环糊“精”分离分析

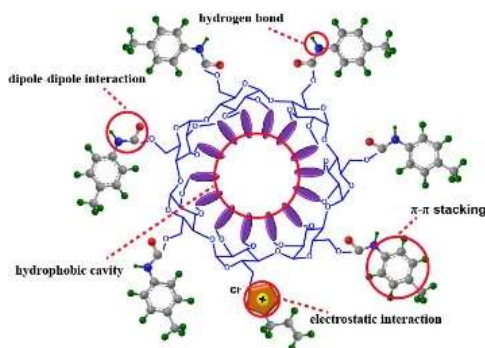
卢新岭¹, 王勇^{1,*}

¹ 天津大学理学院化学系, 天津, 300375

*E-mail: wangyongtju@tju.edu.cn

关键词: 手性拆分, 环糊精, 高效液相色谱, 点击化学, 有机场效应晶体管

手性分离与识别是当前分析化学与化学生物学的重要研究领域和难点所在, 高效手性识别介质的设计开发是解决该难题的重要途径。该工作利用无金属催化剂的巯基-烯点击化学方法实现了新型咪唑阳离子硫醚桥联天然环糊精手性分离介质的绿色可控制备, 获得了具有离子液体桥联臂的天然环糊精手性分离介质, 不但完美保持了环糊精本征手性识别能力, 且引入了强正电作用位点, 在保持高分离通量的同时, 显著提升了其对酸性对映体的拆分能力。进一步利用巯基-烯点击化学方法分别将富电和缺电苯异氰酸酯功能化环糊精接枝于硅基表面, 可控构建了适用于不同分离模式的多功能离子液体桥联环糊精手性分离介质, 显著提升了手性拆分通量及分离度, 获得了对部分对映异构体超高手性分辨, 通过变换对苯异氰酸酯取代基, 实现了该类分离介质的极性调节, 获得了一系列高效手性色谱分离介质。同时发展了功能环糊精敏化的高灵敏手性场效应传感器, 将手性识别推到单分子水平。



参考文献:

1. X.B. Yao, H. Zheng, Y. Zhang, X.F. Ma, Y. Xiao*, Y. Wang*. Engineering Thiol-Ene Click Chemistry for the Fabrication of Novel Structurally Well-Defined Multifunctional Cyclodextrin Separation Materials for Enhanced Enantioseparation. *Analytical Chemistry*, 2016, 88: 4955-4964
2. X.X. Li, X. Jin, X.B. Yao, X.F. Ma, Y. Wang*. Thioether bridged cationic cyclodextrin stationary phases: Effect of spacer length, selector concentration and rim functionalities on the enantioseparation. *J. Chromatography. A*, 2016, 1467: 279-287
3. X.Y. Tang, X.X. Li, Y.W. Sun, Y. Xiao*, Y. Wang*. Thiol-ene click derived structurally well-defined per(3,5-dimethyl)phenylcarbamoylated cationic cyclodextrin separation material for achiral and chiral chromatography. *Journal of Separation Science*, 2018, 41: 2710-2718
4. X.X. Li, J. Li, Q. Kang, Y. Wang*. Polarity tuned perphenylcarbamoylated cyclodextrin separation materials for achiral and chiral differentiation. *Talanta*, 2018, 185: 328-334

共价有机框架的结构设计、功能调控及分离分析应用

郑琼, 林子俺*

(福州大学化学学院, 食品安全与生物分析教育部重点实验室 福建福州 350108)

*E-mail: zianlin@fzu.edu.cn

关键词: 共价有机框架材料, 磁固相萃取, 色谱固定相

共价有机框架材料(Coalent Organic Frameworks, COFs)是一种新型的, 有别于金属有机框架的多孔有机材料。因其具有规整的孔道结构、高比表面积及化学和热稳定性等优点, 近年来 COFs 在催化、光电器件和分析化学等领域获得广泛关注。COFs 的合成主要是基于共价键的方式, 通过 π - π 堆积形成孔径结构, 其特殊的结构和优异的性能使得 COFs 在分离科学中显示出良好的应用潜力。

近年来, 课题组围绕复杂样品前处理和色谱分离的关键科学问题, 系统开展了共价有机框架的结构设计、功能调控及其在分离分析方面的应用研究, 具体包括: (1) 聚焦纳微尺度 COFs, 室温可控合成了不同形貌的 COFs, 相比传统的合成方法具有反应条件温和、反应时间短、形貌可控等优点^[1-6]; (2) 对 COFs 进行功能调控, 通过功能化修饰, 发展了一系列新型的磁性 COFs 纳米复合材料(纳米球、纳米管、纳米片等), 赋予其特定的功能^[7-9]; (3) 基于构效关系, 发展了基于 COFs 的样品前处理及色谱分离方法。建立了基于磁性 COFs 的组学样品和环境样品分离富集方法, 实现了复杂生物样品中低丰度磷酸化蛋白质、内源性肽、以及双酚类、雌激素、全氟化合物等新型环境污染物的高效富集。此外, 可控合成了单晶 COFs 和球形 COFs, 分别实现了同分异构体和疏水性化合物的高效分离^[7-11]。

参考文献:

1. Lin G., Gao C., Zheng Q., Lei Z., Geng H., Lin Z*, Yang H., Cai Z.* Chem. Commun., 2017, 53, 3649-3652. (Highlighted on inside back cover)
2. Gao C., Lin G., Lei Z., Zheng Q., Lin J., Lin Z*. J. Mater. Chem. B 2017, 5, 7496-7503. (Highlighted on outside back cover)
3. Chen L., He Y., Lei Z., Gao C., Xie Q., Tong P., Lin Z*. Talanta, 2018, 181, 296-304
4. Chen L., Zhang M., Fu F., Li J., Lin Z*. J. Chromatogr. A, 2018, 1567, 136-146.
5. Ma W., Zheng Q., He Y., Guo W., Lin Z*, Zhang L*. J. Am. Chem. Soc., 2019, 141, 18271-18277.
6. Ma W., Li G., Zhong C., Yang Y., Sun Q., Ouyang D., Tong W., Tian W., Zhang L., Lin Z*, Chem. Commun., 2021, 57, 7362-7365 (Highlighted as outside front cover)
7. Gao C., Lin G., Lei Z., Zheng Q., Lin J., Lin Z*. ACS Sustain. Chem. Eng., 2019, 7, 18926-18934
8. Gao C., Bai J., He Y., Zheng Q., Ma W., Lei Z., Zhang M., Wu J., Fu F., Lin Z*. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2019, 11 (14), 13735-13741
9. Zhang M., Li J., Zhang C., Wu Z. Yang Y., Li J., Fu F*, Lin Z*. J. Chromatogr. A, 2020, 1615, 460773.
10. Zheng Q., He Y., Ma W., Wu Y., Chen Z., Wang R., Tong W., Lin Z*. Chem. Commun., 2021, 57, 7501-7504.
11. He Y., Zhang, S., Zhong, C., Yang, Y., Guorong Li, G., Yin Ji,Y., Lin Z* Talanta, 2021, 235, 122789

中药物质基础系统分析新策略

崔美玉, 赵锦花, 邹依霖, 商海波, 刘璐, 李东浩*

延边大学, 吉林省延吉市, 133002

*E-mail: dhli@ybu.edu.cn

关键词: 中药现代化, 系统生物学, 样品前处理, 微分离分析, 非靶标分析

中药具有基质复杂、成分多样、作用靶点和功效多等特征。基于中药药效物质的复杂性以及整体性分析需求, 创建了“碳纳米纤维/液相纳萃取技术”、“二维碳纤维组分分离技术”及“气液微萃取技术”等系列萃取与分离技术, 实现了对中药全成分药效物质的快速、高通量分析, 建立了长白山药用植物的挥发性和难挥发性成分的质谱数据库。针对传统中药作用机理研究方法不能体现出中药多成分、多靶点协同作用问题, 提出了“多室电泳/碳纳米限域分离检测技术”, 成功实现了在生理环境条件下生物功能蛋白与中药药效物质相互作用的实时监测。通过这些分析技术的联用或有机结合, 快速筛选了复杂中药提取液中与靶分子具有相互作用的多种有效成分以及其比例关系。整个中药物质基础的分析时间少于 20 分钟, 他包括提取液的全面分析、靶点与有效成分的复合体分离以及解析、有效成分的定性定量等整个分析过程。这些技术的建立, 为发现和挖掘中药协同作用机制提供了新策略。

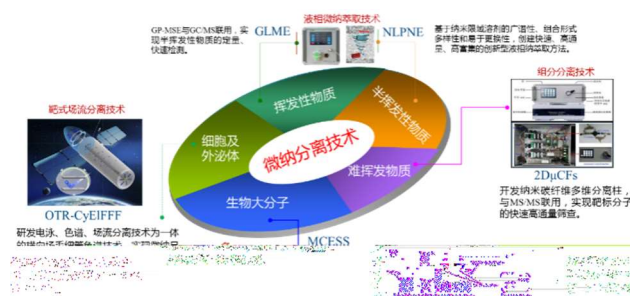


Fig. 1 A novel strategy for micro/nano-objects separation and analysis

参考文献

1. J.H. Zhao, X.Z. Jin, C. Yang, M. Quinto, H.B. Shang, D.H. Li*. Gas purge micro solvent extraction: A rapid and powerful tool for essential oil chromatographic fingerprints. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2020, 187: 113339-113346.
2. L. Liu, C. Yang, C.C Liu, J.S. Piao, H.Y. Kaw, J.X. Cui, H.B. Shang, H.C. Ri, J.M. Kim, M.S. Jin*, D.H. Li*. Open-tubular radially cyclical electric field-flow fractionation (OTR-CyEIFFF): an online concentric distribution strategy for simultaneous separation of microparticles. *Lab on a Chip*, 2020, 20: 3535-3543.
3. Y.L. Zou, L.Y. Wang, H.Z. Sun, G. Wang, L.Y. Meng*, M. Quinto, D.H. Li*. Nanoconfined Liquid Phase Nanoextraction Based on Carbon Nanofibers. *Analytical Chemistry*, 2021, 93: 1310-1316.
4. C.Y. Yu, Q. Zhang, Y.L. Zou, R. Liu, J.H. Zhao, K.S. Bi, D.H. Li*, Q. Li*. Across-polarity quantification method for broad metabolome coverage based on consecutive nanoconfined liquid phase nanoextraction technology: Application in discovering the plasma potential biomarkers of different types of cancer. *Analytica Chimica Acta*. 2021, 1167: 338577-338586.
5. L.Y. Wang, Y.L. Zou, H.Y. Kaw, G. Wang, H.Z. Sun, L. Cai, C.Y. Li, L.Y. Meng*, D.H. Li*. Recent developments and emerging trends of mass spectrometric methods in plant hormone analysis: a review. *Plant Method*, 2020, 16: 1-17.

手性多孔结构的设计合成和分离性能

付仕国, 袁晨, 刘燕, 崔勇*

上海交通大学化学化工学院, 上海 200240

*E-mail: yongcui@sjtu.edu.cn

关键词: 手性多孔结构, 共价有机框架, 金属-有机框架, 手性分离

共价有机骨架材料 (Covalent Organic Frameworks, COFs) 和金属-有机框架材料 (Metal-Organic Frameworks, MOFs) 作为新兴的多孔晶态材料, 它们已被广泛的用于分子的储存与分离、药物传输、催化和传感等领域。我们利用四(4-氨基苯基)甲烷(TAM)和手性 TADDOL 四醛单体(TTA)通过亚胺缩合得到手性三维骨架的 COF 材料 CCOF **5**, 并将结构中的亚胺键氧化成酰胺键, 得到的 CCOF **6** 材料仍然保持了材料原有的结晶性和多孔性。将其作为 HPLC 手性固定相, 实现了对外消旋的手性醇类化合物的分离, 且氧化后的 CCOF **6** 相对于 CCOF **5** 表现出更为优异的分​​离性能。另外, 通过手性 1,1'-联苯双酚衍生的四羧酸与 Zr 组装制备了三种手性冠醚嵌入的高度稳定的多孔 Zr-MOFs, 将其作为 RP-HPLC 固定相。在酸性流动相条件下, 包括氨基酸、氨基酯和一些药物在内的一系列外消旋含氮化合物得到了很好的分离, 其分离性能可与某些商业 CSP 相媲美甚至更好。

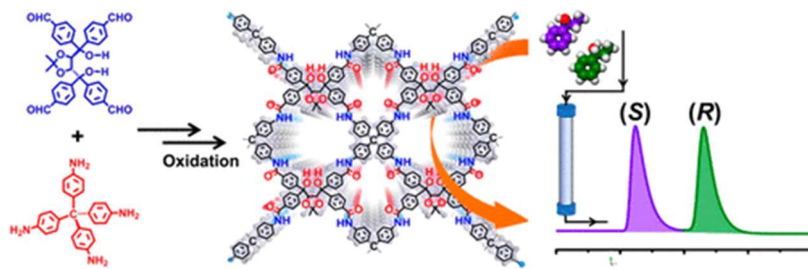


Fig. 1 TADDOL-based covalent organic frameworks CCOFs **5** and CCOFs **6** for HPLC chiral separation.

参考文献:

1. X. Han, J.J. Huang, C. Yuan, Y. Liu, Y. Cui. *J. Am. Chem. Soc.* 2018, 140, 892-895.
2. H. Jiang, K.W. Yang, X.X. Zhao, W.Q. Zhang, Y. Liu, J.W. Jiang, Y. Cui. *J. Am. Chem. Soc.* 2021, 143, 390-398.

MOFs/COFs-CE 在手性分离中的应用研究

王国秀, 潘聪洁, 吕文娟, 陈宏丽, 陈兴国*

兰州大学化学化工学院, 兰州, 730000

*E-mail: chenxg@lzu.edu.cn

关键词: MOFs, COFs, CE, 手性分离

晶形多孔材料结构均一、孔道单一、孔径分布窄, 这些结构特征为其在色谱、毛细管电泳 (CE) 等领域的应用提供了良好基础。晶形多孔材料主要有金属有机框架材料 (MOFs) 和共价有机框架材料 (COFs) 两类。从它们的结构、性质和毛细管电泳的分离机理可知, 将其作为毛细管的涂层材料可以显著提高毛细管电泳的手性分离能力并拓宽其应用范围。本报告将介绍我们课题组有关 MOFs、COFs 手性涂层毛细管的制备及其在毛细管电泳分离手性物质中的应用方面所取得的研究结果[1-4]。

参考文献:

1. Y.Y. Xu, L.F. Xu, S.D. Qi, Y.L. Dong, Z. Rahman, H.L. Chen, X.G. Chen*. In situ synthesis of MIL-100(Fe) in the capillary column for capillary electrochromatographic separation of small organic molecules. *Analytical Chemistry*, 2013, 85: 11369-11375
2. C.J. Pan, W.F. Wang, H.G. Zhang, L.F. Xu, X.G. Chen*. In situ synthesis of homochiral metal-organic framework in capillary column for capillary electrochromatography enantioseparation. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1388: 207-216
3. C.J. Pan, W.F. Wang, X.G. Chen*. In situ rapid preparation of homochiral metal-organic framework coated column for open tubular capillary electrochromatography. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1427: 125-133
4. C.J. Pan, W.J. Lv*, X.Y. Niu, G.X. Wang, H.L. Chen, X.G. Chen*. Homochiral zeolite-like metal-organic framework with DNA like double-helicity structure as stationary phase for capillary electrochromatography enantioseparation. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1541: 31-38.

国家自然科学基金项目 (Nos. 21075056, 21375053, 21675068, 21705064) 资助。

色谱级单分散微米硅胶的合成及性能研究

王树东*, 苏宏久, 张纯希, 周谨, 崔健
中科院大连化学物理研究所, 辽宁大连, 110623

*E-mail: wangsd@dicp.ac.cn

关键词: 单分散微米硅胶, 高效液相色谱, 表面修饰, 分析检测, 分离纯化

高效液相色谱技术不仅是一种高效地分析、检测手段, 而且是一种重要的分离纯化技术, 其广泛应用于中药及天然产物有效成分、合成药品、生物制药等方面的分离纯化。色谱柱中的分离填料是高效液相色谱技术的核心, 硅胶材料在色谱填料中的应用占到了80%以上。目前, 硅胶填料的制备方法主要包括乳状液法, 聚合物诱导胶体凝聚法, 喷雾干燥法, 水玻璃沉淀法, 水热合成法等。目前国内95%的色谱微米硅胶基质填料市场被日本Daiso、YMC、FUJI, 瑞典Akzo Noble等跨国公司垄断。虽然国内色谱工作者对多孔单分散微米硅胶进行大量的工作, 取得了一些进展, 但是和国外的高端填料性能相比, 依然存在差距。

中国科学院大连化学物理研究所能源环境工程研究组采用创新的工艺方法, 在多年催化剂设计和合成理论的实践基础上, 提出了合成单分散微米硅胶填料的制备新工艺, 掌握了合成单分散微米硅胶颗粒的尺度可控制备技术, 且自主研发和搭建了规模为2000kg/年的单分散微米色谱填料生产线。目前, 该生产线实现了2-15 μm 之间不同尺度的微米硅胶填料制备。新的工艺技术克服了传统微米硅胶填料制备中普遍存在的批次重复性差、规模化放大困难、颗粒均一性差的问题。

合成的单分散微米硅胶填料的形貌和孔径分布如下图1, 2所示, 具体的物理指标如表1。

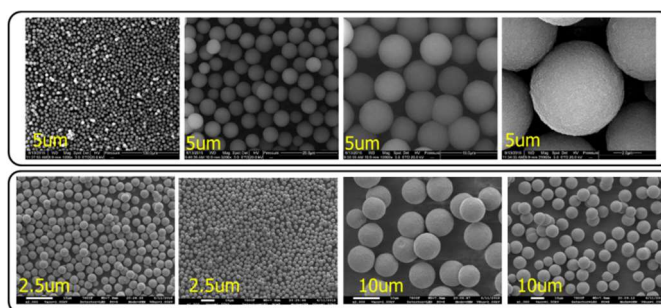


Fig. 1 The SEM characterization of synthesized monodispersed particle

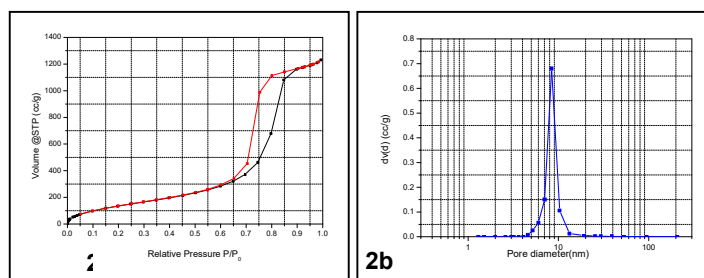


Fig. 2 The Nitrogen adsorption and pore size distribution(BJH) of synthesized monodispersed particle

表 1. 合成单分散微米硅胶填料的具体指标

| 项目 | 单位 | 测定范围 | 测试方法 |
|------------------|-------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| 平均直径 | μm | 2, 3.5, 5, 7, 10, 12, 15 | Beckman Counter |
| 颗粒均一度 D90/D10 | 1 | 1.2-1.5 | Beckman Counter |
| 比表面积 | m ² /g | 300-330/100-150/30-50(大孔) | N ₂ 吸脱附仪/ 压汞法 |
| 孔容 | ml/g | 0.8-0.95/0.5-0.75/1.5-1.8(大孔) | N ₂ 吸脱附仪/ 压汞法 |
| 最可几孔径 | nm | 7.0-15(BJH)/20-30(DFT)/70-400* | N ₂ 吸脱附仪/ 压汞法 |
| 平均孔径 | nm | 10-15/20-30/70-400* | N ₂ 吸脱附仪/ 压汞法 |
| 堆密度 | g/ml | 0.4-0.55 | 称量计算法 |
| 金属质子离子 | ppm | <2.5 | ICP-MS |

此外，合成的单分散微米硅胶在某色谱公司通过了 300 多次的分离测试，显示了比较高重复性和化学稳定性；通过某色谱公司 60 次动态轴向压缩(DAC)技术填装冲击，发现色谱硅胶基质没有任何破碎，显示了非常好的机械强度。

制备的单分散微米硅胶通过有机基团的键合，通过了 Waters-SOP（疏水性、酸性和中性条件下的硅醇基活性测试）和依利特分析仪器有限公司的 Elite128 反相色谱柱和

ASTM SRM870 评价方法测试，结果显示合成的微米硅胶不仅满足分析测试的需求，而且具有柱压低、金属杂质含量低、硅羟基残留低的优势，充分说明了合成的单分散微米硅胶具有均一度高、纯度高、表面性质可控等特点。

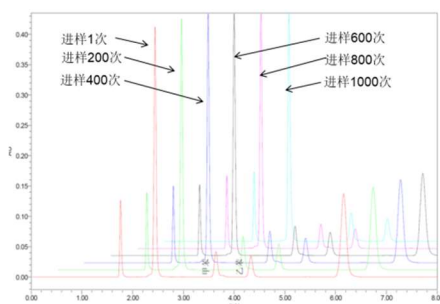


Fig. 2 The Stability test of the micro-chromatography packing modified with the C18 group

键合有机基团的微米色谱填料稳定性对于后期的应用非常重要。课题组以应用最为广泛的 C18 微米色谱填料为测试对象，进行填料的分离稳定性测试，测试的结果如图 3 所示。由图 3 可以看出，经过 1000 次的样品分析之后，C18 微米色谱填料对于检测物种的分离性能并没有发现衰减，显示了很好的分离稳定性。

因此，课题组开发的单分散微米硅胶和键合有机基团的色谱填料完全满足分析检测和分离纯化的要求，可以商业化应用。

参考文献:

1. C. du F. Hohenesche, V. Ehwald, K.K. Unger, Development of standard operation procedures for the manufacture of n-octadecyl bonded silicas as packing material in certified reference columns for reversed-phase liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 2004, 1025: 177-187.
2. 蒋生祥, 刘霞, 硅胶基质高效液相色谱固定相, *色谱*, 2007, 25 (2): 163-173
3. M.N., Kungaly, W.H., Gothenburg, B.Larsson, H. Backa, Method for preparation of silica particle, US5256386, 1993.
4. R.K. Iler, H.J. McQueson, Uniform oxide microspheres and a process for their manufacture, US4010242, 1977.
5. H. Miyahara, R., Nakashima, K., Higashi, Silica Spheres and affinity carrier, US2014/0235435 A1, 2014.
6. Holmes, J., Carigaline, mesoporous silica microparticles, EP2615064A2, 2008.

色谱与中药质量控制

李绍平, 赵静

澳门大学中药质量研究国家重点实验室, 澳门, 999078

*E-mail: spli@um.edu.mo

关键词: 色谱, 中药, 质量控制

中药质量控制是中药现代化和国际化的关键之一, 建立一套科学、合理、经济、符合中医药特色的质量评价体系是现代中药研究一项十分重要任务。与西药相比, 中药通常含有数百种化学成分, 但只有少数化合物与其安全性和/或有效性相关。多成分综合疗效是中药的重要特点, 因此, 色谱分离优势决定其在中药质量控制中具有重要地位。近几十年来, 色谱及其联用技术, 如高效薄层色谱法 (HPTLC)、气相色谱法 (GC) /GC-MS、高效液相色谱法 (HPLC) /LC-MS 以及毛细管电泳法 (CE) /CE-MS 等已广泛应用于中药质量控制。但是, 由于中药的化学复杂性, 其质量控制应根据分析目的和仪器特点仔细研究和优化适宜技术。本报告将结合不同色谱技术特点, 介绍其在中药质量控制中的应用。

二氧化硅核壳微球的制备及其在快速分离中的应用

唐长伟, 夏红军, 万广平, 刘艳娜, 杨晓辉, 刘家玮, 白泉*
西北大学现代分离科学研究所, 陕西省现代分离科学重点实验室, 西安, 71006

*E-mail: baiquan@nwu.edu.cn

关键词: $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 壳核微球; 双模板法; 聚合诱导胶体聚集法; 双相法, 快速分离

近年来, 基于亚- $2\mu\text{m}$ 填料、整体柱和核壳型填料以及超高压液相色谱技术, 使复杂样品的快速分离分析得以实现。虽然亚- $2\mu\text{m}$ 填料在样品快速分离分析中表现出了显著优势, 但进一步降低填料的粒径以获得更高柱效则存在很大局限性。此外, 高压驱动下流动相与填料之间产生摩擦热而导致的径向温度梯度, 会造成色谱峰展宽。如何既能保持现有小粒径填料高效快速分离的优势, 又能降低背压, 用常规的 HPLC 实现对复杂样品的高效快速分离分析是对分离科学家新的挑战。

二氧化硅核壳填料是因其特殊的结构, 既能保持现有小粒径填料高效快速分离的优势, 又能降低背压, 在快速分析中表现出了优越的分离性能。近年来二氧化硅核壳填料因其具有良好的机械强度、高的比表面积、窄的粒度分布、高度有序均匀的孔径、良好的化学和热稳定性而备受关注, 被认为是全多孔硅胶填料真正的替代品, 已成为液相色谱超快分析的理想工具。

课题组针对当前二氧化硅核壳微球制备方法存在的问题, 分别采用双模板法、聚合诱导胶体聚集法和双相法制备了堆积型和放射性两种孔道结构的二氧化硅核壳微球, 对其制备条件进行优化, 实现了二氧化硅核壳微球的壳层厚度和孔径大小的可控制备[1-3]。所制备的二氧化硅核壳微球单分散性良好、粒径均一。将不同孔径的核-壳微球经 C18 改性后, 分别用于小分子和蛋白质的分离, 在 2 min 内实现对小分子的快速分离, 而在 5min 内完成了 6 种蛋白质的快速分离。表明所制备的 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 核壳微球在液相色谱快速分离分析中具有很好的应用前景。

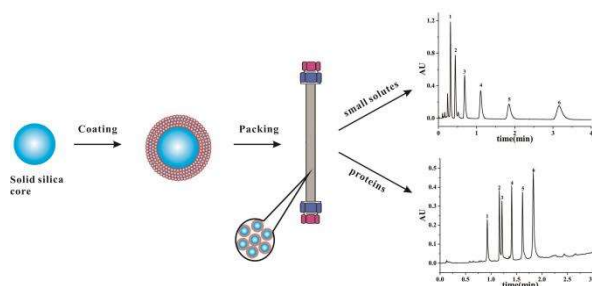


Fig. 1 The fast separation of small solutes and proteins with C18-functionalized $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ core-shell column

参考文献:

1. X.H. Yang, G.P. Wan, S.J. Ma, H.J. Xia, J. Wang, J.W. Liu, Y.N. Liu, G.Chen, Q. Bai*. Synthesis and optimization of $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ core-shell microspheres by an improved polymerization-induced colloid aggregation method for fast separation of small solutes and proteins. *Talanta*, 2020, 207:120310

2. H.J. Xia, J. Wang, G. Chen, J.W. Liu, G.P. Wan, Q. Bai*. One-pot synthesis of SiO₂@SiO₂ core-shell microspheres with controllable mesopore size as a new stationary phase for fast HPLC separation of alkyl benzenes and β-agonists. *Microchimica Acta*, 2019, 186:125-133

3. G.P. Wan, H.J. Xia, J. Wang, J.W. Liu, B.T. Song, Y. Yang, Q. Bai*. Synthesis of SiO₂@SiO₂ core-shell microspheres using urea-formaldehyde polymers as the templates for fast separation of small solutes and proteins. *Chinese Chemical Letters*, 2018, 29: 213–216

色谱分离材料及在生命健康领域的应用

刘艳芳^{1,2}, 郭志谋^{1,2}, 闫竞宇^{1,2}, 梁鑫淼^{1,2*}

1 中国科学院大连化学物理研究所 分离分析重点实验室, 大连, 116023

2 赣江中药创新中心, 南昌, 330100

*E-mail: liangxm@dicp.ac.cn

关键词: 分离材料, 中药, 药物, 寡糖, 分离纯化

高性能色谱分离材料是纯化分离技术的核心, 被称为“色谱的心脏”, 包括以硅胶为代表的无机材料、以琼脂糖为代表的天然高分子多糖基质材料、以聚苯乙烯为代表的合成高分子基质材料等。虽然我国色谱工作者在色谱分离材料方面进行了大量研究工作, 但长期以来我国色谱分离材料无论是分离效率还是其他内在质量指标, 均存在较大差距, 不能满足高效纯化分离的需求, 几乎全部依赖进口(主要是美国和日本), 是典型的“卡脖子”问题之一, 亟需具有自主知识产权的色谱分离材料技术和产品。本课题组设计并合成了硅胶、琼脂糖、聚苯乙烯等基质的系列新型色谱固定相, 涵盖反相色谱、亲水作用色谱、离子交换色谱以及混合模式色谱等多种色谱模式, 在中药、药物、寡糖等分离纯化方面获得了较好的应用。

在中药分离纯化方面, 基于反相、离子交换、超临界流体等模式的新型色谱材料, 构建了多维高效制备体系, 从山萮蓉、北豆根和钩吻等中药中发现了新化合物 102 个, 其中新骨架 3 个, 极大地提高了中药物质基础的研究深度。

在药物纯化方面, 与齐鲁制药、海正药业等国内十余家医药企业建立了稳定的合作关系, 开发了利普司他、奥利司他、纽莫康定等医药产品的“定制化”填料和工艺, 在分离材料产业化应用推进方面取得了重大进展, 为突破国外技术和产品垄断奠定了良好的基础。

在寡糖分析分离方面, 以母乳寡糖为主要研究对象, 针对其结构复杂, 异构体多等分离分析的难点, 通过发展结构两性离子、酰胺等系列亲水色谱分离材料和石墨化碳分离材料, 实现了在线前处理-液相色谱质谱联用的分析方法, 高通量液相色谱质谱联用分析方法以及母乳寡糖标准品规模化分离方法, 为表征母乳寡糖成分提供了技术支持。

毛细管电泳与核酸适配体高效筛选

屈锋*

北京理工大学生命学院, 北京, 100081

*E-mail: qufengqu@bit.edu.cn

关键词: 毛细管电泳, 核酸适配体, 高效筛选,

毛细管电泳是现代微量分析技术。其分辨率高, 分析速度快, 分析模式多样, 分析对目标物广泛, 使用的样品消耗和试剂消耗很少。课题组长期从事毛细管电泳高效筛选核酸适配体方法和策略研究, 在蛋白质的核酸适配体高效筛选方面取得重要进展, 建立了多种筛选模式和普适性筛选方法。建立了多种功能蛋白的核酸适配体筛选方法, 报道了一系列功能蛋白的核酸适配体, 如神经元特异性烯醇化酶 (NSE), 钙网蛋白 (CRT), CRISPR/Cas9, OGG1 蛋白, RecA 蛋白等。针对新冠病毒的刺突蛋白 spike 和受体 ACE2, 经过正筛, 反筛和血清基质三轮筛选, 分别获得新冠病毒的核酸适配体。初步细胞实验表明, 两种核酸适配体均具有一定的生物功能。此外, 进一步开展了血清基质的直接筛选和小分子适配体的 CE 筛选模式研究。

毛细管电色谱和毛细管电泳能否在生物医药领域东山再起？

Soumia Cheddah¹, 刘让东¹, Vinay Naithani¹, 周天啸¹, 徐飞^{1,2},
王薇薇¹, 魏娟¹, 王彦¹, 阎超^{*1,2}

1 上海交通大学药学院, 上海, 200240

2 上海通微分析技术有限公司, 上海, 201203

*E-mail: chaoyan@sjtu.edu.cn

关键词: 毛细管电色谱, 毛细管电泳, 生物大分子, 亚微米光子晶体柱, 生物医药

毛细管电泳 (CE) 以高压直流电场为驱动力, 以充满缓冲溶液 (流动相) 的毛细管为分离通道, 依据被分离物质的荷质比 (q/m), 即离子淌度差异进行分离, 而毛细管电色谱 (CEC) 则利用类似液相色谱 (HPLC) 的填料填充毛细管或内涂毛细管内壁以形成固定相, 利用离子淌度 (电泳) 和分配系数 (色谱) 差异的双重机理进行分离。除了 CE 和 CEC 之外, 还有加压毛细管电色谱 (pCEC), 胶束电动毛细管电泳 (MEKC); 毛细管等电聚焦电泳 (cIEF); 毛细管凝胶电泳 (CGE); 毛细管等速电泳 (cITP) 等, 我们不妨统称毛细管电动分离技术。此分离技术是继液相色谱 (LC) 之后的科学仪器领域的又一重大进展, 使液相柱分离技术的流动相从每分钟毫升级进入到亚微升级 (约 200 纳升), 而进样量从微升级进入到纳升级水平, 这不仅使贵重样品和微量样品 (如单细胞乃至单分子) 分析成为可能, 也为蛋白质、多肽和核酸等生物大分子分析提供了全新的手段和平台。毛细管电动分离技术, 除了以上提到的经济环保和多分离模式之外, 还具有柱效高和速度快的优势。然而它的主要缺点是重现性差和进样量的准确度和精确度偏低, 因而影响了它的快速发展。1981 年, 美国北卡大学 Jorgenson 使用 75 微米内径的毛细管, 首先证实了毛细管电泳 (CE) 和电色谱 (CEC) 的巨大优势, CEC 将 LC 的固定相引入 CE 中, 进一步拓展了电泳的应用范围。上世纪 90 年代, 分析界对微流电动分离一片乐观, 认为该技术将与 HPLC 竞争, 甚至某种程度上取代 HPLC。1988 年, 美国 Bio-Rad 公司推出第一台毛细管电泳仪, 之后 Beckman, Agilent, Varian, Perkin-Elmer, Waters, Applied biosystems, Thermo, Dionex 等相继推出 CE 仪器, CE 进入高歌猛进时代。然而好景不长, 由于 HPLC 多年遥遥领先的地位, 加之 CE 本身重现性不高以及在小分子的分析检测方法开发困难, 很难进入标准 (如药典), 常使实际应用领域的工作者敬而远之。由于市场规模远远小于当初预测值, 许多公司纷纷退出竞争。只剩 Beckman 和 Agilent 成为单通道 CE 的主要厂家。Bio-Rad 则聚焦于体外临床诊断。

随着生命科学和生物医药的不断发展, 生物大分子的分析表征对传统的液相色谱及其分离介质提出了前所未有的挑战。如何发展高柱效、高选择性、高分辨率和快速分析方法成为急待解决的问题。新时代呼唤新型电动分离技术的复兴, 毛细管电泳和毛细管电色谱能否东山再起, 引领微分离科学和技术的潮流? 加压毛细管电色谱 (pCEC) 和定量毛细管电泳 (qCE) 为微流电动分离技术的发展提供了契机。另外, 亚微米光子晶体柱有望实现超快速、超高效的分离。我们成功研制了亚微米光子晶体柱, 在白光照耀下,

毛细管柱呈现 Bragg 衍射的天蓝色，扫描电镜证实了该柱具有光子晶体结构。将亚微米光子晶体毛细管柱用于加压毛细管电色谱 (pCEC)，采用紫外和质谱检测，分别应用于蛋白、多肽等样品的分析中，最高柱效可达每米 100 万的理论塔板数。

我们还将介绍固定 pH 梯度毛细管等电聚焦的研究进展以及在蛋白等电点测定中的应用。

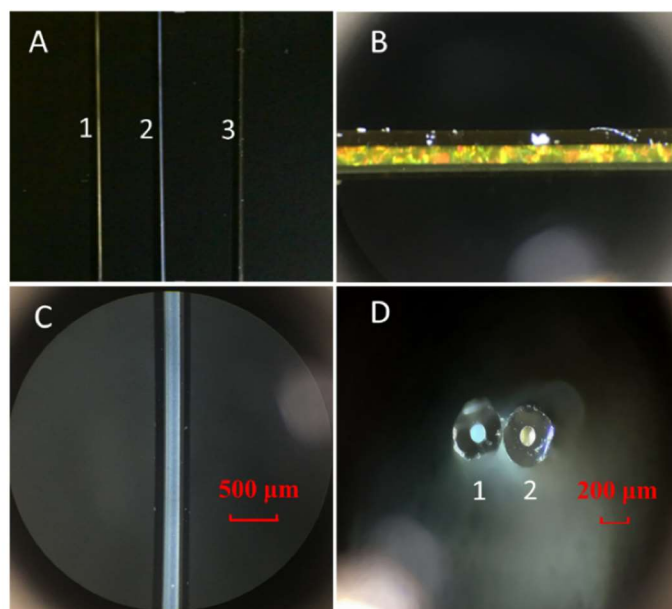


Fig. 1 A) Microscopic images of three 100 μm i.d. capillaries: 1) capillary packed with 1.7 μm particles, 2) a column packed with 420 nm SCC, and 3) an empty capillary. B) A microscopic image of a segment of the coated capillary (100 μm i.d.) packed with SCC observed under a microscope. The colors are indicative of the high order due to Bragg Diffraction. C) A microscopic image of an SCC column packed with SCC. D) Microscopic images of the cross-section of: 1) an SCC column, 2) a capillary packed with 1.7 μm particles.

参考文献:

Q. Liu, K. Yan, Q. Chen, S. Cheddah, L. Shen,; H. Xiao, Y. Wang, C. Yan*, Preparation of silica colloidal crystal column and its application in pressurized capillary electrochromatography. *J. Chromatogr. A*, 2019, 1587, 172-179.

2. R. Liu, S. Cheddah, Y. Wang, C. Yan*, et al, A porous layer open-tubular capillary column with immobilized pH gradient (PLOT-IPG) for isoelectric focusing of amino acids and proteins, *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1048: 204-211.

特异性功能化分离介质的制备及其在医疗健康中的应用

张维冰^{1,*}, 许森¹, 钟志华¹, 楚占营¹, 张凌怡¹

¹ 华东理工大学 上海市功能性材料化学重点实验室, 上海, 200237

*E-mail: weibingzhang@ecust.edu.cn

关键词: 液相色谱, 分离介质, 医疗健康, 富勒烯

随着新型冠状病毒感染的肺炎疫情在全球持续蔓延, 医疗健康领域的科学发展受到社会各方越来越多的关注。液相色谱因其出众的分析分离能力而在医疗领域得到了长足的发展, 并且在与健康息息相关的各领域中起到了不可替代的作用。高选择性、高效分离介质的研发是分离科学永恒的主题, 也是液相色谱能够应对这些层出不穷的分离挑战的根本。基于此, 通过制备特异性功能化分离介质, 并将其应用于各种医疗健康领域上的多种分离, 均得到了良好的应用效果。

本研究制备了多种具有特殊结构与分离选择性的液相色谱固定相, 并对其性能做了系统的评价。通过原位交联聚合反应和麦芽糖的“点击化学”反应, 制备了麦芽糖修饰的交联聚合物-硅胶复合色谱固定相, 在 HILIC 和 RPLC 两种模式下都表现出良好的色谱分离性能, 可在 80 分钟内分离出人参的茎叶提取物 31 种物质。采用层层自组装策略, 通过壳聚糖和透明质酸的逐层静电吸附沉积成功制备出多聚糖-硅胶复合色谱固定相, 也将其应用于氨基酸和磷酸腺苷等生物样品的分离。通过界面阳离子开环聚合反应进行介孔硅胶表面加以修饰, 合成杂链有机聚合物-硅胶复合色谱固定相, 并将其应用于农药的分离, 表现出该材料强大的应用潜力。

针对用于癌症靶向治疗的明星分子富勒烯的分离分析, 采用自由基聚合反应策略制备了聚五溴苯乙烯-硅胶复合色谱固定相, 该固定相可以提供疏水相互作用、 π - π 相互作用及极性相互作用等多重相互作用, 对富勒烯粗产品上样效率达到 2.67%。采用原位生长策略制备的共价有机框架键合硅胶色谱固定相, 同样利用其提供的 π - π 相互作用也能够对富勒烯实现良好的分离。进一步通过对碳材料的结构加以分析, 将煤焦油沥青原位烧结在硅胶基质表面制备成硅基石墨化碳固定相, 利用其表面 sp^2 杂化的碳原子形成的共轭结构的大范围 π 电子云与富勒烯分子之间强烈的 π - π 相互作用, 实现了在富勒烯高溶解度溶剂甲苯作流动相下, C60 与 C70 的基线分离。这一固定相的设计理念也为相关选择性液相色谱固定相的设计提供了一条新思路。

参考文献:

1. Z.Y. Chu, L.Y. Zhang*, W.B. Zhang*. Preparation and evaluation of maltose modified polymer-silica composite based on cross-linked poly glycidyl methacrylate as high performance liquid chromatography stationary phase. *Anal Chim Acta*, 2018, 1036: 179-186.
2. Z.Y. Chu, W.B. Zhang*, D.X. Li*, L.Y. Zhang, M.M. Zhu, Z.S. Ge. Synthesis and chromatographic evaluation of poly(pentabromostyrene)-silica composite: A versatile stationary phase for separating both polar and non-polar aromatic compounds. *Microchem J*, 2020, 156.
3. S. Xu, Z.X. Li, L.Y. Zhang, W.B. Zhang*, D.X. Li*. In situ growth of COF-rLZU1 on the surface of silica sphere as stationary phase for high performance liquid chromatography. *Talanta*, 2021, 221: 121612.

高效液相色谱手性定量分析中的问题与思考

袁黎明

云南师范大学化学化工学院, 昆明, 650500

E-mail: yuan_limingpd@126.com

关键词: 手性, 手性固膜, 高效液相色谱, 定量分析

手性是自然界的基本属性之一^[1], 不对称合成已经两次获得诺贝尔化学奖。目前研究手性的最主要源动力来自于手性药物, 除此之外其与化学、环境、农药、食品、香料、材料、生命等领域也有非常广阔的联系。

膜分离技术在上世纪 50 年代就已开始工业化, 其具有低成本、低能耗、环保、容易规模化等优点^[2]。但自 1986 年第一篇手性固体分离膜的论文发表以来, 至今仍无商品化的手性膜, 该手性分离技术仍未工业化^[3]。

我们课题组从 2000 年后相继开始了手性色谱柱和手性高分子固膜的研究, 一方面研究新型的手性色谱分离柱, 另一方面也比较研究多种商品手性柱的性能、并用它们表征我们的手性高分子膜的选择性。目前我们团队研究的手性高分子固膜已经达到中试尺寸。

现在手性分析主要使用手性色谱方法, 尤其是高效液相色谱手性分析技术^[4,5]。我们系统地比较了常见的高效液相色谱商品手性柱; 建立了手性膜渗析液中对映体的痕量分析方法; 研究了液相色谱手性定量分析中的多种测量误差, 如单个对映体的峰分叉、外消旋体中两个对映体的峰面积不相等、正相流动相中微量水对手性分离的影响等等。为提高高效液相色谱手性分析结果的准确度进行了探索。

参考文献

- [1] 袁黎明. 手性识别材料. 2版. 北京: 科学出版社, 2020.
- [2] 邓麦村, 金万勤. 膜技术手册. 2版. 北京: 化学工业出版社, 2020.
- [3] T.Q. Liu, Z. Li, J.J Wang, J. Chen, M. Guan, H.D. Qiu*. Solid membranes for chiral separation: A review. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 410: 128247.
- [4] 袁黎明, 刘虎威. 色谱手性分离技术及应用. 北京: 化学工业出版社, 2020.
- [5] J. Shen, Y. Okamoto*. Efficient separation of enantiomers using stereoregular chiral polymers. *Chem. Rev.*, 2016, 116: 1094-1138.

毛细管电色谱柱技术及其在药物分析与筛选中应用

陈子林

武汉大学药学院

E-mail: chenzt@whu.edu.cn

毛细管电色谱是结合了毛细管微柱液相色谱及毛细管电泳的优点的微柱分离技术，已发展成为药物分析及筛选等领域的重要手段。手性化合物具有不同的生物活性，手性药物具有不同的药理及毒理性质；手性分离是色谱科学中的一个重要课题。本报告将介绍近年来本课题组在毛细管电色谱柱技术及其在手性药物分析及抗肿瘤酶抑制剂筛选等方面所取得的进展[1-6]。

致谢 国家自然科学基金 82073808, 82082828 及 81573384 资助。

参考文献:

1. Z.T. Li, Z.K. Mao, W. Zhou, Z.L. Chen*. Incorporation of homochiral metal-organic cage into ionic liquid based monolithic column for capillary electrochromatography. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1094, 160-167.
2. Z.T. Li, Z.K. Mao, W. Zhou, Z.L. Chen*. γ -Cyclodextrin metal-organic framework supported by polydopamine as stationary phases for electrochromatographic enantioseparation. *Talanta*, 2020, 218, 121160.
3. Z.T. Li, C.J. Hu, Y.K. Liu, Q.Y. Li, Y.Y. Fu, Z.L. Chen*. Facile preparation of ethanediamine- β -cyclodextrin modified capillary column for electrochromatographic enantioseparation of Dansyl amino acids. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1643, 462082.
4. Z.T. Li, Q.Y. Li, Y.Y. Fu, C.J. Hu, Y.K. Liu, W. Li, Z.L. Chen*. A novel lipase-based chiral stationary phase for direct chiral separation in capillary electrochromatography. *Talanta*, 2021, 233, 122488.
5. W. Li, B. Zhang, Z. Chen*, Screening carbonic anhydrase IX inhibitors in traditional Chinese medicine based on electrophoretically mediated microanalysis, *Talanta*, 2021, 232, 122444.
6. Sun. W#, Liu Y#, Zhou W, Li Z, Chen Z*In-situ growth of a spherical vinyl-functionalized covalent organic framework as stationary phase for capillary electrochromatography-mass spectrometry, *Talanta*, 2021, 230: 122330.

Dual roles of drug and its metabolites-protein conjugate (DMPC): cutting-edge technology of drug discovery using 3D nano LC-MS

Na Li, Jian-Lin Wu*

State Key Laboratory for Quality Research in Chinese Medicines, Macau University of Science and Technology, Avenida Wai Long, Taipa, Macau, China

*E-mail: jlwu@must.edu.mo

Drug and its metabolites-protein conjugate (DMPC) is induced by electrophilic drugs and metabolites. This kind of covalent modification to proteins is usually considered to induce idiosyncratic adverse drug reactions (IADRs) and make this mechanism disfavoured for drug discovery. But recently, drugs covalently and selectively linking to their target proteins have shown great potency and long duration. Obviously, there are dual roles of DMPCs in toxicity and activity which make a great sense in drug development. Drugs with covalent mechanism of action showed their prospects in diverse disease. For example, Sotorasib, the first marketed KRAS^{G12C} target inhibitor, which provides some hope to make these traditionally “undruggable” proteins druggable. Prospective covalent inhibitors for COVID 19 based on rational design are also discovered. Covalent drug showed a prospect to serve as an efficient therapy and made a major positive impact on human health.

For covalent drug discovery, the target selection and structural design necessitate the investigation of reactive structures of chemicals (e.g., acrylamide, furan, acetaminophen, epoxide, etc.) and targeted amino acid residues that make up DMPCs. Moreover, the analysis of DMPCs is essential for modification pattern determination and modification site verification. These data could benefit the rational design of covalent drugs, discover new structures with covalent modification potential, find new therapeutic targets for diverse disease and inspire the reproposing of drugs. It could be noticed that the investigation of DMPC is essential for covalent drug development, which also make a great sense for drug discovery.

However, the abundance of DMPC is extremely low in biological samples, which impedes the determination of DMPCs and put forward high request to analytical techniques. Recently, more and more investigations about DMPCs have been published, in which 3D nano LC-MS based proteomics are preferred due to its performance for low abundance targets detection. The improved strategies in shotgun proteomics such as protein enrichment and peptide separations can enhance the investigation of low abundance DMPCs. Therefore, it is meaningful to study of DMPC using 3D nano LC-MS based.

新型两性亲水色谱材料的制备、应用及保留机理研究

江正瑾*, 王启钦, 徐东升, 孙凌珏

暨南大学药学院, 广州, 510632

*E-mail: jzjjackson@hotmail.com

关键词: 两性离子, 整体色谱柱, 亲水色谱, 单交联聚合

Because of their good permeability, low resistance to mass transfer and easy preparation within capillaries, hydrophilic monolithic columns represent a trend among novel HILIC column techniques [1]. A series of monolithic columns with zwitterionic functional groups have been successfully developed by varying the type of functional monomer or crosslinker [2-6]. In order to investigate the effect of charged groups present in hydrophilic monolithic stationary phases on their chromatographic properties, three charged hydrophilic monomers, i.e. N,N-dimethyl-N-acryloyloxyethyl-N-(3-sulfopropyl)ammonium betaine (SPDA), [2-(acryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (AETA), and 3-sulfopropyl acrylate potassium salt (SPA) were co-polymerized with the crosslinker N,N'-methylenebisacrylamide (MBA), respectively. The effects of the type of crosslinker on the separation performance of zwitterionic sulfoalkylbetaine-type hydrophilic monolithic columns, three crosslinkers, i.e. 1,4-bis(acryloyl)piperazine (PDA), ethylene dimethacrylate (EDMA) and N,N'-methylenebisacrylamide (MBA), were copolymerized with the hydrophilic monomer SPDA, was also studied. Additionally, single zwitterionic crosslinking monomer 2-(methacryloyloxy)ethyl-[N-(2-methacryloyloxy)ethyl]phosphorylcholine (MMPC) [2], or N,N-bis(2-methacryloyloxyethyl)-N-methyl-N-(3-sulfopropyl) ammonium betaine (CL1) were used as both functional monomer and crosslinker to prepare HILIC column. The chromatographic properties of these monoliths, including column efficiency, permeability, porosity and separation mechanism, were systematically investigated using scanning electron microscopy and micro-HPLC. The results indicate that although the type of functional monomer has some influence on column polarity and selectivity, the hydrophilicity of zwitterionic HILIC monolithic columns may also be related to the polarity of the crosslinker, which further affects column selectivity and efficiency. A particularly high column efficiency (> 150,000 plates/m) was obtained using the novel poly(SPDA-co-PDA) monolithic column at a linear velocity of 1 mm/s using thiourea as test analyte. Extreme short polymerization time and improved column reproducibility were observed for poly(MMPC) and poly(CL1) monolithic columns. These monoliths showed good separation performance for the analysis of polar compounds, such as nucleobases, nucleosides, amino acids and hydrophilic organic acids in natural products.

参考文献:

- 1.Z.J. Jiang*, N.W. Smith, Z.H Liu. Preparation and application of hydrophilic monolithic column. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218: 2350-2361.
- 2.Q.Q. Wang¹, K. Peng¹, N. Gan¹, X. Liu, H. Huang, H.K. Shao, H.Y Jin, J. Crommen, Z.J. Jiang*. Rapid fabrication of versatile zwitterionic super-hydrophilic polymers by sole-monomer system for biomolecules separation. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 396: 125121.
- 3.Q.Q. Wang¹, Q.X. Zhang¹, H. Huang, P.W. Zhao, L.J. Sun, K. Peng, X. Liu, M. Ruan, H.K. Shao, J. Crommen, P. Yu*, Z.J. Jiang*. Fabrication and application of zwitterionic phosphorylcholine functionalized monoliths with different hydrophilic crosslinkers in hydrophilic interaction chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1101: 222-229.
- 4.Q.Q. Wang¹, H.H. Wu¹, K. Peng, H.Y. Jin, H.K. Shao, Y.Q. Wang, J. Crommen, Z.J. Jiang*. Hydrophilic polymeric monoliths containing choline phosphate for separation science applications. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 999: 184-189.
- 5.C.S. Liu, H.B. Li, Q.Q. Wang, J. Crommen, H.B. Zhou*, Z.J. Jiang*. Preparation and evaluation of 400 μm I.D. polymer-based hydrophilic interaction chromatography monolithic columns with high column efficiency. *Journal of Chromatography A*, 2017, 1509: 83-90.
- 6.H.B. Li, C.S. Liu, L. Zhao, D.S. Xu, T.T. Zhang, Q.Q. Wang, D. Cabooter*, Z.J. Jiang*. A systematic investigation of the effect of sample solvent on peak shape in nano- and microflow hydrophilic interaction liquid chromatography columns. *Journal of chromatography A*, 2021, 1655: 462498.
- 7.H.B. Li, C.S. Liu, Q.Q. Wang, H.B. Zhou*, Z.J. Jiang*. The effect of charged groups on hydrophilic monolithic stationary phases on their chromatographic properties. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1469: 77-87.

基于数学分离的高阶联用色谱与多维校正

吴海龙*, 俞汝勤

湖南大学 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南长沙 410082

*E-mail: hlwu@hnu.edu.cn 和 rqyu@hnu.edu.cn

关键词: 高阶联用色谱; 多维校正; 复杂体系定量分析; 数学分离; 化学计量学

随着实际研究体系由简单转向复杂、研究对象更偏向生物活性物质、分析速度要求越来越高、分析过程更倾向于在线、实时和自动化, 分析化学发展已越来越重视方法学和分析仪器的系统集成创新。作为信号采集装置的化学传感器已由单通道向多通道发展, 其线阵乃至面阵装置不断研制出现, 各类新型分离分析联用仪器也纷纷面世。而处理多维传感响应信号需要化学计量学多维数据分析方法。基于数学分离的化学多维校正 (Multiway calibration) 是化学计量学的发展前沿, 它通过将复杂量测系统的多维响应信号与研究对象含量信息构成多线性模型并确定参数后进行目标物含量高效预测。一般可根据化学量测信号类型, 将它分为一维校正 (简单回归)、二维校正 (普通多元校正)、三维校正 (二阶张量校正或简称二阶校正)、四维校正 (三阶校正)、五维校正 (四阶校正) 等方法, 其中三维及更高维校正方法为单元校正和多元校正的拓展, 具有独特的二阶及更高阶优势, 如: 即使有未知物干扰和基体干扰共存也能对预测样中待测多组分进行直接、快速、同时、高效定量分析。该分析策略灵巧、经济, 能以“数学分离”代替或者至少是增强“物理或化学分离”, 从而实现复杂体系待测多组分的直接快速同时定量分析。本文将以前室相关工作为基础, 结合 LC-DAD、LC-MS 等多维多通道传感响应, 着重报告多维校正策略及其在生命、环境、食品等领域的高效定量分析应用, 如人体液样中兴奋剂和抗癌药物及其代谢药物含量、环境废水中有害成分含量等定量分析。

参考文献:

1. Booksh K S, Kowalski B R. *Anal. Chem.*, 1994, 66, 782A-786A
2. Hierlemann A, Gutierrez-Osuna R. *Chem. Rev.* 2008, 108, 563-613
3. 吴海龙, 俞汝勤. *化学通报*, 2011, 74(9), 771-782
4. Wu H L, Nie J F, Yu Y J, et al. *Anal. Chim. Acta.* 2009, 650: 131-142.
5. Yu Y J, Wu H L, Nie J F, et al. *Chemom. Intel. Lab. Syst.*, 2011, 106 (1), 93-107
6. Fu H Y, Wu H L, Yu Y J, et al. *J. Chemom.*, 2011, 25(8): 408-429
7. Wu H L, Li Y, Yu R Q, *J. Chemom.* 2014, 28: 476-489.
8. Gu H W, Wu H L, Yin X L, et al. *Anal. Chim. Acta* 2014, 848: 10-24.
9. Yin X L, Wu H L, Gu H W, et al. *J. Chromatogr. A* 2014, 1364: 151-162.
10. Wu HL*, Wang T, et al. *TRAC-Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 130: 115954.
11. Fang H, Wu HL *, et al. *Food Chemistry*, 2021, 342: 128235.

Higher-order LC-DAD、LC-MS and multiway calibration based on mathematical separation

Hai-Long Wu and Ru-Qin Yu

(State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; E-mails: hlwu@hnu.edu.cn & rqyu@hnu.edu.cn)

大环分离介质的制备及应用研究

刘高玺¹, 张冲¹, 吴超钧¹, 张文芬^{1*}, 张书胜^{2,*}

¹ 郑州大学, 化学学院, 河南省, 郑州, 450000

² 郑州大学, 现代分析与基因测序中心, 河南省, 郑州, 450000

*E-mail: zsszz@126.com

关键词: 大环分离介质, 色谱分离, 样品前处理

现代分析手段的不断进步和新型功能材料的不断涌现, 为发展简便、高效的色谱分离、样品前处理方法提供了极大的发展空间。其中共价有机框架 (COFs)、金属有机框架 (MOFs)、多孔碳、多孔有机聚合物等多孔材料具有官能团可控、孔结构清晰可调、比表面积大等特性, 被广泛得应用于毛细管电泳、色谱固定相、吸附剂等领域。我们课题组近年来在相关领域做了大量工作, 开发了多种分离材料和吸附剂, 被广泛应用于生物医药、环境监测、食品分析等领域。此外, 从分离和吸附机理得角度出发, 采用实验和计算相结合的方式对材料的分离和吸附机理进行了探究, 为新材料的开发提供了理论指导。

致谢: 国家自然科学基金(No. 22004109, 21974124)

参考文献:

1. Li, X. S., Zhu, G. T., Luo, Y. B., Yuan, B. F., Feng, Y. Q., Synthesis and applications of functionalized magnetic materials in sample preparation. *TrAC - Trends Anal Chem*, 2013, 45(1):233–47.

应用生物液相色谱系统和色谱柱进行生物大分子分析的优势

余彦海

安捷伦科技(中国)有限公司, 广州, 510000

*E-mail: yan-hai_yu@agilent.com

关键词: 液相色谱, 生物大分子, 色谱柱, 生物液相

近年来, 生物药物在临床应用展现出巨大的优势, 一般具有更好的疗效、更高的安全性、更准确的靶向治疗等。但生物药物由于本身的复杂性, 容易出现电荷变异、分子大小变异、氨基酸序列 N 端和 C 末端的异质性、翻译后修饰等等, 对于生物药物表征通常需要采用反相、离子交换、体积排阻等方法进行。鉴于生物药物本身复杂性, 通常这些方法都需要采用较苛刻条件进行分析, 因此常规液相色谱的耐用性及稳定性受到极大挑战。

具备完整的生物惰性及生物兼容流路, 可应对生物药物分析所需的各种极端条件, 并且减小这些分子与接触表面的非特异性吸附问题, 是解决生物药物分析挑战的理想选择。

新型手性液相色谱填料研究

石成香^{1, #}, 王晓萍^{2, #}, 李辉, 赵亮, 邱洪灯^{1, *}

¹ 中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州, 730000

² 浙江省化工产品质量检验站有限公司, 杭州, 310023

*E-mail: hdqiu@licp.cas.cn

关键词: 液相色谱; 固定相; 手性填料; 手性分离

手性原则是自然界一切生命活动的根源, 手性化合物的两个对映体理化性质几乎相同, 因此手性化合物的拆分具有重要意义。我们课题组最近研究了多种新型手性色谱填料, 并将其用于手性分离。 β -环糊精由于其特殊的手性环境和优异的结构特征, 在其环上通过衍生反应性羟基实现功能化, 可用于识别或分离多种手性物质。羧酸衍生物修饰的 β -环糊精手性材料作为手性色谱固定相, 在正相或反相模式下可以快速高效地选择性分离芳香仲醇、安息香、黄烷酮和三唑类手性化合物。此外, 该手性材料在硅胶表面键合量大, 重复性好, 手性拆分性能强, 制备过程绿色简单。有望成为一类新型的基于环糊精的手性分离材料。

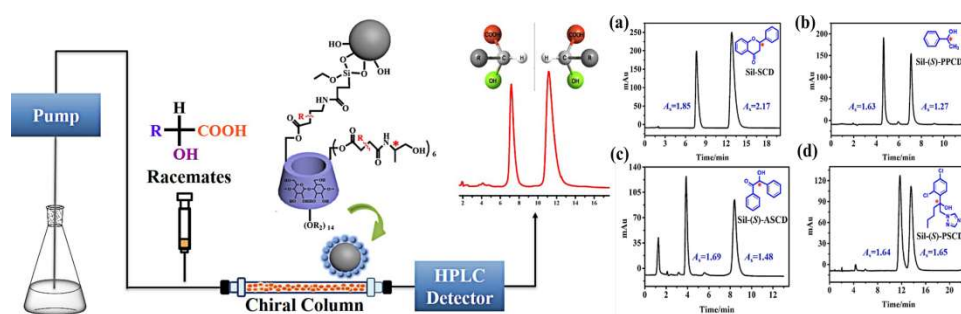


Fig. 1 Schematic diagram of enantiomer separation by β -cyclodextrin-functionalized silica columns.

参考文献:

1. X. Wang, H. Li, K. Quan, L. Zhao, Z. Li, H. Qiu. Anhydride-linked β -cyclodextrin-bonded silica stationary phases with enhanced chiral separation ability in liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1651: 0021-9673
2. J. Gao, K. Quan, H. Li, Z. Li, L. Zhao, H. Qiu. Preparation and evaluation of bisectaldehyde bonded-type multifunctional chiral stationary phase based on dialdehyde cellulose and 6-monodeoxy-6-monoamino- β -cyclodextrine derivatives. *Chirality*, 2020, 32: 387-399
3. J. Gao, L. Chen, Q. Wu, H. Li, S. Dong, P. Qin, F. Yang, L. Zhao. Preparation and chromatographic performance of a multifunctional immobilized chiral stationary phase based on dialdehyde microcrystalline cellulose derivatives. *Chirality*, 2019, 31: 669-681

糖肽富集新策略

熊雨婷¹, 李闵闵¹, 卿光焱^{1,*}

¹ 中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁省大连市沙河口区中山路 457 号, 116023

*E-mail: qinggy@dicp.ac.cn

关键词: 糖肽; 动态共价化学; 生物分离; 席夫碱; 自组装

唾液酸糖链在细胞膜表面分布众多, 如同一层“糖被”覆盖在细胞表面。最末端的位置及广泛的分布, 使得唾液酸糖链在病毒感染、免疫激活、癌症发生、发展和迁移等诸多生理过程中, 发挥着至关重要的作用。唾液酸糖蛋白已被广泛用作癌症的临床生物标志物。然而, 唾液酸糖链的鉴定及分析异常复杂, 迫切需要全新、高效的材料学体系支撑, 以攻克复杂生物样本中唾液酸糖肽富集和分离的难题, 推动糖蛋白组学的全面发展。^[1]

研究团队基于动态共价化学的策略, 实现了精确捕获唾液酸糖链。该策略与传统的静态亲合策略不同, 巧妙地利用了席夫碱中存在的动态共价化学键, 以其水解部分与唾液酸糖链形成稳定的复合物。所开发的材料对唾液酸糖肽展现出优异的富集选择性, 吸附容量高, 富集回收率好, 达到了唾液酸糖肽富集领域的较高水平。这为生物化学家提供了一种新颖、有力的策略, 可用于精确捕捉与癌症和免疫疾病发生密切相关的糖链信息。另一方面, 该材料易于水解的特性, 改变了科研人员对传统富集材料必须具备良好的化学稳定性的认知。更重要的是, 研究人员发现席夫碱水解反应背后隐藏着一个有趣的故事, 席夫碱自牺牲水解后与唾液酸糖链发生了高选择性的结合, 同时水解脱落部分进行了有序自组装, 共同促进了水解反应的发生。该研究展现了动态共价化学在糖蛋白组学和生物分子传感领域的独特优势。^[2]

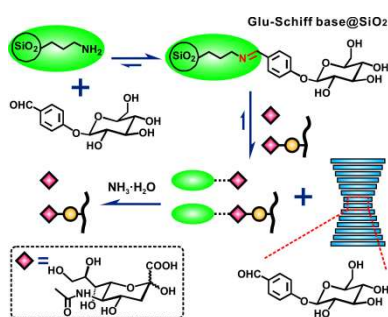


Fig. 1 Enrichment strategy based on dynamic covalent chemistry for sialylated glycan

参考文献

[1] Alper, J. *Science* 2003, 301: 159.

[2] Xiong, Y. T.; Li, X. L.; Li, M. M.; Liang, X. M.; Qing, G. Y. *J. Am. Chem. Soc.* 2020, 142: 7627.

Novel Enrichment Strategy for Glycosylated Peptides

Yuting Xiong¹, Minmin Li¹, Guangyan Qing^{1,*}

¹CAS Key Laboratory of Separation Science for Analytical Chemistry, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, 457 Zhongshan Road, Dalian 116023

The aberrant expression of sialylated glycans (SGs) is closely associated with the occurrence, progression, and metastasis of various cancers, and sialylated glycoproteins have been widely used as clinical biomarkers for cancers. However, identification and comprehensive analysis of SGs is exceptionally complex, which urgently need innovative and effective method to capture SGs from biosample in prior to MS analysis. Here, we report that a novel dynamic covalent chemistry strategy based on Schiff base hydrolysis can be applied for the precise capture of the SGs. The prepared glucopyranoside-Schiff base-modified silica gel displays extraordinary enrichment selectivity (even at the ratio of 1:5000 with interference), high adsorption capacity ($120 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), and satisfying enrichment recovery (95.5 %) towards sialylated glycopeptides, which contributes to a highly specific, efficient, mild and reversible SG capturing approach that can remarkably promote the development of glycoproteomics and sialic acid sensing devices, and can be considerably promising in cancer biomarker discovery. Meanwhile, the facile hydrolysis characteristic of our Schiff base material completely subverts conventional knowledge of enrichment materials, the chemical stability of which is usually regarded as a prerequisite. Importantly, we find an exciting story hidden behind the Schiff base hydrolysis reaction, which demonstrates the unique advantage of dynamic covalent chemistry in glycoproteomics and biomolecule sensing.

色谱-质谱关系的再思考

刘虎威*

北京大学化学与分子工程学院, 北京, 100871

武昌理工学院生命科学学院, 武汉, 430223

*E-mail: hwliu@pku.edu.cn

关键词: 色谱; 质谱; 联用分析; 样品处理; 生命分析化学

色谱-质谱联用是当今应用最为广泛的分析技术。本文基于近些年的研究, 指出并不是任何复杂混合物的分离分析问题都要用色谱-质谱联用方法, 而是要根据分析对象和目的选择最适合的方法, 达到高效分离、高灵敏检测和高通量分析的目的。全二维色谱-串级质谱联用是强有力的生命分析方法; 高效样品处理技术和敞开式离子化质谱技术是提高色谱-质谱联用方法分析能力的有效途径。

主要参考文献 (略)

微流控与柔性分析器件

蒋兴宇

南方科技大学

微流控为生物检测带来了高通量、低消耗、便携化等优势，还可以高效地筛选药物、纳米材料等用于生物医学的需求。把液态金属和用弹性高分子的微芯片整合成柔性电子电路后，这些柔性电子电路可以在人体表面以及人力器官表面贴附并发挥长期检测与检测的作用。例如，使用液态金属-弹性高分子微流控可以制备全柔性血氧传感器、全柔性的汗液检测装置以及薄到和纹身一样的检测器件。还可以用这些新材料制备具有长期检测血液中的生理与生化指标的电子血管。

参考文献:

1. Tang LX, Shang J, Jiang XY, *Science Advances*, 2021, 7, eabe3778.
2. Tang LX, Mou L, Shang J, Dou JB, Zhang W, Jiang XY, *Mater. Horiz.* 7, 1186-1194. (2020)
3. Cheng SY, Hang C, Ding L, Jia LJ, Tang LX, Mou L, Qi J, Dong RH, Zheng WF, Zhang Y*, Jiang XY*, *Matter*, 3, 1664-1684. (2020)
4. Yang MZ, Liu Y, Jiang XY, *Chem Soc Rev.* (2019) 10.1039/C8CS00303C
5. M. Yang, Y. Chen, J. Yang, W. Zheng, X. Jiang, *Science Advances*, DOI: 10.1126/sciadv.aao4862 (2017).
6. Lei YF, Tang LX, Xie YZY, Xianyu YL, Zhang LM, Wang P, Hamada Y, Jiang K, Zheng WF, Jiang XY, *Nature Communications*, DOI: 10.1038/ncomms15130. (2017)

生物医学微流控系统

秦建华^{1,2}

¹中国科学院大连化学物理研究所, 大连, 160023

²中国科学院大学未来技术学院, 北京, 100049

*E-mail: jhqin@dicp.ac.cn

关键词: 微流控系统, 器官芯片, 生物医学

生命科学和医药领域的快速发展仍面临一系列严峻挑战, 很多复杂性疾病机制不清。疾病机制研究和药物评价迫切需要人们对极为复杂的人体生理系统更深层次的理解认识和科学探索。本报告将从人体的复杂生理特点出发, 以作者研究团队系列工作为基础, 着重介绍微流控系统、器官芯片及其在疾病研究、药物评价等生物医学领域中的应用, 并对该技术在未来医学中的应用前景予以展望。

纳米孔道限域的单分子色谱初探

龙亿涛

南京大学化学化工学院, 生命分析国家重点实验室, 南京, 210023

*E-mail: yitaolong@nju.edu.cn

纳米孔道单分子技术是一种利用“电化学空间限域”效应, 将单个分子限域在孔道内以获得单个 DNA、RNA、多肽、蛋白质动态特性的分析方法,¹ 其与电泳的本质都是采用外加电场使待测分子产生电迁移。待测分子性质不同, 且与介质材料孔道外露基团相互作用不同, 使得分子移动速度具有差异, 据此实现对单分子分离识别。气单胞菌溶素 (Aerolysin) 纳米孔道, 由于其孔径与待测分子尺寸相匹配, 其孔道内壁可以看作是由氨基酸组成的具有调控单个分子电迁移能力的特异性单分子界面。²⁻⁴ 每一个氨基酸残基都相当于一个探测单元, 在电场力的作用下, 待测分子逐一进入孔道时与每一个探测单元相互作用方式、程度与时长不同, 从而形成了单个待测分子特征的迁移速度和迁移运动轨迹。在纳米孔道实验中, 每秒可以有上千个待测分子穿过孔道, 产生特征阻断电流信号。通过对这些信号的阻断电流、阻断时间、阻断频率、信号特征等进行统计分析, 可以从“单分子电泳”水平对单个待测物实现高通量的分辨和识别, 展现出电化学限域空间在电泳单分子水平分离技术上的应用潜力。⁵

参考文献

1. Z.-L. Hu.; M.-Z. Huo.; Y.-L. Ying.; Y.-T. Long. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2020, 133, 14862.
2. Y.-L. Ying.; C. Cao.; Y.-X. Hu.; Y.-T. Long. *Natl. Sci. Rev.*, 2018, 5: 450.
3. Y.-L. Ying.; Y.-T. Long. *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, 141: 15720.
4. M.-Y. Li.; Y.-L. Ying.; J. Yu.; S.-C. Liu.; Y. -Q. Wang.; S. Li.; Y.-T. Long. *JACS Au*, 2021, 1, 967.
5. 张伟为; 应佚伦; 龙亿涛; 单分子电泳: 纳米孔道电化学的新认识[J]; 色谱, 2020年38期

外泌体高效分离分析

杨朝勇

厦门大学化学化工学院

上海交通大学分子医学研究院

外泌体是细胞通过多囊体（MVB）路径分泌的一种微囊泡，其在形成过程中运载了多种蛋白质、核酸和脂质等信号分子，在细胞间信息交流以及信号转导中发挥着重要的作用。外泌体已被视为疾病液体活检的重要标志物，其数量、运载的特征蛋白质和 RNA 等，与疾病的发生发展进程密切相关。当前外泌体研究仍然面临诸多的挑战，包括疾病来源外泌体数量少、外泌体疾病标志物丰度低等。针对外泌体分离和检测方面的技术挑战，我们课题组发展了核酸适体筛选新方法，获得了高效识别外泌体膜蛋白的核酸适体序列；开发了基于流动多孔界面的外泌体分析芯片，实现了外泌体的高效分离与高灵敏芯片分析；发展了基于核酸适体和 DNA 逻辑运算的外泌体智能检测探针，通过核酸适体邻位簇集反应以及蛋白质生物正交标记，实现了肿瘤来源外泌体的 PD-L1 蛋白以及 PD-L1 的糖基化水平的高灵敏高精度定量分析。研究结果不仅证明了外泌体在癌症早期诊断以及治疗预后中发挥重要的作用，也为进一步研究外泌体在疾病进展中的生物功能和作用机制提供了可靠的分析工具。

移动反应界面与等电聚焦电泳

张强¹、刘伟文^{1,2}、曹成喜^{1,2*}

1 上海交通大学仪器科学与工程系, 上海, 200240

2 上海交通大学医学院附属第六人民医院东院, 上海, 200240

*E-mail: cxcao@sjtu.edu.cn

关键词: 等电聚焦电泳, 地中海贫血, 电泳滴定, 移动反应界面, 糖尿病。

30 年来, 有关移动反应界面 (moving reaction boundary, MRB) 概念、理论、方法和应用取得了较大发展, 初步形成了较系统的概念和理论体系、以及应用研究。第一、在反应界面概念和理论发展方面, 前后提出了: 移动沉淀界面、移动中和界面、移动络合界面、移动氧化还原界面、移动亲和界面和移动超分子界面模型和理论等。在此基础上, 建立了移动沉淀界面和移动络合界面的数学模型、以及相关的计算机模拟软件等。

第二、基于 MRB 的 IEF 物理模型与理论。基于 MRB 概念和理论, 探索了等点聚焦电泳 (IEF) 与 MRB 的关系, 揭示了 IEF 是基于 MRB 的电驱动分离分析技术, 解释 IEF 一系列基础科学问题, 包括: IEF 动力学、电控聚焦现象、IEF 准稳定性、pH 梯度漂移、pH 梯度水平化现象、Hjerten's mobilization 机理、IPG 技术稳定性机理、以及电迁移电流-扩散电流等。

第三、基于以上研究, 课题组建立了基于 MRB 的 IEF 技术体系, 包括: 合成了 IEF 和 2DE 所需的 10 种以上关键材料 carrier ampholytes, 制备了 40 种以上的 IEF 核心分离, 探索出稳定、高分辨的 IEF 实验方法, 研制了拥有自主知识产权的成套 IEF 和 2DE 仪器设备与软件系统, 开发了具有自主知识产权的糖尿病地中海贫血诊断技术与装备。

第四、MRB 电泳滴定概念与技术。提出了基于 MRB 的电泳滴定概念、研制相关的样机, 建立了蛋白质滴定的概念、理论和方法; 将 MRB 滴定技术等用于乳制品蛋白质含量测定, 具有很好的抗非蛋白氮试剂的干扰; 提出了双蛋白电泳滴定概念, 解决了蛋白以次掺好的定量分析; 提出了双内标滴定芯片模型, 为 POCT 设计奠定了基础。

参考文献

1.C. X. Cao, Moving chemical reaction boundary and isoelectric focusing: I the conditional equations of Svensson-Tiselius' differential equation of solute concentration distribution in an idealized isoelectric focusing at steady state, *J. Chromatogr. A*, 1998, 813: 153-172.

2.H. Y. Wang, Y. T. Shi, J. Yan, J. Y. Dong, S. Li, H. Xiao, H. Y. Xie, L. Y. Fan, C. X. Cao, A retardation signal for fluorescent determination of total protein content via rapid and sensitive chip moving reaction boundary electrophoretic titration, *Anal. Chem.*, 2014, 86: 2888-2894.

3.L. X. Zhang, Y. R. Cao, H. Xiao, X. P. Liu, S. R. Liu, Q. H. Meng, L. Y. Fan, C. X. Cao, Leverage principle of retardation signal in titration of double protein via chip moving reaction boundary electrophoresis, *Biosensors and Bioelectronics*, 2016, 77: 284-291.

4.Y. C. He, F. Z. Kong, L. Y. Fan, J. Y. Wu, X. P. Liu, J. Li, Y. Sun, Q. Zhang, Y. Yang, X. J. Wu, H. Xiao, C. X. Cao, Preparation of intact mitochondria using free-flow isoelectric focusing with post-pH gradient sample injection for morphological, functional and proteomics studies, *Anal. Chim. Acta*, 2017, 982, 200-208.

5. W. L. Li, Q. Zhang, F. Z. Kong, X. P. Liu, M. I. Khan, A. Wahid, S. Saud, Hua Xiao, C. X. Cao, L. Y. Fan, A simple chip electrophoresis titration of neutralization boundary with EDTA photocatalysis for distance-based sensing of melamine in dairy product, *Anal. Chem.*, 2018, 90: 6710-6717.
6. G. Q. Li, H. G. Li, F. F. Dong, Y. F. Bi, Q. Zhang, F. Z. Kong, X. P. Liu, Y. Peng, Y. X. Wang, H. J. Lu, H. Xiao, D. Saud, L. Y. Fan, C. X. Cao, Isoelectric focusing array with immobilized pH gradient and dynamic scanning imaging for diabetes diagnosis, *Anal. Chim. Acta*, 2019, 1063, 178-186.
7. X. T. Jiang, S. Liu, Y. Zhang, Amir Sohai, C. X. Cao, P. Wang, H. Xiao, FFIEF for Comprehensive Separation and Analysis of Human Salivary Microbiome for Lung Cancer, *Anal. Chem.*, 2020, 92, 12017-12025.

空间科学探索中的色谱仪设计

关亚风

中国科学院大连化学物理研究所

宇宙到底是如何运行、有何规律、生命如何起源、是否存在地外生命甚至智慧生物，至今依然是迷。人类一直探索着生命起源和地球之外的世界。国外已有的实验证明，在脱离地球重力影响之后的环境下（称之为微重力环境），地球上的病毒、细菌、植物、动物、人类生长会受到影响，会有变异，化学合成、生物合成、材料制备、冶炼等过程和结果与在地球上面有所不同。空间科学探索是在微重力环境和宇宙射线环境下的科学实验，是人类探索宇宙奥秘的手段，而这些探测和实验往往都需要对物质组分做现场原位分析检测。

深空着陆探测是指脱离地球轨道，进入太阳系行星轨道甚至离开太阳系轨道对其它天体的着陆探测，一般要在深空进行半年至十几年、甚至几十年的长时间航行，所搭载的科学测量设备要耐受强烈的宇宙射线辐射，航行中的外部环境温度是 $-270^{\circ}\text{C} \sim +100^{\circ}\text{C}$ ，仪器舱内温度环境 $-60 \sim 80^{\circ}\text{C}$ （有温度控制维持系统），处于真空状态和微重力状态。而空间站核心舱内用色谱仪的环境条件就相对温和，但是耐振动和冲击的性能指标是一样的、甚至更高（舱内固定货架的共振使振动增强），其中对设备的置信度要求非常高。此外，空间站舱内色谱仪要求具有可更换部件（轨道可更换部件），甚至具有一定的可维修性，以保证能可靠工作 15 年。目前空间探测发射载荷的费用极高，发射到地球空间站轨道的费用大约是 340 元 RMB/克（ $\sim \$50/\text{g}$ ），轨道可更换部件因要带回地面，费用更高。而深空探测载荷的发射费用与轨道和飞行距离有关，可能成倍高于发射到地球空间站轨道的费用。除此之外，载荷的电源主要来源于太阳能。因此，航天科学仪器的重量和功耗限制是十分严苛的，重量和功耗指标分别以“克”和“瓦”计。一般载荷的科学仪器整机功耗和重量分别为实验室同类仪器的 1~2%和 10~20%，且物耗极低。除此之外，航天仪器还要耐受宽频率范围的三维 $\sim 10\text{ g}$ 加速度正弦振动和大于 2,000 g 的三维冲击（发射升空和在行星着陆过程）等。在如此极端环境下随飞行器航行并能够在需要时启动和无人工干预的条件下正常工作，对目标样品的分析和表征的能力与实验室的仪器设备类似。因此，仪器所用材料、器件以及部件、技术路线、结构和整机的设计都提出极高的挑战。本文以航天气相色谱仪为例，概述了它是如何应对如此苛刻的挑战。

高灵敏度的端粒酶活性可视化检测和微流控芯片细胞成像

王丹妮, 王洁, 徐章润*

东北大学理学院分析科学研究中心, 沈阳, 110819

*E-mail: xuzr@mail.neu.edu.cn

关键词: 端粒酶, 金纳米结构, 微流控芯片, 可视化检测, 原位成像

端粒是染色体终端的一段特殊结构, 用于维持正常细胞基因的完整性。在连续的细胞分裂过程中, 端粒的渐进缩短会破坏染色体结构的稳定性。在大多数癌细胞中, 端粒酶通过在染色体末端补充串联排列的重复序列, 以维持端粒的长度和稳定性, 赋予细胞无限增殖能力。由于正常细胞和癌细胞的表达水平不同, 端粒酶已成为癌症诊断和预后评估的重要生物标志物。端粒酶活性检测对于端粒酶相关的癌症早期诊断和抗癌药物筛选具有重要意义[1, 2]。我们建立了一系列基于金纳米结构等离子体共振性质的可视化传感方法[3, 4]。通过构建多色溶液体系提高了可视化检测的分辨率和准确度; 通过整合催化发夹自组装循环放大反应以及构建封装酶的脂质体作为信号放大器, 提高了检测的灵敏度; 基于脲酶介导金纳米双锥体表面生长银壳的方式, 建立了一种无需信号放大的端粒酶活性可视化检测方法。我们还设计了一种微流控细胞培养平台, 用于多种细胞内端粒酶活性的原位成像。以细胞培养微结构为成像单元, 可实现多种细胞内端粒酶活性相关信号的同时采集。通过级联信号放大策略实现了对活细胞内端粒酶的成像, 提高了检测灵敏度, 缩短了检测时间; 并探究了侵袭能力与端粒酶活性的关系。这些高灵敏度的方法将为端粒酶活性检测推向临床诊断提供了基础, 也为深入理解端粒酶的调控机制开辟了途径。

参考文献:

1. J.W. Shay, S. Bacchetti*. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur. J. Cancer*, 1997, 33: 787-791.
2. D.N. Wang, W.Y. Xue, X.Y. Ren, Z.R. Xu*. A review on sensing mechanisms and strategies for telomerase activity detection. *TRAC-Trend. Anal. Chem.*, 2021, 134: 116115.
3. D.N. Wang, R. Guo, Y.Y. Wei, Y.Z. Zhang, X.Y. Zhao, Z.R. Xu*, Sensitive multicolor visual detection of telomerase activity based on catalytic hairpin assembly and etching of Au nanorods. *Biosens. Bioelectron.*, 2018, 122,:247-253.
4. D.N. Wang, Y.Z. Zhang, X.Y. Zhao, Z.R. Xu*, Plasmonic colorimetric biosensor for visual detection of telomerase activity based on horseradish peroxidase-encapsulated liposomes and etching of Au nanobipyramids. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2019, 296: 126646.

一种掌上型全功能芯片电泳仪的设计制作

王远航¹, 孙萍¹, 蒲巧生^{1,*}

1 兰州大学化学化工学院, 兰州, 730000

*E-mail: puqs@lzu.edu.cn

关键词: 芯片电泳, 微型化, 低成本, 负压夹切进样, 激光诱导荧光检测

微流控芯片电泳已被证明是一种高效的快速分离分析手段^[1], 可望用于食品安全、环境监测等领域的现场快检。但目前大多数芯片电泳设备远大于芯片本身, 操作也比较复杂, 难以用于现场分析。为了进一步实现芯片电泳仪器的微型化, 我们在前期工作^[2]的基础上设计制作了一种集成进样、分离、检测等全部功能的掌上型芯片电泳仪。所制作的仪器可灵活适配不同构型和大小的芯片, 具有普适性。进样采用负压夹切形式, 配备了分离用高压电源、激光诱导荧光检测器以及芯片调节所需的三维平移台。进样所需负压气泵和电磁阀、高压模块和控制电路、激光诱导荧光检测模块以及数据采集卡均安装在同一个机壳内 (Fig. 1), 整机尺寸不大于 $80 \times 95 \times 45 \text{ mm}^3$, 重量小于 0.5 kg , 可通过 USB 端口供电。编写了控制和数据处理软件, 实现进样负压、分离高压的自动控制 and 电泳图的采集、显示、存储等功能, USB 线连接笔记本电脑或平板电脑即可使用, 操作简便, 且具有低成本优势。



Fig. 1 Photo of the palm-top microchip electrophoresis device

参考文献:

1. A. Dispas, P. Emonts, M. Fillet. Microchip electrophoresis: A suitable analytical technique for pharmaceuticals quality control? A critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 139: 116266
2. X. Wei, P. Sun, S.H. Yang, L. Zhao, J. Wu, F.Y. Li, Q.S. Pu. Microchip electrophoresis with background electrolyte containing polyacrylic acid and high content organic solvent in cyclic olefin copolymer microchips for easily adsorbed dyes. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1457:144-150

致谢: 感谢国家自然科学基金 (21974057) 资助

活细胞内单分子荧光相关光谱研究进展

任吉存

上海交通大学 化学化工学院, 上海市东川路 800 号, 200240

E-mail: jicunren@sjtu.edu.cn

关键词: 单分子光谱、微流控芯片、活细胞、分子相互作用、多聚化

细胞是构成生命的基本单元, 它是由成千上万功能各异的生物分子构成的一个非常复杂系统。细胞内每种生物分子可能具有特定的生物功能, 对细胞的生长、分裂和死亡过程起到重要的调控作用。细胞是一个动态、非均一的系统, 如何原位获取活细胞中生物分子的时空信息是当今分析化学面临的一个重大挑战。近年来, 我们将多通道单分子光谱与微流控细胞培养技术结合, 提出了活细胞分析新方法。

1. 基于激光共聚焦构型, 设计、构建了多通道单分子光谱探测系统。研制了信号采集和在线数据处理系统, 能够在线获取多组分荧光自相关光谱、多组分荧光互相关光谱和荧光三重相关的光谱。将多通道单分子光谱探测系统与微流控细胞培养装置联用, 建立了活细胞内多种生物分子时空信息同时获取的新方法[1]。

2. 建立了活细胞内分子相互作用和寡聚化研究新方法, 主要包括蛋白-蛋白相互作用[2,3]、蛋白-核酸相互作用[4]、蛋白-药物相互作用[5]。系统研究了活细胞内 p53 和 p73 蛋白的结构和外界因素对 p53-MDM2、p53-MDMX、p73-MDM2、p73-MDMX 相互作用的影响。结果表明: p53 和 p73 与 MDMX 和 MDM2 存在明显的相互作用; 随着 p53 蛋白的 N 端 α 螺旋水平和寡聚化程度的提高, p53 与 MDMX 和 MDM2 相互作用会增强。研究了活细胞内 MDMX 和 MDM2 的同源寡聚化和异源寡聚化[6]。结果表明: 活细胞内 MDMX 和 MDM2 能以同源寡聚化和异源寡聚化形式存在; MDMX 的分子内结合 (AD-RING) 可抑制异源寡聚化; 当 MDMX 和 MDM2 的异源寡聚化被抑制后, 异源寡聚物会转化成同源寡聚物; 异源寡聚化的 MDMX 会促进 MDMX 与 p53 的结合。

3. 建立了活细胞内蛋白磷酸化、泛素化、去泛素化、蛋白相分离研究新方法[7]。研究了活细胞内 p53 蛋白的磷酸化、泛素化、去泛素化过程以及 CRDBP 蛋白相分离行为。

参考文献:

1. H. Liu, C.Q. Dong, J.C. Ren, Tempo-Spatially Resolved Scattering Correlation Spectroscopy under Dark-Field Illumination and Its Application to Investigate Dynamic Behaviors of Gold Nanoparticles in Live Cells, *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136, 2775–2785.
2. Z.X. Du, J. Yu, F.C. Li, L.Y. Deng, et al, In situ monitoring p53 protein and MDM2 protein interaction in single living cells using single molecule fluorescence spectroscopy, *Anal. Chem.*, 2018, 90, 6144–6151.
3. F.C. Li, Z.X. Du, X.Y. Huang, C.Q. Dong, J.C. Ren, Analyses of p73 Protein Oligomerization and p73-MDM2 Interaction in Single Living Cells Using In Situ Single Molecule Spectroscopy, *Anal. Chem.*, 2021, 93, 886–894.
4. S.R. Yu, F.C. Li, X.Y. Huang, C.Q. Dong, J.C. Ren, In Situ Study of Interactions between Endogenous c-myc mRNA with CRDBP in a Single Living Cell by Combining Fluorescence Cross Correlation Spectroscopy with Molecular Beacons, *Anal. Chem.*, 2020, 92, 2988–2996.
5. L.Y. Deng, X.Y. Huang, J.C. Ren, Situ Study of the Drug-Target Protein Interaction in Single Living Cells by Combining Fluorescence Correlation Spectroscopy with Affinity Probes, *Anal. Chem.* 2020, 92, 7020–7027.

6. F.C. Li, X.Y. Huang, C.Q. Dong, J.C. Ren, Studying homooligomerization and heterooligomerization of MDMX and MDM2 proteins in single living cells by using in situ fluorescence correlation spectroscopy *Biochemistry*, 2021, 60, 1498-1505.

7. L.Y. Deng, X.Y. Huang, C.Q. Dong, J.C. Ren, Simultaneously Monitoring Endogenous MAPK Members in Single Living Cell by Multi-Channel Fluorescence Correlation Spectroscopy, *Analyst*, 2021, 146, 2581 – 2591.

适用常见固定相的一类核酸适配体的性质研究与应用

钟欣颖¹, 周颖琳¹, 张新祥^{1,*}

¹ 北京大学化学与分子工程学院, 北京海淀区, 100871

*E-mail: zxx@pku.edu.cn

关键词: 核酸适配体, 溴化氰活化琼脂糖凝胶4B, 相互作用, 固定方法

核酸适配体是可以识别特定靶标的单链寡核苷酸序列, 在生物传感器、亲和富集与分离、生物成像、疾病的诊断和治疗等领域获得了广泛的应用。然而, 目前已经报道的适配体的靶标主要集中在小分子, 蛋白和细胞等, 对基底材料特异性识别的相关报道几乎没有。将寡核苷酸固定在基底表面实现目标分子的捕获以及分离这一过程通常需要对寡核苷酸和基底表面进行修饰, 导致分析时间长、成本高。在适配体的筛选过程中, 表征结果说明获得的适配体与作为基底材料的溴化氰活化的琼脂糖凝胶 4B (CNBr-S4B) 存在相互作用。基于此, 本工作对核酸适配体的性质以及适配体与 CNBr-S4B 之间的相互作用进行了深入的研究。利用两者之间特异性的相互作用, 发展了一种免标记, 成本低, 简单高效的新型固定方法, 并将其应用在复杂体系中样品富集与选择性分离以及生物传感领域。本文围绕核酸适配体与 CNBr-S4B 的相互作用研究展开, 开展了以下工作:

1、核酸适配体的表征以及与 CNBr-S4B 的相互作用研究: 在核酸适配体的筛选中, 通过结合表征发现获得的适配体序列与作为基底材料的 CNBr-S4B 有较好的结合能力。实验证明了适配体与 CNBr-S4B 作用的特异性, 确定了适配体与不同批次的 CNBr-S4B 维持了结合能力。通过对适配体进行截短, 获得了序列 Apt-1, 并进一步优化了反应条件。本工作为核酸适配体的新型固定化方法提供了先决条件。

2、构建基于核酸适配体- CNBr-S4B 的固定化方法和寡核苷酸自组装用于单碱基突变的检测: 在 Apt-1 的末端组装一条捕获探针, 捕获探针可以有效识别目标链, 并且不会影响 Apt-1 与 CNBr-S4B 的结合。在此基础上, 通过捕获探针、目标链与信号探针自组装成三明治结构, 实现了对基因突变的检测。本工作以基因突变的检测为模型, 验证了基于 Apt-1 与 CNBr-S4B 相互作用的新型固定方法应用于生物传感的可行性。

3、构建基于 Apt-1 的融合变构核酸适配体应用于对三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的检测: 将 Apt-1 与 ATP 的核酸适配体巧妙地组装成一条融合变构核酸适配体, 实现对 ATP 的检测。ATP 的加入可以诱导融合变构核酸适配体发生构象变化, 释放出 Apt-1 的功能结构, 进而与 CNBr-S4B 发生特异性作用。该方法实现了对小分子的检测, 成功拓展了基于这种新型固定方法建立起的生物传感器的检测对象。该方法无需将核酸适配体预组装在 CNBr-S4B 上, 在一步反应中实现了对目标分子的检测, 有望提供一种快速的分析方法。

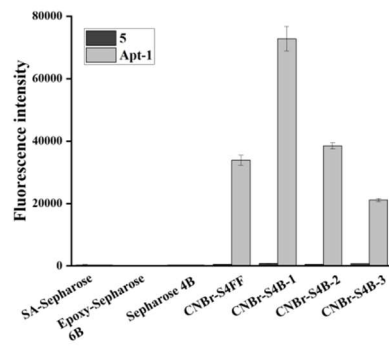


Fig. 1 The binding specificity between aptamer and CNBr-S4B

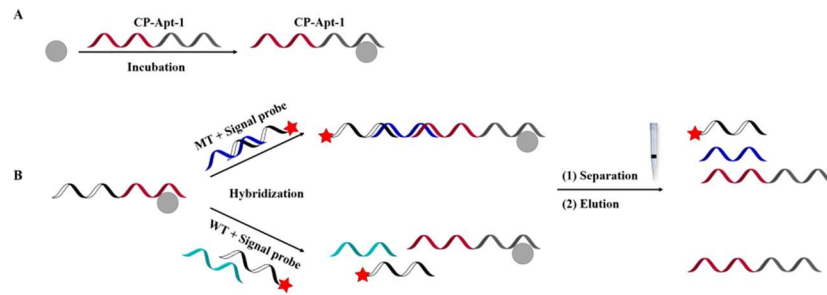


Fig. 2 Aptamer specifically recognizes CNBr-S4B and single nucleotide polymorphism detection based on the interaction between aptamer and CNBr-S4B

单细胞质谱分析——有机质谱流式细胞分析平台

徐姝婷, 白玉, 刘虎威

北京大学化学与分子工程学院, 分析化学研究所, 北京, 100871

E-mail: yu.bai@pku.edu.cn

关键词: 单细胞, 质谱, 蛋白质, 代谢物

单细胞中内容物体积小、含量低、种类多、分析窗口有限, 使得高灵敏、高信息覆盖度、快速、高通量的单细胞分析面临重大挑战。由于核酸的可扩增特性, 单细胞测序技术方兴未艾, 单细胞中蛋白质和代谢物不存在普适性的信号方法以及衍生化策略, 因为两者的分析技术非常有限, 尤其是大量蛋白质和代谢物的同时分析尚未见报道 [1, 2]。本工作利用新型兼具质谱增敏和信号放大策略的质谱探针, 构建了常压质谱免疫分析平台, 实现了 zmol 的蛋白质检出限 [3]。通过单细胞有序分散和排列的微流控技术结合纳升电喷雾-高分辨质谱, 搭建了多维度有机质谱流式细胞分析平台。该平台能够高通量地同时获取单细胞中蛋白质和代谢物等多维度的信息, 并开展了细胞分型和肿瘤耐药等相关应用研究。该平台对于肿瘤细胞分型和鉴定、单细胞水平的疾病相关分子机制研究以及单细胞异质性研究具有不可替代的分析优势 [4]。

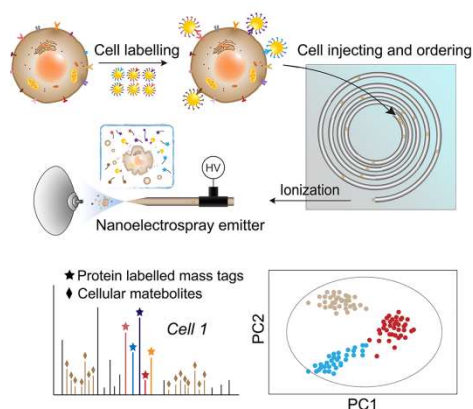


Fig. 1 Scheme of the multi-dimensional organic mass cytometry and its workflow for single-cell analysis

参考文献:

1. A. Colman-Lerner, A. Gordon, E. Serra, T. Chin, O. Resnekov, D. Endy, C. G. Pesce, R. Brent, Regulated cell-to-cell variation in a cell-fate decision system, *Nature* 2005, 437, 699-706
2. R. Zenobi, Single-cell metabolomics: analytical and biological perspectives, *Science* 2013, 342, 1243-259
3. S. T. Xu, W. Ma, Y. Bai, H. W. Liu, Ultrasensitive Ambient Mass Spectrometry Immunoassays: Multiplexed Detection of Proteins in Serum and on Cell Surfaces, *J. Am. Chem. Soc.*, 2019, 141, 72-75
4. S. T. Xu, M. X. Liu, Y. Bai* H. W. Liu, Multi-Dimensional Organic Mass Cytometry: Simultaneous Analysis of Proteins and Metabolites on Single Cells, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021, 60, 1806-1812

外泌体分离分析与生物医学应用

刘笔锋*

华中科技大学生命科学与技术学院 武汉 430074

*E-mail: bfliu@mail.hust.edu.cn

关键词: 微流控芯片, 外泌体, 分离分析, 疾病诊疗

外泌体是一类细胞分泌到胞外基质中纳米尺度的小囊泡, 主要功能是细胞间信号传递。外泌体携带核酸、蛋白质和代谢物等大量疾病标志物, 是液体活检的三大主要目标之一。从细胞基质或体液如血液、尿液等复杂样本中分离纯化并分析外泌体是当前外泌体研究的一大挑战。本文试图建立新的微流控芯片方法, 从细胞基质和新冠肺炎血液样本中分离纯化外泌体, 并对外泌体进行 mRNA 和代谢组分析, 或对其进行化学编辑实现抗肿瘤药物靶向和控制释放和多模态治疗, 从细胞水平和动物模型上分析, 疗效显著。

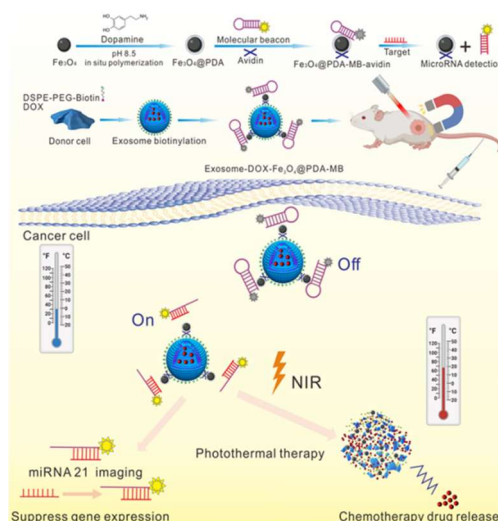


Fig. 1 Schematic illustration of the design of Exo-DOX-Fe₃O₄@PDA-MB as a robust nanoplatform for targeted delivery and chemo/gene/photothermal tumor therapy under NIR irradiation.

参考文献:

1. J. Wang, P. Chen, Y. Dong, H. Xie, Y. Wang, F. Soto, P. Ma, X. Feng, W. Du, B.-F. Liu*, Designer exosomes enabling tumor targeted efficient chemo/gene/photothermal therapy. *Biomaterials*. 2021, 121056.
2. J. Wang, Y. Dong, Y. Li, W. Li, K. Cheng, Y. Qian, G. Xu, X. Zhang, L. Hu, P. Chen, W. Du, X. Feng, Y. Zhao, Z. Zhang, and B.-F. Liu*, Designer exosomes for active targeted chemo-photothermal synergistic tumor therapy. *Adv. Funct. Mater.*, 2018, 1707360.
3. J. Wang, W. Li, Z. Lu, L. Zhang, Y. Hu, Q. Li, W. Du, X. Feng, H. Jia, B.-F. Liu*, The use of RGD-engineered exosomes for enhanced targeting ability and synergistic therapy toward angiogenesis. *Nanoscale*, 2017, 9, 15598-15605.
4. J. Wang, W. Li, L. Zhang, L. Ban, P. Chen, W. Du, X. Feng, B.-F. Liu*, Chemically edited exosomes with dual ligand purified by microfluidic device for active targeted drug delivery to tumor cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, 9, 27441-27452.

基于集成化原位取样探针的微流控色谱-质谱分析系统

方群*, 石韶雯, 金迪琼, 马妍

浙江大学化学系微分析系统研究所, 杭州, 邮编 310058

*E-mail: fangqun@zju.edu.cn

关键词: 微流控液滴技术, 色谱分析, 质谱分析

2014年, 我们基于研究组发展的序控液滴(SODA)技术[1], 发展了一种集成油下液滴取样和电喷雾功能于一体的“天鹅”(SWAN)形毛细管取样探针, 可用于纳升级样品液滴阵列的连续电喷雾质谱检测[2]。该系统被成功地应用于液滴中乙酰胆碱酯酶抑制剂的筛选, 对128个液滴的连续质谱分析速度达到180液滴/小时, 并能对液滴内的反应产物进行定量分析。

2020年, 基于Swan探针技术, 我们发展了一种集成原位取样、色谱进样分离和电喷雾功能于一体的LC-Swan探针系统[3]。该探针可实现表面微区样品和小体积液滴的原位取样、无阀的进样、快速的色谱分离和电喷雾质谱检测。我们初步将该系统应用于细胞色素C酶解液滴的分析和小鼠内脏切片的药物代谢分析。最近, 在LC-Swan探针的基础上, 我们研制了“海燕”(Petrel)原位LC-MS分析探针[4], 将原位采样、原位液相色谱进样、高效色谱分离和质谱电喷雾四个功能集成于一体。我们还基于Petrel探针发展了一种新的原位进样方法——探针按压微量原位(PPMI)进样法, 可以实现微量样品的原位快速液相色谱高压进样。Petrel探针对1 nL和10 nL微量多肽样品均显示出高分离效率和良好的分析重现性。该系统被应用于细胞色素C酶解产物的分析, 结果显示其对复杂样品具有快速LC-MS分析的能力。

感谢国家自然科学基金委国家重大科研仪器研制项目(21827806)对本工作的资助。

参考文献:

1. Y. Zhu, Y.-X. Zhang, L.-F. Cai, Q. Fang, Sequential operation droplet array: an automated microfluidic platform for picoliter-scale liquid handling, analysis, and screening, *Anal. Chem.* 2013, 85, 6723.
2. D.-Q. Jin, Y. Zhu, Q. Fang, Swan probe: a nanoliter-scale and high-throughput sampling interface for coupling electrospray ionization mass spectrometry with microfluidic droplet array and multiwell plate, *Anal. Chem.* 2014, 86, 10796.
3. D.-Q. Jin, S.-W. Shi, Y. Ma, Q. Fang, LC-Swan probe: An integrated in situ sampling interface for liquid chromatography separation and mass spectrometry analysis, *Anal. Chem.*, 2020, 92, 9214.
4. S.-W. Shi, Q. Lou, Q. Fang, Petrel Probe: an integrated in situ sampling and injection interface for fast, high-efficiency liquid chromatography-mass spectrometry analysis, *Anal. Chem.*, 2021, 93, 10114.

On-chip Screening of Chemically Induced Mutant Strains and Assay of Their Metabolites by Liquid Chromatography Tandem

Mass Spectrometry

高波¹, 涂琴^{1,*}, 王进义^{1,*}

¹西北农林科技大学, 陕西 杨凌, 712100

*E-mail: jywang@nwsuaf.edu.cn

关键词: 微流控芯片, 液滴, 突变菌筛选

The increase of antimicrobial resistance and the outbreak of new diseases have brought unprecedented challenges with antibiotic therapy, and discovering and developing effective compounds to fight against infections or diseases have become a challenge. Conventionally, natural antibiotics or active compounds can be obtained from microorganisms with a long time span, complex screening, and cumbersome operations. In this work, we developed a droplet-based microfluidic platform combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry for rapid screening of chemically induced mutant strains and analyzing their metabolites. Using this microfluidic method, N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine-induced mutants of two *Streptomyces* strains, two *Salinicoccus* strains, a *Halomonas* strain, and a *Planomicrobium* strain were screened, and their metabolites were analyzed. Multivariate and heatmap analysis showed that the mutant strains screened by the microfluidic method and traditional method (flasks and agar plates) were clustered and separated evidently from the wildtype strains. The top 20 differential characteristic peaks of all samples were annotated with the HMDB database, and the significant differences of the characteristic peaks indicated that the mutant strains screened by the microfluidic method and traditional method had highly similar metabolic compositions. Results demonstrated that this microfluidic screening method was suitable not only for actinomycete mutant screening, but also for bacterial mutant screening with wide applicability and reliability. Furthermore, this method can reduce screening timescales and simplify cumbersome operations compared with the traditional screening method.

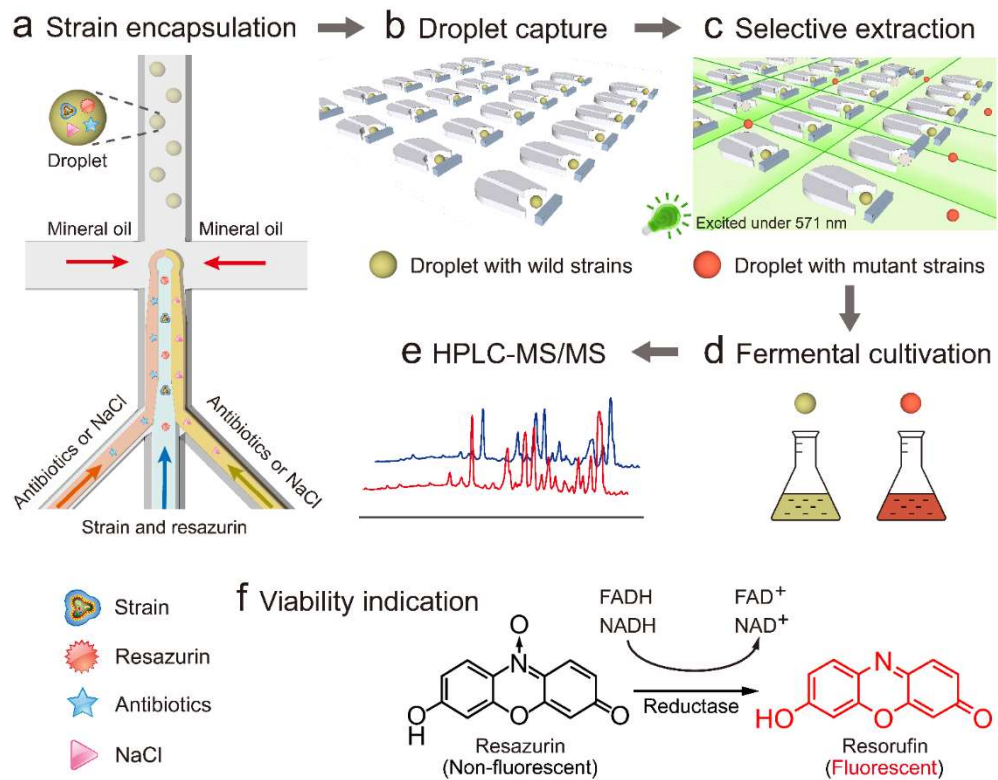


Fig. 1 Schematic illustration of encapsulation of microbial strains in aqueous droplets (a), capture of droplets in the device microstructures (b), selective extraction of droplets with mutant strains (c), fermental cultivation of strains (d), metabolite analysis by HPLC-MS/MS (e), and the reaction principle of the viability indicator (f).

参考文献:

X. Liu, R.E. Painter, K. Enesa, D. Holmes, G. Whyte, C.G. Garlisi, F.J. Monsma, M. Rehak, F.F. Craig, C.A. Smith*. High-throughput screening of antibiotic-resistant bacteria in picodroplets, *Lab on a Chip*, 2016, 16 (9): 1636-1643.

R. H. Baltz. Natural product drug discovery in the genomic era: realities, conjectures, misconceptions, and opportunities, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2019, 46: 281-99.

基于微流控与质谱的外泌体检测及临床肿瘤研究中的应用

乔亮^{1,*}, 韩珍珍¹, 彭程², 沈宇辉²

1 复旦大学化学系, 上海, 200433

2 上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海, 200000

*E-mail: liang_qiao@fudan.edu.cn

关键词: 微流控芯片, 质谱分析, 外泌体, 骨肉瘤, 癌症诊断

恶性肿瘤直接影响着患者的生存, 如何早期诊断和检测恶性肿瘤是基础研究的热点。研究表明, 外泌体在恶性肿瘤进展、转移和预后中发挥着重要的作用, 它的研究是揭示肿瘤机制和疾病诊断的关键。然而, 外泌体存在于各种成分复杂的体液中, 外泌体的分离和分析仍是当前研究的关键挑战之一。

本工作针对外泌体分离和分析的需求展开研究。首先开发了基于尺寸筛选的微流控芯片¹。该微流控芯片由两片完全对称的具有蛇形通道的聚甲基丙烯酸甲酯芯片和夹在芯片中间的纳米多孔聚碳酸酯蚀刻膜组成。纳米孔膜的孔径均匀, 直径约 100 nm, 可以高效地去除外泌体样本中的蛋白污染物, 去除率 >97%。在微流控芯片中, 通过反向洗脱方法可以回收外泌体, 回收率 >80%。之后可以利用基质辅助激光解吸离子化飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 分析收集的外泌体。结果表明, 血浆蛋白可以被去除, 质谱中只存在外泌体蛋白的峰。与超速离心法相比, 上述基于尺寸筛选的微流控芯片具有更高的蛋白去除效率和外泌体回收率。

在外泌体分离纯化的基础上, 我们利用 MALDI-TOF MS 分析了人血浆中的外泌体来实现对骨肉瘤肺转移的临床评估^{2,3}。该研究招募了 40 例骨肉瘤病人(包括 20 例骨肉瘤肺转移和 20 例骨肉瘤非肺转移)和 12 例健康对照组。首先利用 MALDI-TOF MS 分析了人血浆中分离的外泌体, 之后利用多元变量统计分析方法分析了收集的 MALDI-TOF 质谱数据。结果表明, 该方法可以区分骨肉瘤病人和健康对照组, 并可以进一步区分骨肉瘤肺转移和非肺转移。另外, 结合机器学习分析 MALDI-TOF MS 数据的结果和基于液相色谱-串联质谱的蛋白质组学的鉴定结果, 我们得到了骨肉瘤肺转移的 7 个潜在的蛋白生物标志物。该方法在骨肉瘤诊断和骨肉瘤肺转移的检测方面具有良好的临床应用前景。

参考文献:

1. Z. Han, C. Peng, J. Yi, D. Zhang, X. Xiang, X. Peng, B. Su, B. Liu, Y. Shen*, L. Qiao*, Highly Efficient Exosome Purification from Human Plasma by Tangential Flow Filtration Based Microfluidic Chip, *Sensors and Actuators: B. Chemical*, 2021, 333: 129563
2. Z. Han, J. Yi, Y. Yang, D. Li, C. Peng, S. Long, X. Peng, Y. Shen, B. Liu, L. Qiao*, SERS and MALDI-TOF MS Based Plasma Exosome Profiling for Rapid Detection of Osteosarcoma, *Analyst*, 2021, DOI: 10.1039/D1AN01163D
3. Z. Han, C. Peng, J. Yi, Y. Wang, Q. Liu, Y. Yang, S. Long, L. Qiao*, Y. Shen*, Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry Profiling of Plasma Exosomes Evaluates Osteosarcoma Metastasis, *iScience*, 2021, 24: 102

微量核酸定量与测序

黄岩谊^{1,2,*}

¹北京大学, 化学与分子工程学院, 生物医学前沿创新中心, 北京未来基因诊断高精尖创新中心, 北大-清华生命科学联合中心, 北京 100871

²深圳湾实验室, 细胞分析研究所, 深圳 邮编

*E-mail: yanyi@pku.edu.cn

关键词: 核酸分析, 测序, 数字PCR, 单细胞扩增

生命分析化学的发展, 推动了医学的进步, 在过去半个世纪中, 带来了医学诊断和治疗实践的全新认识。核酸的检测分析, 包括特定序列核酸的数量确定, 和对序列的测定, 都成为现代临床化学的一个重要发展方向。这个方向的进步, 将持续推进医学的进步, 改善诊断的精确度, 提高预测的准确率, 指导更加高效的治疗。我们与合作者一起, 做了一些尝试, 这次主要汇报: 1, 临床如何使用高精度的核酸定量? 2, 临床上和病理结合的测序需求, 如何能够帮助诊断和治疗?

参考文献:

- [1] Li, R.; Di, L.; Li, J.; et al., Nature 2021, 597: 398-403.
- [2] Li, X.; Liu, L.; Zhang, J.; et al., Sci. China Life Sci. 2021, 64: 1379-1391.
- [3] Liao, P.; Jiang, M.; Chen, Z.; et al., PNAS 2020, 117: 25628-25633.
- [4] Pang, X.; Ren, L.; Wu, S.; et al., Natl. Sci. Rev. 2020, 7: 1861-1864.
- [5] Chen, C.; Li, J.; Di, L.; et al., Mol. Cell 2020, 80: 1123-1134.
- [6] Di, L.; Fu, Y.; Sun, Y.; et al., PNAS 2020, 117: 2886-2893.

纳径液相色谱用于生物分析

张文美, 郭广生, 汪夏燕*
北京工业大学化学与生物系, 北京, 100124

*E-mail: xiayanwang@bjut.edu.cn

关键词: 纳径液相色谱, 激光诱导荧光检测, DNA, miRNA, 蛋白质

随着生命科学研究的深入发展, 对于生物体的探索早已步入单细胞、单分子水平。对于复杂的生物体系研究亟需发展在微纳尺度上研究原位、体内和实时获取生化信息的方法, 因此, 超小体积的复杂样品的分离分析研究必不可少。内径较小的纳径通道具有消耗样品量少 (约为 fL-pL)、分离效率高等特点, 因此, 发展纳径液相色谱方法对于超小体积样品的直接分析检测具有重要意义。

由于纳径液相色谱是基于纳米通道色谱柱分离的, 因此需要高灵敏的检测方法。激光诱导荧光 (LIF) 检测是纳径液相色谱重要的检测方法之一, 然而聚焦是个难题。本工作构建了可视化实时成像聚焦的共聚焦型 LIF 检测系统, 用于纳米尺度毛细管的可视化聚焦和实时在线显示。可视化聚焦方法克服了传统荧光试剂聚焦方法中存在的荧光试剂吸附和操作耗时等常见的问题。检测系统还利用中性密度滤光片、激光滤光片等光学元件对系统进行了优化, 对激光光束进行衰减和纯化, 以提高系统的检测灵敏度。用 Zemax 光学模拟软件对可视化实时成像过程和平凸圆形柱面透镜的功能进行光学模拟, 为系统的构建提供理论依据。该检测系统具有超小体积检测能力, 荧光素钠和 FAM 标记的 miRNA 的进样量分别为 676 fL 和 845 fL, 检测限低至 ymol 级别, 达单分子检测水平。将所构建的纳径液相色谱用于皮/飞升级别的 DNA、miRNA、蛋白质、氨基酸等生物样品的分离分析, 分离效率可达 10^6 plates/m。并且, 该方法还可实现细胞中 miRNA 的无扩增检测以及多个 miRNAs 的相对定量。纳径液相色谱在超小体积样品的分析检测中具有良好的应用前景。

参考文献:

1. X.Y. Wang, L. Liu, Q.S. Pu, Z.F. Zhu, G.S. Guo*, H. Zhong, S.R. Liu*. Pressure-Induced Transport of DNA Confined in Narrow Capillary Channels. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(17):7400-7405
2. R.N. Li, Y.L. Shao, Y.M. Yu, X.Y. Wang*, G.S. Guo. Pico-HPLC system integrating an equal inner diameter femtopipette into a 900 nm I.D. porous layer open tubular column. *Chemical Communications*, 2017, 53(29):4104-4107
3. W.M. Zhang, L. Liu, Q. Zhang, D.T. Zhang, Q. Hu, Y.N. Wang, X.Y. Wang*, Q.S. Pu*, G.S. Guo*. Visual and real-time imaging focusing for highly sensitive laser-induced fluorescence detection at yoctomole levels in nanocapillaries. *Chemical Communications*, 2020, 56(16):2423-2426

分离富集膜的功能化设计及其在大健康领域的应用

朱明珍^{1,2}, 王昱¹, 冯亮^{1,*}

1 中国科学院大连化学物理研究所, 大连, 116023

2 中国科学院大学, 大连, 100049

*E-mail: fengl@dicp.ac.cn

关键词: 分离富集, 功能化, 生物正交, 纸基修饰, 核酸检测

随着我国经济、社会的快速发展及新冠疫情的出现, 人们对食品安全及生命健康的需求也在日益增强, 这对分析化学提出了更高的要求。在食品安全领域, 从十二五以来, 国家针对食安溯源制定了一系列的发展计划。但现有快检技术普遍存在以下两方面的问题: 1) 可靠性高的技术成本高, 检测种类少, 较难大范围高频次测定; 2) 通量高的技术可靠性不稳定, 达不到国标要求, 误差大。如何在高背景噪音下实现痕量食品危害因子的高选择性、高通量、高灵敏检测是解决这两个核心问题的关键。

我们提出了一种多层微纳分离富集复合膜的概念, 通过将以溶胶凝胶或聚合物体系为基础的功能性薄膜进行组合功能化设计, 借由物理包埋、化学交联、生物正交等方式, 实现食品危害因子及病毒的一体化分离富集及检测。例如, 我们针对缺乏有效检测手段的农药分子, 通过在复合膜结构中添加碱性水解层诱导农药水解产生二级产物, 再使其与具有特定官能团的发色团在催化剂固定层中发生耦合反应, 生成特征颜色变化的弱/非极性分子, 最后利用疏水富集层实现目标农药分子的定量检测^[1-2]。而在病毒样品的检测方面, 我们通过将复合膜经由氨基的溶胶凝胶功能化, 通过静电作用固载以 TR512 多肽为核心的融合蛋白。借由 TR512 多肽与德克萨斯红荧光团之间的生物正交反应, 成功构建了能正交捕获德克萨斯红标记核酸的功能化纸基。将该纸基结合自制的扩增加热装置和手持式荧光检测仪, 实现了在疏水富集层对扩增后核酸溶液的生物正交富集, 提高了检测限, 并且极大缩短了检测周期, 成功应用在不同的病毒核酸 (HBV、ASFV、HPV16、HPV18 和 2019 nCoV) 检测以及乙肝病毒核酸 (HBV) 实际样的检测中^[3]。

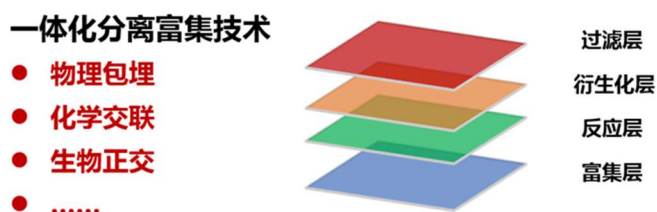


Fig. 1 Multilayered micro-nano composite membrane for the separation and enrichment of trace amount of analytes

参考文献:

1. F. Wang, X. Zhang, C. Huangfu, M. Zhu, C. Li, L. Feng*. The BODIPY-based chemosensor for the fluorometric determination of organochlorine pesticide dicofol. *Food Chemistry*, 2021, 370, 131033
2. S. Q. Chen, J. M. Gao, J. Y. Chang, Y. Zhang, L. Feng*. Organic-inorganic manganese (II) halide hybrids based paper sensor for the fluorometric determination of pesticide ferbam. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2019, 297,126701
3. M. Zhu, C. Huangfu, W. Wan, M. Wang, H. Lyu, X. Zhang, Y. Liu*, L. Feng*. Fluorescence detection of viral nucleic acids via functionalized paper in a low-cost, rapid and portable device. In submission.

基于可溶水凝胶微球的蛋白复合物纯化表征技术

邵心阳^{1,2}, 田梦³, 黄岩谊^{1,2,*}, 王冠博^{1,*} 王建斌^{3,*}

¹北京大学生物医学前沿创新中心, 北京未来基因诊断高精尖创新中心, 北京, 100871

²北京大学-清华大学生命科学联合中心, 北京, 100871

³清华大学生命科学学院, 北京, 100084

*E-mail: yanyi@pku.edu.cn; jianbinwang@tsinghua.edu.cn; guanbowang@njnu.edu.cn.

关键词: 蛋白质复合物, 蛋白质纯化, 非变性质谱

蛋白质-蛋白质相互作用分析和蛋白质复合物结构测定作为分子层面对生命活动的表征手段, 对于蛋白质相关的生命科学现象研究具有重要意义。蛋白质分析技术的进步使研究非变性条件下的蛋白质及其相互作用成为可能。然而, 此类表征技术的一个主要技术局限是目前蛋白质复合物的纯化和分析方法之间存在的不匹配。本文中我们描述了一种基于功能化可溶解水凝胶微球作为载体的亲和纯化技术, 结合非变性质谱表征蛋白质复合物的高效纯化和分析策略。水凝胶表面显示出比磁珠更高的蛋白质修饰效率, 并且水凝胶的可溶性使得蛋白复合物的回收不再需要竞争洗脱, 这使得纯化体系可以使用高亲和力纯化标签并保证高灵敏度。微球能够直接从小体积的细胞裂解物中快速纯化回收目标蛋白复合物, 并通过非变性质谱分析进行蛋白型复合物分析, 使其成为一种理想的快速表征方法。此外, 纯化策略还展现出在蛋白质相互作用分析和结构测定技术中作为样品制备手段广泛应用的潜力。

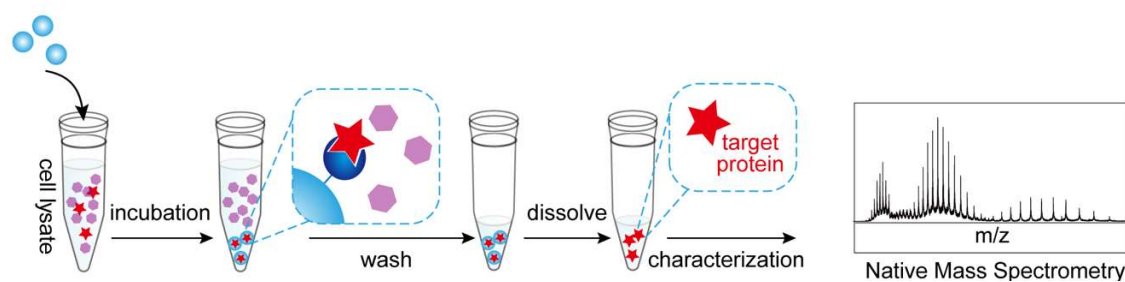


Fig. 1 基于可溶水凝胶微球的蛋白复合物纯化表征体系示意图

外泌体的色谱分离纯化与蛋白质组学研究

于海龙, 关升, 邵群飞, 晏国全, 高明霞, 张祥民*

复旦大学化学系&生物医学研究院

*E-mail: xmzhang@fudan.edu.cn

关键词: 色谱-质谱, 外泌体, 蛋白质组, 分离纯化

外泌体 (exosomes) 是细胞外囊泡 (EVs) 的一种, 它包涵有蛋白质、RNA、脂类等物质的微小颗粒。这些细胞外囊泡介导了细胞之间的信号通讯, 在细胞生长增殖尤其是肿瘤细胞增殖及转移方面起到了重要的调节作用。外泌体作为多种分子物质的载体, 可以被作为疾病诊断、预测、治疗效果评价以及预后评估的重要标志物[1]。

本工作开展了外泌体高效提取方法[2]。首先, 比较了超滤结合体积排阻色谱新方法 (SEC) 提取外泌体与传统超速离心 (UC) 提取方法的在外泌体纯度和形貌上的差异。样品经过 SEC 与 UC 提取纯化, 前者在外泌体的纯度和回收率上均优于后者。进一步研究表明, UC 回收率低的原因与超速离心过程中外泌体发生破裂有关。同时, SEC 获得的外泌体更好地保持了原有的自然粒径分布, 而 UC 获得的外泌体对较大颗粒与较小颗粒部分均有损失。为了验证 UC 对外泌体的破损, 我们还考察了降低超速离心的速度、缩短离心时间的效果。结果表明, 降低离心速度和时间, 可以有效减少外泌体破裂, 但由于离心力降低又会导致更多外泌体滞留上清液, 造成更多的外泌体损失。对两种方法提取纯化外泌体方法, 进行了蛋白质组鉴定及可重复性考察。三次鉴定蛋白质重复率分别为 84.7%-87% 和 82%-88.3%。其中, 外泌体蛋白质标志物 Top100 的浓度 (峰面积) 在总蛋白质组中所占的比例来看, SEC-Exos 高于 UC-Exos 含量 3 倍以上。因此, SEC 方法提取外泌体具有更高的收率。

实验还考察研究了多种细胞外泌体的相似的提取、纯化方法。通过肿瘤细胞提取外泌体与健康人免疫 T 细胞的共培养, 验证了外泌体诱导 T 细胞功能耗竭等表型。还探讨了健康人群和肿瘤病人 SEC 提取外泌体在促进细胞增殖、迁移以及诱发上皮细胞出现 EMT 效应的差异。因此, 依据外泌体的亚组分离, 也为外泌体的生物学功能研究提供了新的视角。

(致谢: 本研究得到国家重点研发计划项目2017YFA0505003和国家自然科学基金项目21775027资助)

参考文献

- [1] van Niel, G.; D'Angelo, G.; Raposo, G. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(4): 213-228.
- [2] Guan, Sheng; Yu, Hailong; Yan, Guoquan; Gao, Mingxia; Sun, Weibing; Zhang, Xiangmin. *J Proteome Res.* 2020, 19, 2217-2225.

蛋白质组学鉴定结果可靠性评价方法研究

周文婧¹, 卫卓虹¹, 迟浩^{1,*}

1 中国科学院计算技术研究所, 北京, 100190

*E-mail: chihao@ict.ac.cn

关键词: 蛋白质组学, 质谱, 假阴性率, 假阳性率, 机器学习

蛋白质组学基于质谱数据鉴定肽段和蛋白质, 从而给出基因表达的直接证据, 帮助解析蛋白质的结构和功能, 研究蛋白质与疾病的关系, 提供靶向治疗方案, 而这些都取决于鉴定的肽段和蛋白质的准确性。蛋白质组学常采用目标-诱饵库方法 (Target-Decoy Approach, TDA) 对鉴定的肽段和蛋白质进行质量控制, 并将其拓展应用于交联蛋白质组学、糖蛋白质组学和蛋白质基因组学分析中。TDA 毕竟只是单一方法, 而且评价能力有限, 所以领域内也提出了一系列其他方法, 协同加强肽段的可信度评价 (本文统称为 Beyond-TDA 方法)。

本文对肽段层面的 Beyond-TDA 方法进行了系统研究, 并提出了蛋白质组学结果检验的完整评测体系, 进而阐述了两种结果检验方法, 包括基于深度学习的结果检验方法 pValid [1], 以及基于同位素标记的结果检验综合流程。

pValid 方法从开放式搜索[2]及理论谱图预测[3,4]中提取与鉴定结果相关的特征, 并采用 SVM 方法作为分类器, 对鉴定结果的可信度进行预测。开放式搜索同时考虑了特异、半特异、非特异酶切形式以及 Unimod 中的所有修饰, 也是一种陷阱库检验方法。pValid 综合了开放式搜索这种特殊的陷阱库检验和理论谱图预测两种可信度评价方法, 获得了更低的假阳率和假阴率, 我们前期的工作中对以上提到的陷阱库检验、开放式搜索检验、合成肽段检验、理论谱图预测和 pValid 方法的假阳率和假阴率进行了研究。采用三种引擎交集构建正样本, 评测各种检验方法的假阳率, 采用正样本谱图母离子偏离 5 和 10 Da 构建诱饵谱图重新搜库的方法构建负样本, 评测各种检验方法的假阴率。在第三批标注数据集上, pValid 的假阳率和假阴率均为最低。

同位素标记检验方法 (Fig. 1) 需要在样品制备过程中同时制备无标记样品和重同位素标记样品, 将无标记样品和标记样品按比例混合后再进行酶切和质谱采集[2]。对于搜索引擎鉴定的每条肽段, 如果鉴定为无标记肽段, 则在一级谱寻找其对应的重同位素标记肽段的信号峰; 如果鉴定为重同位素标记肽段, 则在一级谱寻找其对应的无标记肽段的信号峰。如果能找到该鉴定结果对应的另一种标记肽段的信号峰, 那么认为该鉴定结果可信; 反之, 则认为该鉴定结果不可信。更严格的同位素标记检验可以计算无标记和标记肽段信号峰的强度比值, 只有比值符合或接近样品制备时无标记样品和标记样品的浓度比例, 才认为鉴定结果可信, 反之认为不可信。

本文对上述方法的假阳性率和假阴性率进行了全面评测,并总结了各种方法的优势与不足。

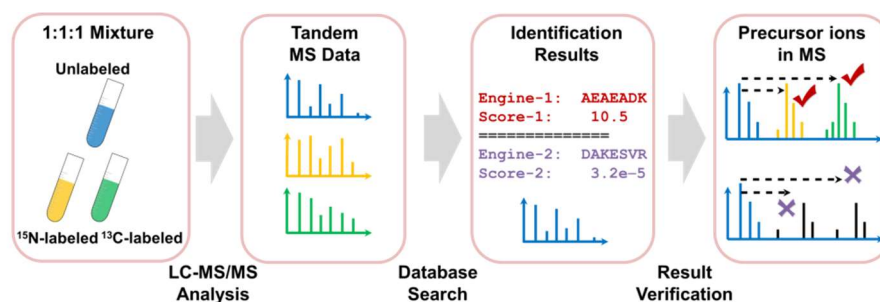


Fig. 1 Result Validation of Proteome Data Analysis Based on the Metabolic Labeling Technique

参考文献:

1. Chi, H., et al., Comprehensive identification of peptides in tandem mass spectra using an efficient open search engine. *Nature Biotechnology*, 2018. 36(11): p. 1059-1061.
2. Zhou, W.J., et al., pValid: Validation Beyond the Target-Decoy Approach for Peptide Identification in Shotgun Proteomics. *Journal of Proteome Research*, 2019. 18(7): p. 2747-2758.
3. Zhou, X.X., et al., pDeep: Predicting MS/MS Spectra of Peptides with Deep Learning. *Analytical Chemistry*, 2017. 89(23): p. 12690-12697.
4. Zeng, W.F., et al., MS/MS Spectrum Prediction for Modified Peptides Using pDeep2 Trained by Transfer Learning. *Analytical Chemistry*, 2019. 91(15): p. 9724-9731.

基于能量状态差异的药物靶蛋白系统鉴定方法

吕佳文, 张晓磊, 阮成飞, 叶明亮*

中国科学院大连化学物理研究所, 大连市, 116023

*E-mail: mingliang@dicp.ac.cn

关键词: 蛋白质组, 药物靶蛋白, 无标记, 质谱

药物分子通过与其直接靶蛋白发生特异性结合, 调节靶蛋白的结构性质、影响直接结合蛋白和下游蛋白的生物功能, 从而起到治疗效果。目前药靶筛选领域常用的热蛋白质组分析方法通过测定药物结合靶蛋白的热稳定性变化来进行药物靶蛋白筛选。针对热蛋白质组分析方法所需要的细胞样品起始量大、不适合大规模样品批量处理等问题, 我们发展了一种微球辅助的热致沉淀蛋白质组方法 (MAPS), 通过检测加药/空白处理下微球捕获的沉淀样品之间的蛋白定量差异, 即可推断与药物发生直接相互作用的靶蛋白。因为在样品前处理阶段引入了微球材料, MAPS方法操作简便、可拓展性好, 包括加热、烷基化、酶解等样品前处理过程都可在微球表面上操作, 这一流线式的MAPS工作流程使得快速高通量的药靶筛选成为可能。在低至20 μg 起始蛋白量的超微量样本分析中, 我们将该方法应用到多种临床药物 (包括甲氨蝶呤, 雷替曲塞, 环孢菌素A, SHP099) 的靶蛋白研究, 使用二甲基标记定量, 从约2000个背景蛋白中成功地筛选到了这些药物的已知靶蛋白, 且靶蛋白都发生了显著性变化。在格尔德霉素模型中, 成功地筛选到了已知的靶蛋白HSP90家族, 并发现了潜在的脱靶蛋白PRDX家族。在泛激酶抑制剂星孢菌素模型中, 从约6000多个蛋白的定量结果中, 筛选到了40个有潜力的候选靶蛋白, 其中有32个蛋白为已知的蛋白激酶。此外, 还发展了一种基于机械力诱导蛋白沉淀的配体-蛋白相互作用研究方法, 并将其应用于药物靶蛋白筛选。这种方法是基于一种全新的原理所设计的, 利用机械力诱导蛋白沉淀这一特性, 向样品溶液中添加微球材料以提供涡旋、产生机械力, 诱导样品中的蛋白变性沉淀并聚集到微球表面。同热致沉淀方法类似, 与药物小分子配体结合后, 靶蛋白的稳定性比游离状态的稳定性高、更不易被机械力诱导沉淀, 通过检测药物/空白处理之间机械力诱导的沉淀蛋白质组的定量差异, 即可识别出被药物稳定化的靶蛋白。这种基于机械力的方法能实现高灵敏度、高特异性的药物靶蛋白筛选, 我们将其成功地应用到多种临床药物的靶蛋白、脱靶蛋白研究, 使用二甲基标记定量方法, 从约2000个背景蛋白中成功地筛选到了显著性变化的已知靶蛋白。在星孢菌素的研究中, 我们使用该方法结合DIA定量技术, 分别从K562和Hela细胞系的4159和3837个背景蛋白中筛选到了42和38个潜在靶蛋白。该方法的原理与现有的其他药物靶蛋白筛选方法都不相同, 因此它能够为药物靶点发现提供一个全新的视角。在雷替曲塞的靶蛋白研究中, 我们所发展的基于机械力诱导沉淀的方法是首个检测到二氢叶酸还原酶 (DHFR) 也是雷替曲塞的直接靶蛋白的非

化学修饰药靶筛选方法。

沙门氏菌感染的蛋白质组学研究

刘小云

北京大学基础医学院, 北京, 100191

*E-mail: xiaoyun.liu@bjmu.edu.cn

关键词: 沙门氏菌; 蛋白质组学; 组氨酸合成

沙门氏菌在肠道感染过程中如果突破肠上皮细胞的屏障, 可进一步侵染免疫细胞 (如巨噬细胞), 并随血液或淋巴液游走, 最终在机体其它部位定殖从而引起全身系统性感染。而沙门氏菌作为一种胞内病原菌, 我们对其如何适应不同类型宿主细胞的认知仍然十分有限。因此, 我们运用高通量蛋白质组学绘制了沙门氏菌感染鼠源 RAW 264.7 巨噬细胞时的蛋白质表达全景图。与前期上皮细胞感染数据相比, 细菌蛋白质组的重塑总体而言有较多的共同规律, 比如沙门氏菌内化后其两套三型分泌系统的时序调控以及胞内菌鞭毛与趋化系统的严重退化。然而, 我们也同时发现了许多因宿主细胞类型不同而展现出的特征性蛋白质表达。有趣的是, 在感染的巨噬细胞内细菌三型分泌系统、鞭毛与趋化系统的差异调控比上皮细胞中发生的更早。此外, 更为惊奇的发现是细菌感染巨噬细胞时大幅上调其组氨酸合成通路, 而该通路的大多数蛋白在感染上皮细胞时几乎检测不到。靶向代谢组学进一步证实相较于上皮细胞, 巨噬细胞内组氨酸水平相对较低。相关功能性研究则揭示该沙门氏菌因 *hisG* 基因突变导致其组氨酸合成途径的缺陷, 因此使得菌株对巨噬细胞内组氨酸水平的不足异常敏感, 最终造成该氨基酸合成通路的过度上调。上述研究发现进一步拓展了我们对病原菌适应宿主细胞内独特环境的机制理解。

参考文献

- [1] Li Z, Liu Y, Fu J, Zhang B, Cheng S, Wu M, Wang Z, Jiang J, Chang C, Liu X. *mSystems*, 2019, 4, e00314-18.
- [2] Liu Y, Yu K, Zhou F, Ding T, Yang Y, Hu M, Liu X. *J. Proteome Res.*, 2017, 16, 788-797.
- [3] Liu Y, Liu Q, Qi L, Ding T, Wang Z, Fu J, Hu M, Li M, Song J, Liu X. *Mol. Cell. Proteomics*, 2017, 16, 1683-1693.
- [4] Liu Y, Zhang Q, Hu M, Yu K, Fu J, Zhou F, Liu X. *Infect. Immun.*, 2015, 83, 2897-2906.

单细胞蛋白质组和代谢组分析新方法研究

秦伟捷^{1*}, 李圆圆^{1,2}, 李航¹, 于永亮², 王建华², 钱小红¹

1. 军事医学研究院生命组学研究所, 国家蛋白质科学中心(北京), 北京蛋白质组研究中心

2. 东北大学, 理学院

Corresponding author E-mail: aunp_dna@126.com

关键词: 单细胞、分离、蛋白质组、代谢组、质谱

同一机体或组织中存在着种类不同, 功能各异的多种细胞及其亚型, 具有显著的异质性, 是生物系统和组织的普遍特征, 决定着细胞的不同功能和发展轨迹。因此发展单细胞分辨的分析技术已经成为国际生命科学研究的热点和发展趋势。细胞是一个由 DNA、RNA、蛋白质组和代谢物等各种分子组成的, 依循中心法则运行的有机整体。将各种组学方法有机结合在一起的单细胞多组学技术, 能够更有效全面地反应细胞在特定时空状态下各组学间的复杂联系, 因此成为解析生命进程的有力工具。在本工作中我们研发了一种基于微孔芯片的单细胞样本前处理技术, 通过对微孔内壁进行亲水改性并结合有机相萃取实现了对同一单细胞中代谢物和蛋白质的分步提取, 进而通过质谱分析对所得代谢物/脂质和蛋白质酶解肽段进行定性定量解析。采用该单细胞分析策略我们在 HeLa 细胞中鉴定到 100 余种化合物, 并结合数据非依赖质谱采集策略达到了 >1200 种蛋白质/细胞的鉴定水平。在此基础上, 我们开展了不同细胞周期的单细胞蛋白组和代谢组研究, 发现细胞同步化处理可降低细胞异质性。为单细胞多组学研究提供了新的工具。

An Integrated Strategy for Mass Spectrometry-Based Multi-omics Analysis of Single-Cells

Weijie Qin^{1*}, Yuanyuan Li^{1,2}, Hang Li¹, Yongliang Yu², Jianhua Wang²,
Xiaohong Qian¹

1. National Center for Protein Sciences Beijing, State Key Laboratory of Proteomics, Beijing
Proteome Research Center, Beijing Institute of Lifeomics, Beijing, China

2. Northeastern University, Shenyang, China

KEY WORDS: Single cell, Separation, Proteomics, Metabolomics, Mass spectrometry

ABSTRACT:

Single-cell-based genomic and transcriptomic analysis have revealed substantial cellular heterogeneity among seemingly identical cells. Knowledge of the cellular heterogeneity at multi-omics levels is vital for a better understanding of tumor metastasis and drug resistance, stem cell differentiation and embryonic development. However, unlike genomics and transcriptomics studies, single-cell characterization of metabolites, proteins and post-translational modifications at omics level remains challenging due to the lack of amplification methods and the wide diversity of these biomolecules. Therefore, new tools that are capable of investigating these unamplifiable “omes” from the same single-cells are in high demand. In this work, a microwell-chip was prepared and the internal surface was modified for organic solvent-based tandem extraction of metabolites and proteins from the same single-cell and for the subsequent protein digestion. Next, direct electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) was adopted for single-cell metabolome identification and a data independent acquisition (DIA)-MS approach was established for proteome profiling. This integrated strategy resulted in 132 putatively annotated compounds and more than 1200 proteins/cell. Application of this strategy in chemical perturbation studies provided a multi-omics view of cellular changes, demonstrating its capability for more comprehensive investigation of cellular heterogeneity.

液相色谱保留规律辅助定性分析的应用例

朱泉霏¹, 安娜¹, 冯钰琦^{1,2,*}¹ 武汉大学化学与分子科学学院, 武汉, 430072² 武汉大学免疫与代谢前沿科学中心, 武汉, 430072

*E-mail: yqfeng@whu.edu.cn

关键词: 羟基脂肪酸; 色谱保留规律; 质谱裂解规律

羟基脂肪酸 (OH-FAs) 是一类在自然界广泛分布的生物活性化合物, 参与了许多重要的代谢过程, 如脂质氧化降解和信号分子的合成。OH-FAs种类繁多, 每个OH-FA家族通常包含多种羟基位置异构体, 并且这些异构体在生物体内表现出不同的调节作用和生物活性。准确注释OH-FA异构体结构对于理解其生物学功能具有重要意义。然而, 由于OH-FAs包含大量的同分异构体、在生物样品中含量低、且许多OH-FAs标准品无市售, 从而限制了OH-FAs的鉴定。在本工作中, 我们提出了一种基于色谱保留行为和质谱裂解规律的新型鉴定技术, 并将其用于生物样品中痕量OH-FAs的鉴定研究。通过分析39个OH-FAs标准品在C18柱上的保留行为, 我们发现其保留遵循两种“碳数规律”。基于这两种碳数规律, 我们建立了一个OH-FA异构体的保留指数循环预测模型。该模型可预测并获得碳原子数为8到18所有可能的OH-FA异构体 (C8-18) 的保留指数 (RI) 值。此外, 通过研究OH-FAs在碰撞诱导解离模式下的质谱裂解, 我们发现其特征子离子 ($[M+H]^+ - 63$ 和 $[M+H]^+ - 45$) 的强度比值与OH-FAs的羟基位置密切相关。该特征有助于进一步辅助识别OH-FA异构体结构。应用上述规律, 我们对人体血清, 水稻幼苗和蜂蜜中检测到的107个OH-FA候选物进行了注释, 其中有97个候选物被鉴定。此外, 通过整合所获得OH-FAs数据, 我们建立了一个OH-FAs数据库以简化OH-FAs注释过程。通过搜索OH-FA数据库, 在小鼠粪便中检测到的60个OH-FAs候选物中识别出55个OH-FA。总之, 该研究所提出的注释策略实现了在有限标准品条件下OH-FAs 的广泛识别, 是一种有前途的分析注释工具。

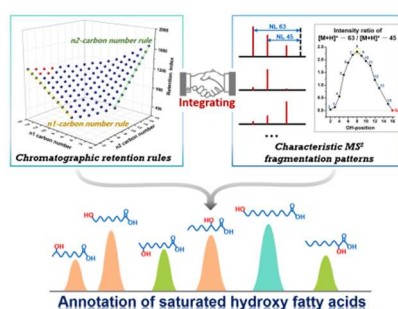


Fig. 1 Annotation of OH-FAs by chromatographic retention rule and characteristic MS² fragmentation patterns

参考文献

1. Zhu Q.F.; An N.; Feng Y.Q. Anal. Chem. 2020, 92: 14528–14535
2. Zhu Q.F.; Yan J.W.; Zhang T.Y.; Xiao H.M.; Feng Y.Q. Anal. Chem. 2018, 90(16): 10056-10063.
3. Zheng S.J.; Liu S.J.; Zhu Q.F.; Guo N.; Wang Y.L.; Yuan B.F.; Feng Y.Q. Anal. Chem. 2018. 90(14): 8412-8420.
4. Zhu Q.F.; Zhang T.Y.; Qin L.L.; Li X.M.; Zheng S.J.; Feng Y.Q. Anal. Chem. 2019. 91(9): 6057-6063.

基于先进光源-生物质谱的结构蛋白质组学新方法

刘哲益^{1,2}, 肖春雷², 王方军^{1,*}, 杨学明²

¹中国科学院大连化学物理研究所, 中国科学院分离分析化学重点实验室, 大连, 116023

²中国科学院大连化学物理研究所, 分子反应动力学国家重点实验室, 大连, 116023

*E-mail: wangfj@dicp.ac.cn

关键词: 结构蛋白质组学, 生物质谱, 极紫外自由电子激光, 原位化学标记, 蛋白质复合物

针对目前基于生物质谱技术研究蛋白质结构和相互作用变化在分析灵敏度、准确性和动态研究方面所面临的挑战。研究团队在近期工作发展了活性蛋白质共价二甲基化标记-结构蛋白质组学分析新方法, 实现了高通量定量分析微克级膜受体、激酶等靶蛋白与小分子配体或抑制剂结合时不同蛋白区域的构象变化程度, 揭示了小分子-靶蛋白的互作界面和蛋白构象调节模式, 可应用于靶向药物的作用机制和药效分析。发展了溶液状态蛋白质“活性-变性”赖氨酸两步稳定同位素标记定量策略 (TILLRP), 系统研究了重组新冠病毒 SARS-CoV-2 S1 蛋白质和人体 ACE2 受体之间的相互作用情况; 发现 S1 蛋白质 RBD Lys386-Lys462 区域的赖氨酸位点在 S1-ACE2 复合物形成前后标记反应性发生了显著改变; 提出可以利用该区域赖氨酸的标记反应性调控水平评估小分子活性物质对 S1-ACE2 识别的干预情况, 可能有助于相关治疗药物分子的研发。提出了化学交联质谱法和整体蛋白质组学分析整合策略, 证明这两种分析方法获得的结果高度互补、相互验证; 对 PSII 膜蛋白复合物的光损伤分子机制进行了全面解析, 加深了对光损伤过程的认识。发现一种 Deg/HtrA 蓝藻蛋白酶可以特异性剪切蛋白质的短链疏水性残基 Val、Ala、Ile、Leu、Thr, 剪切特异性达到 92%; 在蛋白质组分析中表现出与常规 Trypsin 剪切的高度互补性, 22% 的鉴定序列为常规组学分析无法覆盖的区域; 特别是可显著提高疏水性跨膜区的序列覆盖率。申请人团队将其命名为 VAILase, 这是在组学分析中首次报道针对短链疏水性氨基酸的高特异性剪切蛋白酶。基于 VAILase 六聚体笼状结构中底物进入孔洞 (3 nm) 的尺寸选择性以及笼状结构中底物识别结构域和酶切活性位点之间的六把“分子尺”, 进一步实现了对活性蛋白质在正常酶用量和酶切时间下的高度结构选择性。

在高能紫外激光解离-高分辨质谱系统搭建方面, 研究团队经过生物质谱和新型激光技术的交叉学科联合创新攻关, 解决了激光引入与对准, 串联质谱触发控制等硬件改造与激光、质谱频率匹配等软件集成关键技术难题; 实现了蛋白质和复杂多肽样品的高效解离和序列、修饰组学分析, 多磷酸肽位点定位碎片离子数目比常规解离方法提高 104%; 以及 Pt 团簇气相解离和 Pt⁺诱导的烷烃活化机制研究。实现了大连光源极紫外自由电子激光和高分辨质谱的整合, 搭建了国际上首个先进光源-生物质谱实验站, 实现了对纯化蛋白质分子的高效解离和序列、

结构变化精准解析。初步结果表明，波长在 50-150 nm 的极紫外激光对蛋白质等生物分子具有更高的解离效率，其解离机制与碎片离子类型和常规 193 nm 准分子激光显著不同，有望发展成为一种具有自主知识产权的变革性原始创新串联质谱技术，在生物分子组成结构研究中发挥独特的作用。

参考文献：

1. Binwen Sun, Ji Lv, Jin Chen, Zheyi Liu, Ye Zhou, Lin Liu, Yan Jin, Fangjun Wang*, Size-Selective VAILase Proteolysis Provides Dynamic Insights into Protein Structures, *Analytical Chemistry* 2021, 93: 10653-10660.
2. Binwen Sun, Zheyi Liu, Xiang Fang, Xiaolei Wang, Can Lai, Lin Liu, Chunlei Xiao*, You Jiang*, Fangjun Wang*, Improving the performance of proteomic analysis via VAILase cleavage and 193-nm ultraviolet photodissociation. *Analytica Chimica Acta* 2021, 338340.
3. Ye Zhou, Zheyi Liu, Mingdong Yao, Jun Chen, Yanan Xiao, Guangye Han, Jian-Ren Shen, Fangjun Wang*, Elucidating the Molecular Mechanism of Dynamic Photodamage of Photosystem II Membrane-protein Complex by Integrated Proteomics Strategy. *CCS Chemistry* 2021, 3: 443-454.
4. Zheyi Liu, Wenxiang Zhang, Binwen Sun, Yaolu Ma, Min He, Yuanjiang Pan, Fangjun Wang*, Probing conformational hotspots for the recognition and intervention of protein complexes by lysine reactivity profiling. *Chemical Science* 2021, 12: 1451-1457.
5. Yunchuan Tu, Wei Tang, Liang Yu, Zheyi Liu, Yanting Liu, Huicong Xia, Haiwei Zhang, Shiyun Chen, Jia Wu, Xiaojun Cui, Jianan Zhang, Fangjun Wang*, Yangbo Hu*, Dehui Deng*, Inactivating SARS-CoV-2 by electrochemical oxidation. *Science Bulletin* 2021, 66: 720-726.
6. Zheyi Liu, Zhimin Li, Guanna Li, Zhipeng Wang, Can Lai, Xiaolei Wang, Evgeny A. Pidko, Chunlei Xiao*, Fangjun Wang*, Gao Li*, and Xueming Yang, Single-Atom Pt+ Derived from the Laser Dissociation of a Platinum Cluster: Insights into Nonoxidative Alkane Conversion. *Journal of Physical Chemistry Letters* 2020, 11: 5987-5991.
7. Binwen Sun, Zheyi Liu, Zheng Fang, Wei Dong, Yang Yu, Mingliang Ye, Lin Liu, Hongda Wang, Fangjun Wang*, Probing the Proteomics Dark Regions by VAILase Cleavage at Aliphatic Amino Acids. *Analytical Chemistry* 2020, 92: 2770-2777.
8. Chen Jin, Anhui Wang, Bing Liu, Ye Zhou, Pan Luo, Zhichao Zhang, Guohui Li*, Quentin Liu*, Fangjun Wang*, Quantitative Lysine Reactivity Profiling Reveals Conformational Inhibition Dynamics and Potency of Aurora A Kinase Inhibitors. *Analytical Chemistry* 2019, 91: 13222-13229.
9. Liu Zheyi, Zhou Ye, Liu Jing, Chen Jin, Heck Albert J.R., Wang Fangjun*, Reductive methylation labeling, from quantitative to structural proteomics. *Trends in Analytical Chemistry* 2019, 118: 771-778.
10. Zhou Ye; Liu Zheyi; Zhang Jinbao; Dou Tongyi; Chen Jin; Ge Guangbo; Zhu Shujia*; Wang Fangjun*, Prediction of ligand modulation patterns on membrane receptors via lysine reactivity profiling. *Chemical Communications* 2019, 55: 4311-4314.

基于定量蛋白质组学的活性天然产物作用机制研究

方善花¹, 肖若璇¹, 刘倩¹, 周虎^{1,*}

¹ 中国科学院上海药物研究所, 上海, 201203

*E-mail: zhouhu@simm.ac.cn

关键词: 蛋白质组学, 活性天然产物, 蛋白质相互作用网络

蛋白质相互作用网络是生命活动的基础, 活性天然产物可以通过干预蛋白质相互作用网络产生特定生物学效应从而发挥治疗疾病的功效。因此我们运用定量蛋白质组学技术, 结合蛋白质相互作用网络的动态变化及调控解析, 以阐明活性天然产物的作用机制。

绞股蓝与黄芪是我国人民自古以来使用的天然药物, 对于肝脏疾病具有一定的治疗功效, 但具体作用机制尚不清楚。研究发现天然产物绞股蓝三萜皂苷 NPLC0393 在小鼠模型中的抗肝纤维化作用机制。采用非标记定量蛋白质组学技术分析 NPLC0393 对四氯化碳 (CCl₄) 诱导的肝纤维化小鼠模型干预后的肝组织, 获得 2953 种蛋白质的表达谱, 通过分析被 NPLC0393 扰动的蛋白质相互作用网络, 发现 NPLC0393 可通过阻断 TGF- β 1-p65-MAT2A 信号轴依赖的肝星状细胞活化, 从而发挥抗肝纤维化作用。

青蒿素的发现是我国对世界医学的重大贡献, 虽然青蒿素被报道具有一定的抗肿瘤活性, 但具体作用靶点及抗肿瘤机制尚不清楚。青蒿素 (ART) 及其衍生物 SOMCL-14-221 (221) 具有在非小细胞肺癌细胞中的抗肿瘤作用。采用基于 TMT10-plex 标记的定量蛋白质组学技术高通量地实现了对化合物处理组与对照组 A549 细胞中的 8226 种蛋白的无偏精准定量。通过对化合物扰动的蛋白质相互作用网络进行分析, 发现关键节点蛋白天冬酰胺合成酶 (ASNS) 在处理组显著上调。后续生物实验发现 ART 及 221 通过激活内质网应激抑制肿瘤细胞增殖并上调 ASNS; 而敲低 ASNS 可显著提高 ART 及 221 的体内外抗肿瘤活性, 证实 ASNS 表达量与非小细胞肺癌细胞对化合物的敏感度密切相关。

参考文献:

K.F. Wang #, S.H. Fang #, Q. Liu #, J. Gao; X.N. Wang, H.W. Zhu, Z.Y. Zhu, F.H. Ji, J.S. Wu, Y.M. Ma, L.H. Hu, X. Shen, D.M. Gao, J.S. Zhu*, P. Liu*, H. Zhou*. TGF-beta1/p65/MAT2A pathway regulates liver fibrogenesis via intracellular SAM. *EBioMedicine*, 2019, 42: 458-469.

R.X. Xiao#, C.Y. Ding#, H.W. Zhu, X. Liu, J. Gao, Q. Liu, D.Y. Lu, N.X. Zhang*, A. Zhang*, H. Zhou*. Suppression of asparagine synthetase enhances the antitumor potency of ART and artemalogue SOMCL-14-221 in non-small cell lung cancer. *Cancer Letters*, 2020, 475: 22-33.

蛋白质分离分析方法研究

舒杨, 陈旭伟, 于永亮, 王建华*

东北大学理学院化学系分析科学研究中心, 辽宁 沈阳, 110004

*E-mail: jianhua jrz@mail.neu.edu.cn

关键词: 蛋白质, 分离富集, 传感与分析

在分析复杂基体样品中的蛋白质时,有效的样品预处理方法是准确获取分析目标物有效信息的关键。在众多的样品预处理方法中,液相萃取和固相萃取是目前最为广泛应用的技术。液相或固相萃取载体与蛋白质的不同相互作用模式为其选择性地分离分析提供了广泛的选择。用于蛋白质分离分析的众多载体具有不同的结构特点及性能,其中碳纳米结构、离子液体、多金属氧酸盐等均为蛋白质吸附分离的有效载体,其与蛋白质的特定相互作用为选择性地吸附分离生命样品中的蛋白质提供了可能。本文简要介绍了作者课题组近年来在相关领域中的一些尝试和进展。

参考文献:

1. D.-D. Zhang, M.-M. Wang, Z.-Y. Guo, P.-F. Guo, X.-W. Chen, J.-H. Wang. Specific Isolation of Glycoproteins with Mesoporous Zirconia-Polyoxometalate Hybrid. *Proteomics*, 2018, 18, 1700381.
2. Z.-Y. Guo, X. Hai, Y.-T. Wang, Y. Shu, X.-W. Chen, J.-H. Wang. Core-Corona Magnetic Nanospheres Functionalized with Zwitterionic Polymer Ionic Liquid for Highly Selective Isolation of Glycoprotein. *Biomacromolecules*, 2018, 19, 53-61.
3. M.-M. Wang, S. Chen, Y.-L. Yu, J.-H. Wang. Polyoxometalate-functionalized macroporous microspheres for selective separation/enrichment of glycoproteins. *ChemComm*, 2020, 56, 9870-9873.
4. W. Xu, J.-F. Cao, Y.-N. Lin, Y. Shu, J.-H. Wang. Functionalized polyoxometalate microspheres ensure selective adsorption of phosphoproteins and glycoproteins. *ChemComm*, 2021, 57, 3367-3370.
5. S. Chen, L. Wei, X.-W. Chen, J.-H. Wang. Suspension Array of Ionic Liquid or Ionic Liquid-Quantum Dots Conjugates for the Discrimination of Proteins and Bacteria. *Anal. Chem*, 2015, 87, 10902-10909.

几种酶的分析方法建立

李双琴, 张园, 冉繁鹏, 王娅娅, 张海霞^{1,*}

¹ 兰州大学化学化工学院, 兰州, 730000

*E-mail: zhanghx@lzu.edu.cn

关键词: 端粒酶, 酸性磷酸酶, 乙酰氨基糖苷酶, 荧光成像, 可视化检测

酶是生物体活细胞或组织中产生的具有高度专一性与催化活性的一类物质, 主要参与生物体新陈代谢相关的一系列过程, 包括激素激活、蛋白质消化、细胞的分化和信号传导等。其含量异常时, 也将引起许多疾病, 如病毒感染、心血管疾病, 癌症、阿尔茨海默病和炎症等, 因此, 可以作为重要的疾病标志物。目前, 检测酶的方法已有许多, 如高效液相、电化学、质谱法等, 受限于操作繁琐、仪器专用性以及无法实现原位、无损检测等。然而, 荧光检测法因操作简单、灵敏度高, 有效地规避了上述方法的缺陷, 颇具优势。基于此, 我们构建了小分子、DNA、纳米材料型三种荧光探针, 分别实现了乙酰氨基糖苷酶、端粒酶、酸性磷酸酶的体外定量检测、体内荧光成像与快速可视化检测, 可以为疾病标志物的早期检测和预防提供有利的参考。

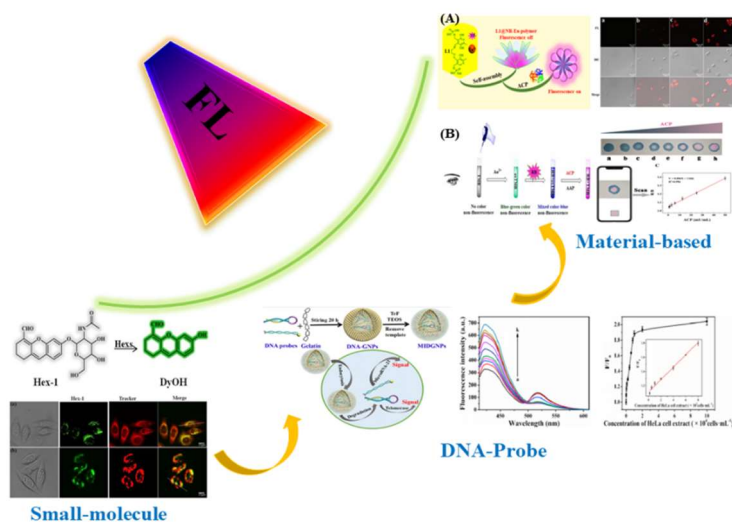


Fig. 1: The detection mechanism for several enzymes based-on fluorescence method.

抗肿瘤活性化合物作用机制的定量化学蛋白质组学和磷酸

蛋白质组学研究

郑蒙蒙, 张艳梅, 康经武*

生命有机化学国家重点实验室, 中国科学院上海有机化学研究所, 上海, 200032

*E-mail: jingwu.kang@sioc.ac.cn

关键词: 靶标鉴定, 定量蛋白质组学, 磷酸化蛋白质组学, 天然产物, 作用机制

丹参用于治疗心血管疾病已有数百年的历史。作为丹参的主要成分之一, 丹酚酸 A (SAA) 具有心脏保护、抗氧化、抗肿瘤的活性。目前, SAA 正处于治疗糖尿病神经病变的一期临床试验。尽管已经报道了 SAA 的各种药理活性, 但其分子作用机制和其多重药理作用的靶点仍然难以捉摸。通过用定量磷酸化蛋白质组学分析, 我们发现 SAA 对细胞磷酸化作用主要聚集在 AKT/PI3K/mTORC1 的细胞信号通路。以 SAA-炔烃类似物 (SAA-炔烃) 作为特定探针, 我们进一步采用化学蛋白质组学方法确认了 SAA 的作用靶标为 mTORC1。我们发现 SAA 可以通过其亲电子的 α, β -不饱和羰基部分共价修饰细胞内的各种蛋白质。采用纯化的目标蛋白和活细胞生化实验表明 SAA 可显著抑制 mTORC1 的活性, SAA 的构效关系研究发现, SAA 的 α, β -不饱和双键对 mTORC1 的抑制活性是必不可少的。质谱分析表明, mTORC1 复合物上的 Raptor 蛋白上的半胱氨酸残基的共价修饰是 SAA 发挥其抗细胞增殖活性的作用靶点。Raptor 蛋白是 mTORC1 招募底物的位点, 决定着 mTORC1 的活性。我们的工作阐明了 SAA 的抗细胞增殖机制, 也为研究其他具有生物活性的天然产物的作用机制提供了思路。

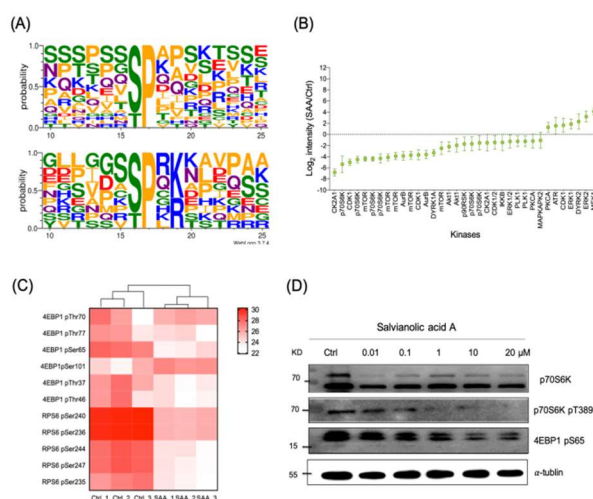


图 1 基于磷酸蛋白质组学分析 NB4 细胞中 SAA 调节的激酶活性。(A) 激酶底物富集分析, 显示了所鉴定磷蛋白的典型序; (B) 由相应底物蛋白 MS 强度的倍数变化预测的激酶活性。MS 数据通过 Fisher 提取物测试进行分析。(C) 热图显示了由 SAA 调控的 4EBP1 和 RPS6 上的确切磷位点; (D) 蛋白质印迹显示在 SAA 抑制的活细胞中, 4EBP1 上 pS65 和 p70S6K 上 pT389 的磷酸化水平减弱。

蛋白质赖氨酸-2-羟基异丁酰化修饰和调控蛋白的分离分析 及应用

董瀚阳¹, 韩月¹, 张建基¹, 柏雪¹, 翟贵金¹, 田姗姗¹, 张锴^{1,*}

¹天津医科大学基础医学院, 省部共建医学表观遗传协同创新中心, 天津市医学表观遗传重点实验室, 天津, 300070

*E-mail: kzhang@tmu.edu.cn

关键词: 色谱, 质谱, 蛋白质组学, 翻译后修饰, 调控酶

最近的研究表明, 蛋白质赖氨酸-2-羟基异丁酰化 (Protein lysine 2-hydroxyisobutyrylation, Khib) 在生理病理过程中具有重要的调控功能。然而, 目前 Khib 在原核生物中的作用机制和功能结果都还尚不清楚。我们最近的工作表明, Khib 广泛存在于原核细胞中, 而 CobB 是它的去修饰酶, 可以介导 Khib 调节大肠杆菌的糖酵解[1-3]。本文, 我们首次报道了 TmcA 是赖氨酸-2-羟基异丁酰化的修饰酶, 介导 Khib 调控转录。我们通过系统筛选分析, 并证明 TmcA 在体外和细胞内都能有效地催化 Khib 的发生, 而 R502 是 TmcA 催化 Khib 活性的关键位点。在此基础上, 我们采用基于 LC-MS/MS 的定量蛋白质组学策略, 在大肠杆菌中鉴定的 4351 个 Khib 位点中, 发现了 467 个 Khib 内源性位点受 TmcA 靶向调控。接下来的实验发现, TmcA 可以通过调控类组蛋白 H-NS 上 K121 位点的 Khib, 改变类组蛋白与 DNA 的结合状态。并且进一步发现, TmcA 介导该位点上的 Khib 激活了耐酸基因的转录, 从而提高了大肠杆菌在酸胁迫下的存活率。我们的研究表明, TmcA 是一种赖氨酸-2-羟基异丁酰化转移酶, 可以介导 Khib 转录调控。这不仅拓展了 Khib 的组学研究, 也为理解 Khib 功能提供了一个新的视角。

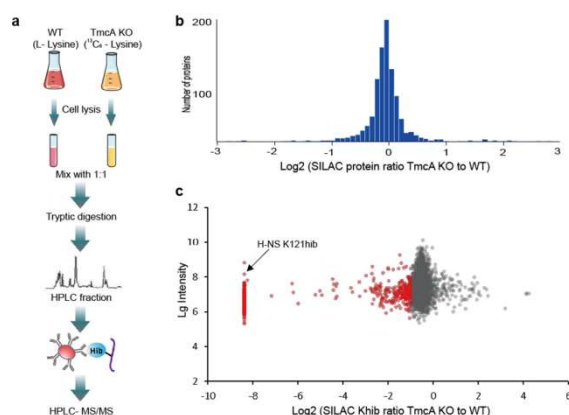


Fig. 1 Profiling the endogenous substrate proteins for 2-hydroxyisobutyrylation by TmcA in *E. coli* using LC-MS/MS

参考文献:

1. Dong, H. Y., Guo, Z. C., Feng, W., Zhang, T., Zhai, G. J., Palusiak, A., Rozalski, A., Tian, S. S., Bai, X., Shen, L. J., Chen, P., Wang, Q., Fan, E. G., Cheng, Z. Y., and Zhang, K.*, *Mol Cell Proteomics*, 2018, 17, 482-494
2. Zhai, G. , Dong, H. , Guo, Z., Feng, W. , Jin, J., Zhang, T. , Chen, C., Chen, P., Tian, S., Bai, X., Shi, L., Fan, E., Zhang, Y., Zhang, K.*, *Analytical Chemistry* 2018, 90, (19), 11385-11392.
3. Dong, H.Y., Zhai, G. J., Chen, C., Bai, X., Tian, S. S., Hu, D.Q., Fan, E. G., Zhang, K.*, *Science Advances* 2019, 5: eaaw6703.

“塑料抗体”分子印迹富集技术及其泛素化修饰组学研究

刘照胜

(天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津, 300070)

*E-mail: zhaoshengliu@sohu.com

关键词: 分子印迹, 结直肠癌, 富集, 泛素化, 差异蛋白质组学

分子印迹技术是为目标分子即模板量身定做分子印迹聚合物 (Molecularly Imprinted Polymer, MIP) 的合成技术^[1]。其制备的 MIP 具有与目标分子形状和大小一致的三维空穴, 可实现对目标分子如同酶和底物按“锁-钥”模式进行的分子识别, 同时还具有高分子抗腐蚀、良好可设计性、预定选择性和高度稳定性等优点, 因而其在色谱分离、靶向和成像、分子马达、药物递送系统等方向取得突破性进展和重要成果。目前分子印迹技术已开始用于翻译后修饰肽段的富集, 如磷酸化肽、乙酰化肽段及糖肽, 显示了良好的富集选择性^[1]。

泛素化修饰是一种重要的蛋白质翻译后修饰^[2,3]。泛素化及其信号途径的改变可引发人体的众多疾病^[4], 例如, 泛素化修饰蛋白质会参与肝癌细胞的侵袭迁移^[5]。因此, 筛选癌和癌旁组织中的差异泛素化修饰蛋白质, 有望开发新的生物标志物, 对癌症的诊疗具有重要意义。然而, 泛素化修饰的低丰度制约着其鉴定和研究, 为此我们近期开发了基于分子印迹的泛素化修饰蛋白质富集策略。

基于发展易于制备、低成本的修饰肽富集材料的思路, 我们以多种翻译后修饰肽段为模板, 设计发展了一系列新型片段印迹 MIP 材料, 并研究了对实际样品的富集结果。例如, 我们基于泛素九肽分子印迹聚合物 (MQIFVKTLT-MIP) 和苯氧基乙酸烯丙酯柱 (AP 柱) 设计出两种不同的富集策略, 分别结直肠癌和癌旁组织中的泛素化蛋白质进行富集。结直肠癌组织中二种富集方法仅鉴定到 2 个共同的泛素化修饰蛋白质, MQIFVKTLT-MIP 和 AP 柱富集法独特的泛素化修饰蛋白质分别占各自的 77.7%和 77.7% (图 1a); 癌旁组织中 MQIFVKTLT-MIP 与 AP 柱富集法各重复 1 个泛素化修饰蛋白质, 鉴定到的不同泛素化修饰蛋白质分别为 87.5%与 50% (图 1b)。结果表明两种方法富集到的泛素化修饰蛋白重复率较小, 鉴定到的泛素化修饰蛋白信息具有良好的互补性。与癌旁组织相比, 结直肠癌组织中富集到的泛素化修饰位点具有一定的独特性。

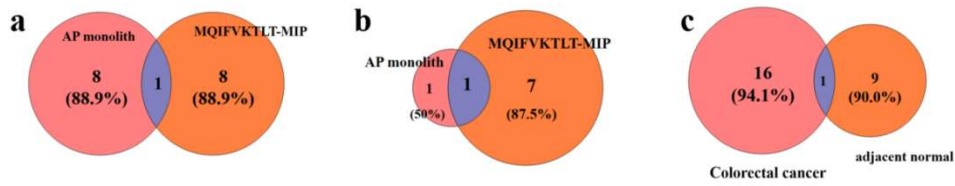


Fig. 1 Venn diagram of overlapping ubiquitin-modified proteins identified in Colorectal cancer and adjacent normal tissue. a. Colorectal cancer tissue; b. Adjacent normal tissue; c. Comparison between Colorectal cancer and adjacent normal tissue.

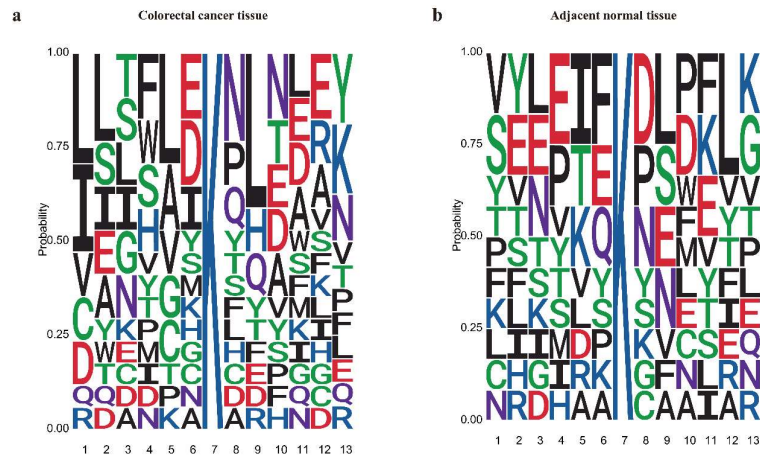


Fig. 2 Motif analysis of the identified ubiquitination sites. (a) Colorectal cancer tissue; (b) Adjacent normal tissue.

总之，我们的研究表明，通过采用分子印迹富集策略，可有效对癌和癌旁组织中的泛素化修饰差异蛋白质进行鉴定，并通过对质谱鉴定到的泛素化修饰蛋白质进行筛选和生物信息学分析，有望建立一套可筛选泛素化修饰差异蛋白质组学的方法，为癌症生物标记物的寻找提供有效途径。

本课题受国家自然科学基金项目资助（项目号21775109）

参考文献：

[1] S. Helling, S. Shinde, F. Brosseron, A. Schnabel, T. Müller, H. E. Meyer, K. Marcus, B. Sellergren, Ultratrace enrichment of tyrosine phosphorylated peptides on an imprinted polymer. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(5):1862-1865.

[2] Y. S. Guo, H. T. Zhang, L. P. Yao, Y. Li, C. H. Situ, J. H. Sha, D. Z. Chen, X. J. Guo. Systematic analysis of the ubiquitome in mouse testis. *Proteomics*, 2021, 21:2100025

[3] M. Perry, M. Biegert, S.S. Kollala, H. Mallard, G. Su, M. Kodavati, N. Kreiling, A. Holbrook, G. Ghosal. Usp11 mediates repair of dna-protein crosslinks by deubiquitinating sprtn metalloprotease. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 296: 100396

[4] N. Stankovic-Valentin, F. Melchior. Control of SUMO and ubiquitin by ROS: signaling and disease implications. *Molecular Aspects of Medicine*, 2018, 63: 3-17

[5] 兰秋艳, 高媛, 李衍常, 洪学传, 徐平. 泛素、泛素链和蛋白质泛素化研究进展. *生物工程学报*, 2016, 32(01): 14-30

单细胞中微量 MicroRNA 和肿瘤相关蛋白的绝对定量

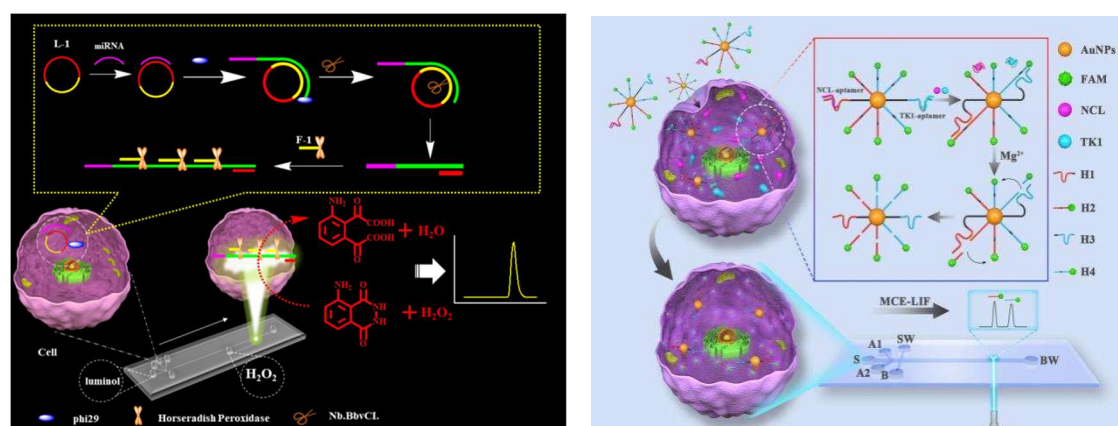
赵书林

(广西师范大学化学与药学院, 桂林 541004,

E-mail: shulinzhao001@163.com)

关键词: 微芯片电泳, 激光诱导荧光, 化学发光, 信号放大, 单细胞分析

细胞是生命体活动的最基本单元。细胞的异质性使得生命体内部具有不同的特征, 单细胞分析有助于进一步了解细胞的异质性, 对深入理解生命活动的本质具有重要意义。由于单个细胞的体积非常小, 其内在成分复杂且各种组分的含量非常低, 因此对单细胞内的超低含量组分进行绝对定量分析仍然是一个巨大的挑战。微流控芯片技术是单细胞分析的理想技术之一, 利用该技术人们在单细胞分析领域进行了大量研究工作, 通过微流控芯片平台可以实现单各细胞的捕获、释放、迁移以及不同组分的定量分析等。基于此, 本项研究设计了化学发光滚环探针, 并采用滚环信号放大检测了单细胞中 miRNA 的绝对含量; 设计了多个发夹荧光探针, 基于外切酶 III 辅助级联信号放大同时绝对定量单细胞中的两种 miRNAs; 发展了一种微芯片电泳分离和 DNAzyme 辅助荧光信号放大方法, 用于单细胞中甲胎蛋白的绝对定量; 提出了一种多元同步 DNA 步行策略, 用于单细胞中两种肿瘤相关蛋白的绝对定量。其中滚环化学发光信号放大和多元同步 DNA 步行策略的方法原理如下图所示。



左图: 滚环化学发光信号放大检测单细胞中 miRNA 的绝对含量原理示意图。

右图: 多元同步 DNA 步行策略用于单细胞中两种肿瘤相关蛋白的绝对定量原理示意图。

参考文献

1. Shengyu Chen, Jingjin Zhao, Chunhuan Xu, Ivan Yu. Sakharov, and Shulin Zhao* *Anal. Chem.*, 2021, 93, 9218–9225.

*本研究系国家自然科学基金 (No. 21327007; 21765003) 资助。

多肽界面组装用于肿瘤细胞膜蛋白靶向分离分析

黄嫣嫣, 赵睿

中国科学院化学研究所, 中科院活体分析化学重点实验室, 北京, 100190

E-mail: yyhuang@iccas.ac.cn, zhaorui@iccas.ac.cn

关键词: 多肽, 界面组装, 亲和分离, 蛋白质分析, 肿瘤转移

复杂体液环境中循环肿瘤标志物(如: 细胞、外泌体、RNA)的捕获和检测, 在肿瘤诊断、转移预测、预后判断以及个性化治疗中具有重要的意义和应用价值。然而, 这些标志物在血液中具有痕量、异质性和蛋白标志物动态多变的特点, 尤其是转移性能强的循环肿瘤细胞由于缺失表皮标志蛋白附着力下降, 给分离检测带来了困难和挑战。

亲和配基分子在固-液界面有序、可控的组装是制备高效分离材料, 实现高选择性分离的关键。以在肿瘤转移过程中发挥重要作用的四次穿膜蛋白(LAPTM4B)为分子靶标, 利用亲和筛选得到的高特异性靶向多肽作为分子识别元件, 开展了多肽和蛋白质分子在基底材料表面的组装行为研究。将多价协同识别作用与分子界面组装相结合, 建立了多肽功能化微纳仿生界面的构筑新方法, 具有高亲和力、高选择性和抗非特异性吸附的特点。纤维沉积构筑的三维微纳形貌使多肽-蛋白质的特异性结合力显著提升至纳摩尔水平, 实现了不同组织来源、不同表型肿瘤细胞的快速、高效特异性捕获; 并且同时分离富集了表皮标志蛋白阳性和阴性的不同亚群循环肿瘤细胞, 具有低耗、广谱, 适于长时程动态监测的特点。将多肽功能化亲和界面材料用于临床血液样品的分离分析中, 实现了肝癌患者(包括肝癌早期患者)全血中游离肿瘤细胞和具有高转移潜能的肿瘤细胞团簇的高选择性富集和检测。进一步将方法用于肝癌栓塞治疗前后血液中肿瘤细胞的定量检测和跟踪分析, 为癌症预后研究提供有用信息。

参考文献:

1. H.F. Zhong, C.W. Yuan, J.Y. He, Y. Yu, Y.L. Jin, Y.Y. Huang*, R. Zhao. Engineering peptide-functionalized biomimetic nanointerfaces for synergetic capture of circulating tumor cells in an EpCAM independent manner. *Analytical Chemistry*, 2021, 93, 9778–9787.
2. Y.Y. Huang, X. You, L.N. Wang, G.X. Zhang, S.L. Gui, Y.L. Jin, R. Zhao,* D.Q. Zhang*. Pyridinium-substituted tetraphenylethylenes functionalized with alkyl chains as autophagy modulators for cancer therapy. *Angewandte Chemie International Edition* 2020, 59, 10042-10051.
3. Y.Y. Zhu, Y.Y. Huang*, Y.L. Jin, S.L. Gui, Rui Zhao*. Peptide-guided system with programmable subcellular translocation for targeted therapy and bypassing multidrug resistance. *Analytical Chemistry*, 2019, 91, 1880-1886.

感谢国家自然科学基金委的资助

I-83

拓界-创非凡, Vanquish Neo UHPLC-低流速液相色谱分析

新标准

黄敏

赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 上海

E-mail: min.huang@thermofisher.com

关键词: Vanquish Neo, 低流速液相, 蛋白组学分析

赛默飞的低流速液相(包括 Easy nanoLC 和 U3000nano)发展已经有了 10 多年的历史,现在随着蛋白组学和转化医学研究人员对稳健性、灵敏度和高通量的进一步需求,赛默飞推出了全新一代基于 Vanquish 平台的低流速液相。本次讲座主要介绍 Vanquish 平台低流速液相的性能特点及应用。

色谱质谱联用分析核酸修饰

程名玉, 游雪娇, 袁必锋*, 冯钰琦
武汉大学, 武汉, 430072

*通讯作者 E-mail: bfyuan@whu.edu.cn

关键词: 色谱-质谱分析; 核酸修饰; 稳定同位素代谢示踪

近年来, 表观遗传学的重点研究内容之一为RNA化学修饰, 这些修饰可以调控RNA稳定性、细胞增殖、细胞分化以及细胞代谢等多种生理过程。目前, RNA的化学修饰已经发现150多种, 主要存在于细胞的mRNA、tRNA和rRNA上。其中, RNA甲基化是哺乳动物细胞中最普遍的修饰形式之一, 这些修饰在调节细胞增殖、细胞分化和细胞凋亡等过程中有重要的生物学功能。目前, 哺乳动物中3-甲基胞苷(3-methylcytidine, m^3C)、 N^4 -甲基胞苷(N^4 -methylcytidine, m^4C)和5-甲基胞苷(5-methylcytidine, m^5C)这三种互为同分异构体的RNA单甲基胞苷修饰已被报道。除了单甲基胞苷修饰以外, 生物体中还存在核糖和碱基均被甲基化的双甲基胞苷修饰, 包括 $N^4,2'$ - O -二甲基胞苷($N^4,2'$ - O -dimethylcytidine, m^4Cm)和5,2'- O -二甲基胞苷(5,2'- O -dimethylcytidine, m^5Cm)。 m^4Cm 存在于大肠杆菌的16S rRNA中; m^5Cm 存在于嗜热古细菌和哺乳动物的tRNA中。但是, 3,2'- O -二甲基胞苷(3,2'- O -dimethylcytidine, m^3Cm)在生物体中仍未被发现。

本研究建立了液相色谱-电喷雾电离串联质谱(liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry, LC-ESI-MS/MS)方法来测定RNA双甲基胞苷修饰, 包括 m^3Cm 、 m^4Cm 和 m^5Cm 。在优化的分离条件下, 能很好的区分 m^3Cm 、 m^4Cm 和 m^5Cm 。利用所建立的分析方法, 我们发现并鉴定了哺乳动物RNA中存在的新修饰, 即 m^3Cm 。 m^3Cm 是一种全新的RNA修饰类型, 尚未在三域系统(古细菌、细菌和真核生物)中报道。通过进一步的研究发现, m^3Cm 主要存在于哺乳动物的小RNA(< 200 nt)中。此外, 我们确定了哺乳动物细胞的18S rRNA中存在新的修饰类型, 即 m^4Cm 。基于质谱监测的稳定同位素示踪实验结果表明, S -腺苷- L -甲硫氨酸(S -adenosyl- L -methionine, SAM)是RNA双甲基胞苷修饰的甲基供体, 包括 m^3Cm 、 m^4Cm 和 m^5Cm (Figure 1)。 m^3Cm 的发现扩大了生物体中RNA修饰的多样性。此外, 哺乳动物中 m^3Cm 和 m^4Cm 的发现为理解RNA修饰介导的RNA加工和基因表达调控提供了新的角度。

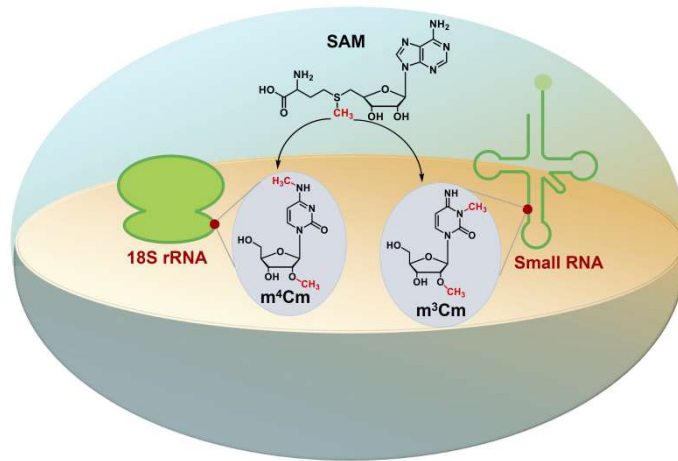


Figure 1. 利用LC-ESI-MS/MS分析，我们发现并鉴定了哺乳动物RNA中存在的新修饰，即m³Cm。m³Cm主要存在于哺乳动物的小RNA (<200 nt) 中。此外，我们确定了哺乳动物细胞的18S rRNA中存在新的修饰类型，即m⁴Cm。

致谢：本研究工作得到国家自然科学基金（22074110, 21635006）资助。

整合结构质谱技术在 SARS-CoV-2 ACE2-RBD 蛋白复合物

结构研究中的应用

黄静^{1,2}, 英语佳², 李惠琳^{1,*}

1 中山大学, 药学院, 广州,

*E-mail: lihlin6@mail.sysu.edu.cn

关键词: 整合结构质谱, ACE2-RBD蛋白复合物, native MS, HDX-MS, 糖蛋白

新型高致病性冠状病毒 SARS-CoV-2 (COVID-19) 的爆发及在全球范围内的传播对人类的生产和生活都造成了不可逆转损失, 如何有效地预防和治疗 COVID-19 是目前科学研究的重点和难点。SARS-CoV-2 作为 COVID-19 病原体, 通过介导病毒表面的突刺蛋白 (Spike protein, S) 识别宿主细胞表面受体血管紧张素转换酶 2 (Angiotensin converting enzyme 2, ACE2), 实现膜融合, 进入细胞感染宿主, 这也是病毒感染宿主最为关键的步骤。S 蛋白分为 S1 亚基和 S2 亚基, 其中 S1 亚基上的受体结合结构域 (Receptor binding domain, RBD) 负责与 ACE2 结合, S2 亚基负责后续病毒与细胞间的膜融合, 是新冠病毒的重要靶标¹⁻²。因此, 阻断 ACE2 与 RBD 蛋白的结合可有效地治疗 COVID-19。ACE2 和 S 蛋白均为糖蛋白, 结构中丰富的糖基化修饰帮助病毒掩藏抗体中和表位, 实现体内免疫逃逸³⁻⁴。结合位点的糖基化修饰还可能影响蛋白质结构, 影响与受体的亲和力⁵。此外, 随着病毒的传播及其不断进化, S 蛋白突变, 可能增强病毒的感染性和传播性, 为药物开发带来了巨大的挑战。

本工作以 RBD 和 ACE2 为主要研究对象, 结合多种质谱技术对蛋白进行全面分析, 进而研究糖基化修饰、突变以及药物对 ACE2 和 RBD 相互作用的影响, 为药物研发奠定结构基础。目前, 我们已经利用常规蛋白组学手段对 ACE2 和 S 蛋白的糖基化修饰的状况进行了研究, 进而利用 native MS 考察了 RBD、RBD 突变体, 以及 RBD 去除 N-糖修饰后前后对 ACE2 形成复合物亲和力的影响, 优化并建立氢氘交换质谱 (HDX MS) 实验流程。后续将深入研究糖基化修饰、突变以及药物对 ACE2 和 S 蛋白的相互作用的影响。

参考文献:

- 1.LETKO M, MARZI A, MUNSTER V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature Microbiology*, 2020, 5(4): 562-569.
- 2.HASAN A, PARAY B A, HUSSAIN A, et al. A review on the cleavage priming of the spike protein on coronavirus by angiotensin-converting enzyme-2 and furin. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2020, 1-13.
- 3.XU C, WANG Y, LIU C, et al. Conformational dynamics of SARS-CoV-2 trimeric spike glycoprotein in complex with receptor ACE2 revealed by cryoEM. *Science Advances*, 2020, 7(1): eabe5575.
- 4.CAI Y, ZHANG J, XIAO T, et al. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. *Science*, 2020, 369(6511): 1586.
- 5.CASALINO L, GAIEB Z, GOLDSMITH J A, et al. Beyond Shielding: The Roles of Glycans in the SARS-CoV-2 Spike Protein. *ACS Cent Sci*, 2020, 6(10):1722-173

基于超分子化学的生物活体亲和色谱识别与分析

胡良海

吉林大学超分子化学生物学研究中心, 长春, 130012

*E-mail: lianghaiu@jlu.edu.cn

关键词: 亲和色谱, 超分子化学, 生物活体, 分子识别

亲和色谱是指根据生物分子间亲和吸附和解离的原理而建立起来的色谱方法, 亲和色谱法被广泛用于生物大分子如蛋白和核酸等的分离分析。免疫亲和色谱, 是一种利用抗体作为固定相的色谱方法, 由于其较高特异性和灵敏度, 越来越多的用于生物物质的分离、纯化与检测。近年来, 基于分子印迹的人工抗体方法得到了长足的发展, 已经在生物分子和活体生物系统(如细胞、病毒等)得到了突破性成就, 为生物治疗与诊断提供了新的机遇。我们最近以生物活体(病毒和外泌体等)为研究对象, 以超分子化学为研究理念, 发展了对其具有高选择性识别的方法与手段, 为复杂生物体系的亲和识别提供了新的策略和视角。

刺激-响应聚合物的制备及其蛋白的识别、分离和酶解应用研究

齐莉*

中国科学院化学研究所活体分析化学学院重点实验室, 中关村北一街2号, 北京100190

*E-mail: qili@iccas.ac.cn

关键词: 刺激-响应聚合物, 蛋白识别, 整体柱, 酶解

如何在复杂生物样品中识别、获取及酶解微量目标蛋白来进行疾病生物标志物和蛋白组学研究是目前生命科学和分析化学研究中的前沿和热点之一。为避免高峰期蛋白的干扰, 开展微量目标蛋白的识别、富集、分离及酶解分析研究具有重要和深远的意义。在诸多分析应用材料中, 刺激-响应聚合物因具有多功能位点及自组装形貌/疏水性可调等优点而成为开展蛋白分析的首选独特材料。蛋白分析迄今所面临的研究难点在于: 刺激-响应聚合物种类有限且基于聚合物酶反应器的蛋白酶解效率难于调控, 因此, 开发新型刺激-响应聚合物并开展蛋白酶解效率调控应用研究极具挑战。

分子印迹技术(MIP)可选择性富集目标蛋白, 而基于磁性纳米颗粒的聚合物表面印记技术优势显著。以MEO₂MA为主结构单体, 制备了基于温敏聚合物的MIP纳米材料, 考察了温敏单体比率及其亲疏水性对目标蛋白选择性捕获的影响, 并将其用于尿样中溶菌酶的高效捕获与释放。研究表明: 以ATRP聚合方法所制备的温敏聚合物MIP纳米材料具有良好的选择性、较高的吸附容量及较快的吸附速率; 在环境温度改变时会发生收缩和溶胀, 可调控MIP材料与蛋白分子之间的相互作用力。所制备的新型温敏聚合物MIP材料在目标蛋白的高效捕获/释放方面显示出了其独特的优越性, 可为捕获与药物损伤DNA结合的目标蛋白提供新的研究思路。还设计合成制备了系列具有刺激-响应特性的嵌段聚合物, 构建了基于聚合物整体柱的蛋白分析HPLC体系, 并进一步开展了基于聚合物多孔膜型酶反应器的蛋白的高效酶解研究, 发现: 所合成制备的新型聚合物整体柱具有更佳的蛋白分离分析能力; 结合聚合物多孔膜型酶反应器建立了nLC-MS/MS体系, 开展了糖蛋白的在线富集/酶解应用研究结果表明^[1-5]: 所合成制备的刺激-响应聚合物在蛋白的识别/富集和快速分离中扮演着重要角色; 所构建的刺激-响应性聚合物多孔膜型酶反应器可用于蛋白的快速高效酶解分析。所发展的蛋白识别、分离和酶解新体系在疾病生物标志物的研究中展示了其良好应用前景。

致谢: NSFC (No. 21874138, 21635008)

参考文献:

1. J. Qiao, Y.Y. Song, C.F. Chen, L. Qi*, In situ determination of sialic acid on cell-surface with pH-regulated polymer enzyme nanoreactor, *Analytical Chemistry*, 2021, 93: 7317-7322.

2. J.S. Yang, J. Qiao, J.Y. Kim, L.P. Zhao, L. Qi*, M.H. Moon*, On-line proteolysis and glycopeptide enrichment with thermo-responsive porous polymer membrane reactors for nanoflow liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, 2018, 90: 3124-3131.
3. N. Li, L. Qi*, J. Qiao, Y. Chen, Ratiometric fluorescent pattern for sensing proteins using aqueous polymer-pyrene/ γ -cyclodextrin inclusion complexes, *Analytical Chemistry*, 2016, 88: 1821-1826.
4. N. Li, L. Qi*, Y. Shen, J. Qiao, Y. Chen, Novel oligo(ethylene glycol)-based molecularly imprinted magnetic nanoparticles for thermally modulated capture and release of lysozyme, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6: 17289-17295.
5. N. Li, L. Qi*, Y. Shen, Y.P. Li, Y. Chen, Thermoresponsive oligo(ethylene glycol)-based polymer brushes on polymer monolith for all-aqueous chromatography, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5: 12441-12448.

脂质组学技术及其在食品组学中的应用研究进展

吴邦富, 谢亚, 徐淑玲, 吕昕, 魏芳*, 陈洪

中国农业科学院油料作物研究所, 农业部油料加工重点实验室, 农业部油料作物生物学与遗传育种重点实验室, 油料脂质化学与营养湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430062

*E-mail: willasa@163.com

关键词: 食品组学; 脂质组学; 质谱; 食品溯源; 食品安全; 食品营养

食品组学作为一门全面的新兴学科,通过先进的多组学技术平台(基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学)和方法学用于食品安全和营养学的前沿研究,以提高消费者的福利、健康和知识。借助这些组学技术和生物信息学的发展,食品分析已经从基本的成分分析转变为精细的分子谱分析,从而将这一领域推向分子水平。这些现代方法提供的大量信息不仅可以用于解释食品特性(例如味道,质构,风味和颜色)的分子基础,而且可以筛选分子指纹以识别食品欺诈行为。此外,当使用这些先进的组学工具时,特定饮食方式或膳食干预措施对人类健康和疾病的有利或不利影响也可以得到充分认识和确证。脂质是三大营养素之一,广泛存在于农产品生物资源或作为原料添加到各种加工食品中。脂质及其反应产物对食品体系的消费、营养品质特性有着重要影响。同时,膳食脂质在生物体内发挥着重要作用,参与包括能量存储、细胞膜形成以及信号传导等在内的多个生理生化过程。据报道,体内脂质代谢异常与多种疾病高度相关,例如阿尔茨海默氏病,癌症,炎症反应,神经退行性疾病和心血管疾病。作为从代谢组学衍生出来的新兴且发展迅速的组学学科,脂质组学旨在对生物基质中脂质分子进行大规模和全面的研究。近年来,脂质组学方法的快速发展已显示出在食品组学领域进行食品脂质分析和膳食脂质营养研究的巨大潜力,这为应对全球食品链中存在的复杂挑战提供了各种策略,并提供关于脂质营养与健康全面见解。本文介绍了在脂质组学研究中广泛采用的分析策略,基于质谱技术的分析平台和化学计量工具。基于质谱技术的脂质组学方法在食品组学中的应用包括食品溯源,食品质量监控以及揭示膳食脂质的健康益处等。

参考文献:

1. S.L. Xu, B.F. Wu, M. Orešič, Y. Xie, P. Yao, Z. Y. Wu, X. Lv, H. Chen, F. Wei*, Double Derivatization Strategy for High-Sensitivity and High-Coverage Localization of Double Bonds in Free Fatty Acids by Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 2020, 92, 6446–6455.
2. B.F. Wu, Y. Xie, S.L. Xu, X. Lv, H. Yin, J. Xiang, H. Chen, F. Wei*, Comprehensive Lipidomics Analysis Reveals the Effects of Different Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid-Rich Diets on Egg Yolk Lipids, *J. Agric. Food Chem.* 2020, 68, 15048–15060.
3. S.L. Xu, X. Lv, B.F. Wu, Y. Xie, Z.Y. Wu, X. Tu, H. Chen, F. Wei*, Pseudotargeted Lipidomics Strategy Enabling Comprehensive Profiling and Precise Lipid Structural Elucidation of Polyunsaturated Lipid-Rich Echinium Oil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69, 9012-9024.
4. F. Wei, S. Lamichhane, M. Orešič, T. Hyötyläinen, Lipidomes in health and disease: Analytical strategies and considerations, *Trends in Analytical Chemistry* 2019, 120, 115664.
5. B.F. Wu, F. Wei*, S.L. Xu, Y. Xie, X. Lv, H. Chen, F.H. Huang, Mass spectrometry-based lipidomics as a powerful platform in foodomics research, *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 107, 358-376

液质联用法研究核酸酶水解底物的位点特异性

师明赫 杨子煜 赵美萍*

北京大学化学与分子工程学院, 北京市海淀区成府路 202 号, 北京, 100871

*E-mail: mpzhao@pku.edu.cn

关键词: Lambda核酸外切酶, 液质联用, 分子对接, 核酸损伤分析, 突变检测

Lambda 核酸外切酶是一种具有纳米孔中心通道的环形三聚体蛋白, 其对双链 DNA 中带有 5'磷酸末端的单链有快速和持续性的水解能力, 被广泛用于将双链 DNA 转化为单链, 也作为一种分子工具酶用于激酶活性和基因突变的检测 1-4。我们在研究中发现, 当 DNA 双链的 5'末端 2 nt 为打开的状态时, 即使该末端骨架上修饰有别的小分子结构也可以被 Lambda 核酸外切酶快速识别和水解, 与该酶经典的分子识别特性有显著差异 5-7。在本工作中, 我们采用液质联用的方法系统研究了该酶识别和水解 DNA 5'末端修饰有各种不同小分子结构时的位点特异性, 结合分子对接和单分子荧光等分析手段, 对反应的分子机理进行了探索。这类非经典的酶解反应提供了一种新颖、高效的将大分子转化为具有特征结构小分子的方法, 在核酸碱基损伤分析、多重基因突变检测等方面具有广泛的应用前景。

参考文献:

1. C. Song, M. Zhao*, Real-Time Monitoring of the Activity and Kinetics of T4 Polynucleotide Kinase by a Singly Labeled DNA-Hairpin Smart Probe Coupled with λ Exonuclease Cleavage, *Analytical Chemistry*, 2009, 81: 1383-1388
2. X. Xiao, C. Zhang, X. Su, C. Song, M. Zhao*, A universal mismatch-directed signal amplification platform for ultra-selective and sensitive DNA detection under mild isothermal conditions, *Chemical Science*, 2012, 3: 2257-2261
3. T. Wu, X. Xiao, F. Gu, M. Zhao* Sensitive discrimination of stable mismatched base pairs by abasic site modified fluorescent probe and lambda exonuclease, *Chemical Communications*, 2015, 51: 17402 – 17405
4. T. Wu, X. Xiao, Z. Zhang, M. Zhao, Enzyme-Mediated Single-Nucleotide Variation Detection at Room Temperature with High Discrimination Factor, *Chemical Science*, 2015, 6: 1206 – 1211
5. T. Wu, Y. Yang, W. Chen, J. Wang, Z. Yang, S. Wang, X. Xiao, M. Li, M. Zhao*, Noncanonical substrate preference of lambda exonuclease for 5'-nonphosphate-ended dsDNA and a mismatch-induced acceleration effect on the enzymatic reaction, *Nucleic Acids Research*, 2018, 46: 3119–3129
6. T. Wu, W. Chen, Z. Yang, H. Tan, J. Wang, X. Xiao, M. Li, M. Zhao,* DNA terminal structure-mediated enzymatic reaction for ultra-sensitive discrimination of single nucleotide variations in circulating cell-free DNA, *Nucleic Acids Research*, 2018, 46: e24
7. Z. Yang, W. Chen, J. Wang, M. Shi, R. Zhang, S. Dai, T. Wu*, M. Zhao*, Programmable One-Pot Enzymatic Reaction for Direct Fluorescence Detection of Ultralow-Abundance Mutations in the DNA Duplex, *Analytical Chemistry*, 2021, 93: 7086-7093

基于液质联用技术评估有机磷酸酯阻燃剂的儿童青少年期

暴露特征及其内分泌干扰效应

李雅萍, 胡丽琴, 余濛, 刘翎, 李想, 梅素容*

华中科技大学同济医学院公共卫生学院环境医学研究所, 教育部环境与健康重点实验室,
武汉, 430030

*E-mail: surongmei@hust.edu.cn

关键词: 有机磷酸酯阻燃剂, 儿童和青少年, 液质联用技术, 暴露特征, 内分泌激素

有机磷酸酯 (Organophosphate esters, OPEs) 作为阻燃剂和增塑剂广泛存在于各种环境介质、水生生物和日常食品中, 并可经多种暴露途径进入人体, 造成普通人群 OPEs 的高暴露风险[1]。研究报告我国儿童青少年尿中 OPEs 代谢物检出率和浓度水平较高, 提示我国儿童青少年广泛暴露于 OPEs[2,3]。毒理学研究表明 OPEs 是一类潜在的内分泌干扰物[4], 儿童和青春期处于发育的关键时期, 内分泌激素水平的改变可能对成年后健康产生不良影响。基于此, 本研究招募了 1388 名 6-18 岁儿童青少年, 评估儿童青少年 OPEs 的暴露特征, 探究 OPEs 的内分泌干扰效应。

本研究首先利用溶剂诱导相变萃取与超高效液相色谱-串联质谱 (Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 联用技术测定儿童青少年尿中 15 种 OPEs, 利用固相萃取与 UPLC-MS/MS 联用技术检测手拭子样本中 7 种 OPEs 本体化合物浓度, 以及全自动化学发光仪测定血清样本中 2 种内分泌激素 (甲状腺激素和性激素) 的浓度水平。研究发现儿童青少年广泛暴露于 OPEs, 尿中 6 种 OPEs 代谢物的检出率 > 50%, 手拭子中 7 种 OPEs 的检出率 > 50%。儿童年龄、性别、室内微环境暴露水平、蔬菜摄入、桶装水饮用和母亲教育程度可能是影响尿 OPEs 代谢物浓度的重要因素。内分泌干扰效应研究发现单一 OPEs 和 OPEs 联合暴露与儿童青少年血清中三碘甲状腺原氨酸 (Triiodothyronine, T3)、游离三碘甲状腺原氨酸 (Free triiodothyronine, FT3) 浓度增加, 与游离甲状腺素 (Free thyroxine, FT4) 浓度减少有关, 且上述关联具有性别差异性; 单一 OPEs 和 OPEs 联合暴露与青春期前女孩血清中总睾酮 (Total testosterone, TT)、游离雄激素指数 (Free androgen index, FAI) 浓度减少, 与性激素结合球蛋白 (Sex hormone binding globulin, SHBG) 浓度增加有关。内分泌激素对包括神经发育, 新陈代谢在内的许多功能都有重要作用, OPEs 对内分泌激素的干扰则有可能影响由内分泌激素调控的一系列生理活动。

本研究结果表明我国儿童青少年广泛暴露于 OPEs, 而且即使在低暴露剂量下仍可能干扰儿童青少年内分泌激素水平。本研究是一项横断面研究, 不能预测因果关系, 但鉴于儿童青少年处于生长发育的高敏感期, OPEs 的暴露风险广泛

存在，其带来的潜在影响不容忽视。

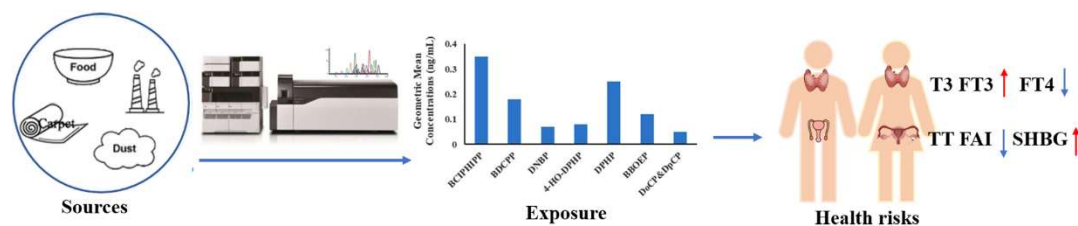


Fig. 1 Associations between organophosphate esters exposure and endocrine hormone in children and adolescents

项目来源：国家自然科学基金（No.42077397）和国家重点研发计划（No.2019YFC1605100）

参考文献：

1. M. Hou, Y. Shi*, Q. Jin, Y. Cai. Organophosphate esters and their metabolites in paired human whole blood, serum, and urine as biomarkers of exposure. *Environment International*, 2020, 139105698.
2. Y. Chen, J. Fang, L. Ren, R. Fan, J. Zhang, G. Liu, L. Zhou, D. Chen, Y. Yu, S. Lu*. Urinary metabolites of organophosphate esters in children in South China: Concentrations, profiles and estimated daily intake. *Environmental Pollution*, 2018, 235358-364.
3. J. Ding, T. Deng, X. Ye, A. Covaci, J. Liu, F. Yang*. Urinary metabolites of organophosphate esters and implications for exposure pathways in adolescents from Eastern China. *Science of the Total Environment*, 2019, 695133894.
4. X. Liu, Y. Cai, Y. Wang, S. Xu, K. Ji, K. Choi*. Effects of tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) and triphenyl phosphate (TPP) on sex-dependent alterations of thyroid hormones in adult zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 17025-32.

复杂分析化学信号解析算法与应用研究

邵学广*, 蔡文生

(南开大学化学学院, 天津, 300071)

*E-mail: xshao@nankai.edu.cn

关键词: 化学计量学方法; 复杂体系分析; 重叠色谱信号; 解析算法

复杂体系分析一直是分析化学的研究难点和热点问题之一, 色谱技术在复杂体系分析中发挥了重要作用并得到了广泛应用。在实际复杂体系的分析中, 采用化学计量学方法实现色谱复杂信号的解析是解决复杂体系分析的手段之一。化学因子分析(CFA)、多元分辨-交替最小二乘(MCR-ALS)、平行因子分析(PARAFAC)、交替三线性分解(ATLD)等算法在复杂色谱信号分析中得到了广泛应用, 特别是对于未知干扰组分存在时的复杂色谱信号解析。

在我们的研究工作中, 发展了基于小波变换(WT)[1,2]和免疫算法(IA)[3,4]。在小波变换方法研究中, 改进了计算方法, 实现了复杂信号中不同频率信号的提取与放大, 应用于色谱的基线分离、高分辨信息的提取等, 在色谱信号中存在基线漂移和各组分的谱峰不能得到较好分离时仍能得到单组分的色谱信号。在免疫算法研究中, 建立了基于迭代算法的解析方法, 发展了自适应免疫算法(AIA)、非负免疫算法(NNIA)以及与化学因子分析方法、独立成分分析(ICA)等方法的结合, 实现了复杂多组分重叠 GC-MS 信号中组分信息的提取, 并在实际复杂体系的分析中得到应用[5,6]。

主要参考文献

- [1] Shao, X.G.; Leung, A. K.-M.; Chau, F.-T. Wavelet: a new trend in chemistry, *Accounts of Chemical Research*, 2003, 36, 276-283
- [2] Shao, X.G.; Wang, G.Q.; Wang, S.F.; Su, Q.D. Extraction of mass spectra and chromatographic profiles from overlapping GC/MS signal with background, *Analytical Chemistry*, 2004, 76, 5143-5148.
- [3] Shao, X.G.; Yu, Z.L.; Sun, L. Immune algorithms in analytical chemistry, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2003, 22, 59-69.
- [4] Shao, X.G.; Liu, Z.C.; Cai, W.S. Resolving multi-component overlapping GC-MS signals by immune algorithms, *Trends in Analytical Chemistry*, 2009, 28, 1312-1321.
- [5] Liu, Z.C.; Cai, W.S.; Shao, X.G. Sequential extraction of mass spectra and chromatographic profiles from overlapping gas chromatography – mass spectroscopy signals, *Journal of Chromatography A*, 2008, 1190, 358-354.
- [6] Liu, Z.C.; Cai, W.S.; Shao, X.G. High-throughput approach for analysis of multicomponent gas chromatographic – mass spectrometric signals, *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216, 1469-1475

古菌脂质组学与生命演化

张传伦

深圳市海洋地球古菌组学重点实验室, 南方科技大学海洋科学与工程系, 深圳 518055

古菌具有和细菌/真核生物非常不同的膜脂化合物。前者是类异戊二烯碳链通过醚键与甘油-1-磷酸骨架相连;后者则是脂肪酸碳链通过脂键与甘油-3-磷酸骨架相连。这一“膜脂分界”对理解细胞生命起源以及共同祖先中磷酸膜脂的存在形式和作用具有重要意义。但是对于“膜脂分界”的形成和演化机制至今尚无定论,是生命起源过程中的重大未解之谜。(宏)基因组测序和离子淌度分析可对各种脂类合成途径的多样性进行详细解析,构建全面的古菌膜脂合成基因进化树和脂类组图谱库。它们的结合有望破解古菌和细菌/真核生物至今存在的膜脂结构和组成差异的原因。作者倡议通过整合古菌基因组学、脂质组学、合成生物学等前沿技术对古菌膜脂的演化、代谢和生物地球化学性质进行系统研究,诠释“膜脂分界”的意义。

原位代谢组学技术应用于生物医学研究

邓卡, 吕悦广, 李芳, 罗茜*

1 中国科学院深圳先进技术研究院, 广东深圳, 518055

*E-mail: qian.luo@siat.ac.cn

关键词: 原位代谢组学, 活体无损采样, 肿瘤研究, 质谱成像, 代谢时空变化

肿瘤发生发展以及治疗过程严重影响人类健康, 一直是临床医学以及生物化学研究的前沿热点。质谱及质谱成像作为分子检测的强有力工具, 在肿瘤代谢异质性研究中有越来越多的应用, 近年来, 基于质谱的离体病理研究表明脂质及小分子代谢物作为重要信号分子, 与肿瘤演化及分型息息相关。活体肿瘤代谢监测可以提供更为实时和有意义的代谢分子信息, 但是受到取样和质谱进样方式的限制, 目前活体质谱分析及质谱成像方法仍未见报道。通过对肿瘤及周边健康组织的原位无损采样, 可以基于质谱分析技术获得肿瘤的代谢特征及其空间分布信息, 并了解代谢特征与肿瘤发展的时空变化规律。本研究采用全自动液滴阵列萃取方法, 对小鼠皮下种植肿瘤进行无损表面采样, 样本液滴经 MALDI-MS 检测, 重构肿瘤图像, 实现了亚毫米尺度的活体无损表面采样与分析, 是首个全自动活体质谱成像方法, 应用于肿瘤边缘确定、肿瘤浸润代谢异质性、以及抗肿瘤药物作用机理研究。基于肿瘤浸润代谢异质性, BT474 乳腺癌肿瘤组织中磷脂酰胆碱 (PC 34: 1) 含量明显升高, 且棕榈酸 (饱和脂肪酸) 合成的脂质与肿瘤发展和恶化有密切相关性, 在成像结果中实现了 0.8 mm 分辨率的肿瘤空间识别。在肿瘤生长过程中, 小鼠经过多次麻醉状态下采样后仍生存良好, 其后经肿瘤药物阿铂替尼尾静脉注射给药 14 天后再次采样, 发现肿瘤增长速率相较预测有变缓趋势, 展示了活体无损表面原位分析在代谢时空变化研究中的巨大潜力。

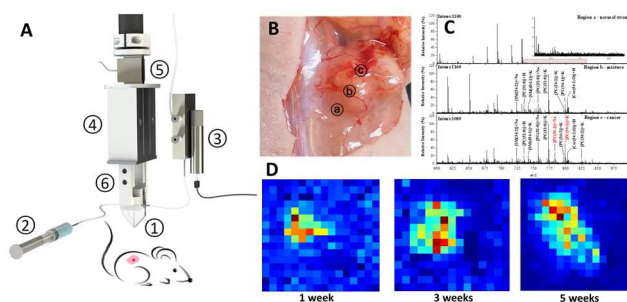


Fig. 1 Living molecular and mass spectrometry imaging analysis of tumor based on in vivo nondestructive sub-millimeter MSI enabled by automated robotic-microfluidic sampling interface (ARMS system). (A) Schematic diagram of ARMS, in which ① is the sampling probe, ② is the syringe pump, ③ is the pneumatic pulse generator, ④ is the robot and its gripper, ⑤ is the force sensor, ⑥ is the interface between the robot and the sampling probe; (B) The enlarged sampling area and the locations. (Region a represents the normal stroma away from the tumor, Region b represents the adjacent tumor soft connective tissue, Region c represents the top of the tumor). (C) The obtained representative positive-ion MALDI mass spectra in different sampling locations; and (D) Living MSI analysis in a BT474 murine model using ARMS for three times in five weeks, in which the mouse was administered with aplatnib in three weeks.

参考文献:

1. T. Cajka, O. Fiehn*, Toward Merging Untargeted and Targeted Methods in Mass Spectrometry-Based Metabolomics and Lipidomics. *Analytical Chemistry*, 2016, 88, 524-545
2. M. F. Keating, J. Zhang, C. L. Feider, S. Retailleau, L. S. Eberlin*, Integrating the MasSpec Pen to the da Vinci Surgical System for In Vivo Tissue Analysis during a Robotic Assisted Porcine Surgery. *Analytical Chemistry*, 2020, 92, 11535-11542

微流控质谱联用细胞药物代谢分析方法研究

林金明

清华大学化学系

E-mail: jmlin@mail.tsinghua.edu.cn

细胞是组成生物结构的基本单位，同时细胞研究是生命科学的基础。质谱分析技术是一种强大的分析方法，它可以用于细胞标志物和细胞内代谢物的鉴定与表征。质谱的单次样品分析就可以提供样品中大量化合物的信息，从而可以实现单一样品的多种物质的同时测定。同时，通过串联多级质谱检测器的二级离子谱图还可以提供所检测的物质的结构信息。我们通过将微流控平台与质谱进行联用，实现了细胞样品样本预处理和在线检测的同时进行，在微流控芯片上进行细胞的动态培养，研究细胞的药物代谢过程。本次报告将重点介绍维生素 D3 的细胞代谢研究的最新结果，拓展新型微流控芯片质谱联用仪器在细胞药物代谢研究中的应用领域。

超快电泳与质谱联用及其在单细胞代谢组学中的研究

黄光明*

化学与材料科学学院，中国科学技术大学，合肥，安徽 2300026

*E-mail: gmhuang@ustc.edu.cn

关键词: 单细胞代谢组; 超快电泳分离; 感应式电喷雾离子源; 非靶向分析

在单细胞代谢组学研究方面, 受限于灵敏度, 传统代谢组学研究中得到广泛应用的色谱质谱联用以及核磁技术难以直接应用。而由于扩增技术带来灵敏度的大幅提高, 基于 RNAseq 的多种技术目前被广泛应用于单细胞代谢组学中。然而, 转录组直接检测的对象为 mRNA, 其水平变化只能间接表征直接参与代谢行为的蛋白酶的变化, 进而间接表征代谢行为的变化。

针对单细胞代谢组学分析面临的几个挑战: 1)细胞内干扰物质众多; 2)样品量极小, 我们进行了一系统深入的研究, 发展了感应电喷雾质谱分析平台, 实现了毫秒量级超快电泳原位分离并将喷雾流速降低至皮升/分钟。进而, 我们突破质谱仪器的离子采样极限, 将分析的时间分辨率提高到亚毫秒量级, 从而实现更精细的超快分离和后续质谱检测, 大幅提高了单细胞代谢物的覆盖率和准确率。在以上研究基础之上, 继续展开其在生命科学中的应用, 最终发现可以从单细胞代谢组学的层面, 利用少量细胞即可对乳腺癌细胞的亚型进行准确鉴定。结合人工智能和机器学习技术, 可在几小时内即可完成耐药性预判, 有望推动新型质谱分析方法在临床医学等领域的广泛应用。

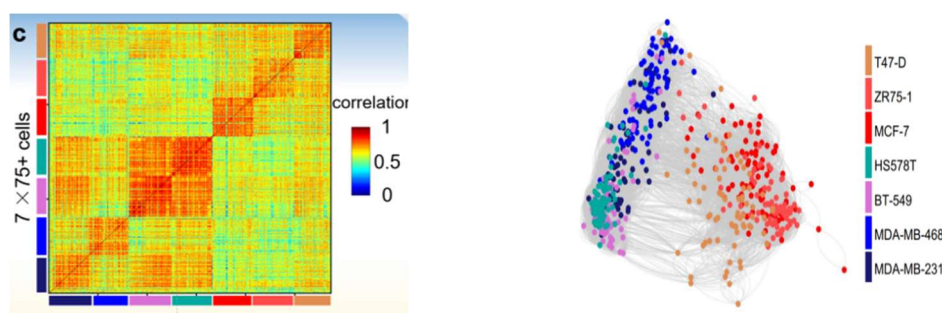


Fig.1 Single-cell mass spectrometry reveals metabolic phenotype of breast cancer

参考文献

1. YT Chen, GY Li, SM Yuan, YZ Liu, GM Huang*, *Anal. Chem.*, 2019, 91: 10441-10447.
2. MH Zhuang, ZH Hou, PY Chen, GL Liang, GM Huang*, *Chem. Sci.*, 2020, 11(1): 7308-7312.
3. YT Chen, GY Li, SM Yuan, YZ Liu, GM Huang*, *Anal. Chim. Acta*, 2021, 1141: 120-126.

基于离子淌度质谱的多维高覆盖脂质组学技术

朱正江*

中国科学院上海有机化学研究所生物与化学交叉研究中心, 上海, 201210

*E-mail: jiangzhu@sioc.ac.cn

关键词: 离子淌度质谱, 碰撞截面积, 脂质组学

脂质分子因其在生命体中作为细胞膜的重要成分、参与能量存贮与代谢、执行信号传导等重要生理功能, 近年在疾病及各种生物学问题研究中备受关注。脂质种类繁多, 分子结构多样, 因不同的头基、脂肪酰链及双键个数与位置异构等产生了大量的同分异构体。同一种类不同的脂质异构体可能存在不同的生理作用, 然而脂质组学分析如何确保结构的精准鉴定依然面临巨大的挑战。离子淌度质谱可以提供代表化合物尺寸、大小的碰撞截面积数据, 获取结构鉴定的多维信息, 在异构体鉴定上拥有独特的优势, 可有效提升复杂生物样品脂质组的定性和定量分析能力。在此项工作中, 我们首先基于离子淌度质谱技术发展了机器学习算法开发了脂质组“四维一体”数据库, 并结合四维数据库匹配和“碎片三步规则”细化注释的脂质整合鉴定方案, 旨在兼顾大数据检索的广度又可去伪存真, 降低冗余, 获取非靶向脂质组学宽覆盖度下的高精度鉴定。所发展的多维高覆盖脂质组学技术能够在复杂生物样本中鉴定>1000种脂质分子。

甾醇是一类参与构建生物膜、行使信号传导和维持能量稳态的特殊脂质代谢物, 其代谢异常与多种疾病如癌症和神经退行性疾病等密切相关。甾醇组的全面分析需要应对多个挑战, 如标准品缺乏, 质谱分析离子化效率低、丰度低和同分异构体多等。我们发展了基于离子淌度质谱的甾醇组学分析技术, 该技术具有3个主要优势: 第1, 此方法结合了衍生化和离子淌度分离提升了甾醇同分异构体结构分离度, 结合了液相色谱和离子淌度质谱实现了更好的二维分离; 第2, 构建了基于机器学习的预测模型并总结了甾醇分子质谱碎裂规律, 建立了包含2066种甾醇的四维信息数据库; 第3, 此方法基于甾醇四维数据库和优化的四维匹配算法, 可以对样品内的甾醇进行高准确、多层次的鉴定和定量分析。

参考文献:

T. Li, Y. Yin, Z. Zhou, J. Qiu, W. Liu, X. Zhang, K. He, Y. Cai, and Z.-J. Zhu*, Ion Mobility-based Sterolomics Reveals Spatially and Temporally Distinctive Sterol Lipids in the Mouse Brain, *Nature Communications*, 2021, 12: 4343.

X. Chen, Y. Yin, Z. Zhou, T. Li, and Z.-J. Zhu*, Development of A Combined Strategy for Accurate Lipid Structural Identification and Quantification in Ion-Mobility Mass Spectrometry based Untargeted Lipidomics, *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1136, 115-124.

Z. Zhou, M. Luo, X. Chen, Y. Yin, X. Xiong, R. Wang, and Z.-J. Zhu*, Ion Mobility Collision Cross-Section Atlas for Known and Unknown Metabolite Annotation in Untargeted Metabolomics, *Nature Communications*, 2020, 11: 4334.

泛组学在中药现代化复杂巨系统分析中的研究与思考

贾璞¹, 夏召弟¹, 孙宝¹, 师白梅¹, 历智明¹, 赵晔¹, 王世祥¹, 郑晓晖^{1,*}

¹ 西北大学, 西安, 710069

*E-mail: zhengxh318@nwu.edu.cn

关键词: 药物-机体复杂巨系统, 泛组学, 新药创制, 中药现代化

药物-机体相互作用形成的复杂巨系统之复杂性严重阻碍了中医药现代化及新药研发的进程。代谢组学、蛋白质组学、基因组学等组学技术在上述复杂巨系统研究及相关新药创制中做出了巨大的贡献, 然而从整体观角度各组学联合应用于药物-机体复杂巨系统方面仍然有待提高。针对此问题, 本研究团队在前期“良关系”研究策略基础上, 提出了“泛组学”研究计划, 即从因果角度出发, 集合药物代谢组学、蛋白质组学等优势, 整体、全面地认识、挖掘药物-机体复杂巨系统。遵循上述思路, 开展了中药丹参系列药对体内效应物质研究, 进行了上述药对效应物质丹参素异丙酯相关临床前研究工作; 进而提出组合中药分子化学之“合策略”, 创制了抗脑缺血、抗高血压、抗癫痫等四类新药候选化合物, 为分子中药、化学中药等中医药现代化及开展以中药为源泉的安全、优效、可控的新药创制提供一种全新研究思路。

参考文献:

1. 钱学森, 于景元, 戴汝为. 一个科学新领域——开放的复杂巨系统及其方法论, 科学决策与系统工程——中国系统工程学会第六次年会论文集, 1990.
2. Prigogine I. Structure, dissipation and life. Proc. of the Physique Theorique et Biologie. 1967, 1-33.
3. Zhao P, Li JS, Yang LP, et al. Integration of transcriptomics, proteomics, metabolomics and systems pharmacology data to reveal the therapeutic mechanism underlying Chinese herbal Bufe Yishen formula for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. Molecular medicine reports, 2018, 17 : 5247-5257.
4. Xu TF, Pi ZF, Liu S, et al.. Chemical Profiling Combined with “Omics” Technologies (CP-Omics): a Strategy to Understand the Compatibility Mechanisms and Simplify Herb Formulas in Traditional Chinese Medicines. Phytochem. Anal. 2017, 28 : 381-391.
5. 郑晓晖, 贾璞, 白亚军. 基于传统君臣佐使组方配伍理论的组合中药分子化学研究策略. 西北大学学报(自然科学版), 2015, 45(3): 406-412.

Metabolomic analysis reveals metabolic reprogramming in cancer

Shu-Hai Lin^{1,*}

1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China

E-mail: shuhai@xmu.edu.cn

KEY WORDS: Metabolomics; Metabolic Flux Analysis; Metabolic Reprogramming; Metabolic Heterogeneity; Cancer

Altered metabolism is a hallmark in cancer. To understand the metabolic reprogramming and identify the metabolic vulnerability in cancer, we performed metabolomics and metabolic flux analysis by using mass spectrometry. In recent years, we identified that key metabolic pathways, such as non-oxidative pentose phosphate pathway, serine biosynthesis and glutathione metabolism, would be crucial for tumorigenesis. By using the specific inhibitors, we found that the inhibitors could retard tumor growth *in vivo* by targeting the metabolic enzymes. For example, serine biosynthesis in EGFR-driven cancer while lactate metabolism in FGFR-amplified cancer could serve as the drug targets for personalized medicine. Therefore, metabolomics and metabolic flux analysis are the powerful tools to investigate metabolic mechanisms and provide therapeutic potentials in cancer treatment.

REFERENCES

- 1.W. Guo, K. Li, B. Sun, D. Xu, L. Tong, H. Yin, Y. Liao, H. Song, T. Wang, B. Jing, M. Hu, S. Liu, Y. Kuang, J. Ling, Q. Li, Y. Wu, Q. Wang, F. Yao, B.P. Zhou, S.H. Lin, J. Deng. *Cancer Res.* 2021, 81, 552-566.
- 2.N. Jin, A. Bi, X. Lan, J. Xu, X. Wang, Y. Liu, T. Wang, S. Tang, H. Zeng, Z. Chen, M. Tan, J. Ai, H. Xie, T. Zhang, D. Liu, R. Huang, Y. Song, E.L. Leung, X. Yao, J. Ding, M. Geng, S.H. Lin, M. Huang. *Nat Commun.* 2019, 10, 2701.
- 3.M. Li, Y. Lu, Y. Li, L. Tong, X.C. Gu, J. Meng, Y. Zhu, L. Wu, M. Feng, N. Tian, P. Zhang, T. Xu, S.H. Lin, X. Tong. *Cancer Res.* 2019, 79, 3689-3701.

针对非靶向代谢组学数据中批次效应的预处理算法

Qin Liu¹, Douglas Walker², Karan Uppal³, Zihe Liu¹, Chunyu Ma³, ViLinh Tran³,
Shuzhao Li⁴, Dean P. Jones³, Tianwei Yu^{5,*}

1 School of Software Engineering, Tongji University, Shanghai, China 201804

2 Department of Environmental Medicine and Public Health, Icahn School of Medicine at Mount
Sinai, New York, NY, USA 10029

3 Department of Medicine, School of Medicine, Emory University, Atlanta, GA, USA 30322

4 The Jackson Laboratory, Farmington, CT, USA 06032

5 School of Data Science, The Chinese University of Hong Kong – Shenzhen, Shenzhen,
Guangdong Province, China 518172

*E-mail: yutianwei@cuhk.edu.cn

关键词：批次效应，非靶向代谢组学

随着非靶向代谢组学研究的发展，越来越多的研究在大量的样本上进行。由于液相色谱-质谱联用（LC/MS）平台的技术限制，样品通常需要分多批处理。在不同批次中，我们经常观察到数据特征的差异。在这项工作中，我们特别关注在同一 LC/MS 机器上多批次生成的数据。传统的预处理方法将所有样本视为一组。这种做法可能导致峰对齐错误，无法通过后处理中的批次效应校正方法进行完全校正。在这项工作中，我们开发了一种新的方法来在预处理阶段解决批次效应问题，从而实现更好的峰值检测、校准和量化。它可以与下游批次效应校正方法相结合，进一步校正批次间的强度差异。该方法已在 apLCMS 平台的现有工作流程中实现。通过对标准化质量控制（QC）血浆样品和真实生物学研究的数据进行分析，新方法生成的特征表具有更好的一致性，以及更好的下游分析结果。对于涉及多个批次的大型研究，该方法可作为现有工具的有用补充。

参考文献：

1. Liu Q, Walker D, Uppal K, Liu Z, Ma C, Tran V, Li S, Jones DP, Yu T (2020) Addressing the batch effect issue for LC/MS metabolomics data in data preprocessing. *Scientific Reports* 10(1):1-13.