

中国化学会

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

会议论文集

主办单位：中国化学会色谱专业委员会

北京理化分析测试技术学会色谱专业委员会

承办单位：北京理化分析测试技术学会

云南师范大学

中国·云南·普洱

2023年5月5日-8日

目录

第一部分 大会报告

PL-01 基于高峰容量色谱的空间蛋白质组分析	1
PL-02 色谱和质谱技术在新污染物筛查中的应用	2
PL-03 循环肿瘤（单）细胞的二维分析研究	3
PL-04 岛津 DPiMS 原位质谱在疾病诊断及成像检测领域的研究应用	4
PL-05 本草物质科学研究	5
PL-06 LC-MS 代谢组学新方法及其在生物医药应用进展	6
PL-07 “茶”颜观“色”	7
PL-08 高重现毛细管电泳成像	8
PL-09 创新药物研发颠覆性路径探索证伪与证业的分析科学智慧与技术	9
PL-10 单细胞中蛋白质组分析与单分子计数新技术研究	10
PL-11 蛋白杂质鉴定，从二维到四维液相：更快更准	11
PL-12 赛默飞色谱质谱方案最新应用——助力突破生物药表征分析瓶颈	12
PL-13 沃特世最新质谱及在生物制药大分子开发中的前沿应用	13
PL-14 手性分离分析	14
PL-15 常压离子化质谱新技术及其生物分析应用	15

第二部分 分会邀请报告

KN-01 聚合物模板法制备单分散全多孔硅胶微球及其在色谱中的应用	16
KN-02 构筑式修饰硅胶基质复合固定相的制备及其性能研究	17
KN-03 基于刺激-响应聚合物涂层的开管毛细管电色谱分析应用研究	18
KN-04 手性多孔有机分子笼材料用于色谱手性分离研究	19
KN-05 等电聚焦电泳技术及其生物医药应用	20
KN-06 灵巧的数学分离赋能复杂生化体系的色谱分析	21
KN-07 柱芳烃手性色谱固定相研究	22
KN-08 手性共价有机框架用作色谱固定相的研究	23
KN-09 化学标记高灵敏质谱分析在蛋白修饰调控免疫激活研究中的应用	24
KN-10 细胞器及亚细胞器分辨的蛋白质组分析	25

KN-11 发现基于金属天然同位素指纹的疾病标志物	26
KN-12 基于活性多肽的选择性识别测量	27
KN-13 纳径液相色谱用于生物分析的研究	28
KN-14 蛋白质凝聚体相分离分析新方法研究	29
KN-15 激酶抑制剂筛选新方法	30
KN-16 利用单细胞质谱解析胰腺癌免疫微环境	32
KN-17 单细胞代谢组学分析新方法研究	33
KN-18 基于 γ -H2AX 和 p-H3 标志物质谱定量评估基因毒物质和预测致癌性	34
KN-19 茶叶中重金属的激光质谱快速分析法	35
KN-20 细菌感染中的蛋白质翻译后修饰研究	36
KN-21 基于位阻效应的化学富集法分析精氨酸二甲基化蛋白质组	37
KN-22 光亲和标记化学蛋白质组学和非靶向代谢组学的集成分析发现 AHCY 作为阿霉素的脱靶	38
KN-23 毛细管电泳高效筛选多尺度靶标的核酸适配体新方法	39
KN-24 新型 TSKgel 色谱柱在生物药物分析与表征中的应用	40
KN-25 复杂样品快速检测前处理技术研究进展	42
KN-26 样品前处理新材料与分离分析技术	43
KN-27 共价有机骨架-聚丙烯腈电纺纳米纤维复合物应用于药物和个人护理品的分析	44
KN-28 稀土金属亲和磁性微球的制备与蛋白质的选择性分离	45
KN-29 基于磁性纳米复合物的元素形态分离分析	46
KN-30 高通量临床蛋白质组学样本前处理和分析技术开发	47
KN-31 用于 PTMs 分析的功能纳米材料的制备及应用	48
KN-32 基质辅助激光解吸离子化质谱在酶的活性检测中的应用	49
KN-33 质谱技术与中医药的融合发展	50
KN-34 单细胞代谢组学揭示 NK 细胞失去抗肿瘤功能机制	51
KN-35 基于 CPMP 标记技术结合负离子模式 Q-TOF-MS/MS 对二糖异构体超灵敏分析	52
KN-36 质谱技术驱动生物学糖基化研究进展	54
KN-37 纳米材料及其代谢影响的质谱成像研究	55
KN-38 烃分子的优势软电离及新型烃类生标化合物的发现	56
KN-39 有机质谱流式分析技术及其单细胞药物分析应用	58
KN-40 核酸癌症标志物测量	59

KN-41 电泳辅助多元信号同时放大策略及应用于单细胞分析	60
KN-42 尿液是下一代生物标志物的来源	61
KN-43 色谱质谱联用分析核酸新型修饰	62
KN-44 亚染色质结构下的 DNA 表观遗传修饰分析与表征	63
KN-45 ICP-MS 用于超灵敏外泌体检测及细胞外泌体摄取异质化研究	64
KN-46 膜蛋白亲和配体筛选及肿瘤细胞分离分析研究	65
KN-47 外泌体表面组学研究胰腺癌诊断标志物及药物治疗敏感性	66
KN-48 基于长余辉发光的生物医药分析	67
KN-49 生物分子固定化亲和毛细管电泳方法研究	68
KN-50 基于表位模拟肽识别的生物药物分离新方法研究	69
KN-51 原位电离质谱技术在中药分析中的应用	70
KN-52 中药活性成分分析新技术新策略	72
KN-53 超分子锁控动态高通量分离体系设计及应用	73
KN-54 可逆反应介导的可控印迹聚合物制备与生物样品分离分析	74
KN-55 岛津质谱平台——助力疾病早筛早诊	75
KN-56 环境新污染物的鉴定分析与毒理学研究	76
KN-57 谷物中有机磷阻燃剂液相色谱-高分辨质谱非靶向筛查方法研究	77
KN-58 生物酶固定化及其对环境污染物的降解机制的质谱分析研究	78
KN-59 新型抗菌抗病毒材料的研发与应用	79
KN-60 分子印迹及其环境分析应用研究	80
KN-61 全二维气相色谱-飞行时间质谱分析鉴定和浮选提取薄荷及大葱根挥发性物质	81
KN-62 基于质谱碎裂特征快速筛查食品中的危害化合物	82
KN-63 基于功能化石墨烯气凝胶的复杂样品前处理方法研究	83

第三部分 分会口头报告

O-01 微型化芯片电泳仪的研制及其现场检测应用	84
O-02 水凝胶修饰硅胶混合模式色谱固定相研究	85
O-03 动力学导向的金属有机骨架气相色谱固定相的理性设计	86
O-04 低共熔溶剂在分离分析中的应用研究	87
O-05 薄层色谱法的全新数字化时代	88

O-06 纤维素微球色谱介质制备、孔结构调控及聚合物改性	89
O-07 光诱导极性可变固定相制备及其色谱分离行为研究	90
O-08 外泌体的化学亲和识别与蛋白质组学分析	91
O-09 基于色谱保留行为的肽与 G-四链体特定结构的相互作用研究	92
O-10 动态组合多肽库的分离分析与功能型折叠体的构建	93
O-11 场流分离技术在食源性多糖构效关系研究中的应用	94
O-12 不依赖标准品的手性分子振动圆二色谱与毛细管电泳研究	95
O-13 多模式磷脂分离色谱固定相研制及分离应用研究	96
O-14 基于 CRISPR/Cas12 的核酸扩增子可视化检测	97
O-15 数据非依赖采集 (DIA) 定量蛋白质组学新方法	98
O-16 微纳生物颗粒的电泳分离与蛋白质组学分析	99
O-17 高通量蛋白质组学及其在药物靶标蛋白鉴定中的应用研究	100
O-18 化学同位素标记 LC-MS 方法分析代谢组和暴露组进展	101
O-19 基于新型材料的糖肽和磷酸化肽富集方法	102
O-20 衰老小鼠的脑代谢组图谱	103
O-21 微萃取限域体系下的核酸分离方法	104
O-22 多元策略导向的羧基功能化磁性 COFs 的制备及其在氟喹诺酮分离富集中的应用	105
O-23 基于三维有序大孔 MOF 材料的凝血酶分离纯化策略	106
O-24 磁温双重响应型分子印迹聚合物用于食药两用植物内源性危害物的分离富集	107
O-25 基于 MOFs 固定化酶反应器的低分子量蛋白选择性分离分析研究	108
O-26 靶向-可控型酶反应器及其原位高效酶解研究	109
O-27 分子印迹材料用于新污染物筛查和识别的研究	110
O-28 COF 功能化整体柱及其样品前处理应用	111
O-29 低共熔溶剂荧光探针的制备及其在生物医药分析中的应用	112
O-30 微液滴气液界面奇特的氧化还原特性研究	113
O-31 高能紫外激光-生物大分子质谱创新仪器和方法	114
O-32 提升质谱检测灵敏度的研究	115
O-33 人体体液与呼气的无创活体微萃取吸附质谱分析	116
O-34 使用氧化石墨烯和墨汁碳预涂基质的 MALDI-MS 成像分析方法	117
O-35 新型开管微柱与 CE-MS 在线联用技术及应用	118

O-36 气溶胶颗粒物中不同组分顺次电离质谱分析	119
O-37 人体代谢物的质谱快检技术及其在疾病筛查领域的应用	121
O-38 级联固定化酶反应器结合色谱-质谱技术用于高灵敏 DNA 损伤分析	122
O-39 多功能栓塞介入微球的研发与应用	123
O-40 多重生物标志物 microRNA 的色谱分离分析方法	124
O-41 金属有机骨架 (MOFs) 材料及其微器件在靶标生物标志物检测中的应用	125
O-42 新一代生物液相色谱技术及其应用	126
O-43 金属有机骨架材料在高效毛细管电色谱分离及酶分析中的应用	127
O-44 基于亲和超滤色谱质谱技术的天然活性物质“敷网捕捞”筛选策略的构建与应用	128
O-45 有机多孔材料在中药材中有机污染物的富集与分析研究	129
O-46 毛细管电色谱手性固定相与手性电化学传感器研究	130
O-47 药用辅料吐温成分及其氧化杂质分析新方法及应用	131
O-48 基于离子型手性共价有机框架材料的电位传感器研究	132
O-49 基于识别宽度的模板分子选择策略提升分子印迹族选择性	133
O-50 降糖降脂活性成分多靶标亲和超滤筛选与作用机制研究	134
O-51 整合水相兼容正相色谱的温敏保留行为和柱稀释调制增强正相×反相全二维色谱的兼容性	135
O-52 智能材料在糖肽富集与分离中的应用	136
O-53 色质联用赋能云茯苓资源开发利用	137
O-54 单体交换法制备共价有机骨架及其环境分离分析应用	138
O-55 新型磁性固相萃取剂的制备及在食品和环境中的应用	139
O-56 功能化磁性富集材料的构建及其在痕量污染物分析中的应用研究	140
O-57 智能与混合模式色谱固定相研究	141
O-58 气相色谱-离子迁移谱联用技术及在食品环境领域的若干应用	142
O-59 黄河上游石化工业区典型污染物的分离、分析方法研究	143
O-60 分子印迹聚合物用于复杂样品中小分子化合物富集和检测研究	144
O-61 介孔氢键有机框架材料用作气相色谱固定相研究	145

第四部分 青年论坛

Y-01 肿瘤相关膜蛋白双靶向协同多肽的设计、亲和筛选与细胞相互作用分析	146
--	-----

Y-02 ADAL toolkit 用于鉴定真核生物中 DNA N6-甲基腺嘌呤来源.....	147
Y-03 手性球形共价有机骨架用于高效液相色谱分离	148
Y-04 基于靶式电泳分离富集微纳颗粒新策略	149
Y-05 尺寸调控提高 MOFs 固定相的色谱分离能力	150
Y-06 Biothiols profiling at the single-cell level.....	151
Y-07 组织表面化学氧化辅助衍生化质谱成像新方法研究.....	152
Y-08 High-throughput screening of SARS-CoV-2 fusion inhibitors using at-line nanofractionation platform	153
Y-09 纸喷雾质谱快速分析裸花紫珠	154
Y-10 准石墨化碳修饰硅胶基质复合固定相的制备及其 CEC 性能研究.....	155

第五部分 会议墙报

P-01 Fe ₃ O ₄ 对生物碱类化合物的吸附特性研究	156
P-02 基于主客体化学调控 MOF 纳米片堆积的气相色谱分离方法研究	157
P-03 多模板印迹的介孔材料联用高效液相色谱同时选择性萃取和检测中药中 5 种苯丙烯酸类化合物.....	158
P-04 双相法制备核壳型 SiO ₂ @SiO ₂ 微球及其在快速分离分析中的应用	159
P-05 多孔有机笼毛细管电色谱手性固定相的研究.....	160
P-06 L-酒石酸-均苯三甲酰氯复合膜及其衍生物复合膜手性拆分研究.....	161
P-07 NH ₂ -Co-MOF-L-羟基脯氨酸的制备及其用作高效液相色谱固定相的研究.....	162
P-08 NH ₂ -MIL-53(Al)-D-(+)-葡萄糖 MOFs 的制备及其用作高效液相色谱固定相的研究	163
P-09 HP-β-环糊精复合膜用于拆分 D,L-苯甘氨酸和 D,L-对羟基苯甘氨酸.....	164
P-10 直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)-聚醚砜手性膜色谱研究.....	165
P-11 [4+6]型手性多孔有机笼用作气相色谱手性固定相研究.....	166
P-12 手性金属-有机笼用作高分辨气相色谱分离	167
P-13 手性多孔液体 D-his-ZIF-8-[Bpy][NTf ₂]用于毛细管气相色谱分离	168
P-14 点击制备基于手性多孔有机笼 CC19-R 的高效液相色谱手性固定相用于手性分离研究.....	169
P-15 手性多亚胺大环用于高效液相色谱手性分离研究.....	170
P-16 基于校准-投影技术的系统非依赖液相色谱保留时间预测	171
P-17 手性苯丙四咪唑的毛细管电泳分离及其绝对构型指认.....	172

P-18 HPLC 法测定黄连药材指纹图谱	173
P-19 新型大孔径苯基反相色谱填料的精准合成及其在大分子蛋白分离中的应用	175
P-20 万古霉素修饰硅胶基固定相的制备及其 HPLC 分离性能研究	178
P-21 二氧化硅纳米磁珠的制备及其在核酸提取中的应用研究	179
P-22 Exploring fatty acids biomarkers of obesity for children based on GC-MS with on-line derivatization and multivariate statistical analysis	180
P-23 化学发光光纤传感器在痕量生物标记物检测中的应用	182
P-24 质谱成像技术在生物医药领域的应用	183
P-25 高效凝胶电泳耦合 UHPLC-MS/MS 分析 DNA 表观遗传修饰	184
P-26 基于脱氨酶的 R-loop 分析	185
P-27 五氯酚代谢物影响斑马鱼胚胎的羟甲基化水平	186
P-28 高效等电聚焦微阵列芯片用于成人 β -地中海贫血筛查	187
P-29 安捷伦 Protein A-SEC/CEX 2D-LC 多维表征单抗关键质量属性	188
P-30 采用 Agilent 1290 Infinity II ELSD 分析基因治疗 AAV 病毒原液中的转染试剂 PEI 残留	190
P-31 使用 LC-MSD 对 ADC 药物中游离的小分子毒素进行定量分析	191
P-32 衍生化辅助的双电压扫描质谱技术—胆汁酸深度分析研究	192
P-33 器官特异性代谢物注释方法助力药物代谢组学研究	193
P-34 组织原位化学衍生化结合敞开式质谱成像可视化食管癌移植瘤氧化脂质时空异质性代谢特征	194
P-35 基于 MICROFASP 方法的高通量高灵敏度蛋白质组学样品处理集成平台	195
P-36 糖类代谢物含量及同位素分布同时测定的液质联用方法开发及其在同位素示踪细胞中的应用	196
P-37 基于微流控芯片的单细胞蛋白质组平台构建	197
P-38 高选择性识别多肽的设计筛选	198
P-39 A comprehensive evaluation of a polymeric zwitterionic hydrophilic monolith for nucleotide separation	199
P-40 基于 RNA 核苷切割型 DNAzyme 毛细管电泳-激光诱导荧光偏振检测 Pb^{2+}	200
P-41 等电聚焦胶条水化上样的浓差极化模型	201
P-42 基于多面体低聚倍半硅氧烷的两性离子杂化聚合物的快速制备及其在分离与富集的应用	202
P-43 低共熔溶剂负载的核壳型 $Fe_3O_4@MIL-101(Cr)$ 磁固相萃取环境水样中的非甾体抗炎药	203

P-44 后修饰荧光共价有机骨架材料的制备及在样品前处理中的应用研究.....	204
P-45 光/pH-双响应磁性纳米材料的制备及其在棕榈酰化蛋白组学和糖基化蛋白组学分析中的应用.....	205
P-46 磁性多孔纤维素分子印迹材料的研制及其在双酚类化合物萃取中的应用研究.....	206
P-47 介质阻挡放电等离子体合成与调控多孔纳米材料.....	207
P-48 基于极性整体吸附剂从掌叶大黄中分离纯化糖苷类成分.....	208
P-49 双氨基酸功能化 Zr-Fc 金属有机骨架纳米片的制备及其对糖肽的高效选择性富集研究.....	209
P-50 基于两种整体材料的反相/亲水二维液相色谱对药用植物中羟基芫花素的富集与纯化.....	210
P-51 基于高灵敏复合酶解的蛋白-DNA 互作研究.....	211
P-52 基于改性 MOF 衍生的多孔碳多环芳烃高效吸附.....	212
P-53 Ionization of Glycans from Alkali Metal Salt-impregnated Paper.....	213
P-54 水自由基阳离子固氮形成羟胺和硝酰基.....	214
P-55 基于水自由基阳离子高效检测烷烃物质的直接质谱分析.....	215
P-56 基于水自由基阳离子高效检测不饱和脂肪酸的直接质谱分析.....	216
P-57 Development of In-depth mass cytometry and its application.....	217
P-58 敞开式质谱法快速分析山银花及其皂苷类成分.....	218
P-59 基于 2-胍基吡啶衍生和 DCBI-MS/MS 法检测植物油中的醛类化合物.....	219
P-60 单个免疫细胞代谢质谱在肿瘤内 NK 细胞失能研究中的应用.....	220
P-61 质谱成像用于生物体内氧化还原及代谢异质性的研究.....	221
P-62 Ti ⁴⁺ 修饰纸喷雾质谱在生物样品分析中的应用.....	222
P-63 New methods and applications of mass spectrometry diagnosis based on extracellular vesicles.....	223
P-64 Single cell analysis of <i>cis</i> -diol containing metabolites using non-contact ionization and in-tube derivatization.....	224
P-65 基于原位电离质谱的高效样品表面分析.....	225
P-66 基于 MALDI-MS 的大蒜中风味品质成分的空间分布特征研究.....	226
P-67 使用BioAccord™ LC-MS 对自动化高通量多并行 Ambr®15 微生物反应器系统进行过程中培养基监测.....	227
P-68 使用Xevo™ G3 QToF 系统通过完整和亚基 RPMS 和 IEX-UV-MS 进行全面的生物类似药可比性评估.....	228

P-69 在 Xevo™ G3 QToF 平台上应用肽图分析和多属性方法(MAM)工作流程执行 mAb 药品的生物类似药比较.....	230
P-70 基于 MALDI 质谱成像技术解析三七炮制过程皂苷类成分的动态空间分布.....	232
P-71 低共熔溶剂用于氢取代石墨炔的可控构筑及其在药物分析中的应用研究.....	234
P-72 Mechanochemical assisted extraction as a green approach in preparation of bioactive components extraction from natural products.....	235
P-73 Rapid screening of neuraminidase inhibitors using an at-line nanofractionation platform involving parallel oseltamivir-sensitive/resistant neuraminidase bioassays.....	236
P-74 基于青皮贮藏过程中理化特性和代谢物变化的质量评价与优化.....	237
P-75 反相高效液相色谱-蒸发光散射检测 (RPLC-ELSD) 分析新型疫苗佐剂 MF59.....	238
P-76 基于局部全二维液相色谱的人参和红参的化学差异表征分析及主要人参皂苷的测定.....	239
P-77 裸花紫珠配方颗粒成分迁移行为及质量控制研究.....	240
P-78 HPLC-FLD 法定量检测母乳初乳中 8 种母乳低聚糖.....	241
P-79 衍生化试剂 PPZ 的合成及其在氨基酸分析中的应用.....	242
P-80 Specificity detection of cis-diol compounds in Chinese medicinal materials based on boron-affinity metal-organic framework.....	242
P-81 High-throughput screening of Monoamine Oxidase B inhibitors in natural products based on at-line nanofractionation post-column activity assay.....	245
P-82 基于绿色生物质印迹材料的疾病标志物萃取检测新方法.....	246
P-83 基于蜂窝树脂离心柱固相萃取的人尿中阿莱替尼及其代谢物检测新方法研究.....	247
P-84 RdRp inhibitors screening from natural products based on magnetic beads-based ligand fishing.....	248
P-85 离子排斥色谱间接测定油脂中硬脂酰乳酸钠乳化剂含量及其分离方法的初步研究.....	249
P-86 基于光子晶体结构的传感薄膜研究.....	250
P-87 Chromatographic Determination of the Mycotoxin Patulin in 219 Chinese Tea Samples and Implications for Human Health.....	251
P-88 基于高分辨质谱的水产养殖中氯丙嗪的靶向及非靶向代谢研究.....	252
P-89 基于“陈久者良”理论联合多色谱技术对药食同源物质陈皮的品质评价研究.....	253
P-90 UHPLC-MS/MS 分析揭示代谢检查点抑制 DNA 6mdA 错误掺入.....	254
P-91 基于新型分子印迹酚醛树脂吸附剂的牛奶中全氟化合物的萃取检测方法研究.....	255
P-92 基于 GC/Orbitrap 的肉中挥发性化合物及其前体物质的轮廓分析.....	256

P-93 基于有色蛋白凝胶电泳图像的智能分类方法用于不同肉种类鉴定	257
P-94 硝苯地平溶液标准物质的检测方法制备工艺及稳定性研究	258
P-95 离子液体作为流动相添加剂对 G-四链体反相液相色谱保留行为的影响	259

第六部分 自由交流

C-01 功能性 DNA 发夹的膜上自组装用于癌细胞的精准识别和协同杀伤	260
C-02 基于二氧化硅纳米颗粒掺杂的低交联乙酰化泛素九肽印迹整体柱的制备	261
C-03 MAX 材料双重富集磷酸化肽/糖基化肽并应用于生物样品	263
C-04 LC-MS/MS 快速检测人血浆中卡马西平浓度	264
C-05 新型生物抑菌剂替代叠氮化钠在液相色谱应用的可行性研究	266
C-06 基于 UHPLC-MS/MS 的亚染色质结构 DNA 5-甲基胞嘧啶分析	268
C-07 纤维素基手性拆分材料	269
C-08 基于 UPLC-QTOF-MS 技术结合 UNIFI 快速筛查中草药中有毒生物碱	270
C-09 基于聚乙烯醇/淀粉纳米纤维的肉类新鲜度智能指示包装研究	271
C-10 基于二氧化硅纳米颗粒掺杂的低交联乙酰化泛素九肽印迹整体柱的制备	273
C-11 尿液中 VX 含磷、含氮小分子生物标志物的同时液质定量检测	274
C-12 MOF 基离子阱纳米纤维膜对重金属的吸附性能研究	275
C-13 分层多孔 MOFs@COFs 分子阱固相微萃取对多环芳烃的高效捕获及机理研究	276
C-14 基于蛋白组学技术的化学战剂暴露标志物筛选策略	277
C-15 Development of In-depth mass cytometry and its application	278
C-16 3D 微流控纸芯片显色法筛选血管紧张素转化酶抑制剂	279
C-17 DLLM-HPLC 测定食用植物油中的对羟基肉桂酸和橙皮素	280
C-18 HPLC method for simultaneous determination of free total and low-molecular-mass thiols in serum derivatized with 2,2'-dithiodipyridine	281
C-19 Determination of Phosphatidylethanol in Human Blood as a Biomarker for Alcohol Intake by Scheduled-MRM Tandem Mass Spectrometry	282
C-20 NiCo-LDH@PSs 复合纳米材料的 SPME 纤维对多环芳烃的超级捕获	283
C-21 中空双壳层 Co ₃ O ₄ /C 复合材料作为 SPME 涂层对多环芳烃的高效富集	284
C-22 金属氧化物掺杂的 MOF 复合材料用于电化学检测铜离子	285
C-23 1,5-双(己-5-烯-1-氧基)萘杂化整体柱对水样中六种农药的快速萃取	286

C-24 功能化介孔硅纳米材料的制备及其应用	287
C-25 氨基甲酸酯类农药中毒溯源检测的研究进展	288
C-26 基于液质联用技术的有毒化学品暴露筛查策略研究进展	289
C-27 COF 表面自组装整体柱管内固相微萃取苯二氮卓类药物研究.....	290
C-28 葡萄籽油生产工艺的研究.....	291
C-29 Extraction of the effective ingredients of fenugreek	292
C-30 氮芥类毒剂染毒植物样品溯源分析方法研究	293
C-31 烷基磷酸酯类化合物的高通量检测方法研究	294
C-32 基于铈基纳米材料的荧光/比色双通道传感器用于维生素 C 的高灵敏检测.....	295
C-33 玉米醇溶蛋白新型色谱固定相的制备及应用研究	296
C-34 基于毛细管电泳单分子荧光成像系统的蛋白质-DNA 复合物检测.....	297
C-35 聚合物刷修饰聚合物微球的合成及其对生物碱吸附分离研究	298
C-36 以二维硼纳米片为基质和选择性吸附剂的邻二醇类化合物的 SALDI-TOF MS 检测方法	300

第十四届全国生物医药色谱质谱及激光技术学术交流会

基于高峰容量色谱的空间蛋白质组分析

张玉奎

中国科学院大连化学物理研究所

通讯联系人 E-mail: ykzhang@dicp.ac.cn

生物组织由多种细胞类型和亚群组成，具有高度异质。因此，近年来空间蛋白质组研究受到了越来越多的关注。

为满足基于 bottom-up 策略的空间蛋白质组分析需求，研制了可在保持高峰容量的前提下显著缩短分离时间的胶体晶体色谱柱，将小鼠半脑切片的蛋白质组空间分布解析时间缩到目前文献最好水平的 1/6。此外，为满足 top-down 策略的空间蛋白质组分析需求，分别研制了具有通孔结构和通孔-大介孔结构的乙烯基桥联杂化整体柱，以及仲氨基桥联杂化整体柱，实现了蛋白质变体和膜蛋白质变体的深度覆盖分析和空间异质性解析。

虽然色谱作为日臻成熟的学科，尽管近年来发展速度逐渐趋于平稳阶段，但我相信通过与生命科学、合成生物学和清洁能源等学科的不断交叉融合，仍有不断提升的发展空间和日益广阔的应用前景。

第十四届全国生物医药色谱质谱及液相色谱学术研讨会

色谱和质谱技术在新污染物筛查中的应用

江桂斌

中国科学院生态环境研究中心

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

循环肿瘤（单）细胞的二维分析研究

张璇, 魏星, 陈明丽, 王建华*

东北大学理学院化学系分析科学研究中心, 沈阳, 110004

通讯联系人 E-mail: jianhuajrz@mail.neu.edu.cn

利用惯性流辅助单细胞操控, 可实现高通量单细胞进样与分析。通常微流体在流道中心线附近的流速高于壁面处。粒子在垂直于流向处受惯性升力的作用而发生惯性迁移。在弯道处, 离心力和径向压力使中心线处的流体向外流动, 致使壁面处的流体沿流道上下底面回流, 在垂直于主流的方向上产生两个旋转方向相反的 *Dean* 涡。流体中粒子受 *Dean* 涡产生的拽力及惯性升力的共同作用, 使其平衡位置发生变化。借助流体的惯性效应, 可操控粒子的运动路径, 从而实现单细胞/颗粒排列。

结合适配体探针可有效识别循环肿瘤细胞 (CTCs)。将适配体 Sgc8 与 SYL3C 结合到 AuNPs 表面, 制备海胆式刺状结构的探针, Sgc8 和 SYL3C 可选择性结合 CTCs 表面表达的疾病标志蛋白 PTK7 和 EpCAM。设计适当结构的微流控通道, 对血液中的 CTCs 进行有效分选与聚焦, 用 ICP-MS 检测 ^{197}Au 同位素, 实现对单 CTCs 中的 PTK7 和 EpCAM 蛋白表达水平的定量分析。相关分析数据可以为细胞的亚组分类提供依据。

进一步发展了二维分析系统, 用于分析 CTCs (单) 细胞的药物摄取以及蛋白表达水平。将约 3000 条 6-FAM-Sgc8 适配体结合在单个 AuNP 上, 形成生物功能化的探针 (BioNPs), 用于选择性结合目标细胞上的 PTK7 标志蛋白。设计微流控结构, 其可在极端温和的流速条件下 ($\sim 0.043 \text{ dyne cm}^{-2}$, 或 $20 \mu\text{L min}^{-1}$), 实现超快单细胞聚焦, 与离心方法相比, 处理时间由 20 min 降低到 66 ms。经激光诱导荧光 (LIF) 检测细胞摄取奥沙利铂 (OXA) 后诱导表达的 PTK7, ICP-MS 检测 ^{195}Pt 和 ^{197}Au 可分别获得 OXA 摄取及单细胞上结合 AuNPs 的信息。再辅以机器学习, 还可从单细胞水平上同时描述不同细胞系中 PTK7 对 OXA 摄取响应。

关键词: ICP-MS、荧光、循环肿瘤细胞、单细胞分析、二维分析

本研究受国家自然科学基金 (21727811、22104012) 项目资助。

参考文献:

1. X. Wei, X. Zhang, R. Guo, M.-L. Chen, T. Yang, Z.-R. Xu, J.-H. Wang. *Anal. Chem.*, 2019, **91**, 15826-15832.
2. X. Zhang, X. Wei, X. Men, Z. Jiang, W.-Q. Ye, M.-L. Chen, T. Yang, Z.-R. Xu, J.-H. Wang. *Anal. Chem.*, 2020, **92**, 6604-6612.
3. C.-X. Wu, X. Wei, X. Men, X. Zhang, Y.-L. Yu, Z.-R. Xu, M.-L. Chen, J.-H. Wang. *Anal. Chem.*, 2021, **93**, 8203-8209.
4. X. Zhang, X. Wei, X. Men, C.-X. Wu, J.-J. Bai, W.-T. Li, T. Yang, M.-L. Chen, J.-H. Wang. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2021, **13**, 43668-43675.

岛津 DPiMS 原位质谱在疾病诊断及成像检测领域的研究应用

陈振贺*

岛津企业管理（中国）有限公司

通讯联系人 E-mail: spkczh@shimadzu.com.cn

本次报告重点介绍岛津原位质谱 DPiMS 在疾病诊断和成像分析两个领域的研究和应用。在疾病诊断方向，主要介绍岛津创新中心与中日友好医院病理科的合作成果：DPiMS 和 AI 技术用于甲状腺癌和微乳头状肺腺癌的辅助诊断。在成像分析方向：主要介绍 DPiMS 成像附件及应用案例。

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

本草物质科学研究

梁鑫淼*, 刘艳芳, 沈爱金

1 中国科学院大连化学物理研究所, 本草物质科学研究室, 大连, 116023

2 赣江中药创新中心, 南昌, 330100

通讯联系人 Email: liangxm@dicp.ac.cn

本草物质科学是指使用现代科学理论和技术手段系统研究中药的化学物质组成、结构和生物学效应的科学, 旨在阐明中药的药效物质基础和多成分多靶点的分子作用机理, 为解析中药有效性和安全性、促进中药新药研发、提升中药质量等提供科学依据和核心技术支撑。系统全面的制备中药化合物、解析中药物质组成结构是本草物质科学研究的基础。

中药为天然来源的复杂物质体系, 化合物数量繁多、结构多样、极性范围宽, 同时存在大量异构体。目前常用的分离手段只能解决部分常量化合物的分离纯化问题, 仍存在大量低丰度、难分离的化合物, 难以满足中药复杂物质体系全面、深入解析的需求。针对上述难题本团队设计并合成了硅胶、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, 在新型分离材料基础上构建了多维高效制备体系, 从多个中药中发现了大量新化合物。例如: 通过多维高效制备, 从北豆根中已分离鉴定化合物 95 个, 其中 60 个新化合物, 包括一个新骨架。发现其中 16 个化合物分别在 D1、D2、Delta、M3 和 Mu 五种与镇痛相关的 GPCR 受体上具有高活性, 其中有 3 个化合物具有纳摩尔级的高活性, 其余 13 个化合物的活性为微摩尔级, 为阐明北豆根镇痛药效物质和分子作用机理提供了关键科学数据。

另一方面, 高效表征中药复杂体系的物质组成、快速发现新化合物, 避免随机性及重复性制备是提高本草物质科学研究效率的重要环节。本团队基于研发的多种新型色谱分离材料, 针对中药生物碱、黄酮、萜类等多种药效成分, 发展了系列高选择性的一维/二维色谱串联高分辨质谱的快速表征策略, 结合质谱数据深度挖掘技术, 实现已知成分的高效表征及新化合物的快速发现, 为多维选择性制备提供了明确的目标。例如, 构建了基于超高效液相色谱串联多级高分辨质谱的技术, 结合质量缺失过滤和中性丢失触发的多级裂解, 从射干中快速发现并鉴定了 164 个新化合物; 构建了 pH 正交的在线反相/反相全二维体系, 从钩吻中初步鉴定了 256 个生物碱, 其中 156 个为新化合物。

关键词: 本草物质、中药、分离纯化、液质分析

LC-MS 代谢组学新方法及其在生物医药应用进展

再帕尔·阿不力孜^{1,2}

¹中国医学科学院&北京协和医学院药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050

²中央民族大学 质谱成像与代谢组学国家民委重点实验室, 北京 100081

E-mail: zeper@imm.ac.cn, zeper@muc.edu.cn

近二十年来, 代谢组学及其应用取得迅速发展, 已成为生命组学的重要组成部分, 并在化学、生物学、生命科学、医学及药学等领域显示出巨大发展前景。本课题组长期致力于代谢组学分析新方法及其在生物医药等领域的研究, 创建了全面、系统的代谢组学分析技术平台与研究体系。近几年来, 在基于 LC-MS 技术的代谢组学分析方法及其应用方面, 注重非靶向与靶向代谢组定量分析结合的 LC-MS/MS 方法和功能代谢物高效识别方法等研究, 分别建立了高覆盖靶向代谢组 LC-MS/MS 定量分析方法、甾体激素类代谢轮廓分析方法、极性代谢组与脂质类代谢组同步分析的细胞代谢组学方法、羟基脂肪酸的高效识别与靶向轮廓分析方法、基于丹磺酰肼衍生化的脂肪酸类代谢物 LC-MS/MS 分析方法等。采用建立的代谢组学分析方法, 实现脂肪酸、激素类等功能化合物的高效识别与高灵敏分析; 在食管癌、胃癌、胶质瘤等恶性肿瘤的代谢组学研究中, 发现一批与癌症诊断或疗效评价密切相关的潜在代谢标志物(组)。此外, 针对大规模代谢组学研究中不同批次间数据稳定性及重复性差的难题, 发展了一种大规模代谢组学数据校正新方法(Norm ISWSVR), 该方法可全面去除数据中系统与偶然误差, 提高非靶向与靶向定量代谢组学多批次数据间的整合效率以及筛选生物标志物的分类精度。在大规模有氧和抗阻运动的血浆代谢组学研究中, 发现并验证与运动促进健康相关的代谢类生物标志物。同时, 在基于代谢组学的民族医药经典方剂的作用机制研究方面取得新进展。本次学术报告将重点介绍上述研究进展。

“茶”颜观“色”

李绍平, 赵静

澳门大学中药质量研究国家重点实验室

通讯联系人 E-mail: spli@um.edu.mo

茶叶是世界最普及的健康饮品, 含有多种有益健康成分, 不同茶的成分与功效 (“茶”颜) 如何? 报告应用色谱技术为您解读 (观 “色”)。1) 以自由基清除活性为指标, 评价不同普洱茶, 说明不同普洱茶的活性存在明显差异, 自由基清除能力: 普洱生茶强于成熟茶, 活性随保存期的延长而降低; 2) 抑制 α -葡萄糖苷酶活性是糖尿病的治疗方法之一, 普洱茶 α -葡萄糖苷酶抑制剂的筛选结果表明: 表没食子儿茶没食子酸酯 (EGCG) 和表儿茶素 (ECG) 是有效的 α -葡萄糖苷酶抑制剂, 其对 α -葡萄糖苷酶 (E.C.3.2.1.20, 来自酿酒酵母) 的IC50值分别为175.1 μ M和246.9 μ M, 均低于市售 α -葡萄糖苷酶抑制剂阿卡波糖 (IC50=3553.0 μ M); 动力学研究表明, EGCG和ECG均以非竞争方式抑制 α -葡萄糖苷酶活性; 3) 茶多糖是茶叶重要功效成分之一, 正常饮茶可以发挥茶多糖的功效作用吗? 如何饮茶才能充分利用茶多糖? 报告也将为您一起解读。

Acknowledgements The research was partially funded by grants from the University of Macau (File no. MYRG2022-00231-ICMS / CPG2023-00018-ICMS).

参考文献 (略)

高重现毛细管电泳成像

陈义^{1,2}*, 郑清锋¹, 郭振朋¹

1. 中国科学院化学研究所活体分析院重点实验室; 2. 淮阴工学院高端矿盐功能材料智能制备国际合作联合实验室、矿盐资源深度利用技术国家地方联合工程研究中心

通讯联系人 E-mail: chenyi@iccas.ac.cn

以分子或离子为像素的成像分析方法, 目前众所周知的热门研究就是质谱成像 (MSi), 其在生物、医学上的应用研究开展得如火如荼, 令人向往! 无奈成本昂贵, 技术门槛也高, 我们一般人多有高攀不上之感。为了一尝成像之悦, 于是把眼睛盯在了既微量又快速、既高效又便宜的毛细管电泳 (CE) 身上。可惜传统CE出峰不稳定、不重现, 不能对未知样品定性, 因而也无法用其分离峰作像素绘图。经过这些年的研究, 我们发展出了高重现毛细管电泳法¹⁻², 于是乎又激起了尝试之欲, 遂布置学生展开试探, 结果有了收获: 初步建成了高重现阵列毛细管电泳成像 (HRACEi) 新方法, 并用鼠脑切片上神经递质氨基酸为像素进行了检验, 得到了预期结果³。CE因能分离质谱不能解吸、难以电离或因m/z相同而难以成像的那些成分, 可补MSi之不力; 另外, CE可用阵列毛细管, 为提升成像速度打开了特殊大门, 长MSi之所不能。以CEi之所能计, 弱MSi之所不能, 其前景必有光, 或创世可成。故盼与高手交流, 以增收益。期而待之。

参考文献:

1. 陈义. 色谱, **2020**, 38(10), 1217-1233.
2. C. Guo, Q. Zhang, L. Bao, H. Li, Q. Zheng, Z. Guo, Y. Chen, *Anal. Methods*, **2020**, 12, 3277-3284.
3. Q. Zheng, Z. Y. Chen, *Talanta*, **2022**, 240, 123183.

创新药物研发颠覆性路径探索证伪与证业的分析科学智慧与技术

夏召弟, 赵晔, 贾璞, 王世祥, 马若昕, 文金凤, 王风云, 王煜棋, 郑晓晖* (报告作者)

西北大学陕西省创新药物研究中心, 陕西省西安市, 710069

*E-mail: zhengxb318@nwu.edu.cn

任何科学理论都有一定局限性, 都有一定的前置条件, 超出某个范围就必须建立新的理论, 原有的理论就被“证伪”了(原有理论并非伪科学), 西方生物、化学药物的研发历程即是“证伪”的思路, 即基于靶标等假说设计新分子, 再采用计算机模拟分子对接技术和分子与分子链、亚细胞、细胞、组织、器官、整体动物的相互作用逐层次放大尺度与时空, 从微观到宏观对上述假说进行佐证, 在不断重复试错、优化迭代的证伪后, 得出具有现代药理学、药效学和实验室条件下的相对安全性评价结果, 这种研发思路所获得的候选药物分子仅能保证具有初步安全性、有限的有效性或优越性和可及性。证业, 为证悟业果之意, 是建立在归纳主义的基础上, 通过一项或者多项客观存在来证明一件事情或理论的正确性, 即用人物、事实来表明或断定。基于千年临床历史积淀的安全、有效、可及的传统中医药, 以证业的方式研发中式创新药物有望成为一种颠覆西方药物研制思路的新路径、新探索, 其以经典方剂千年临床积淀有效性为凭证, 以现代药效学研究印证、佐证中医药传统理论与实践的正确性, 采用分析科学技术手段从解析中药复方、中药药对、单独药味、药材原形成分、内外源性代谢分子, 最后到明晰核心效应分子, 层层缩小尺度、时空, 从宏观到微观揭示方证相关的药效物质基础, 使客观存在的中医药“天人合一”共求平衡的理论与实践分子化、数字化、信息化, 阐释证明中式创新药物的安全有效(优效)、可控可及, 实现中药现代化。

生物体在自然选择进化中形成的综合调节能力体现在神经、免疫、心脑血管、体液循环等系统, 可对抗外界刺激和疾病调节身体达到相对稳定的平衡态, 即“天人感应”各自相关。多巴, 即 3,4-二羟基苯丙氨酸, 是人体重要的神经递质, 在脑神经元和肾上腺髓质中经酪氨酸羟化酶催化酪氨酸而成, 进一步代谢产生多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素, 自然界多巴也存在于秧苗、豆类等植物。与多巴的二羟基酚酸结构相似的天然产物及其衍生物被证实具有多种药理活性, 如丹参的主要活性成分丹参素(DSS), 人体的内源性分子与天然活性分子之间是否存在内在联系? 是否存在内在互变? 人体在进化和自然选择后是否能够自主应激合成内源性抗病分子? 由于神经递质的瞬时外排和分解机制使其原位实时监测异常困难, 建立高选择性、高灵敏的分析技术揭示二羟基酚酸与神经递质的相互关系对生物医药的发展具有重要推动意义。作者团队采用泛组学分析科学与技术对临床生物样本进行了研究, 首次揭示了在酪氨酸→多巴→多巴胺的经典转化途径外, 多巴的另一条转化途径, 即经特殊肠道菌群转化产生 DSS。DSS 的浓度水平与人体的炎症/缺氧状态呈正相关, 为人体内环境的平衡调节分子和生物标志物, 从微观上阐释了 DSS 与多巴行使功能的免疫、心脑血管、体液系统与神经系统之间紧密联系的生物学基础。内源性 DSS 体现了人体自我保护、自我调节的能力, 是人与肠道菌群相互依存、相互制约的“天人相应”合产效应的体现, 印证了中医理论“互根互用、互根互变”、“天人合一”的哲学思想。团队以“证业”思路发现了内源性 DSS 及其相关分子, 进而创智了具有多靶、多效协同的创新药物, 这是分析科学的智慧与技术的有益实践与探索。

关键词: 多巴, 丹参素, 创新药物研发, 颠覆性路径, 证伪与证业

参考文献:

1. T. Xiong, J. Jiang, Y. Bai, T.P. Fan, Y. Zhao, X. Zheng, Y. Cai, *Appl Microbiol Biotechnol.*, **2019**, 103(15):6097-6105.
2. Y.J. Bai, P. Jia, Y. Zhao, L.J. Yang, Zhang, X.P. Zheng, Y.J. Cai, M. Wang, T.P. Fan, X.H. Zheng, *Pharmacol Res.*, **2022**, 185: 106458.

单细胞中蛋白质组分析与单分子计数新技术研究

于海龙, 翁凌霄, 高明霞, 张祥民*

复旦大学化学系, 上海市淞沪路 2005 号, 200438

通讯联系人 E-mail: xmzhang@fudan.edu.cn

单细胞的蛋白质单分子计数定量与单细胞蛋白质组分析研究均非常重要。单细胞蛋白质组分析是单细胞分析领域中非常重要的一个部分, 然而单个哺乳动物细胞通常直径小于20 μm , 其中蛋白质的总含量仅为亚纳克级, 蛋白质种类会超过一万种。液相色谱质谱联用技术是常规蛋白质组学分析中最常用和最有效的技术之一。随着纳升级液质联用技术的发展, 液质联用仪器的分析灵敏度越来越高, 目前已经能够在样品量足够的情况下, 一次分析鉴定超过一万种蛋白质。但是, 现有的纳升级液质联用系统并不能直接用于单细胞蛋白质组分析。主要原因就是单个细胞太小, 蛋白质含量太少, 常规纳升级液质联用系统对单细胞样品并不兼容, 致使样品稀释和损失太大。针对单细胞分析问题, 首先研究发展了单细胞从取样、处理、到色谱分离、质谱分析、以及单分子技术等系列新技术和装置, 并发展了多种基于液相色谱质谱联用的单细胞蛋白质组分析和单分子技术定量新技术[1]。利用这些技术, 探索了多种细胞与组织样品的细胞间异质性。

在此基础上, 还研究发展了单细胞蛋白质单分子计数新方法[2]。采用微小体积中单细胞分析的皮升级液体操作技术(scPILOT), 通过荧光显微镜、皮升级取样操作、抗体功能化玻片及其表面覆盖非水溶性油滴部件、荧光成像和分子计数系统构成。测量时在显微镜监视下, 利用气泡粘附技术, 对单细胞进行取样, 使用皮升级样品操作技术, 以50皮升的固定体积吸取单细胞, 后滴加单细胞样品到覆油层的功能化玻片上。在样品微液滴原位进行单细胞裂解, 释放目标蛋白分子, 随后目标蛋白被玻片上抗体捕获集形成单分子层。目标蛋白标记荧光量子点标签后, 使用荧光成像系统进行拍摄并完成荧光点计数。scPILOT系统在1-1500个拷贝数蛋白计数上具备良好的线性, 具备较好的特异性和结果可重复性。使用该系统对普通乳腺癌MCF-7细胞和三阴性乳腺癌细胞MDA-MB-231进行了单细胞水平HER2蛋白拷贝数的分子计数, 观察到组内和组间单细胞水平表达的显著差异。scPILOT系统使用普通的荧光显微镜和常见设备与工具, 可以对实际样品中的单细胞中低拷贝数目标蛋白进行绝对定量, 平台可靠性良好, 操作相对简单, 具备独特生物学应用价值。同时, 采用发展的气泡粘附单细胞取样技术, 对荷瘤小鼠活体采集10微升全血样品, 利用荧光标记染色方法处理后, 可直接进行循环肿瘤细胞计数, 通过对血液中循环肿瘤细胞计数、挑选、单细胞培养等获得了具有细胞生物学研究和肿瘤诊断相关价值的结果[3]。

参考文献:

1. X. Shao, X.T. Wang, S. Guan, M.X. Gao, X.M. Zhang. *Anal Chem*, 2018, 90(23): 14003-14010.
2. H.L. Yu, Q.F. Tai, C.J. Yang, L.X. Weng, M.X. Gao, X.M. Zhang. *Anal Chem*, 2022, 94 (34): 11925-11933.
3. H.L. Yu, C.J. Yang, Q.F. Tai, M.X. Gao, X.M. Zhang. *Anal Chem*, 2023 (in press).

蛋白杂质鉴定，从二维到四维液相：更快更准

李功恒

安捷伦科技（中国）有限公司

通讯联系人 E-mail: gong-heng.li@agilent.com

在蛋白分析过程中，多维液相色谱分析可以显著简化研发流程、增加分离能力。安捷伦液相色谱模块丰富灵活，可以轻松搭建包括二维、三维甚至四维系统，并且应用到单克隆抗体药物开发过程中。二维液相可以快速完成单抗效价和聚集体分析、三维液相可以完成单抗的多属性分析并且实现在线除盐进行质谱表征，四维液相在此基础上可以增加在线还原和酶切等过程，实现对于电荷异质体还原酶切后的肽图分析。

参考文献：

1. Gstöttner, C. et al. Fast and Automated Characterization of Antibody Variants with 4D HPLC/MS. Anal. Chem. 2018, 90, 2119-2125

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术研讨会

赛默飞色谱质谱方案最新应用——助力突破生物药表征分析瓶颈

李宇翔

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

通讯联系人 E-mail: Yuxiang.li@thermofisher.com

摘要正文

随着生物制药行业在全球范围内的蓬勃发展，和近三年来的新冠肺炎全球大流行，国内外均加大了对生物药的研发投入，随之对理化分析所需的各种平台和技术带来了更高的要求。作为全球科学服务领域的领导者，赛默飞一直致力于帮助客户解决生物药表征分析中的各种挑战。本次报告将介绍赛默飞色谱与质谱最新方案在 mRNA 疫苗与药物 CQAs 表征及 LNP 纳米脂质体递送体系分析中的应用；及 iCIEF 制备和 MS 联用及其他创新技术，直面单抗、ADC 和融合蛋白等样品的电荷变异体分析中的痛点与难点。

参考文献：

1. X. Zhang, T. Chen, V. Li, T. Bo, M. Du, T. Huang, *Analytical Biochemistry*, **2023**, 660, 114961.
2. Gang Wu, Chuanfei Yu, Wenbo Wang, Jialiing Du, Zhihao Fu, Gangling Xu, Meng Li, and Lan Wang, *Analytical Chemistry*, **2023**, 95 (4), 2548-2560.

沃特世最新质谱及在生物制药大分子开发中的前沿应用

罗宇文

沃特世科技（上海）有限公司

通讯联系人 E-mail: yuwen_luo@waters.com

沃特世质谱技术源远流长，沃特世公司也首推了多款质谱，为质谱技术的创新与发展做了非常大的贡献。本次报告为您呈现 Waters 生物药分析整体解决方案，向您介绍沃特世液相色谱和高分辨质谱新技术---Acquity Premier 液相色谱系统和全新 Xevo G3 高分辨质谱以及环形离子淌度质谱在生物制药领域的解决方案。研究数据充分证明了 Acquity Premier 液相色谱系统能够解决生物样品特异性金属吸附的难题，大大提升生物药及生物样品分析时的重现性、灵敏度以及线性范围；全新 Xevo G3 高分辨质谱系统具有出色的抗污染能力，同时提升了分析灵敏度，可助力灵敏稳定的生物药表征分析；SELECT SERIES Cyclic 环形离子淌度质谱在高性能飞行时间质谱中引入环形离子淌度技术，借助优异的离子淌度分辨率为生物药前沿发现与研究中做出突出贡献。

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术大会

手性分离分析

谢生明^{1*}, 王帮进¹, 张美², 章俊辉¹, 袁黎明^{1*}

1. 云南师范大学化学化工学院

2. 云南中医药大学中药学院

通讯联系人 E-mail: yuan_limingpd@126.com; xieshengming_2006@163.com

随着人们对单一手性物质尤其是手性药物需求的日益增长, 同时对其光学纯度的要求也越来越高, 因此研究发展低成本、高效的单一手性物质制备技术成为亟待解决的问题。目前获取单一手性物质主要有不对称催化合成法和手性拆分法, 而色谱拆分法和手性膜拆分法仍然是手性拆分技术中的研究热点。近年来, 我们将多种新型手性功能材料包括手性金属-有机骨架材料 (MOFs)、手性共价有机框架材料 (COFs)、手性介孔硅 (CMS)、手性分子笼 (如 POCs、MOCs)、冠醚等用于高分辨色谱拆分手性物质, 其中部分手性功能材料制备的手性色谱柱表现出了高的对映选择性和优异的手性拆分性能, 研究了多孔材料与手性拆分之间可能存在的构效关系。研究结果显示制备的多种新型手性色谱柱具有很好的商品化应用前景。此外, 我们开展了基于纤维素、壳聚糖、海藻酸钠和环糊精手性固膜拆分外消旋化合物的研究, 部分手性固膜拆分 e.e. 值达到 90% 以上, 并提出了“吸附-缔合-扩散”手性拆分机制, 其能很好地解释一些手性固膜的手性拆分现象。该研究实现了手性拆分固膜的多层次构筑, 丰富了外消旋化合物的高分辨拆分研究。

参考文献:

1. C. Yuan, L.M. Yuan, Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 891-900.
2. M. Xu, P.Y. Cai, S.S. Meng, Y.H. Yang, D.S. Zheng, Q.H. Zhang, L. Gu, H.C. Zhou, Z.Y. Gu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 134, e202207786.
3. Y. Wang, J.K. Chen, L.X. Xiong, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 4961-4969.
4. S.M. Xie, N. Fu, L. Li, B.Y. Yuan, J.H. Zhang, Y.X. Li, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2018**, 90, 9182-9188.
5. H.L. Qian, C.X. Yang, X.P. Yan, *Nat. Commun.*, **2016**, 7, 12104.
6. J.H. Zhang, S.M. Xie, L. Chen, B.J. Wang, P.G. He, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2015**, 87, 7817-7824.
7. J.H. Zhang, S.M. Xie, M. Zhang, M. Zi, P.G. He, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2014**, 86, 9595-9602.
8. J.R. Li, J.L. Sculley, H.C. Zhou, *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 869-932.
9. M. Zhang, Z.J. Pu, X.L. Chen, X.L. Gong, A.X. Zhu, L.M. Yuan, *Chem. Commun.*, 2013, 49, 5201-5203.
10. S.M. Xie, Z.J. Zhang, L.M. Yuan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 11892-11895.
11. S.M. Xie, W.F. Wang, P. Ai, M. Yang, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, 2008, 321, 293-298.

常压离子化质谱新技术及其生物分析应用

白玉

北京大学化学与分子工程学院, 北京, 100871

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

常压离子化装置作为质谱的重要离子化和进样部件, 可以进行原位取样和进样、几乎无需样品前处理, 装置搭建形式灵活多样。其与质谱的高灵敏、高分辨、可提供丰富的结构信息等优势相结合, 在原位、实时和高通量检测领域发挥重要作用[1]。生物标志物与疾病的诊断、治疗和预后密切相关, 因此, 生物标志物的灵敏、准确、高效检测成为临床应用的重要基础。近年来, 随着患者友好和床旁诊断的需求加剧, 单滴血, 甚至体积仅为pL的单个细胞成为备受关注的分析对象, 这使得极小体积样本中生物标志物的检测越来越具挑战性。我们利用设计新型常压质谱离子化技术, 结合质谱增敏策略, 在单滴血和单细胞中生物标志物的检测方面开展了一系列研究工作:

设计新型电喷雾加速的基底电喷雾离子化装置, 结合罗丹明类高灵敏质谱标签提出多重信号放大策略, 构建了高灵敏常压质谱免疫分析平台, 实现了zmol的标准凝血酶蛋白质检出限。与芯片阵列式快速检测结合, 可实现微升级血清中CA125肿瘤标志物的快速筛查 [2]; 与激光解吸附质谱(LDI-MS)结合, 利用PEG质谱标签, 实现细胞表面聚糖的分析, 进一步利用常压LDI-MS, 实现了肿瘤组织和癌旁组织微环境表面聚糖的可视化质谱成像[3]; 设计基于纸芯片和电喷雾质谱的多标联检平台, 利用纸芯片作为识别和反应基底, 设计质谱标签的在线高效解离装置, 实现了单次运行即可同时分析10微升血清中6种肿瘤标志物, 且结果与临床报告结果吻合度良好 [4]; 利用基于迪恩流的微流控单细胞排列技术, 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分子信息, 利用获取的多重信息开展肿瘤细胞分型, 提高了分型特异性和灵敏度, 相关结果为肿瘤耐药相关机制研究提供重要的分析技术和分子基础 [5]。设计在线延长单细胞分析时间装置结合高分辨质谱, 实现正负模式下单个细胞中约2000个代谢物特征峰的获取, 以及500种以上代谢物的鉴定。为单细胞深层次代谢组分析提供创新方法和技术基础。

关键词: 常压离子化, 高灵敏, 标志物, 代谢物, 质谱

参考文献

1. Ai, W.P.; Nie, H.G.; Song, S.Y.; Liu, X.Y.; Bai, Y.; Liu, H.W. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2018**, 29: 1408.
2. Xu, S.T.; Ma, W.; Bai, Y.; Liu, H.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, 141: 72.
3. Xu, S.T.; Liu, M.X.; Feng, J.; Yan, G.T.; Bai, Y.; Liu, H.W. *Chem. Sci.* **2021**, 12: 4916.
4. Ma, W.; Xu, S.T.; Nie, H.G.; Hu, B.Y.; Bai, Y.; Liu, H.W. *Chem. Sci.* **2019**, 10: 2320.
5. Xu, S.T.; Liu, M.X.; Bai, Y.; Liu, H.W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60: 1806.

本研究受国家自然科学基金(22125401和22074003)和国家重点研发计划项目(2022YFC3400700)资助。

聚合物模板法制备单分散全多孔硅胶微球及其在色谱中的应用

白江琦, 朱秋燕, 张春艳, 唐长伟, 夏红军, 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, 710127

通讯联系人 E-mail: baiquan@nwu.edu.cn

单分散全多孔硅胶微球(monodisperse porous silica microspheres, MPSMs)具有机械强度大, 孔隙率高, 比表面积大, 负载量高等优点, 在HPLC中应用广泛。然而, 如何制备粒径和孔径可控的MPSMs用于分离小溶质和蛋白质仍然是一个挑战。针对目前MPSMs制备过程中存在球形不均一、单分散性差、粒径分布宽、孔径难以精准调控等问题, 本研究聚合物模板法^[1,2], 以氨基功能化的P_{GMA/EDMA}多孔聚合物微球为模板, 正硅酸乙酯(TEOS)为硅胶前驱体, 利用聚合物微球表面带正电荷的氨基, 通过静电相互作用诱导TEOS水解产物SiO₂纳米粒子沉积于聚合物模板的孔道内, 得到P_{GMA-EDMA}/SiO₂杂合微球, 最后高温煅烧除去模板, 成功制备了粒径为3 μ m和5 μ m的MPSMs。

用SEM、FT-IR、TGA、动态激光散射和压汞仪等手段对制备的MPSMs进行了表征。表明所制备的MPSMs在煅烧后基本保持了模板微球的尺寸, 且无皱缩。此外, 还研究了聚合物模板微球孔径、不同氨基功能化的P_{GMA/EDMA}微球以及P_{GMA-EDMA}微球/TEOS的质量比对MPSMs孔径的影响。结果表明, 在溶胶-凝胶过程中, 通过控制聚合物模板的孔径和加入P_{GMA/EDMA}微球/TEOS的质量比, 可将MPSMs的孔径从20 nm调整到69 nm。更重要的是, 分别用3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES)、盐酸三甲胺(TMA)和四乙五胺(TEPA)对P_{GMA/EDMA}微球进行氨基功能化, 以TEPA功能化的P_{GMA/EDMA}微球为模板可制备孔径大于30 nm的MPSMs, 而以TMA功能化的P_{GMA/EDMA}微球为模板, 可制备孔径约为10 nm的MPSMs。因此采用不同氨基功能化的聚合物微球做模板, 可以制备大孔和小孔硅胶微球。

进一步用C4、C8和C18等硅烷对制备的MPSMs进行修饰, 采用RPLC对所制备的大孔硅胶和小孔硅胶对蛋白质和小溶质色谱分离性能进行评价, 两者均具有较高的柱效和优良分离性能, 表明采用聚合物模板法制备的MPSMs在HPLC中具有很好的应用前景。

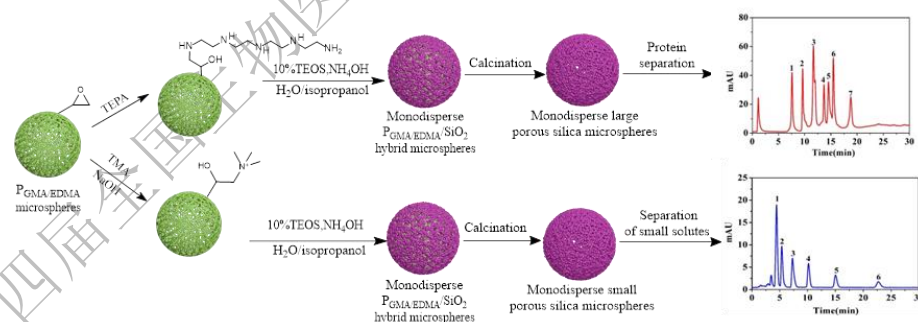


图1 聚合物模板法制备全多孔单分散二氧化硅微球示意图

关键词: 单分散全多孔硅胶微球、聚合物模板法、聚合物微球, RPLC, 结构导向剂

本研究受国家自然科学基金项目(21874106, 22174108, 21545007)资助。

参考文献:

1. H. J. Xia, G. P. Wan, Z. J. Long, J. W. Liu, Q. Bai, Preparation and characterization of monodisperse large-porous silica microspheres as the matrix for protein separation. *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1471, 138-144
2. J. W. Chen, L. L. Zhu, L. B. Ren, C. Teng, Y. Wang, B. W. Jiang, J. He, Fabrication of monodisperse porous silica microspheres with a tunable particle size and pore size for protein separation, *ACS Appl. Bio. Mater.*, **2018**, 1, 604-612

构筑式修饰硅胶基质复合固定相的制备及其性能研究

张维冰^{1*}, 潘旖旎¹, 许森^{1,2}, 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

²上海化工研究院有限公司, 上海, 200062

*weibingzhang@ecust.edu.cn

高效液相色谱固定相的研发是色谱方法的性能得以不断提升、应用得到全方位普及的物质基础。新型固定相的不断问世, 也为相应的色谱方法发展提供了更多的选择和更好的分离效果。由于混合模式色谱固定相能够提供多重相互作用机制, 近年来已经成为色谱领域的研究热点, 尤其是将材料科学领域的最新成果与传统色谱固定相的制备方法耦合, 构筑成具有特殊立体结构的新型色谱固定相, 不仅可以提供更多的作用模式, 也从空间结构的利用方法得到了极大的提升, 对于有效提高色谱分离效率以及改善分离选择性等皆具有重要意义。

本文将 COFs、MOFs 等材料与传统的硅胶基质结合开发了多种构筑式修饰硅胶基质复合固定相: 多糖类、共价有机框架类以及石墨化碳硅胶基质复合固定相。(1) 通过简单的逐层静电吸附沉积的反应方法构筑壳聚糖和透明质酸修饰硅胶基质复合固定相 $\text{SiO}_2@(\text{HA-CS})_{12}$, 可提供亲水相互作用和弱阴离子交换相互作用的双重色谱保留机理, 均表现出良好的色谱分离效能。核苷/核酸碱基、有机酸、无机阴离子等均能在 $\text{SiO}_2@(\text{HA-CS})_{12}$ 色谱柱上实现良好的基线分离。(2) 采用原位生长策略构筑 COFs 修饰的多孔硅胶基质固定相 $\text{SiO}_2@r\text{LZU1}$, 由于 $\text{SiO}_2@r\text{LZU1}$ 富含仲胺基团和苯环结构, 可以与样品分子产生亲水、疏水和 π - π 等多种相互作用, 因此可表现出特殊的分离选择性。采用该色谱柱对包括酸性(苯酚、邻苯二酚、邻苯三酚)、碱性(苯胺、4-氯苯胺、4-硝基苯胺)和中性(苯同系物)化合物等不同极性芳香族探针分子进行分离, 显示出优异的分离性能。(3) 直接以特殊选择的煤沥青为碳源, 将沥青涂覆到多孔硅胶表面, 通过原位烧结的方法构筑准石墨化碳修饰的硅胶基质色谱固定相 $\text{SiO}_2@CTP$, 不仅保留了多孔硅胶机械强度高的特点, 也继承了其孔道结构和大的比表面积。 $\text{SiO}_2@CTP$ 填充柱对咪唑类、核苷类和核碱基类等强极性化合物均表现出特殊的选择性和优异的分离性能。本文采用了不同的键合修饰策略, 在硅胶基质表面构筑多糖类、共价有机框架类以及石墨化碳多分子层结构, 并对其色谱保留机理及分离效能作了系统的评价, 此类构筑式修饰硅胶基质复合固定相已在生命科学、环境科学等领域针对复杂样品的分离实践中表现出优异的特性。

基于刺激-响应聚合物涂层的开管毛细管电色谱分析应用研究

齐莉*

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

*E-mail: qili@iccas.ac.cn Tel: 010-82627290

众所周知，毛细管电色谱技术（CEC）兼备毛细管电泳的高效性和高效液相色谱的高选择性双重优点，已被广泛地应用于药物及中性化合物的分离分析研究中。涂层毛细管开管柱是在毛细管柱内涂覆或键合上一定厚度的涂层固定相（OT-CEC），与填充型毛细管柱相比，涂层固定相能更有效地增加开管柱的相对比表面积和柱容量。但在涂层固定相的重复使用性及OT-CEC的分离效率方面依然具有很大的提升空间，因此，开发新型涂层固定相及发展高效OT-CEC分析方法具有重要和深远的意义。而如何通过调控毛细管开管柱的涂层厚度及涂覆过程来改善涂层固定相的稳定性及提升OT-CEC的分离效率成为目前CE研究的难点。

我们通过设计并采用 RAFT 聚合法制备了系列刺激-响应型聚合物，构建了多种 OT-CEC 新体系^[1-5]并开展了药物和中性化合物的分析研究（Fig. 1）。发现：固定相涂层的涂覆类型、刺激响应聚合物的种类、结构及其亲疏水性在药物及中性化合物的分离过程中起着关键作用。结果表明：刺激-响应聚合物可作为一类良好的新型固定相涂层应用于 OT-CEC 研究中：基此所构建的 OT-CEC 体系展示出了良好的分离分析普适性；通过采用单层/多层化学共价键合或光引发原位聚合方式所构建的固定相涂层可改善其重复使用性；通过调控聚合物的单体类型、嵌段比、分子量及改变刺激-响应条件（如：光、pH、温度、溶剂...）可显著提升药物和中性化合物的检测灵敏度和分离效率。本项系列 OT-CEC 研究工作所展示的其优越分离分析特性不仅促进了刺激-响应嵌段聚合物的研发，也推动了药物和中性化合物分析的 CE 技术发展，并为开展活体分析方面的研究奠定了良好基础。

关键词：开管毛细管电色谱；刺激-响应；嵌段聚合物涂层；分离效率改善

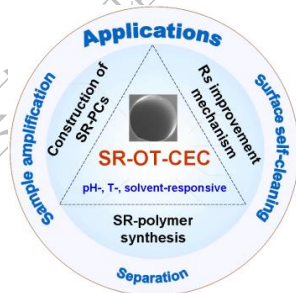


Fig. 1. Outline of OT-CEC analysis with stimuli-responsive block co-polymers as coatings.

致谢资助：NSFC (21874138)

参考文献

1. **L. Qi***, J. Qiao, Advances in stimuli-responsive polymeric coatings for open-tubular capillary electrochromatography, *J. Chromatogr. A*, 2022, 1670, 462957.
2. **L. Qi***, J. Qiao, Design of switchable enzyme carriers based on stimuli-responsive porous polymer membranes for bio-applications, *ACS Appl. Bio Mater.*, 2021, 4, 4706-4719.
3. J. Qiao, Y. Song, C. Chen, **L. Qi***, In situ determination of sialic acid on cell-surface with pH-regulated polymer enzyme nanoreactor, *Anal. Chem.*, 2021, 93, 7317-7322.
4. L. Zhao, J. Qiao, H. Zhang*, F. Xie, **L. Qi***, Open tubular capillary electrochromatography with block co-polymer coating for separation of β -lactam antibiotics, *Chin. Chem. Lett.*, 2019, 30, 349-352.
5. J. Qiao, J. F. Jiang, L. L. Liu, J. Shen, **L. Qi***, Enzyme reactor based on reversible pH controlled catalytic polymer porous membrane, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2019, 11, 15133-15140.

手性多孔有机分子笼材料用于色谱手性分离研究

章俊辉*, 李红兴, 王莹, 张有萍, 李宽, 王帮进, 谢生明, 袁黎明

云南师范大学化学化工学院

通讯联系人 E-mail: zjh19861202@126.com

多孔材料(如 MOFs 和 COFs)具有比表面积大、类型多样、孔结构有序、孔径大小可调等优点,成为近些年来色谱分离领域的研究热点,并展现出良好的色谱分离性能。多孔有机分子笼(POCs)是由形状稳固、具有分子内部空腔的分立笼状分子通过弱的分子间作用力组装形成的新型多孔有机分子材料。与无限延伸的框架或网络状多孔材料(MOFs 和 COFs)相比,POCs 具有良好的溶解性,可溶于有机溶剂,在均相溶液中更易于进行化学修饰、制备复合材料,也更方便通过涂敷、化学键合等方式制备柱效高、重现性好的色谱柱。本研究将一些新型的手性 POCs 材料作为手性固定相通过静态法涂敷于毛细管内壁或化学键合于球形硅胶表面制备了毛细管气相色谱、毛细管电色谱和高效液相色谱手性柱,并用于分手性化合物的拆分研究。研究表明,手性 POCs 材料在色谱手性分离领域展现出优秀的手性拆分性能,制备的色谱柱可拆分许多不同种类的手性化合物,具有良好的研究意义和应用前景。

参考文献:

1. H.L. Qian, C.X. Yang, X.P. Yan, *Nat. Commun.*, **2016**, 7, 12104.
2. M. Xu, P.Y. Cai, S.S. Meng, Y.H. Yang, D.S. Zheng, Q.H. Zhang, L. Gu, H.C. Zhou, Z.Y. Gu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61, e202207786.
3. X. Yao, H. Zheng, Y. Zhang, X. Ma, Y. Xiao, Y. Wang, *Anal. Chem.*, **2016**, 88, 4955.
4. J. Chen, Z.J. Gong, W.Y. Tang, K.H. Row, H.D. Qiu, *TrAC-Trends Anal. Chem.*, **2021**, 134, 116135.
5. B. Ji, G. Yi, K. Zhang, Y. Zhang, Y. Gui, D. Gao, J. Zeng, L. Wang, Z. Xia, Q. Fu, *Anal. Chem.*, **2020**, 92, 15655-15662.
6. Y. Wang, J.K. Chen, L.X. Xiong, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 4961-4969.
7. K. Li, L.X. Xiong, Y. Wang, Y.P. Zhang, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1679, 463415.
8. H.X. Li, T.P. Xie, K.Q. Yan, S.M. Xie, B.J. Wang, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Microchim. Acta*, **2020**, 187, 269.
9. J.H. Zhang, P.J. Zhu, S.M. Xie, M. Zi, L.M. Yuan, *Anal. Chim. Acta*, **2018**, 999, 169-175.
10. J.H. Zhang, S.M. Xie, L. Chen, B.J. Wang, P.G. He, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2015**, 87, 7817-7824.
11. J.H. Zhang, S.M. Xie, M. Zhang, M. Zi, P.G. He, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2014**, 86, 9595-9602.
12. S.M. Xie, N. Fu, L. Li, B.Y. Yuan, J.H. Zhang, Y.X. Li, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2018**, 90, 9182-9188.

等电聚焦电泳技术及其生物医药应用

王宇兴、李红根、张强、刘伟文、曹成喜

上海交通大学, 上海, 200240

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

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、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、在以上基础上, 课题组研制了微阵列聚焦电泳技术设备, 开发了基于微阵列IEF的糖尿病诊断技术、遗传性血红蛋白病诊断技术、肉制品品质控制技术、微量制备性凝胶电泳成套技术设备、制备性自由流电泳成套技术等。

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。

参考文献

- [1] Cao C X, J. Chromatogr. A, 1998, 813: 153-172.
- [2] Cao C X, Fan L Y, Zhang W, Analyst, 2008, 133: 1139-1157.
- [3] Kong F Z, et al., J. Chromatogr. A, 2015, 1422: 318-324.
- [4] He Y C, et al., Anal. Chim. Acta, 2017, 982, 200-208.
- [5] Suad S, et al., Electrophoresis, 2019, DOI: 10.1002/elps.201900157.
- [6] Li G Q, et al., Anal. Chim. Acta, 2019, 1063: 178-186.
- [7] Wang C H, et al., Lab Chip, 2019, 19: 484 - 492.
- [8] Zhong R, et al., Lab Chip, 2016, 16: 3538.
- [9] Li W L, et al., Anal. Chem., 2018, 90: 6710.
- [10] Cao X Y, et al., Lab Chip, 2018, 18: 1758.
- [11] Idrees, M K, et al., Sens. Actuat. B, 2019, 286: 9.
- [12] Wang C H, et al., Lab Chip, 2019, 19: 484.
- [13] Kong F Z, et al., ACS Sensors, 2019, 4: 126.
- [14] Zhang Q, et al., Anal. Chem., 2019, 91: 7500.

灵巧的数学分离赋能复杂生化体系的色谱分析

吴海龙*, 王童, 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

通讯联系人 E-mail: hlwu@hnu.edu.cn

针对未知干扰共存复杂生化体系直接快速同时多组分精准定量分析这一难题, 借助现代高阶色谱质谱仪器, 系统深入开展相关数学分离及高效精准定性定量方法创新性基础研究, 具有重要的理论意义和实用价值。将色谱联用技术与多维校正中的“数学分离”思想相结合即可形成“物理/化学分离+数学分离”的超强分离分析策略。与传统方法相比, 该策略允许在重叠峰和未知干扰存在的情况下直接对感兴趣的分析物进行定性定量分析, 因此可以大大简化预处理步骤和色谱洗脱条件优化过程, 节约分析时间, 减少有机溶剂的消耗, 提高所开发方法的通用性。本报告围绕“数学分离”这一独具特色的分析方法, 系统深入地综述了相关理论及其在色谱领域的应用。理论部分, 系统介绍本实验室发展的多维数据解析方法学、高效多维校正算法、高维色谱数据预处理方法等; 应用部分, 重点介绍多种现代色谱联用技术(如HPLC-DAD、LC-MS等)结合“数学分离”方法在定量方面的基础应用研究, 解决静态乃至动态复杂体系中感兴趣多目标分析物快速精准定量的难题, 同时将“数学分离”用于非靶向代谢组学数据分析, 从复杂重叠和干扰信号中提取有效信息。综上所述, “数学分离”策略已很好地实现了各种复杂体系中多组分的快速、同时、绿色定性定量分析, 有望开发为新一代智能色谱仪的嵌入式软件, 为复杂生化体系的色谱分析赋能。

参考文献:

1. H.L Wu, T. Wang, R.Q. Yu, *Trends Anal. Chem.* **2020**, 130, 115954.
2. H.L Wu, M. Shibukawa, K. Oguma, *J. Chemom.* **1998**, 12, 1-26.
3. H.L Wu, Y. Li, R.Q. Yu, *J. Chemom.* **2014**, 28, 476-489.

柱芳烃手性色谱固定相研究

邱洪灯^{1,*}, 李辉¹, 陈佳¹¹中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州, 730000*E-mail: hdqiu@licp.cas.cn

关键词: 柱芳烃; 色谱分离; 固定相; 手性分离; 色谱柱

手性是自然界的普遍特征, 建立有效的手性化合物拆分方法对于手性产品质量控制及毒理、代谢行为研究等具有重要意义。基于手性固定相的液相色谱法作为目前手性拆分的最广泛使用方法之一, 其核心和关键在于手性固定相的制备。最近, 我们团队构建了几种基于柱[5]芳烃改性硅胶手性色谱固定相并用于手性药物的拆分, 取得了良好的研究结果。

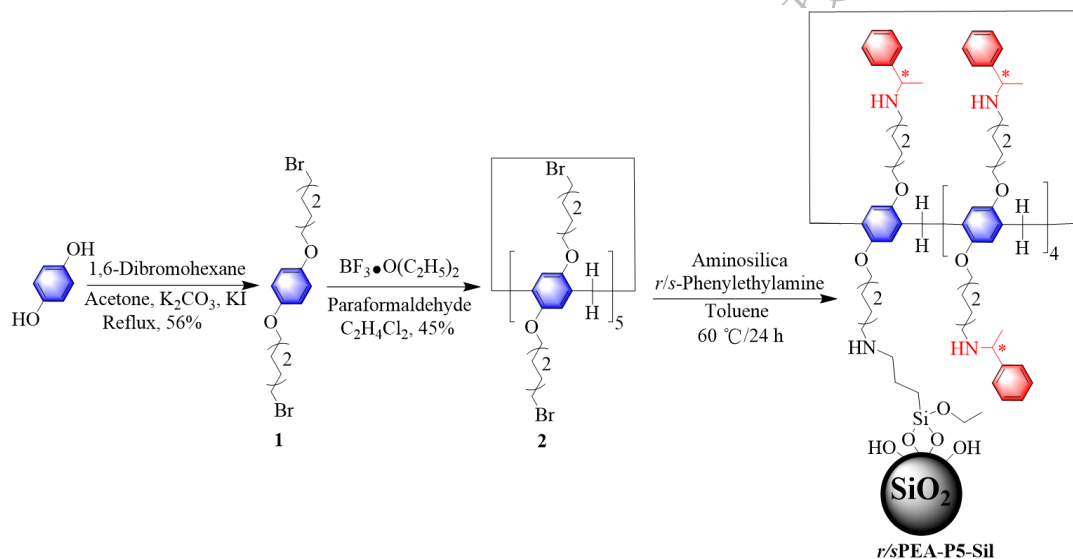


图 1. 苯乙胺修饰溴己氧基柱芳烃手性色谱固定相的合成示意图

参考文献

1. C. Shi, H. Li, X. Shi, L. Zhao, H. Qiu, Chiral pillar[5]arene-functionalized silica microspheres: synthesis, characterization and enantiomer separation, *Chemical Communications*, 2022, 58, 3362-3365.
2. C. Shi, H. Li, X. Shi, L. Zhao, H. Qiu, Chiral pillar[n]arenes: conformation inversion, material preparation and applications, *Chinese Chemical Letters*, 2022, 33, 3613-3622.
3. H. Li, K. Quan, X. Yang, Z. Li, L. Zhao, H. Qiu, Recent developments for the investigation of chiral properties and applications of pillar[5]arenes in analytical chemistry, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 122, 116026.

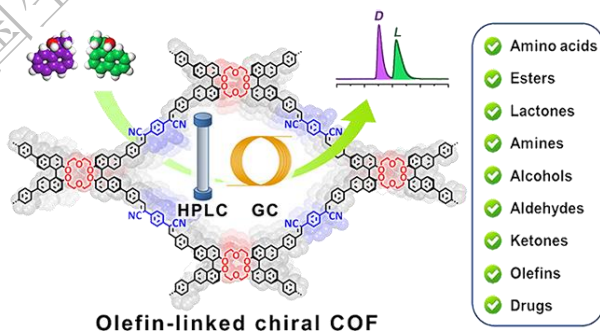
手性共价有机框架用作色谱固定相的研究

袁晨^{1,2}, 贾文燕³, 禹紫云³, 李亚楠³, 字敏³, 袁黎明^{3*}, 崔勇^{2*}¹四川大学分析测试中心, ²上海交通大学化学化工学院, ³云南师范大学化学化工学院通讯联系人 E-mail: yuan_limingpd@126.com, yongcui@sjtu.edu.cn

对映体的分离在制药、食品和农药工业中至关重要, 因为一对手性对映体分子的生物相互作用、药理学和毒性方面作用往往不尽相同。在不同类型的手性拆分技术中, 手性固定相 (CSP) 色谱法已被证明是分离和获得纯对映体最具吸引力和最常用的方法。多种类的 CSP 已被广泛研究, 例如冠醚、多糖、离子液体、环糊精衍生物和氨基酸衍生物等, 但目前尚未见通用型商品 CSP 可同时用于高效液相色谱 (HPLC) 和气相色谱 (GC)。共价有机框架 (COF) 由于其永久孔隙率和可调结构, 在许多领域显示出巨大的应用潜力。到目前为止, 已有少数手性 COF 被报道用作气相色谱和液相色谱的 CSP。但是这些手性 COF 基 CSP 通常表现出不理想的分离因素和分辨率, 这是由于缺乏与分析物相互作用的强手性识别位点。此外, 由于手性 COF 基本通过亚胺键连接, 导致他们化学稳定性受限, 往往只能在正常相和极性有机条件下使用, 在反相 HPLC 的条件下使用少有报道。

基于上述背景, 我们设计合成了基于二联萘 22-冠-6 骨架的四齿醛基单体, 并进一步将其与对苯二乙腈和联苯二乙腈在氢氧化钾的催化下发生 Knoevenagel 反应, 制备了两例 C=C 键连接的手性 COF (CCOF 17 和 18)。它们具有相同的 2D 层状多孔结构, 在不同的化学环境 (包括水、有机溶剂、酸和碱) 和高温环境下表现出高稳定性。冠醚作为手性识别位点, 在 COF 通道内周期性排列, 其能够与客体分子之间产生丰富的分子间相互作用, 因此 CCOF 17 和 18 作为 CSP 能够表现出良好的手性分离能力。此外, CCOF 17 和 18 填充的 HPLC 和 GC 柱显示出良好的互补性, 每种柱都具有高分辨率、选择性和耐久性, 可用于分离多种外消旋化合物, 包括氨基酸、酯、内酯、酰胺、醇、醛、酮和药物。其拆分性能可与最广泛使用的商用手性柱相媲美, 且通用性甚至优于商品柱, 显示出广阔的商品化应用前景。

该工作首次报道将 C=C 键连接的手性 COF 用作 HPLC 和 GC 的通用型、普适性色谱固定相, 实现了对多种手性化合物的高效分离。该工作证明手性 COF 有潜力成为解决手性分离领域关键问题的新型材料, 为今后设计合成更多高稳定性的新型 CSP 提供了新思路。



参考文献: (5 号宋体或 Times New Roman, 单倍行距)

1. C. S. Diercks; O. M. Yaghi, *Science* **2017**, *355*, eaal1585.
2. C. Yuan; X. Wu; R. Gao; X. Han; Y. Liu; Y. Long; Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 20187-20197.
3. C. Yuan; S. Fu; K. Yang; B. Hou; Y. Liu; J. Jiang; Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 369-381.
4. C. Yuan; W. Jia; Z. Yu; Y. Li; M. Zi; L.-M. Yuan; Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 891-900.

化学标记高灵敏质谱分析在蛋白修饰调控免疫激活研究中的应用

刘莹, 陈煜楠, 沈旭洋, 周颖琳, 周江, 张新祥*

北京分子科学国家研究中心, 生物有机与分子工程教育部重点实验室

北京大学化学与分子工程学院 北京大学分析测试中心

通讯联系人 E-mail: zxx@pku.edu.cn

琥珀酸化修饰是富马酸通过非酶促反应修饰到蛋白质某些半胱氨酸残基上的过程, 其修饰产物称为S-(2-琥珀酸)半胱氨酸 (S-(2-succino) cysteine, 2SC)。该修饰丰度低, 且缺乏与其他常见氨基酸相区分的特征性反应基团和理想的抗体, 限制了分析方法的开发和深入的功能研究^[1, 2]。

本工作利用琥珀酸化修饰的结构特点, 开发了基于化学标记的高效检测方法, 通过化学标记对2SC的三个羧酸基团进行衍生化, 增加疏水性, 提高标记产物在高效液相色谱-质谱检测中的离子化效率, 使检测灵敏度降至0.885 fmol, 并将方法运用于不同激活状态的免疫细胞中2SC整体含量的检测, 发现了2SC丰度与免疫细胞激活的潜在关系^[3]。开发了一种基于活性分子探针的富集鉴定方法, 利用带有点击化学反应基团的探针模拟琥珀酸化修饰, 通过质谱鉴定到1584种修饰蛋白及相应的关键蛋白修饰位点, 揭示了富马酸通过琥珀酸化修饰改变关键蛋白结构稳定性从而抑制免疫细胞激活的作用机制。将开发的化学标记方法与毛细管电泳-质谱检测相结合, 进一步提高了检测灵敏度, 用于生物样本检测和免疫激活机制的研究。

本工作通过质谱技术实现了琥珀酸化修饰整体丰度的检测、修饰蛋白和修饰位点鉴定, 拓展化学标记方法的应用领域, 并为生物学意义研究提供技术支持。

参考文献:

1. Harmel, R.; Fiedler, D. *Nat. Chem. Biol.* **2018**, 14, 244-252.
2. Merkley, E. D., Metz, T. O., Smith, R. D., Baynes, J. W. & Frizzell, N. *Mass Spectrom. Rev.* **2014**, 33, 98-109.
3. Liu, Y.; Chen, Y. N.; Cheng, J.; Yan, J. X.; Xue, C. Y.; Pan, H. Y.; Shen, X. Y.; Zhou, J.; Jiang, P.; Zhou, Y. L.; Zhang, X. X. *Anal. Chem.* **2023**, 95, 1817-1822.

细胞器及亚细胞器分辨的蛋白质组分析

安雨馨, 王鹤, 赵群, 江波, 张丽华*, 张玉奎

中国科学院大连化学物理研究所

通讯联系人 E-mail: lihuazhang@dicp.ac.cn

蛋白质是生物体进行生命活动的主要执行者。通过形成复合物, 进而构建相互作用网络来精准调控各种生物活动过程。在真核细胞中, 细胞被划分为不同的细胞器以及更为精细的亚细胞器结构, 为蛋白质复合物提供不同的微环境和相互作用底物。因此, 蛋白质复合物的功能与其亚细胞器定位密切相关。近期课题组致力于发展空间分辨的蛋白质组成及复合物原位结构解析新方法, 以期精准揭示蛋白质的生物学功能提供关键技术支撑和重要数据基础。

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术研讨会

发现基于金属天然同位素指纹的疾病标志物

王伟超, 张璐瑶, 令伟博, 陈子谷, 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

Email: qianliu@rcees.ac.cn

稳定同位素指质子数相同、中子数不同的非放射性元素形式。自然界多数元素具有多个天然稳定同位素, 且组成相对恒定。特定来源的元素可能具有特定的稳定同位素组成范围, 即具有特定的稳定同位素指纹。而一些物理、化学和生物过程能够不断地对同位素进行分离, 造成元素的同位素组成在一定范围内变化, 即产生稳定同位素分馏。目前已有研究发现一些疾病发生过程中存在稳定同位素分馏现象, 如Walczyk和von Blanckenburg报道人血液具有长期稳定的Fe同位素组成, 而血色沉着病能造成血液中Fe同位素分馏。Balter等人报道了肝癌患者血液中存在Cu和S同位素分馏。因此, 稳定同位素分馏提供了不同以往的技术手段, 可以提供新的研究视角来揭示疾病发生发展的诱因和途径。我们发现疾病的发生能够导致一些重要生理元素产生特定的稳定同位素分馏效应。因此, 通过研究疾病诱导的同位素分馏效应, 能够辨析导致元素指标异常的来源、关键生理过程和分子机制。我们的研究表明, 膀胱癌、前列腺癌、自身免疫疾病等疾病均能导致血液中发生显著的Cu同位素分馏, 且同位素组成对于疾病的响应灵敏度远高于浓度响应。因此, 血液金属稳定同位素指纹有望成为一种新的疾病标志物, 广泛应用于疾病风险预警、早期诊断、治疗干预等方面。

关键词: 稳定同位素分馏、金属元素、疾病诊断、生物标志物、指纹

本研究受国家自然科学基金项目(22050001、21815403)资助。

参考文献:

- [1] Walczyk, T.; von Blanckenburg, F. Natural Iron Isotope Variations in Human Blood, *Science* 2002, 295, 2065-2066.
- [2] Krayenbuehl, P.-A.; Walczyk, T.; Schoenberg, R.; von Blanckenburg, F.; Schulthess, G. Hereditary hemochromatosis is reflected in the iron isotope composition of blood. *Blood* 2005, 105, 3812-3816.
- [3] Balter, V.; da Costa, A. N.; Bondanese, V. P.; Jaouen, K.; Lamboux, A.; Sangrajrang, S.; Vincent, N.; Fourel, F.; Télouk, P.; Gigou, M.; Lécuyer, C.; Srivatanakul, P.; Bréchet, C.; Albarède, F.; Hainaut, P. Natural variations of copper and sulfur stable isotopes in blood of hepatocellular carcinoma patients. *PNAS* 2015, 112, 982-985.
- [4] Liu, Q.; Hintelmann, H.; Jiang, G. Natural stable isotopes: new tracers in environmental health studies. *Natl. Sci. Rev.* 2016, 3, 410.
- [5] Wang, W.; Liu, X.; Zhang, C.; Sheng, F.; Song, S.; Li, P.; Dai, S.; Wang, B.; Lu, D.; Zhang, L.; Yang, X.; Zhang, Z.; Liu, S.; Zhang, A.; Liu, Q.; Jiang, G. Identification of two-dimensional copper signatures in human blood for bladder cancer with machine learning. *Chem. Sci.* 2022, 13, 1648-1656.

基于活性多肽的选择性识别测量

王蔚芝*

北京理工大学，北京市海淀区中关村南大街 5 号，100081

*Email: wangwz@bit.edu.cn

在复杂生理体系中，针对特定目标物实现高选择性识别是高效分离和精准测量的基础。具有选择性分子识别功能的活性多肽，不仅对目标物具有亲和力与特异性，还具有可化学合成修饰及组装等优势，成为探究识别作用规律的重要工具之一。通过理性分子设计结合微流控筛选等技术开发新型识别多肽，可助力高选择性化学测量的纵深发展。通过对活性多肽多级结构的精准设计裁剪，提出了复杂体系中多元分子识别作用有序解析新机理。建立了微流控芯片分子定向进化新方法，拓宽了分子筛选的通量和维度。开发了一系列针对复杂体系高选择性识别的新型多肽探针并发展了复杂生理体系中痕量目标物（蛋白、细胞、细胞器等）的分离与测量应用。

关键词：分子识别；多肽；选择性；微流控芯片

参考文献

- [1] Zhang, L.; Li, M.; Wang, M.; Li, L.; Guo, M.; Ke, Y.; Zhou P.; Wang W.* Angew. Chem. Int. Ed. **2022**, 61: e202212527.
- [2] Li, L.; Li, M.; Wang, M.; Zhang, L.; Yu, Y.; Zhang, J.*; Ma, B.*; Wang, W.* ACS Nano, 2022, 16: 16332.
- [3] Zhang, L.; Tian, Y.; Li, M.; Wang, M.; Wu, S.; Jiang, Z.; Wang, Q.; Wang, W.* Chem. Sci. 2022, 13: 14052.

纳径液相色谱用于生物分析的研究

张文美, 郭广生, 汪夏燕*

北京工业大学化学系

E-mail: xiayanwang@bjut.edu.cn

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 106 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. Wang, L. Liu, Q. Pu, Z. Zhu, G. Guo, H. Zhong, S. Liu, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134, 7400-7405.
2. W. Zhang, L. Liu, Q. Zhang, D. Zhang, Q. Hu, Y. Wang, X. Wang, Q. Pu, G. Guo, *Chem. Commun.*, **2020**, 56, 2423-2426.

蛋白质凝聚体相分离分析新方法研究

刘笔锋* 李一伟 李鹏杰

华中科技大学生命科学与技术学院，武汉，430074

*Email: bfliu@mail.hust.edu.cn

摘要正文

真核细胞具有复杂的亚细胞结构，在空间和时间上协调细胞功能，例如具有膜结构的线粒体、高尔基体等。同时，细胞内也存在无膜结构的细胞器如核小体、核仁等，这些结构越来越多地被称为生物分子凝聚体^[1]。越来越多的证据表明液-液相分离（Liquid-liquid phase separation, LLPS）是细胞中无膜细胞器（如核仁等）形成的普遍机制。生物分子凝聚体相分离研究和应用研究正发展成为国际生命科学研究的新视点，但目前仍然缺乏高通量的内源性相分离蛋白质筛选方法，且不断被发掘的相分离蛋白质迫切需要高通量技术来测定其相分离行为。本文提出高通量蛋白质凝聚体分析新方法研究：1、基于微流控芯片技术^[2]，建立了一种快速、高通量的生物分子凝聚体相图测定方法，其测定相分离临界饱和浓度的检测限比传统浊度法低约 5 倍，为快速、高通量的获取蛋白质凝聚体相图提供新技术支撑；2、将蔗糖密度梯度离心方法与质谱质谱技术结合，提出一种高通量的内源性相分离蛋白质筛选与鉴定策略，在蛋白质组学水平筛选内源性相分离蛋白质，成功筛选出 1215 个候选相分离蛋白质，其中 462 个从未被报道。通过共聚焦成像验证了相分离蛋白质在细胞内的相分离行为，证明了该方法的准确性；3、以转化生长因子- β （Transforming growth factor- β ，TGF- β ）为例，成功鉴定出其诱导的生物学过程中的发生相分离的蛋白质。上述研究为内源性相分离蛋白质的筛选、相分离行为分析及生物学功能研究提供了新的参考。

参考文献：

1. Y. Shin, C. P. Brangwynne, *Science*, **2017**, 357: eaaf4382.
2. P. Li, X. Zeng, S. Li, X. Xiang, P. Chen, Y. Li, B.-F. Liu. *Anal. Chem.*, **2022**, 94: 687.

激酶抑制剂筛选新方法

卿光焱^{1,*}, 李闵闵¹, 常永新¹, 熊雨婷¹¹ 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

*Email: qinggy@dicp.ac.cn

在美国食品药品监督管理局批准的51种针对癌症的小分子激酶抑制剂, 41种靶向酪氨酸激酶, 在慢性粒细胞白血病、非小细胞肺癌、肾细胞癌部分人群的治疗中发挥了有效作用, 然而迫切需要开发针对其他种类癌症的抑制剂。在其筛选过程中, 最常用手段是³²P放射性同位素标记法, 存在放射性污染、且需要费时的膜过滤操作。酶联免疫吸附法抗体成本高昂、且需要繁琐的清洗分离。荧光法需要根据肽链的序列进行特定设计, 且标记、分离过程繁琐。研制一种通用、高效、低成本、免标记的酪氨酸磷酸化检测方法, 且能用于激酶抑制剂筛选十分重要。通过模仿蛋白质中精氨酸与酪氨酸磷酸盐残基的相互作用, 设计了含多胍基的智能聚合物, 并将其修饰到锥型纳米孔道内, 制备出一种功能离子通道器件。聚合物依托苯基胍精确地识别磷酸化位点, 并且能将这种分子层面的识别作用, 放大到聚合物链由舒展向紧缩的构象变化上, 并进一步被转换为通道离子电流“关闭-开放”的变化, 实现对磷酸化肽的灵敏检测, 实时监测激酶催化下的酪氨酸磷酸化反应, 展现出用于激酶抑制剂筛选的潜力。开发了分子构型可逆冻结的策略, 借助荧光显著的从猝灭向增强的转变, 实现免标记、通用、高通量的激酶抑制剂筛选, 并能用于多激酶催化的磷酸化反应的监测中。^[1]

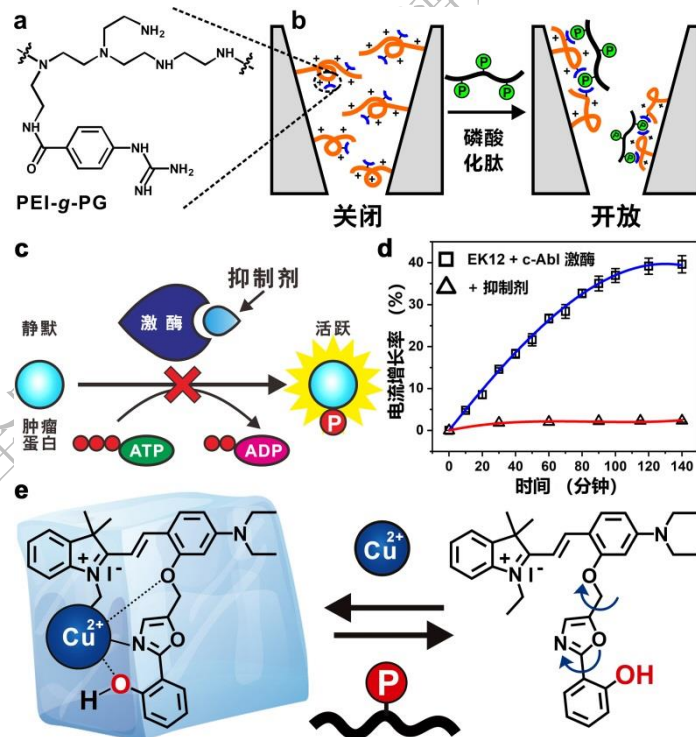


Fig. 1 Two novel kinase inhibitor screening strategy

关键词: 酪氨酸磷酸化; 激酶; 纳米孔; 检测; 药物筛选

参考文献

[1] Li, M. M.; Xiong, Y. T.; Liang, X. M.; Qing, G. Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*: 16324.

Novel Screening Method for Kinase Inhibitors

Guangyan Qing^{1,*}, Minmin Li¹, Yongxin Chang¹, Yuting Xiong¹

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

Abstract 51 small molecule kinase inhibitors targeting cancer and 41 targeting tyrosine kinases approved by the U.S. Food and Drug Administration have been effective in the treatment of chronic myeloid leukemia, non-small cell lung cancer, and renal cell carcinoma in some populations. However, there is an urgent need to develop inhibitors against other types of cancers. In the screening process, the most commonly used method is the ³²P radioisotope labeling method, which has radioactive contamination and requires time-consuming membrane filtration operations. ELISA antibodies are expensive and require tedious wash separations. The fluorescence method requires a specific design according to the sequence of the peptide chain, and the process of labeling and separation is cumbersome. It is very important to develop a general, efficient, low-cost, label-free tyrosine phosphorylation detection method that can be used for kinase inhibitor screening. By imitating the interaction between arginine and tyrosine phosphate residues in proteins, smart polymers containing polyguanidine groups were designed and modified into tapered nanopores to prepare a functional ion channel device. The polymer relying on phenylguanidine accurately recognizes the phosphorylation site, and could amplify this molecular-level recognition to the conformational change of the polymer chain from a stretching to contracting state, and further convert the channel ion current "Off-Open" changes, realizing sensitive detection of phosphorylated peptides, real-time monitoring of tyrosine phosphorylation reactions catalyzed by kinases, and showing the potential for kinase inhibitor screening. We further developed a novel strategy based on reversible freezing of molecular conformation, enabling label-free, versatile, high-throughput screening of kinase inhibitors with a dramatic change in fluorescence from quenching to enhancement, and was capable of monitoring phosphorylation reactions catalyzed by multiple kinases.

利用单细胞质谱解析胰腺癌免疫微环境

王浩, 陈璐, 陈瑞冰*

天津大学药物科学与技术学院, 天津, 300072

通讯联系人 E-mail: rbchen@tju.edu.cn

肿瘤生长不仅取决于肿瘤细胞本身的遗传物质及细胞功能的改变, 同时也与由基质、血管、浸润炎症细胞等构成的肿瘤微环境密切相关。越来越多的证据表明, 肿瘤免疫微环境能够通过影响肿瘤血管生成、肿瘤细胞转移、颠覆抗肿瘤免疫应答及改变肿瘤细胞对化疗药的敏感性等方面调控肿瘤的生长和进展。近十年, 肿瘤免疫治疗取得了重大突破, 尤其是免疫检查点抑制剂的出现为肿瘤治疗提供了新的契机。免疫检查点是指通过共抑制或共刺激信号调节 T 细胞活性, 以防止在正常情况下发生自身免疫疾病的功能, 肿瘤可以通过使用这些机制以逃逸抗肿瘤免疫反应。针对 PD-1/PD-L1 及 CTLA-4 等免疫检查点阻断治疗在多种肿瘤的临床治疗中展现了良好的疗效, 尤其是对黑色素瘤、肺癌、肾癌等癌种。然而这些治疗方法在某些类型的肿瘤中却没有明显效果。进一步解析肿瘤免疫微环境的构成及免疫检查点分子在肿瘤免疫微环境中的表达和分布情况对了解免疫抑制机制、克服免疫治疗抵抗、发展新的联合治疗方法具有重要意义。

本研究中, 我们利用联合流式细胞仪和 ICP 质谱的流式质谱 (Mass Cytometry) 技术对胰腺癌浸润免疫细胞, 尤其是 T 细胞, 进行了单细胞水平的高通量表征, 从而对胰腺癌的免疫微环境中不同类型的细胞进行精确分型, 并系统性地描述了多个免疫检查点分子的表达和分布。我们收集了手术切除胰腺癌患者的瘤体、胰腺炎患者的组织样本及对应的外周血样本, 制成单细胞悬液, 然后利用 33 个免疫标志物金属共轭抗体进行细胞标记, 并在流式质谱仪上进行数据采集。接下来, 利用 t-SNE 及 phenograph 等数据分析方法对采集到的高维度数据进行非监督学习可视化及聚类分析。基于上述分析, 在胰腺癌组织中鉴定出 23 个不同的 T 细胞亚群, 其中部分亚群在肿瘤组织中的比例与外周血中的比例存在显著差异。肿瘤组织免疫微环境的主要成分为 T 淋巴细胞, 其比例显著高于外周血中的 T 细胞含量。而单核细胞平均只占约 2.8%, 远低于外周血中的单核细胞比例。进一步对 T 淋巴细胞分析发现, CD4+T 细胞占肿瘤浸润 T 细胞平均约 34%, CD8+T 细胞平均占约 63%; 而在外周血 T 淋巴细胞中, CD4+T 细胞平均占约 58%, CD8+T 细胞平均占约 26.4%。另外, 我们观察到 PD-1 在肿瘤浸润的不同族群 T 细胞中广泛表达, 而其它免疫检查点分子则水平极低, 只能在部分样本的个别 T 细胞亚群上观察到包括 LAG3、CTLA-4、TIM3 在内的共抑制免疫检查点分子表达。

这些实验结果提示: 1. 胰腺癌浸润免疫细胞的构成显著区别于外周血; 2. T 细胞, 尤其是 CD8+T 细胞, 在胰腺癌的免疫微环境中可能起到重要作用; 3. PD-1 在胰腺癌的免疫微环境中高度表达说明发展以 PD-1 免疫检查点抑制为基础的联合治疗方法有可能在一些胰腺癌患者中起到较好疗效。

关键词: 质谱流式, 单细胞分析, 胰腺癌, 免疫微环境, 免疫检查点

本研究受国家自然科学基金面上项目 21974094 资助。

参考文献:

1. Chevrier S, Levine JH, Zanutelli VRT, Silina K, Schulz D, et al, Cell., 2017, 169(4), 736-749.
2. Lavin Y, Kobayashi S, Leader A, Amir ED, Elefant N, et al, Cell., 2017, 169(4), 750-765.

单细胞代谢组学分析新方法研究

丰迪生, 李航, 徐天润, 窦鹏, 胡学森, 浦斯敏, 周丽娜, 胡春秀, 石先哲, 许国旺*

中国科学院大连化学物理研究所, 大连, 116023

通讯联系人 E-mail: xugw@dicp.ac.cn

组织、体液和细胞的代谢组学分析在生命科学的各个领域正在发挥越来越重要的作用。传统的细胞代谢组学一般需要数百万个细胞, 在一些特殊情况下, 如干细胞、循环肿瘤细胞、原代细胞等, 细胞的数量非常有限, 传统的代谢组学分析方法就有问题。有必要开发用于少量细胞和单细胞分析的新方法。另一方面, 生物系统由异质的细胞群组成, 这些细胞群相互作用形成功能性活组织, 以空间分辨的模式在单细胞水平上表征代谢谱非常重要。不仅如此, 为让建立的方法能服务于细胞生物学研究和实际应用, 有必要在生理条件下对大量细胞进行分析。因此, 需要高通量的单细胞分析方法。

在过去的几年里, 我们专注于开发、尝试基于质谱 (MS) 的单细胞和少量细胞的分析技术, 包括毛细管微采样与直接灌注纳喷电离高分辨质谱联用技术、激光微切割样品微操作-MS联用技术、惯性微流控和脉冲电场诱导的ESI-MS技术、ESI-APCI耦合离子源的MS技术及相关数据分析方法。本报告中, 我们将选择性地报告单细胞水平高通量代谢组学研究结果的一些进展。

第十四届全国生物医药色谱质谱学术研讨会

基于 γ -H2AX 和 p-H3 标志物质谱定量评估基因毒物质和预测致癌性

瞿敏敏 陈佳 徐华 谢剑炜*

军事医学研究院毒物药物研究所, 抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850

摘要: 由于受空气、水和食物等污染, 人类不可避免地接触到有毒物质。基因毒性物质属于这些有毒物质中的一类, 它们能够直接或间接损伤 DNA, 导致基因突变、染色体断裂或非整倍体损伤, 且有致癌的可能。近年来已屡次发生在已上市药品中因存在痕量的基因毒性杂质而被强行召回的案例。体外基因毒性试验是物质安全性评估的关键组成部分, 可以用于预测物质对人类的基因毒性及致癌性, 包括 Ames 试验、小鼠淋巴瘤试验、染色体畸变试验和微核试验等。但是, 这些试验都存在低通量、假阳性和灵敏度低的缺点; 另外, 细胞凋亡可能是一个干扰因素; 更重要的是, 它们不能够区别两种重要的基因毒性物质(致染色体断裂化合物和非整倍体化合物)的作用方式。具不同作用方式的基因毒性物质与癌症相关性存在显著差异, 在候选药物的早期筛选过程中, 致染色体断裂化合物会直接被淘汰, 而非整倍体化合物则可用于后续的临床前研究。

组蛋白 H2AX 的 139 位丝氨酸磷酸化(γ -H2AX)是 DNA 损伤的生物标志物, 已被明确为致染色体断裂化合物基因毒性特异性效应指标; 而组蛋白 H3 的 10 位丝氨酸磷酸化(p-H3)是细胞有丝分裂标志物, 研究表明其是非整倍体基因毒性特异性效应指标。 γ -H2AX 和 p-H3 组合策略为基因毒性评估提供新思路。鉴于物质的遗传毒性机制是癌症风险评估的重要组成部分, 本研究利用质谱技术, 建立灵敏及特异的 γ -H2AX 和 p-H3 蛋白磷酸化和非磷酸化肽段液质方法, 在敏感细胞株模型(HeLa、HepG2)上, 分析经典基因毒性化合物与细胞中 γ -H2AX/H2AX、p-H3/H3 之间的量时效关系, 并开展基因毒物质致癌性的预测研究。

量效关系阐明, 致染色体断裂化合物如喜树碱等在低浓度时引起细胞中 γ -H2AX 增加, 高浓度时引起细胞中 p-H3 降低; 非整倍体化合物如秋水仙碱等在高浓度时引起细胞中 γ -H2AX 降低或不变, 低浓度时引起细胞中 p-H3 增加; 而细胞毒性毒胡萝卜素却使 γ -H2AX 和 p-H3 均降低。喜树碱时效关系阐明, 在 DNA 损伤初期, 即染毒前 30 分钟内, γ -H2AX 呈现上升的趋势, 表明 DNA 损伤速度比修复速度要快; 在 DNA 损伤中期, 即染毒 30 分钟至 8 小时期间, γ -H2AX 和 p-H3 均呈现下降的趋势, 且 γ -H2AX 下降速度是先快后慢, 表明细胞修复机制已完全激活, 修复占主导地位, 说明 DNA 损伤时, 为了促进修复, 转录被抑制, 进而导致 p-H3 亦呈现下降趋势, 同时根据 γ -H2AX 下降速度快慢可以初步判断致染色体断裂化合物致癌级别; 而在 DNA 损伤后期, γ -H2AX 和 p-H3 均呈现上升的趋势, 细胞修复达到饱和状态, DNA 转录占主导地位。对于秋水仙碱, 其 p-H3 时效关系呈现时间依赖效应, 但波动范围窄, 我们推测这与 H3 存在多种翻译后修饰有关。与目前的基因毒性评价方法相比较, 本方法不仅能对不同基因毒性作用机制的物质做出灵敏及准确的定量区分, 而且能够对基因毒性物质影响 DNA 损伤、修复及转录过程进行动态监测, 进一步对物质的致癌级别进行初步判断, 最终为癌症风险评估提供新思路。

关键词: 基因毒性物质 γ -H2AX p-H3 致癌性 质谱定量

参考文献:

1. Kopp D, Dario M, Zalko D et al (2018) Assessment of a panel of cellular biomarkers and the kinetics of their induction in comparing genotoxic modes of action in HepG2 Cells. *Environ Mol Mutagen* 59:516-528.
2. Minmin Qu, Hua Xu, et al (2020) Distinct orchestration and dynamic processes on γ -H2AX and p-H3 for two major types of genotoxic chemicals revealed by mass spectrometry analysis, *Chem. Res. Toxicol.*, 33,2108-19.

茶叶中重金属的激光质谱快速分析法

杭纬*

厦门大学化学化工学院, 邮编 361005

E-mail: weihang@xmu.edu.cn

生命体是一个有机的统一的整体,大部分营养元素的过剩和不足都会对动植物体造成不良影响。很多重金属生物体内积累过剩则会出现中毒症状。目前,最受关注的重金属有汞、镉、铬、铅、铜、砷、锌、锡等。尽管锰、铜、锌等重金属是生命活动所需要的微量元素,但是大部分重金属如汞、铅、镉等并非生命活动所必需。植物重金属中毒的症状一般表现为:根系发育异常,地上部青枯,叶片失绿等,严重时全株死亡。这些重金属通常不能被生物降解,相反却能在食物链的生物放大作用下,成千百倍地富集,对生物体的危害及其严重。

生物样品中含有大量的蛋白质、维生素、糖类等有机物,基体较复杂。用普通的溶液进样方法,需经过复杂的前处理程序和方法校正程序。而激光微探针质谱等固体直接分析技术能大大减少样品前处理带来的麻烦。本研究尝试采用激光电离飞行时间质谱用于茶叶等样品的元素直接分析,致力于减少谱峰干扰严重、提高质量分辨率、实现生物样品的半定量分析。选用植物标准物质—茶叶标准样品等探讨激光电离飞行时间质谱直接分析生物样品的可行性。通过研究静电透镜与六级杆对轻质量元素分析的影响、激光功率密度对元素 RSC 的影响、离子源气压对元素 RSC 以及谱图干扰影响和掺入铜粉对分析的影响,综合考虑不同生物样品对激光吸收和透射效率等因素,初步确立了茶叶等样品元素半定量分析的方法。总之,采用激光直接进样方式对固体样品进行直接分析,减少了样品预处理和消解的时间和由此造成的误差,节省人力、物力和财力。

关键词: 激光质谱、重金属、茶叶

参考文献:

1. L. Chen, L. Lin, Q. Yu, X. Yan, W. Hang*, J. He, B. Huang, "Semiquantitative Multielemental Analysis of Biological Samples by a Laser Ionization Orthogonal Time-of-Flight Mass Spectrometer", *J Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2009, 20, 1355-1358.
2. Y. Meng, L. Hang, W. Hang*, Direct determination of nutrient and toxic elements in original kelp by high irradiance laser ionization time-of-flight mass spectrometry, *Spectrochim. Acta B*, 2021, 176, 106041.

细菌感染中的蛋白质翻译后修饰研究

刘小云

北京大学基础医学院病原生物学系, 北京 100191

Email: xiaoyun.liu@bjmu.edu.cn

很多病原细菌都具有独特的分泌系统, 在感染过程中可通过分泌系统向宿主细胞分泌毒力因子(或称效应蛋白)。这些效应蛋白通常是一些具有生化活性的酶, 它们可通过蛋白质翻译后修饰实现对宿主细胞重要信号通路的操控, 从而达到促进细菌入侵及增殖的目的。志贺氏菌(*Shigella flexneri*)是一种重要的食源性肠道致病菌, 它具有三型分泌系统, 可向宿主细胞分泌多个效应蛋白。在这些效应蛋白中, 目前生物学功能研究清楚的仍然较少。前人研究工作发现志贺氏菌三型效应蛋白 OspC3 可显著抑制细菌感染过程中所引起的宿主细胞炎性死亡(即焦亡)。OspC3 可与焦亡信号通路中关键蛋白 Caspase 4 的 p19 亚基发生特异性互作, 阻止该蛋白 p19 与 p10 亚基形成异源二聚体, 进而抑制 Caspase 4 的活化。然而效应蛋白 OspC3 与 Caspase 4 互作的具体分子机制仍然未知。我们与北京生命科学研究所以邵峰实验室合作, 通过高精度质谱解析以及一系列体外生化实验成功发现 OspC3 可催化一种全新的蛋白质翻译后修饰。该酶促反应偶联了化学脱氨与经典的 ADP 核糖基化修饰(ADP-ribosylation), 我们将其命名为 ADP-ribosylation。该修饰发生在宿主靶标蛋白 Caspase 4 的第 314 位精氨酸上, 从而抑制了 Caspase 4 以及下游蛋白 GSDMD 的激活。因此, 我们的研究发现揭示病原细菌进化出一种全新的抑制宿主焦亡的途径, 并在分子水平阐明了效应蛋白 OspC3 在志贺氏菌感染中的毒力机制。

参考文献:

- [1] Kobayashi T,...Sasakawa C*. *Cell Host Microbe*, **2013**, 13, 570-583.
- [2] Qiu J,... Liu X, Luo ZQ*. *Nature*, **2016**, 533, 120-124.
- [3] Wang Z,... Luo ZQ*, Liu X*. *Cell Discov.*, **2018**, 4, 53.
- [4] Niu Y,...Liu X*, Feng Y*. *Mol. Cell*, **2020**, 80, 512-524.
- [5] Li Z,...Liu X*, Ding J, Shao F*. *Nature*, **2021**, 599, 290-295.

基于位阻效应的化学富集法分析精氨酸二甲基化蛋白质组

王麒 叶明亮*

中国科学院大连化学物理研究所，邮编：116023

*Email: mingliang@dicp.ac.cn

蛋白质精氨酸甲基化在众多生理过程中都起着重要的调控作用，它的失调可能导致多种疾病的发生。研究表明，精氨酸二甲基化会影响一些神经退行性疾病相关蛋白的液-液相分离。然而，这类研究只聚焦于少数几个蛋白，尚未有研究全局性地鉴定和表征过精氨酸二甲基化对蛋白质相分离的影响。在本研究中，我们首先利用二甲基化修饰对精氨酸残基反应活性的影响，开发了一种基于位阻效应的精氨酸二甲基化肽段富集方法。在此方法中，无修饰和单甲基化修饰的精氨酸残基首先被环己二酮选择性地封闭；然后，通过与丙酮醛反应，二甲基化精氨酸残基会被选择性地修饰上一个顺式邻二羟基，从而使硼亲和色谱可以将其富集。通过结合LC-MS分析，这一方法最终实现了蛋白质组水平上的精氨酸二甲基化分析。相比传统的免疫亲和富集法，该方法拥有更强的精氨酸二甲基化肽段富集能力，并且更擅长于鉴定RG/RGG序列上的精氨酸二甲基化位点。随后，我们利用此方法全局性地分析了应激颗粒形成过程中精氨酸二甲基化的动态变化，并由此发现G3BP1、FUS、hnRNPA1和KHDRBS1蛋白的富含RG/RGG区域上发生了精氨酸二甲基化的变化。经体外实验验证，精氨酸二甲基化会显著抑制上述这些蛋白区域的液-液相分离能力。总而言之，本研究开发了一种富集精氨酸二甲基化肽段的化学方法，并利用这一方法揭示了精氨酸二甲基化在无膜细胞器和蛋白质液-液相分离调控中扮演着重要角色。

关键词：精氨酸二甲基化；蛋白质组学；硼亲和色谱；无膜细胞器；蛋白质液-液相分离

光亲和标记化学蛋白质组学和非靶向代谢组学的集成分析发现

AHCY 作为阿霉素的脱靶

钱珊珊, 韩颖, 张越, 杜亚楠, 李京, 杨鑫, 康经武*

中国科学院上海有机化学研究所生命有机化学国家重点实验室, 上海市零陵路 345 号 200032

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

药物靶标鉴定对于了解药物的作用机制至关重要。但是鉴定药物的靶标依然是一件令人生畏的工作。目前也没有通用的研究方法用于靶标鉴定。在此,我们以阿霉素 (DOX) 为模型,报告了一种药物靶标鉴定的新策略。我们将光亲和标记的化学蛋白质组学与非靶向代谢组学构成的集成分析对药物靶标(或脱靶)进行去卷积。制备并应用 DOX 衍生的光亲和探针以捕获活细胞中的 DOX 相互作用蛋白。然后通过无标记定量 (LFQ) 蛋白质组学鉴定捕获的 DOX 相互作用蛋白。以高置信度鉴定了总共 151 种重要蛋白质(倍数变化 > 4, p 值 < 0.005)。GO (基因本体) 富集分析表明,这些蛋白质主要参与碳代谢、柠檬酸循环以及脂肪酸代谢和代谢途径。此外,非靶向代谢组学用于量化药物治疗后细胞生化反应中显著改变的代谢物。KEGG富集分析表明,DOX主要干扰嘧啶和嘌呤代谢、碳代谢、蛋氨酸代谢和磷脂酰胆碱生物合成过程。化学蛋白质组学和代谢组学的集成分析表明,腺苷高半胱氨酸酶 (AHCY) 是 DOX 的一个新靶标(脱靶),导致 S-腺苷高半胱氨酸 (SAH) 的积累。我们的猜测通过重组AHCY和ITDR-CETSA实验以及siRNA敲低的生化测定得到证实。综合所有数据,我们的结果表明,AHCY 是 DOX 的脱靶。我们的工作提供了一种在蛋白质组规模上分析活细胞中抗癌药物靶蛋白的通用方法。

关键词: 靶标鉴定、化学蛋白质组学、非靶向代谢组学、阿霉素、抗肿瘤药物

本研究受国家自然科学基金 92053101, 21775158 项目资助。

参考文献:

1. S. S. Qian, Y. Han, Y. Zhang, Y. N. Du, J. Li, X. Yang, J. W. Kang, discovery of AHCY as an off-target of doxorubicin by integrative analysis of photoaffinity labeling chemoproteomics and untargeted metabolomics, *Anal. Chem.* 2022, revised manuscript.
2. L. Gong, Y. Xu, G. Liu, M. M. Zheng, X. Zhang; Y. Han, J. Kang, profiling drug - protein interactions by micro column affinity purification combined with label free quantification proteomics. *Chinese J Chem* **2020**, *38* (12), 1681-1685.
3. U. Rix, G. Superti-Furga, Target profiling of small molecules by chemical proteomics. *Nat chem biol* 2009, *5* (9), 616-624.

毛细管电泳高效筛选多尺度靶标的核酸适配体新方法

屈锋*

北京理工大学生命学院

Email: qufengqu@bit.edu.cn

毛细管电泳是核酸适配体的高效筛选方法。针对不同尺度的靶标(蛋白质、小分子、外泌体)建立多种筛选模式,可以进一步提高筛选效率。我们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。由于核酸与小分子-核酸复合物迁移速率相近,毛细管电泳难以将核酸与小分子-核酸复合物分离,因此常规的毛细管电泳方法不能分离小分子-核酸复合物以及用于筛选小分子适配体。为此,我们建立了动态竞争结合新模式,开展了以小分子多肽为靶标的核酸适配体筛选方法,使 3, 4, 5, 9, 11, 16肽的核酸适配体复合物得以分离,表明毛细管电泳可以用于小分子及小分子多肽的适配体高效筛选。此外,以完整的自然杀伤细胞(NK)外泌体囊泡为靶标,提出了三步进化增强型CE-SELEX筛选策略。通过五轮筛选获得外泌体的特异性核酸适配体。毛细管电泳用于小分子和外泌体的适配体筛选,进一步拓展了毛细管电泳在多尺度靶标核酸适配体筛选中的应用。

第十四届全国生物医药色谱质谱及蛋白质组学大会

新型 TSKgel 色谱柱在生物药物分析与表征中的应用

张琳*

(东曹(上海)生物科技有限公司)

Email: lin.zhang@tosoh.com.cn

关键词: 生物药物, 抗体, 高效液相色谱, 质量控制

随着以单克隆抗体(mAb)为主的生物药物的广泛应用,在开发和生产这些产品的过程中的质控要求也越来越高,需要对各种杂质、结构变体及修饰体进行检测、表征和定量,以监测产品的稳定性。东曹公司为此推出系列创新、高分辨液相色谱柱产品,这里通过具体实例数据说明:新型超高效分子尺寸排阻色谱(SEC)柱—TSKgel UP-SW3000-LS可以对抗体聚体、单体及片段进行更高回收率、分辨率和通量的分析,在SEC/多角光散射(MALS)连用中显示柱流失显著减少,并拥有出色的批次重现性;阳离子交换色谱柱—TSKgel CM-STAT、TSKgel SP-STAT可以对抗体电荷异构体进行高分辨率分析;疏水作用色谱柱—TSKgel Butyl-NPR具有杰出的分辨率和回收率,在ADC药物分析中,可进行药物抗体结合比率(DAR)的测定;亲水作用色谱柱—TSKgel Amide-80可以对抗体聚糖进行高分辨率分析,配合HILIC/MS连用,可用于抗体聚糖谱的表征;TSKgel FcR-III A-5PW可用于可制备在质谱分析(MS)、亲和力(SPR法)、ADCC活性等糖链分析时足够使用的药物量(1~10 mg)。

2. 实验部分

2.1 仪器和主要试剂

HLC 8020 高效液相色谱仪(TOSOH, 日本),异丙醇为色谱纯级、其它试剂均为 AR 级。色谱柱: TSKgel UP-SW3000-LS (4.6 mm I.D.×30 cm); TSKgel FcR-III A-5PW (7.8 mm I.D. x 7.5 cm.)等。

3. 结果与讨论

3.1 新型超高效尺寸排阻色谱柱在抗体分析与表征中的应用

采用 TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱分析 IgG1 (见图 1),实验结果表明:聚体、单体及片段在 MALS 和 UV 检测时,每个峰都有良好的分离,MALS 检测时极低的柱流失,可实现精确分析。连续进样 500 次分析 γ -Globulin (见图 2)。结果说明:色谱柱耐久性和再现性良好。

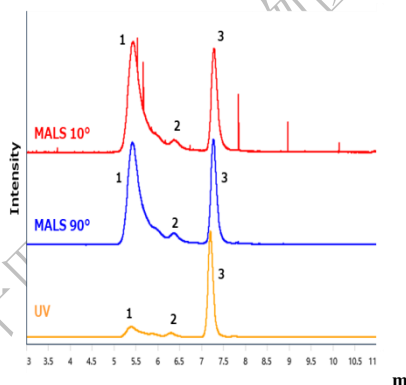


图 1 IgG1 的 SEC-MALS 色谱图

(采用 TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱)

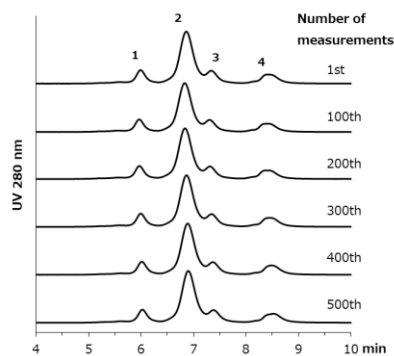


图 2 γ -Globulin 的 SEC 色谱图

(采用 TSKgel UP-SW3000-LS 色谱柱连续 500 次进样)

3.3 TSKgel 离子交换色谱柱在抗体分析与表征中的应用

采用 TSKgel 无孔离子交换色谱柱—TSKgel CM-STAT、TSKgel SP-STAT 色谱柱分离了曲妥珠单抗等生物类似药,结果表明:酸性异构体和碱性异构体均可获得理想的分离,TSKgel CM-STAT 与 TSKgel SP-STAT 具有不同的分离选择性,配合使用更能实现对不同电荷异构体精细的分离。

3.4 TSKgel 疏水相互作用色谱柱在抗体分析与表征中的应用

采用 TSKgel Butyl-NPR 色谱柱分离了曲妥珠单抗偶联药物，结果表明：不同抗体药物结合比率（DAR）ADC 组分，在梯度条件下可实现理想分离（见图 3），色谱柱具有杰出的分辨率和回收率，可满足药物抗体结合比率（DAR）的测定要求。

3.5 TSKgel 亲水相互作用色谱柱在抗体分析与表征中的应用

采用 TSKgel Amide-80 色谱柱分析利妥昔单抗生物类似药，HILIC/MS 连用分析 2-AB 标记多糖，结果表明：TSKgel Amide-80 色谱柱在分离聚糖方面的高分辨率、回收率及重复性，满足 HILIC/MS 连用抗体聚糖谱表征的要求。

3.6 新型亲和色谱柱在抗体分析中的应用

采用 TSKgel FcR-III A-5PW 在 pH 梯度条件下制备分离抗体（图 3），结果表明：该色谱柱可基于 N-糖链结构和 ADCC 活性的不同而实现抗体组分制备分离，分离选择性与 TSKgel FcR-III A-NPR 相同。连续 100 针进样色谱图（见图 4），表明：色谱柱具有良好的耐久性。

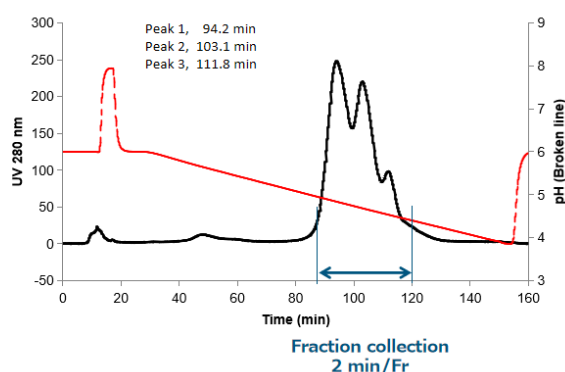


图 3 抗体药物色谱图

（采用 TSKgel FcR-III A-5PW 色谱柱，上样抗体 5 mg）

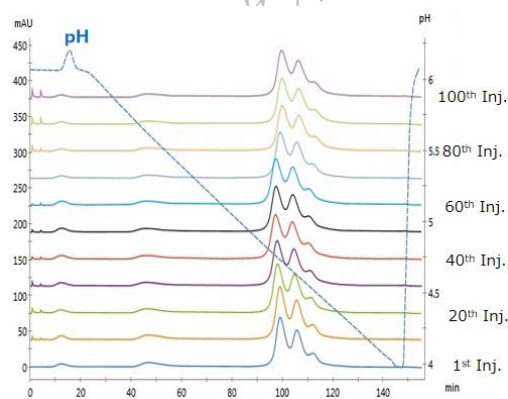


图 4 抗体药物色谱图

（采用 TSKgel FcR-III A-5PW 色谱柱，连续进样 100 次）

4. 结论

采用新型不同色谱模式 TSKgel 系列色谱柱，可以解决生物药物分析中：聚体含量测定、片段分离、SEC-MALS 绝对分子量及分子尺寸表征；电荷异构体分析；ADC 药物 DAR 测定；制备分离等系列难点问题。

复杂样品快速检测前处理技术研究进展

李攻科*, 夏凌, 张卓旻, 胡玉斐, 肖小华, 胡玉玲

中山大学化学学院, 广东省广州市, 510006

通讯联系人 E-mail: cesgkl@mail.sysu.edu.cn

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。样品前处理是根据分析物在物理、化学、生物性质上的差异, 将分析物从样品基体转移到定性、定量评价的过程, 这个过程从混沌到有序, 分析物转移传质过程不会自动发生, 加速样品前处理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。统样品制备方法繁琐耗时, 溶剂消耗大, 难以满足快速检测的要求。因此亟需发展复杂样品快速制备技术[1]。首先, 为提高样品制样速度, 在样品制备过程中引入辅助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[2-3]。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[4-5]。第四, 阵列/集成策略, 可同时完成一批样品的制备, 结合高通量快速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[6-7]。本文报告了针对光谱快速检测的样品制备新方法, 内容包括:(1)分离、富集与检测“一体化”策略;(2)高通量高效前处理策略;(3)衍生化策略;(4)场辅助加速策略;(5)在线前处理/实时检测策略等。

关键词: 复杂样品; 样品前处理; 快速检测; 研究进展。

参考文献

- [1] L.Xia, J.N.Yang, R.H. Su, W.J.Zhou, Y.S.Zhang, Y.H.Zhong, S.M. Huang, Y.L.Chen, G.K. Li. *Analytical Chemistry*, **2020**, 92,34-48.
- [2] H.D. Zhang, H.S. Lai, X.R.Wu, G.K.Li, Y.F.Hu. *Analytical Chemistry*, **2020**,92,4607-4613.
- [3] Y.H.Zhong, Y.L.Chen, L.Y.Chen, Y.F.Hu, X.H.Xiao, L.Xia, G.K.Li. *Analytical Chemistry*, **2023**, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c00362>.
- [4] J.N.Yang,X.H. Xiao, L.Xia, G.K.Li, L.L.Shui. *Analytical Chemistry*, **2021**,93,8273-8280.
- [5] J.W.Dong, G.K.Li, L.Xia. *Analytical Chemistry*, **2022**,94,16901-1616909.
- [6] Y.L.Chen, L.Xia, R.Y. Liang, Z.Y.Lu, L. Li, B.Y.Huo, G.K.Li, Y.L.Hu. *Trends in Analytical Chemistry*, **2019**, 120, 115652(1-14).
- [7] H.S.Lai, Z.Y.Chen, G.K.Li, Z.M.Zhang. *Analytical Chemistry*, **2022**, 94, 16275-16281.

基金项目: 国家基金重点项目(No.22134007)、国家自然科学基金项目(Nos.21976213 和 22076223)、国家重点研发计划项目(No.2019YFC1606101)和广东省重点领域研发计划项目(No.2019B020211001)。

样品前处理新材料与分离分析技术

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

样品前处理是现代分析化学非常重要的研究领域。在整个分析过程中, 样品前处理是最繁琐, 最花时间的步骤, 也是影响分析数据精确度和准确度的主要影响因素之一。样品前处理主要是实现分析物分离、净化、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重要内容。样品前处理的技术众多, 近来我们团队研究较多的是固相萃取(SPE)和液相萃取的QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe)技术[1]。

第一, 样品萃取材料与技术。针对样品前处理技术之一的固相萃取(SPE)技术, 可有效富集浓缩样品中的目标物, 降低检测限, 实现痕量目标物的可检性。固相萃取技术的核心是萃取, 关键是萃取材料, 近期我们团队设计制备了磁性核壳型聚苯胺尖晶石颗粒(polyaniline spinel particles, ZnFe₂O₄@PANI)和树枝状二氧化钛纳米棒(trees-like branched TiO₂ nanorods, B-TiO₂ NRs), 作为吸附富集的新型萃取剂发展了复杂样品体系的固相萃取新技术, 结合UPLC-MS/MS技术或ICP-OES技术, 建立了粮食作物稻谷的分离分析新方法, 并应用于实际样品的定量分析和仓储评价[2]。

第二, 样品净化材料与技术。针对样品前处理技术之一的QuEChERS方法, 除去分析样品中的杂质或非目标物达到净化样品的目的, 去除基质效应, 提高检测的灵敏度。QuEChERS方法的核心是净化, 关键是净化材料。近期我们团队设计制备了石墨烯/六方氮化硼复合物(graphene/hexagonal boron nitride hybrids, G/h-BN), 多孔氮化硼纳米棒(porous boron nitride nanorods, p-BNNRs)等几种新材料, 作为QuEChERS方法的新型净化剂被用于复杂样品的前处理中, 结合UPLC-MS/MS技术, 建立了特色药食同源枸杞子的分离分析新方法, 并成功应用于多批实际样品的定量检测和安全评价研究方面[3]。

关键词: 样品前处理, 固相萃取, 液相萃取, 吸附材料, 净化材料, 分离分析技术。

参考文献:

1. 国家自然科学基金(Nos. 22174153 和 21974145)资助。
2. Talanta, 2022, 241: 123278.
3. Journal of Chromatography A, 2022, 1670: 462968

共价有机骨架-聚丙烯腈电纺纳米纤维复合物应用于药物和个人护理品的分析

陈朗星^{*1}, 周静会¹, 陈安¹, 何锡文¹, 张玉奎^{1,2}

¹南开大学化学学院, 天津市南开区卫津路 94 号, 天津, 300071

²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, 大连, 116023)

*Email: lxchen@nankai.edu.cn

近年来, 食品、环境安全领域凸现出来的各类问题, 例如苏丹红、瘦肉精, 滥用农药、抗生素等等, 危害到人民健康和社会稳定。因此, 需要发展有效监控化学有害物质在食品、环境中残留量的分析方法, 为保障我国人民的身体健康提供技术支持。其中药物和个人护理品 (PPCPs) 在环境、食品中的残留给人类健康和生态系统带来了严重的危害^[1]。PPCPs 在食品、环境中的含量往往是痕量的, 难以对其含量直接进行检测, 因此需要通过样品前处理进行富集, 在样品前处理过程中, 吸附材料的制备尤为重要。

共价有机骨架 (COFs) 材料具有晶体密度较低、比表面积大、孔隙率高、孔径可调、热稳定性好、表面可功能化以及可以在原子水平上对其结构和功能进行设计等优点, 在吸附分离领域具有广泛的应用前景^[2,3]。但单一的粉状 COFs 材料在样品前处理过程中可能会容易泄露, 操作过程可能需要离心、过滤, 易造成材料和目标物的损失。为了解决这一问题, 将 COFs 材料与其它基质材料结合制备复合材料具有重要的意义。本论文将静电纺丝技术与 COFs 结合构建了共价有机骨架功能化聚丙烯腈电纺纳米纤维 (PAN/COFs), 将其应用于固相萃取食品、环境复杂样品中 PPCPs, 操作简便, 无需离心和过滤。

本论文研究内容包括: (1) 通过配制合适的前驱体溶液后, 以静电纺丝技术制备了聚丙烯腈 (PAN) 和共价有机骨架材料 Tp-BD 和 TpPa-1 的复合纳米纤维, 将其作为吸附剂, 采用薄膜固相微萃取和分散固相萃取模式, 分离富集食品 (肉类、蜂蜜) 样品中 7 种磺胺类药物和 5 种喹诺酮类抗生素的检测。(2) 采用原位室温合成策略, 通过单体 1,3,5-三(4-氨基苯基)苯 (TPB) 和 2,5-二乙烯基对苯二甲醛 (DVA) 在 PAN 纳米纤维表面生长 TPB-DVA COFs 获得了 PAN/TPB-DVA 复合纳米纤维。基于 PAN/TPB-DVA 复合纳米纤维建立了对环境样品中 4 种二苯甲酮类 (BPs) 紫外线吸收剂的分散固相萃取-高效液相色谱检测法 (DSPE-HPLC), 检出限 (LODs) 为 0.050-0.168 ng/mL。(3) 在壳聚糖-聚己内酯纳米纤维表面原位生长了 Tp-BD COFs。通过溶解部分聚合物底物改善吸附性能后, 以 Tp-BD 复合纳米纤维为萃取材料, 建立了一种针对饮用水样品中双酚 A 的薄膜固相微萃取-高效液相色谱检测方法。该方法的线性范围为 2.0 - 400 ng/mL ($R^2 > 0.999$), 检出限 (LODs) 为 0.12 ng/mL ($S/N = 3$)。

参考文献: (5 号宋体或 Times New Roman, 单倍行距)

1. M. Kumar, S. Sridharan, A. D. Sawarkar, A. Shakeel, P. Anerao, G. Mannina, P. Sharma, A. Pandey, *Sci. Total Environ.* **2023**, 859, 160031.
2. J. H. Xin, X. Wang, N. Li, L. Liu, Y. J. Lian, M. L. Wang, R.-S. Zhao, *Food Chem.* **2020**, 330, 127255.
3. N. Li, J. J. Du, D. Wu, J. C. Liu, N. Li, Z. W. Sun, G. L. Li, Y. N. Wu, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2018**, 108, 154-166.

稀土金属亲和磁性微球的制备与蛋白质的选择性分离

丁明玉*, 王军东

清华大学化学系

dingmy@mail.tsinghua.edu.cn

蛋白质是生物体内最重要的生命物质之一，几乎所有生命活动都需要蛋白质参与。为了阐明生物体在生理或病理条件下的变化机制，需要高纯度蛋白质进行各种生物和医学研究。蛋白质组学研究和临床医学检验等很多领域都需要对各种蛋白质进行定性和定量分析，尤其困难的是低丰度蛋白的分析需要对目标蛋白进行选择分离富集或将高丰度干扰蛋白分离除去。在蛋白质的选择性分离富集方法中，基于亲和分离材料的方法因其高选择性而备受青睐。金属元素（离子）作为亲和基团的亲和分离材料制备方便、成本低廉，具有较高的实用价值。本研究将磁性材料相分离的优势与稀土元素对蛋白质的特异性识别相结合，设计并制备了核壳结构的稀土亲和磁性纳米微球，建立了高选择性的蛋白质磁分散固相萃取分离方法。

以铁锰氧化物纳米颗粒为磁核，借助 SiO₂ 中间层化学沉积修饰镧系稀土氧化物功能层，制备了核壳结构的亲和磁性吸附剂 MnFe₂O₄@SiO₂@Lanthanide Oxides，并用于牛血红蛋白（BHb）的选择性吸附分离。结果表明，MnFe₂O₄@SiO₂@Er₂O₃ 磁性材料对 BHb 吸附效果最好，饱和吸附量高达 238.2mg/g。该磁性材料可用于牛血浆中 BHb 的高选择性分离。

以 Fe₃O₄ 纳米颗粒为磁核，将 SiO₂ 过渡层与稀土化合物反应转变为稀土硅酸盐表面功能层，制备了稀土（Er, Tm, Yb）硅酸盐功能化磁性吸附剂，并将其用于 BHb 的选择性分离。结果表明，硅酸镱功能化磁性材料对 BHb 吸附效果最好，饱和吸附量达 304.4 mg/g。吸附的 BHb 可用 Na₂CO₃ 水溶液进行洗脱与回收，CD 谱证明解析后的蛋白质二级结构未发生改变。吸附剂可以重复使用多次。

采用一步反应制备了聚乙烯亚胺（PEI）包覆的 Fe₃O₄ 磁性纳米颗粒 Fe₃O₄-PEI，然后将植酸（PA）修饰在其表面，通过植酸的配位作用将稀土离子（Yb³⁺）固定在磁性纳米颗粒表面，形成稀土配合物功能层。该磁性吸附剂的制备实验全部在水溶液中进行，且无需使用复杂设备。结果表明，该磁性吸附剂对 BHb 的吸附能力强，饱和吸附量达 347.3 mg/g。吸附剂可重复使用多次。



参考文献:

1. Wang J D, Tan S Y, Liang Q L, Sun S A, Han Q, Ding M Y*. *Talanta*, **2018**, 190, 210-218.
2. Wang J D, Tan S Y, Liang Q L, Guan H Y, Han Q, Ding M Y*. *Talanta*, **2019**, 204:792-801.
3. Wang J D, Guan H Y, Han Q, Tan S Y, Ding M Y*. *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2019**, 5, 2740-2749.

基于磁性纳米复合物的元素形态分离分析

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

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)是元素形态分离的新兴技术, 而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, 磁固相微萃取(MSPE)可以有效简化形态分离步骤、缩短分离时间、维持形态稳定。

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)联用分离分析饮用水和环境水样中的总铬和Cr(III)形态; 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, 结合电感耦合等离子质谱(ICP-MS), 在不扰动元素形态的条件下对饮用水和环境水样进行分析。进一步以APTES和MPTMS为混合硅烷化试剂, 在Si-MNPs表面制备氨基/巯基双功能化的磁性核壳纳米复合物。通过同时上样、分步洗脱操作, 实现对As(V)和As(III)的形态分析; 还以N-(2-氨基乙基)-3-氨基丙基三乙氧基(AEAPTES)和羧基乙基硅烷三醇钠盐(CES)为混合硅烷化试剂, 制备氨基/羧基双功能化的磁性核壳纳米复合物。通过分步上样洗脱, 实现对水样中Cr(VI)和Cr(III)的形态分析。

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, 实现饮用水和环境水样中总锑和Sb(III)形态的MSPE分离富集。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。

参考文献:

1. D.M. Templeton, H. Fujishiro, *Coordin. Chem. Rev.*, **2017**, 352, 424-431.
2. R. Clough, C.F. Harrington, S.J. Hill, Y. Madrid, J.F. Tyson, *J. Anal. At. Spectrom.*, **2020**, 35, 1236-1278.

高通量临床蛋白质组学样本前处理和分析技术开发

田瑞军

南方科技大学

tianrj@sustech.edu.cn

摘要:

基于质谱的蛋白质组学技术已经日趋成熟，可以对细胞和组织中的成千上万种蛋白质进行全面的定性和定量分析。随着生物医学日益增长的大队列蛋白质组学分析需求，如何实现高通量的样品前处理以及发展高通量和高稳定性的 LC-MS/MS 方法已成为当前亟需解决的关键问题。本文中，我们开发了基于两性离心式整体柱的样品前处理技术 ZIM，该技术具有通透性好、与蛋白质结合能力强和可以实现集成化蛋白质组学样品前处理的特点。我们进一步开发了基于 ZIM、Evosep One 纳升液相色谱和 timsTOF Pro 质谱的高通量蛋白质组学样品前处理和分析流程。另外，我们搭建了毛细管流（capLC-MS/MS，使用 150 μm 内径色谱柱，流速为 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）和微流（ $\mu\text{LC-MS/MS}$ ，使用 1 mm 内径色谱柱，流速为 50 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）液相色谱串联质谱平台，并从灵敏度、分离效率、通量和稳定性方面进行全面对比分析。总之，我们从样品前处理和 LC-MS/MS 分析两个方面开展了系统的分析方法学研究，为高通量临床蛋白质组学分析提供了新的解决方案。

用于 PTMs 分析的功能纳米材料的制备及应用

郑海娇, 赵燕青, 熊芳芳, 贾琼*

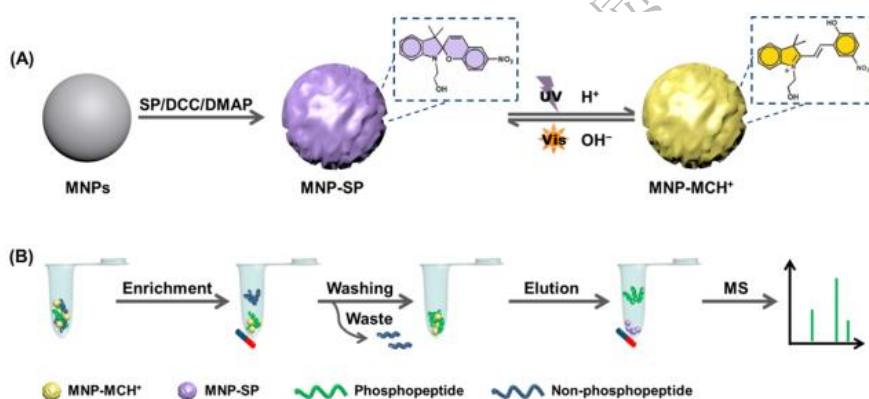
吉林大学化学学院

通讯联系人 E-mail: jiaqiong@jlu.edu.cn

蛋白质的磷酸化和糖基化作为研究最广泛的两种翻译后修饰 (PTMs), 在疾病的早期无创诊断、预后和治疗评估中表现出越来越大的潜力。蛋白质的异常磷酸化和糖基化经常被用于临床蛋白质组学研究和疾病相关生物标志物的发现。目前已有多种材料被开发用于磷酸化肽和糖肽的富集研究。

多孔材料具有规则 and 均匀的孔道结构, 具有相对密度低、比强度高、比表面积高、高化学稳定性和突出的结构稳定性等优点, 被广泛地应用在吸附分离、离子交换等领域。智能响应材料由于具有独特的响应特性, 可对外界刺激做出响应, 发生结构和性质上的变化, 将光、电、热、机械等信号转化为生物化学信号, 也已被陆续报道用于磷酸化肽和糖肽的富集。

本工作针对磷酸化肽和糖肽的富集, 设计了一系列基于多孔材料/智能响应材料的高效吸附剂。构建了操作简便的磁性固相萃取样品预处理平台, 结合质谱鉴定技术, 实现了复杂体系中磷酸化蛋白和糖基化蛋白的分析。



Scheme 1. (A) Synthetic Scheme of responsive MNP-SP; (B) Typical Process of Selectively Capturing Phosphopeptides with MNP-SP

参考文献:

1. F Xiong, J Jia, J Ma, Q Jia, *Nanoscale*, **2022**, 14, 853-864.
2. Y Zhao, Z Li, J Ma, Q Jia, *ACS Appl Mater Interfaces*, **2021**, 13, 55806-55814.
3. H Zheng, J Jia, Z Li, Q Jia, *Anal Chem*, **2020**, 92, 2680-2689.

基质辅助激光解吸离子化质谱在酶的活性检测中的应用

国新华 林夕 李嘉睿

吉林大学化学学院

Email: guoxh@jlu.edu.cn

酶是一类参与很多生理过程的生物分子催化剂。例如，谷胱甘肽（GSH）作为抗氧化剂在生物体中具有防止血红蛋白氧化分解和维持巯基蛋白还原活性的功能。为了维持 GSH 的平衡，谷胱甘肽还原酶（GR 酶）在还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（辅酶 NADPH）参与下，将氧化型谷胱甘肽（GSSG）转化为还原型 GSH，而 γ -谷氨酰转肽酶（GGT）负责生物体中谷胱甘肽/半胱氨酸间的转化；细胞中糖的唾液酸化与许多疾病有关，唾液酸化酶是一种能水解唾液酸的酶；细菌中存在的 β -内酰胺酶能够水解 β -内酰胺类药物，使其杀菌功能减退，导致耐药菌的形成。因此，生物体系中酶的鉴定及其活性准确分析对理解生物过程和疾病诊断至关重要。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)具有操作简单、分析速度快、检测灵敏度高和易于实现高通量分析的特点，已经被广泛用于多种组学研究和临床微生物检测。其在酶的活性研究中也展示了应用潜力^[1]。我们课题组针对不同酶的活性检测设计了酶的底物和质谱探针，探究了 MALDI MS 在酶的活性检测中的应用。首先，设计了一种水溶性的检测 γ -谷氨酰转肽酶 GGT 活性的质谱探针^[2]。该探针由 GGT 酶的底物 GSH 和芳香葱醌通过 Michael 加成反应制得。在 GGT 酶的作用下，探针分子被切割产生标记有葱醌的特征碎片离子，通过加入内标分子，实现了人血清和细胞裂解产物中 GGT 水平的快速和准确检测。其次，设计了一种芘分子标记的肽段 Py-GGGG 作为质谱探针用于蛋白酶活性的 MALDI 质谱定量分析^[3]。在 MALDI 靶上覆盖一层聚苯乙烯，可以通过大 π 键和疏水性吸附芘分子探针，实现了在线富集和纯化。由于设计的酶的底物与酶解产物有相似的离子化效率，无需使用内标实现了复杂生物体系中蛋白酶活性的准确定量分析。此外，为了测定 GR 酶的活性，使用固定浓度的 GSSG 作为底物，GR 酶将 GSSG 还原为 GSH，GSH 与喹啉-5,8-二酮进行共价连接增加检测灵敏度和抗干扰能力，实现了血清样品中 GR 酶活性的检测。针对唾液酸化酶的活性分析，利用天然底物 3'-唾液乳糖和 2-胍喹啉在靶上完成酶促反应和产物的识别与标记，在负离子模式下，通过测定衍生的唾液酸，实现了唾液酸化酶的定量检测和酶抑制剂的筛选。在抗生素细菌耐药性的几种机制中，最常见的是产生 β -内酰胺酶进而水解 β -内酰胺类药物。本组基于简单的样品制备方法和快速的酶解反应来检测细菌是否产生 β -内酰胺酶。根据内酰胺酶水解内酰胺环的特性，设计了 N-(1-芘)马来酰亚胺作为质谱探针用于 β -内酰胺酶的 MALDI 质谱分析。在细菌裂解液含有 β -内酰胺酶的情况下，质谱探针发生水解，检测标记的产物离子。我们正在进一步优化质谱探针，实现特异性识别不同类别的 β -内酰胺酶并进行定量检测。

参考文献：

1. 林夕, 玲玲, 国新华. MALDI 质谱技术在酶活性分析中的应用[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2020, 39(1): 68-74.
2. Wang S, Xiao C, Guo L, et al. Rapidly quantitative analysis of γ -glutamyltranspeptidase activity in the lysate and blood via a rational design of the molecular probe by matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2019, 205: 120141.
3. Ling L, Xiao C, Wang S, et al. A pyrene linked peptide probe for quantitative analysis of protease activity via MALDI-TOF-MS[J]. *Talanta*, 2019, 200: 236-241.

质谱技术与中医药的融合发展

陈焕文

江西中医药大学, 药学院, 江西省南昌, 330004

E-mail: chw8868@gmail.com

中医药是中华民族的瑰宝。中医药的传承创新是新时代的伟大命题。数千年来, 中医药为中华民族的繁衍生息和中华文明的亘古不灭做出了不可或缺的重要保障。然而, 中医药在为我国自然科学界赢得第一项诺贝尔奖的同时, 也为我国科技工作者留下了许多有待于进一步解决的重要课题。

经过一年多的学习调研, 我们逐步认识到中医药的发展已经迎来了史无前例的历史机遇, 不仅有党和国家及地方政府的重视, 而且有数理化生及计算机、人工智能等学科厚重的积累, 为中医药的发展带来了重要的战略机遇。因此, 传承中医药思想、革新中医药技术、振兴中医药文化、发展中医药产业并将成为新时代中医药传承创新的重要途径。

在前期研究^[1-3]基础上, 本文将探讨质谱分析与质谱制备技术和中医药融合发展的必要性与可行性, 重点探讨质谱分析技术在中医药基础理论现代化研究、中医“病—证—药”物质基础的可视化、工艺规程的标准化、中医药的现代化与国际化等方面的可能作用, 并结合案例探讨其应用前景和发展趋势。

关键词: 中医药、质谱分析、质谱制备

参考文献:

1. R. Su, T. T. Yang, X. R. Zhang, N. Li, X. Y. Zhai, H. W. Chen, Mass spectrometry for breath analysis, *Trac-Trend. Anal. Chem.*, **2023**, 158, 116823.
2. X. P. Zhang, X. Ren, Y. Zhong, K. Chingin, H. W. Chen, Rapid and sensitive detection of acetone in exhaled breath through the ambient reaction with water radical cations, *Analyst*, **2021**, 146, 5037-5044.
3. M. M. Qin, Y. Q. Qian, L. Huang, C. Zhong, M. D. Li, J. Yu, H. W. Chen, Extractive electrospray ionization mass spectrometry for analytical evaluation and synthetic preparation of pharmaceutical chemicals, *Front Pharmacol.*, **2023**, 14, doi.org/10.3389/fphar.2023.1110900.

单细胞代谢组学揭示 NK 细胞失去抗肿瘤功能机制

黄光明*, 侯壮豪

中国科学技术大学, 化学与材料科学学院, 安徽省合肥市金寨路 96 号, 邮编 230026

通讯联系人 E-mail: gmhuang@ustc.edu.cn

单细胞分析新技术的研究, 一直都是生命科学领域重点关注的焦点之一。自然杀伤细胞 (Natural killer cells, NK 细胞) 是肿瘤的“职业杀手”, 在抗肿瘤免疫治疗上发挥举足轻重的作用, 但是大部分晚期肿瘤都能逃避 NK 细胞的杀伤。为了弄清逃逸机理, 寻找恢复 NK 细胞功能, 我们建立了单个免疫细胞膜质谱检测, 在纳升电喷雾喷针的针尖上集成了负压快速取样、快速原位分离和极小流速电喷雾离子化。分别实现了: 1) 提出并发展了与电喷雾离子化兼容的毫秒级电泳分离技术; 2) 开发极低流速电喷雾离子化方法, 在喷雾针尖上实现取样、分离和喷雾离子化; 3) 同时获得细胞膜和细胞内液。针对肿瘤组织微环境 NK 细胞丢失表面膜突起, 无法识别肿瘤细胞, 失去了抗肿瘤功能这一临床发现, 揭示了肿瘤微环境 NK 细胞的膜成分发生改变, 主要是鞘磷脂的含量显著降低, 并证实肿瘤微环境的丝氨酸代谢失调是导致鞘磷脂下降的主要诱因。并发现, 使用靶向鞘磷脂酶的抑制剂能够显著提高肿瘤微环境 NK 细胞膜鞘磷脂的含量, 恢复突起形成, 提高肿瘤细胞识别以及杀伤能力, 从而揭示可以使用靶向鞘磷脂酶的干预方式联合免疫检查点阻断剂, 起到协同抗癌的效果。

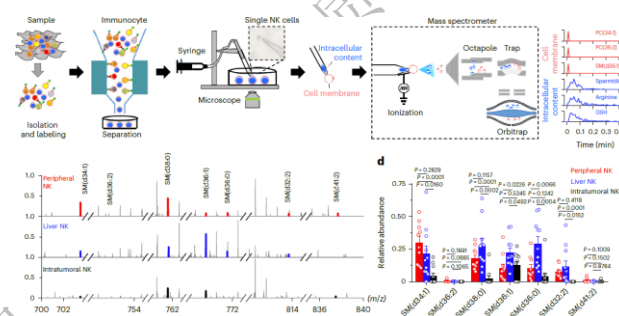


Fig. 1 Decreased SM level in intratumoral NK cell membranes.

参考文献:

- [1] Zheng, X.; Hou, Z.; Qian, Y.; Zhang, Y.; Cui, Q.; Wang, X.; Shen, Y.; Liu, Z.; Zhou, Y.; Fu, B.; Sun, R.; Tian, Z.; Huang, G.; Wei, H. *Nat. Immunol.* 2023, <https://doi.org/10.1038/s41590-023-01462-9>.
- [2] Hou, Z.; Luan, M.; Zhan, L.; Wang, X.; Yuan, S.; Cao, K.; Sheng, YP.; Yin, H.; Liu, Y.; Huang, G. *Anal. Chem.* 2022, 94: 13829

基于 CPMP 标记技术结合负离子模式 Q-TOF-MS/MS 对二糖异构体超灵敏分析

张书胜*, 马珊珊, 袁航*, 张文芬, 赵无垚

郑州大学现代分析与基因测序中心, 郑州, 450000

通讯联系人 E-mail: zsszz@126.com

碳水化合物在自然界的生物生命过程中发挥了重要作用^[1], 由于二糖的结构在连接位置和异位构型上具有很高的相似性, 无法通过液相 (LC) 和气相 (GC) 进行分离分析, 因此二糖异构体的定性和定量分析仍然是糖组学研究中最困难的方面之一^[2,3]。目前对于糖类的分析主要是衍生试剂结合质谱 (MS) 技术实现对其高灵敏度的检测, 并将串联质谱 (MS/MS) 应用于糖类异构体结构解析^[4,5]。至此, 首次将衍生化试剂 1-(4-羧基苯基)-3-甲基-5-吡唑啉酮 (CPMP) 用于二糖的衍生化质谱分析, 并基于负离子模式下, CPMP 与二糖的衍生物形成单一的阴离子单簇峰 $[M-H]^-$ (m/z 759), 且具有较高的灵敏度, 二糖异构体最低的检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 分别为 6.45 ng L^{-1} 和 21.5 ng L^{-1} 。同时, 2CPMP-二糖衍生物的质谱二级碎片离子比在正离子模式下更为简单清晰, 碎片离子的种类和丰度随着二糖结构的不同而改变, 即可作为二糖异构体鉴别的依据。在由二糖异构体组成的二元混合物体系中, 借助特征性碎片离子的质谱强度比与浓度比的线性关系, 可用于不同连接方式、单糖组成和糖苷键构型的二糖混合物定量分析。该方法不仅适用于二糖, 也可用于三糖异构体的定性和定量分析。此外, 该方法成功应用于啤酒中糖类物质分析, 结果表明所有的啤酒中均未含蔗糖且所有啤酒都含有 1,4-二糖和 1,6-二糖。通过多元数据分析主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 对 12 种不同生产工艺的啤酒进行区分并成功实现了啤酒中异麦芽糖和麦芽糖的相对定量。该方法是一种灵敏、快速、可靠的鉴别和相对定量分析复杂基质中二糖异构体的方法。

关键词: Q-TOF-MS/MS、负离子模式、1-(4-羧基苯基)-3-甲基-5-吡唑啉酮、二糖异构体、相对定量

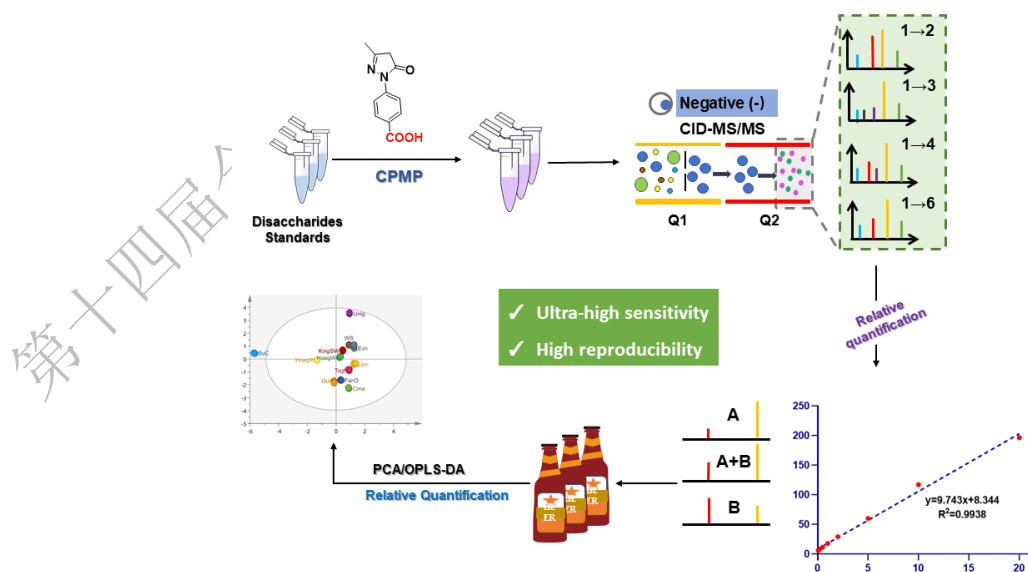


图 1 负离子模式下二级质谱 CPMP 标记技术对二糖异构体超高灵敏分析流程图

本研究受国家青年基金 (基金号: 22004110, 21775140, 21974124, 22076174) 项目资助。

参考文献:

1. Cosgrove, S. C.; Matthey, A. P.; Riese, M.; Chapman, M. R.; Birmingham, W. R.; Blacker, A. J.; Kapur, N.; Turner, N. J.; Flitsch, S. L. Biocatalytic Oxidation in Continuous Flow for the Generation of Carbohydrate Dialdehydes. *ACS Catal.* **2019**, *9* (12), 11658-11662.
2. Molyneux, R. J.; Gardner, D. R.; James, L. F.; Colegate, S. M. Polyhydroxy alkaloids: chromatographic analysis. *J. Chromatogr. A* **2002**, *967* (1), 57-74.
3. Rodríguez-Sánchez, S.; Hernández-Hernández, O.; Ruiz-Matute, A. I.; Sanz, M. L. A derivatization procedure for the simultaneous analysis of iminosugars and other low molecular weight carbohydrates by GC-MS in mulberry (*Morus* sp.). *Food Chem.* **2011**, *126* (1), 353-359.
- 4 Zhan, L.; Xie, X.; Li, Y.; Liu, H.; Xiong, C.; Nie, Z. Differentiation and Relative Quantitation of Disaccharide Isomers by MALDI-TOF/TOF Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2018**, *90* (3), 1525-1530.
5. Zhan, L.; Huang, X.; Xue, J.; Liu, H.; Xiong, C.; Wang, J.; Nie, Z. MALDI-TOF/TOF tandem mass spectrometry imaging reveals non-uniform distribution of disaccharide isomers in plant tissues. *Food Chem.* **2021**, *338*, 127984.

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

质谱技术驱动生物医学糖基化研究进展

张莹 陆豪杰*

复旦大学化学系/生物医学研究院和卫健委糖复合物重点实验室, 上海市东安路 131 号, 20032

*Email: luhaojie@fudan.edu.cn

糖基化是最广泛存在、结构最为多样、受调控最为复杂的蛋白质修饰之一, 直接或间接参与诸多细胞生理活动。尽管糖基化广泛存在且意义重大, 但其复杂的存在形式也为其解析带来了诸多困难。糖基化修饰不仅需要对修饰位点和位点占用率等进行分析, 还需要考虑每个位点上糖链的具体结构与每个糖链结构以及它们所占的比例。不同的糖基化类型可能在同一蛋白上共存, 但也存在位点、糖链组成与结构上的差异, 将其进行有效区别与分析也长期以来也是生物医药分析的难点。[1]

针对基于质谱的生物医学领域糖基化研究中的技术挑战, 我们发展了系列研究方法。[2-5] 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。[2] 并进一步筛选出小分子试剂 N,N-二甲基亚二丙基三胺 (DMDT) 作为衍生化试剂, 通过一步衍生反应实现 α -2,3 和 α -2,6 连接异构体的电泳分离。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] 我们还发展了基于离子淌度质谱 (IM-MS) 的无衍生策略用于完整糖肽 α -2,6 和 α -2,3 唾液酸连接异构的相对定量。在该方法中, 完整 N-糖肽首先在液相色谱中进行一维分离, 然后母离子在四极杆中被选择, 碰撞诱导解离 (CID), 产生的碎片在离子淌度池 (IM) 中进行二维的分离, 进入质谱 (MS) 中检测 (LC-CID-IM-MS)。在离子淌度池中, 由于 α -2,6 和 α -2,3 唾液酸化的 B3 碎片离子具有不同的漂移时间, 因此到达时间分布 (ATDs) 下的分布面积可以反映位点特异性的 N-糖肽上连接的 α -2,6 和 α -2,3 唾液酸真实丰度比。[4] 以及为了实现临床队列样本中的糖肽高通量定量分析, 我们开发了化学衍生结合等重同位素标记和质谱多能多模式碎裂方式的完整糖肽研究策略, 实现了完整糖肽高通量、高准确性的定量研究。该方法将传统方法的分析时间缩短了 10 倍, 将糖肽的鉴定率提高了 3 倍。采用该方法一共鉴定到了 313 条 IgG 完整 N-糖肽, 是迄今为止 IgG 完整 N-糖肽最大规模的数据集, 并且第一次绘制了肝脏疾病中 IgG 亚型特异和位点特异的糖基化修饰模式。报道了在由 HBV 感染的肝炎发展到肝硬化再到肝癌过程中 IgG -糖基化动态变化, 以及发现了具有高诊断能力的糖肽标志物 IgG1-H3N5F1 和 IgG4-H3N4, 实现了对肝病患者不同疾病阶段的区分, 为肝病的早期诊断及精准药物治疗提供了新方法。

[1] Liang, Y.; Fu B.; Zhang, Y.*; **Lu, H.*** *Rapid Commun Mass Spectrom.* **2022**;36:e9288

[2] Cheng, M.; Shu, H.; Peng, Y.; Feng, X.; Yan, G.Q.; Zhang, L.; Yao, J.; Bao, H.; **Lu, H.*** *Anal. Chem.*, **2021**, **93**, 5537-5546.

[3] Cheng, M.; Shu, H.; Yang, M.; Yan, G.Q.; Zhang, L.; Wang, L.; Wang, W.; **Lu, H.*** *Anal. Chem.* **2022**, **94**, 4666-4676

[4] Feng, X.; Shu, H.; Zhang, S.; Peng, Y.; Zhang, L.; Cao, X.; Wei* L.; **Lu, H.*** *Anal Chem*, **2021**, **93**, 47, 15617-15625

[5] Sun, Z.; Fu, B. Wang, G.; Zhang, L.; Xu, R.; Zhang, Y.*; **Lu H.*** *Nat. Sci. Rev.*, **2023**, **10**, nwac059

纳米材料及其代谢影响的质谱成像研究

聂宗秀

中国科学院化学研究所

E-mail: znie@iccas.ac.cn

聂宗秀，中国科学院化学研究所研究员，国家杰出青年基金获得者，以颗粒质谱构建及小分子代谢产物质谱为主要研究方向。设计研制了多种颗粒离子化源及电荷探测器，构建了离子阱颗粒质谱装置平台，对微纳尺度颗粒进行了多参数表征；建立了基于指纹质谱的颗粒分析方法，获得了纳米颗粒的生物组织质谱成像，将质谱质量范围拓宽了 7 个数量级，从分子质谱的 10^6 Da 至颗粒的 10^{14} Da；合成和发现了系列 MALDI 新基质，获得了多种动物模型下的代谢小分子质谱成像。近年来在 *Nature Nanotech.*、*Science Adv.*、*Angew. Chem.*、*Chem. Soc. Rev.*、*Adv. Funct. Mat.*、*Anal. Chem.* 等期刊发表论文 120 余篇。发表在 *Nature Nanotech.* 上的工作，由杂志社撰文在同期的“新闻视角”中进行了专栏评论，入选 2016 年 *Nature Nanotech.* 杂志 10 周年专刊。



报告内容简介：

纳米材料因为其独特的物理化学性质，在药物输送、光动力学治疗、组织工程以及生物成像等方面的重要价值，而成为生物医学研究领域的热点材料。但是有关纳米材料的生物效应及生物安全性问题目前依然存在争论，因此生物组织中的纳米材料的生物分布研究具有重要的实际价值，尤其是亚器官的生物分布成像研究，有助于揭示纳米材料与生物体之间的相互作用。使用激光脱附电离质谱成像 (LDI-MSI) 方法，我们发展了一种通用、免标记纳米材料颗粒在生物组织中的质谱成像新方法。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，可实现纳米材料及药物释放行为的研究，发现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；研究了碳质气溶胶中有机碳和元素碳的分布差异，以及有机碳的释放对原位肿瘤潜在的影响；研究了 AIE 分子及其对代谢分子的影响。基于这一技术原理，会有更多的纳米体系相关的科学问题可以通过质谱成像的方法进行体内原位分析研究，对于我们了解纳米颗粒的体内行为和相互作用具有重大意义。

参考文献

1. 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.
2. J. Xue, H. Liu, S.M. Chen*, C.Q. Xiong*, L. Zhan, and **Z.X. Nie***, *Science Advances*, 2018, **4**, eaat9039.
3. Y.M. Jiang, J. Sun*, C.Q. Xiong*, H.H. Liu, Y.Z. Li, X. Wang, and **Z.X. Nie***, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021, **60**, 23225.
4. J.Y. Chen, L.C. Mao, Y.M. Jiang, H.H. Liu, X. Wang, L.W. Meng, Q.Y. Du, J. Han, L.Y. He, H.Y. Huang, Y.W. Wang, C.Q. Xiong*, Y. Wei, and **Z.X. Nie***, *ACS Nano*, 2023, **17**, 4463.
5. 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.

烃分子的优势软电离及新型烃类生标化合物的发现

Soft and clean ionization of hydrocarbons and the discovery of novel biomarkers for geochemistry study

韩晔华*

中国石油大学（北京），北京，102249

hanyehua@cup.edu.cn

Characterization of large saturated hydrocarbons, which are significant biomarkers in organic geochemistry, still remains a greatest challenge in petroleomics. A solvent-assisted APCI method was developed to realize the “soft” and “clean” ionization of large saturated hydrocarbons. During ionization, solvent-assisted APCI allows the regulation of the gas-phase chemical behaviors of the secondary ions and reactive ions generated from different compounds by controlling the processes of hydrogen abstraction and charge transfer. Following systematic optimization, n-alkanes and cycloalkanes produce $[M-H]^+$, iso-alkanes produce $[M-2H]^+$ without any other byproduct ions.

Based on the “soft” and “clean” ionization of saturated hydrocarbons, a multi-dimensional MS strategy was established to explore the possible existence of trace amounts of diamondoids, ethanodiamondoids, thiadiamondoids, and thia-ethanodiamondoids in crude oils with a complex matrix, and thiaethanodiamondoids (1–7 cages) and higher ethanodiamondoids (4–7 cages) was identified for the first time. The discovery of new species and higher cage species of diamondoids provided potential markers for the illustration of geochemistry evolution.

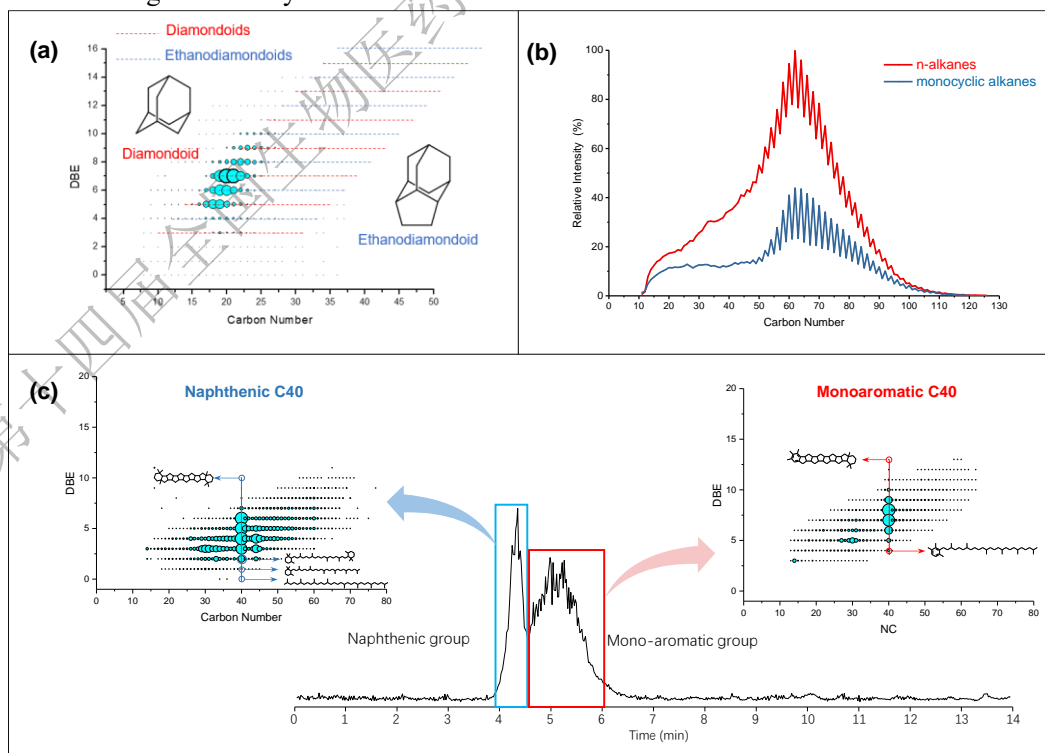


Figure 1. The discovery of novel hydrocarbon biomarkers. (a)High diamondoids, (b)n-alkanes and

monocyclic alkanes with even carbon-numbered predominance, (c)naphthenic and monoaromatic C40 carotenoids.

On-line coupling of HPLC and UHRMS was developed to detect high molecular weight n-alkanes and monocyclic alkanes as full range as possible. C₁₀-C₁₂₅ n-alkanes and monocyclic alkanes were detected for the first time in the highly mature source rock of Luntan-1 well in Tarim Basin. Both series exhibited even carbon-numbered predominance in the carbon range of C₅₀-C₁₁₀. This discovery breaks the conventional understanding that n-alkanes have no carbon-numbered predominance in highly mature samples. Using HPLC-HRMS, a series C40 carotenoids was detected in source rock for the first time. Based on the retention time and DBE value, 0-10 naphthenic rings may be exist on the carbon skeleton. These novel C40 carotenoids may provide the evidence of mass extinction events, oceanic anoxic events.

关键词: 烃类化合物(Hydrocarbons), 优势软电离(Soft and clean ionization), 生物标志物(Biomarkers), 石油组学(Petroleomics)

本研究受国家自然科学基金委项目 (No. 21874153) 及国家重点研发计划 (No. 2021YFA1501201) 的资助。

第十四届全国生物医药色谱质谱及相类技术交流会

有机质谱流式分析技术及其单细胞药物分析应用

徐姝婷*, 严秀平

江南大学食品学院, 分析食品安全学研究所, 无锡, 214122

通讯联系人 E-mail: shutingxu@jiangnan.edu.cn

有机质谱流式技术是一种新兴的高通量单细胞分析技术, 其充分发挥了质谱非标记、灵敏度高及多物质定性定量检测的优势, 为单细胞代谢组研究提供了丰富的分子信息^{1,2}。然而, 由于现有方法大多利用离子化前的短暂萃取过程获取单细胞内容物, 其代谢物检出程度还十分有限, 胞内、核内化合物检测相对困难。因此, 提高单细胞信息覆盖度是有机质谱流式技术发展的一个重要方向。本工作发展了一种在线裂解的有机质谱流式分析系统, 通过离子化前的在线裂解膜实现细胞的原位、快速、深度裂解。这种在线裂解膜以微孔铜网为基底, 其上通过化学浴沉积的方式制备了尖锐的氧化锌纳米刺结构, 微孔及纳米刺结构通过挤压并刺破细胞膜显著提高了细胞的裂解程度。本工作中制备并测试了三种孔径不同的在线裂解膜, 其修饰后孔径分别为16.75、8.36和5.22 μm 。其中, 8.36 μm 在线裂解膜对胞内和核内物质分别表现出13倍和2倍的信号增强, 5.22 μm 在线裂解膜对胞内和核内物质分别表现出22倍和2.5倍的信号增强。因此, 这两种小孔径裂解膜的使用对于胞内及核内物质的检出覆盖度具有显著提升, 例如, 核内的四氢生物蝶呤和环单磷酸鸟苷仅在5.22 μm 在线裂解膜体系下才能检出。进而发现, 裂解膜还表现出特殊的尺寸选择效应, 即通过对比8.36和5.22 μm 两种膜, 能够初步区分在细胞质和细胞核中的物质。该体系被用于单细胞内的药物分析, 由于细胞裂解作用的增强, 以胞质和细胞核为作用靶点的药物能够在单细胞水平进行高通量的半定量研究。利用该体系, 获得了5-氟尿嘧啶、紫杉醇、阿霉素和藤黄酸几种代表性的小分子药物在单细胞中随时间的含量变化。所有药物均在单细胞水平观察到细胞药物摄入行为的异质性, 证明了在单细胞水平研究药物与细胞作用机制的必要性。同时, 该体系的尺寸选择效应, 能够用于观察阿霉素从细胞质到细胞核的转移过程, 为药物与细胞作用机制研究提供了亚细胞级的信息。该技术有效地提高了单细胞分析的物质覆盖度, 是单细胞代谢组分析、药物机制研究、细胞生物学及疾病研究的有力工具。

关键词: 有机质谱流式技术、在线裂解膜、药物细胞作用

本研究受国家自然科学基金委项目 (No. 22104044、21775056) 资助。

参考文献:

1. H. Yan, H. Zhao, X. Zhao, X. Pan, J. Feng, F. Xu, S. Zhang, X. Zhang, Label-free mass cytometry for unveiling cellular metabolic heterogeneity, *Anal. Chem.*, **2019**, 91, 9777-9783.
2. S. Xu, M. Liu, Y. Bai, H. Liu, Multi-dimensional organic mass cytometry: Simultaneous analysis of proteins and metabolites on single cells, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 1806-1812.

核酸癌症标志物测量

黄承志

发光分析与分子传感教育部重点实验室, 西南大学药学院, 重庆 400715, 中国

通讯联系人 E-mail: chengzhi@swu.edu.cn

测量核酸癌症标志物可以实现癌症的早期诊断, 对癌症死亡率的降低有显著作用。提高测量灵敏度和诊断准确性一直是研究热点。基于DNA的可编程性, 本课题组开发了一系列核酸探针, 对核酸癌症标志物的测量做了系统研究。(1) 基于两亲性DNA成功构建了无序列依赖性的DNA胶束纳米结构, 并在胶束上进行熵驱动循环反应, 有效提高了测量效率, 实现了对microRNA-155的灵敏测量¹。(2) 通过将DNA计算平台和核酸信号放大技术耦合, 构建了高灵敏逻辑纳米机器, 实现了多种逻辑门操作, 在核酸智能传感上具有指导意义²。(3) 通过在金纳米棒的特定位置修饰特定DNA发卡, 成功构建了可以分别发生肩并肩组装和头碰头组装的两种探针。利用不同组装方式下散射信号的不同, 同时灵敏测量了let-7a和microRNA-21³。(4) 以石墨烯为受体以及DNA载体, 构建了单供体-双受体能量转移体系, 实现对凋亡过程中microRNA-21和microRNA-630的低背景, 高准确性, 高选择性同时监测⁴。(5) 以DNA四面体为载体, 构建了具有细胞空间选择性的逻辑纳米器件, 可以对糖蛋白MUCI和microRNA-21进行顺序成像, 成功应用于肿瘤细胞的区分⁵。综上所述, 本课题组利用核酸信号放大技术和DNA的组装特性成功提高了测量灵敏度, 并通过多靶物测量提高了癌症早期诊断的准确性。

参考文献:

1. L. P. Cao, C. M. Li, S. J. Zhen, C. Z. Huang, *Anal. Chem.*, **2023**, 95, 1794-1800.
2. W. Y. Lv, C. H. Li, F. F. Yang, Y. F. Li, S. J. Zhen, C. Z. Huang, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2022**, 61, e202115561.
3. H. H. Yan, M. Huang, F. Zhu, R. Cheng, S. Wen, L. T. Li, H. Liu, X. H. Zhao, F. K. Luo, C. Z. Huang, J. Wang, *Anal. Chem.*, **2023**, 95, 3968-3975.
4. Y. J. Jiang, N. Wang, F. Cheng, H. R. Lin, S. J. Zhen, Y. F. Li, C. M. Li, C. Z. Huang, *Anal. Chem.*, **2020**, 92, 11565-11572.
5. L. L. Li, W. Y. Lv, Y. T. Xu, Y. F. Li, C. M. Li, C. Z. Huang, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 4399-4406.

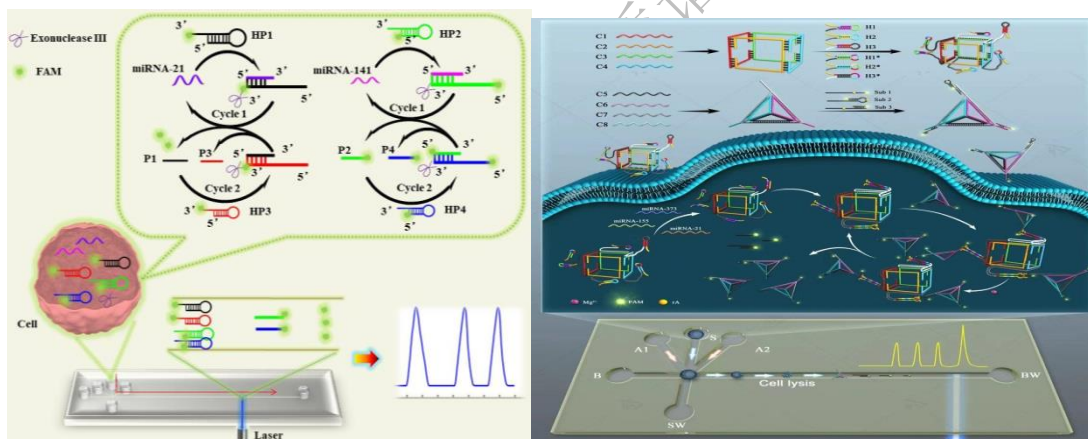
电泳辅助多元信号同时放大策略及应用于单细胞分析

赵书林

(药用资源化学与药物分子工程省部共建国家重点实验室，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，多元信号同时放大，单细胞分析

微小核糖核酸 (miRNA) 在细胞的发育、增殖、分化和死亡过程中发挥着重要的基因调控作用。miRNA 的异常表达与包括癌症和糖尿病在内的许多疾病密切相关，因此特定 miRNA 可被视为诊断不同疾病的有效生物标志物。尽管在理解细胞内 miRNA 的作用机制方面取得了很大进展，考虑到细胞普遍存在的异质性，只考虑细胞群体的平均 miRNA 表达可能会导致重要信息的丢失。单细胞水平上 miRNA 的定量对于阐明 miRNA 的生理功能至关重要。然而，一种特定的疾病通常与多种 miRNAs 的表达水平密切相关，因此，对单个细胞中多种 miRNA 同时定量可以帮助人们在单细胞水平上更详细地了解不同种类 miRNAs 与不同类型癌症疾病的关系。基于此，本研究分别提出了一种细胞内多元级联信号放大策略用于单细胞中两种 miRNA 的同时定量，及一种框架核酸辅助细胞内多模式串联多元信号放大策略用于单细胞中三种 miRNA 的同时定量，其方法原理如下图所示。



左图：电泳辅助细胞内多元级联信号放大用于单细胞中两种 miRNA 同时定量的原理示意图。

右图：电泳和框架核酸辅助细胞内多模式串联多元信号放大用于单细胞中三种 miRNA 同时定量的原理示意图。

参考文献

1. Shengyu Chen, Jingjin Zhao, Chunhuan Xu, Ivan Yu. Sakharov, and Shulin Zhao*. *Anal. Chem.*, 2021, 93, 9218–9225.
2. Shengyu Chen, Jingjin Zhao,* Ivan Yu Sakharov, Jiayao Xu, Chunhuan Xu, Shulin Zhao*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2022, 203, 114053.

*本研究系国家自然科学基金 (No. 21327007; 22111530012) 资助。

尿液是下一代生物标志物的来源

高友鹤*

北京师范大学，北京，100875

通讯联系人 E-mail: gaoyouhe@bnu.edu.cn

疾病的早期诊断是医学最重要的问题。早期诊断可以给医生有效治疗的机会。尿液不像血液那样受身体稳态效应的控制，能够汇集大量的疾病相关变化，因此尿液能够更好地反映早期微小的变化，是生物标志物的更好体液来源。以往很多研究集中在动物模型上证明疾病的早期，在尿液中有相应的反映。这些动物模型研究证明了尿液作为早期标志物来源的潜力。也有一些研究利用临床样本的研究，但是很多研究没有认真考虑可以影响尿液的大量各种混杂因素。我们提出如果疾病引起的变化足够大足够独特的时候，才能利用疾病对健康人群分组的方式发现疾病尿液标志物。我们还提出，如果能利用同一个人的前后对照，可以解决大量混杂影响因素的对照问题，让尿液标志物更早地用于临床。这个报告还将讨论如何从临床的角度分析当今诊断困难的病例，为医生提供线索。这个应用模式，符合个体化精准医学的未来前景。

关键词：早期诊断；尿液蛋白质组；个体化；精准医学。

参考文献：

1. Y. Gao, Urine - an untapped goldmine for biomarker discovery? *Sci China Life Sci*, 2013, 56,1145-1146.
2. J. Wu and Y. Gao Physiological conditions can be reflected in human urine proteome and metabolome *Expert Review of Proteomics* 2015, 12(6):623-636.
3. J. Wei and Y. Gao Early disease biomarkers in urine proteomes of animal models. *Expert Rev Proteomics*. 2021, 7:1-16.

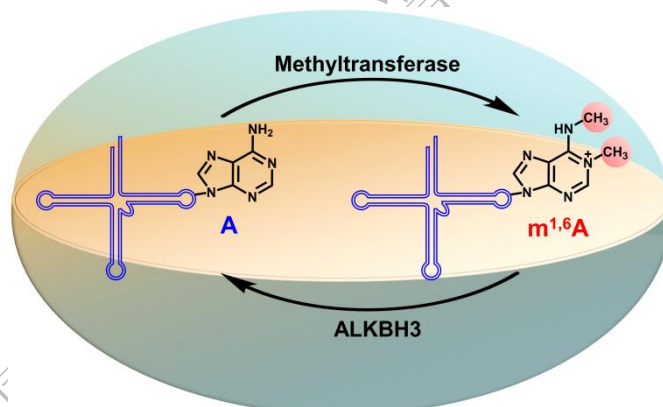
色质谱联用分析核酸新型修饰

游雪娇, 冯钰琦, 袁必锋*

武汉大学公共卫生学院, 武汉, 430072

* 通讯作者 Email: bfyuan@whu.edu.cn

RNA 分子中包含 150 多种化学修饰, 这些修饰参与调控各种生物过程。甲基化是哺乳动物 RNA 中最普遍的修饰类型。其中, 腺苷的甲基化修饰可以发生在 N6 位和 N1 位分别形成 N6-甲基腺苷 (m^6A) 和 N1-甲基腺苷 (m^1A)。腺苷上除了发生单一的甲基化修饰外, 还能发生双重甲基化修饰, 例如 N6,N6-二甲基腺苷 ($m^{6,6}A$)。然而, 生物体内是否存在其它形式的腺苷双重甲基化修饰仍未可知。我们通过合成标品对比的方式在哺乳动物 tRNA 中发现并鉴定了一种新型的腺苷双重甲基化修饰: N1,N6-二甲基腺苷 ($m^{1,6}A$)。通过细胞代谢标记实验证明了 tRNA 中的 $m^{1,6}A$ 是一种以 SAM 作为甲基供体的内源性修饰, 且在哺乳动物细胞中广泛存在。其中, 哺乳动物细胞 tRNA 中 $m^{1,6}A$ 的含量为 0.0049% ~ 0.0084%, 组织 tRNA 中的含量为 0.019% ~ 0.047%, 乳腺癌组织中的含量比癌旁组织的含量高。此外, 我们通过 DNA 探针杂交结合 S1 核酸酶消化实验证明了该修饰位于 tRNA 的 A58 位上。体内体外的实验证明了该修饰是一种动态的可逆性修饰, 体外生化实验证明了该修饰的生成途径之一是其位点上保守的 m^1A 修饰可以重排成 m^6A , 再通过该位点的甲基化复合物 TRMT6/61A 进一步形成 $m^{1,6}A$; 体内和体外实验均表明了该修饰可以被 ALKBH3 去甲基化。 $m^{1,6}A$ 的发现和其动态修饰过程扩大了 RNA 修饰的多样性, 提供了 tRNA 修饰介导的基因调控的新机制。

图 1: tRNA 上 $m^{1,6}A$ 动态修饰过程。

关键词: 色谱-质谱分析; RNA 修饰

致谢: 本研究得到国家自然科学基金 (22277093、22074110) 资助。

亚染色质结构下的 DNA 表观遗传修饰分析与表征

赖玮毅、张蕊、汪海林*

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

*Email: hlwang@rcees.ac.cn

细胞内 DNA 缠绕于组蛋白形成一种生理上极为重要的染色质结构。染色质可简单分为两种, 即常染色质和异染色质。当在光学显微镜下染色和观察时, 常染色质是浅色条带, 而异染色质是深色条带。较深的染色表明 DNA 包装更紧密。因此, 异染色质是比常染色质具有更紧密的 DNA 包装。细胞内超过 90% 的 DNA 处于异染色质中。由于组蛋白中多个氨基酸(如精氨酸、赖氨酸)可被特定的表观酶修饰, 染色质也因此可形成多种精细结构, 如与转录开放状态相关的 H3K4me、H3K36me 以及与转录关闭状态相关的 H3K9me、H3K27me。过去质谱分析可对 DNA 表观遗传修饰全基因组平均水平的分析与表征, 是各种分析(包括测序定量分析)中的金标准。在此我们提出将亲和富集、盐析作用与微量质谱分析技术相结合, 突破技术瓶颈, 实现对染色质精细结构下 DNA 表观遗传修饰的分析与表征。我们利用高盐可将染色质中的基质附着区(Matrix attachment regions (MARs)分级分离与富集, 结合超高效液相色谱分离、重稳定同位素稀释以及高灵敏的质谱分析, 可对基质附着区 DNA 的两种典型表观遗传修饰(5-甲基胞嘧啶和 5-羟甲基胞嘧啶)实现准确、灵敏的定量。我们的研究发现, 与全基因组平均水平相比, 基质附着区 DNA 的 5-羟甲基胞嘧啶水平显著降低, 而 5-甲基胞嘧啶水平无显著改变。该结果意味中基质附着区 DNA 的 5-羟甲基胞嘧啶的降低对其区域的关闭特性起着重要作用。环境中的多种污染物暴露、疾病状态、毒性作用都有可能改变了亚染色质结构下的 DNA 表观遗传修饰的分布与水平, 这将是以后研究的一个重要关注点。

参考文献:

1. Zhang, R.; Lai, W.; Wang, H. Quantification of epigenetic DNA modifications in the subchromatin structure matrix attachment regions by stable isotope dilution UHPLC-MS/MS analysis. *Anal. Chem.* 2021, 93: 15567–15572.
2. Lyu, C.; Niu, Y.; Lai, W.; Wang, Y.; Wang, Y.; Dai, P.; Ma, C.; Chen, S.; Li, Y.; Jiang, G.; Liang, Z.; Ma, W.; Gao, Z.; Tong, W.-M.; Wang, H. Rare and misincorporated DNA N6-methyladenine is a hallmark of cytotoxic stresses for selectively stimulating the stemness and proliferation of glioblastoma cells. *Cell Discov.*, 2022, 8: 39.
3. Luo, Q.; Mo, J.; Chen, H.; Hu, Z.; Wang, B.; Wu, J.; Liang, Z.; Xie, W.; Du, K.; Peng, M.; Li, Y.; Li, T.; Zhang, Y.; Shi, X.; Shen, W. H.; Shi, Y.; Dong, A.; Wang, H.; Ma, J. Structural insights into molecular mechanism for N6-adenosine methylation by MT-A70 family methyltransferase METTL4. *Nature Comm.*, 2022, 13: 5636
4. Kong, Y.; Cao, L.; Deikus, G.; Fan, Y.; Mead, E. A.; Lai, W.; Zhang, Y.; Yong, R.; Sebra, R.; Wang, H.; Zhang, X. S.; Fang, G. Critical assessment of DNA adenine methylation in eukaryotes using quantitative deconvolution. *Science*, 2022, 375: 515-522.

ICP-MS 用于超灵敏外泌体检测及细胞外泌体摄取异质化研究

张濛之, 徐章润*

东北大学分析科学研究中心, 沈阳, 110819

通讯联系人 E-mail: xuzr@mail.neu.edu.cn

外泌体是细胞分泌的纳米级囊泡小体, 含有蛋白质、核酸、脂类等生物活性分子, 参与多种生理和病理过程, 在癌症诊断与治疗中表现出巨大的潜力^[1,2]。本文将外泌体的信号巧妙地转换为金属元素的信号, 利用ICP-MS对金属元素的高灵敏响应实现了外泌体的超灵敏检测和细胞外泌体摄取异质化考察。为实现外泌体的超灵敏检测, 我们通过酶介导的四氧化三铁@二氧化锰纳米材料的刻蚀将外泌体的信号转换为锰元素的信号用于ICP-MS检测。与此同时, 为满足即时检测的需求, 我们利用刻蚀后的四氧化三铁@二氧化锰纳米材料建立了外泌体的光热检测方法^[3]。为进行细胞外泌体摄取异质化研究, 我们同时对外泌体进行了荧光和稀土元素的双功能化。利用荧光成像对细胞摄取外泌体的情况进行可视化追踪。并将微流控芯片与ICP-MS联用来保证单细胞进样和检测灵敏度, 根据检测到的稀土元素的信号对单细胞摄入外泌体的效率进行评估, 并依此对细胞的异质性进行探讨。以上方法的建立有望为基于外泌体的液体活检技术以及癌症治疗提供方法学基础。

关键词: ICP-MS、外泌体、超高灵敏度、外泌体摄取、单细胞

本研究受国家自然科学基金面上项目(21874015)、辽宁省自然科学基金计划项目(2021-YGJC-16)以及中央高效基本科研业务费(N2105023)项目资助。

参考文献:

1. I. Tatischeff, Current search through liquid biopsy of effective biomarkers for early cancer diagnosis into the rich cargoes of extracellular vesicles, *Int. J. Mol. Sci.*, **2021**, 22, 5674-5699.
2. S. Salunkhe, Dheeraj, M. Basak, D. Chitkara, A. Mittal, Surface functionalization of exosomes for target-specific delivery and in vivo imaging & tracking: strategies and significance. *J. Control. Release*, **2020**, 326, 599-614.
3. Y.Z. Zhang, Y.Y. Wei, P. Liu, X. Zhang, Z.R. Xu, X.D. Tan, M.L. Chen, J.H. Wang, ICP-MS and photothermal dual-readout assay for ultrasensitive and point-of-care detection of pancreatic cancer exosomes, *Anal. Chem.*, **2021**, 93, 11540-11546.

膜蛋白亲和配体筛选及肿瘤细胞分离分析研究

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

通讯联系人 E-mail: yyhuang@iccas.ac.cn, zhaorui@iccas.ac.cn

膜蛋白作为生物界面上的关键活性分子, 在细胞-细胞、细胞-环境以及细胞内外物质和能量交换中发挥重要作用, 是疾病检测和治疗的主要分子靶标。复杂生命体系中, 高选择性识别和分析膜蛋白, 对于在分子水平认识生命、探测疾病发生发展分子机制进而发展化学干预新策略具有重要意义。然而, 膜蛋白分离纯化困难、结构复杂且难以解析, 所处生物和化学环境拥挤以及高度动态的特点, 给靶向配体分子的设计、亲和筛选和活体分析应用带来了挑战。

从蛋白质特征的多级结构出发, 发展了亲疏水性质调控的蛋白疏水口袋亲和配基构建新方法。发现并解析了电荷、烷基链和空间异构等结构参数对四苯乙烯母核亲疏水性质的影响及白蛋白亲和识别的调控规律, 筛选得到对肿瘤细胞高表达的白蛋白受体膜蛋白和蛋白水解酶具有高亲和力、高选择性的小分子亲和配基, 建立了血液等复杂样品中蛋白质复合物的选择性分离和生物学功能分析新方法。针对多重跨膜蛋白具有多个胞外区亲水片段的特点, 提出了构建多位点协同识别多肽亲和探针的新思路。通过对空间手臂分子的柔性、长度及其共价偶联方式的筛选, 获得了蛋白质结合能力较单点识别多肽提高3个数量级的亲和探针。以肿瘤相关溶酶体四次穿膜蛋白为靶标, 构建了集高效亲和色谱筛选、反相色谱分离定量、在线质谱鉴定于一体的多肽筛选系统, 在生理环境中, 高分辨、低干扰地分离鉴别了亲和力强、选择性高的多肽, 实现了活细胞中靶标蛋白质的原位检测和示踪分析。将多价协同识别作用与分子界面组装相结合, 构建了兼具多肽-膜蛋白质识别和拓扑相互作用的多功能肿瘤细胞亲和界面, 实现了不同组织来源肿瘤细胞的高效、高选择性捕获。利用靶膜蛋白在肿瘤细胞转移过程中稳定高表达的特点, 建立了全血中肿瘤细胞直接、特异性分离捕获和检测新方法, 实现了临床肝癌患者血液中痕量循环肿瘤细胞的定量跟踪检测、可逆释放和基因分析, 为癌症的检测、转移预警和预后提供依据。

参考文献:

1. Y. Huang, C. Zhan, Y. Yang, L. Wang, H. Zhong, Y. Yu, X.-S. Zhang, C. Li, Y. Jin, G. Zhang, R. Zhao, D. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61, e2022083.
2. Y. Zhu, Y. Huang, T.-H. Yan, J. Li, Y. Li, H. F. Drake, H. Zhong, Y. Jin, R. Zhao, H.-C. Zhou, *Adv. Healthcare Mater.* **2022**, 11, 2200004.
3. H. Zhong, C. Yuan, J. He, Y. Yu, Y. Jin, Y. Huang, R. Zhao, *Anal. Chem.*, **2021**, 93, 9778-9787.
4. Y. Huang, X. You, L. Wang, G. Zhang, S. Gui, Y. Jin, R. Zhao, D. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, 59, 10042-10051.
5. 感谢国家自然科学基金委的资助

外泌体表面组学研究胰腺癌诊断标志物及药物治疗敏感性

王洪*, 江南, 宋林珍, 凌欢君, 刘邱宇, 高俊莉, 高俊顺

杭州广科安德生物科技有限公司

通讯联系人 E-mail: wh@cwmda.com

从接受临床治疗患者血液中检测循环肿瘤DNA, 因其含量极低而受到在监测和跟踪临床治疗方面应用的限制。外泌体作为直径为30-150nm囊泡富含了与疾病密切相关的核酸、蛋白质和代谢小分子化合物。血液中循环外泌体集合了来自肿瘤细胞和非肿瘤细胞分泌释放至血液中的外泌体。因此, 建立一种特异性富集分离来自肿瘤细胞分泌的外泌体对开展肿瘤治疗的分子谱分析有着十分重要的意义。本工作通过系统研究胰腺导管癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 外泌体表面蛋白质组学, 鉴定发现一组识别血液中来自PDAC细胞的外泌体并进行分子谱分析。我们首先对13种人源PDAC细胞株和2种非肿瘤细胞株外泌体表面蛋白质组学进行了LC-MS/MS分析, 鉴定出6种PDAC细胞外泌体表面特异性蛋白质标志物 (CLDN4、EPCAM、CD151、LGALS3BP、HIST2H2BE和HIST2H2BF)。进而对来自103位PDAC患者血液中的外泌体进行分离提取, 并通过微滴式数字PCR对来自接受治疗的74位PDAC患者外泌体进行KRAS突变检出率的基线测定。此外, 我们对另外29位PDAC患者的外泌体通过上述发现的6种PDAC细胞外泌体特异性蛋白的抗体进行PDAC特异性外泌体的免疫富集分离和微滴式数字PCR分析。使用分子标签靶向测序技术对聚二磷酸腺苷核糖聚合酶 (poly adenosine diphosphate ribose polymerase, PARP) 抑制剂治疗产生耐药性的PDAC患者的外泌体中DNA进行分子谱分析。结果表明: 在接受药物治疗的PDAC患者中, 有44.1%的患者可以直接从分离提取外泌体中检测到KRAS突变。然而, 高达73.0%的患者可以直接从免疫富集分离的外泌体中检测到KRAS突变。通过对免疫富集分离得到的外泌体内容物的分子谱分析不仅检测到原发肿瘤和肝转移组织中出现的驱动基因 (KRAS、TP53、BRCA2) 突变, 而且发现原发肿瘤中未曾出现的BRCA2 基因继发性突变。该继发性突变紧邻BRCA2 (L583*) 突变基因的第10外显子, 允许全外显子的剪接和完整mRNA的转录。从而阐明了PDAC患者对PARP抑制剂治疗产生耐药性的分子机制与携带BRCA2基因继发性突变有关。由于BRCA2继发性突变是在PARP-抑制剂靶向治疗过程中发生的, 因此该研究成果有助于指导PDAC患者的治疗分层和精准治疗。

基于长余辉发光的生物医药分析

严秀平*, 赵旭, 陈丽建, 严丽霞, 李娟

江南大学食品学院分析食品安全学研究所, 食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122

E-mail: xpyan@jiangnan.edu.cn

生物成像对于实现无创、实时和可视化监测细胞和分子水平上生物过程的分析, 分子水平上疾病发生机制及特征的理解、诊断和治疗具有重要的作用。长余辉发光纳米材料具有超长的发光寿命, 可以实现检测时免激发的生物传感和成像, 从而避免连续激发产生的背景干扰和对生物组织的光毒性。此外, 长余辉发光纳米材料与磁共振成像造影剂融合在一起的多模态探针, 可以实现高灵敏、高空间分辨率和免电离辐射的活体成像。因此, 发展基于长余辉发光纳米材料的新型探针在生物成像、疾病诊断和治疗中具有重要意义。本报告将介绍本团队在长余辉发光纳米材料的合成、功能化及其在生物传感、生物成像和诊疗一体化中的应用研究[1-5]。

参考文献:

1. J. Li, X.-L. Huang, X. Zhao, L.-J. Chen, X.-P. Yan, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60, 2398-2405.
2. X. Zhao, K.-C. Zhao, L.-J. Chen, Y.-S. Liu, J.-L. Liu, X.-P. Yan, *Chem. Sci.*, **2021**, 12, 442-452.
3. L.-X. Yan, L.-J. Chen, X. Zhao, X.-P. Yan, *Adv. Funct. Mater.*, **2020**, 30, 1909042.
4. J.-L. Liu, X. Zhao, L.-J. Chen, L.-M. Pan, X.-P. Yan, *Anal. Chem.*, **2021**, 93, 7348-7354.
5. S.-K. Sun, H.-F. Wang, X.-P. Yan, *Acc. Chem. Res.*, **2018**, 51, 1131-1143.

生物分子固定化亲和毛细管电泳方法研究

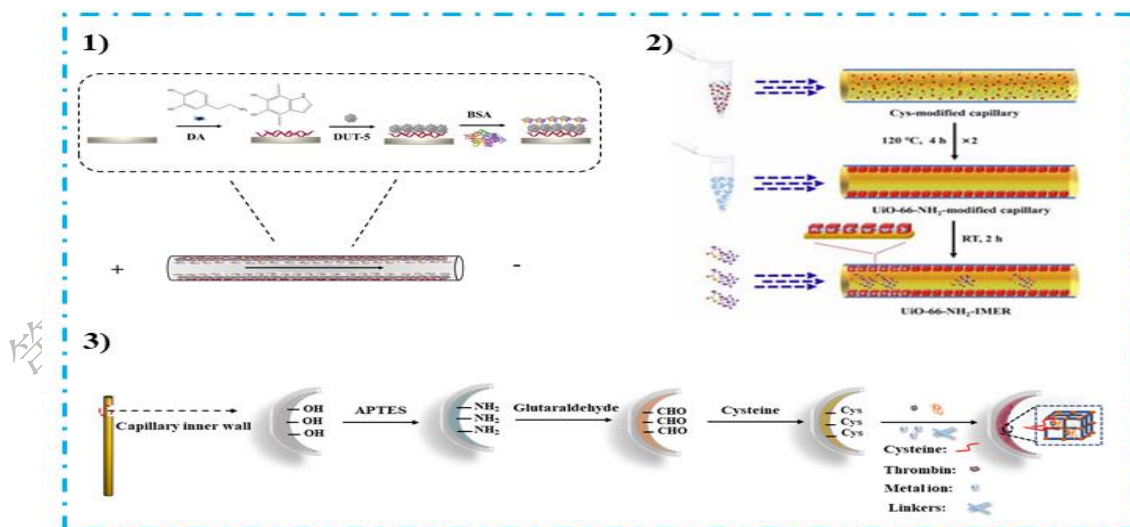
王 敏, 付琦峰, 黄一可, 周 楷, 夏之宁*

重庆大学药学院, 重庆, 401331

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

毛细管电泳 (CE) 药物筛选分析方兴未艾, 但具体应用不多。其原因还是筛选能力受限于非固定化受体产生的亲和作用不足; 并存在游离生物分子存在样品消耗量大、稳定性较差以及易受外界影响靶分子变性失活等问题。生物分子的固定化可有效增加配受体作用过程。生物分子经固定后其空间构象得以稳固, 稳定性得以提升, 还可重复利用。

金属有机骨架材料 (MOFs) 是一种可调孔径的多孔纳米材料, 以及高稳定性等优异性能。为生物分子固载载体的应用展现出巨大的潜势。本课题组开展了系列基于 MOFs 固载的新型生物分子固定化毛细管电色谱方法研究, 在新型固定化生物分子毛细管电色谱柱研究及其应用方面所取得的进展, 主要内容包括: 1) 构建了基于聚多巴胺的 MOFs 的固定化蛋白毛细管电色谱策略, 并用于药物与蛋白间相互作用的快速研究。通过引入聚多巴胺和 MOFs, 将蛋白固定于毛细管内表面增加了固定蛋白的量并有效地保持了蛋白的生物活性。并通过所构建的固定化蛋白毛细管电色谱法可快速筛选化合物, 并具有潜在评价未知药物的活性的能力。2) 采用固定化半胱氨酸诱导原位生长策略制备晶体致密生长的 UiO-66-NH₂ 涂层毛细管柱, 并通过表面吸附法于毛细管端口固定乙酰胆碱酯酶, 构建了新型 MOFs-IMERs-CEC 酶分析方法。所构建的酶分析系统有效地结合了 MOFs 作为电色谱固定相和酶固定化载体材料的优势, 显著提升 CE 分离分析能力的同时还能有效提升 IMERs-CE 酶分析技术的酶负载量、催化效率、稳定性以及重复性。3) 采用仿生矿化法原位封装凝血酶策略制备了 ZIF-8 封装凝血酶的亲和毛细管电色谱柱。相较于物理吸附法, 仿生矿化法原位封装生物分子策略在提升生物分子的负载量、稳定性以及重复使用性方面优势更甚。本课题组在固定化生物分子亲和毛细管电泳上探索, 初步体现了其在药物筛选中的应用潜力, 可为靶点药物分析和筛选提供新的思路 and 手段。



The graphical abstract of the work

参考文献:

1. Min Wang, Yi Liu, Yao Liu, Zhining Xia*, *Talanta.*, **2022**, 237, 122959.
2. Rui Liu, Gaoyi Yi, Baian Ji, Zhining Xia,* and Qifeng Fu*, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 6540-6547.

基于表位模拟肽识别的生物药物分离新方法研究

江正瑾*

暨南大学药学院/药物分析研究中心

(*Email: jzjackson@hotmail.com)

摘要: 抗体类药物作为治疗恶性肿瘤的重磅生物药物,具有靶向性强、疗效好和毒副作用低的特点,是全球新药研发热点。而如何从复杂生物体系中高特异性识别富集单抗/双抗,减少错配杂质或内源性蛋白的干扰,已成为抗体药物产业生产纯化、临床血药浓度监测及体内 PK/PD 研究面临的关键挑战。我们基于表位模拟肽靶向识别策略,开发了一系列满足复杂生物体系中目标抗体精准识别与高效富集需求的生物分离新方法、新技术。例如:设计出多种能特异性识别 Trastuzumab、Rituximab 或 Infliximab 的表位模拟肽,并结合有机聚合物整体材料生物相容性好的优势,开发了免抗原亲和富集新材料;在此基础上,提出体内抗体药变异体捕获新策略,设计出能特异性识别 Trastuzumab 可变区不同关键位点的表位模拟肽和适配体,并结合纳米复合材料比表面积大的优势,开发了双位点识别捕获新技术;此外,针对多种抗体的 Fc 区研制拟肽分子 VIM 配体,并结合亲和膜材料传质效率高的优势,联用在线自动化蛋白纯化仪开发高通量抗体纯化新方法。基于上述研究,整合 LC-MS/MS 技术搭建了体内抗体药物快速高效的精准分析平台,应用于体内单抗药生物转化变异体的快速追踪分析,对推动抗体新药研发具有显著的科学意义和应用价值。

第十四届全国生物医药色谱质谱及液相色谱学术研讨会

原位电离质谱技术在中药分析中的应用

李林楠*, 陈依琳, 谢燕巧, 田妹, 郑瑞蓉, 张怡欣, 杨莉*, 王峥涛*

(上海中医药大学中药研究所, 中药标准化教育部重点实验室, 国家中医药管理局中药新资源与质量评价重点实验室, 上海, 201203)

通讯联系人 E-mail: linnanli@shutcm.edu.cn; yl7@shutcm.edu.cn; ztwang@shutcm.edu.cn

原位电离质谱技术(AIMS)是一种新兴的质谱分析技术,可在敞开大气压条件下对待分析样品进行直接检测,整个分析过程无需或只需简单的样品前处理,具有高效、简单、快速等优势。近年来,以实时直接分析(DART)、解吸电喷雾离子化(DESI)、液滴萃取表面分析(LESA)等为代表的多种原位电离质谱技术在食品、药品、生物医学、环境等领域的分析中得到了广泛应用。以中药特征活性或有毒成分为研究对象,研究团队近年来基于多种原位电离质谱技术开展了系列研究,并取得了若干进展。基于DART-MS技术,开发了能够快速分析复杂基质中肝毒性吡咯里西啶生物碱的方法,能够应用于包括传统药材、药物制剂、食品样品中吡咯里西啶生物碱的快速鉴别和定量检测。同时进一步结合薄层色谱快速分离的优势,建立了激光辅助解析实时直接分析质谱(LA-DART-MS)平台用于中药的定性分析。该方法适用于对中药中生物碱、黄酮及黄酮苷类、蒽醌类、挥发油、有机酸等不同类型化合物的快速鉴别,并在苦参、当归、石菖蒲、黄柏、菊三七、石斛、大黄等中药中得到应用。另外,基于LESA-MS技术,开发了中药材的无损表面分析方法,并应用于名贵中药材三七、沉香的分析和质量控制。为解决高通量原位分析的需求,基于该项技术所构建的芯片纳升电喷雾质谱(Chip-based nano-ESI-MS)平台,能有效应用于中药熊胆的真伪来源鉴别和天然5 α -还原酶抑制剂的体外高通量筛选,促进了对中药质量控制和天然活性物质的研究。上述研究结果表明,原位电离质谱技术在中药天然药物分析领域具有很好的发展前景,能够帮助中药功效物质基础阐明和质量评价等研究应用。

关键词: 原位电离质谱; 实时直接分析; 解吸电喷雾离子化; 液滴萃取表面分析; 中药质量控制;

参考文献:

1. Yilin Chen, Linnan Li*, Fen Xiong, Yanqiao Xie, Aizhen Xiong, Zhengtao Wang, Li Yang*, Rapid identification and determination of pyrrolizidine alkaloids in herbal and food samples via direct analysis in real-time mass spectrometry, *Food Chemistry*, **2021**, 334, 127472
2. Linnan Li, Yilin Chen, Yuanguai Yang, Ying Yang, Li Yang*, Zhengtao Wang*, Rapid and sensitive analysis of progesterone by solid-phase extraction with amino-functionalized metal-organic frameworks coupled to direct analysis in real-time mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2020**, 412, 2939-2947
3. Yixin Zhang, Jiaojiao Wei, Linnan Li, Yamin Liu, Shuai Sun, Lu Xu, Shaoyong Liu, Zhengtao Wang, Li Yang*, Rapid identification of bear bile powder from other bile sources using chip-based nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **2022**, 36, e9326
4. Yilin Chen, Linnan Li*, Rui Xu, Fan Li, Lihua Gu, Huwei Liu, Zhengtao Wang, Li Yang*,

- Characterization of natural herbal medicines by thin-layer chromatography combined with laser ablation-assisted direct analysis in real-time mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **2021**, 1654, 462461
5. Ruirong Zheng, Linnan Li, Xueli Deng, Mei Tian, Zhengtao Wang*, Li Yang*, Fully automated chip-based nanoelectrospray ionization-mass spectrometry as an effective tool for rapid and high-throughput screening of 5 α -reductase inhibitors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2020**, 412, 1685–1692
 6. Yanqiao Xie, Linnan Li, Yilin Chen, Yuangui Yang, Hong Xu*, Zhengtao Wang, Li Yang*, Rapid authentication of the agarwood by using liquid extraction surface analysis-mass spectrometry (LESA-MS), *Phytochemical Analysis*, **2020**, 31, 801–808
 7. 田妹, 李林楠, 杨远贵, 杨莉*, 王峥涛, 液滴萃取表面分析-质谱法用于新鲜与蒸制三七根切片中皂苷成分的快速鉴别, *药学学报*, **2020**, 55, 123–130

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流

中药活性成分分析新技术新策略

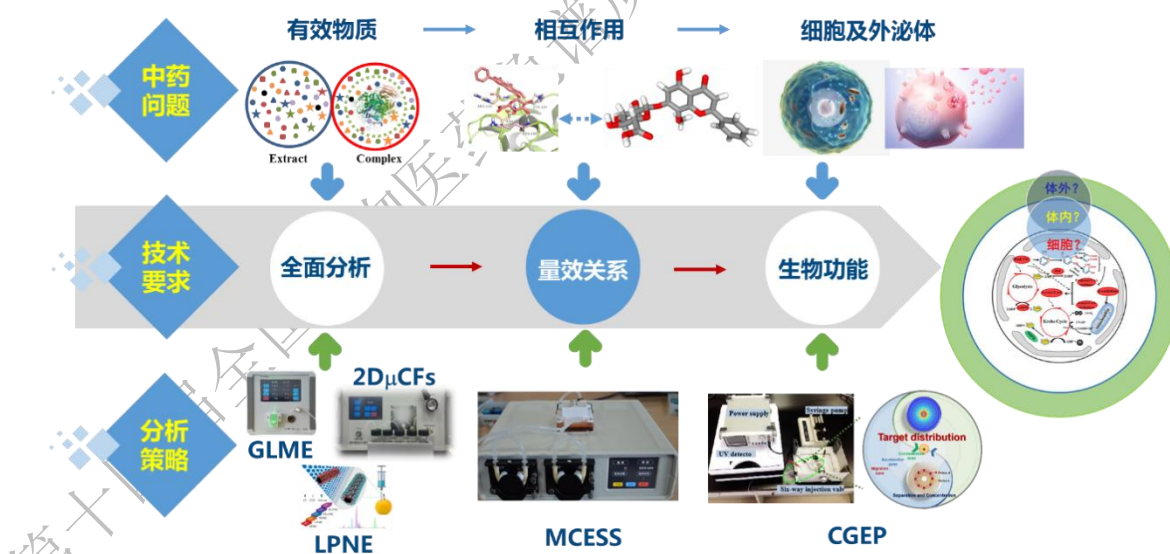
李东浩*, 刘璐, 邹依霖, 商海波, 于春宇, 王钊

延边大学, 吉林省延吉市公园路 977 号, 133002

E-mail: dhli@ybu.edu.cn

大多数中药是天然植物, 组成复杂, 其中的成分少则几十种, 多则几百种, 而且一种中药的药效往往只与其中的几种有效成分有关。中药不仅种类繁多, 而且同种药不同品种的成分含量也有差异, 同一品种的有效成分还受产地、培植方法、生产环境等的影响。中药的化学成分比较复杂, 包括各种类型的有机和无机物质, 同时可能还存在多种性质相似的同系物和同分异构体。中药的药效是并非某一种成分的单独作用, 而是多组分、多靶点之间共同作用。这些中药的组成复杂性和药效的网络协同作用, 使得中药研究需要高效可靠的检测技术, 并且对中药研究方法学提出新挑战。当今, 中药物质基础和生物活性研究, 基本上跟着西药的方法学和技术, 需要大量的工作量和研究经费, 导致无法建立健全中药质量标准, 严重阻碍中药的国际化发展。

基于中药组成复杂性和多组分多靶点协同作用等特点以及中医中药的临床应用的有效性和安全性发展历史, 为了解决生物样品的复杂性、传统技术费时费力等难题, 实验室自主研发了气液微萃取技术、多组分分离技术、多室电泳筛选技术、碳纳米纤维原位液相纳萃萃取技术以及靶式电泳分离技术等系列微分离分析自主创新技术, 并提出了“功效-药效-功能分子”中药研究新策略。



关键词: 中药、有效成分、纳萃取、微分离、样品前处理

参考文献:

1. Zou, Y.; Wang, L.; Li, D. *Analytical Chemistry*, **2021**, *93*; 1310-1316.
2. Liu, L.; Li, D. *Analytical Chemistry*, **2022**, *94*; 8474-8482.
3. Yu, C.; Wang, L.; Li, D. *Analytica Chimica Acta*, **2022**, *1217*; 339985.
4. Wang, Z.; Shang, H., Li, D. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2022**, *70*: 4774-4782.
5. Liu, L.; Li, D. *Lab on a Chip*, **2020**, *20*; 3535-3543.

本项目由国家自然科学基金(21775134, 22176164)项目资助

超分子锁控动态高通量分离体系设计及应用

卢新岭, 王勇*

天津大学理学院化学系, 天津, 300075

通讯联系人 E-mail: wangyongtju@tju.edu.cn

开发通用型分离策略是色谱分离领域研究人员追求的终极目标, 也是该领域的巨大挑战。传统分离材料的不断发展以及各种新型识别分离材料的创新^[1,2], 极大丰富了分离材料的种类并显著拓宽了适用范围。然而, 由于不同识别域之间的负向竞争, 通用性和选择性之间总是一对矛盾的存在, 这类单一材料的本征识别域往往只能针对特定类别的分析物导致其在筛选各类分析物时不能表现出优异的通用性。

为了克服这些问题, 我们注意到基于环糊精 (CD) 超分子的可逆主-客体 (Host-Guest) 相互作用在各个领域的应用, 其中Tilley课题组采用一种非共价化学方法, 通过与点击表面锚定CD可逆的主-客体包合作用, 将分子电催化剂可逆地绑定到电极表面^[3]。电极表面能可控释放和重新吸附新的催化分子, 这种独特的方法为我们依托环CD超分子设计高通量分离策略提供了极具价值的参考。因此, 基于上述研究背景和前期研究积累, 针对实现高通量分离的终极目标, 我们设计构建了超分子锁控动态高通量分离策略, 以CD独特的纳米空腔为主体, 通过精准分子设计构建稳定的主-客体动态锁控组装体系, 通过调节客体功能单元结构, 实现识别域广谱动态调变, 解决通量和选择性间的基本矛盾, 建立超分子锁控高通量分离材料理论新体系, 实现高通量分离方法学的独特创新。

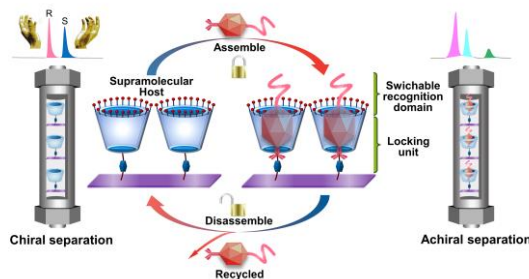


Fig. 1 A functionality-switchable separation strategy established by using reversible supramolecular host-guest interactions.

参考文献:

1. K. J. Hartlieb, J. M. Holcroft, P. Z. Moghadam, N. A. Vermeulen, M. M. Algaradah, M. S. Nassar, Y. Y. Botros, R. Q. Snurr, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138, 2292-2301.
2. X. L. Lu, M. Chen, J. T. Yang, M. Zhang, Y. Li, Y. Wang, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1664, 462786.
3. L. Sévery, J. Szczerbiński, M. Taskin, I. Tuncay, F. B. Nunes, C. Cignarella, G. Tocci, O. Blacque, J. Osterwalder, R. Zenobi, M. Iannuzzi, S. D. Tilley, *Nat. Chem.*, **2021**, 13, 523-529.

可逆反应介导的可控印迹聚合物制备与生物样品分离分析

盛乐、侯会卿、金钰龙*、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

E-mail: zhaorui@iccas.ac.cn

分子印迹聚合物（MIPs）作为一种人工合成的聚合物识别材料，具有可设计性强、兼具化学识别与空间匹配作用、稳定性高等优点，被誉为“塑料抗体”。针对小分子药物、多肽、蛋白质，构建高选择性、高亲和力的MIPs材料，并发展分离分析新方法，对疾病相关物质的分离与检测具有重要意义。然而，生物样品的复杂性给MIPs材料的识别性能提出了更高的要求。

利用可逆加成-断裂链转移（RAFT）可逆活性可控聚合反应，制备了尺寸厚度均匀的核壳型磁性MIPs复合材料，发展了氟喹诺酮类抗生素、 β 受体阻滞剂/激动剂等药物分子的快速分离与富集新方法，实现了血液等复杂生物样品中目标药物分子的高灵敏检测。相比于药物小分子，多肽、蛋白质等生物大分子的空间结构更加复杂、易变，且许多重要蛋白质含量低，获取困难，这给蛋白质的分子印迹带来新的挑战。因此，基于抗原决定基印迹法，利用成脎反应的特异性与可逆性，发展了脎键取向的表面印迹新策略。共价锚定与非共价印迹策略的集成改善了印迹位点的取向均一度，增强了MIPs与目标多肽、蛋白质的亲和力和选择性，成功实现了生理体液中心房利钠肽、 β_2 微球蛋白的高选择性富集与LC-MS高灵敏检测。

参考文献：

1. L. Sheng, Y. Jin, H. Hou, Y. Huang, R. Zhao, *Microchim. Acta*, **2022**, 189, 246.
2. H. Hou, Y. Jin, L. Sheng, Y. Huang, R. Zhao, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1673, 463204.
3. H. Hou, Y. Jin, K. Xu, L. Sheng, Y. Huang, R. Zhao, *Anal. Chim. Acta*, **2021**, 1154, 338301.
4. 感谢国家自然科学基金项目的资助。

岛津质谱平台——助力疾病早筛早诊

彭蜀莹*

岛津企业管理（中国）有限公司

通讯联系人 E-mail: sshpsy@shimadzu.com.cn

质谱与传统的免疫法相比，其在“灵敏度、特异性、多指标同时检测”等方面具有明显的优势，因此在临床领域的应用也越来越广。岛津公司作为专业的分析仪器供应商之一，为广大客户提供多样化的质谱平台，除体外诊断常用的 LC-MS/MS、GC-MS、ICP-MS、MALDI-TOF 外，成像质谱显微镜、QTOF 在临床科研领域也有着多样化的应用。利用这些不同类型的质谱产品，可以对新生儿遗传代谢病、抑郁症、骨质疏松、老年痴呆症、乳腺癌等多种疾病进行早诊早筛。

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术研讨会

环境新污染物的鉴定分析与毒理学研究

王威, 曹国栋, 张岩皓, 蔡宗苇*

环境与生物分析国家重点实验室 (香港浸会大学)

通讯联系人 E-mail: zwcai@hkbu.edu.hk

随着社会经济的发展和人口的增长, 以及各类新兴人造化学品的发明和生产, 环境新污染物的数量和种类逐年增加, 对环境和人类健康造成了严重的威胁。近年来由于国家逐步重视对新污染物的调查、风险评估和管控, 鉴定分析新污染物及其毒理研究变得愈发重要。

新污染物的鉴定分析是研究其环境特征及暴露风险的基础。由于新污染物拥有种类多样、痕量浓度、基质复杂和缺乏标准品等特点, 使得其鉴定分析具有很大的难度。因此需要采用现代化高效、精准、灵敏的分析技术, 如气相/液相色谱-高分辨质谱联用等, 对其结构特征和环境浓度进行深入研究。

2020年,《科学》杂志揭示了北美“城市径流死亡综合症”,即在降雨时河流中的银鲑鱼(coho salmon)出现急性和大量死亡的原因。作为广泛采用的轮胎橡胶添加剂6PPD的氧化产物6PPQ(6PPD醌)被确认能在较低的剂量下引起银鲑鱼的急性死亡(24小时半致死浓度95 ng/L)。这一研究引发了环境科学学界对于该类新污染物的特别关注。我们近期的研究通过应用基于高分辨质谱的疑似筛选策略,首次识别到疑似包含6PPQ在内的一系列新PPD醌类污染物。我们通过化学合成6PPQ标准物质包括其同位素标记标准物,确认了该类新污染物在水体,土壤和大气在内的多种环境介质的广泛分布。同时,通过高灵敏度的三重四极杆质谱,我们对其环境浓度水平进行了准确定量,并依据定量结果对不同人群,不同场景下的多途径暴露风险进行了评估。

新污染物的毒理学研究是评估其对环境和人类健康影响的重要手段。许多新污染物如6PPQ的毒性机制尚未完全了解。我们通过现代生物学技术和细胞学技术等手段,探究其对生物体的毒性作用机制。此外也深入研究被人类使用多年而造成环境污染的化学物质物的新毒性。例如,三氯生(TCS)作为一种广谱杀菌剂,已经被大量生产和使用,其广泛的毒性效应如干扰内分泌系统,引发结肠炎等也引起了人们的警惕。然而,由其引发的人体肠道毒性机制却仍然不明。我们近期的研究发现了肠道微生物酶会发挥调节作用,把TCS的无活性葡糖苷酸二相代谢物,在人体肠道重新激活转化为有毒性的TCS。该结果揭示肠道微生物参与TCS代谢和毒理的重要机制,对这类新污染物的毒理学研究提供了重要线索。

综上,新污染物的鉴定分析和毒理学研究是对其进行风险评估和控制的重要手段。需要采用现代化学分析技术和生物学技术等手段,深入探究其组分、含量、暴露及毒性影响等方面的特征,为新污染物的管理和控制提供科学依据。

谷物中有机磷阻燃剂液相色谱-高分辨质谱非靶向筛查方法研究

李康聪, 张燕, 李秀琴, 高燕, 张庆合*

中国计量科学研究院化学所, 北京, 100029

通讯联系人 E-mail: zhangqh@nim.ac.cn

目前的有机磷阻燃剂 (Organophosphorus flame retardants, OPFRs) 检测手段能实现一定范围目标物的定性和定量分析, 但无法对可疑和未知的 OPFRs 进行全面筛查和浓度评估^[1-3]。本文基于超高效液相色谱-静电场轨道阱质谱, 建立了谷物中 OPFRs 的靶向、可疑和非靶向筛查方法及非靶向定量评估方法, 并对不同地区的谷物样品进行分析。

研究发现: 优化后的前处理方法的回收率在 64.4%~118.4% 之间。使用大米和玉米两种基质匹配溶液对定性方法进行验证: 当加标浓度从 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 增加到 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上时, 三种筛查方式的检出率提高了 52%~64%, 假阳性率降低了 12%~20%, 随着加标浓度的增大, 检出率有明显的提升。定量分析方面: 两种基质匹配溶液下单个化合物标准曲线的相对不确定度在 0.6%~8.1% 之间; 将多目标化合物数据汇总, 拟合标准曲线的相对不确定度在 12.2%~26.1% 之间, 可以对基质中检出的新型 OPFRs 实现初步定量。使用响应因子 (Response Factor, RF) 估计法对两种基质匹配溶液中的化合物浓度范围进行预测, 发现使用所有化合物的 RF 共同预测时的偏差在 0.1 至 118.8 倍之间, 将化合物分为烷基、卤代和芳香三类进行校准, 偏差在 0.2 至 39.5 倍之间, 分类校准降低了化合物浓度预测的误差, 增加了对未知 OPFRs 浓度范围预测的准确性。9 种不同来源的谷物样品中共检出 7 种 OPFRs, 其中靶向筛查中检出 4 种, 含量范围在 0.1~33.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间; 可疑和非靶向筛查中检出 3 种, 预测的浓度范围在 3.2~17.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, RF 浓度预测下限为 0.1~2.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, RF 浓度预测上限为 28.7~78.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 在几种谷物样品中, TEP、TPHP 和 tripentylated triphenyl phosphate 的出现频率最高。

关键词: 有机磷阻燃剂, 液相色谱-高分辨质谱, 非靶向筛查, 非靶向定量评估

参考文献:

1. Yang J, Zhou X, Li X, et al. Simultaneous determination of 21 organophosphorus flame retardants in rice by gas chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Talanta*, **2023**, 253: 124103.
2. Ye L, Meng W, Huang J, et al. Establishment of a target, suspect, and functional group-dependent screening strategy for organophosphate esters (OPEs): "Into the Unknown" of OPEs in the sediment of Taihu Lake, China[J]. *Environmental Science & Technology*, **2021**, 55(9): 5836-5847.
3. Groff L C, Grossman J N, Krueve A, et al. Uncertainty estimation strategies for quantitative non-targeted analysis[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2022**, 414(17): 4919-4933.

生物酶固定化及其对环境污染物降解机制的质谱分析研究

郝 赟, 杨丽娜, 谢孟峡*

北京师范大学分析测试中心

E-mail: xiemx@bnu.edu.cn

环境污染问题严重威胁着生态环境和人类健康, 探索具有绿色、可持续、高效、低成本降解水环境中有机污染物的新方法, 将对提高人类健康水平和保护生态环境具有非常重要的意义。通过自组装法将 β -内酰胺酶固定在 ZIF-8 骨架中形成了 β -内酰胺酶@ZIF-8 纳米复合物材料。根据材料的形貌表征和载酶量对其制备条件进行了优化, 并对其结构进行了表征, 结果表明, β -内酰胺酶成功包裹在 ZIF-8 MOFs 的内部。该材料对高温、有机溶剂、生物酶抑制剂等极端条件具有良好的稳定性。以氨苄西林为降解底物, 对复合物材料的催化性能进行了研究, 结果显示, 材料的催化活性与游离酶相比得到了明显的提升。 β -内酰胺酶@ZIF-8 催化材料对青霉素类抗生素具有专属性催化作用, 且可重复利用。结合液质联用方法, 对底物的降解产物和降解机制进行了探讨, 发现材料的 β -内酰胺酶和 ZIF-8 MOFs 材料之间存在协同作用。ZIF-8 骨架中的 Zn (II) 离子参与催化反应过程, 与氨苄西林分子中 β -内酰胺环上的羰基 (7) 和侧链上的氮原子形成复合物, 从而削弱 β -内酰胺键, 使其更容易发生断裂, 从而解释了材料催化活性提高的原因。同时, 对降解机制进行了验证。为了进一步提升载酶催化材料的催化性能, 将头孢菌素酶和光热剂普鲁士蓝纳米颗粒同时封装到 ZIF-8 金属有机框架材料中, 制备了一种具有近红外光热效应的纳米催化材料, 用于环境中头孢菌素类抗生素的催化降解。在该材料中, 普鲁士蓝纳米颗粒在 808 nm 近红外光的照射下, 可以产生光热效应, 使材料的温度快速上升到 37 °C 左右, 使头孢菌素酶处于最佳的催化活性, 从而提升其对抗生素的降解效率。对不同代头孢菌素的降解产物进行了质谱分析, 根据降解产物对头孢菌素的降解途径进行了推定。此外, 还构建了漆酶-介质一体化级联降解体系, 研究了其对染料等污染物的降解性能。

参考文献:

- [1] Yang, L. N.; Hu, D. H.; Liu, H. L.; Wang, X. F.; Liu, Y.; Xia, Q. S.; Deng, S. M.; Hao, Y.; Jin, Y. H.; Xie, M. X. *J. Hazard. Mater.* **2021**, 414, 125549.
- [2] Liang, S.; Wu, X. L.; Xiong, J.; Zong, M. H.; Lou, W. Y. *Coord. Chem. Rev.* **2020**, 406, 213149.
- [3] Chen, G. S.; Huang, S. M.; Kou, X. X.; Wei, S. B.; Huang, S. Y.; Jiang, S. Q.; Y.; Shen, J.; Zhu, F.; Ouyang, G. F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2019**, 58, 1463–1467.

新型抗菌抗病毒材料的研发与应用

郭帅兵², 李春晓², 丛海林^{1*, 2*}, 于冰^{2*}

1. 山东理工大学; 2. 青岛大学

通讯联系人 E-mail: hailincong@163.com; yubingqdu@163.com

摘要: 由细菌和病毒引起的致命疾病的出现和传播已对世界健康构成了严重威胁, 成为公共卫生和安全的突出问题。因此, 如何提高个人防护装备的抗菌和抗病毒性能已迫在眉睫[1]。

本研究通过“一锅法”合成了一种新型的PTHP聚合物, 并利用静电纺丝工艺制备了聚丙烯腈/聚四氢嘧啶 (PAN/PTHP) 纳米纤维 (图1), 实验结果表明: 该纳米纤维既具有高效持久的抗菌效果、良好的细胞相容性; 又对慢病毒具有明显的破坏作用 (图2)。基于这些特性, 将PAN/PTHP纳米纤维应用于防护口罩, 不仅对空气中颗粒物实现良好的拦截, 而且表现出优异的抗菌、抗病毒效果, 为新型防护材料的开发提供了新的思路[2]。

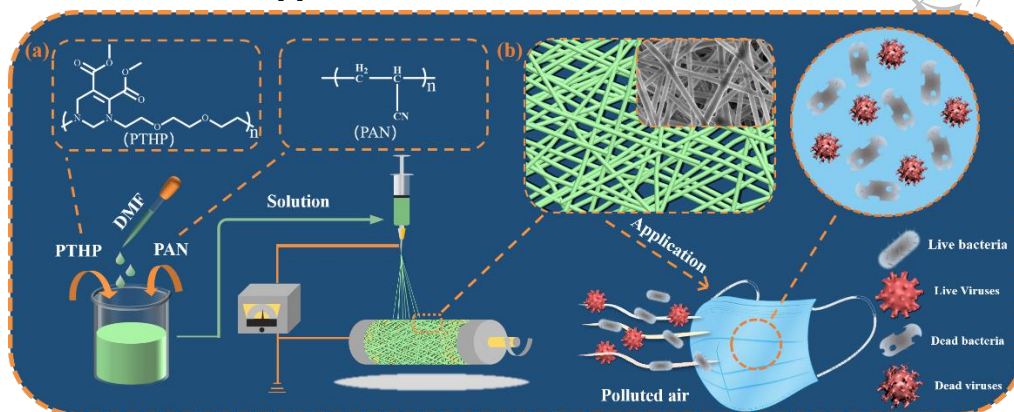


图 1 示意图: (a) PAN/PTHP 纳米纤维的制备过程;

(b) 将纳米纤维应用于口罩进一步增强抗菌和抗病毒性能。

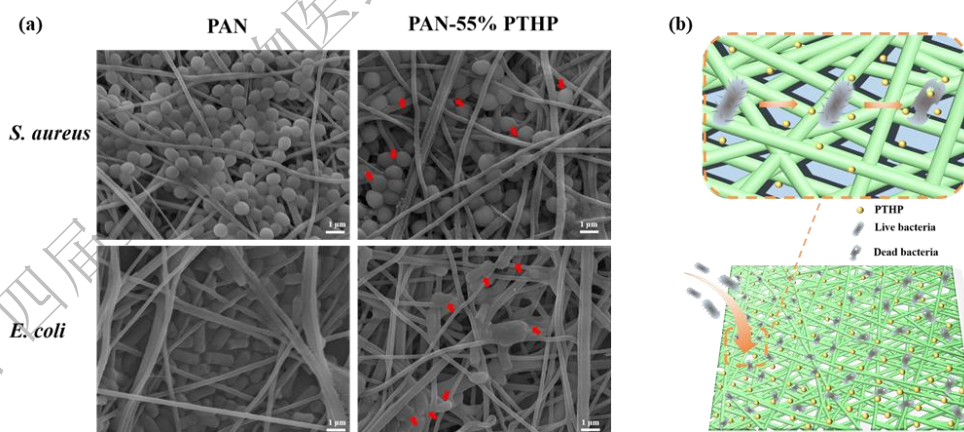


图 2 抗菌机理研究: (a) 在 PAN-55% PTHP 纳米纤维上培养的细菌的 SEM 图;

(b) PAN/PTHP 纳米纤维抗菌机理示意图。

参考文献: [1] Y. Tian, L. Pang, R. Zhang, T. Xu, S. Wang, B. Yu, L. Gao, H. Cong, Y. Shen. ACS Appl. Mater. Interf., 2020, 12: 50236.

[2] S. Guo, B. Yu, A. Ahmed, H. Cong, Y. Shen. J. Hazard. Mater., 2022, 424: 127602.

分子印迹及其环境分析应用研究

陈令新^{1*}, 王晓艳², 李金花¹, 齐骥¹, 李博伟¹

¹中国科学院烟台海岸带研究所

²滨州医学院药学院

通讯联系人 E-mail: lxchen@yic.ac.cn

自然资源开发带来巨大经济效益的同时,也随之带来了一系列的环境污染、生态破坏问题。环境分析是认知生态环境规律的基础,为生态环境安全建设、促进可持续发展提供理论支撑。环境化学与生物要素种类繁多、性质各异,分子、离子污染物含量低、危害大、赋存介质复杂,其准确、快速分析面临挑战。分子(离子)印迹技术是以特定目标分子(离子)为模板,制备对该分子(离子)具有特异选择性聚合物的过程。基于印迹聚合物的富集分离、传感分析技术,充分利用印迹材料的构效预定性、特异性识别和广泛适用的特点,可以为环境分析提供高选择性、快速便捷的前处理与传感方法。

近10年来,我们团队在分子印迹及其环境分析应用方面开展了系统性研究。从分子识别作用原理和印迹界面构建两大核心出发,逐渐形成了样品前处理的基础应用,进而发展为基于印迹的传感分析器件应用研究。主要包括:模板、功能单体以及分子间刺激响应形成的分子识别作用的调控变换,是分子印迹研究运用的理论基础;发展了表面/纳米印迹技术、多模板印迹以及绿色印迹策略等先进印迹技术和策略,研究界面传质模型,构建高传质印迹界面;利用印迹基础特性,形成固相萃取、磁响应固相萃取、在线固相萃取以及分离去除等样品前处理应用;进一步结合光学、电化学等传感方法形成高灵敏的快速传感器件。

分子印迹的功能和优势不断被开发和应用,我们除了展示分子印迹在环境分析方面的系统研究和应用之外,也对分子印迹在生物医药、健康诊断等领域的发展潜力做前瞻性分析——环境-健康-生物医药三者是密不可分的。

参考文献:

1. L. Chen, X. Wang, W. Lu, X. Wu, J. Li, *Chemical Society Reviews*, **2016**, 45, 2137-2211.
2. A. Ostovan, M. Arabi, Y. Wang, J. Li, B. Li, X. Wang, L. Chen, *Advanced Materials*, 2022, e2203154.
3. M. Arabi, A. Ostovan, J. Li, X. Wang, Z. Zhang, J. Choo, L. Chen, *Advanced Materials*, 2021, 33, 2100543.

全二维气相色谱-飞行时间质谱分析鉴定和浮选提取薄荷及大葱根挥发性物质

闫晨, 刘聪, 魏芸*

北京化工大学化工资源有效利用国家重点实验室, 北京 100029

通讯联系人 E-mail: weiyun@mail.buct.edu.cn

摘要

薄荷, 唇形科薄荷属植物, 其干燥地上部分可作为中华传统药材及日常代茶的食品, 具有疏肝行气、抑菌抗炎和抗氧化等生物活性。薄荷中的活性成分包括黄酮类、多酚类、萜类、苯丙素类、氨基酸类、多糖类以及挥发油^[1]等。大葱, 百合科葱属植物, 在我国长达 3000 余年的种植历史, 是比较常见的药食两用植物, 大葱根是大葱食用后剩余的废弃物, 是一种丰富且廉价的资源。

植物挥发油的检测手段主要有气相色谱 (GC) 和气相色谱质谱联用技术 (GC-MS), 但它们在植物挥发油分析中有局限性, 如峰容量不足及检测成分少。全二维气相色谱-飞行时间质谱技术 (GC×GC-TOF/MS) 具有灵敏度高、分辨率高、峰容量大和信息量大等优点。本研究采用全二维气相色谱-飞行时间质谱分析鉴定薄荷及大葱根中提取的挥发油, 并与常用的一维气质鉴定方法进行比较。GC-MS 从薄荷挥发油中鉴定出 133 个物质, 而 GC×GC/TOFMS 从薄荷挥发油中鉴定出 1859 个物质。GC-MS 从大葱根挥发油成分鉴定出 54 个物质, 而 GC×GC-TOF/MS 鉴定出 256 个物质, GC×GC-TOF/MS 鉴定得到的种类和数量远远超过 GC-MS。全二维气相色谱-飞行时间质谱可以弥补一维气相色谱质谱分析上的缺陷, 使可分析的挥发性化合物数量提高 5 倍以上, 为后续深入研究葱根挥发油的化学组成提供技术支撑。

溶剂浮选是一种吸附气泡分离技术, 溶液中的表面活性分子可以吸附在上升气体产生的气泡周围液膜上, 气泡破裂后, 表面活性分子溶解在顶部的有机相中^[2]。颗粒辅助溶剂浮选方法是通过悬浮颗粒和气泡之间的相互作用来实现挥发性物质的富集和分离。气泡和悬浮颗粒之间形成一层薄的液膜, 因冲击速度使得气泡表面变形, 薄膜表面积增加, 这有助于吸附更多的目标物质^[3]。两者之间的薄液膜破裂后会形成三相接触线, 气泡附着在固体三相接触线上, 会带走颗粒中残留的疏水性目标物质。

采用本课题组已建立的颗粒辅助溶剂浮选方法从薄荷叶样品中富集了薄荷酮、异薄荷酮、左旋薄荷醇、3-甲基-6-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮、4-甲基-1-(1-甲基乙基)-环己烯, 左旋薄荷醇的含量最高。从葱根的悬浮液中提取含硫物质, 鉴定 15 个化合物, 包括含硫化合物 3 种, 醛类化合物 3 种, 酸类化合物 3 种, 酯类化合物 1 种, 芳香族化合物 3 种, 烃类化合物 2 种。其中目标化合物二丙基二硫醚 (Dipropyl disulfide)、二丙基三硫醚 (Dipropyl trisulfide) 和 2,5-二甲基噻吩 (2,5-dimethylthiophene) 的产率分别为 10.8%、0.6% 和 0.5%。通过分子对接初步验证二丙基二硫醚具有抑制淀粉样蛋白-β 的潜力, 为开发预防老年痴呆症的可能药物提供物质基础。

参考文献:

1. 蒋梦宇, 费泓浩, 于欣蕊, 等. 薄荷活性成分及其提取技术的研究进展. 化工技术与开发, 2022, 51(Z1): 57-59.
2. CHANG L, BI P Y, LI X C, et al. Study of solvent sublation for concentration of trace phthalate esters in plastic beverage packaging and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. Food Chemistry, 2015, 177 (15): 127-133.
3. KRASOWSKA M, MALYSA K, BEATTIE D A. Recent advances in studies of bubble-solid interactions and wetting film stability. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2019, 44: 48-58.

基于质谱碎裂特征快速筛查食品中的危害化合物

夏兵, 周燕*

中国科学院成都生物研究所

通讯联系人 E-mail: zhouyan@cib.ac.cn

核磁共振波谱与质谱是有机化合物结构鉴定的主要工具。然而由于核磁共振波谱检测限和灵敏度的局限性,使其在微量成分鉴定中面临挑战。随着液相色谱-质谱联用技术、高分辨质谱和多级质谱裂解技术的发展,特别是多级质谱裂解技术在有机化合物快速筛查中的广泛应用,使得微量和不稳定成分的快速解析成为可能^{1,2}。质谱和串联质谱在化合物结构的鉴定和表征方面已经成为了一个重要的信息来源。每一类天然有机化合物,在串联质谱中除有常规的质谱裂解方式外,通常还具有因特定骨架类型而产生的特征裂解。因此我们可以通过各类成分的特征质谱裂解所产生的特征碎片离子(Diagnostic Ions)来确认该类化合物的结构类型,然后再由常规的裂解方式来推测其周边可能的取代基团。基于以上的思路,我们设计并构建了一种天然化合物质谱智能解析方法³。

食品中化学危害因子种类繁多,部分标准品难以获取,质谱数据库容量有限导致非定向筛查不确定度大、可信度低等。为实现对食品化学危害因子的有效监管,解决无标准品和质谱信息缺失危害因子的类别甄别和结构推断,提升质谱非定向筛查数据的可信度,我们在前期研究基础上开发了利用质谱信息辅助食品化学危害因子结构鉴定的智能解析方案。

针对食品生产、加工及流通过程中食品的污染、农药兽药残留、食品非法添加的现状和突发食品安全事件应急处置,以农兽药、人用药品、环境污染物、非法添加物、天然毒素及其他有毒流通化学品为研究对象,通过液相色谱-高分辨串联质谱分析方法获取其质谱碎裂模式,深度挖掘化合物质谱碎片与其特征结构之间的对应关联,实现高效、快速、准确、自动化的质谱碎裂规律解析,揭示危害因子电喷雾电离碎裂的机理和规律,筛选出危害因子的特征碎裂模式和特征亚结构以构建危害因子特征结构信息数据库和质谱裂解特征数据库。实现质谱特征碎片反向解析危害物的可能类别,解决无标准品和质谱信息缺失化学危害因子的类别甄别^{4,5}。从质谱碎裂信息智能解析技术入手,对食品危害物的非靶向筛查进行深入研究,实现从被动应对到主动防御的目标,尤其针对不在筛查列表中的危害物及疑似危害物实现非定向筛查和风险预警。提升食品化学危害因子的非靶标筛查能力,解决食品安全防控的关键科学问题,实现对食品化学危害因子的有效监管,特别是全面的、非定向性的监控和预警。

参考文献:

1. I.A. Papayannopoulos, *Mass Spectrom. Rev.*, **1995**, 14(1), 49-73.
2. E.H. Kerns, K.J. Volk, S.E. Hill, M.S. Lee, *J. Nat. Prod.*, **1994**, 57, 1391-1403.
3. 夏兵, 马风伟, 丁立生, 周燕*, 天然产物的质谱智能解析研究, *中国科学化学*, **2017**, 47, 1-9.
4. S. Lei, P.Y. Shi, W.L. Wu, B. Xia, X. Fu, Y.P. Wan, Y. Zhou*, *Food Chem.*, **2020**, 329, 127146.
5. W.L. Wu, S.Y. Liu, T.R. Guo, X.Y. Han, B. Xia, Y.P. Wan, Q.B. Han, Y. Zhou*, *Food Chem.*, **2021**, 356, 129643.

基于功能化石墨烯气凝胶的复杂样品前处理方法研究

乔凤霞^{1,3}, 韩晔红², 闫宏远^{1,2*}¹ 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, 071002² 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, 071002³ 保定学院生物化工与环境工程学院, 保定, 071000*E-mail: yanhy@hbu.edu.cn

色谱、色谱-质谱技术作为一种重要的分离分析技术, 在环境监测、食品安全和生物医药监测中发挥着重要的作用^[1]。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、色谱-质谱检测, 因此样品前处理技术的开发是色谱、色谱-质谱分析中最为关键和耗时的一步^[2,3]。目前, 开发高吸附容量、快传质速率、多吸附机制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、色谱-质谱分析领域的研究热点之一^[4]。二维石墨烯材料具有比表面积大、机械性能良好、化学性质稳定等特性, 近年来已被作为吸附剂广泛用于样品前处理领域。然而其二维平面结构容易产生聚集、结块的现象, 使其比表面积降低, 影响吸附性能^[5]。为了有效避免石墨烯片层间的堆积, 石墨烯通过溶胶、凝胶和干燥等步骤后会形成多孔的三维石墨烯气凝胶。与石墨烯相比, 石墨烯气凝胶具有更低的密度、更高的孔隙率、更大的比表面积和更稳定的形貌^[6]。然而由于其吸附机制单一、力学性能不稳定等缺陷限制了其在样品前处理领域中的应用。本课题组围绕新型功能化石墨烯气凝胶的开发和提高复杂样品中痕量组分选择性萃取为中心, 以低共熔溶剂和氧化石墨粉为前驱体, 结合冷冻凝胶技术、官能团接枝技术和分子印迹技术, 制备新型功能化三维石墨烯气凝胶, 解决了石墨烯气凝胶材料吸附作用力少、特异选择性弱和机械强度差的问题。考察优化合成条件, 并对石墨烯气凝胶分子识别机理、微观形态和吸附机制进行深入研究。以合成的功能化三维石墨烯气凝胶为吸附剂, 通过在线和离线等多种萃取模式, 发展高效、快速的样品前处理技术, 克服样品组成复杂带来的内源性干扰问题, 利用其多吸附机制和强特异选择性等优点实现复杂样品中低浓度组分的快速萃取分离, 结合色谱、色谱-质谱等检测手段, 建立复杂样品中痕量组分高灵敏分析新方法, 实现了体液样品中痕量疾病标志物、食品中有机污染物和环境样品中持久性有机污染物的快速高灵敏检测, 为生物医药、食品安全和环境监测等领域提供新思路和新方法。

参考文献:

1. J. Guo, T. Huan, *Anal. Chem.*, **2023**, 95, 5894-5902.
2. M. Wang, F. Qiao, H. Yan, *Green Chem.*, **2021**, 23, 5179-5188.
3. F. Shahhoseini, A. Azizi, C.S. Bottaro, *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2022**, 156, 116695.
4. K. Dashtian, S. Hajati, M. Ghaedi, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 6781-6790.
5. J. Han, I. Johnson, M. Chen, *Adv. Mater.*, **2022**, 34, 2108750.
6. X. Wang, Y. Han, J. Cao, H. Yan, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1672, 463012.

微型化芯片电泳仪的研制及其现场检测应用

余洁, 王远航, 千佳丽, 杨燕, 曲昭玮, 蒲巧生*

兰州大学化学化工学院, 甘肃省兰州市城关区天水南路 222 号, 邮编 730000

通讯联系人 E-mail: puqs@lzu.edu.cn

微流控芯片电泳 (MCE) 具有分析速度快、试剂试样消耗小、易于微型化等优点, 适合现场检测^[1,2]。设计制作体积小、功耗低、环境兼容性强的便携式芯片电泳仪对推动该技术的实际应用有重要价值^[3]。在本工作中, 我们利用光固化3D打印技术制作激光诱导荧光检测器的光路模块, 利用熔融堆积3D打印制作支撑件及外壳, 兼顾整机尺寸、成本和易用性, 制作了可在户外现场使用的微型化芯片电泳仪 (图1a)。所制作设备的大小为16.1 cm × 9.8 cm × 9.4 cm, 重量为1220 g, 可使用笔记本电脑进行控制。电泳高压控制、数据采集和设备供电均通过同一根USB线完成。考察了该设备在户外条件下的基本性能, 并将其用于湖水样品中草铵 (GLUF)、草甘膦 (GLYP) 及其代谢产物氨基甲酸 (AMPA) 的现场快速MCE分离分析。在最佳分离条件下, GLUF、GLYP及AMPA达到了基线分离 (图1b), 检出限低于0.4 nM。湖水样品中3种分析物的加标回收率在89.1%–107.3%之间, 日内和日间回收率RSD值均不大于4.6%, 证明了该设备的实用性。

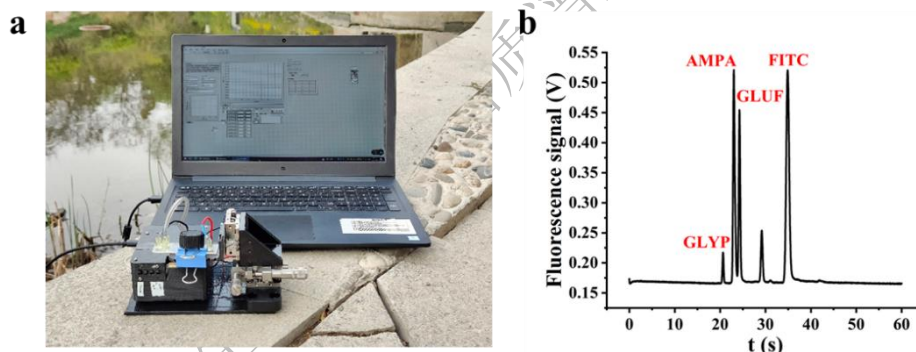


图 1 (a) 仪器现场测试实物图; (b) GLUF、GLYP 及 AMPA 电泳分离图

关键词: 芯片电泳, 现场检测, 仪器制作

参考文献:

1. A. Dispas, P. Emonts, M. Fillet. *Trends in Analytical Chemistry*. **2021**, 139:116266.
2. M.A.A. Ragab, E.I. El-Kimary. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. **2021**, 51(8):709-741.
3. M. Zhang, S.C. Phung, P. Smejkal, R.M. Guijt, M.C. Breadmore. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. **2018**, 18:1-10.

致谢: 感谢国家自然科学基金 (No. 21974057) 的资助。

水凝胶修饰硅胶混合模式色谱固定相研究

梁晓静, 樊芳斌, 郭勇*

中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州, 730000

通讯联系人 E-mail: guoyong@licp.cas.cn

采用两步交联聚合策略, 将一种具有温度响应性的疏水缔合水凝胶修饰到硅胶表面, 制备了一种亲/疏水混合模式色谱固定相, 利用水凝胶的温度响应特点, 丰富了色谱分离模式, 大幅提升了分离速度和分离效率, 并首次通过液相色谱方式, 证实了水凝胶温度响应作用原理中存在氢键相互作用^[1]。为进一步提升固定相的分离多样性, 通过在水凝胶网络结构中引入一定比例的亲水和疏水单体, 并将其协同键合到硅胶表面, 制备了一种双亲性非共轭柔性三维网络结构水凝胶修饰硅胶混合模式色谱固定相, 实现了多种不同极性分析物的高效分离, 有效提高了对复杂样品的分离选择性^[2]。随后, 在硅胶表面修饰水凝胶的过程中引入了金属有机框架 (Metal organic framework, MOF) 纳米材料, 制备了纳米复合水凝胶修饰硅胶混合模式色谱固定相, MOF 纳米材料的引入, 一方面减弱了水凝胶的过度溶胀, 增强了其机械强度, 另一方面增加了水凝胶的流动通道, 同时引入了新的作用位点, 可以实现多种亲/疏水化合物的高效分离^[3,4]。上述研究证实了, 纳米复合水凝胶是一种性能非常优异的材料, 如果将其进一步应用到新型混合模式色谱固定相的设计中, 既可以通过调节纳米复合材料的种类, 又可以通过调节单体种类和外部刺激源 (如 pH、温度和离子强度等), 来有效调节纳米复合水凝胶的各种理化性质 (如亲疏水性、离子交换能力、膨胀性、机械强度等), 有望进一步提升对复杂样品中各种不同性质成分分离效率。

关键词: 水凝胶、纳米复合水凝胶、混合模式色谱固定相、复杂样品分离

本研究受中国科学院“西部之光 A 类”项目资助。

参考文献:

1. F. B. Fan, X. F. Lu, L. C. Wang, X. J. Liang*, Y. Guo*, Hydrogel coating with temperature response retention behavior and its application in selective separation of liquid chromatography, *Anal. chem.*, **2021**, 93(48): 16017-16024.
2. F. B. Fan, X. F. Lu, S. Wang, X. J. Liang, L. C. Wang*, Y. Guo*, Non-conjugated flexible network for the functional design of silica-based stationary phase for mixed-mode liquid chromatography, *Talanta*, **2021**, 233: 122548.
3. F. B. Fan, X. F. Lu, S. Wang, L. C. Wang, X. J. Liang*, Y. Guo*, Mesoporous nanomaterial-assisted hydrogel double network composite for mixed-mode liquid chromatography. *Microchim. Acta*, **2021**, 188(12): 433.
4. F. B. Fan, X. F. Lu, X. J. Liang, L. C. Wang*, Y. Guo*, Preparation of hydrogel nanocomposite functionalized silica microspheres and its application in mixed-mode liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1662: 462745.

动力学导向的金属有机骨架气相色谱固定相的理性设计

徐铭, 古志远*

南京师范大学, 南京, 210023

通讯联系人 E-mail: guzhiyuan@njnu.edu.cn

气相色谱分离材料的设计和合成是促进气相色谱领域快速发展的关键。金属有机骨架材料(MOFs)作为一种骨架可调、比表面积大、设计性强的多孔材料,在气相色谱固定相领域受到大量关注。近年来,有关MOF固定相的研究大多集中在调控MOFs能提供的分离作用力方向,比如缩小MOFs的孔径,使得MOFs的孔道进一步匹配分析物的尺寸,增强相互作用力;增加官能基团,如手性位点,赋予MOFs分离特殊混合物的能力等等。这些研究大多倾向于通过热力学手段增强MOF固定相的气相色谱分离能力。但是,从色谱的原理出发,固定相的分离能力应该会受分析物和固定相之间的相互作用力以及分析物在固定相中的扩散两方面的影响。因此,将动力学扩散考虑进新型固定相的设计,将有较大可能合成具有高分离能力的MOF固定相。

基于此,我们发展了多种动力学导向的MOF固定相调控策略,设计合成了多种不同的MOF固定相。固定相的色谱分离能力是收到热力学和动力学两方面的影响。因此平衡分析物和固定相之间的相互作用力以及分析物在固定相中的扩散是关键。(1)缩小MOF固定相的颗粒尺寸可以在很大程度上降低分析物的传质阻力,增强分析物的扩散,提高MOFs的色谱分离能力。有大量微米级的MOFs具有尺寸适宜的微孔和介孔,有较大的气体吸附量,能够提供较强的热力学作用力,却不具备色谱分离能力,如NU-1000等。推测可能是微米级的尺寸增加分析物的扩散阻力。通过将微米级MOFs将为纳米级的方法,我们成功的提高了这些MOFs材料的色谱分离能力。(2)在微孔MOFs中混入介孔的方式,也可增强分析物的扩散,提高MOFs的色谱分离能力。微孔NU-901的孔道尺寸和二甲苯混合物较为匹配,但是其分离能力不佳。推测可能是全微孔的结构影响了分析物的扩散。通过往结构中引入大量介孔,构建微孔介孔混合MOF固溶体(MOSS)的方式,我们成功的构建了具有高效分离能力的色谱固定相。(3)改变MOF孔道的长短,可以调控热力学作用力和动力学扩散的平衡位置,提高MOF固定相的色谱分离能力。我们对比了具有相同拓扑不同共轭中心的NU-1000和PCN-608,发现缩短能提供过强热力学作用力的NU-1000的孔道,可以增强分析物的扩散,提高材料的分离能力;而延长能提供较弱作用力的PCN-608的孔道,减慢分析物的扩散,反而可以提高材料的分离能力。希望我们提出的动力学导向的MOF固定相设计策略可以为设计具有高效分离能力和独特分离选择性的MOF气相色谱固定相提供一个新的思路。

关键词: 金属有机骨架材料、气相色谱固定相、气体分离、动力学扩散

本研究受国家自然青年项目、江苏省青年基金项目、江苏省教育厅面上项目资助。

参考文献:

1. Xu M., Cai P.-Y., Meng S.-S., Yang Y.-H., Zheng D.-S., Zhang Q.-H., Gu L., Zhou H.-C.*, Gu Z.-Y.*, Linker Scissoring Strategy Enables Precise Shaping of Metal-Organic Frameworks for Chromatographic Separation, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, e202207786
2. Xu M., Meng S.-S., Cai P.-Y., Gu Y.-H., Yan T.-A., Yan T.-H., Zhang Q.-H., Gu L., Liu D.-H., Zhou H.-C.*, Gu Z.-Y.*, Homogeneously Mixing Different Metal-Organic Framework Structures in Single Nanocrystals through Forming Solid Solutions, *ACS Cent. Sci.* **2022**, 8, 2, 184-191

低共熔溶剂在分离分析中的应用研究

陈佳*, 付尕芳, 邱洪灯*

中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州, 730000

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

低共熔溶剂 (Deep eutectic solvents, DESs) 通常是由一定化学计量比的氢键供体和氢键受体通过氢键作用形成的低共融混合物, 具有制备简单、蒸气压低、低毒、可生物降解、成本低、设计性强等特点, 被称为新型离子液体。自 2003 年被首次报道以来, 已广泛应用于电化学、催化、能源等领域, 我们围绕 DESs 的设计合成及其在分离分析中的应用开展了系列研究工作, 比如: 1) 以氯化胆碱与二水合草酸组成的 DESs 或者聚乙二醇-水为溶剂, 绿色合成功能可控的亚胺类共价有机框架材料用于稀土元素的高选择性吸附分离; 2) 以氯化胆碱-乙二醇 DESs 为反应媒介, 富含氨基或羧基的 DESs 为原料, 合成系列改性硅胶液相色谱填料, 用于药物分子的高选择分离; 3) 以氯化胆碱类 DESs 为萃取剂, 成功萃取出枸杞果实和黄芪中黄酮类活性成分。

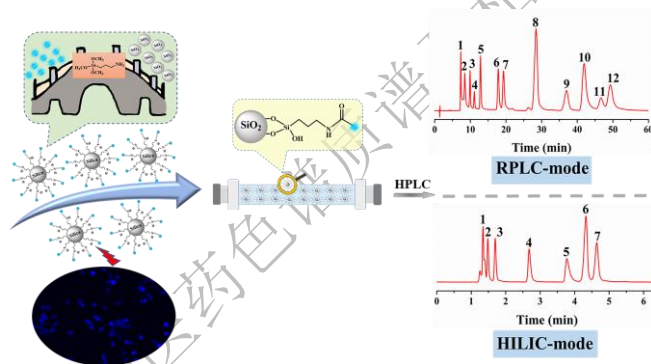


图 1. P 掺杂 DESs 衍生碳点修饰硅胶固定相的制备及色谱性能评价。

参考文献

- [1] J. Xiao, J. Chen, H. Qiu, Morphological control of covalent organic frameworks in a PEG-H₂O system. *Green Chem.* 2022, 24, 2193.
- [2] J. Xiao, B. Li, R. Qiang, H. Qiu, J. Chen, Highly selective adsorption of rare earth elements by honeycomb-shaped covalent organic frameworks synthesized in deep eutectic solvents, *Environ. Res.* 2022, 214, 113977.
- [3] J. Chen, N. Yuan, D. Jiang, Q. Lei, B. Liu, W. Tang, K.H. Row, H. Qiu, Octadecylamine and glucose-derived hydrophobic carbon dots-modified porous silica for chromatographic separation, *Chin. Chem. Lett.* 2021, 32, 3398-3401.
- [4] G. Fu, J. Chen, H. Qiu, Deep eutectic solvents-derived carbon dots-decorated silica stationary phase with enhanced separation selectivity in reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 2022, 1681, 463425.

薄层色谱法的全新数字化时代

唐吉鹤

力扬企业有限公司

通讯联系人 E-mail: candy.tang@nikyang.com

近年来，随着 TLC-MS 联用的研究热潮和薄层色谱自动化设备的突破性发展，高效薄层色谱技术被广泛应用于诸多领域，为生物分析和活性筛选等研究提供了新思路和新方法，也迎来了薄层色谱法的全新数字化时代。

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流大会

纤维素微球色谱介质制备、孔结构调控及聚合物改性

杜开峰*

四川大学化学工程学院, 四川成都 610065

通讯联系人 E-mail: kfdu@scu.edu.cn

作为色谱技术的核心, 高效色谱介质的研制与开发是提高生物大分子纯化效率的重要手段之一。纤维素微球是最早应用于生物分离的色谱介质之一。这主要是因为纤维素的基本结构为多糖化合物, 表面含有大量羟基, 易于修饰功能配基, 且非特异性吸附弱, 特别适合不稳定生物大分子的分离纯化。本报告介绍了本课题组近年来在纤维素微球色谱介质这一领域的最新成果。首先简要介绍了纤维素微球的制备方法, 比较了不同方法在制备微球尺寸粒径等方面的区别; 然后重点介绍了纤维素微球色谱高能化的两种策略, 包括孔结构调控、聚合物配基改性以及作用机制; 最后, 在当前研究现状的基础上对高性能纤维素微球色谱介质的制备做出了合理展望。

参考文献:

1. K. F. Du, M. Yan, Q. Y. Wang, J. Chromatogr. A, **2009**, 1217(8), 1298-1304.
2. L. Z. Qiao, S. S. Lei, K. F. Du, Cellulose, **2021**, 28, 2125-2136.
3. J. Liu, M. Yan, Y. K. Zhang, Ind. Eng. Chem. Res., **2011**, 50(18), 10784-10791.
4. L. Z. Qiao, S. S. Li, K. F. Du, Biochem. Eng. J., **2020**, 153(C): 107412-107412.
5. L. Z. Qiao, S. S. Li, Y. L. Li, J. Clea. Prod., **2020**, 253(C): 120017-120017.
6. L. S. Zhao, C. Liang, S. S. Li, J. Clea. Prod., **2021**, 303: 127114-127114.

光诱导极性可变固定相制备及其色谱分离行为研究

商海波^{1,2}, 安政九², 张洁敏², 李东浩^{1,2,*}¹延边大学, 理学院, 化学系; ²延边大学, 融合学院, 生物功能分子学, 延吉, 133001通讯联系人 E-mail: dhli@ybu.edu.cn

摘要: 传统色谱固定相存在极性不可原位改变的特点, 致使复杂样品的分离过多依赖于流动相性质及组成的改变, 纵然多维色谱在复杂样品分析方面表现出极大的潜力, 但是其需要极其精密的机械阀将至少两种性质不同的色谱柱连接, 严重限制了微型智能多维色谱的发展。本研究利用顺反式偶氮苯的分子极性差异, 提出光诱导原位调控固定相极性的理念, 先后采用设计合成的硅烷化偶氮苯分子作为气相色谱液膜固定相和薄层色谱光敏修饰剂, 开展了光敏型气相色谱和液相色谱的制备及其光诱导下色谱保留行为研究。通过探究不同极性目标物在光诱导前后保留行为差异、麦氏常数与热力学参数的变化、光诱导时间与极性调控相关性以及可逆性等, 验证了本研究提出的光敏固定相可实现极性的可逆、连续和动态调控。在此基础上, 结合光诱导的时间和空间自由度优势, 提出多种色谱分离模式, 如, 梯度极性分离模式、极性转换分离模式等。与其它刺激响应色谱相比, 光敏色谱具有操作简便、时间和空间控制自由度高等优点, 而且通过极性“转换阀”来简化色谱柱使用, 非常有利于发展“微-智能”色谱。

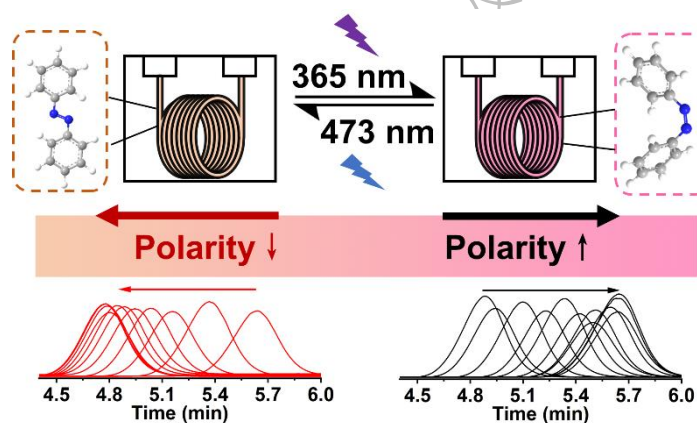


图 1. 光诱导调控气相色谱分离行为。

参考文献:

Z An, J.-M Zhang, H.-B Shang, * et al., *Anal. Chem.* **2021**, 93: 17051-17059.

资助项目: 本研究获得了国家自然科学基金委的项目 (No. 21904113、21775134)、吉林省教育厅科学技术研究项目 (JJKH20210565KJ) 支持。

外泌体的化学亲和识别与蛋白质组学分析

胡良海*

吉林大学超分子化学生物学研究中心, 长春市前进大街 2699 号, 130012

*Email: lianghaiu@jlu.edu.cn

外泌体是一种细胞分泌的囊泡状结构小体^[1], 广泛存在于血浆、尿液等各种体液中, 外泌体蛋白质组成及其翻译后修饰与疾病的发生发展有着密切的联系。由于受到磷脂双分子层膜的保护, 外泌体中蛋白质的修饰形态更为稳定, 因此能够更精确反应机体的生理和病理状态, 是疾病标志物筛选的理想来源。

我们发展了基于超分子探针^[2]和分子印迹^[3]的外泌体精准识别新方法, 通过蛋白质组学与代谢组学分析, 为体液外泌体中疾病标志物筛选提供了全新的解决方案。

关键词: 分子印迹、磷脂分子、外泌体、蛋白质组学、翻译后修饰

参考文献

- [1] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*. **2020**; **367**(6478): eaau6977.
- [2] Feng X, Iliuk A, Zhang X, Jia S, Shen A, Zhang W, Hu L, Tao WA. Supramolecular Exosome Array for Efficient Capture and In Situ Detection of Protein Biomarkers. *Anal Chem*. **2023**; **95**(5):2812-2821.
- [3] Zhou J, Cheng X, Guo Z, Ali MM, Zhang G, Tao WA, Hu L, Liu Z. Epitope Imprinting of Phospholipids by Oriented Assembly at Oil/Water Interface for the Selective Recognition of Plasma Membranes. *AngewChemInt Ed*. **2023**;e202213938.

基于色谱保留行为的肽与 G-四链体特定结构的相互作用研究

王菊¹, 乔俊琴^{1*}, 郑伟娟², 练鸿振^{1*}

¹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

²医药生物技术国家重点实验室, 南京大学生命科学学院, 南京, 210023

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

G-四链体(G4)为核酸的特殊二级结构,具有重要的生物学意义。随着疾病相关基因中越来越多的G4被发现^[1],人们对开发能够靶向G4的配体越来越感兴趣,以寻找新的疾病治疗药物。已报道的G4配体主要包括化学小分子配体和生物大分子配体(肽和蛋白质),具有构象选择性的G4特异性配体在疾病治疗方面具有巨大的应用潜力。RHAU(也称为DHX36或G4R)是一种富含AU元素的RNA解旋酶,能够与G4结合并通过调节G4发挥生物学功能^[2],是G4的一种潜在配体。在目前RHAU与G4的相关研究中,所涉及的G4构型相对单一,RHAU和不同G4结构之间的相互作用知之甚少,尤其当多个G4结构共存时。因此,RHAU与不同G4结构之间的相互作用值得深入研究。

高效液相色谱(HPLC)是分离分析复杂体系的有力工具。生物医学研究中对高分辨率分离的关键需求一直推动着色谱法的改进,尤其是液相色谱法。在HPLC的各种分离模式中,尺寸排阻色谱(SEC)由于所使用的流动相最有利于稳定G4的结构,被广泛应用于G4的分离分析^[3]。基于此,我们利用尺寸排阻色谱(SEC),结合圆二色谱(CD)、紫外-可见吸收光谱(UV-Vis)和非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(Native-PAGE)系统研究了RHAU与具有不同二级结构的G4之间的相互作用。CD和UV-Vis结果表明,RHAU不会破坏G4的主要结构,使其在G4的结构分析中能够提供更加可靠的结果。色谱保留行为显示RHAU的加入可以减弱平行结构G4的保留,而对于反平行和杂化结构G4的保留几乎没有影响,表明RHAU可以选择性地结合平行结构G4。此外,SEC显示RHAU对分子间平行G4和分子内平行G4也表现出不同的相互作用,证明了G4的空间位阻是影响RHAU结合能力的主要因素。该工作中的发现丰富了对RHAU与不同构象G4结合的认识,为识别G4结构提供了一种新的方法。本研究还表明,SEC技术可以简单、可靠地阐明肽与不同结构G4的相互作用,为筛选特定的G4配体提供了一种新策略。

参考文献:

1. P. Sket, J. Pohleven, A. Kovanda, M. Stalekar, V. Zupunski, M. Zalar, J. Plavec, B. Rogelj, *Neurobiol. Aging*, **2015**, 36, 1091-1096.
2. S. D. Creacy, E. D. Routh, F. Iwamoto, Y. Nagamine, S. A. Akman, J. P. Vaughn, *J. Biol. Chem.*, **2008**, 283, 34626-34634.
3. M. Marzano, A. P. Falanga, S. D'Errico, B. Pinto, G. N. Roviello, G. Piccialli, G. Oliviero, N. Borbone, *Molecules*, **2019**, 24, 654.

动态组合多肽库的分离分析与功能型折叠体的构建

金钰龙, 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

E-mail: jinyulong@iccas.ac.cn; zhaorui@iccas.ac.cn

折叠体是在溶液中保持稳定有序空间结构的人工合成聚合物分子, 能模拟天然聚合物如蛋白质、核酸等的多级空间结构, 其有望实现并超越天然聚合物大分子的功能。然而, 目前已知的折叠体种类非常少, 功能有限, 研究主要集中在由线性聚合物形成的螺旋状折叠体及其形成规律。因此, 设计、构建新型折叠体并发展其功能具有重要意义, 也更具挑战性。

动态共价化学是利用动态共价键将小分子基元构筑成复杂动态组合化学库或超分子组装体的合成方法。基于此, 本研究设计合成了一系列3,5-二巯基苯基衍生的二肽基元分子, 利用动态可逆二硫键, 在水溶液中构建了动态组合多肽库。利用液相色谱-高分辨质谱高效分离鉴定了组合库成员, 研究发现在反相液相色谱中后出峰的为低极性的小环分子, 而先出峰的为高极性的大环折叠体, 这种色谱流出顺序与折叠体内部疏水而外部亲水的类蛋白质结构特征相吻合。基于这一现象, 建立了新型环状折叠体的液质筛选新方法, 并通过液相色谱-离子淌度质谱测定了不同尺寸环状聚合物分子的横截面积, 确证了多肽聚合物的折叠状态。进一步, 发现了pH响应型动态多肽折叠体开关, 环状9聚体与环状16聚体在接近人生理pH范围内 (pH 6-8) 可高效相互转化, 这也是首次发现的组成动态折叠体。单晶结构表明, 16聚体中的四组芳香羧酸与空间上相邻的酰胺键羰基之间形成了氢键相互作用, 此外四组苯环处于芳香盒的稳定结构之中, 这种协同作用是pH响应的分子机理。该发现拓宽了对多肽动态折叠规律的理解, 为功能性折叠体的构建提供了新方法。

参考文献:

1. Y. Jin, P. Mandal, J. Wu, N. Bocher, I. Huc, S. Otto, *J. Am. Chem. Soc.*, **2023**, 145, 2822-2829.
2. Y. Jin, K. Xu, Y. Huang, H. Zhong, R. Zhao, *Anal. Chem.*, **2021**, 93, 2045.
3. 感谢国家留学基金项目的资助.
4. 感谢荷兰格罗宁根大学 Sijbren Otto 教授的指导与合作.

场流分离技术在食源性多糖构效关系研究中的应用

窦海洋*, 张文惠, 陈雪, 郭雨曦

河北大学, 保定, 071002

通讯联系人 E-mail: douhaiyang-1984@163.com

食源性多糖可以分为淀粉多糖和非淀粉多糖。其中, 抗性淀粉具有膳食纤维特性, 可以降低血糖, 预防肠道和心血管疾病[1]。非淀粉多糖具有重要的营养和药用价值, 例如: 抗肿瘤、抗氧化和抗疲劳等生物活性[2]。多糖结构具有微观不均一性及单糖组成多样性, 其糖苷键具有多种立体连接方式, 可以形成复杂的空间结构, 导致其结构分析和构效关系研究极具挑战性。场流分离(Field Flow Fractionation, FFF)是一种基于样品与外力场相互作用机理对样品进行分离的技术[3]。不同于 SEC, FFF 流道中没有固定相和填充材料, 使其具有广泛的检测范围 (10^3 - 10^{18} g/mol), 适用于剪切力敏感的样品分离。

本项目采用非对称场流分离技术(AF4)与多角度激光光散射检测器(MALS)、示差折光检测器(dRI)联用, 结合 HPLC 对马铃薯抗性淀粉的结构进行了表征, 同时定量测定了马铃薯抗性淀粉含量。结果表明, 糊化过程使马铃薯直链淀粉(Amylose, AM)分子呈松散、无规则卷曲构象, 这有助于马铃薯淀粉的酶解; 在 AM 和支链淀粉(Amylopectin, AP)组分之间发现了一种具有长分支构象的中间体, 该结构有利于抵抗 α -淀粉酶对马铃薯淀粉的水解。此外, 本课题组利用 AF4 流道中的超滤膜和分离原理, 结合 Sevag 法发展了一种高效的灵芝多糖分离纯化方法, 得到了一个高纯度灵芝多糖片段, 并对其分子量分布和构象进行了表征, 研究了其构效关系。实验结果证明 AF4-MALS-dRI 是一种高效的食源性多糖分离表征技术。

关键词: 场流分离、抗性淀粉、多糖

本研究受河北省重点研发项目 22373505D 和河北省自然科学基金 H2020201295 项目资助。

参考文献:

1. A. Ajala, L. Kaur, S.J. Lee, et al., Native and processed legume seed microstructure and its influence on starch digestion and glycaemic features: A review, *Trends Food Sci. Tech.*, **2023**, 133, 65-74.
2. P.B.S. Albuquerque, W.F. de Oliveira, P.M. dos Santos Silva, et al., Skincare application of medicinal plant polysaccharides — A review, *Carbohydr. Polym.*, **2022**, 277, 118824.
3. X. Zhang, Y. Li, S. Shen, et al., Field-flow fractionation: A gentle separation and characterization technique in biomedicine, *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2018**, 108, 231-238.

不依赖标准品的手性分子振动圆二色谱与毛细管电泳研究

陈丽霞, 李向军*

中国科学院大学 化学科学学院, 北京, 100049

通讯联系人 E-mail: lixiangj@ucas.edu.cn

手性作为自然界的一种本质属性, 在日常生活中随处可见。手性对映体具有极为相似的理化性质, 但在手性环境中其生理活性却可能存在重大差异, 基于此对相关对映体进行准确的分离指认具有十分重要的意义。毛细管电泳 (CE) 作为一种色谱分离技术因快速灵敏、简便高效、样品用量少且实验成本低等优势常被用于手性分析, 将其与理论及实验电子圆二色谱 (ECD) 结合后, 可在缺少标准品的情况下实现手性对映体的分离和出峰顺序指认[1, 2]。该方法不足之处是只适用于在手性中心附近有发色团的分子, 对于无紫外或紫外吸收弱的手性对映体, 需要利用振动圆二色谱 (VCD) 来进行其绝对构型指认[3]。本工作利用密度泛函理论 (DFT) 对几种手性分子首先进行了理论模拟, 得到了与实验谱图拟合度极佳的 VCD 计算光谱, 根据特征峰的 Cotton 信号, 可轻松完成一种或多种手性分子的绝对构型指认; 然后通过结合相应的 CE 分离方法和对映体过量实验, 在不依赖单一对映体标准品的前提下, 实现非消旋混合物中优势含量对映体构型的判断及其出峰顺序的确认。

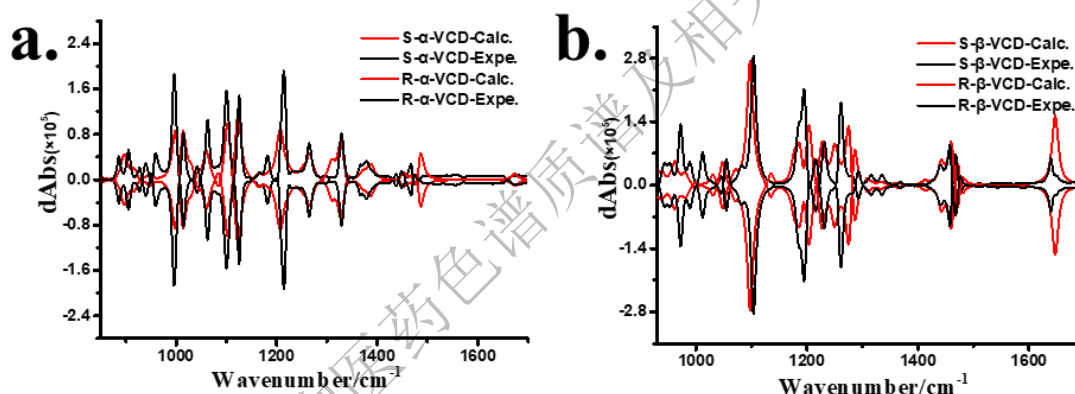


图 1 (a) α -蒎烯; (b) β -蒎烯对映体振动圆二色计算谱图与实验谱图的拟合结果

参考文献:

- [1] Liu, M., Chen, L., Tian, T., Zhang, Z., Li, X., *Anal. Chem.* 2019, 91, 13803-13809.
 [2] Chen, L. X., Liu, M. X., Yang, S., Zhao, H., Yao, X., Li, X. J., Meng, J. H., *Journal of Chromatography A* 2021, 1654, 462446.
 [3] Superchi, S., Scafato, P., Gorecki, M., Pescitelli, G., *Curr. Med. Chem.* 2018, 25, 287-320.

Identification and quantitation of chiral molecules by vibration circular dichroism and capillary electrophoresis independent of single enantiomer standard

Lixia Chen, Xiangjun Li*

School of Chemical Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049

多模式磷脂分离色谱固定相研制及分离应用研究

乔晓强*

河北大学 药学院, 河北 保定 071002

*Email: xiaoqiao@hbu.edu.cn

(河北省保定市五四东路 180 号)

关键词 SMA 衍生物 色谱固定相 磷脂 高效分离

定义和定量细胞膜上具有成千上万种独特结构的脂质分子对色谱技术的分离分辨能力提出了更高的要求。近年来, 苯乙烯-马来酸 (SMA) 共聚物在细胞膜研究领域引起了广泛关注。SMA 共聚物被证明是一种高效且温和的膜增溶试剂^[1], 对各种结构的磷脂分子具有很好的增溶作用^[2], 可开发为新型色谱固定相材料, 提高复杂膜脂的分离分析能力。本文利用巯基-烯点击反应和酸酐-醇/胺之间的亲核开环反应制备了 SiO₂-SMA-十二醇色谱柱和 SiO₂-SMA-氨基酸色谱柱。采用傅里叶变换红外光谱仪和热重分析仪表征证明两种固定相材料均已成功制备。对保留机制、色谱分离性能进行考察, 两种填充色谱柱均具有反相/亲水混合模式保留机制, 可实现烷基苯类、多环芳烃类、苯酚类、苯胺类和酰胺类等多种物质的良好分离分析。将 SiO₂-SMA-十二醇色谱柱和 SiO₂-SMA-氨基酸色谱柱用于磷脂标准品的分离分析。SiO₂-SMA-氨基酸色谱柱对磷脂分子类别和种类均显示了良好的分离效果, 优于 SiO₂-SMA-十二醇色谱柱的分离效果。进一步将 SiO₂-SMA-氨基酸色谱柱用于胃癌细胞膜脂提取物的分离分析, SiO₂-SMA-氨基酸色谱柱可在正相色谱和反相色谱模式下实现磷脂类别和磷脂酰胆碱分子种类的有效分离分析, 显示了良好的应用潜能。

参考文献

- [1] Dominguez Pardo, J. J.; Dorr, J. M.; Iyer, A.; et al. Solubilization of lipids and lipid phases by the styrene-maleic acid copolymer. *Eur. Biophys. J.* 2017, 46(1), 91-101.
- [2] Scheidelaar, S.; Koorengel, M. C.; Pardo, J. D.; et al. Molecular model for the solubilization of membranes into nanodisks by styrene maleic acid copolymers. *Biophys. J.* 2015, 108(2), 279-290.

基于 CRISPR/Cas12 的核酸扩增子可视化检测

曹毅仁, 吴晋军, 庞博, 张红权(Hongquan Zhang)*, 乐晓春(X. Chris Le)*

Department of Laboratory Medicine and Pathology, University of Alberta

通讯联系人 E-mail: hongquan@ualberta.ca, xc.le@ualberta.ca,

成簇规律间隔短回文重复序列(CRISPR)与CRISPR相关蛋白(CRISPR-associated, Cas)系统(CRISPR/Cas system)因其可编辑性与高效性, 改变了人类操作基因的手段[1]。在Cas家族中, CRISPR/Cas12与CRISPR/Cas13系统具有高特异性核酸识别剪切能力(Cis-Cleavage)与非特异性核酸内切酶活性(Trans-cleavage), 因此被广泛用于分子诊断[2-3]。代表性应用即为使用CRISPR/Cas识别核酸等温扩增的扩增子(Amplicon), 进而对特定核酸靶标进行成像或高特异性检测。比如, 近年来CRISPR/Cas12与13系统被用于识别新冠RNA的扩增子, 降低新冠筛查的假阳性[4]。

这些分子诊断方法具备即时检测(point-of-care testing, POCT)的潜力。整个系统由等温扩增或逆转录等温扩增开始, 反应条件温和, 通常控制在37°C或者65°C的单一温度。然后引入CRISPR/Cas系统在37°C下进行核酸识别与剪切。因此, 整个反应过程只需一台恒温空气浴或金属浴即能完成。但反应后的信号检出需要紫外光源与精密检测系统, 完成对荧光结果的观测。仍需一种通用的肉眼检测方法进一步实现POCT。

为此, 本工作设计了一种由杂交核酸(DNA-RNA hybrid)组成的发夹分子翻译器(hairpin transducer, HT), 并将CRISPR/Cas12的Trans-cleavage活性转变为交联RNA, 并诱发纳米金聚集变色。HT包含了DNA环与RNA茎秆。CRISPR/Cas12识别扩增子后, Trans-cleavage被激活。随后CRISPR/Cas12剪切DNA环, 破坏发夹结构, 释放RNA茎秆。由于CRISPR/Cas12无法剪切RNA, 所释放的RNA茎秆可交联两种纳米金表面修饰的DNA轨道, 从而促使纳米金聚集。20nm的红色纳米金团聚使颜色变为紫色, 并实肉眼检测。

基于该HT的核酸检测方法拥有优异的分析表现。在LAMP等温扩增与Trans-cleavage反应后, 该分子翻译器可以在1分钟内生成检出信号。基于该翻译器的核酸检测方法只需40分钟即可完成新冠RNA检测, 灵敏度达到75 copies/ μ L。该方法不局限于单一核酸扩增子, 只需改变LAMP引物以及CRISPR/Cas12的引导RNA(gRNA), 即可用于检测其他核酸靶标。

参考文献:

- [1] M. Jinek, K. Chylinski, I. Fonfara, M. Hauer, J. A. Doudna and E. Charpentier, *Science*, **2012**, 337, 816–821.
- [2] M. J. Kellner, J. G. Koob, J. S. Gootenberg, O. O. Abudayyeh and F. Zhang, *Nat. Protoc.*, **2019**, 14, 29863
- [3] Y. Xiong, J. J. Zhang, Z. L. Yang, Q. B. Mou, Y. Ma, Y. H. Xiong and Y. Lu, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142, 207.
- [4] J. P. Broughton, X. Deng, G. Yu, C. L. Fasching, V. Servellita, J. Singh, X. Miao, J. A. Streithorst, A. Granados, A. Sotomayor-Gonzalez, K. Zorn, A. Gopez, E. Hsu, W. Gu, S. Miller, C. Y. Pan, H. Guevara, D. A. Wadford, J. S. Chen and C. Y. Chiu, *Nat. Biotechnol.*, **2020**, 38, 870.
- [5] W. Feng, A. M. Newbigging, J. Tao, Y. Cao, H. Peng, C. Le, J. Wu, B. Pang, J. Li, D. L. Tyrrell, H. Zhang and X. C. Le, *Chem. Sci.*, **2021**, 12, 4683.

数据非依赖采集 (DIA) 定量蛋白质组学新方法

乔亮

复旦大学化学系

通讯联系人 E-mail: liang_qiao@fudan.edu.cn

蛋白质是人体中执行功能的分子，人体的很多疾病都与蛋白质的表达变化相关，对疾病和健康样本中的蛋白质进行精准定量有利于发现疾病相关蛋白标志物。数据非依赖采集 (DIA) 是当前蛋白质组学研究中一种重要的定量分析技术，但是受限于数据复杂、解析困难。我们发展了基于深度学习的谱图预测工具用于DIA数据解析 (DeepDIA)。相较于传统方法在定量的准确度和蛋白的覆盖度上都有显著提升[1]。

蛋白质组学研究中的另外一个关键问题是蛋白质后修饰问题。通过后修饰，蛋白质可以实现三维结构的转变从而开启和关闭特定功能。磷酸化是一种重要的蛋白后修饰。相较于普通的蛋白质组分析，磷酸化蛋白质组分析的难点在于磷酸化位点的精准定位。我们开发了一种用于磷酸化位点定位的深度学习工具 (DeepFLR)，可以显著提升磷酸化肽段的检出。糖基化是另外一种重要的蛋白后修饰。由于多糖复杂的支链结构，其结构解析异常困难。我们首次实现了基于数据非依赖采集的糖蛋白质组分析 (GproDIA)，显著提升了糖位点的覆盖度和定量准确性[2]。

人体的疾病除了自身蛋白表达变化，还与人体菌群息息相关。微生物与人体共同形成了人体的微生态。传统的微生物组研究主要采用基因测序的方法，虽然可以得到物种丰度信息，却无法得到更进一步的功能信息。对菌群的功能解析，需要对菌群的蛋白质组进行分析。相对于人体蛋白质组，菌群组成复杂多样，蛋白种类可达百万种而丰度跨越可能更大。为此，我们发展了菌群宏蛋白质组的定性与定量方法 (ConDiGa)，实现了更加准确的菌群蛋白鉴定和定量，并将其用于临床疾病队列分析。我们还系统比较了不同的宏蛋白质组定量方法，发现DIA可以实现更全面的蛋白覆盖和更准的蛋白定量[3]。

参考文献

1. Y. Yang, X. Liu, C. Shen, Y. Lin, P. Yang, L. Qiao, In silico spectral libraries by deep learning facilitate data-independent acquisition proteomics, *Nature Communications*, 11(2020): 146
2. Y. Yang, G. Yan, S. Kong, M. Wu, P. Yang, W. Cao, L. Qiao, GproDIA enables data-independent acquisition glycoproteomics with comprehensive statistical control, *Nature Communications*, 12(2021): 6073
3. J. Zhao, Y. Yang, H. Xu, J. Zheng, C. Shen, T. Chen, T. Wang, B. Wang, J. Yi, D. Zhao, E. Wu, Q. Qin, L. Xia, L. Qiao, Data-independent acquisition boosts quantitative metaproteomics for deep characterization of gut microbiota, *npj Biofilms and Microbiomes*, 2023, 9: 4

微纳生物颗粒的电泳分离与蛋白质组学分析

肖华*

上海交通大学生命科学技术学院，微生物代谢国家重点实验室

E-mail: huaxiao@sjtu.edu.cn

细胞、微生物和细胞外囊泡等微米级或纳米级生物颗粒是生物体及其微环境的重要组成部分，其蛋白质组则是各种关键生物功能的主要执行者。针对异质性微纳生物颗粒分离分析面临的挑战，我们开展了如下工作。（1）对于异质性肿瘤细胞，我们发展了基于制备型自由流区带电泳的新技术，按质荷比实现了肺癌细胞中亚群细胞的电泳分离和制备，并对亚群组分进行了定量蛋白质组学表征，鉴定了与亚群细胞迁移表型相关的蛋白[1]。（2）对于人类微生物组的复杂组成鉴定，我们基于自主研发的电泳装置发展了高分辨自由流等电聚焦电泳新技术，按等电点实现了口腔微生物组的高效分离、富集和制备，大幅度提升了测序的深度和分辨率，在属水平的微生物鉴定数量是电泳分离前的4.7倍，显著提高了对复杂微生物组特别是低丰度微生物的分析和鉴定能力[2]；针对复杂微生物组功能解析面临的挑战，我们发挥自由流等电聚焦电泳的分离制备优势，显著提高了液相色谱质谱对微生物蛋白的解析能力，通过整合的宏蛋白质组学数据分析模块，实现了微生物蛋白质、微生物物种、微生物组紊乱功能三者之间的对应，深度解析了口腔微生物组的组成与功能，建立了宏蛋白质组学分析新策略，揭示了具有临床转化应用价值的肺癌无创诊断微生物[3]。（3）对于细胞外囊泡，我们开展了定量蛋白质组学分析，发现高转移肺癌细胞分泌的细胞外囊泡可以通过激活受体细胞中HGF/c-Met信号通路，促进受体细胞发生转移，为癌症转移和治疗研究揭示了新途径[4]；揭示了孤儿受体BRS3经细胞外囊泡转运到受体细胞的新途径[5]。（4）对表达BRS3细胞在激动剂刺激后的磷酸化蛋白质组进行了动态分析，发现并验证了与细胞迁移相关的信号通路。（5）对组织细胞中的核酸结合蛋白进行了亲和色谱富集和定量蛋白质组学分析，揭示了与衰老相关的关键蛋白和信号通路。以上新技术新策略有利于实现临床样品中微纳生物颗粒及其功能蛋白质组的组成分析和功能解析，推动其基础研究和生物医学应用。

参考文献：

1. A. Sohail, X.T. Jiang, A. Wahid, H.Y. Wang, C.X. Cao, H. Xiao, *Anal. Chim. Acta* **2022**, 1227, 340306.
2. X.T. Jiang, S. Liu, Y. Zhang, Y. Ji, A. Sohail, C.X. Cao, P. Wang, H. Xiao, *Anal. Chem.* **2020**, 92(17), 12017-12025.
3. X.T. Jiang, Y. Zhang, H.Y. Wang, Z.Y. Wang, S. Hu, C.X. Cao, H. Xiao, *Research.* **2022**, 2022, 9781578.
4. Z. Qiao, Y. Zhang, M.L. Ge, S. Liu, X.T. Jiang, Z. Shang, H. Liu, C.X. Cao, H. Xiao, *Mol. Cell. Proteomics* **2019**, 18 (8), 1619-1629.
5. Z.Y. Wang, L.H. Wu, H.Y. Wang, Y. Zhang, H. Xiao, *Cell. Mol. Life Sci.* **2022**, 79, 72.

高通量蛋白质组学及其在药物靶标蛋白鉴定中的应用研究

边阳阳^{1*}, 邓楠², 李雁凤¹, 高春丽¹, 郑晓晖¹

1 西北大学生命科学学院, 陕西省西安市太白北路 229 号, 710069

2 西安交通大学分析测试共享中心, 陕西省西安市咸宁西路 28 号, 710049

*Email: bianyy@nwu.edu.cn

以极高的分析灵敏度为特色, 纳升色谱一直占据着蛋白质组学研究的主流分离技术, 其分析通量低、稳定性差的缺点亦严重阻碍了其在药物靶标蛋白鉴定中的应用[1-2]。本研究中, 我们搭建了一个基于微升液相色谱串联质谱 (μ LC-MS/MS) 的高通量蛋白质组学分析平台。该平台使用 1.0 mm 内径 C18 色谱柱, 在 50 μ l/ml 的流速下进行肽段的分离和检测, 该平台单月可完成 1500 个样品的分析, 单根色谱柱完成了 15000 个样品的分析, 证明其具有极高的稳定性和分析通量[3-4]。将其用于药物靶标蛋白的鉴定研究, 1) 在基于 Kinobeads 亲和色谱的激酶抑制剂靶标激酶高通量筛选研究中, 20 分钟时间鉴定到 220 种蛋白激酶。以 AT-9283 抑制剂为示例, 鉴定到了包括 GSK3A、JAK2、AURKB、RET 和 PRKAA1 等激酶在内的已知靶标蛋白激酶, 测定得到的 EC₅₀ 值与经典的纳升色谱方法几乎完全一致, 分析时间缩短为原来的三分之一。2) 在组蛋白去乙酰化酶抑制剂处理前后的差异蛋白质组学研究中, 2 小时的 DIA 分析方法可定量到 7000 种左右的蛋白质, 3 次生物学重复的蛋白质强度变异系数 CV 中值在 8% 以下, 具有极高的定量覆盖度和准确度。3) 在基于热蛋白质组学的药物靶标研究中, 2 小时单针进行 DDA 分析可以鉴定到 6000 种蛋白质, 使用基于 TMT 的多重标记和离线分级技术, 1 天分析时间可以鉴定到 7000 种蛋白质。基于微升色谱的高通量蛋白质组学分析方法具有极高的分析通量和稳定性, 在基于亲和富集 (ABPP、AFPP 等)、色谱共流出 (TICC) 和热蛋白质组学等方法的药物分子靶标蛋白质鉴定方面具有极高的应用前景。

关键词: 微升液相色谱, 蛋白质组学, 药物靶标, Kinobeads, DIA

参考文献:

1. Shishkova, E., et al., Now, More Than Ever, Proteomics Needs Better Chromatography, *Cell. Syst.*, **2016**, 3(4), 321-4.
2. Angel, T. E., et al., Mass Spectrometry-based Proteomics: Existing Capabilities and Future Directions, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 3912-3928.
3. Bian, Y., et al. Robust, Reproducible and Quantitative Analysis of Thousands of Proteomes by Micro-flow LC-MS/MS, *Nat. Commun.*, **2020**, 11, 157.
4. Bian, Y., et al., Robust Microflow LC-MS/MS for Proteome Analysis: 38000 Runs and Counting, *Anal. Chem.*, **2021**, 93, 3686-3690.

化学同位素标记 LC-MS 方法分析代谢组和暴露组进展

赵先恩^{*}, 高硕, 范珈彤, 朱树芸

曲阜师范大学 化学与化工学院, 山东省生命有机分析重点实验室, 山东 曲阜, 273165

通讯联系人 E-mail: xianenzhao@163.com

代谢组学和暴露组学在人类健康和疾病研究中有着重要的作用。由于代谢物和外源性物质的理化性质的多样性和复杂的样品基质, 使得代谢组和暴露组的全面分析面临巨大挑战。质谱 (MS) 有着强大的定性和定量能力, 但是单独使用时无法为所有分析物提供足够的灵敏度。化学同位素标记 (CIL) 技术结合 MS 不仅可以弥补灵敏度方面的不足, 还在提高选择性、准确度、组学覆盖率、分析通量等当量有着显著的优势。正因这些优势, 使得基于 MS 的 CIL 技术被越来越多的应用于代谢组学和暴露组学的研究中来, 并极大的推动了相关研究领域的进展。基于 MS 的 CIL 技术在灵敏度、准确度、选择性、稳定性、分析通量和应用性等方面的方法学优势, 我们课题组总结了近十年来的研究工作, 并讨论了其潜在优缺点及其与同行工作的比较。更重要的是, 围绕着含有胺、羧酸、羰基、羟基和巯基化学官能团的五类代表性代谢物与外源性物质, 过去十年内基于 MS 的 CIL 技术在代谢组和暴露组的靶向和非靶向分析中取得了较大的进展。而且, 令人兴奋的是, 中子编码策略和特征同位素模式策略等新出现的 CIL-MS 技术开始被应用于 CIL 试剂的结构设计中, 这对 CIL 技术的分析性能的提升有着极大的帮助。我们认为, CIL 技术结合 MS 在代谢组和暴露组分析领域具有广阔发展前景。

关键词: 化学同位素标记; 代谢组; 暴露组; 液-质联用; 质谱分析

本研究受国家自然科学基金 (22076097, 22176109) 项目资助。

参考文献:

- [1] Chen, S.E.; Hu, J.W.; Yan, P.; Sun, J.; Jia, W.H.; Zhu, S.Y.; Zhao, X.-E.; Liu, H.W. *Talanta*, 2021, 224: 121788.
- [2] Chen, S.E.; Zhu, S.Y.; Hu, J.W.; Sun, J.; Zheng, Z.J.; Zhao, X.-E.; Liu, H.W. *Anal. Chim. Acta*, 2020, 1124: 40-51.
- [3] Zhu, S.Y.; Zheng, L.F.; Sun, L.P.; Jia, W.H.; Sun, J.; Zhao, X.-E.; Liu, H.W. *Anal. Chim. Acta*, 2020, 1127: 57-68.
- [4] Hu, J.W.; Chen, S.E.; Zhu, S.Y.; Jia, W.H.; Sun, J.; Zhao, X.E.; Liu, H.W. *J. Am. Soc. Mass. Spectr.*, 2020, 31(9): 1965-1973.
- [5] Sun, L.P.; Zhu, S.Y.; Zheng, Z.J.; Sun, J.; Zhao, X.-E.; Liu, H.W. *J. Chromatogr. A*, 2020, 1623: 461182.
- [6] Jia, S., Xu, T., Huan, T., Chong, M., Liu, M., Fang, W., and Fang, M. L., *Environ. Sci. Technol.*, 2019, 53 (9): 5445-5453.

基于新型材料的糖肽和磷酸化肽富集方法

董雪芳, 陈成, 崔韵, 李秀玲*, 梁鑫森

¹ 中国科学院大连化学物理研究所, 大连, 116023

E-mail: lixiuling@dicp.ac.cn

关键词: 新型材料, 糖肽, 磷酸化肽, 富集

正文: 高选择性富集材料开发是翻译后蛋白组学研究的关键环节, 对于研究疾病发生机理、发现疾病标记物及开发新药具有重要意义。针对 O-连接糖肽缺乏高效富集材料的问题, 我们仿生凝集素对末端糖的特异性识别作用, 开发了一系类基于氨基酸和二肽等为功能单体的聚合物材料, 实现了新冠和 HKU1 等病毒中对宿主入侵有重要作用的刺突蛋白上 O-糖基化分析。针对糖肽和磷酸化肽难于同时富集和鉴定的问题, 我们开发了基于智能聚合物、仿生材料和固定金属离子亲和色谱材料的糖肽和磷酸化肽同时富集方法, 这些富集方法具有选择性高、吸附量更大和回收率高等特点, 为翻译后修饰肽的富集和分离提供了一种新方法、新思路。

参考文献:

1. Li XL, Liang XM, et al. What is hidden behind Schiff base hydrolysis? Dynamic covalent chemistry for precise capture of sialylated glycans, *J. Am. Chem. Soc.* 2020, 142, 7627
2. Li XL, Liang XM, et al. High-efficiency phosphopeptide and glycopeptide simultaneous enrichment by hydrogen bond-based bi-functional smart polymer, *Anal. Chem.* 2020, 92, 6269
3. Li XL, Liang XM, et al. Comprehensive O-Glycosylation Analysis of the SARS-CoV-2 Spike Protein with Biomimetic Trp-Arg Materials. *Anal. Chem.*, 2021, 93, 10444
4. Li XL, Liang XM, et al. Hydrogen bond-based smart polymer for highly selective and tunable capture of multiply phosphorylated peptides, *Nat. Comm.* 2017, 8, 461

衰老小鼠的脑代谢组图谱

丁俊^{1,2}, Oliver Fiehn^{2,*}

1. 中国科学院植物种质创新与特色农业重点实验室, 中国科学院武汉植物园, 中国湖北武汉 430074;
2. 西海岸代谢组学中心, 加州大学戴维斯分校, 美国加州戴维斯, 95616
通讯联系人 E-mail: ofiehn@ucdavis.edu

脑是生命体最复杂的器官之一。其组织结构精细、网络连接多样、细胞种类丰富, 由高度复杂的分子网络精准控制着机体的日常生理活动、情绪及高级认知。脑功能的行使离不开基因转录、蛋白质翻译及小分子代谢物的协同调控。目前, 脑转录组图谱、蛋白组图谱的绘制为探究脑功能的分子基础提供了重要数据, 但小分子代谢物的相关信息仍处于缺失状态。虽然人们对神经递质类代谢物, 例如, 多巴胺、乙酰胆碱等, 在脑结构中的时空分布了解较为清楚, 但对修饰核酸、胆汁酸、复杂脂类代谢物如何调节脑的功能、影响脑的衰老仍知之甚少。与RNA、蛋白质的转录和翻译可通过基因表达预测不同, 代谢物往往受到多种负反馈调节机制及调控回路的影响, 其种类、分布及动态变化难以直接预测。因此, 利用代谢组学技术对脑代谢组图谱进行表征, 绘制系统完整的脑图谱显得尤为重要。

代谢组学领域已开始着手挖掘脑代谢的深度信息。大鼠生命周期的脑代谢物变化、老年小鼠脑代谢组的特征陆续得到表征, 开启了脑代谢组图谱研究的序幕。然而, 现有的研究只实现了500-700个脑代谢物的定性, 对各代谢通路的覆盖率低; 脑的解剖学分区不完整, 难以系统反应脑的代谢组学构筑基础及脑衰老的潜在机制。

为完善脑的代谢组图谱并研究脑衰老引起的代谢组动态变化, 我们采用基于高分辨质谱的代谢组学技术, 对青少年至成年晚期鼠脑的10个脑区进行了深度地代谢组学分析, 绘制了衰老小鼠脑代谢组图谱, 揭示了1547个代谢物在不同脑区、年龄、性别的差异信息¹。通过图谱挖掘, 我们发现鞘脂类代谢物与衰老的联系, 初步揭示了髓鞘在青少年至成年早期仍在不断重构, 在成年时期稳定、老年期衰退的新现象。该图谱是目前最全面的脑代谢组图谱, 为脑科学的基础研究提供了重要的基础数据。我们进一步建立了衰老鼠脑代谢组图集的可视化工具 <https://mouse.atlas.metabolomics.us/>, 与基因组、转录组及蛋白组学图谱形成了完成的脑系统生物学数据库。

关键词: 代谢组学、图谱、质谱分析、脑代谢、衰老。

本研究受中国博士后国际交流计划派出项目(20170033)资助。

参考文献:

1. J. Ding, J. Ji, Z. Rabow, T. Shen, J. Folz, C. R. Brydges, S. Fan, X. Lu, S. Mehta, M. R. Showalter, Y. Zhang, R. Araiza, L. R. Bower, K. C. K. Lloyd, O. Fiehn, A metabolome atlas of the aging mouse brain, *Nature Communications* 2021, 12, 6021.

微萃取限域体系下的核酸分离方法

唐盛*

江苏科技大学

E-mail: chmts@just.edu.cn; tangsheng.nju@gmail.com

复杂基质样品（环境、生物）中目标核酸分子的检测始终存在巨大的挑战。其存在的难点主要有：核酸信号易受到基质效应干扰，多重核酸信号难以被有效分离，实际样品中目标核酸浓度较低。为解决上述问题，我们基于微萃取反应体系开发了一系列核酸信号增强和分离方法。例如，开发了磁性三相单滴萃取体系用于生物样品中核酸的提取和分离，有效阻隔了样品基质的干扰；结合长短探针循环扩增和色谱平台对多重核酸信号进行增敏和时空分离；利用单滴的限域效应结合聚集诱导发光等手段对核酸信号进行放大。在该系列工作中，我们探究了微萃取限域体系下核酸分子与纳米复合材料在各相界面的传质特征，以及探针分子在微量萃取体系以及纳米材料空间内的双重限域效应，为实际样品中核酸分子的信号增强和分离提供了新的分析策略。

参考文献：

1. Kuang, J.; Wang, L.; Yin, Y.; Shen, W.; Liu, C.; Lee, H.K.; **Tang, S.*** *Anal. Chem.* **2023, 95**: 5346.
2. Song, C.; Liu, C.; Chen, J.; Ma, Z.; **Tang, S.***; Pan, R.; Suo, X.; Yan, Z.; Lee, H.K.; Shen, W.* *Anal. Chem.* **2023, 95**: 4113.
3. Wang, L.; Zhang, J.; Shen, W.; Zeng, X.; Lee, H.K.*; **Tang, S.*** *Anal. Chem.* **2022, 94**: 12538.
4. He, J.; Mao, W.; Chen, W.; Shen, W.; Duan, Q.; Shi, H.; Tan, L.; Kuang, J.; Lee, H.K.*; **Tang, S.*** *Anal. Chem.* **2022, 94**: 10595.

多元策略导向的羧基功能化磁性 COFs 的制备及其在氟喹诺酮分离富集中的应用

王超展*, 高静楠, 申纪伟, 卫引茂

合成与天然功能分子教育部重点实验室, 西北大学化学与材料科学学院, 西安, 710127

通讯联系人 E-mail: czwang@nwu.edu.cn

共价有机框架 (COFs) 是通过有机构建单元基于共价键连接形成的多孔有机骨架材料。由于其具有稳定性好、比表面积大, 结构易于设计和表面可功能化的特点, 近年来在色谱分析和样品前处理中得到了广泛关注, 表现出吸附容量高、分离效果好、稳定性好等特点。目前, 在色谱分析和样品前处理领域所用到的 COFs 均采用由一个节点单体和一个链接单体组成的双组分 [1+1] 缩合体系合成。在这种传统策略下, COFs 的拓扑结构和复杂性依赖于新的单体合成, 这在很大程度上限制了 COFs 在分离科学中的应用。多元 (multivariate, MTV) COFs 是近年来 COFs 设计和制备中的一个重要突破, 它们由两种或两种以上的节点 (或链接) 与一种链接 (或节点) 组成, 可以实现多样化的组成和多种功能团的组合。

在本研究中, 我们以氟喹诺酮 (FQs) 为目标分析物, 根据其结构特点, 采用 MTV 策略, 设计并合成了以 1,3,5-三甲酰间苯三酚 (Tp) 为节点单体, 以 3,3'-二羟基联苯胺 (DHB)/3,3'-二硝基联苯胺 (DNB) 或 DHB/联苯胺 (BD) 混合物为链接单体的三组分 COF。通过改变链接单体中 DHB/DNB 或 DHB/BD 的比例调整 COF 中羟基的密度, 再通过合成后修饰制备了一系列离子 COFs (iCOFs) 吸附剂。通过考察 iCOFs 对 FQs 的吸附性能, 筛选出了一种羧基功能化 COF (iCOF-COOH)。为便于固液分离, 在此基础上制备了羧基功能化磁性 iCOFs 吸附剂 (Fe_3O_4 @iCOF-COOH)。通过多种表征方法证明材料的成功制备。研究了 FQs 吸附过程中的影响因素及吸附机理, 并将该材料用于牛奶中 FQs 的分离富集。结合高效液相色谱法, 建立了一种牛奶样品中 FQs 类药物的分析方法。在优化的萃取条件下, 该方法的线性范围为 0.02-0.5 mg/L, LOD 为 1.24-4.58 ng/mL, 加标回收率为 68.40-104.95%。结果表明该吸附剂可用于复杂基质中 FQs 的分离富集。

参考文献:

1. Y.P. Wang, S.P. Wu, D. Wu, et al, *Anal. Chim. Acta*, **2020**, 1093, 61-74.
2. L. Feng, K.Y. Wang, G.S. Day, et al, *Chem. Soc. Rev.*, **2019**, 48, 4823 – 4853.

基于三维有序大孔 MOF 材料的凝血酶分离纯化策略

陈旭伟*, 林燕娜

东北大学理学院化学系, 沈阳

通讯联系人 E-mail: chenxuwei@mail.neu.edu.cn

以聚苯乙烯微球为模板, 基于 Zn^{2+} 与2-甲基咪唑间的配位自组装制备三维有序大孔有机骨架材料3DOM ZIF-8, 通过席夫碱反应将凝血酶适配体TBA修饰于3DOM ZIF-8的大孔表面; 然后基于过海藻酸钠中的羧基与3DOM ZIF-8表面 Zn^{2+} 的配位作用, 将接枝有PNIPAM的海藻酸钠(SA-PNIPAM)作为温控开关包覆在3DOM ZIF-8外表面。以氧化石墨烯为支撑基质, 采用真空辅助组装的方式制备得到了凝血酶适配体修饰的3DOM ZIF-8基智能温控膜(图1)。所制备的智能温控膜集成了温度响应聚合物的尺寸筛分能力、三维有序大孔有机骨架材料的优异渗透性和丰富的活性位点以及TBA的特异性, 可用于复杂生物样品如血清中高活性凝血酶的分离纯化。

将偶氮苯修饰的单链DNA、互补单链DNA(cDNA)和凝血酶适配体TBA组成的DNA杂交链作为DNA纳米开关, 通过席夫碱反应将其功能化在MOF气凝胶上, 制备了DNA纳米开关功能化的MOF气凝胶(DNA@MOF气凝胶)和温度/pH双响应PES整体分离柱, 并开发了一种基于偶氮苯光异构化的新型光控可逆捕获/释放策略, 用于全血中凝血酶的免洗脱剂式分离纯化(图2)。该策略避免了分离过程中蛋白活性的损失和样品的过度稀释, 分离得到的蛋白样本具有良好的储存稳定性。

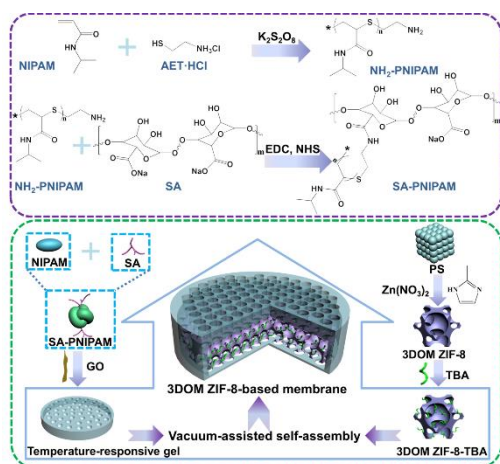


图 1 3DOM ZIF-8 基膜的制备线路

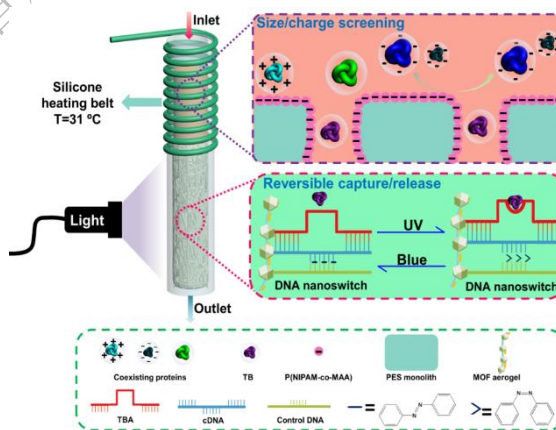


图 2 免洗脱剂型凝血酶分离纯化策略

参考文献:

1. H. Xiao, W Chen, J.M.Smeekens, R. Wu, *Nat. Commun.*, **2018**, 9, 1692-1703
2. P. Li, R. Thankamony, X. Li, Z. Li, X. Liu, Z. Lai, *J. Membrane Sci.*, **2021**, 635, 119507-119515
3. A. Ali, S. Alharthi, S. Shad, N. Al-Shaalán, M. Iqbal, *J Chromato A*, 2022, 1684, 463534-463539.

磁温双重响应型分子印迹聚合物用于食药两用植物内源性危害物的分离富集

万昊*

南昌大学食品科学与技术国家重点实验室

通讯联系人 E-mail: wanhao424@ncu.edu.cn

鉴于食药两用植物基质复杂、内源性危害物含量低等特点^[1], 选取修饰后的磁性氧化石墨烯为载体, 制备了磁性温敏型分子印迹聚合物(TMMIPs)和低共熔溶剂功能化的分子印迹聚合物(TM-DESS-MIPs1), 分别用于食药两用植物中马兜铃酸 I 和大黄酸的高选择性分离富集, 其吸附/洗脱过程可感应外界磁场和温度的变化, 从而实现对实际样本的高效、绿色分析处理。与传统的非温敏型分子印迹材料直接采用有机溶剂洗脱的方式相比, TMMIPs和TM-DESS-MIPs1洗脱时间短、所消耗的有机洗脱溶剂少, 重复使用性较好。令人兴奋地, N-异丙基丙烯酰胺/(3-丙烯酰胺丙基)三甲基氯化铵(NIPAM/APTMAC) 低共熔溶剂体系作为新型功能单体引入分子印迹聚合物制备中, 能显著增强TM-DESS-MIPs1与目标分子的氢键作用, 并与特异性识别位点协同作用, 表现出优越的吸附能力和快速吸附动力学。TMMIPs和TM-DESS-MIPs1在实际样品的分散固相萃取中, 加标回收率分别为79.03-99.67%和79.47-110.82%, 具有良好的实际应用价值。

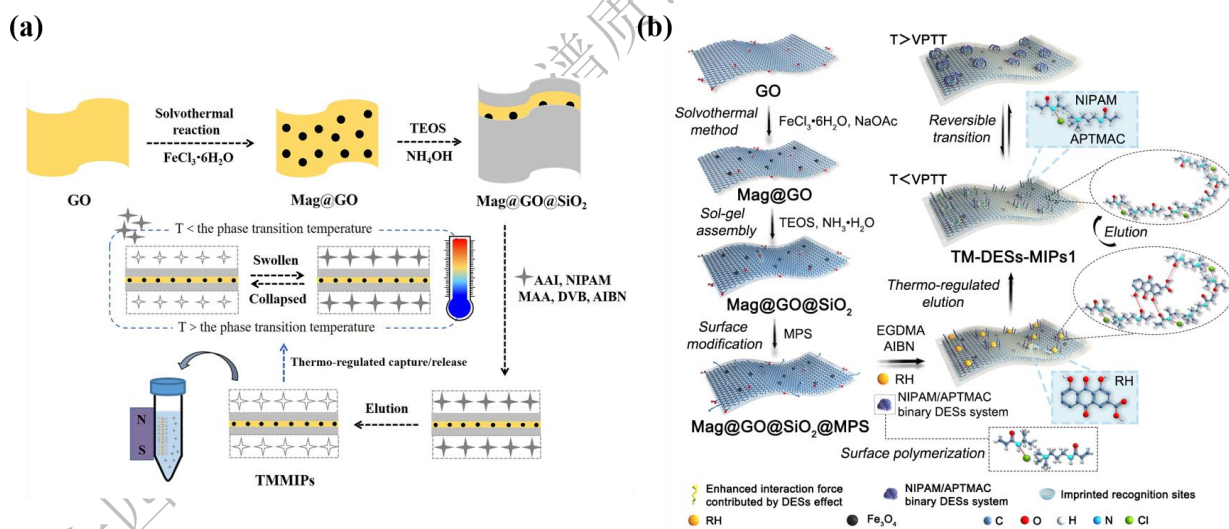


Fig. 1 Schematic illustration of the preparation processes and the possible stimuli-response mechanism of TMMIPs (a) and TM-DESS-MIPs1 (b)

关键词: 磁性; 温敏; 分子印迹聚合物; 食药两用植物; 内源性危害物

参考文献:

1. H. Xiong, Y. Fan, X. Mao, L. Guo, A. Yan, X. Guo, Y. Wan, H. Wan. *Food Chem.*, **2022**, 372, 131250.

基于 MOFs 固定化酶反应器的低分子量蛋白选择性分离分析研究

宋寒月, 陈勃殷, 张舒仪, 贺雯婷, 苏萍, 宋佳一*, 杨屹*

(北京化工大学化学学院, 北京, 100029)

通讯联系人 E-mail: songjy@mail.buct.edu.cn, yangyi@mail.buct.edu.cn

低分子量蛋白质 (LWPs) 是宝贵的生物信息来源, 在生物标志物和信号分子、病理学领域具有重要意义^[1]。然而复杂生物样品中 LWPs 的分离分析过程存在着丰度低、样品前处理过程复杂繁琐等困难^[2-4]。本研究采用孔径可调的金属有机框架材料 (MOFs) 作为酶固定化载体, 基于仿生矿化法将胰蛋白酶 (Try) 原位封装于 MOFs 中, 构建了具备介孔结构的固定化胰蛋白酶反应器。研究表明, 该固定化胰蛋白酶反应器可以实现对不同分子量蛋白的尺寸选择性排阻, 从而降低样本复杂性, 减少高分子量蛋白 (HWPs) 对 LWPs 的干扰, 仅需通过与底物蛋白的简单混合即可实现对 LWPs 的高效酶切。此外, 所制备的固定化酶反应器稳定性良好且可重复使用, 能够基本实现对复杂蛋白混合物和人血清样品中 LWPs 的尺寸选择性分离分析。考虑到该固定化酶反应器的独特优势, 该固定化酶反应器可以显著减少整个分离前处理过程的时间, 提高工作效率, 展现了在蛋白质组学分析中潜在的应用价值。

关键词: 低分子量蛋白质(LWPs)、金属有机框架(MOFs)、沸石咪唑酯骨架(ZIF)、固定化酶、选择性分离分析

参考文献:

- [1] Wang Y, Sun S, Azhar I, et al. Core-shell silica microsphere-based trypsin nanoreactor for low molecular-weight proteome analysis[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 985: 194-201.
- [2] Min Q, Wu R, Zhao L, et al. Size-selective proteolysis on mesoporous silica-based trypsin nanoreactor for low-MW proteome analysis[J]. *Chemical Communications*, 2010, 46(33): 6144.
- [3] Zhou Z, Chao H, He W, et al. Boosting the activity of enzymes in metal-organic frameworks by a one-stone-two-bird enzymatic surface functionalization strategy[J]. *Applied Surface Science*, 2022, 586: 152815.
- [4] Liang W, Xu H, Carraro F, et al. Enhanced activity of enzymes encapsulated in hydrophilic metal-organic frameworks[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(6): 2348-2355.

本研究由国家自然科学基金 (21675008) 和北京市自然科学基金 (2202037, 2224099) 资助。

靶向-可控型酶反应器及其原位高效酶解研究

乔娟^{1,2}, 齐莉¹

¹ 中国科学院化学研究所, ² 北京石油化工学院

通讯联系人 E-mail: qili@iccas.ac.cn

在蛋白质组学研究中, 与疾病相关的低丰度蛋白质的特异捕获及高效酶解是生命科学研究的重点。传统方法多采用将细胞样品破碎及自由溶液中酶解提取蛋白质的方法, 存在高峰蛋白质的干扰及不能原位在线酶解的缺陷。而采用酶反应器进行酶解, 虽然可以重复使用并提高酶解效率, 但是依然存在目标蛋白质或肽段捕获效率低及不能原位酶解的问题。

本文采用“靶向-可控型酶反应器原位高效酶解”策略, 构建基于刺激-响应型聚合物基质的靶向可控酶解方法, 实现低丰度蛋白质的高选择性、高效酶解及肽段鉴定, 并将该方法应用于细胞中糖蛋白的靶向及酶解研究中。首先, 采用RAFT聚合法制备温度响应、pH响应型聚合物膜型酶反应器: 以苯乙烯和马来酸酐为单体, 制备得到了兼具亲疏水性质的两亲聚合物, 并以此为高分子引发剂活性引发聚合温敏单体和pH响应单体, 制备得到了具有温度响应、pH响应的聚合物。粒径、接触角及TEM等结果表明, 所制备得到聚合物的形貌及性质可以随着温度和pH变化, 通过调控聚合物单体的比例、聚合时间等条件, 可以优化其刺激响应性能。进而构建了刺激-响应型聚合物囊泡, 并在其表面修饰糖类和糖蛋白的识别基团(PBA, ConA), 将氨基酸酶和葡萄糖氧化酶包裹于聚合物囊泡中。采用此类酶反应器, 环境的变化可以有效地调控酶解效率, 并特异性的识别葡萄糖及唾液酸, 通过温度和pH的调控实现靶向识别后的高效酶解。结果表明: 兼具靶向和可控酶解功能的聚合物囊泡酶反应器可以高效识别糖及糖蛋白, 并有望应用于细胞表面的糖蛋白的识别与鉴定研究, 为相关病理及疾病治疗机制提供研究基础。

致谢: NSFC (Grants No.22074148)

参考文献:

1. J. Qiao, J. F. Jiang, L. L. Liu, J. Shen, L. Qi*, ACS Appl. Mater. Inter., 2019, 11, 15133-15140.
2. J. Qiao, H. Wu, H. Wei, L. Q. Mao, T. Wang, L. Qi*, Anal. Chem., 2020, 92, 4445-4450.
3. J. Qiao, Y. Y. Song, C. F. Chen, L. Qi*, Anal. Chem., 2021, 93, 7317-7322.
4. J. Qiao, D. Y. Wu, Y. Y. Song, W. L. Ji, Q. W. Yue, L. Q. Mao, L. Qi*, Anal. Chem., 2021, 93, 14743-14747.

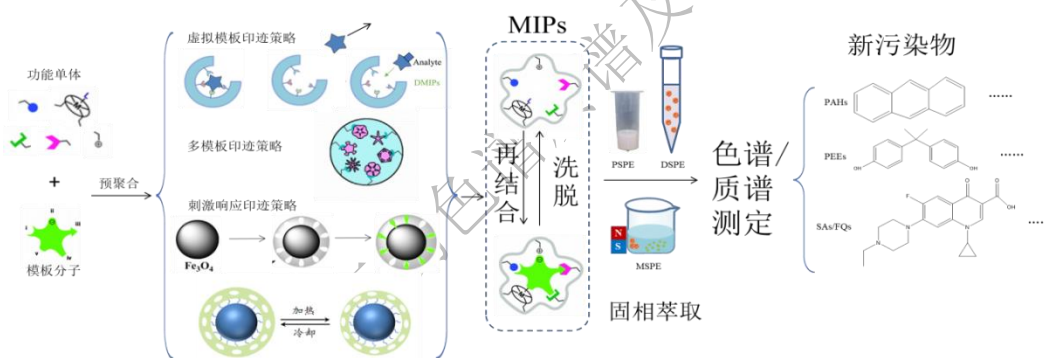
分子印迹材料用于新污染物筛查和识别的研究

李金花*, 陈令新

中国科学院烟台海岸带研究所, 山东省海岸带环境工程技术研究中心, 中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室, 烟台, 264003

通讯联系人 E-mail: jhli@yic.ac.cn

近年来, 新污染物引发的环境风险以及带来的健康危害已受到社会各界广泛关注。我国“十四五”和中长远发展规划中做出了关于重视“新污染物治理”的工作部署, 目前受关注的新污染物主要包括持久性有机污染物、内分泌干扰物、抗生素、微塑料等四大类[1]。分子印迹聚合物(MIPs)是通过模拟酶与底物或抗原抗体特异性结合原理而制备的高分子聚合物, 其作为固相萃取(SPE)的吸附剂, 已广泛用于样品前处理[2]。各种新污染物的识别和测定中也有 MIPs 的广泛应用[3]。我们研究组制备了多种 MIPs 新材料并进行 SPE 应用, 实现了对多环芳烃(PAHs)、酚类环境雌激素(PEEs)、氟喹诺酮类(FQs)/磺胺类(SAs)抗生素等新污染物的筛查、识别和测定。例如: 多模板 MIPs-SPE 结合色谱/质谱测定海水等环境水样中 2 种 FQs[4]、皮革废水等水样中 6 种氯酚类 PEEs[5]和海水中 16 种 PAHs[6], 磁温双响应 MIPs-SPE 结合色谱测定海水中双酚 A[7], 虚拟模板 MIPs 同时分散固相萃取海水等环境水样中的 4 种 SAs 抗生素[8]。



关键词: 分子印迹、新污染物、固相萃取、色谱/质谱、环境水样

本研究受国家自然科学基金(21876199、21477160、21105117、22176210、21976209)项目资助。

参考文献:

1. 时巧翠, 等, 环境新污染物风险防范与化学品环境管理, *化学试剂*, **2022**, 44, 1342-1349.
2. M. Arabi, etc, Strategies of molecular imprinting-based solid-phase extraction prior to chromatographic analysis, *Trend. Anal. Chem.*, **2020**, 128, 115923.
3. L. Chen, etc, Molecular imprinting: perspectives and applications, *Chem. Soc. Rev.*, **2016**, 45, 2137-2211
4. W. Lu, etc, Dual-template molecularly imprinted polymers for dispersive SPE of fluoroquinolones in water samples coupled with high performance liquid chromatography, *Analyst*, **2019**, 144, 1292.
5. W. Lu, etc, Multi-template imprinted polymers for simultaneous selective solid-phase extraction of six phenolic compounds in water samples followed by determination using capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A*, **2017**, 1483, 30-39.
6. X. Song, etc, Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater using molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with GC-MS, *Talanta*, **2012**, 99, 75-82.
7. X. Wu, etc, Water-compatible temperature and magnetic dual-responsive molecularly imprinted polymers for recognition and extraction of bisphenol A, *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1435, 30-38.
8. 王艺晓, 孙宏宵, 等, 虚拟模板分子印迹材料固相萃取磺胺类抗生素, *化学试剂*, **2022**, 44, 1314-1324.

COF 功能化整体柱及其样品前处理应用

王家斌*

福州大学生物科学与工程学院

通讯联系人 E-mail: jbwang@fzu.edu.cn

为了改善整体柱固有的机械强度差、溶胀系数高、选择性较差以及分离柱效较低等缺点，对其进行功能化改性是大势所趋。共价有机框架（COF）作为一种新兴的多孔有机聚合物晶体材料，因其具有出色的化学可修饰性、可调的孔隙结构、较高的比表面积以及丰富的相互作用位点（包括 π - π 堆积、疏水以及氢键相互作用等），目前已经成为样品前处理领域的研究热点。然而，单独的COF粉末在实际应用中仍然存在着许多障碍，如在溶剂中的分散性差，干燥时容易聚集成团，直接填充导致背压过高等。有趣的是，将COF材料引入整体柱载体中，不仅能够克服单独COF材料的缺陷，还能利用COF独特的性能来改善整体柱的选择性与机械稳定性，是一种“1+1>2”策略。目前，COF功能化整体柱的制备方式主要有功能化COF共聚、物理掺杂以及表面改性三种。为了进一步拓展COF功能化整体柱的类型以及创新COF与整体柱之间的结合方式，本课题组采用不同途径，制备了三种不同的COF功能化整体柱，并将其作为样品前处理吸附剂，实现了复杂实际样品中微量目标物的管内固相微萃取（in-tube SPME）。

1. 兼具亲水与 π - π 堆积相互作用的COF功能化脲醛整体柱管内固相微萃取合成酚类抗氧化剂

在本研究中，利用脲醛树脂（UF）独特的粘附性能，将COF_{TAPB-TPA}微球稳定地嵌入到整体柱基质中，由于合成酚类抗氧化剂（SPAs）与COF_{TAPB-TPA}之间的 π - π 堆积相互作用以及UF基质与SPAs之间的亲水相互作用，实现了食用油中微量SPAs的高效萃取与在线分析。

2. COF表面自组装整体柱管内固相微萃取苯二氮卓类药物研究

针对现有的COF基整体柱存在的COF表面覆盖率低的问题，本工作创造性地提出了一种“表面原位自组装”策略，实现了COF微球在整体柱表面的高覆盖。得益于所制备的整体柱与苯二氮卓类药物（BZDs）之间的疏水和 π - π 堆积作用，实现了唾液中痕量BZDs的高效富集与高灵敏检测。

3. 离子型COF表面自组装整体柱管内固相微萃取马兜铃酸类药物研究。

为同时保持COF的晶态结构和阳离子型COF（iCOF）的独特作用，采用“多元”策略将离子型iCOF微球原位自组装到整体柱的表面，在ETFE管中成功地合成了iCOF表面自组装整体柱；基于iCOF表面自组装整体柱与马兜铃酸类药物之间的静电相互作用、氢键相互作用、 π - π 堆积相互作用以及疏水相互作用，将其作为多作用模式吸附剂，实现了血清以及中药样品中微量AAs的在线萃取分析。

关键词：整体柱；共价有机框架；样品前处理

致谢 感谢国家自然科学基金项目（No. 31771893），福建省科技厅引导性项目（No. 2020Y0017）对本课题研究的资助。

低共熔溶剂荧光探针的制备及其在生物医药分析中的应用

唐保坤, 吴莹, 王瑶瑶, 刘子怡, 朱涛, 闫宏远*

河北大学

通讯联系人 E-mail: yanhy@hbu.edu.cn

荧光探针由于其结构多样、成本低廉、细胞膜渗透性好、高生物安全性、功能可设计、可有效避免样品预处理的复杂过程和实时原位检测等诸多优点, 已成为生物样品快速灵敏检测的有效方法。低共熔溶剂 (Deep eutectic solvents, DESs) 是由一定比例的氢键供体 (Hydrogen bond donor, HBD) 和氢键受体 (Hydrogen bond receptor, HBA) 组成的液体混合物。DESs 具有可设计性, 这意味着可以筛选具有不同结构和性质的 DES 前体, 以定制具有特定功能的 DES 基材料。因此, 本工作制备了高亲水性、制备过程简便、环境友好、生物相容性突出等优点的 DESs 非传统荧光探针, 并探究其在生物医药分析领域的应用潜能。

参考文献: (5 号宋体或 Times New Roman, 单倍行距)

1. Shi Y, Hu Y, Jiang N, et al. Fluorescence sensing technologies for ophthalmic diagnosis[J]. ACS Sensors. 2022, 7(6): 1615-1633.
2. Chen X, Hu N, Wei H, et al. Chiral fluorescent recognition by naphthalimide[J]. Journal of Fluorescence. 2020, 30(3): 679-685.
3. Hoffman RM. Strategies for in vivo imaging using fluorescent proteins[J]. Journal of Cellular Biochemistry. 2017, 118(9): 2571-2580.

微液滴气液界面奇特的氧化还原特性研究

张新星*

天津市卫津路 94 号南开大学, 天津, 300071

通讯联系人 E-mail: zhangxx@nankai.edu.cn

摘要正文。

近几年来, 国内外很多科学家发现很多原本在水溶液中难以进行的化学反应, 在通过气体喷雾或者超声雾化产生的微小水滴中可以自发发生, 甚至可以加速到原本的一百万倍。而且水滴的尺寸越小, 这些现象越明显。斯坦福的 Zare 教授认为, 微液滴的表面自然带有高达 10^9 V/m 的电场。相比之下, 在空气中生成闪电的击穿电压仅有 10^6 V/m。微液滴表面的电场是如此庞大, 甚至可以撕裂水中的氢氧根 (OH^-), 生成一个自由电子和一个羟基自由基 (OH^\bullet)。自由电子具有极高的还原性, 而 OH^\bullet 具有极高的氧化性, 这看似完全矛盾的两个性质居然同时存在, 使得微液滴成为了神奇的矛盾统一体。加州大学伯克利分校的 Teresa Head-Gordon 教授在近期发表的论文中, 也从理论上证实了微液滴表面极高电场的存在。

为了证实微液滴气液界面自由电子和羟基自由基的存在, 张新星课题组使用百草枯类化合物 EV^{2+} 捕捉到了微液滴表面的自由电子, 使用吡啶同时捕捉到了微液滴表面的自由电子和羟基自由基, 为微液滴表面特殊的氧化还原特性提供了坚实的证据^{1,2}。

关键词: 微液滴、气液界面、氧化还原、质谱技术

参考文献:

1. Gong, C., Li, D., Li, X., Zhang, D., Xing, D., Zhao, L., Yuan, X. & Zhang, X. Spontaneous reduction-induced degradation of viologen compounds in water microdroplets and its inhibition by host-guest complexation. *J. Am. Chem. Soc.* **144**, 3510–3516 (2022).
2. Zhao, L., Song, X., Gong, C., Zhang, D., Wang, R., Zare, R. N. & Zhang, X. Sprayed water microdroplets containing dissolved pyridine spontaneously generate the unstable pyridyl radical anion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **199**, e2200991119 (2022).

高能紫外激光-生物大分子质谱创新仪器和方法

王方军*, 刘哲益, 肖春雷, 杨学明

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

通讯联系人 E-mail: wangfj@dicp.ac.cn

串联质谱 (MS/MS) 碎片离子分析是当前生物大分子组学序列鉴定的核心技术。商品化串联质谱主要采用电场加速蛋白质等离子与惰性气体分子碰撞 (HCD/CID), 将动能转换为内能并诱导分子骨架解离产生序列特征碎片离子。由于气体分子碰撞能量转换效率低, 只能有效解离 3 kDa 以下的多肽和核苷酸, 解离过程需要 10 ms 以上的活化时间与气体分子多次碰撞, 破坏了分子间的非共价相互作用。近年来, 我们利用极紫外自由电子激光大科学装置等先进激光光源, 发展了脉冲高能紫外激光超快解离-串联质谱 (UVPD-MS/MS) 和蛋白质原位光化学氧化标记装置等创新仪器和核心部件。提出了通过蛋白质位点光解离碎片产率和原位化学标记效率探测其微观高级结构变化的两种结构质谱分析新原理, 实现了亚微克蛋白质复合物组成和动态结构单氨基酸位点分辨、高灵敏度分析 [1-6]。

设计和搭建了世界首台 50-150 nm 可调波长极紫外激光解离装置并实现生物大分子串联质谱分析, 提出了蛋白质皮秒脉冲超快解离获取蛋白质瞬态结构特征碎片离子新原理, 与 HCD 相比解离激发速率提升 10 个数量级, 碎片离子数目增加 2.4 倍。首次探测到了电喷雾离子化过程中质子化氨基酸侧链的分子内溶剂化位点及其引起蛋白质结构变化的分子细节, 为质谱表征蛋白质溶液结构提供了重要理论指导和实验技术支撑。通过单氨基酸位点分辨光解离碎片产率定量分析探测蛋白-蛋白识别和作用的关键位点及界面精细结构, 突破了常规串联质谱只能鉴定蛋白质序列的限制, 精确解析了酪氨酸磷酸化介导的免疫共刺激受体 CD28-激酶 PKC θ 的识别分子机制, 确定了核心识别位点 Lys49、His63、Arg68, 为癌症免疫治疗中靶点和分子路径的合理设计提供了新思路。

提出了 193 nm 脉冲紫外激光激发水溶液卤离子并介导生成活性氧自由基的新原理, 研制了蛋白质 10 ns 原位光化学氧化 (PPOP)-毛细管流通池标记仪器, 实现了 8 种以上氨基酸位点原位氧化效率和溶剂可及性分析。发现赖氨酸的原位标记反应性与其微观结构和相互作用密切相关, 提出了高特异性赖氨酸反应性分析-结构质谱新方法 (LRP), 可对亚微克蛋白质复合物的动态结构和界面相互作用进行高灵敏度分析; 发展了蛋白质-纳米材料界面相互作用精细结构的质谱分析新方法等。确定了新冠病毒 SARS-CoV-2 S1 和人 ACE2 受体的动态结合界面 RBD Lys386-Lys462。提出了利用关键识别位点 Lys417、Lys444 的反应性定量评估活性小分子对 S1-ACE2 结合的干预程度, 有助于靶向药物的研发。

参考文献:

1. Z. Liu, S. Yang, L. Zhou, M. He, **F. Wang**, *Nature Protocols*, **2023**, in press.
2. L. Zhou, Z. Liu, Y. Guo, S. Liu, H. Zhao, S. Zhao, C. Xiao, S. Feng, X. Yang, **F. Wang**, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, 145, 1285-1291.
3. P. Luo, Z. Liu, T. Zhang, X. Wang, J. Liu, Y. Liu, X. Zhou, Y. Chen, W. Dong, C. Xiao, Y. Jin, X. Yang, **F. Wang**, *Anal. Chem.* **2022**, 94, 1135-1142.
4. X. Chen, S. Ji, Z. Liu, X. Yuan, C. Xu, R. Qi, A. He, H. Zhao, H. Song, C. Xiao, W. Gao, P. Chen, R. Luo, P. Li, **F. Wang**, X. Yang, R. Tian, *Cell Chem. Biol.* **2022**, 29, 1024-1036.
5. Z. Liu, W. Zhang, B. Sun, Y. Ma, M. He, Y. Pan, **F. Wang**, *Chem. Sci.* **2021**, 12, 1451-1457.
6. Z. Liu, X. Chen, S. Yang, R. Tian, **F. Wang**, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2023**, in press.

提升质谱检测灵敏度的研究

郭萍, 谭林利, 黄思, 罗玮, Han Zuilhof*, 陈波*, 马铭*

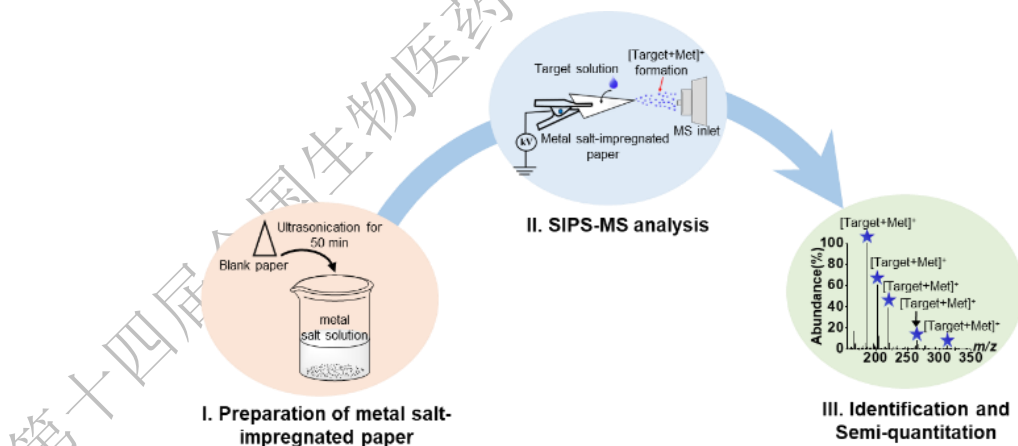
湖南师范大学化学生物学及中药分析教育部重点实验室、植化单体开发与利用湖南省重点实验室,
长沙, 410081

通讯联系人 E-mail: Han.Zuilhof@wur.nl; dr-chenpo@vip.sina.com; mingma@hunnu.edu.cn

纸喷雾质谱 (Paper spray-mass spectrometry, PS-MS) 是一种最为简单、快速、低成本的敞开式质谱 (Ambient mass spectrometry, AMS) 方法^[1]。由于可以在一张三角纸上完成样品的直接定性、定量分析, 已被广泛应用于多个领域的直接快速样品分析^[2-3]。然而, 伴随存在的基质效应和离子抑制等现象, 导致分析物的质谱检测灵敏度并不高, 特别是在复杂基质中的痕量快速分析。因此, 在兼顾方法简单、快速的同时, 开展提升质谱检测灵敏度的研究工作, 具有重要的意义。

本文提出基于金属离子修饰纸基的简单 PS-MS 方法, 对质谱性能进行改进和发展。我们对纸基表面进行改性, 引入特异性加合的金属离子, 形成金属离子负载的修饰纸基芯片, 通过提高金属离子与目标分析物的特异性质谱响应强度, 来提升质谱检测的灵敏度; 或通过金属离子与背景干扰的特异性吸附作用, 来降低基质效应干扰, 从而提高分析物的灵敏度。具体内容包括: (1) 碱金属修饰纸喷雾质谱高选择性分析糖类化合物; (2) 碱金属修饰纸喷雾质谱快速分析糖醇类化合物; (3) 银离子修饰纸喷雾质谱快速鉴别大麻素类化合物; (4) 钛离子修饰纸喷雾质谱快速分析磷脂酰胆碱等。以上研究内容, 无论是通过金属离子来提高目标分析物的响应强度, 还是抑制基质干扰, 都实现了对目标分析物的高选择性、高灵敏度快速质谱分析。综上所述, 基于以金属离子纸基修饰为核心的 PS-MS 方法, 将为改善纸喷雾质谱性能、提升质谱检测灵敏度, 提供一个新的研究思路, 适合复杂样品分析, 拥有广阔的应用前景。

关键词: 质谱、纸喷雾质谱、金属离子、纸基修饰、高灵敏度分析



Scheme 1. Schematic depiction of salt-impregnated paper spray (SIPS) mass spectrometry for the target compounds.

参考文献:

1. R. G. Cooks, Z. Ouyang. et. al. *Science* **2006**, 311, 1566-1570.
2. T. H. Kuo, E. P. Dutkiewicz et. al. *Anal. Chem.* **2020**, 92, 2353-2363.
3. H. Wang, J. Liu. et. al. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, 49, 877-880.

此项研究受国家自然科学基金项目资助 (项目编号: 22276050, 22276049), 谨此感谢!

人体体液与呼气的无创活体微萃取吸附质谱分析

胡斌*

暨南大学 质谱仪器与大气环境研究所 广州 510632

通讯联系人 E-mail: bin.hu@jnu.edu.cn

人体体液与呼气含有大量与人体生理病理及环境暴露相关的物质,如疾病代谢物、环境暴露物、摄入药物和食物及其代谢物。人体体液与呼气分析为理解人体的生理、病理、及行为提供了重要手段。因此,精准分析人体体液与呼气对理解人体健康具有重要的意义。质谱是众多仪器分析方法同时具备灵敏度高、特异性好、和信号响应快的方法。然而,常规质谱技术对于人体活体样品的制备与分析具有巨大的困难。此外,由于人体样品基质复杂,如何精准测定人体复杂基质中痕量目标分析物也极具挑战性。在前期工作中,我们发展了用于人体体液与呼气的无创微萃取吸附质谱分析方法,探索了生命健康的精准分析[1-6]。

在本工作中,将总结人体体液与呼气中痕量分析物的无创微萃取质谱分析方法,介绍人体微量泪液中代谢物与药物的微萃取质谱分析;展示人体唾液代谢物与药物的无创微萃取拭子与多种质谱仪器耦合分析;还将介绍了针对呼出气溶胶的口罩微萃取方法,讨论人体呼出气溶胶代谢物的原位富集与质谱分析,以及人体呼气代谢物和环境中的烟雾、气雾和挥发物的检测。结果表明,人体体液与呼气的无创采样与质谱分析新方法有望为更全面地研究人体健康与环境提供新思路。

关键词: 质谱分析; 人体呼气; 固相微萃取; 原位分析; 活体分析

参考文献:

1. B Hu. *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2022**, 151, 116600.
2. B. Hu, G Ouyang, *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2021**, 143, 116368.
3. SH Cai, D Di, ZC Yuan, W Chen, B Hu. *Anal. Chem.* **2021**, 93, 13743-13748.
4. ZC Yuan, W Li, L. Wu, D Huang, M Wu, B Hu, *Anal. Chem.*, **2020**, 92, 11543-11547.
5. YN Yao, D Di, ZC Yuan, L Wu, B Hu, *Anal. Chem.*, **2020**, 92, 6207-6212.
6. PK So, BC Yang, W Li, Wu. L, B Hu, *Anal. Chem.*, **2019**, 91, 9430-9434.

使用氧化石墨烯和墨汁碳预涂基质的 MALDI-MS 成像分析方法

许 旭

上海应用技术大学 化学与环境工程学院, 上海, 201418

E-mail: xuxu3426@sina.com

影响质谱成像结果的主要因素是基质种类和基质沉积方法。选择正确的基质以及好的基质沉积方式均会影响实验结果。预涂基质是事先在导电玻璃表面涂好基质, 切片直接放在预涂好的基质上面, 不需要在切片上喷涂, 可以减少样品组份扩散, 提高重复性, 简化实验步骤。已有预涂DHB、DAN和CHCA等小分子基质用于MALDI-MS分析的报道。而使用纳米基质有助于降低MALDI背景干扰和改善信噪比, 正在引起广泛关注。

我们使用单层氧化石墨烯(SLGO)作为基质, 将其制作成分布均匀的薄膜作为预涂基质。方法简便, 无需特殊设备。MALDI-MS实验中, 生物样品或者切片直接放于薄膜上, 可以减少样品的扩散和组分的迁移、改善重复性。实验中, 覆有SLGO薄膜的导电玻璃可以保存月余之久, 且可以在每次实验时直接使用、无需再喷涂基质。在保证重复性的情况下还能简化实验步骤。最后将SLGO预涂基质用于大鼠脑组织成像, 揭示大鼠脑组织内部磷脂和一些小分子成分的分布。

还研究墨汁作为新型预涂基质用于MALDI-MS分析和成像的方法。MALDI-MS实验证实墨汁中起到基质作用的是墨汁中的碳纳米材料, 并对其进行了表征。考察了大豆和小鼠组织切片包埋及厚度、基质的预涂方式、激光能量及飞行时间等实验参数对质谱分析的影响。在选定条件下分析添加葡萄糖、蔗糖和蜜三糖样品的明胶模拟组织印迹切片, 得到使用明胶模拟切片时质谱峰强度的重复性较好, 在2.5-25 mg/g范围内测定三种样品质谱峰强度与浓度具有较好的线性相关。用MALDI-MS成像分析大豆中的小分子成分。

最近, 我们还进一步研究了基于纳米碳复合基质的MALDI-MS分析和成像的方法。

致谢: 国家自然科学基金(31671928)

参考文献(5篇以内)

7. K. J. Grove, S. L. Frappier, R. M. Caprioli. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2011**, 22(1), 192-195.
8. J. Yang, R. M. Caprioli, *Anal. Chem.*, **2013**, 85(5), 2907-2912.
9. Y. Xu, Y. Deng, R. Ye, C. Gong, Z. Liu, Y. Zhao, Y. Lu, J. Liu, X. Xu*, *Intern. J. Mass Spectrom.*, **2021**, 464: 116573

新型开管微柱与 CE-MS 在线联用技术及应用

王安平, 杨巾栏, 杨丽*

东北师范大学化学学院

通讯联系人 E-mail: yangl330@nenu.edu.cn

摘要正文: 由于兼具高效分离、高灵敏检测 and 精准分子鉴定优势, CE-MS 技术在生物、药物、食品、环境等众多领域的样品分析和物质检测中被广泛应用。对于复杂和特殊的样品分析, 在 CE-MS 分析之前通常需要进行萃取和富集等样品预处理环节, 增加了繁琐的分析步骤, 降低了分析效率。发展微分析柱与 CE-MS 的在线联用技术, 实现样品预处理、高效分离和高灵敏检测于一体, 是当前分离分析领域的一个备受关注的研究方向。

我们采用三维多孔层 (3D porous layer, 3D-PL) 和纳米金 (Gold Nano particles, AuNPs) 共同修饰毛细管内壁, 制备新型开管毛细管微柱 (OT-column), 有效地增加其比表面积的同时, 提升了固定相与流动相的相互作用。样品经过 OT-column 萃取和富集后, 在同一根毛细管内实现高效 CE 分离, 而该毛细管末端通过特殊设计 tip 结构作为 ESI 的源, 从而实现与无鞘流 ESI-MS/MS 的在线偶联 (图1)。利用该方法的思路, 我们将手性选择剂 (环糊精) 构筑于 3D-PL/AuNPs 共同修饰的毛细管内壁, 制备了一种新型的手性选择柱, 结合与 CE-MS 联用的在线分析, 无需对氨基酸进行复杂的衍生化过程, 成功对 15 对氨基酸手性对映体实现高效分离和高灵敏检测, 具有分析速度快 (17 分钟内)、分离效率高 (柱效可达 10^6 理论塔板数, 分离度在 1.51-10.0 范围)、检测限低 (0.02 - 0.09 ng/L) 等特点[1]; 基于该 3D-PL/AuNPs 修饰毛细管, 我们还构建基于适配体亲合的微萃取柱, 直接与 CE-MS 实现在线偶联, 对食品中真菌毒素的进行了分析检测, 通过一次进样即可完成处理和分析复杂样品的所有步骤, 包括萃取和富集、CE 分离和 MS 检测, 从而极大地提高了分析效率[2]。我们的研究提供了一种新的微柱样品处理与 CE-MS 检测的在线联用技术, 将在众多领域有着重要的潜在应用。

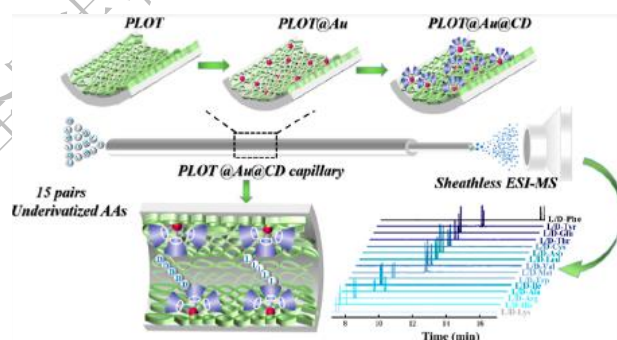


图 1 3D-PL/AuNPs 修饰的 OT-column 与 CE-MS 的在线联用

参考文献:

1. A. Wang, K. Liu, M. Tian* and Li Yang*, *Anal. Chem.* **2022**, 94, 9252 (Cover paper)
2. A. Wang, J. Liu, J. Yang, Li Yang*, *Anal. Chim. Acta* **2023**, 1239, 340750

气溶胶颗粒物中不同组分顺次电离质谱分析

徐加泉*, 宋丽丽, 厉婷, 李慧, 陈焕文

东华理工大学, 江西南昌, 330013

E-mail: jiaquan_xu@foxmail.com

气溶胶颗粒物是一种重要的空气污染物。许多研究已表明, 气溶胶颗粒物中含有丰富的化学成分, 获取气溶胶颗粒物中的化学指纹信息对于评估气溶胶的健康危害^[1]、研究气溶胶颗粒物的形成机理、溯查气溶胶颗粒物的污染源^[2]均具有重要意义。但是目前的分析方法通常需要采用不同的样品预处理方法^[3]提取气溶胶颗粒物中相应成分, 制备成待测液后, 再经不同仪器分析, 获得定性定量结果, 这不仅导致分析耗时长, 而且将导致不同分析结果之间关联性降低。

为此, 本课题组发展了一种顺次电离质谱分析方法^[4], 采用 H_2O 、甲醇、EDTA-2Na 等萃取剂对气溶胶颗粒物中的水溶性有机组分和无机组分、脂溶性有机组分、难溶性金属组分进行在线顺次提取; 对于可氧化组分和可还原组分, 分别采用电化学氧化和电化学还原方法进行提取。提取后的组分平均分成两份, 分别与相应的络合剂反应, 然后在线传输至两个离子源, 分别在正高压和负高压条件下离子化, 最后采用两台质谱对正负离子进行同时分析 (图 1)。实验结果显示, 采用该方法, 单次分析可获得水溶性组分 (如胺类物质、水溶性金属离子、阴离子)、脂溶性组分 (如脂肪酸、多环芳烃)、难溶性金属组分 (如草酸盐、氯化物、氧化物等)、可氧化组分 (如金属单质)、可还原组分 (如高价金属氧化物) 等数十种化合物, 根据这些分析结果, 可评估气溶胶颗粒物的健康危害和环境危害。此外, 根据化合物的离子流图结果, 可获得不同物质在空间上和化学上的联系, 这对于研究气溶胶颗粒物的形成机理和溯查污染源具有重要意义。



图 1 (a) 实验装置示意图, (b) 实验流程图

关键词: 气溶胶颗粒物、顺次电离、有机质谱分析、高通量检测

本研究受国家自然科学基金项目 (No. 21727812, 21705016, 21864001) 资助。

参考文献:

1. X. Meng, Y. Zhang, K. Q. Yang, Y. K. Yang, X. L. Zhou, Potential Harmful Effects of PM_{2.5} on Occurrence and Progression of Acute Coronary Syndrome: Epidemiology, Mechanisms, and Prevention Measures. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **2016**, 13, 748.
2. S. J. Dutton, S. Vedal, R. Piedrahita, J. B. Milford, S. L. Miller, M. P. Hannigan, Source Apportionment Using Positive Matrix Factorization on Daily Measurements of Inorganic and Organic Speciated PM_{2.5}, *Atmos. Environ.*, **2010**, 44, 2731-2741.

3. X. F. Wu, T. V. Vu, Z. B. Shi, R. M. Harrison, D. Liu, K. Cen, Characterization and source apportionment of carbonaceous PM_{2.5} particles in China - A review, *Atmos. Environ.*, **2018**, 189, 187-212.
4. J. Q. Xu, F. L. Li, T. G. Zhu, D. B. Wu, K. Chingin, H. W. Chen. High throughput online sequential extraction of natural rare earth elements and determination by mass spectrometry. *SCI. CHINA Chem.*, **2021**, 64, 642-649.

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

人体代谢物的质谱快检技术及其在疾病筛查领域的应用

邹雪*, 许伟, 沈成银, 储焰南

中国科学院合肥物质科学研究院健康与医学技术研究所, 医学物理与技术安徽省重点实验室, 安徽省合肥市蜀山湖路 350 号, 230031

*Email: xzou@cmpt.ac.cn

人体代谢挥发物可以通过呼气、尿液等方式排出体外, 已经广泛应用于疾病筛查诊断研究, 对于提高患者生存率、促进国民健康具有重要意义。本团队长期从事快速质子转移反应质谱 (PTR-MS) 技术开发及其在健康领域的应用^[1], 初步建立了经过多中心验证的肺癌和糖尿病筛查诊断模型。

肺癌筛查模型: 以呼气中乙醛为生物标志物, 在中心1 (22肺癌患者vs90健康人) 内建立判别模型, 真阳性率和真阴性率分别为82.8%和61.3%, 利用该模型, 验证中心2 (27肺癌患者vs88健康人) 内志愿者的真阳性率和真阴性率分别为77.8%和73.9%, 验证中心3 (29肺癌患者vs111健康人) 内志愿者的真阳性率和真阴性率分别为90.9%和64.4%; 糖尿病诊断模型^[2]: 以尿液中丙酮为生物标志物, 在中心1 (97患者vs97健康人) 内建立判别模型, 真阳性率和真阴性率分别为70.1%和89.7%, 利用该模型验证中心2 (53患者vs53健康人) 内志愿者的真阳性率和真阴性率分别为88.7%和96.2%, 验证中心3 (52患者vs52健康人) 内志愿者的真阳性率和真阴性率分别为76.9%和90.4%。

本研究展示了PTR-MS快速质谱技术在生物医学领域内的重要应用前景, 为多种疾病的筛查诊断提供了一种新思路。

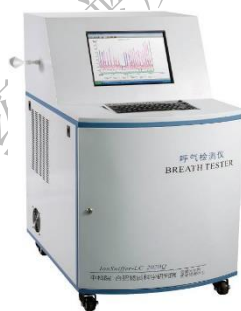


Fig. 1 Proton transfer reaction mass spectrometer

关键词: 疾病; 诊断; 人体挥发物; PTR-MS

参考文献

- [1] Zou, X.; Lu, Y.; Xia, L.; Zhang Y.T.; Li, A.Y.; Wang, H.M.; Huang, C.Q.; Shen, C.Y.; Chu, Y.N. *Anal. Chem.* **2018**, **90**: 2210-2215.
- [2] Xu, W.; Zou, X.; Ding, H.W.; Ding, Y.T.; Zhang, J.; Liu, W.T.; Gong, T.T.; Nie, Z.C.; Yang, M.; Zhou, Q.; Liu, Z.; Ge, D.L.; Zhang, Q.L.; Huang, C.Q.; Shen, C.Y.; Chu, Y.N. *Talanta.* **2023**, **256**: 124256.

级联固定化酶反应器结合色谱-质谱技术用于高灵敏 DNA 损伤分析

尹俊发*, 房天骄, 陈少坤, 唐朝, 汪海林

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, 100080

通讯联系人 E-mail: jfyin@rcees.ac.cn

环境有毒污染物的长期暴露可能诱导基因组DNA损伤和异常的核酸表观遗传修饰, 对人体健康具有潜在的威胁。采用色谱-质谱技术检测环境污染物诱导的DNA损伤时, 通常需将DNA样品完全酶解成单个核苷酸或核苷。经典的溶液体系DNA多酶切技术耗时长且需超滤除酶处理, 不稳定和半衰期短的DNA修饰及损伤容易发生转化或降解, 从而难以准确检测。

针对细胞或组织样品中基因组DNA ($10^6\sim 10^8$ Da) 快速酶切需求, 本研究团队开发了多种能将基因组DNA快速酶切到单核苷的超高效级联酶反应器, 如整体型DNase I-SVP-ALPase (DNaseSAC)、整体型Benzonase-SVP-ALPase (BenzoSAC)、磁性SN-SVP-CIP 纳米(SNSC-MNPs)和吸头式SNSC-Tip多酶反应器等^[1-3]。其中DNaseSAC、BenzoSAC和SNSC-Tip多酶反应器都具有多孔结构和优异的机械性能, 通过低压微量注射泵、手推泵等方式将来源于细胞和组织的DNA样品直接注入酶反应器内快速酶解。磁性SNSC-MNPs酶反应器则可在DNA样品溶液体系中操作, 快速酶切DNA, 并通过磁性回收技术使DNA酶切产物与酶反应器分离。发展的新型多酶级联反应器能够在10-30 min内将基因组DNA酶解为单核苷, 同时维持较高的酶切效率 (>99%)。相对经典溶液酶切体系所需酶切时间8-24小时, 所研制的固定化酶反应器显著提高了对基因组DNA的酶切速度和酶切效率。另外, 经DNaseSAC、BenzoSAC、SNSC-Tip和SNSC-MNPs级联酶反应器处理后的核酸样品无需经过热变性或超滤除酶等繁琐操作, 可直接注入HPLC-MS进行正常核苷及损伤产物的定性定量分析。将新颖的酶反应器与质谱技术相结合, 发展了离线和在线核酸快速酶切-HPLC-MS/MS的DNA修饰检测新方法。利用开发的新方法, 探讨了重金属离子、铁离子介导的Fenton体系 ($\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$) 诱导小牛胸腺DNA (ct-DNA) 氧化损伤效应, 研究了卤代苯醌 (HBQs) 类新型饮用水消毒副产物、双酚类 (BPs) 新型污染物以及人工纳米材料 (如纳米银) 诱导DNA氧化损伤、表观遗传修饰及其毒性作用机制等。

发展的级联固定化酶反应器-色谱-质谱分析方法可对生物样品中DNA损伤和表观遗传修饰等生物标志物进行准确、快速的结构鉴定与定量分析, 为化学暴露 (如药物、环境污染物) 引起的DNA损伤鉴定、修复及毒性作用机制等研究提供了有力的技术手段。

本研究获国家自然科学基金项目 (21974148, 22174156, 22021003) 资助。

参考文献:

1. J. Yin, T. Xu, N. Zhang, H. Wang, *Anal. Chem.*, **2016**, 88, 7730–7737.
2. J. Yin, S. Chen, N. Zhang, H. Wang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10, 21883–21889.
3. T. Fang, C. Tang, J. Yin, H. Wang, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1676, 463279.

多功能栓塞介入微球的研发与应用

高凤苑¹, 陈露萍¹, 于冰^{1*}, 丛海林^{1*, 2*}

1. 青岛大学; 2. 山东理工大学

通讯联系人 E-mail: yubingqdu@163.com; hailincong@163.com

摘要: 癌症危害着人类的生命健康, 在临床治疗中, 传统抗癌治疗手段往往存在高毒副作用、低治疗效率等问题。为提高癌症治疗效果, 减少抗癌药物对健康细胞的副作用, 提高肿瘤部位有效药物浓度, 肿瘤介入治疗方法发挥着越来越重要的作用, 血管腔内栓塞是介入治疗的重要组成部分, 常用的栓塞材料包括固态栓塞剂和液态栓塞剂, 栓塞微球由于具有表面光滑、不易聚集、粒径均匀可控等优点, 已成为主要的栓塞材料。为提高微球栓塞治疗的安全性与其有效性, 且利于术后复查, 研制具有可视化、载药功能的微球成为当前的一个热点[1], 本文研制了一种不仅粒径均匀可控(图1)、而且具有良好生物相容性、可视化、载药栓塞微球, 在栓塞血管的同时, 可将抗癌药物直达病灶部位, 在肿瘤处聚集, 使药物发挥最佳疗效(图2), 可视化双模式成像载药栓塞微球将显著提高肿瘤的治疗效果。

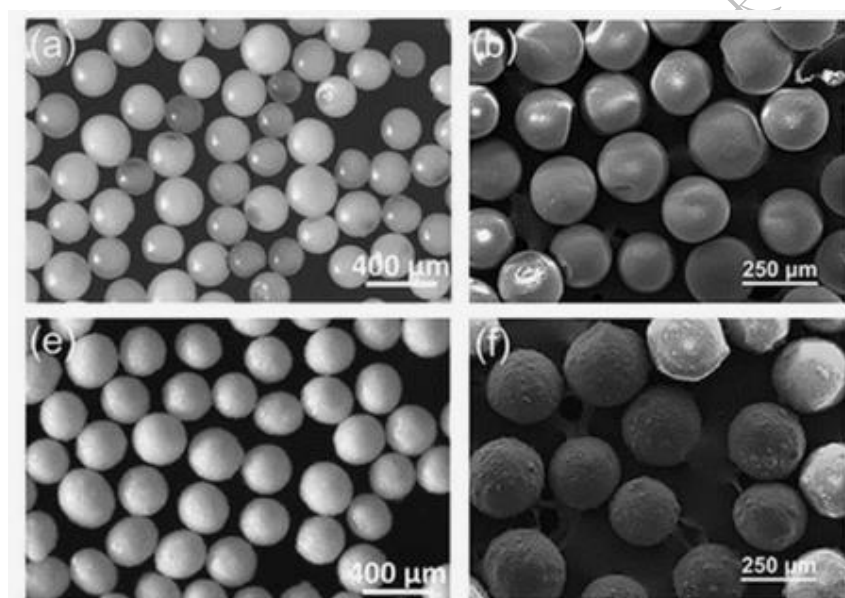


图1. 粒径范围在 100-1200 μm 的栓塞微球

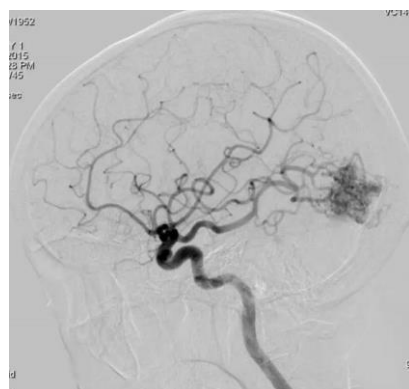


图2. 肝动脉栓塞效果

参考文献: [1] J.-L. Raoul, et al. *Cancer Treatment Reviews* 72 (2019) 28-36.

多重生物标志物 microRNA 的色谱分离分析方法

沈薇*

江苏科技大学

E-mail: chmsw@just.edu.cn

MiRNA的异常表达与多种疾病呈现密切的相关性,故可作为疾病早筛早诊的生物标志物。然而,一种疾病可能与几种miRNA相关,或者一种特定miRNA的异常表达可能与多种疾病有关。为了更精准地进行早筛早诊,同时检测多种miRNA就显得十分必要。考虑到色谱分析方法相较于常见紫外可见法、荧光法等分析方法,具有一个额外的时间维度——即可获得三维信号,故而有望据此同时检测多重目标miRNA。

我们基于具有不同延长尾链探针的双链特异性酶(DSN)辅助目标循环扩增技术,开发了一种高灵敏且可通过HPLC-荧光同时检测三种目标miRNA的分析方法。在该法中,通过DSN介导的扩增结合磁性分离增强了目标miRNA的信号。扩增后,将痕量的目标miRNA转化为大量切割的长短不同的DNA探针,并通过HPLC对具有不同延长尾链的DNA探针进行分离和分别定量,从而实现高灵敏同时检测三种miRNA,且选择性良好。最后,将该方法用于同时检测宫颈癌患者血清样品中的标志物miRNA-122、155和miRNA-21。

上述方法的分离分析效果理想,但潜在的风险是使用了磁珠,如果磁性分离不彻底,磁珠就有可能进入色谱柱,进而损害色谱柱、影响柱效。因此,我们进一步设计无需用纳米材料、且荧光信号自生成的方法。在该方法中,通过设计不同碱基序列和不同长度的G-四链体发卡探针,开发了一个无标签的“一锅法”技术。通过DSN介导的循环扩增策略,少量的目标miRNAs可以被置换成大量的G-四链体荧光探针,在HPLC-荧光平台上一次运行检出乳腺癌的三种标志物miRNA。

该类方法的创新性在于:(1)通过信号置换和信号放大,解决了HPLC有效分离miRNA的挑战;(2)通过目标循环扩增技术,实现了普通HPLC荧光平台上灵敏检测miRNA,无需昂贵的质谱联用系统;(3)在单次运行中实现了多重生物标志物miRNA的检测。总的来说,该类方法实现了在单次运行中可对病人血清样品中多种miRNA的同时高灵敏检测,在癌症等疾病早期诊断领域具有一定的应用潜力。

关键词: MicroRNA; 高效液相色谱; 多重检测; 生物标志物

参考文献:

1. Song, C.; Liu, C.; Chen, J.; Ma, Z.; Tang, S.*; Pan, R.; Suo, X.; Yan, Z.; Lee, H.K.; **Shen, W.*** *Anal. Chem.* 2023, 95: 4113.
2. T. Qi, C. Song, J. He, **W. Shen***, D. Kong, H. Shi, L. Tan, R. Pan, S. Tang*, H. K. Lee*, *Anal. Chem.* 2020, 92: 5033.

金属有机骨架 (MOFs) 材料及其微器件在靶标生物标志物检测中的应用

祁晓月*, 刘可心, 常自勇, 朱丰元, 李晓琼

北京理工大学医学技术学院, 北京, 100081

E-mail: qixiaoyue@bit.edu.cn

金属有机骨架 (MOFs) 一种无机-有机杂化材料, 由无机金属中心和有机配体通过配位键形成的一类具有周期性网络结构的晶态多孔材料。MOFs 具有超高的比表面积、天然的孔道、可调控的拓扑结构以及易于修饰等优势, 可广泛应用于分离、富集、传感、成像、药物递送等诸多领域。本系列研究通过对 MOFs 孔径的调节¹ 以及合成后修饰策略², 实现功能化 MOFs 的设计和制备, 通过主客体相互作用, 实现对药物分子和靶标生物标志物的分离分析³; 通过抗原抗体作用, 实现对肿瘤细胞的特异性识别和捕获⁴。因此, 功能化 MOFs 在分离和传感领域展现了巨大的应用前景。除 MOFs 粉末外, 近年来 3D MOFs 整体器件因优异的稳定性、可循环性和多功能特性备受关注, 通过原位生长、层层组装和 3D 打印等技术可实现 MOFs 整体材料和器件的制备⁵。微针系统可用于药物递送⁶、传感⁷等领域, 通过层层组装将 MOFs 制备为 MOFs 微针可实现对间质液中药物/靶标生物标志物的即时检测和动态监测。

关键词: 金属有机骨架、微针、生物标志物、富集、传感

本研究受北京市科协青年人才托举项目 (No.BYESS2023417) 和北京理工大学青年教师学术启动计划项目 (1870011182123) 资助。

参考文献:

1. X. Qi*, Q. Chen, Z. Chang, Y. Deng, Breaking pore size limit of metal-organic frameworks: bio-etched ZIF-8 for lactase immobilization and delivery in vivo, *Nano Res.*, **2022**, doi: 10.1007/s12274-022-4082-3.
2. X. Qi, Z. Chang*, G. Fu, T. Chen, Modification of Metal-Organic Framework Composites as Trackable Carriers with Fluorescent and Magnetic Properties. *Nanotechnology*, **2021**, 32, 105101.
3. Z. Chang, L. Zeng, C. Sun, P. Zhao, J. Wang, L. Zhang, Y. Zhu*, X. Qi*, Adsorptive recovery of precious metals from aqueous solution using nanomaterials – A critical review, *Coord. Chem. Rev.*, **2021**, 445, 214072.
4. X. Qi, Z. Chang, D. Zhang, K. J. Binder, S. Shen, Y. Y. S. Huang, Y. Bai, A. E. H. Wheatley*, H. Liu*. Harnessing Surface-Functionalized Metal-Organic Frameworks for Selective Tumor Cell Capture, *Chem. Mater.*, **2017**, 29, 8052-8056.
5. X. Qi*, K. Liu, Z. Chang*, Beyond Powders: Monoliths on the Basis of Metal-organic Frameworks (MOFs), *Chem. Eng. J.*, **2022**, 441, 135953.
6. W. Chen, J. Wainer, S. Ryoo, X. Qi, R. Chang, J. Li, S. H. Lee, S. Min; A. Wentworth, J. E. Collins, S. Tamang, K. Ishida, A. Hayward, R. Langer, Giovanni Traverso*, Dynamic omnidirectional adhesive microneedle system for oral macromolecular drug delivery. *Sci. Adv.*, 2022, 8(1), eabk1792.
7. X. Qi*, K. Liu, X. Lu, Y. Deng, Z. Chang. L. Metal-organic frameworks-based microtrapper for real-time monitoring of targeted analyte and mechanism study. *Talanta*, **2023**, 253, 123921.

新一代生物液相色谱技术及其应用

李彤

依利特（苏州）分析仪器有限公司

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

金属有机骨架材料在高效毛细管电色谱分离及酶分析中的应用

贵缘琦¹, 闫美婷¹, 夏之宁^{2,*}, 付琦峰^{1,*}

(1.西南医科大学药学院, 泸州, 646000; 2.重庆大学药学院, 重庆, 401331)

*通讯联系人: 夏之宁 znxia@cqu.edu.cn; 付琦峰 fuqifeng1990@163.com

关键词: 金属有机骨架, 固定相, 毛细管电色谱, 固定化酶微反应器

近年来, 金属有机骨架 (MOFs) 涂层作为高性能电色谱 (CEC) 分离固定相的应用价值受到广泛关注^[1]。然而, 目前已开发的 MOFs 电色谱固定相大多仅具有微孔结构 (孔径 < 2 nm), 限制了客体分子在 MOFs 骨架内部的快速扩散和传质, 相应的 CEC 分离性能也受到限制, 难以满足复杂样品高效分离分析的需求。此外, 前期 MOFs 电色谱固定相的相关研究多数仅聚焦于材料本身的合成与分离性能验证, 未充分探讨其在生物医药领域中的应用潜力。因此, 有必要进一步开发具有强分离选择性和传质性能的新型 MOFs 电色谱分离介质, 并拓展其在生物医药等领域中的广泛应用。

基于此, 本课题组近期围绕 MOFs 电色谱分离介质开发及其应用中的关键科学问题开展了一系列研究: (1) 首次将具有优良传质性能以及强热力学相互作用的均一介孔 MOFs (mesoMOF-1) 引入到色谱分离领域, 将其作为新型固定相用于高效 CEC 分离分析, 相较于 HKUST-1 涂层柱, mesoMOF-1 涂层柱的分离度、分离效率及柱容量均得到显著提升^[2]; (2) 利用半胱氨酸诱导原理^[3]制备了 UiO-66-NH₂ 涂层电色谱固定相, 并将其作为酶固定载体材料构建了固定化酶微反应器 (IMER) 联用 CE 在线酶分析方法^[4], 拓展了 MOFs 电色谱分离介质在生物分析领域的应用潜力; (3) 利用硅烷共价偶联方法将微孔-介孔多级孔结构的 HP-UiO-66-NH₂ 固定在毛细管柱内壁, 并将其作为酶固定载体材料构建了 HP-UiO-66-NH₂-IMER-CE 在线酶分析方法。得益于 HP-UiO-66-NH₂ 的多级孔结构及良好的传质性能, 其酶负载量、稳定性及酶分析性能相比于 UiO-66-NH₂-IMER 获得了显著提升; (4) 基于成核竞争原理在毛细管内壁原位生长具有多级孔结构的 HPU-3 涂层, 所制得的 HPU-3 电色谱固定相不仅可实现对不同分子尺寸分析物的高效 CEC 分离分析, 还具有相比 HP-UiO-66-NH₂ 更为优异的酶固定及酶分析性能。以上研究既系统揭示了 MOFs 固定相结构与其电色谱保留行为之间的内在联系, 还有效拓展了其在 IMER-CE 酶分析领域中的应用价值。

参考文献:

1. J. Zhang, Z.L. Chen*, Metal-organic frameworks as stationary phase for application in chromatographic separation, *J. Chromatogr. A*, **2017**, 1530, 1-18.
2. Y.Q. Gui, J. Zeng, Y.K. Huang*, L. Rao*, Q.F. Fu*, Homo-mesoporous Metal-Organic Framework for High-Performance Electrochromatography Separation, *Anal. Chem.*, **2022**, 94(48): 16720-16727.
3. B.A. Ji, Z.N. Xia*, Q.F. Fu*, High-Efficiency and Versatile Approach To Fabricate Diverse Metal-Organic Framework Coatings on a Support Surface as Stationary Phases for Electrochromatographic Separation, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2021**, 13, 41075-41083.
4. R. Liu, Y.Q. Gui, B.A. Ji, Z.N. Xia*, Q.F. Fu*, Metal-Organic Frameworks-Based Immobilized Enzyme Microreactors Integrated with Capillary Electrochromatography for High-Efficiency Enzyme Assay, *Anal. Chem.*, **2022**, 94(17): 6540-6547.

基于亲和超滤色谱质谱技术的天然活性物质“敷网捕捞”筛选策略的构建与应用

王志强, 戴骏, 刘紫菡, 崔明璠, 闫宏远*

河北大学公共卫生学院, 河北大学药学院

药物化学与分子诊断教育部重点实验室, 河北省公共卫生安全重点实验室

通讯联系人 E-mail: wangzq2017@hbu.edu.cn; yanhy@hbu.edu.cn

药物靶点蛋白与生物活性物质的相互作用研究是新药研发的热点领域之一, 而从天然产物中筛选与药物靶点蛋白相互作用的生物活性物质作为药物先导化合物已成为生物医药研究的主要目标之一。然而, 由于天然提取物的化学组成复杂且各组分含量差异极大, 因此筛选鉴定天然活性物质变得十分困难, 这阻碍了先导化合物的发现进程。亲和超滤色谱质谱联用技术是一种高通量筛选方法, 能像“钓鱼一样”一样从复杂的天然产物中靶向捕获药效物质, 已经被广泛应用于 α -葡萄糖苷酶、醛糖还原酶、酪氨酸酶等天然小分子抑制剂的筛选。但是“钩钓捕鱼”的效率是远远低于“敷网捕捞”的。敷网捕捞”是一种鱼类捕捞作业方式, 其原理是将网具敷设在水中, 通过各种方式诱集捕捞对象进入网的上方, 然后提升网具从而达到渔获的目的。分子网络是一种分析二级质谱信息相似度的可视化计算策略, 本研究将亲和超滤色谱质谱技术与分子网络技术相结合, 构建了天然活性物质的“敷网捕捞”筛选策略, 提高了天然活性物质的发现效率。

参考文献:

1. Z. Wang, Y. Zhang, H. Yan, *Food Funct.*, **2022**, 13, 2545-2558.
2. Z. Wang, Y. N. Guillen Quispe, S. H. Hwang, et al., *Ind. Crop. Prod.*, **2018**, 122, 709-715.
3. L. F. Nothias, D. Petras, R. Schmid, et al., *Nature Methods*, **2020**, 17, 905-908.

有机多孔材料在中药材中有机污染物的富集与分析研究

陈彦龙¹, 张行远¹, 谢智勇², 廖琼峰^{*1}

1 广州中医药大学中药学院, 广东广州, 510006

2 中山大学药学院, 广东深圳, 528406

E-mail: zyfxliao@gzucm.edu.cn

中药材位于整个中医药行业产业链上游, 是中医药产业发展的基础。药材质量的优劣, 关乎中药在临床使用的安全性及有效性。全氟烷基化合物、溴代阻燃剂、内分泌干扰物和多氯萘是广泛存在于环境中的一类新型有机污染物。这些有机污染物具有持久性、生物累积性、致癌性和致畸性等特点, 可随着空气、水或土壤进入中药材并逐渐累积和放大, 最终对人类健康造成危害。因此, 基于中药材中新型有机污染物的分析检测需求, 设计和制备了用于全氟烷基化合物和多氯萘富集和分析的有机多孔材料, 通过扫描电镜、红外、XRD 等分析技术对制备的材料进行表征。此外, 通过分子模拟探索材料对目标物的吸附机理。系统的优化了固相萃取过程中吸附剂用量、解吸溶剂等参数, 在最优的条件下, 实现了中药材中全氟烷基和多氯萘化合物的选择性富集与分离。结合 HPLC-MS/MS 和 GC-MS/MS 建立了黄芪、人参、薄荷等中药材中全氟烷基和多氯萘的检测方法。

参考文献:

1. Y.L. Chen, Z.C. Lu, G.K. Li, Y.L. Hu. β -Cyclodextrin porous polymers with three-dimensional chiral channels for separation of polar racemates. *J. Chromatogr. A* **2020**, 1620, 461341.
2. Y.L. Chen, Z.C. Lu, S.M. Huang, Y.L. Hu, G.K. Li, Q.S. Zhong. Simultaneous enrichment of bisphenols and polyfluoroalkyl substances by cyclodextrin-fluorinated covalent organic frameworks membrane in food packaging samples. *J. Chromatogr. A* **2022**, 1666, 462864.

毛细管电色谱手性固定相与手性电化学传感器研究

陈子林

武汉大学药学院

Email: Chenzl@whu.edu.cn

摘要：手性药物分析是药物分析中一个重要领域。手性毛细管电色谱固定相及手性电化学传感器研究是手性药物分析的两个重要研究方向。本报告拟介绍本课题组在该研究方向的研究进展。

致谢：国家自然科学基金资助（No. 82273808 & 82073808）。

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

药用辅料吐温成分及其氧化杂质分析新方法及应用

王喆¹, 李新健¹, 王亚男¹, 郑博文¹, 刘琪¹, 田润涛², 张金兰^{1*}

1 中国医学科学院&北京协和医学院 药物研究所

2 科迈恩(北京)科技有限公司

通讯联系人 E-mail: zhjl@imm.ac.cn

吐温(聚山梨酯)作为重要的药用辅料广泛应用于制药工业。吐温的质量和安全性与其成分和杂质的轮廓密切相关,但由于其组成复杂且结构相似,难以实现其成分和杂质的全面精细表征。本研究基于超高效液相色谱-高分辨质谱(UHPLC-HRMS)技术建立了一种新的全面快速表征和鉴定药用辅料及其制剂中吐温成分及其氧化杂质的分析新策略。通过吐温成分结构和保留时间的依数性关系建立数学模型,实现成分的快速鉴定,并建立了包含6000余种成分和氧化杂质的数据库。该分析策略应用于药用辅料及制剂样品中,在每个样品中均鉴定并相对定量了约200种成分和氧化杂质,不同样品之间的成分和氧化杂质轮廓存在明显差异。我们已将该策略转化应用,开发了辅料分析软件Polymer Studio™,实现对样品采集数据的一键式分析,快速获得吐温成分和氧化杂质的精细轮廓,助力我国药用辅料及其相关制剂质量的提升。

参考文献:

1. Zhe Wang, Yanan Wang, Cai Tie, Jinlan Zhang. A fast strategy for profiling and identifying pharmaceutical excipient polysorbates by ultra-high performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1609, 460450.

基于离子型手性共价有机框架材料的电位传感器研究

王帮进*, 周虹媚, 谢生明, 章俊辉, 袁黎明

云南师范大学化学化工学院

E-mail: wangbangjin711@163.com

共价有机框架材料 (Covalent Organic Frameworks, COFs) 是由有机单体通过共价键有序连接形成的晶状多孔材料, 具有良好的化学稳定性和热稳定性。此外, COFs 的表面积及孔隙率较大, 骨架密度也相对较低, 还能通过选择不同结构的有机单元控制 COFs 的孔道大小, 实现孔道尺寸从微孔到介孔范围的精准设计。离子型共价有机框架材料 (Ionic Covalent Organic Frameworks, iCOFs) 是主链或侧链有离子基团的共价有机框架材料, 它结合了多孔离子聚合物和共价有机框架的优点, 在离子传导、生命科学、吸附、分离、催化和传感等许多应用领域都显示出巨大的潜力。因 iCOFs 的结构中具有带电基团, 利用它制备的膜材料在选择性分离过程中体现出了尺寸和电荷双重作用的独特分离模式, 在分子识别与筛分方面表现出了优异的性能。

本文利用 γ -CD 与螺硼酸盐合成了一种离子型三维 COF, 并用其修饰电位传感器的 PVC 敏感膜。所制备的电位型手性传感器对部分氨基醇对映体具有识别效果, 且具有较好的稳定性和重现性。后续将通过优化膜组分和检测条件等方式增强识别效果, 并开展该传感器的微型化研究, 尝试将其应用于植物活体中对映体的原位识别检测。

参考文献:

- [1] Geng K Y, He T, Liu R Y, Tan K T, Li Z P, Tao S S, Gong Y F, Jiang Q H and Jiang D L. *Chem. Rev.*, **2020**, 120(16): 8814-8933.
- [2] Qian H L, Yang C X, Yan X P. *Nat. Commun.*, **2016**, 7: 12104.
- [3] Yuan C, Jia W Y, Yu Z Y, Li Y N, Zi M, Yuan L M, Cui Y. *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144(2): 891-900.
- [4] Yang H, Yang L X, Wang H J, Xu Z A, Zhao Y M, Luo Y, Nasir N, Song Y M, Wu H, Pan F S, Jiang Z Y. *Nat. Commun.*, **2019**, 10: 2101.
- [5] Ying Y, Tong M M, Ning S C, Ravi S K, Peh S B, Tan S C, Pennycook S J, Zhao D. *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142: 4472-4480.
- [6] Zhang Y Y, Duan J Y, Ma D, Li P F, Li S W, Li H W, Zhou J W, Ma X J, Feng X, Wang B. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2017**, 56(51): 16313-16317.
- [7] Xu H S, Ding S Y, An W K, Wu H, Wang W. *J. Am. Chem. Soc.*, **2016**, 138(36): 11489-11492.
- [8] Shen J L, Zhang R N, Su Y L, Shi B B, You X D, Guo W X, Ma Y, Yuan J Q, Wang F, Jiang Z Y. *J. Mater. Chem. A*, **2019**, 7: 18063-18071.

基于识别宽度的模板分子选择策略提升分子印迹族选择性

黄一可*

重庆医科大学药学院

通讯联系人 E-mail: Yike_Huang@cqmu.edu.cn

分子印迹技术 (Molecular imprinting, MIT) 是一种有前景的选择性识别技术, 广泛应用于各领域[1]。其类选择性 (Class-selectivity) 通过使用一个或多个模板分子 (Templates, TM) 来构建分子印迹聚合物 (Molecular imprinted polymers, MIP)。这使 MIP 显示出对多个目标分子同时具有识别能力 [2,3]。然而, 目前研究者凭借实验经验选择 TM。如何选择正确选择的模板分子仍然缺乏系统性指导和决策。因此, 我们提出了一种通过扩展识别宽度的选择模板分子的新策略提高分子印迹的类选择性, 至族选择性 (Family-selectivity)。

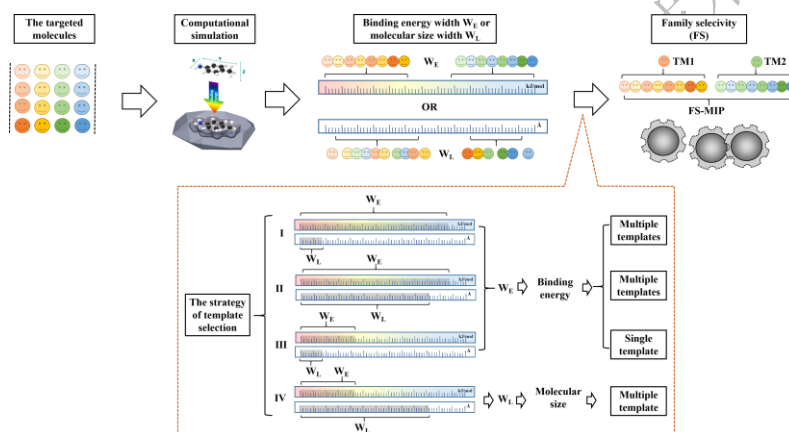


图 1 选择模板分子的决策图

如图 1 所示, 我们首先选取 3 个遗传毒性杂质 (GTI) 家族作为受试对象。通过计算模拟, 得到每个 GTI 分子与功能单体配合物的空间尺寸和结合能。并引入能量宽度(W_E)和尺寸宽度(W_L)这两个指标, 对这些分子在空间尺寸和结合强度上的相似性和差异性进行比较和判别。通过缩短宽度增加相似性并进行分类选择模板分子。结果显示, 在芳香族胺类家族和磺酸酯类家族中成功选择出两个代表性的 TM, 而亚硝酸类家族选出一个 TM。通过表面印迹法, 成功制备得到双模板 MIP。相比单个模板 MIP, 双模板 MIP 可以同时识别所有的 GTI, 且维持在一个较高的识别水平上。进一步证明了双模板 MIP 的识别效率高于单模板 MIP。这些结果表明, 使用正确的模板分子, 有助于实现更高的类选择性和更大的识别宽度。因此, 本工作能解决模板盲的问题, 为设计族选择性分子印迹提供了一定的理论指导。

参考文献:

1. Arabi, M.; Ostovan, A.; Li, J.; Wang, X.; Zhang, Z.; Choo, J. Chen, L. *Adv. Mater.* 2021, 33.
2. Lu, W.; Liu, J.; Li, J.; Wang, X.; Lv, M.; Cui, R. Chen, L. *Analyst* 2019, 144, 1292-1302.
3. Chen, L.; Wang, X.; Lu, W.; Wu, X. Li, J. *Chem. Soc. Rev.* 2016, 45, 2137-2211

降糖降脂活性成分多靶标亲和超滤筛选与作用机制研究

郭明全^{1,2,3,4*}, 陈桂林^{1, 2, 3, 4}, 张慧^{1, 4}

¹中国科学院武汉植物园, 植物种质创新与特色农业重点实验室, 湖北武汉 430074;

²中国科学院中非联合研究中心, 武汉 430074;

³中国科学院药物创新研究院, 上海 201203;

⁴中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049, 北京, 邮编

通讯联系人 E-mail: guomq@wbpcas.cn

许多药食两用植物如荷叶和辣木长期以来用于预防和治疗肥胖、糖尿病和其他代谢性疾病, 但其降糖降脂相关功效成分及作用机制仍不清楚[1, 2]。同时, 从天然产物中寻找更安全、更高效的降糖降脂天然化合物日益受到关注, 基于降糖降脂靶酶天然抑制剂开发降糖降脂产品因具有更低毒性和更少副作用而备受青睐[3]。为此, 本文采用降糖降脂多靶酶筛选并结合体内外功能验证探索这些植物潜在降糖降脂药效物质及其作用机制。为评价其体外降血糖和降血脂活性, α -葡萄糖苷酶和胰脂肪酶体外抑制实验结果表明, 这些植物提取物对胰脂肪酶和 α -葡萄糖苷酶均有较好的抑制作用, IC_{50} 值均高于相应阳性对照。为进一步探究其功效成分, 本文采用 α -葡萄糖苷酶和胰脂肪酶亲和超滤 LC-MS (UF-LC/MS) 技术快速筛选出靶向胰脂肪酶和 α -葡萄糖苷酶的天然活性成分, 并对其中活性较好的成分进行体外酶抑制实验和分子对接模拟验证。为进一步揭示其作用机制, 本文还进行了 T2DM 大鼠模型动物实验研究, 结果表明高、中、低剂量组具有良好的剂量依赖性, 不仅均能显著降低空腹大鼠的血糖水平, 并显著改善 T2DM 大鼠的血糖耐量。同时, T2DM 大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平显著降低, HDL-C 水平显著升高。此外, 这些功效成分还能显著改变 T2DM 鼠肠道细菌的种类和丰度, 增加肠道短链脂肪酸(SCFAs)水平。以上结果表明, 这些植物功效成分可能是降糖降脂主要活性成分, 并有望作为功能食品或其他天然健康产品进一步开发。

关键词: 降糖; 降脂; 生物亲和超滤质谱; 辣木; 荷叶

本研究受国家自然科学基金(批准号: 81903791)和湖北省自然科学基金(批准号: 2019CFB254)等项目资助。

参考文献:

1. H. Zhang, G.L. Chen., Y. Zhang, M. Yang, J.M. Chen, M.Q. Guo. Potential hypoglycemic, hypolipidemic, and anti-inflammatory bioactive components in *Nelumbo nucifera* leaves explored by bioaffinity ultrafiltration with multiple targets, *Food Chemistry*, 2022, 375, 131856.
2. G.L. Chen, Y.B. Xu, J.L. Wu, N Li, M.Q. Guo. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Moringa oleifera* leaves and their functional chemical constituents, *Food Chemistry*, 2020, 333, 127478
3. G Chen, BX Huang, M Guo*. Current advances in screening for bioactive components from medicinal plants by affinity ultrafiltration mass spectrometry, *Phytochemical Analysis*, 2018, 29 (4), 375-386.

整合水相兼容正相色谱的温敏保留行为和柱稀释调制增强正相 x 反相全二维色谱的兼容性

陈应庄^{1,2}, 卢佳豪^{1,2}, 熊喜悦³, 马铭^{1,2}, 陈波^{1,2}, 陈应庄^{1,2*}, Oliver J Schmitz^{4*}

1. 化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 湖南师范大学, 410081, 长沙, 中国
2. 植化单体开发与利用湖南省重点实验室, 湖南师范大学, 410081, 长沙, 中国
3. 出生缺陷研究与预防重点实验室, 湖南省妇幼保健院, 410008, 长沙, 中国.
4. University of Duisburg-Essen, Applied Analytical Chemistry, 45141, Essen, Germany.

通讯联系人 E-mail: yingzhuangchen2020@hunnu.edu.cn; oliver.schmitz@uni-due.de

正相x反相全二维液相色谱组合了保留机制近乎相反的正相液相色谱(NPLC)和反相液相色谱(RPLC)两种分离模式, 具有极高的正交性和理论峰容量。然而, 二维流动相的高度不兼容所造成的峰穿透和峰紊乱几乎抵消了高正交性所带来的优势[1-4]。为了解决这一困难, 本研究提出了一种新型的正相x反相全二维液相色谱系统, 该系统通过温敏水相兼容正相色谱(TSAC-NPLC)和在柱稀释调制(ACDM)器的集成, 有效的克服了正相x反相全二维色谱系统中存在的两维高度不兼容的问题。该系统在第一维正相分离中使用乙腈/甲醇体系替代水不溶的正己烷/甲醇体系, 以增加两维流动相的互溶性。同时, 为了弥补由于流动相变化造成正相色谱保留能力减弱的问题, 利用正相色谱保留行为的温敏性的特性, 在第一维使用超低温以提高正相色谱的保留能力。进一步, 通过在柱稀释调制的应用以克服两维流动相的不兼容问题, 确保转移到第二维的分析物可以实现高效聚焦与分离。为了验证所提出的策略的可行性, 本研究选择了三个富含中低极性的多组分样品, 包括双酚A聚氧乙烯醚、三本乙烯基聚氧乙烯醚和中药红花甲醇提取物。以上述样品为研究对象, 对所构建的二维液相色谱的有效性进行了系统的研究。结果显示(图1), 本工作所构建的二维系统可以在不损失分离能力前提下, 很好的克服正相x反相二维色谱系统的溶剂不兼容问题, 充分发挥出了正相x反相二维系统的分离潜力, 为富含中低极性组分的复杂样品研究提供了一种高效分离工具。

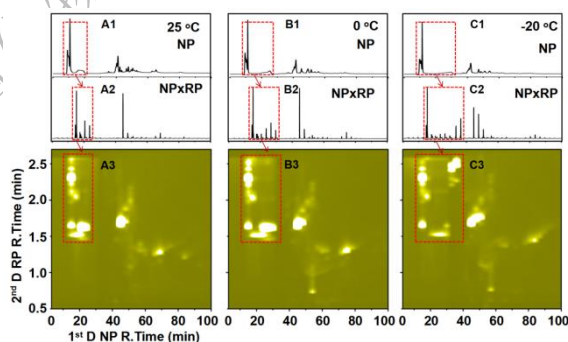


图 1. 采用水相兼容正相 x 反相全二维液相色谱分离中药红花甲醇提取物

参考文献:

1. K. Ding, X. Yuan, W. Hua, C. Duan, Y. Guan, *J. Chromatogr. A*, **2010**, 1217, 5477-5483.
2. P. Dugo, O. Favoino, R. Luppino, G. Dugo, L. Mondello, *Anal. Chem.*, **2004**, 76, 2525-2530.
3. Y. Wei, T. Lan, T. Tang, L. Zhang, F. Wang, T. Li, Y. Du, W. Zhang, *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216, 7466-7471.
4. Y. Chen, L. Montero, O.J. Schmitz, *Trac-trend Anal. Chem.*, **2019**, 120, 115647.

智能材料在糖肽富集与分离中的应用

熊雨婷^{1,2}, 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

²东华理工大学, 江西省南昌市经开区广兰大道 418 号, 330013

E-mail: qinggy@dicp.ac.cn

蛋白质糖基化广泛地存在于生命体中, 不仅影响蛋白质的稳定和活性, 而且在众多的细胞过程如细胞黏附和信号传导中起着至关重要的作用。更重要的是, 蛋白质糖基化程度及糖链结构的异常变化会是癌症及其他疾病发生的标志。然而, 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糖肽富集和分离的难题, 推动糖蛋白组学的全面发展。

生命过程活动中参与生物识别的“糖-蛋白质”以及“糖-糖”体系中常见的氢键作用, 为开发功能识别单体提供了有益的启示。研究团队将糖作为功能单元, 开发了基于糖-糖间多重氢键的识别体系, 构筑了一系列糖响应性聚合物材料。以单糖(阿洛糖)作为功能单体接枝到柔性聚合物主链所构筑的聚合物材料具有优秀的构象可控转变特性, 能够从复杂蛋白样品和 HeLa 细胞的酶解液中富集大量的唾液酸糖肽(图 a)^[1]。以乳糖为功能单体构筑的聚合物材料能够对结构相似的唾液酸糖肽进行分离(图 b)^[2]。进一步, 采用糖识别单元+介导单元+柔性主链的三元设计思想, 构筑的聚合物薄膜能够借助材料表面宏观性质的转变实现对唾液酸的特异性检测和富集分离(图 c)^[3]。

另外, 研究团队还利用席夫碱材料的动态共价化学键的可逆断裂特性实现高效的糖肽富集分离。这种新型席夫碱材料易于发生水解, 其水解部分与唾液酸糖链形成稳定的复合物(图 d), 同时水解脱落的部分发生自组装进而促进复合物的形成。该材料对唾液酸糖肽展现出异常优异的富集选择性、高吸附容量和高回收率, 达到了血清中唾液酸糖肽富集材料的最高水平^[4]。

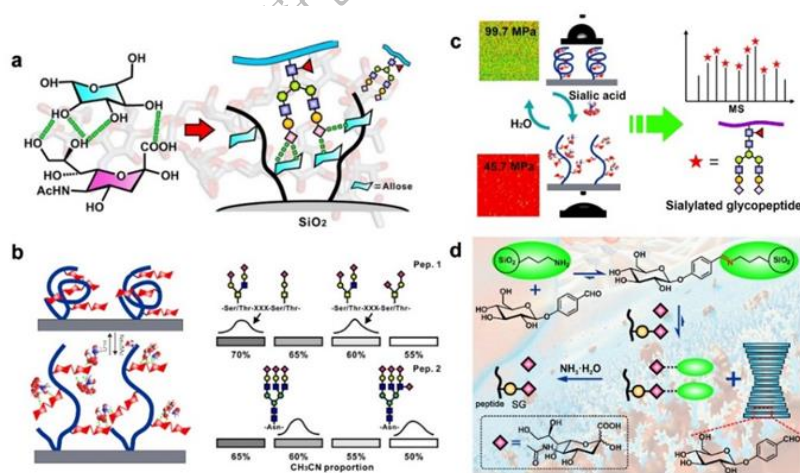


图 智能材料在糖肽的富集与分离中的应用

1. X. Li, Y. Xiong, G. Qing, G. Jiang, X. Li, T. Sun, X. Liang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, 8, 13294-13302.
2. Y. Xiong, G. Jiang, M. Li, G. Qing, X. Li, X. Liang, T. Sun, *Sci. Rep.* **2017**, 7, 40913.
3. Y. Xiong, M. Li, H. Wang, G. Qing, T. Sun. *Appl. Surf. Sci.* **2018**, 427, 1152-1164.
4. Y. Xiong, X. Li, M. Li, H. Qin, C. Chen, D. Wang, X. Wang, X. Zheng, Y. Liu, X. Liang, G. Qing. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 7627-7637.

色质联用赋能云茯苓资源开发利用

张美*, 杨宇, 黄兴琳, 江忠敏, 杨培, 杨兴鑫, 俞捷

云南中医药大学

通讯联系人 E-mail: meizhang213@163.com

云茯苓作为传统的补益类中药材, 是我国重要食药同用资源, 素有“十药九茯苓”之说, 在中医临床配方使用频度仅次于甘草, 居第二, 具有利水渗湿、健脾、宁心之功效。茯苓作为云南省的道地药材之一, 是云南省中药材产业“十四五”规划发展中重要的“云药”品种, 具有广泛的临床应用基础及良好的深入开发前景。目前云茯苓栽培需大规模砍伐松树, 种植成本高, 破坏生态; 且其质量评价缺乏, 在 2020 版中国药典中, 茯苓尚无[含量测定]项, 也无专属性高的质量评价成分及方法; 同时云茯苓的功效及物质基础研究也不够深入, 制约其产业开发应用。以上因素均严重制约了该药材的开发与应用。课题组以云茯苓为研究对象, 借助色谱-质谱联用技术等手段, 围绕替代松木种植技术开发、质量评价和药效物质研究, 开发茯苓替代松木种植代料、创建了茯苓的指纹图谱及多组分含量的一测多评方法, 实现茯苓“真伪-一致性-含量”整体控制、采用谱-效关联分析技术, 筛选出了含药血清中云茯苓调节脂代谢紊乱质量标志物, 并通过体外和体内实验探究云茯苓质量标志物对调节脂代谢紊乱的药效活性等工作。研究为科学评价云茯苓药材质量及茯苓资源的开发利用提供了科学依据。

参考文献:

1. 杨宇. 茯苓质量评价及其醇提物调节脂代谢紊乱的质量标志物研究[D]. 昆明: 云南中医药大学, 2023.
2. Yang Yu†, Huang Xing-Lin†, Jiang Zhong-Min, Li Xue-Fang, Qi Yan, Yu Jie*, Yang Xing-Xin*, Zhang Mei*. Quantification of Chemical Groups and Quantitative HPLC Fingerprint of *Poria cocos* (Schw.) Wolf[J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6383. doi: 10.3390/molecules27196383.
3. Jinbiao He†, Yu Yang†, Fan Zhang, Yanjuan Li, Xiaosi Li, Xuemei Pu, Xudong He, Mei Zhang, Xinxing Yang, Qiuman Yu, Yan Qi*, Xuefang Li*, Jie Yu*. Effects of *Poria cocos* extract on metabolic dysfunction-associated fatty liver disease via the FXR/PPAR α -SREBPs pathway [J]. *Front. Pharmacol.* 13: 1007274. doi: 10.3389/fphar.2022.1007274.
4. 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
5. 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. *中草药*, 2020, 51(10): 2703-2717.
6. 孙宇飞, 甄晓宇, 刘天舒, 等. 基于“体外-体内”多维化学物质组关联网络的茯苓质量标志物发现及质量评价研究[J]. *中草药*, 2019, 50(19): 4562-4568.
7. 田双双, 刘晓谦, 冯伟红, 等. 基于特征图谱和多成分含量测定的茯苓质量评价研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 47(9): 1371-1380.
8. Yilin Zhang, Mengqi Wu, Jingrui Xi, Chen Pan, Zhizhen Xu, Wei Xia, Wenqing Zhang. Multiple-fingerprint analysis of *Poria cocos* polysaccharide by HPLC combined with chemometrics methods[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 198: 114012.

单体交换法制备共价有机骨架及其环境分离分析应用

钱海龙, 严秀平*

江南大学食品学院分析食品安全学研究所, 无锡, 214122

通讯联系人 E-mail: hlqian@jiangnan.edu.cn

共价有机骨架 (COFs) 是一类由有机单体通过共价键连接形成的具有周期性的多孔结晶有机聚合物, 凭借其优异的性能 COFs 已广泛的应用于气体存储、传感、催化和分离等领域¹。经典 COFs 是基于可逆共价键连接而成, 可逆共价键虽有助于有序结构的形成, 但也从根本上限制了其稳定性。除此之外, 由于氨基是席夫碱反应的反应基团之一, 因此氨基功能化 COFs 一直是难点。因此, 我们发展了单体交换制备了氨基功能化和酰胺功能化 COFs, 并成功将其应用于样品前处理和色谱等分离领域²⁻⁴。

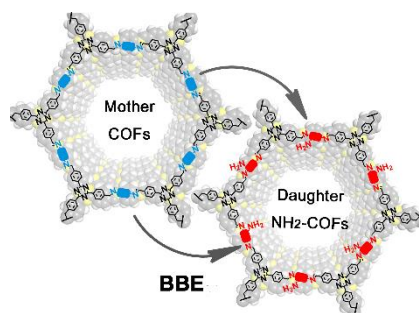


图. 1 单体交换法制备功能化 COFs 示意图

关键词: 共价有机骨架、单体交换、自下而上、样品前处理、色谱

本研究受国家自然科学基金 (No.22076066) 资助。

参考文献:

1. H.-L. Qian, Y. Wang, X.-P. Yan. Covalent organic frameworks for environmental analysis, *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, 2022, 147, 116516.
2. H.-L. Qian, Y. Li, X.-P. Yan. A building block exchange strategy for the rational fabrication of de novo unreachable amino-functionalized imine-linked covalent organic frameworks. *J. Mater. Chem. A*, 2018, 6: 17307-17311.
3. H.-L. Qian, F.-L. Meng, C.-X. Yang, X.-P. Yan. Irreversible amide-linked covalent organic framework for selective and ultrafast gold recovery. *Angew. Chem. Int. Edit.*, 2020, 59, 17607-17613.
4. H.-L. Qian, Z.-H. Wang, J. Yang and X.-P. Yan. Building-block exchange synthesis of amino-based three-dimensional covalent organic frameworks for gas chromatographic separation of isomers. *Chem. Commun.*, 2022, 58, 8133.

新型磁性固相萃取剂的制备及在食品和环境中的应用

王悦, 宋慧佳, 田雪蒙, 高瑞霞*
(西安交通大学化学学院, 西安, 710049)

E-mail: ruixiagao@xjtu.edu.cn

高效检测和去除复杂基质中的新型污染物是保障水质质量和食品安全的重要途径。然而, 环境水和食品的天然性和复杂性极大影响了样品分析的准确度。因此, 建立一种快速高效的分离分析方法显得尤为重要。磁性固相萃取技术是以磁性或可磁化的材料作为吸附剂基质的一种分散固相萃取技术。相较于传统的固相萃取吸附剂, 磁性固相萃取剂具有比表面积大、传质速率快、消耗溶剂少和平衡时间短等特点。但目前的磁性固相萃取剂存在功能基团数量有限、吸附位点种类单一、亲水性差和捕获率低的缺点, 使其常常不能满足实际需求。因此, 本课题组通过开发新型亲水性功能单体、设计新型轻质磁性结构、构建新型吸附位点、开发新型吸附策略, 制备具有高密度识别位点和高捕获率的新型磁性材料, 以其作为固相萃取剂, 建立了系列分离-分析/去除的新方法, 对环境水和食品中新型环境污染物的高效检测和去除的分析研究具有重要的科学意义和应用价值。

关键词: 磁性固相萃取剂; 环境保护; 食品安全; 新型污染物去除

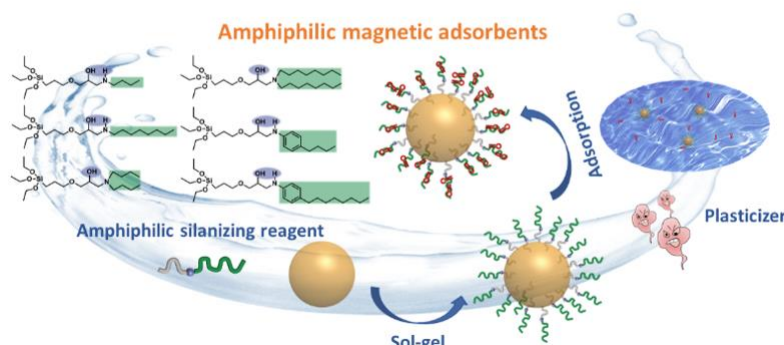


图 1. 两亲性磁性固相萃取剂的制备及在去除环境水中塑化剂中的应用

本研究受陕西省自然科学基金面上项目 (Nos. 2020JM-066, 2020JQ-019) 资助。

参考文献:

1. H. J. Song, H. P. Zhang, Y. L. He, R. X. Gao*, Y. Wang, W. T. Wang, L. D. Pfefferle, X. S. Tang*, Y. H. Tang, Novel bayberry-and-honeycomb-like magnetic surface molecularly imprinted polymers for the selective enrichment of rutin from *Sophora japonica*, *Food Chem.*, **2021**, 356, 129722.
2. Y. Wang, W. C. Zhao, R. X. Gao*, S. Hussain, Y. Hao*, J. H. Tian, S. H. Chen, Y. H. Feng, Y. B. Zhao, Y. Y. Qu, Preparation of lightweight daisy-like molecularly imprinted polymers *via* etching synergized template immobilization for enhanced rapid detection of trace 17 β -estradiol, *J. Hazard. Mater.*, **2022**, 424, 127216.
3. Y. Hao, Y. Gao, L. Y. Gao, Y. L. He, Y. Y. Niu, S. Hussain, R. X. Gao*, L. D. Pfefferle, M. Shahid, S. C. Wang*, Amphiphilic core-shell magnetic adsorbents for efficient removal and detection of phthalate esters, *Chem. Eng. J.*, **2021**, 423, 129817.

功能化磁性富集材料的构建及其在痕量污染物分析中的应用研究

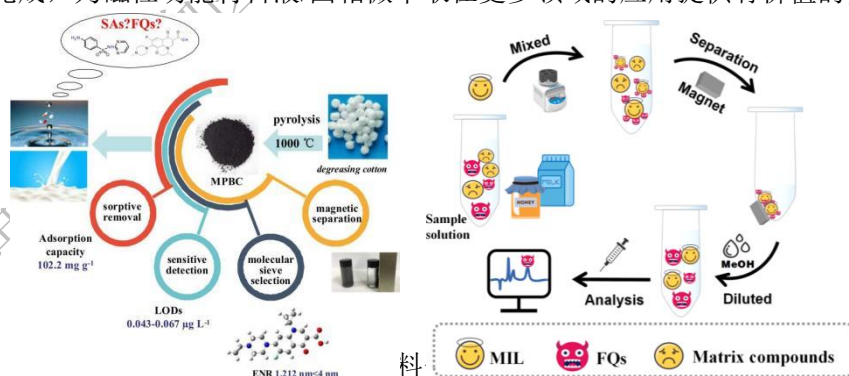
许旭*, 高佳欣, 冉敏, 张蕾*

辽宁大学化学学院, 沈阳, 110036

通讯联系人 E-mail: xuxulun@126.com; zhanglei63@126.com

近年来, 随着物质生活水平不断提高, 食品安全、环境污染与药物健康问题备受关注, 发展快速高效、高选择性、高通量、环境友好的痕量有机污染物检测方法对于加强食品、环境、与药物安全监控具有重要意义。微萃取样品前处理技术是近年来发展起来的一种微型化样品前处理方法, 集萃取、富集、净化于一体, 具有更小的介质体积, 更高的萃取效率, 能够为食品样品检测节约大量的萃取时间, 与此同时, 其还具有便于携带、操作简单等优点, 被广泛应用于食品及环境样品检测现场。在这一领域, 不断创新传统萃取技术的存在与发展萃取/吸附材料是主要的研究方向。

课题组基于磁性纳米碳材料和磁性离子液体这两类新型的功能化磁性富集材料, 结合分散固/液相微萃取-高效液相色谱法建立环境和食品等样品中痕量有机污染物残留分析新方法(图1)。一方面, 围绕新型碳基固相萃取剂的构建, 从形貌调控和组分掺杂前提出发, 设计并成功制备了多种新型三维多孔碳基吸附材料, 包括磁性多孔生物炭材料、磁性多孔碳球、多功能中空花状磁性碳材料等, 并对多种实际样品中的痕量抗生素、非甾体抗炎药等进行高效分离和富集, 并结合高效液相色谱对其进行高灵敏检测^[1-3]。另一方面, 设计合成一系列色谱性能优异的疏水性钴阴离子磁性离子液体萃取剂, 通过对磁性离子液体阳离子苄基功能化(对乙酰苯基、苯基、甲基), 实现多种有机污染物(雌激素、生物胺、氟喹诺酮类抗生素)的选择性萃取富集, 结合高效液相色谱法建立牛奶、葡萄酒、啤酒等食品样品中多种雌激素、生物胺、氟喹诺酮类抗生素的简便、快速、高效、灵敏的分析新方法^[4-6]。通过磁性纳米碳材料和磁性离子液体这两类新型的功能化富集材料, 实现目标物的萃取、净化、富集一步完成, 为磁性功能材料液/固相微萃取在更多领域的应用提供有价值的参考和依据。



参考文献:

1. X. Xu*, J. Gao, D. Cao, X. Li, X. Zhao, S. Yue, L. Zhang*, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1667, 462882.
2. X. Xu*, J. Gao, D. Cao, X. Liu, M. Ma, L. Zhang*, *J. Environ. Chem. Eng.*, **2022**, 10, 108377.
3. X. Xu*, X. Feng, Z. Liu, S. Xue, L. Zhang*, *Microchim. Acta*, **2021**, 188, 52.
4. X. Xu*, J. Gao, Y. Zhang, L. Zhang*, *Food Chem.*, **2023**, 404, 134654.
5. D. Cao, X. Xu*, X. Feng, L. Zhang*, *Food Chem.*, **2020**, 333, 127518.
6. X. Feng, X. Xu*, Z. Liu, S. Xue, L. Zhang*, *Talanta*, **2020**, 209, 120542.

智能与混合模式色谱固定相研究

王路军^{1*}, 夏之宁^{1,2*}¹西南医科大学药学院, 泸州, 646000²重庆大学药学院, 重庆, 400000

*E-mail: wlj@swmu.edu.cn

手性物质是与生命体密不可分的一类物质, 构成生命体的蛋白质、核酸、多糖以及酶等生物大分子都具有手性。目前上市的药物多具有手性, 当消旋体药物进入生命体时, 手性药物将会与大分子手性靶点发生选择性作用, 因此外消旋体药物通常只有一种对映体具有药效, 而其镜像对映体没有药效, 甚至会产生毒副作用^[1,2]。除了手性药物外, 氨基酸以及生物蛋白等物质也多具有手性。但是目前手性物质分离与分析技术还存在一定的局限性。因此, 如何实现手性物质分离分析是色谱领域的重要研究方向之一。

近期作者将智能响应材料与传统手性拆分剂结合制备了一系列智能手性固定相, 另也致力于将新材料(包括多孔材料, 离子液体等)与传统手性拆分剂结合制备了一系列混合模式手性固定相, 部分结果图1所示, 相关方面的研究推动了手性固定相的发展, 为制药工厂中手性药物等的开发提供了重要的工具。

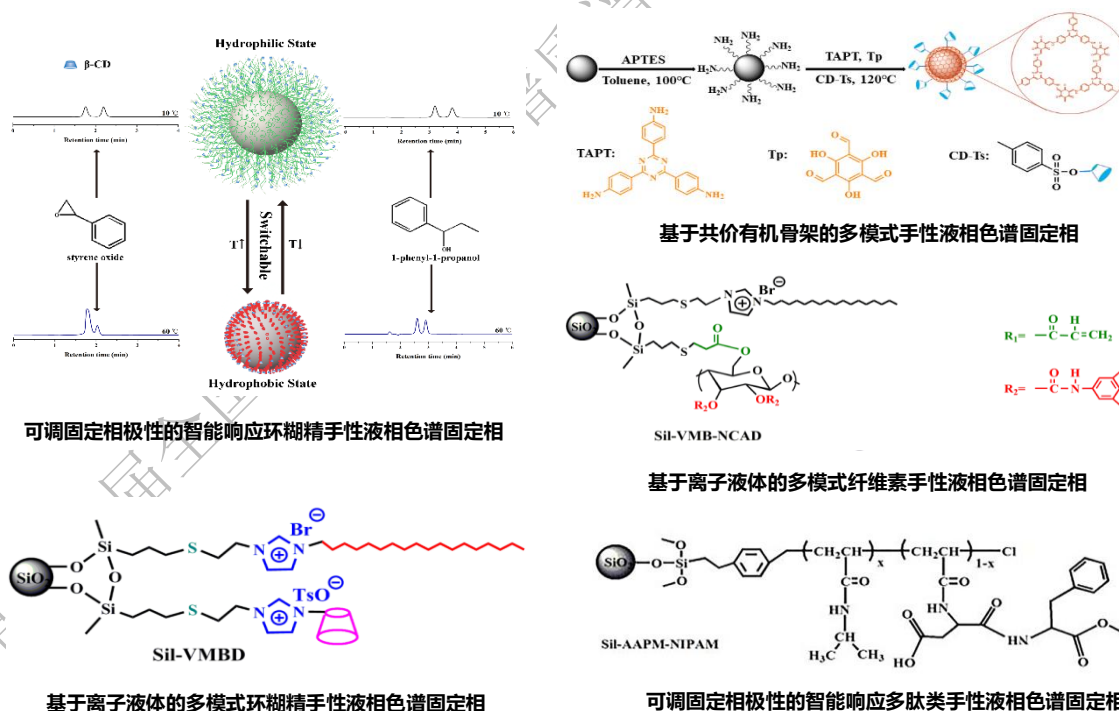


图1 近期合成的新型手性固定相

关键词: 手性分离; 手性固定相; 智能响应材料; 多孔材料

主要参考文献

[1] Wang, L.; Gao, W.; Ng, S.; Pumera, M.*, *Anal. Chem.* **2021**, *93*, 5277-5283.[2] Wang, L.; Pumera M.*, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **2021**, *135*, 116151.

气相色谱-离子迁移谱联用技术及在食品环境领域的若干应用

高婧娴

海能未来技术集团股份有限公司

通讯联系人 E-mail: gaojx@hanon.cc

摘要

离子迁移谱 (IMS) 技术最早在 1970 年以等离子体色谱的形式出现, 也被称为气体电泳。IMS 在电离源作用下对样品分子电离, 根据离子在漂移管中迁移率的差异进行分离检测。IMS 最突出的优点是可以在大气压下电离分析物, 且检测限低至 ng/L。它最早应用于化学战剂、毒品和爆炸物的分析中。IMS 检测速度非常快 (ms 级), 灵敏度高 (ppb 级别) 但对于分子结构比较相近的物质, 仪器分离度较差, 这一特点限制了离子迁移谱的应用。气相色谱 (GC) 对物质具有良好的分离效果, 将 GC 与 IMS 两种技术联用, 使 GC-IMS 既拥有了 GC 的高分离度, 又结合了 IMS 的高灵敏度, 非常适合用于复杂基质中痕量挥发性有机物的检测。待测样品进入仪器后, 先经过气相色谱快速分离, 然后通过离子迁移谱进行二次分离, 最终到达检测器从而被检出, 实现物质的定性和定量分析。

目前, GC-IMS 技术近年来受到越来越多研究人员的关注, 在食品风味分析、农产品安全分析、环境监测等领域开展了多项研究。在食品风味分析领域¹, GC-IMS 技术可被用于食品、农产品的等级区分, 如橄榄油品质分级²等; 在农产品安全分析领域³, 该技术可用于粮食霉变的早期筛查⁴等; 在环境监测领域, 可以用于厂界异味溯源、恶臭 VOCs 分析, 如红霉素工业发酵中恶臭挥发性化合物的分析⁵等。

参考文献:

- 1 Wang S, Chen H, Sun B. Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS). *Food Chem* **2020**; 315: 126158.
- 2 Rocío Garrido-Delgado, María del Mar Dobao-Prieto, Lourdes Arce, Miguel Valcárcel, Determination of volatile compounds by GC-IMS to assign the quality of virgin olive oil. *Food Chem*, **2015**, 187, 572-579.
- 3 Gu S, Zhang J, Wang J, Wang X, Du D. Recent development of HS-GC-IMS technology in rapid and non-destructive detection of quality and contamination in agri-food products. *TrAC - Trends Anal Chem*, **2021**; 144: 116435.
- 4 谷航, 陈通, 陈明杰, 陆道礼, 陈斌. 气相-离子迁移谱联用技术评定大米霉变程度的应用研究. *中国粮油学报*, **2019**.
- 5 Xiaofang Yang, Ruyuan Jiao, Xinmeng Zhu, Shan Zhao, Guiying Liao, Jianwei Yu, Dongsheng Wang. Profiling and characterization of odorous volatile compounds from the industrial fermentation of erythromycin. *Environmental Pollution*, **2019**, 255. Part 1: 113130-113130.

黄河上游石化工业区典型污染物的分离、分析方法研究

黄鹏飞, 茹婧, 王芳兵, 赵佳丽, 杨静, 王雪梅*

高原交汇区水资源安全与水环境保护教育部重点实验室, 兰州, 730070

甘肃省生物电化学与环境分析重点实验室, 兰州, 730070

西北师范大学化学化工学院, 兰州, 730070

E-mail: wangxuemei@nwnu.edu.cn

随着工业化进程的快速发展和产业结构的调整, 化学品数量急剧增长: 近两年增加了 4400 万种, 导致越来越多的污染物在环境介质中被检出, 给生态系统和人类健康带来了风险, 它们的治理也引起了政府的高度重视^[1]。2019 年 9 月, 黄河流域生态保护和高质量发展上升为国家战略, 2022 年 10 月, 《黄河保护法》颁布, 作为我国重要的生态屏障和经济地带, 黄河流域在我国经济社会发展和生态安全方面具有十分重要的地位, 因此, 有效控制工业源典型污染物排放是黄河污染控制的重要组成部分。黄河甘肃段矿产资源、石油、电力、化工等工矿企业多, 工业废水部分未经处理或只经一级处理便直接排入黄河, 是黄河干流污染相对严重的河段之一, 产生的典型污染物主要是持久性有机污染物 (Persistent organic pollutants, POPs) 和重金属, 因此, 进行黄河上游石化工业集中及周边区域 POPs 和重金属等典型污染物分离、分析方法的研究具有重要意义。

环境样品形态多样, 基质复杂, 种类繁多, 浓度水平低, 净化分离难度大, 要从复杂的环境样品中定性识别和定量分析这类痕量的化合物, 必须经过样品前处理 (分离), 以解决基质干扰大和新污染物异构体分离困难等关键技术瓶颈, 然后建立具有高选择性和高灵敏度的分析方法^[2]。本研究针对典型环境污染物样品前处理新技术的开发, 以高风险的 POPs 和重金属为研究对象, 靶向设计了一系列不同类型、选择性好且具有荧光、光热等多模式信号响应的智能化新型微纳米复合材料 (如介孔泡沫材料、石墨烯复合材料、分子印迹聚合物 (MIPs)、金属有机框架 (MOFs)、中空纳米微球 (HoMS)、离子印迹聚合物 (IIPs) 及共价有机框架 (COFs) 等), 基于高效的样品前处理技术 (纳米纤维膜萃取、螺旋固相微萃取、磁性固相萃取、毛细管整体柱等), 研究了环境和生物样品中新型 POPs 及重金属等典型环境污染物的萃取、吸附、分离与富集的机制, 开发和设计快速、经济、高灵敏和高选择性检测复杂基质样品中典型环境污染物的探针并建立准确、可靠的新型分析方法。

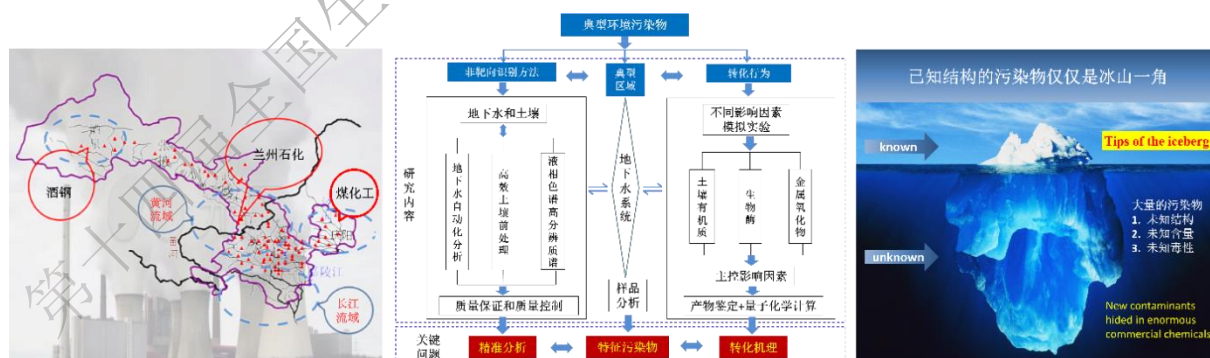


图1. 黄河上游石化工业区典型污染物的研究背景及路线

参考文献:

1. R. Jin, D. Bu, G. R. Liu, M. H. Zheng, G. Lammel, J. J. Fu, L. L. Yang, C. Li, A. Habib, Y. P. Yang, X. Y. Liu, *Environ. Int.*, **2020**, 137, 105574.
2. 江桂斌, 刘维屏, *环境化学前沿*, **2017** (第一版)。

分子印迹聚合物用于复杂样品中小分子化合物富集和检测研究

陈金明, 李祎乐, 金枝, 白春花, 马劲鸽, 张育珍*

西安医学院药学院, 西安, 710021

E-mail: yzzhang1993@163.com

本研究创新性的制备了一系列不同功能化的分子印迹聚合物, 用于选择性富集或检测复杂样品中小分子化合物。包括合成 pH 响应的磁性分子印迹聚合物用于蒲公英中咖啡酸富集与分析、共价有机骨架修饰的磁性分子印迹聚合物用于大叶千斤拔中染料木素富集与分析、荧光响应的分子印迹聚合物用于豆制品中染料木素的检测。

材料合成的方法: 首先制备磁性支撑材料, 随后以目标化合物为模板分子, 采用表面分子印迹方法, 合成能特异性吸附或检测目标化合物的分子印迹聚合物 (如 Fig.1)。并利用透射电子显微镜 (TEM)、傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)、热重分析法 (TGA)、振动样品磁强计 (VSM)、X-射线衍射 (XRD) 等表征证明材料制备成功且具有核壳球形结构、具有良好的热稳定性、均匀性、分散性及快速分离的磁响应性。接着, 在经过考察后得到的最优富集条件下将材料应用于实际样品的富集与分析, 验证结果表明方法均具有较好的灵敏度、准确度、精密度的。

本研究所提供的方法可以在分析过程中实现对目标分子的高选择性高灵敏度的快速提取富集和检测, 克服了传统样品前处理方法选择性不强、耗时以及浪费有机试剂等问题。本方法可满足对复杂样品中痕量化合物进行有效富集和快速检测的需要, 有助于建立并完善小分子化合物的分析方法体系。

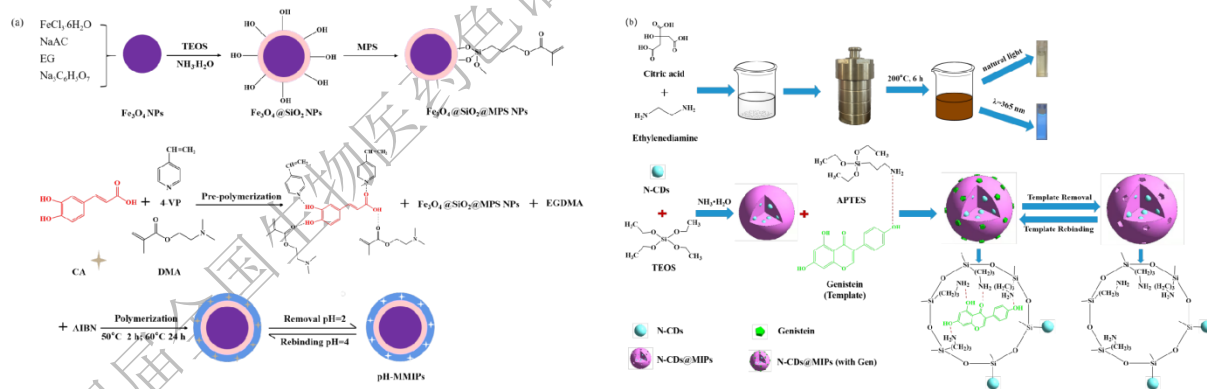


Fig. 1. The synthesis protocol of (a) pH-MMIPs and (b) N-CDs@MIPs.

参考文献:

1. Y.-Z. Zhang, B. Qin, C.-Y. Liu, *anal. chim. acta*, **2020**, 1096, 193-202.
2. Y.-Z. Zhang, B. Zhang, B. Qin, *food chem*, 2023, accepted.

介孔氢键有机框架材料用作气相色谱固定相研究

赵慧玲^{1,2}, 何珊², 张斌², 伍亚华², 汤波^{2*}

(土木与水利工程学院, 蚌埠学院, 蚌埠, 233000)

(食品与生物工程学院, 蚌埠学院, 蚌埠, 233000)

通讯联系人 E-mail: tb@bbc.edu.cn

氢键有机框架材料 (Hydrogen-bonded Organic Frameworks, HOFs) 是由有机或金属-有机构建单元通过氢键连接而成的一类晶态的多孔框架材料^[1]。与金属-有机框架材料 (MOFs)、共价-有机框架材料 (COFs) 相比, HOFs 具有制备条件温和、溶剂加工性能优越、易于再生等特点, 在气体分离、质子传导、异相催化等领域具有重要的研究价值^[2]。前期研究表明, 手性 HOFs 可作为气相色谱手性固定相用于手性拆分^[3]。

本文以介孔氢键有机框架材料(HOF-101)作为气相色谱的固定相, 并考察了其分离性能^[4]。结果表明, 该材料对正构烷烃混合物、正构醇混合物、脂肪酸甲酯混合物表现出良好的分离性能(如图1所示)。该研究表明, HOFs 极具作为气相色谱固定相的潜力。

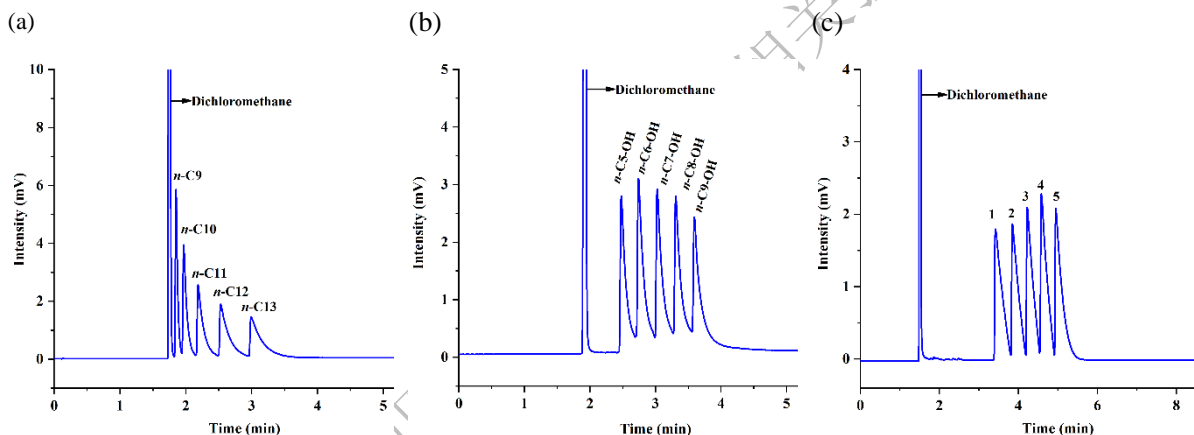


图1 HOF-101毛细管柱对混烷、混醇和甲酯化合物的拆分谱图。(a) 正构烷烃混合物(正壬烷~正十三烷); (b) 正构醇混合物(正戊醇~正壬醇); (c) 脂肪酸甲酯化合物(1-己酸甲酯, 2-庚酸甲酯, 3-辛酸甲酯, 4-壬酸甲酯, 5-癸酸甲酯)。

关键词: 氢键有机框架材料, 固定相, 气相色谱, 色谱分离

参考文献:

1. Lin, Z.-J.; Cao, R. Porous Hydrogen-Bonded Organic Frameworks (HOFs): Status and Challenges. *Acta Chim. Sin.* **2020**, *78*, 1309.
2. Luo, J.; Wang, J.-W.; Zhang, J.-H.; Lai, S.; Zhong, D.-C. Hydrogen-Bonded Organic Frameworks: Design, Structures and Potential Applications. *CrystEngComm* **2018**, *20*, 5884–5898.
3. Wang, W.; Zhang, Y.; Tang, B.; Hou, H.; Tang, S.; Luo, A. Chiral Hydrogen-Bonded Organic Frameworks Used as a Chiral Stationary Phase for Chiral Separation in Gas Chromatography. *J. Chromatogr. A* **2022**, *1675*, 463150.
4. Tang, Z.; Li, X.; Tong, L.; Yang, H.; Wu, J.; Zhang, X.; Song, T.; Huang, S.; Zhu, F.; Chen, G.; et al. A Biocatalytic Cascade in an Ultrastable Mesoporous Hydrogen-Bonded Organic Framework for Point-of-Care Biosensing. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 23608–23613.

4. 基金资助: 蚌埠学院高水平培育项目(No. 2021pyx01), 安徽省高校科研重点项目(2022AH051908)。

肿瘤相关膜蛋白双靶向协同多肽的设计、亲和筛选与细胞相互作用分析

高涵, 黄嫣嫣*, 徐坤, 金钰龙, 赵睿*

中国科学院化学研究所, 中国科学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

肿瘤相关膜蛋白在疾病发生发展、迁移和转移中发挥主要作用, 是靶向检测、治疗和疾病分子机制研究关键靶标。针对新型、具有重要生物功能的膜蛋白, 构建高亲和力、高选择性的亲和识别分子, 进而在分子水平建立靶向分离检测新方法, 对于恶性肿瘤的早期筛查、转移预警与膜蛋白功能研究具有重要意义。溶酶体四次穿膜蛋白 LAPT_{M4B} 参与细胞恶性转化、增殖失控、迁移和侵袭增强等多条信号通路, 是理想的分子靶标。然而, 作为多次跨膜蛋白, LAPT_{M4B} 结构解析困难, 所处的生物环境复杂, 给亲和识别分子的设计筛选和分析应用带来了巨大的挑战。

从自然界存在的多价协同相互作用原理出发, 开展了四次跨膜蛋白 LAPT_{M4B} 多位点靶向亲和多肽的设计、筛选与活细胞分析研究。针对 LAPT_{M4B} 作为多次跨膜蛋白无晶体结构的问题, 利用计算机模拟, 预测分析并计算了两个胞外区的空间距离和构象。基于此, 选择特异性识别胞外亲水结构域的多肽为单靶向元件, 采用不同长度的聚乙二醇链作为间隔手臂, 通过 Click 反应设计合成了双靶向亲和多肽候选库。建立了基于流式细胞术和荧光偏振的多肽亲和筛选方法, 研究了不同多肽共价组装方法对多肽-蛋白、多肽-细胞相互作用亲和力和选择性的影响。结果显示, 由两个十肽元件组装得到的亲和肽实现了亲和力的数量级提升, 与 LAPT_{M4B} 靶蛋白的结合力达到了 49 nM (K_D)。分子对接模拟分析显示, 协同多肽通过精氨酸等多个残基与靶蛋白胞外区形成氢键等多种非共价作用, 实现了多位点空间互补和弱键作用力的协同效应。以所构建的协同多肽为亲和探针, 建立了活细胞中 LAPT_{M4B} 蛋白高选择性原位分析检测新方法, 在低浓度下实现了靶标蛋白的高灵敏检测和示踪。进一步利用协同多肽对两个胞外区的位点特异性结合, 开展了细胞膜界面上 LAPT_{M4B} 蛋白介导的细胞-胞外基质、细胞-细胞间相互作用分析。发现并解析了多肽对 LAPT_{M4B} 蛋白在细胞伪足等微纳结构的招募与锚定作用, 进而发展了基于多肽协同识别的肿瘤细胞迁移抑制分析新方法, 为四次跨膜蛋白 LAPT_{M4B} 的分子机制研究和肿瘤迁移转移的分析检测提供了基础。

参考文献:

1. H. Zhong, C. Yuan, J. He, Y. Yu, Y. J., Y. Huang, R. Zhao, *Anal. Chem.*, **2021**, 93, 9778-9787.
2. Y. Zhu, Y. Huang, Y. Jin, S. Gui, R. Zhao, *Anal. Chem.*, **2019**, 91, 1880-1886.
3. J. He, S. Gui, Y. Huang, F. Hu, Y. J., Y. Yu, G. Zhang, D. Zhang, R. Zhao, *Chem. Commun.*, **2017**, 53, 11091-11094.
4. 感谢国家自然科学基金的资助.

ADAL toolkit 用于鉴定真核生物中 DNA N⁶-甲基腺嘌呤来源

梁子钰, 赖玮毅, 李瑶, 汪海林*

(中国科学院生态环境研究中心, 北京, 100085)

通讯联系人 E-mail: hlwang@rcees.ac.cn

DNA N⁶-甲基腺嘌呤 (DNA N⁶-methyladenine, 6mdA) 是原核生物中具有代表性的 DNA 表观遗传修饰之一¹, 近年来也在许多真核生物中被检测到。除了依赖于甲基转移酶生成的 6mdA (post-replicative 6mdA, pr6mdA) 之外^{2,3}, 研究者们还发现了起源于核酸挽救途径过程中错误掺入 DNA 的 6mdA (misincorporated 6mdA, i6mdA)^{4,5}。由于这两种来源的 6mdA 化学结构相同, 目前仍然没有简单可靠的方法来对它们进行区分。为此, 我们首次构建了包括 ADAL (adenosine deaminase-like) 蛋白及其突变体在内的 ADAL toolkit, 用于鉴定真核生物中 6mdA 的起源。ADAL 是一种能够特异性催化 N⁶-甲基腺苷单磷酸 (N⁶-methyl-adenosine 5'-monophosphate, m6rAMP) 和 N⁶-甲基脱氧腺苷单磷酸 (N⁶-methyl-2'-deoxyadenosine 5'-monophosphate, 6mdAMP) 反应分别生成肌苷单磷酸 (inosine 5'-monophosphate, IMP) 和脱氧肌苷单磷酸 (2'-deoxyinosine 5'-monophosphate) 的 ADA 家族蛋白⁶。过表达野生型 ADAL 可以消除 RNA N⁶-甲基腺苷代谢产生的 i6mdA, 但不会阻碍大肠杆菌腺苷甲基转移酶 Dam 介导的 pr6mdA 生成。与之相对的是, 过表达 ADAL 突变体对这两种 6mdA 的产生均无影响。通过这种方法, 我们鉴定了 NIH3T3, C2C12 和 MEL 细胞中存在的 i6mdA。此外, 我们观察到伴随红系分化过程增加的 6mdA 大部分来源于核酸挽救途径错误掺入。总的来说, 本研究为增进我们对不同类型 6mdA 的理解提供了强有力的手段。

参考文献:

1. Vanyushin, B. F.; Belozersky, A. N.; Kokurina, N. A.; Kadirova, D. X. *Nature*, **1968**, 218, 1066–1067.
2. Zhang, G.; Huang, H.; Liu, D.; Cheng, Y.; Liu, X.; Zhang, W.; Yin, R.; Zhang, D.; Zhang, P.; Liu, J.; Li, C.; Liu, B.; Luo, Y.; Zhu, Y.; Zhang, N.; He, S.; He, C.; Wang, H.; Chen, D. *Cell*, **2015**, 161, 893–906.
3. Kweon, S. M.; Chen, Y.; Moon, E.; Kvederaviciute, K.; Klimasauskas, S.; Feldman, D. E. *Mol. Cell*, **2019**, 74, 1138–1147.e6.
4. Musheev, M. U.; Baumgärtner, A.; Krebs, L.; Niehrs, C. *Nat. Chem. Biol.*, **2020**, 16, 630–634.
5. Liu, X.; Lai, W.; Li, Y.; Chen, S.; Liu, B.; Zhang, N.; Mo, J.; Lyu, C.; Zheng, J.; Du, Y. R.; Jiang, G.; Xu, G. L.; Wang, H. *Cell Res.*, **2021**, 31, 94–97.
6. Schinkmanová, M.; Votruba, I.; Holý, A. *Biochem. Pharmacol.*, **2006**, 71, 1370–1376.

手性球形共价有机骨架用于高效液相色谱分离

刘诚, 陆燕瑞, 朱玉兰, 冉晓燕, 王帮进、章俊辉, 谢生明*, 袁黎明
云南师范大学化学化工学院

谢生明* E-mail: xieshengming_2006@163.com

手性共价有机骨架 (CCOFs) 因其独特的性质而成为近年来的研究热点, 尤其在色谱领域中的应用。由于 CCOFs 具有密度低、形状不规则、粒径分布不均匀等特点, 直接使用 CCOFs 材料作为 HPLC 手性固定性相, 将导致色谱柱制备困难且柱背压高、柱效低、色谱峰形状不理想等问题, 严重制约了 CCOFs 在 HPLC 中的应用。为了克服上述问题, 本课题组通过利用原位生长法将球形 COF (TPB-Dva SCOF) 生长在 SiO₂ 微球表面合成 TPB-Dva SCOF@SiO₂ 核壳微球复合材料。然后, 借助巯基-烯点击化学反应在 TPB-Dva SCOF@SiO₂ 核壳微球复合材料上修饰手性功能基团制备了手性核壳微球复合材料 CTPB-Dva SCOF@SiO₂。与纯材料 CTPB-Dva SCOF 相比, CTPB-Dva SCOF@SiO₂ 核壳微球复合材料易于制柱, 制备的色谱柱柱背压小, 并且该柱表现出了更高的柱效和分离效果。实验结果显示, 酮类、嗪类、烷烃类、醇类和酯类等多种类型的手性化合物在该手性柱上得到了较好的分离。

参考文献:

1. H.L. Qian, C.X. Yang, X.P. Yan, *Nat. Commun.*, **2016**, 7, 12104.
2. X. Kang, L.J. Liu, Y. Cui, *Chem. Sci.*, **2022**, 13, 9811-9832.
3. C. Yuan, L.M. Yuan, Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 891-900.
4. W.D. Ma, Z.A. Lin, L. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141, 18271-18277.
5. G.X. Wang, S.Y. Ding, X.G. Chen, *J. Membrane Sci.*, **2022**, 652, 120494.
6. Y.Y. Yu, S.M. Xie, L.M. Yuan, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2020**, 12, 16903-16911.
7. P. Jin, X.Y. Niu, X.G. Chen, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2020**, 12, 20414-20422.
8. Y. Wang, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 4961-4969.
9. Y. Liu, X. Wei, H.D. Qiu, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 5970-5979.
10. Q. Zheng, J. Liu, Z.A. Lin, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 18067-18073.

基于靶式电泳分离富集微纳颗粒新策略

刘璐¹, 杨瑞琳³, 陈鹏³, 李东浩^{2,3*}

¹延边大学, 医学院, 病理学与病理生理学 ²延边大学, 理学院, 化学系; ³延边大学, 融合学院, 生物功能分子学, 延吉, 133001

通讯联系人 [E-mail: dhli@ybu.edu.cn](mailto:dhli@ybu.edu.cn)

摘要: 微纳尺度物质如外泌体的精准分离是当今生命科学研究中的关键前沿问题。由于微纳尺度物质具有生物学异质性, 并与多种生物学功能密切相关, 如何实现外泌体等微纳尺度物质的无损、高效、在线分离制备仍是亟待解决的关键科学问题和技术难点, 研发新型分离富集技术探究其在体内的“量”“效”关系迫在眉睫。小到电子云排布, 大到宇宙天体, 所有物质在引力场的作用下以特定的能量在特定轨道上进行圆心运动而形成圆形排布, 从而最终形成“靶式”分布。因此高效利用圆形稳定性等特征, 利用不同半径圆环大小实现不同物质的分离浓缩可能是一种有效方案。基于此灵感, 本论文基于传统电泳技术理念及微纳尺度物质的物化性质, 结合材料化学、电化学、微流控学等技术, 首次提出在非均匀电场下的“靶式”电泳微分离系列创新技术, 主要研究内容如下: (1) 基于微纳尺度物质的表面物理化学性质, 结合材料化学、电化学、微流控学等技术, 独辟蹊径提出微颗粒的靶式毛细管电场流分离新策略。在电场的作用下, 微纳尺度物质在靶式电泳的作用下因尺寸及电荷差异形成“靶式分布”得到预分离; 在流动场的作用下, 因层流速度差异形成“锥形排列”得到初步分离; 类似物质在横向电场及流动场共同作用下, 通过反复多次吸附-脱附过程, 进一步得到精准、完全分离。该创新方法提出“靶式分布、锥形排列、色谱分离”理论, 实现电泳技术、色谱技术、场流动分离技术三位一体化。(2) 构建靶式凝胶电泳技术, 提出纳米尺度物质“靶式分布”分离体系, 通过控制电场线的类型实现电场的可控分区, 电场强度从外缘到中心呈指数增长, 通过调控电极相对位置调控电场线分布, 实现迁移区、加速区和浓缩区等分区可控, 实现微纳尺度物质的精确分离和高效浓缩一体化。本方法有望突破在血液和其他生物流体中分离纯化微纳尺度物质(如外泌体)的瓶颈, 将在分离和制备各种生物大分子(如DNA、RNA、外泌体、病毒等)精密分离和制备方面具有巨大潜力。

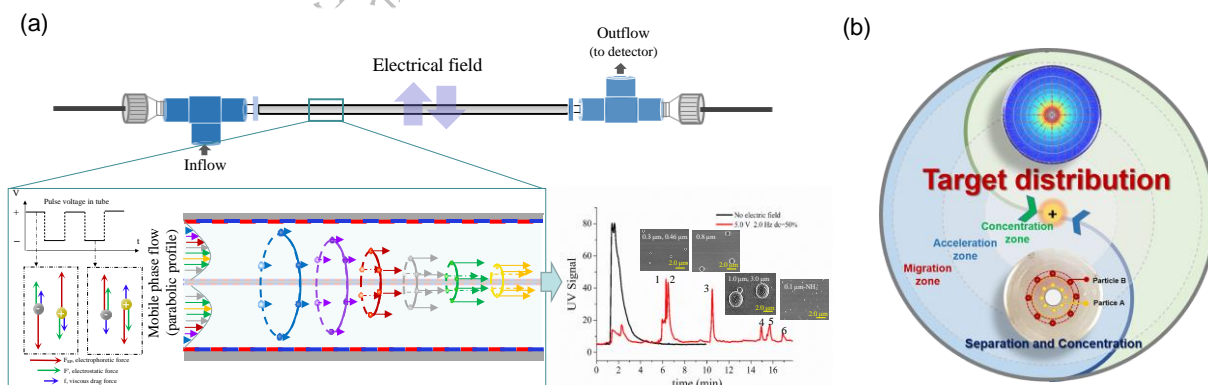


图 1. (a) 靶式毛细管电场流技术, (b) 靶式凝胶电泳技术。

参考文献:

1. L Liu, C Yang, C Liu, et al., *Lab on a Chip*, **2020**, 20: 3535.
2. L Liu, R Yang, J Cui, et al. *Analytical Chemistry*, **2022**, 94, 23, 8474.

资助项目: 本研究获得了国家自然科学基金委的项目支持 (No.21775134)

尺寸调控提高 MOFs 固定相的色谱分离能力

孟莎莎, 汤雯淇, 徐铭*, 古志远

南京师范大学, 江苏省南京市栖霞区文苑路 1 号, 210023

通讯联系人 E-mail: mingxu@njnu.edu.cn

金属有机骨架材料 (Metal-Organic Frameworks, MOFs) 作为气相色谱固定相受到广泛关注。虽然已经有多种 MOFs 固定相被报道, 但是设计高分离性能的 MOFs 固定相仍具有一定的挑战性。色谱峰展宽和拖尾是 MOFs 固定相在分离中的常见现象。当这些现象出现时, MOFs 固定相通常被判定为“不具备分离能力”或者“低分离性能”, 从而认为这些 MOFs 的结构不适合用于色谱分离。但是这一判定方法只考虑了分析物和 MOFs 固定相之间的热力学因素, 而忽略了分析物在固定相中的动力学因素。从动力学角度分析, 减小分析物在固定相中的传质阻力, 加快分析物的扩散, 有助于减小色谱峰展宽, 改善色谱峰拖尾现象。减小固定相颗粒尺寸是一种有效提高分析物在 MOFs 固定相中的动力学扩散的方法。较小的颗粒尺寸可以缩短分析物的扩散路程, 降低了扩散能垒。在本研究中, 我们合成了三种具有相同拓扑结构的 MOFs 固定相 (NU-1000、PCN-608 和 PCN-222)。通过改变合成时间、调节剂用量等, 我们成功将 MOFs 固定相的尺寸从微米级调控至纳米级。在烷烃和取代苯异构体的分离中, 纳米级 NU-1000、PCN-608 和 PCN-222 色谱柱的分离性能均优于各自的微米级 MOFs 色谱柱。分离机理研究表明, 减小固定相颗粒尺寸可以减小传质阻力, 加速分析物的动力学扩散, 从而提高分离性能。本研究为合成高性能 MOFs 固定相提供了新的设计思路。

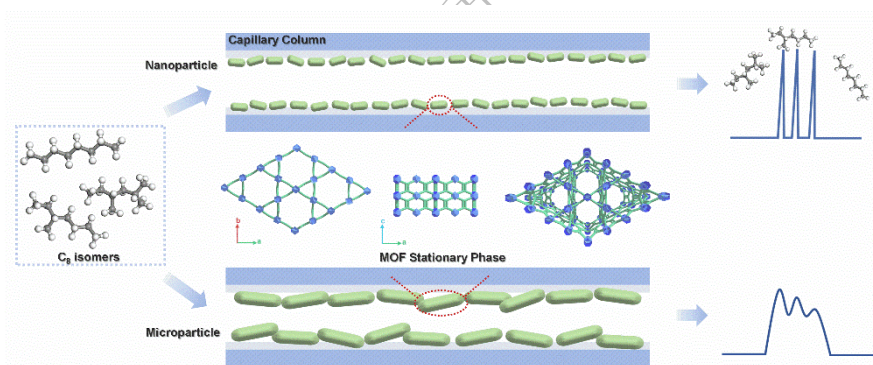


Fig. 1 Illustration of enhancing the separation abilities of “low-performance” MOF stationary phases by size control.

参考文献:

1. Meng S.-S., Han T., Gu Y.-H., Zeng C., Tang W.-Q., Xu M.*, Gu Z.-Y. *Anal. Chem.* **2022**, *94*, **41**, 14251-14256
2. Xu M., Meng S.-S., Cai P.-Y., Gu Y.-H., Yan T.-A., Yan T.-H., Zhang Q.-H., Gu L., Liu D.-H., Zhou H.-C.*, Gu Z.-Y.* *ACS Cent. Sci.* **2022**, *8*, **2**, 184-191
3. Tang, W.-Q.; Zhao, Y.-J.; Xu, M.; Xu, J.-Y.; Meng, S.-S.; Yin, Y.-D.; Zhang, Q.-H.; Gu, L.; Liu, D.-H.*; Gu, Z.-Y.* *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, *60*, 6920-6925
4. Tao, Z.-R.; Wu, J.-X.; Zhao, Y.-J.; Xu, M.; Tang, W.-Q.; Zhang, Q.-H.; Gu, L.; Liu, D.-H.; Gu, Z.-Y.* *Nat. Commun.*, 2019, *10*, 2911

Biothiols profiling at the single-cell level

Daiyu Miao, Yu Bai*, Huwei Liu

College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University

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

Single-cell analysis is the main approach to shed light on cellular heterogeneity¹⁻², which remains challenging due to the picoliter volume of single cells, complexity of biological systems and instability of specific molecules. As the major endogenous antioxidants, biothiols are closely related to redox homeostasis, molecular recognition, intracellular and intercellular communication, etc.³ However, low abundance and poor response of biothiols have posed great challenges to mass spectrometry-based analysis at the single-cell level. Herein, a novel single-cell biothiols profiling approach was proposed with the integration of living-cell chemical derivatization and mass spectrometry analysis. To assess concentrations of biothiols, four mercapto group-targeted probes were designed and synthesized. After derivatization, the sensitivities of biothiols increased by up to 949 folds. Besides, a novel mean for accurate sampling of nano- and pico-liter liquid was demonstrated both theoretically and experimentally. The microsampling platform and noncontacted electrospray mass spectrometry were established and optimized for single-cell sampling and detection. Further application in monitoring biothiols' changes under oxidative stress is now in progress.

This work was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (22125401 and 22074003) and National Key R&D Program of China (2022YFC3400700).

References:

1. Armbrecht, L.; Dittrich, P. S. *Anal. Chem.* **2017**, 89, 2-21.
2. Altschuler, S. J.; Wu, L. F. *Cell* **2010**, 141, 559-563.
3. Chen, H.; Tang, Y. H.; Lin, W. Y. *Trends Anal. Chem.* **2016**, 76, 166-181.

组织表面化学氧化辅助衍生化质谱成像新方法研究

王灵芝¹, 臧清策¹, 朱颖¹, 刘佳琳¹, 李新竹¹, 涂欣怡¹, 张瑞萍^{1,2*}, 再帕尔·阿不力孜^{1,2,3}

1 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所,天然药物生物活性物质与功能国家重点实验室,北京, 100050,中国

2 质谱成像与代谢组学国家民委重点实验室(中央民族大学) 北京 100081, 中国

3 中央民族大学生命与环境科学学院生物成像与系统生物学研究中心, 北京, 100081, 中国

通讯联系人 E-mail: rpzhang@imm.ac.cn

组织表面化学衍生化结合质谱成像是实现组织内低丰度和/或难电离代谢物可视化的有效方法¹。由于生物组织表面缺乏适宜的化学反应环境,目前组织表面的衍生化方法很有限。本文提出了化学氧化辅助衍生化的两步反应新思路,首先采用化学氧化剂将一级或二级羟基氧化为醛或酮,接着用吉拉德 P 试剂与醛或酮反应引入高质谱响应的官能团,采用前期建立的水凝胶衍生化试剂添加方式²,并结合空气动力辅助解吸电喷雾离子化质谱成像(AFADESI-MSI)技术,成功实现生物组织中多种含一级和二级羟基代谢物的可视化,并应用于糖尿病氧化脂质代谢紊乱的研究。

为了建立组织表面化学氧化方法,对氧化剂种类、浓度、氧化反应时间和温度等进行了考察,以代表性羟基代谢物的离子强度为评价指标并确定最优氧化条件为 48 mmol/L 的琼斯试剂水凝胶室温(25°C)处理 10min。本方法显著提高代表性羟基代谢物的质谱响应,检测灵敏度可以达到 nmol/mm²;通过考察排除了琼斯试剂可能带来的干扰,定性结果准确可靠;方法的日内精密度和日间精密度良好,相对标准偏差小于 15%,方法稳定、重现性好。采用本方法在正常 SD 大鼠脑、肾和肝组织中检测到 169 个含一级和二级羟基代谢物(羟基脂肪酸、脂肪醇和甾醇),进一步采用课题组建立的一步水凝胶衍生化方法²实现脂肪醛和氧化脂肪酸的可视化,成功原位表征了脂肪醇→脂肪醛→脂肪酸→羟基脂肪酸→氧化脂肪酸的关联。我们将本方法应用于 ZDF 糖尿病大鼠氧化脂质的分析,发现糖尿病引起羟基脂肪酸和脂肪醇的代谢失衡,羟基脂肪酸和脂肪醇的相关性明显下降,肝脏和肾脏组织中代谢物的负相关性分别增加了 402%和 251%,组织器官内代谢物相关性的降低进一步说明了糖尿病代谢稳态的失衡。本研究开发的化学氧化辅助衍生化新方法,通过两步反应间接实现含一级和二级羟基代谢物的质谱信号增强,方法实用高效、稳定可靠,为糖尿病病理机制研究和代谢靶点发现提供新的视角和新颖的可视化分析手段。

本研究得到国家自然科学基金项目(No. 82293684),北京高校卓越青年科学家计划项目(No. BJJWZYJH01201910023028),中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(No. 2021-I2M-1-028, 2022-I2M-2-002)资助。

关键词: 组织衍生化, 羟基代谢物, 质谱成像, 糖尿病

参考文献

1. Harkin, C.; Smith, K. W.; Cruickshank, F. L.; Logan Mackay, C.; Flinders, B.; Heeren, R. M. A.; Moore, T.; Brockbank, S.; Cobice, D. F. *Mass Spectrom. Rev.* **2022**, 41, 662–694.
2. Zang, Q.; Wang, M.; Zhu, Y.; Wang, L.; Luo, Z.; Li, X.; He, J.; Zhang, R.; Abliz, Z., *Anal. Chem.* **2021**, 93, 15373-15380.

High-throughput screening of SARS-CoV-2 fusion inhibitors using at-line nanofractionation platform

Jiaming Yuan¹, Jincai Wang¹, ZhiXu Chen¹, Zhizeng Gao², Ruin Moaddel³, Zhengjin Jiang^{1,*}

(¹Institute of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou, Guangdong, 510632, China, ²School of Marine Science, Sun Yat-sen University, Zhuhai, 519080, China, ³Biomedical Research Center, National Institute on Aging, National Institutes of Health, 251 Bayview Boulevard, Baltimore, Maryland, 21224, United States,

E-mail: jzjackson@hotmail.com)

Abstract: Given the raging pandemic of COVID-19, screening of specific drugs against SARS-CoV-2 infection is urgently needed. The conservation and low variability of the membrane fusion region of SARS-CoV-2 make it a promising drug target. In order to rapidly screen the bioactive compounds in traditional Chinese medicines, this study established an efficient method for the identification of potential SARS-CoV-2 fusion inhibitors via an at-line nanofractionation platform. Through a series of optimizations, the fluorescence polarization assay was used to determine the biological activity of fractions in 384-well microplates. The bioassay spectrum was drawn with the fluorescence polarization endpoint values, exhibiting an accurate and reliable result. The platform was applied to the high-throughput screening from natural products for the first time, including *Lonicera japonica* Thunb. and Lianhua Qingwen (LHQW) capsules. Semi-preparative liquid chromatography was further used to simplify the complex fractions, so as to better identify the co-eluted SARS-CoV-2 fusion inhibitors. Finally, 32 potential SARS-CoV-2 fusion inhibitors were screened out. The inhibitory mechanisms of some compounds were further elucidated by in vitro inhibition test, molecular docking technology and pseudonymous virus experiments.

Keywords: SARS-CoV-2 fusion inhibitors; Six-helix bundle (6-HB); High-throughput screening; At-line nano-fractionation; Lianhua Qingwen (LHQW) capsules; *Lonicera japonica* Thunb.

纸喷雾质谱快速分析裸花紫珠

曾慧媚, 秦雨, 汤姗, 陈波, 马铭*

化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 植化单体开发与利用湖南省重点实验室,

湖南师范大学, 长沙, 中国, 410081

通讯联系人 E-mail: mingma@hunnu.edu.cn

裸花紫珠为马鞭草科植物裸花紫珠 (*Callicarpanudiflora* Hook.et Arn.) 的干燥叶, 具有消炎, 解肿毒, 化湿浊, 止血的功效, 主要用于细菌性感染引起炎症肿毒, 急性传染性肝炎, 内外伤出血等^[1]。其药效来源于紫珠属植物丰富的萜类、黄酮类、苯乙醇类等活性药物成分。目前, 最常用于裸花紫珠中化学成分定性或定量的技术是液相色谱或色谱-质谱联用, 但是这些方法通常需要较长的样品前处理和运行时间, 耗费试剂而且造成不必要的污染。纸喷雾电离作为一种新型的敞开式大气压电离技术, 不但具有常压电离技术的优点, 而且操作简单, 无需繁琐的预处理^[2]。

本文开发了一种纸喷雾质谱法, 对裸花紫珠药材中的几种重要成分进行定性分析。该方法采用 PS-MS² 技术, 将纸片用剪刀裁剪为三角形 (底部约为 4 mm, 高度约为 10 mm), 三角形尖端利用三维移动平台固定在距离质谱锥孔大约 5-10 mm 处, 在纸片上滴加 15 μ L 喷雾溶剂后, 提供高压 (3 kV), 雾化气流量 0.5 L/min, DL 温度 250 $^{\circ}$ C, 加热块 300 $^{\circ}$ C, 进行质谱分析。该方法可以快速测定裸花紫珠的主要成分。

关键词: 裸花紫珠, 敞开式质谱, 纸喷雾质谱

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 203-204.
- [2] Liu, J.; Wang, H.; Manicke, N. E.; Lin, J.-M.; Cooks, R. G.; Ouyang, Z. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 2463-2471.

ⁱ国家自然科学基金项目 (22276050, 22276049) 资助。

准石墨化碳修饰硅胶基质复合固定相的制备及其 CEC 性能研究

钟志华¹, 潘旖旎¹, 许森^{1,2}, 张凌怡¹, 张维冰^{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, 200237²上海化工研究院有限公司, 上海, 200062

*weibingzhang@ecust.edu.cn

随着科学技术的进步, 环境科学、生命科学等新兴领域所涉及的目标化合物种类日益繁多, 样品基质也愈加复杂, 对分离科学提出了更高的要求。新型功能材料的相继问世为特殊功能的分离介质的开发带来了新的契机。将功能新材料与传统分离材料基质结合形成相应的复合新材料, 不仅能够保留功能新材料的优异特性, 也能够保留传统基质材料固有的属性, 在改善传统分离介质的性能的同时还保证了新材料可以适用于传统的使用环境和方法策略, 拓宽诸多已有的经典研究方法的应用领域。石墨化碳材料作为一种近年来发展起来的新型材料, 具有优异的化学稳定性、宽的 pH 耐受范围和高吸附容量等诸多优点, 作为色谱固定相具有巨大的应用潜力。

本文以特殊选择的煤焦油沥青作为碳源, 将其涂覆到经十八烷胺疏水改性后的多孔硅胶表面, 在氮气氛围下 1000 °C 原位烧结 3 小时制备成准石墨化碳修饰的硅胶基质复合固定相 SiO₂@GCTP。新型固定相不但保留了硅胶基质比表面积高的优势 (188.9 m²/g), 同时在硅胶的外表面和孔内表面均包覆了一定厚度的碳材料, 其石墨化程度达到 37%。准石墨化碳涂层独特的平面结构和电子排布赋予了固定相特殊的分离选择性, 不仅能为非极性化合物提供超强的疏水和 π - π 相互作用, 同时对极性化合物也表现出优异的保留能力。在 SiO₂@GCTP 毛细管填充柱上, 核苷类、核酸碱基和咪唑类等强极性化合物均实现了良好的基线分离, 柱效高达 148000 塔板数/米(以尿嘧啶核苷的峰计算)。采用该毛细管填充柱也发展了多种农药的高效分离分析方法, 预示着其在复杂实际样品的分离分析方法发展方面中具有广阔的应用前景。

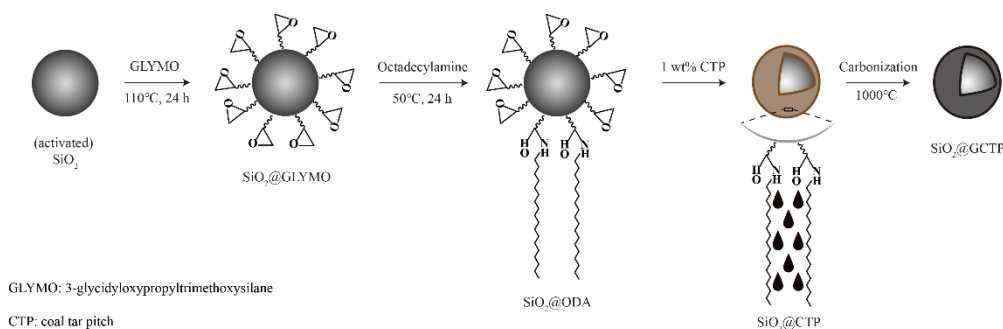


图 1. 准石墨化碳修饰的硅胶基质复合固定相的制备流程图

Figure 1. Scheme for the synthesis of quasi-graphitized carbon/silica composite

Fe₃O₄对生物碱类化合物的吸附特性研究

汤姗, 王颖, 陈波, 马铭*

化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 植化单体开发与利用湖南省重点实验室,

湖南师范大学, 长沙, 410081

E-mail: mingma@hunnu.edu.cn

生物碱是自然存在于生物体中的一类含氮的碱性有机化合物, 根据前体氨基酸类型可将生物碱分类。不同结构的生物碱性性质差别较大, 适用范围也不同, 生物碱在日常生活中发挥了巨大作用。目前分离纯化生物碱的方法, 普遍存在溶剂耗费大、操作繁琐、费时费力的缺点, 因此, 依据生物碱结构选择性的简单高效分离方法亟待开发。铁元素具有特殊的能级结构, 3d和4s空轨道, 使得铁离子易与含羧基、β-二酮和磷酸基团的配体生成配合物。四氧化三铁为磁性黑色晶体, 既有铁元素的优异性能, 又具有磁性方便分离纯化。Fe₃O₄在材料学、冶炼学中应用较多, 但将其作为吸附剂, 应用于选择性吸附分离生物碱的研究较少。

本文以胡椒碱、盐酸麻黄碱和秋水仙碱为研究对象, 研究了 Fe₃O₄ 对这三种碱的吸附情况。方法采用了 Dikma C18(2)色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水-乙腈, 等度洗脱, 体积流量 1 mL/min, 其中胡椒碱的等度洗脱比例水-乙腈为 23:77, 盐酸麻黄碱的等度洗脱比例水-乙腈为 25:75, 秋水仙碱的等度洗脱比例水-乙腈为 56:44, 柱温为 25 °C; 检测器为紫外检测器, 胡椒碱的检测波长为 342 nm, 盐酸麻黄碱的检测波长为 210 nm, 秋水仙碱的检测波长为 350 nm。研究结果表明, Fe₃O₄ 不可以吸附胡椒碱 (图 1), 但可以吸附盐酸麻黄碱和秋水仙碱, 并且盐酸麻黄碱不能解吸附下来 (图 2), 而秋水仙碱可以解吸附 (图 3), 体现了 Fe₃O₄ 对结构不同的生物碱具有选择性分离的作用。

关键词: 生物碱, Fe₃O₄, 吸附, 分离

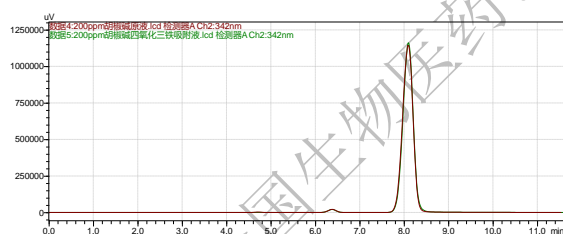


图 1

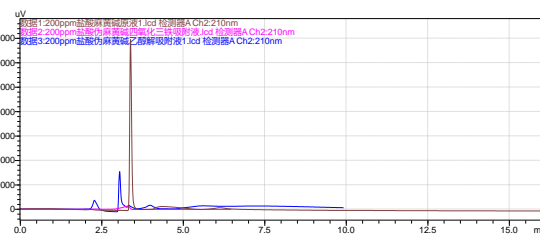


图 2

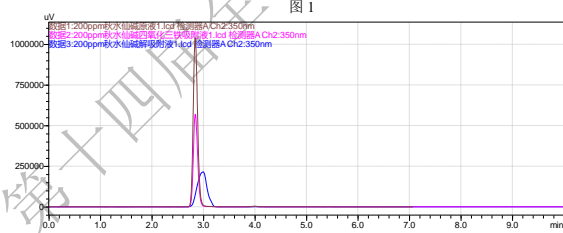


图 3

参考文献

1. Liu Y, Min K, Yang R, et al. Selective adsorption of triterpene acids on cerium oxide nanoparticles[J]. *Journal of chromatography. A*, 2022, 1674:463141.

¹ 国家自然科学基金项目 (22276050, 22276049) 资助。

基于主客体化学调控 MOF 纳米片堆积的气相色谱分离方法研究

汤雯淇, 孟莎莎, 徐铭, 古志远,*

南京师范大学, 南京, 210023

E-mail: guzhiyuan@njnu.edu.cn

正文: 金属有机骨架材料 (MOFs) 是一类由金属 (或金属簇) 和有机配体自组装形成的多孔材料。由于 MOFs 具有极高的孔隙率、较大的比表面积、良好的稳定性, 已被成功应用于吸附、分离、催化、荧光传感等领域。近年来, MOFs 色谱固定相展现出良好的异构体分离能力, 受到人们广泛关注。MOFs 的孔道结构具有高度可调性, 通过调控 MOFs 的层间堆积模式、更换不同的金属中心和有机配体, 有利于开发具有良好选择性的稳定 MOFs 色谱固定相, 从而有效提高气相色谱的分离选择性、灵敏度和可靠性。我们选用极性的客体分子 (甲苯、乙酸乙酯) 和非极性的一系列烷烃, 调控二维 Zr-BTB (BTB=1,3,5-(4-羧基苯基)-苯) 纳米片层间的堆积模式。极性较强的甲苯和乙酸乙酯分子与纳米片之间产生多重相互作用, 诱导纳米片层间形成具有一定角度的扭曲堆积。非极性的系列烷烃分子由于空间位阻, 倾向于插入纳米片孔内, 与纳米片之间产生较强的疏水相互作用占主导, 诱导纳米片层间规整堆积。规整堆积的纳米片形成均一、有序的规整纳米孔道, 可以高效分离多组取代苯异构体。扭曲堆积的纳米片则形成无序纳米孔道, 无异构体分离能力。

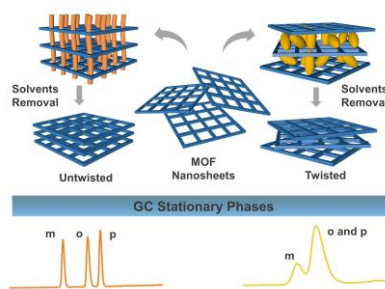


Figure 1. Guest molecules induced untwisted and twisted stacking of Zr-BTB nanosheets, which were applied in gas chromatography to separate isomers.

关键词: 金属有机骨架; 色谱分离; 固定相; MOF 纳米片堆积

参考文献:

- [1] Tang, W. Q.; Zhao, Y. J.; Xu, M.; Xu, J. Y.; Meng, S. S.; Yin, Y. D.; Zhang, Q. H.; Gu, Lin; Liu, Da-Huan; Gu, Zhi-Yuan G, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, *60*, 6920-6925
- [2] Xu, M.; Cai, P. Y.; Meng, S. S.; Yang, Y. H.; Zheng, D. S.; Zhang, Q. H.; Gu, L.; Zhou, H. C.; Gu, Z. Y., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, *61*(37), e202207786
- [3] Gu, Z. Y.; Yan, X. P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49* (8), 1477-1480
- [4] Tao, Z. R.; Wu, J. X.; Zhao, Y. J.; Xu, M.; Tang, W. Q.; Zhang, Q. H.; Gu, L.; Liu, D. H.; Gu, Z. Y., *Nat. Comm.*, **2019**, *10* (1), 2911

多模板印迹的介孔材料联用高效液相色谱同时选择性萃取和检测 中药中 5 种苯丙烯酸类化合物

邢荣荣*, 薛婷玉, 叶朋, 李皇锦, 周怡霏

山西医科大学药学院

E-mail: rongrongxing@sxmu.edu.cn

苯丙烯酸类化合物包含绿原酸、咖啡酸、对羟基肉桂酸、阿魏酸和肉桂酸等, 广泛存在于金银花、当归和蒲公英等中药中, 具有抗氧化、抗病毒、抗肿瘤和抗炎等多种药理活性^[1]。然而这些活性化合物通常含量低, 结构相似且不稳定, 同时中药中含有大量复杂多样的基质, 因此, 传统萃取方法很难将它们同时进行分离和富集。分子印迹技术^[2]是一种基于抗原-抗体相互作用原理的分子识别技术, 制得的分子印迹聚合物具有制备简单、成本低廉、可耐受各种恶劣环境、对模板分子高度选择等优点。近年来, 为了提高利用率, 缩短分析时间, 提出了多模板印迹策略^[3], 将多个目标化合物作为模板实现同时萃取多种目标化合物的目的。介孔材料^[4]具有高比表面积、规则有序的孔道结构和良好的化学稳定性, 在分离和吸附方面具有独特优势。因此我们以介孔材料为基体骨架, 以 5 种苯丙烯酸类化合物为模板, 合成了多模板印迹的介孔材料, 不仅对多种目标分析物具有特异性识别能力, 而且显著增加了目标化合物的吸附容量, 同时有效阻止了大分子化合物进入介孔内, 降低了杂质干扰, 与高效液相色谱联用可以实现中药中多种活性成分的分离分析, 在中药活性成分研究方面具有重要的应用价值。

参考文献:

1. R. R. Xing, T. Y. Xue, P. Ye, L. Yang, R. Q. Wang, X. Chen, S. Hu, *Anal. Methods*, **2022**, 14, 4931-4937.
2. R. R. Xing, Z. C. Guo, H. F. Lu, Q. Zhang, Z. Liu, *Sci. Bull.*, **2022**, 67, 278-287.
3. Y. Z. Xie, Q. Y. Li, L. L. Qin, X. B. Zhou, Y. M. Fan, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **2021**, 28, 54950-54959.
4. J. Z. Yao, N. R. Sun, C. H. Deng, *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2018**, 99, 88-100.

双相法制备核壳型 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 微球及其在快速分离分析中的应用

唐长伟, 杨小辉, 刘家玮, 白 泉*

西北大学化学与材料科学学院, 陕西省现代分离科学重点实验室, 西安, 710127

通讯联系人 E-mail: baiquan@nwu.edu.cn

径向孔型 SiO_2 核壳微球由于其较短的扩散路径和高度有序的孔结构, 使其理论踏板高度和分离效率均优于传统的堆积孔型 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 核壳微球^{1,2}。本研究在 Qu^3 的基础上利用双相法制备了平均孔径在 5 至 30 nm 范围内可调控的径向孔型 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 核壳微球, 并对双相法制备 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 核壳微球的制备工艺进行了放大实验。通过优化实验条件, 在 10 L 的反应釜中, 一次可制备 $2.5 \mu\text{m}$ 无孔 SiO_2 微球 300 g。由于实验设备的限制, 仅在 2 L 的三颈烧瓶中一次可放大制备粒径 $2.7 \mu\text{m}$ SiO_2 核壳微球 15 g 以上, 解决了 SiO_2 核壳微球制备量较小(0.5 g)及壳层稳定性较差的问题, 并对双相法制备 SiO_2 核壳微球的条件和反应机理进行了详细的探索。通过优化反应温度、反应时间、有机相种类、十八胺用量以及核壳投料比等实验条件, 制得了壳层厚度为 70 nm 至 200 nm 范围内、平均孔径在 5 至 30 nm 范围内可调控的 SiO_2 核壳微球。采用十八烷基三氯硅烷对孔径为 9 nm、壳层厚度为 120 nm 的小孔径和孔径为 30 nm、壳层厚度为 150 nm 的大孔径 SiO_2 核壳微球进行改性后, 在 RPLC 模式下分别对烷基苯、芳香醇同系物和蛋白质进行分离分析。结果表明 6 种烷基苯和 6 种芳香醇同系物均可在 3 min 内完成实现基线分离, 分离度均大于 2.1, 选择因子亦均大于 1.1, 己苯的理论塔板数最高可达 156080 块/m。对于 6 种蛋白质亦可在 4 min 内实现快速分离。表明利用双相法制备的 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 核壳微球可作为色谱基质在液相色谱快速分离分析方面具有很好的应用前景。

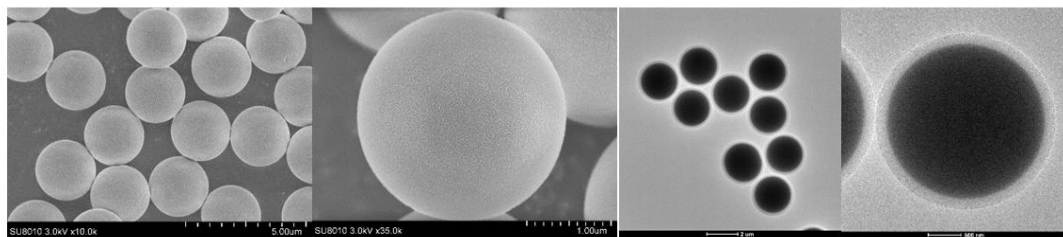


图 1、 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 核壳微球的 SEM 图及 TEM 图。

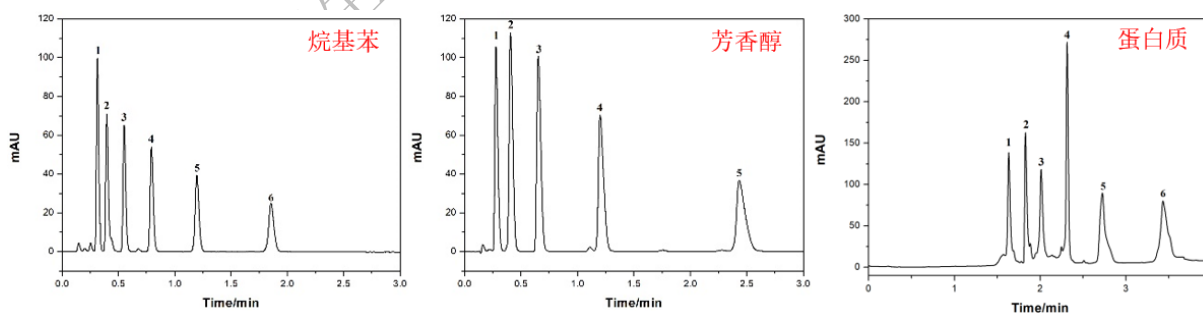


图 2、 $\text{SiO}_2@\text{SiO}_2$ 核壳色谱柱对烷基苯同系物、芳香醇同系物和 6 种蛋白质的色谱分离图。

参考文献:

1. B. Bobály, J.-L. Veuthey, D. Guillarme and S. Fekete, *J Pharm Biomed Anal.*, **2018**, 158, 225-235.
2. S. Deridder, M. Catani, A. Cavazzini and G. Desmet, *J Chromatogr A.*, **2016**, 1456, 137-144.
3. Q. Qu, Y. Min, L. Zhang, Q. Xu and Y. Yin, *Anal Chem.*, **2015**, 87, 9631-9638.

多孔有机笼毛细管电泳手性固定相的研究

郑康妮, 秦该照, 章俊辉, 袁黎明*

云南师范大学化学化工学院

E-mail : yuan_limingpd@126.com

本文按照席夫碱反应原理, 用(1R,2R)-二氨基环己烷和 3,3',5,5'-四醛基-4,4'-联苯二酚缩合成一种孔径均匀, 高表面积, 热化学稳定性良好的棱柱形手性多孔有机笼(POCs)。采用核磁共振氢谱仪、红外光谱、热重分析和扫描电子显微镜对该材料进行表征。将该材料溶解在二氯甲烷中, 用动态涂覆法将溶液均匀的涂覆在石英毛细管内壁上, 制成毛细管电泳色谱柱。实验结果表明该手性柱不仅能拆分氧氟沙星、特罗格尔碱、2-氨基-1-丁醇和 1-苯基-1-戊醇 4 种手性药物, 还能拆分甲苯胺和氯苯胺 2 种位置异构体, 说明该手性柱具有良好的手性分离能力。通过对拆分氧氟沙星、特罗格尔碱、2-氨基-1-丁醇和 1-苯基-1-戊醇进行最佳条件的探究, 得出电压、缓冲溶液浓度和 pH 值在毛细管电泳中对手性样品分离度的影响。采用 1-苯基-1-戊醇进行毛细管柱的重复性研究, 表明用该材料制备的毛细管电泳色谱柱具有良好的重复性。可见, 多孔有机笼是一种良好的毛细管电泳手性固定相, 有一定的手性拆分能力, 在色谱分离中具有良好的发展前景。

参考文献:

1. 袁黎明. 手性识别材料(第2版)[M]. 北京: 科学出版社, 2020, 3-4.
2. C. Yuan, L.M. Yuan, Y. Cui, J. Am. Chem. Soc., 2022, 144, 891-900.
3. Y. Xu, L. Xu, X.G. Chen, Anal. Chem., 2013, 85, 11369-11375.
4. J.H. Zhang, S.M. Xie, L.M. Yuan. Anal. Chem., 2015, 87, 7817-7824.
5. J.H. Zhang, S.M. Xie, L.M. Yuan. Anal. Chem., 2014, 86, 9595-9602.
6. S.M. Xie, Z.J. Zhang, L.M. Yuan. J. Am. Chem. Soc., 2011, 133, 11892-11895.
7. Y. Wang, J.H. Zhang, L.M. Yuan. Anal. Chem., 2022, 94, 4961-4969.
8. J.H. Zhang, M. Zi, L.M. Yuan, Anal. Chim. Acta, 2018, 999, 169-175.
9. Z. Li, Z. Mao, Z. Chen, Anal. Chim. Acta, 2020, 1094, 160-167.
10. Y. Gui, Y. Huang, Z. Xia, L. Rao, Q. Fu, Anal. Chem., 2022, 94, 16720-16727.

L-酒石酸-均苯三甲酰氯复合膜及其衍生物复合膜手性拆分研究

崔学飞, 陈政, 段爱红, 王帮进, 谢生明, 袁黎明*

云南师范大学化学化工学院

E-mail: yuan_limingpd@126.com

手性是自然界中最基本和最普遍的属性。如今手性化合物已经被广泛应用于医药、材料、生物化学、农业化学和许多其他领域。大部分手性化合物都有手性中心, 其中的手性分子可以作为左旋(L或S)和右旋(D或R)一对对映体存在。由于立体和空间排列, 作为彼此对映体的分子通常具有不同的药理和毒理学作用。所以手性对映体的纯化显得尤为重要。本文以聚醚砜膜为基膜, L-酒石酸作为手性选择剂, 均苯三甲酰氯作为交联剂, 采用界面聚合法制备L-酒石酸-均苯三甲酰氯复合膜, 在优化条件为手性选择剂含量为1.6%、交联剂含量为2.0%、催化剂含量为2.0%和聚合反应时间为30min时获得最佳手性选择性, 再通过单因素实验和正交实验确定最佳外部条件, 其e.e.值最大至60.32%, RSD为2.80%。

L-酒石酸-均苯三甲酰氯复合膜也可用于D,L-对羟基苯甘氨酸手性分离, 通过单因素实验和正交实验确定最佳外部条件。重复实验分离e.e.值最大可至55.39%, RSD为2.94%。

在L-酒石酸-均苯三甲酰氯复合膜基础上, 制备L-酒石酸正戊酯-均苯三甲酰氯复合膜, 在最佳外部条件下, 分离e.e.值最大至56.36%, RSD为2.95%。

实验结果表明L-酒石酸-均苯三甲酰氯复合膜及其衍生物复合膜对手性原料具有良好的分离效果, 即良好的手性选择性, 说明L-酒石酸及其衍生物可作为手性分离膜材料, 同时也说明膜应用于手性分离的巨大运用前景和开发潜力。

参考文献:

1. L.M. Yuan, W. Ma, M. Xu, *Chirality*, **2017**, 29, 315-324.
2. 袁黎明. 手性识别材料(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, **2020**, 1-10.
3. T.Q. Liu, Z. Li, H.D. Qiu, *Chem. Eng. J.*, **2021**, 410, 128247.
4. S.M. Xie, W.F. Wang, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, **2008**, 321, 293-298.
5. W.W. Xiong, Q. Song, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, **2009**, 328, 268-272.
6. M. Zhao, W.F. Wang, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, **2009**, 336, 149-153.
7. Q.S. Cheng, Q. Ma, Z.L. Mo, *Sep. Purif. Technol.*, **2022**, 292, 121034.
8. P. Vedovello, C.M. Paranhos, M.E. Tiritan, *Sep. Purif. Technol.*, **2022**, 280, 119800.

NH₂-Co-MOF-L-羟基脯氨酸的制备及其用作高效液相色谱固定相的研究

蒋雪菲, 王帮进, 谢生明, 章俊辉, 袁黎明*

云南师范大学化学化工学院

E-mail: yuan_limingpd@126.com

金属有机框架材料(MOFs)是以金属离子为连接点,以有机配体构成空间延伸,合成的具有周期性网络结构的多孔晶体材料。MOFs由于具有高孔隙率,高比表面积以及孔道规整等优点,在储能、催化和分离等领域都有广泛应用,因此其在孔径、形状和结构方面都具有可调节性和可控性。MOFs材料跨越了多门学科,并在手性分离分析领域展现出其独特的应用价值。

本文采用溶剂热合成法,合成了MOFs材料NH₂-Co-MOFs,再用L-羟基脯氨酸对其进行手性修饰,最终合成了手性材料NH₂-Co-MOFs-L-羟基脯氨酸。对Co-MOFs, NH₂-Co-MOFs两种MOFs材料进行表征,并采用“网包法”制备了NH₂-Co-MOFs-L-羟基脯氨酸手性固定相,然后将得到的NH₂-Co-MOFs-L-羟基脯氨酸手性固定相用于制备HPLC手性柱,对其手性拆分能力进行考察,使用正己烷-异丙醇(体积比=9:1)和甲醇-水(体积比=9:1, 7:3)为流动相,分开了26种手性化合物、5种苯系位置异构体,且该色谱柱还具有良好的重现性,实验表明了NH₂-Co-MOFs-L-羟基脯氨酸色谱柱分离效果良好,将该MOFs材料NH₂-Co-MOFs-L-羟基脯氨酸用作HPLC固定相用于分离手性物质和苯系位置异构体具有良好的研究意义。

参考文献:

1. 袁黎明. 手性识别材料(第2版)[M]. 北京: 科学出版社, 2020, 3-4.
2. C. Yuan, L.M. Yuan, Y. Cui. *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 891-900.
3. H.L Qian, S.T. Xu, X.P Yan. *Anal. Chem.*, **2023**, 95, 304-318.
4. Z.Y. Gu, C.X. Yang, X.P. Yan. *Acc. Chem. Res.*, **2012**, 45, 734-745.
5. M. Xu, H.C. Zhou, Z.Y. Gu. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61, e202207786.
6. S.M. Xie, Z.J. Zhang, L.M. Yuan. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 11892-11895.
7. S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2018**, 90, 9182-9188.
8. M. Zhang, Z.J. Pu, L.M. Yuan. *Chem. Commun.*, **2013**, 49, 5201-5203.

NH₂-MIL-53(Al)-D-(+)-葡萄糖 MOFs 的制备及其用作高效液相色谱固定相的研究

高顺秋, 赖亚琳, 章俊辉, 谢生明, 袁黎明*

云南师范大学化学化工学院

E-mail: yuan_limingpd@126.com

金属有机框架材料(MOFs)因其比表面积大、孔结构高度有序、可调控的物理性质等特点, 迅速成为研究者的热门研究对象, 并被广泛地应用于催化、分离和非线性光学等领域。作为配位化学的重要组成部分, MOFs 材料跨越了有机化学、无机化学、超分子化学、材料化学、晶体学和拓扑学等多门学科范畴, 并在手性分离分析领域展现出其独特的应用价值。

本文采用溶剂热合成法, 合成了非手性 NH₂-MIL-53(Al), 再用 D-(+)-葡萄糖对其进行手性修饰, 最终合成了手性 NH₂-MIL-53(Al)-D-(+)-葡萄糖。对 NH₂-MIL-53(Al) 和 NH₂-MIL-53(Al)-D-(+)-葡萄糖进行了 X 射线粉末衍射分析、红外光谱分析、圆二色谱分析、氮气吸附测试、扫描电子显微镜表征。采用“网包法”制备了 NH₂-MIL-53(Al)-D-(+)-葡萄糖固定相用于高效液相色谱(HPLC)手性柱, 对其拆分能力进行考察。实验结果表明: NH₂-MIL-53(Al)-D-(+)-葡萄糖色谱柱拆分开了 15 种手性化合物和 2 种位置异构体, 其中共 9 手性化合物和 2 种苯系位置异构体实现基线分离, 且色谱柱具有良好的重复性, 说明采用 NH₂-MIL-53(Al)-D-(+)-葡萄糖所制备的 HPLC 固定相对分离手性物质和苯系位置异构体具有一定的研究意义。

参考文献:

1. 袁黎明. 手性识别材料(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 2020, 3-4.
2. W. Gong, Z.J. Chen, Y. Cui. *Chem. Rev.*, 2022, 122, 9078-9144.
3. H.L. Qian, S.T. Xu, X.P. Yan. *Anal. Chem.*, 2023, 95, 304-318.
4. M. Xu, H.C. Zhou, Z.Y. Gu. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2022, 134, e202207786.
5. S.M. Xie, Z.J. Zhang, L.M. Yuan, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 11892-11895.
6. J.H. Zhang, S.M. Xie, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, 2015, 87, 7817-7824.
7. M. Zhang, Z.J. Pu, L.M. Yuan. *Chem. Commun.*, 2013, 49, 5201-5203.
8. H.L. Qian, C.X. Yang, X.P. Yan, *Nat. Commun.*, 2016, 7, 12104.

HP- β -环糊精复合膜用于拆分 D,L-苯甘氨酸和 D,L-对羟基苯甘氨酸

赵宏伟, 刘华林, 王帮进, 谢生明, 袁黎明*

云南师范大学化学化工学院

E-mail: yuan_limingpd@126.com

以聚醚砜制作基膜, HP- β -环糊精为手性选择剂, 通过 HP- β -环糊精与均苯三甲酰氯的界面聚合反应制备 HP- β -环糊精复合膜用于渗析 D,L-苯甘氨酸, 经单因素和正交实验优化, 此膜对 D,L-苯甘氨酸进行以浓差为驱动力的透过性实验, 其对映体选择性可以达到 e.e.= 65.45 %。

HP- β -环糊精复合膜还可用于渗析 D,L-对羟基苯甘氨酸, 经单因素和正交实验优化, 此膜对 D,L-对羟基苯甘氨酸进行以浓差为驱动力的透过性实验, 其对映体选择性可以达到 e.e.= 65.91 %。

参考文献:

1. 袁黎明. 手性识别材料(第2版)[M]. 北京: 科学出版社, 2020, 1-10.
2. 袁黎明, 苏莹秋, 段爱红, 郑莹, 艾萍, 谌学先. 高等学校化学学报, 2016, 37, 1960-1965.
3. L.M. Yuan, W. Ma, M. Xu, *Chirality*, 2017, 29, 315-324.
4. S.M. Xie, W.F. Wang, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, 2008, 321, 293-298.
5. W.W. Xiong, Q. Song, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, 2009, 328, 268-272.
6. M. Zhao, X.L. Xu, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, 2009, 336, 149-153.
7. X. Bai, J. Ke, J. Chen, *Sep. Purif. Technol.*, 2022, 290, 120833.
8. T.Q. Liu, Z. Li, H.D. Qiu, *Chem. Eng. J.*, 2021, 410, 128247.

直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)-聚醚砜手性膜色谱研究

普娜, 赖亚琳, 王帮进, 章俊辉, 袁黎明*

云南师范大学化学化工学院

E-mail: yuan_limingpd@126.com

自 20 世纪以来, 液相色谱柱的发展层层递进, 皆在为创造出更加高效、快捷的分离分析手段而革新。在高效液相色谱法和膜分离技术的基础上发展出的膜色谱, 兼顾了高效液相色谱与膜分离技术的一些优点, 如分离速度快、操作压力低等, 是色谱分离的一个重要分支。

淀粉是天然高分子化合物, 1987 年, Okamoto 课题组研制出直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯) (简称 AD), 时至今日, AD 以其分离分析效果显著且手性识别范围广泛而著称。该文采用了三种不同尺寸的特制膜色谱装置, 与液相色谱仪连接。通过这种连接方式, 实现了液相色谱与膜分离技术的结合。对直链淀粉三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)-聚醚砜(AD-PES)手性膜进行了红外和扫描电镜表征, 并进行了系列评价。通过采用特制膜色谱装置, 成功将 AD-PES 手性膜用于液相色谱进行手性外消旋体的拆分。对手性膜的性能进行了评价, 对手性膜拆分手性外消旋体的条件进行了探讨。实验结果表明, AD-PES 手性膜对盐酸普萘洛尔和美托洛尔具有一定程度的拆分效果。

参考文献:

1. 袁黎明. 手性识别材料(第 2 版)[M]. 北京: 科学出版社, 2020, 3-4.
2. 袁黎明. 膜科学与技术, 2012, 32, 1-7.
3. S.M. Xie, Z.J. Zhang, L.M. Yuan, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133, 11892-11895.
4. T.Q. Liu, Z. Li, H.D. Qiu, *Chem. Eng. J.*, 2021, 410, 128247.
5. S.M. Xie, W.F. Wang, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, 2008, 321, 293-298.
6. W.W. Xiong, Q. Song, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, 2009, 328, 268-272.
7. M. Zhao, X.L. Xu, L.M. Yuan, *J. Membrane Sci.*, 2009, 336, 149-153.
8. J. Shen, Y. Okamoto, *Chem. Rev.*, 2016, 116, 1094-1138.

[4+6]型手性多孔有机笼用作气相色谱手性固定相研究

黄斌, 梁瑞雪, 巩亚楠, 李宽, 张有萍, 李红兴, 王帮进, 谢生明, 章俊辉*, 袁黎明

云南师范大学化学化工学院

通讯联系人 E-mail: zjh19861202@126.com

多孔材料是指分子结构中含有孔穴的一类材料, 在自然界中广泛存在。近些年来, 一些多孔材料(如 MOFs 和 COFs)被广泛应用于色谱分离研究。多孔有机分子笼(POCs)是由具有分子内部空腔的分立三维笼状分子通过较弱的分子间作用力堆积自组装形成的一类新型多孔分子材料。与其它多孔框架材料(如 MOFs、COFs、沸石等)不同的是, POCs 是通过较弱的分子间作用力组装形成多孔固体, 而 MOFs、COFs、沸石等是由共价键或配位键作用形成多孔固体。因此 POCs 具有较好的溶解性, 可溶解在溶剂中形成溶液, 从而可以制备柱效高、重复性更好的色谱柱。本研究以 2,4,6-三甲酰基间苯三酚和(S)-(-)-1,1'-联-2-萘胺通过席夫碱缩合反应合成了一种[4+6]型手性 POC, 并将其用作气相色谱固定相, 采用静态涂敷法制备了手性 POC 毛细气相管柱, 探究了其对有机异构体和外消旋体的分离性能。实验结果表明, 该手性 POC 是一种良好的气相色谱固定相, 共有 13 种外消旋体和 19 种有机异构体在该柱上得到不同程度的分离。

参考文献:

1. T. Tozawa, J.T.A. Jones, S.I. Swamy, S. Jiang, D.J. Adams, S. Shakespeare, R. Clowes, D. Bradshaw, T. Hasell, S.Y. Chong, C. Tang, S. Thompson, J. Parker, A. Trewin, J. Bacsá, A.M.Z. Slawin, A. Steiner, A.I. Cooper, *Nat. Mater.*, **2009**, 8, 973-978.
2. D.X. Cui, Y. Geng, J.N. Kou, G.G. Shan, C.Y. Sun, K.H. Zhang, X.L. Wang, Z.M. Su, *Nat. Commun.*, **2022**, 13, 4011.
3. Z.R. Tao, J.X. Wu, Y.J. Zhao, M. Xu, W.Q. Tang, Q.H. Zhang, L. Gu, D.H. Liu, Z.Y. Gu, *Nat. Commun.*, **2019**, 10, 2911.
4. S.M. Xie, Z.J. Zhang, Z.Y. Wang, L.M. Yuan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 11892-11895.
5. Z.Y. Gu, X.P. Yan, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 1477-1480.
6. C. Yuan, W.Y. Jia, Z.Y. Yu, Y.N. Li, M. Zi, L.M. Yuan, Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 891-900.
7. Y. Wang, J.K. Chen, L.X. Xiong, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 4961-4969.
8. J.H. Zhang, S.M. Xie, L. Chen, B.J. Wang, P.G. He, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2015**, 87, 7817-7824.
9. Y. Wang, H.X. Li, S.M. Xie, B.J. Wang, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Microchem. J.*, **2021**, 170, 106650.
10. H.X. Li, T.P. Xie, K.Q. Yan, S.M. Xie, B.J. Wang, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Microchim. Acta*, **2020**, 187, 269.

手性金属-有机笼用作高分辨气相色谱分离

朱玉兰, 杨玉平, 冉晓燕, 刘诚, 章俊辉, 王帮进, 谢生明*, 袁黎明

云南师范大学化学化工学院

E-mail: xieshengming_2006@163.com

金属-有机笼(MOCs)作为一类新兴的多孔材料,因其离散型特征以及具有可调节的几何形状、尺寸、限域空腔等结构特点,使得这类超分子材料在催化、分子识别、分离、发光材料、药物输送和生物医学等领域展现出独特的应用潜力。本文中,我们合成了一种手性金属-有机笼 $[\text{Cu}_{12}(\text{L}_V)_{12}(\text{H}_2\text{O})_{12}]$ (V=L-缬氨酸, MOC-V)用于高分辨率气相色谱固定相分离各种类型分析物,包括正构烷烃、正构醇、芳香烃、异构体和外消旋化合物等。结果表明, MOC-V 色谱柱尤其对氨基酸外消旋化合物展现出了优秀的手性识别能力,其中脯氨酸的 R_S 达到了5.24。此外,采用1,2-二氯丙烷和o,m,p-三氯苯考察了色谱柱的稳定性和重现性,该色谱柱具有良好的稳定性和重现性。因此,手性金属-有机笼MOC-V作为一种新型CSP材料在GC中具有有良好的应用前景。

参考文献:

1. J. X. Guo, Y. Cheng, X. P. Yan, *J. Mater. Chem. A*, **2021**, 9, 21151-21157.
2. W. T. Kou, C. X. Yang, X. P. Yan, *J. Mater. Chem. A*, **2018**, 6, 17861-17866.
3. Z. Y. Gu, X. P. Yan, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 1477-1480.
4. H. M. Liu, Q. W., X. G. Chen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, 56, 9492-9496.
5. C. F. Liu, J. K. Chen, S. M. Xie, *Anal. Chim. Acta.*, **2022**, 1224, 340197.
6. J. Dong, Y. Liu, Y. Cui, *Acc. Chem. Res.*, **2021**, 54, 194-206.
7. S. M. Xie, N. Fu, L. M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2018**, 90, 9182-9188.
8. Y. G. Li, J. Q. Dong, Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 143, 49, 20939-20951.
9. S. Mollick, S. Mukherjee, S. K. Ghosh, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, 58, 1041-1045.
10. B. Tang, X. Zhang, A. Q. Luo, *J. Chromatogr. A*, **2021**, 1636, 461792.

手性多孔液体 D-his-ZIF-8-[Bpy][NTf₂]用于毛细管气相色谱分离

冉晓燕, 杨玉平, 朱玉兰, 刘诚, 王帮进, 章俊辉, 谢生明*, 袁黎明

云南师范大学化学化工学院

通讯联系人 E-mail: xiashengming_2006@163.com

多孔离子液体 (porous ionic liquids, PLs) 是一类兼具永久性孔隙与液态流动性的新型多孔材料, 因其优异的物理化学特性已在许多领域引起了人们的广泛关注。近年来, 已有许多课题组成功将多孔框架材料 (如 MOFs、COFs 等) 用于毛细管气相色谱分离。然而, 多孔框架材料制备毛细管柱主要通过动态涂敷法或原位生长法, 这些方法都存在制柱困难且制柱的重现性不佳。因此, 将多孔框架材料制备成多孔液体用于气相色谱固定相能有效解决上述问题, 同时也能提高固定相的传质效率和分离性能。本文中, 我们合成了一种基于手性 MOF 的多孔液体 D-his-ZIF-8-[Bpy][NTf₂], 并将该手性多孔液体作为一种新型固定相制备了毛细管气相色谱柱, 探讨了其在高分辨气相色谱中的分离性能。结果表明, D-his-ZIF-8-[Bpy][NTf₂] 毛细管手性柱对正构烷烃、正构醇、芳香烃、位置异构体和外消旋体表现出了良好的分离能力 (尤其外消旋体), 能拆分包括酯、酮、醚、醇、卤代烃和氨基酸衍生物等多种不同类型的外消旋化合物。此外, 该手性柱具有较好的重现性和稳定性。本工作为多孔框架固体材料在气相色谱中的实际应用开辟了一条新的途径。

参考文献:

1. C. Yuan, L.M. Yuan, Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 891-900.
2. W.Q. Tang, Y.J. Zhao, Z.Y. Gu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60, 6920-6925.
3. Z.Y. Gu, C.X. Yang, X.P. Yan, *Acc. Chem. Res.*, **2012**, 45, 734-745.
4. W. Gong, R. Kazem, Y. Cui, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, 22574-22581.
5. M. Xu, S.S. Meng, Z.Y. Gu, *ACS Cent. Sci.*, **2022**, 8, 184-191.
6. P.Y. Cai, M. Xu, Z.Y. Gu, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60, 27258.
7. P. Jin, X.Y. Niu, X.G. Chen, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2020**, 12, 20414-20422.
8. S.M. Xie, Z.J. Zhang, L.M. Yuan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 11892-11895.
9. S.J. Liu, J.D. Liu, B. Liu, *Langmuir*, **2018**, 34, 3654-3660.

点击制备基于手性多孔有机笼 CC19-R 的高效液相色谱手性固定相用于手性分离研究

巩亚楠, 梁瑞雪, 黄斌, 张有萍, 李宽, 王莹, 谢生明, 章俊辉*, 袁黎明

云南师范大学化学化工学院

通讯联系人 E-mail: zjh19861202@126.com

多孔材料具有孔径可调节、高比表面积和可功能化设计等特点, 使其在色谱分离研究领域具有较好的应用潜能。多孔有机笼 (POCs) 是一类由 C、H、O、N、B 等质量较轻的元素组成的具有分子内部空腔结构的分立三维有机笼状分子自组装形成的新型多孔分子材料。这些分立的笼状分子是通过相对较弱的范德华力作用自组装形成多孔固体而不是强的化学键 (共价键或配位键) 作用。因此, 与其它多孔框架材料 (MOFs、COFs 等) 相比, POCs 具有较好的溶解性, 易于溶剂化修饰和制备复合材料。本研究用 2-羟基-1,3,5-均苯三甲醛与(1R, 2R)-(-)-1,2-二氨基环己烷通过[4+6]环亚胺缩合反应合成了一种手性 POC CC19-R ($C_{72}H_{84}N_{12}O_4$), 将其作为手性选择剂, 通过巯基-烯点击反应键合于球形硅胶表面制备了手性固定相, 并用于高效液相色谱拆分手性化合物。研究表明, 该制备的手性固定相展现出优秀的手性拆分性能, 可拆分许多不同种类的手性化合物, 如醇类、酮类、酯类、有机酸类、胺类等, 具有良好的研究意义和应用前景。

参考文献:

1. Z.R. Tao, J.X. Wu, Y.J. Zhao, M. Xu, W.Q. Tang, Q.H. Zhang, L.Gu, D.H. Liu, Z.Y. Gu, *Nat. Commun.*, **2019**, 10, 2911.
2. X. Yao, H. Zheng, Y. Zhang, X. Ma, Y. Xiao, Y. Wang, *Anal. Chem.*, **2016**, 88, 4955.
3. H.L. Qian, C.X. Yang, X.P. Yan, *Nat. Commun.*, **2016**, 7, 12104.
4. M. Wan, Y. Zheng, X. Dai, H. Yang, J. Zhou, J. Ou, Y. Yang, M. Liao, Z. Xia, L. Wang, *Chem. Mater.*, **2023**, 35, 609-616.
5. C.X. Shi, H. Li, X.F. Shi, L. Zhao, H.D. Qiu, *Chem. Commun.*, **2022**, 58, 362-3365.
6. S. Jiang, Y. Du, M. Marcello, E.W. Corcoran, D.C. Calabro, S.Y. Chong, L. Chen, R. Clowes, T. Hasell, A.I. Cooper, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 11228-11232.
7. Y. Wang, J.K. Chen, L.X. Xiong, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 4961-4969.
8. J.H. Zhang, S.M. Xie, L. Chen, B.J. Wang, P.G. He, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2015**, 87, 7817-7824.
9. K. Li, L.X. Xiong, Y. Wang, Y.P. Zhang, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1679, 463415.
10. H.X. Li, T.P. Xie, K.Q. Yan, S.M. Xie, B.J. Wang, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Microchim. Acta*, **2020**, 187, 269.
11. S.M. Xie, N. Fu, L. Li, B.Y. Yuan, J.H. Zhang, Y.X. Li, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2018**, 90, 9182-9188.

手性多亚胺大环用于高效液相色谱手性分离研究

梁瑞雪, 张有萍, 黄斌, 巩亚楠, 王帮进, 谢生明, 章俊辉*, 袁黎明

云南师范大学化学化工学院

通讯联系人 E-mail: zjh19861202@126.com

大环化合物由于其独特的结构、丰富的分子识别和自组装特性, 一直是色谱分离研究的重点。手性多亚胺大环 (CPMs) 作为一类新型的有机大环, 具有明确的空腔、刚性形状、固有的手性和多个协同结合位点。与其它有机大环相比, CPMs 具有刚性的亚胺键, 形状和空腔更加持久稳固, 且合成步骤简单。本研究将一种 CPMs 作为手性选择剂, 通过巯基-烯点击反应键合于球形硅胶表面制备手性固定相, 并用于高效液相色谱手性分离研究。研究表明, 所制备的色谱柱在正相 (以正己烷/异丙醇为流动相) 和反相 (以甲醇/水为流动相) 条件下均表现出良好的手性拆分能力, 分别有 15 种和 17 种外消旋体在这两种分离模式下获得了较好的拆分。

参考文献:

1. M. Kwit, J. Grajewski, P. Skowronek, M. Zgorzelak, J. Gawronski, *Chem. Rec.*, **2019**, 19, 213-237.
2. H.L. Qian, S.T. Xu, X.P. Yan, *Anal. Chem.*, **2023**, 95, 304-318.
3. M. Wan, Y. Zheng, X. Dai, H. Yang, J. Zhou, J. Ou, Y. Yang, M. Liao, Z. Xia, L. Wang, *Chem. Mater.*, **2023**, 35, 609-616.
4. C.X. Shi, H. Li, X.F. Shi, L. Zhao, H.D. Qiu, *Chem. Commun.*, **2022**, 58, 362-3365.
5. X. Yao, H. Zheng, Y. Zhang, X. Ma, Y. Xiao, Y. Wang, *Anal. Chem.*, **2016**, 88, 4955-4964.
6. Y. Wang, J.K. Chen, L.X. Xiong, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *Anal. Chem.*, **2022**, 94, 4961-4969.
7. Y.P. Zhang, K. Li, L.X. Xiong, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1683, 463551.
8. Y.P. Zhang, L.X. Xiong, Y. Wang, K. Li, B.J. Wang, S.M. Xie, J.H. Zhang, L.M. Yuan, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1676, 463253.
9. Y.J. Ding, L.O. Alimi, J. Du, B. Hua, A. Dey, P. Yua, N.M. Khashab, *Chem.Sci.* **2022**, 13, 3244-3248.

基于校准-投影技术的系统非依赖液相色谱保留时间预测

张燕^{1,2}, 李秀琴¹, 高燕¹, 刘菲², 张庆合^{1,*}

¹ 中国计量科学研究院化学所, 北京, 100029

² 中国地质大学(北京)水资源与环境学院, 北京, 100083

通讯联系人 E-mail: zhangqh@nim.ac.cn

受色谱仪器、色谱柱和流动相组成等条件影响, 在不同色谱系统间保留时间变化程度不同。基于自建数据库以构建稳健的 QSRR 模型只能预测特定色谱系统的保留时间, 具有严重的系统依赖性^[1]。保留指数转换^[2]和保留时间投影^[3]等技术可实现色谱系统间保留数据共享, 但均只能在具有相似洗脱模式(即保留顺序)的色谱方法间实施。

本文选择 $\log k_{ow}$ 范围-8.1~11.6、MW 范围 89 Da~1449 Da 的 343 种有机分子, 测定其在 30 种不同反相液相色谱方法(CM)上的保留时间, 通过研究典型色谱参数对保留时间和洗脱模式的影响, 提出了一种基于投影-校准技术的非系统依赖型液相色谱保留时间预测方法。

结果表明: 1) 改变反相色谱柱类型和规格、洗脱梯度流速和色谱柱温度 (Fig.1a), 色谱方法间保留时间投影准确度高 (Fig.1e, 黄色); 2) 洗脱梯度的运行时间或流动相组成差异越大 (Fig.1b-c), 投影预测性能越差 (Fig.1e, 绿色和蓝色), 表明基于投影技术的保留时间预测方法在不同色谱洗脱模式的色谱方法间无法实现保留数据的准确共享。

选取与色谱方法 CM 03 相似洗脱模式的 CM 05 作为参考输入方法 (Fig.1d), 构建主模型的参考保留时间投影模型, 预测其在输出色谱方法上的保留时间(参考预测保留时间, rpRT), 将其代替实验值并与主模型在输出色谱方法上的预测保留时间进行比较, 可以校准由投影本身引入

的预测误差, 所有色谱方法的相对中值预测误差均低于 3.7% (Fig.1f)。将该技术与 QSRR 模型联用, 基于大型开源数据库(如 METLIN)构建 QSRR 模型, 可预测任意已知结构分子的保留时间并将其共享到任意反相色谱系统上。使用参考预测保留时间进行校准后, 假阳性候选物的数量可减少 16.7%, 排名前 3 位的正确数量显著增加。

关键词: 液相色谱, 保留时间, 跨系统预测, 投影, 校准

参考文献

- Haddad, P. R.; Taraji, M.; Szücs, R, *Anal. Chem.*, **2021**, 93 (1), 228–256.
- Aalizadeh, R.; Alygizakis, N. A.; Schymanski, E. L.; Krauss, M.; Schulze, T.; Ibáñez, M.; McEachran, A. D.; Chao, A.; Williams, A. J.; Gago-Ferrero, P.; Covaci, A.; Moschet, C.; Young, T. M.; Hollender, J.; Slobodnik, J.; Thomaidis, N. S, *Anal. Chem.*, **2021**.
- Stanstrup, J.; Neumann, S.; Vrhovšek, U, *Anal. Chem.*, **2015**, 87 (18), 9421–9428.

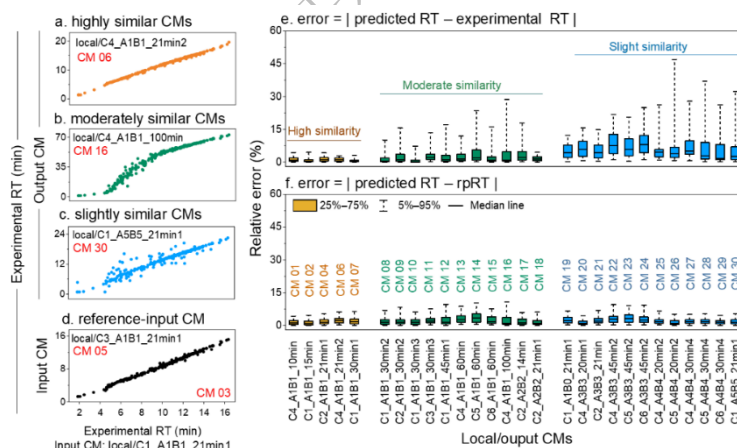


Fig.1 RT projection and calibration results for the validation set.

手性苯丙四咪唑的毛细管电泳分离及其绝对构型指认

陈丽霞, 李向军*

中国科学院大学 化学科学学院, 北京, 100049

通讯联系人 E-mail: lixiangj@ucas.edu.cn

手性分子广泛存在于自然界和生命体中, 鉴于对映体间生理活性存在的显著差异, 实现手性分子的对映体分离和构型指认一直是分析领域一大研究热点。毛细管电泳 (CE) 因分离效率高、分析速度快、样品用量少、分离模式灵活多样等优势成为手性分离最常用的色谱方法之一, 将其与振动圆二色谱 (VCD) 结合, 可同时实现手性分子的对映体分离和出峰顺序指认[1, 2]。

苯丙四咪唑 (Benzotetramisole, BTM) 是一种手性的异硫脲类路易斯碱化合物, 常被用作对映选择性催化剂, 它与活化的羧酸或羧酸衍生物在碱作用下, 可形成烯醇铵盐中间体, 从而实现手性控制并完成种类多样的不对称催化反应, 在近些年大热的不对称有机合成中具有重要应用[3]。手性分离方面, 目前还没有任何关于苯丙四咪唑色谱拆分方法的报道。本文以阴离子型的 SBE- β -CD 为手性拆分剂, 结合有机添加剂乙酸铵使苯丙四咪唑对映体成功实现了电泳分离 (图 1a), 检测限 (LOD) 可低至 $0.30 \mu\text{M}$ 。同时, 利用密度泛函理论 (DFT) 得到了与实验光谱拟合度极佳的苯丙四咪唑 VCD 计算光谱, 通过特征峰的 Cotton 信号, 可轻松完成苯丙四咪唑的绝对构型指认 (图 1b)。

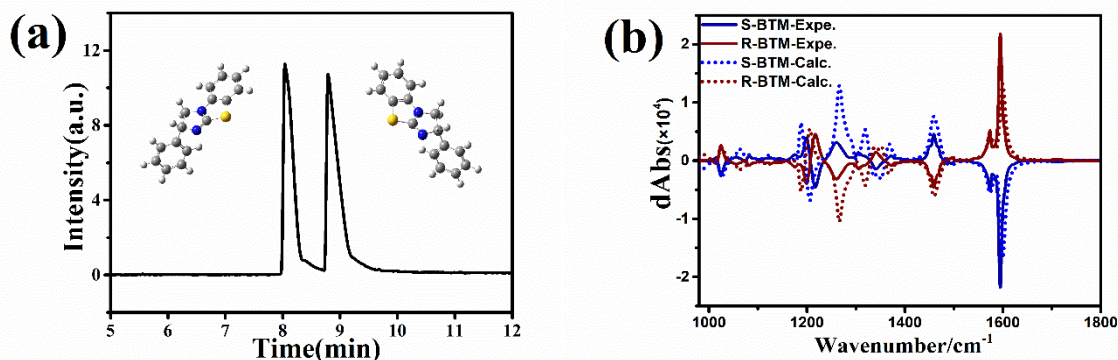


图 1 (a) 手性苯丙四咪唑的电泳分离图; (b) 苯丙四咪唑对映体振动圆二色计算谱图与实验谱图的拟合结果

参考文献:

- [1] Chen, L. X., Liu, M. X., Yang, S., Zhao, H., Yao, X., Li, X. J., Meng, J. H., *Journal of Chromatography A* **2021**, 1654.
 [2] Chen, L. X., Tian, T. T., Yang, S., Dong, Y. L., Cui, H., Li, X. J., *J. Sep. Sci.* **2023**, 1-9.
 [3] Yang, X., Lu, G. J., Birman, V. B., *Org. Lett.* **2010**, 12, 892-895.

Separation of chiral benzotetramisole by capillary electrophoresis and identification of its absolute configuration

Lixia Chen, Xiangjun Li*

School of Chemical Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049

HPLC 法测定黄连药材指纹图谱

吴小梅 陈再洁 任兴发 屠炳芳 (月旭科技(上海)股份有限公司)

¹月旭科技(上海)股份有限公司, 上海, 201600

*E-mail: xiaomeiwu@welchmat.com

摘要 目的: 建立一种可以测定黄连药材指纹图谱的方法; 方法: 仪器: 赛默飞 U3000 高效液相色谱仪 (包括: 四元泵、自动进样器、柱温箱、UV-VIS 检测器、色谱工作站); 色谱柱: 月旭 Ultimate® LP C18 (4.6×250mm, 5μm); 流动相: A 相: 0.1%磷酸, B 相: 甲醇; 梯度洗 (0~5min, 5%B; 5~10min, 5% → 30%B; 10~25min, 30% → 40%B; 25~35min, 40% → 65%B; 35~50min, 65% → 100%B; 50~51min, 100% → 5%B; 51~65min, 5%B;); 检测波长: 220 nm, 柱温: 35 °C, 流速: 1.0 ml·min⁻¹, 进样量 20μl, 结果: 该方法可用于检测黄连药材的指纹图谱。结论: 所建立的方法稳定简单, 能检测黄连药材的指纹图谱, 分离效果良好。

关键词 高效液相色谱法; 黄连药材; 指纹图谱;

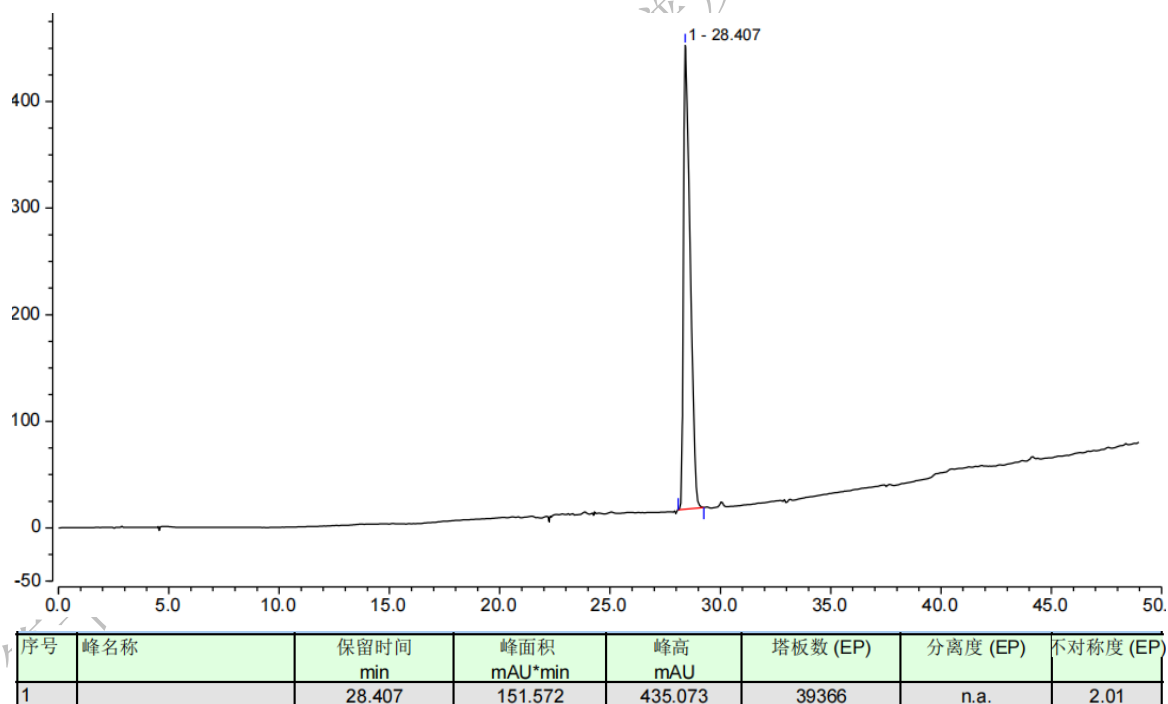


图 1、对照品溶液图

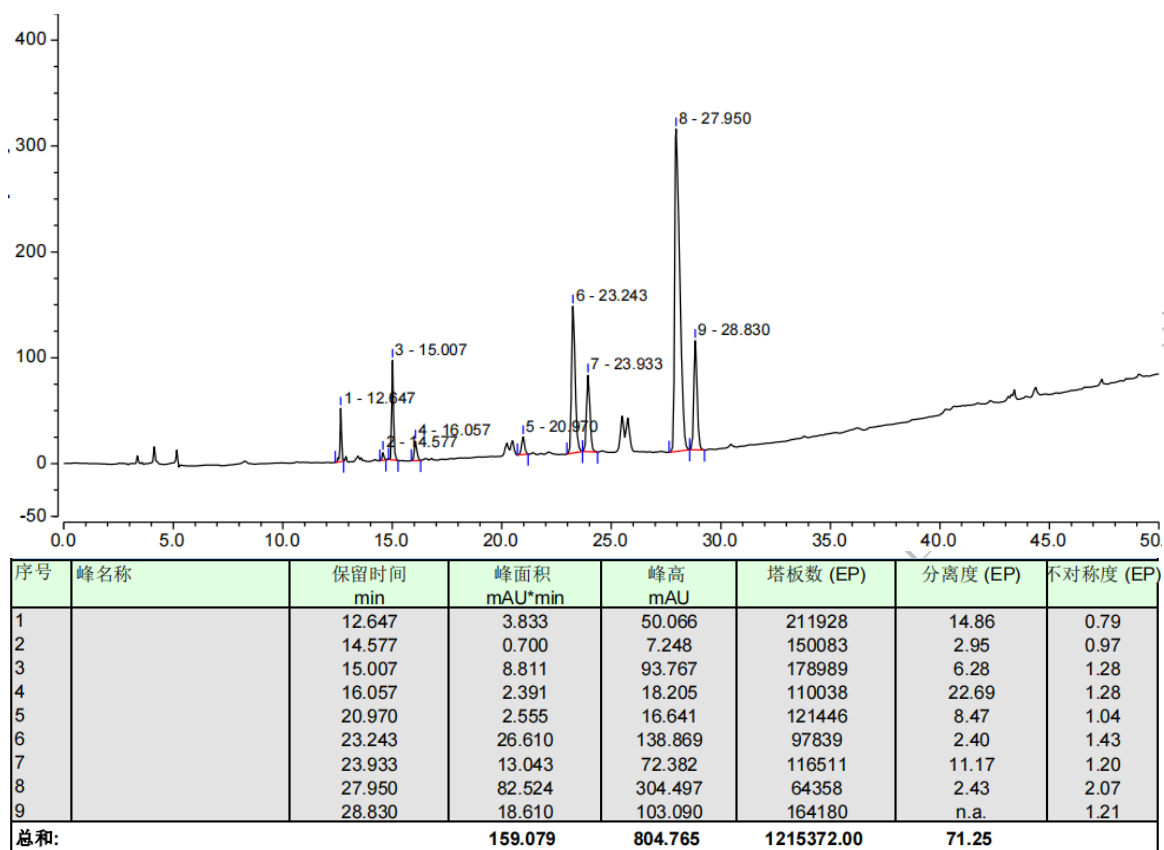


图 2、黄连药材指纹图谱

[1] 中国药典[S].2020年版.一部.

[2] 邱艳萍,黄连化学成分与药理作用研究进展[J].CJCM 中医临床研究.2018.10.141-144

[3] 张纯刚,唐静雅,于琛琛,程兰,康廷国.黄连五种主要生物碱的提取纯化及含量测定[J].中国现代中药,2018,09,1146-1150.

新型大孔径苯基反相色谱填料的精准合成及其在大分子蛋白分离中的应用

徐婷¹, 薛昆鹏¹, 任兴发¹, 屠炳芳¹, 王健¹, 俞灵钰¹, 李良翔¹

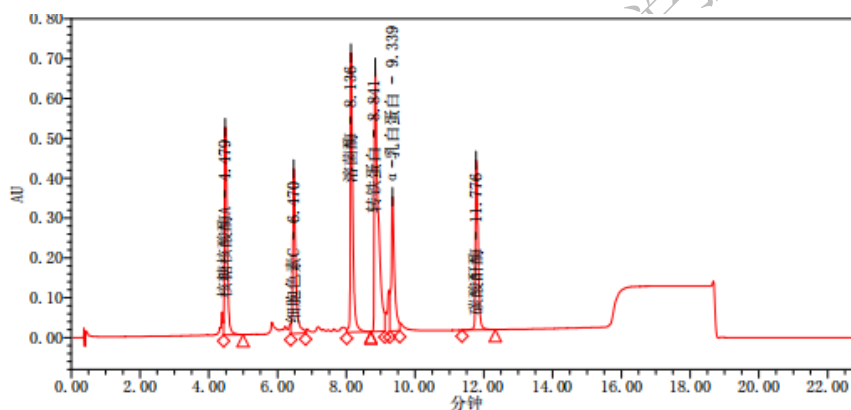
(1. 浙江月旭材料科技有限公司, 金华 321016)

摘要: 本文采用“一锅法”共聚聚合的方式制备了新型分离大分子蛋白用大孔径苯基反相色谱填料 (Welch Blossmate Phenyl), 并将该填料的色谱柱应用于多种大分子蛋白样品的分离分析。实验过程中针对大分子蛋白样品分子尺寸、聚集形态和亲水-疏水效应等特点, 优化了该填料孔径、配基种类、键合密度、酸性条件下耐久性试验等色谱参数, 从而制备了分离大分子蛋白用新型大孔径苯基反相色谱填料。实验过程中采用核糖核酸酶 A、细胞素 C、溶菌酶、转铁蛋白、 α -乳白蛋白和碳酸酐酶等 6 种标准大分子蛋白样品, 考察了多种色谱参数例如色谱柱柱温、色谱柱流速以及键合相种类对蛋白的峰型展宽、保留能力和分离等色谱行为的影响, 并且与其它分离蛋白用反相色谱柱进行了对比分离实验。实验结果表明: 该新型苯基反相色谱柱填料粒径为 3.5 μm 、孔径为 450 \AA , 比表面积为 15 m^2/g , 碳载量为 1.0%、pH 耐受性为 1.5-10.0 以及具有表面多孔等特性, 可在较短的分离时间内提高蛋白分离度以及定量的准确性; 与尺寸排阻全多孔颗粒填料的色谱柱 (SEC) 相比, 该色谱柱分析时间更短, 分离度更好, 其中转铁蛋白和溶菌酶的分离度达 3.87, 理论塔板数为 42087、保留时间为 8.8 分钟; α -乳白蛋白和转铁蛋

白的分离度达到分离度达 2.55, 理论塔板数为 75760、保留时间为 9.3 分钟; 并且, 该色谱柱采用稳定的多孔层填充床从而延长色谱柱使用寿命; 本文制备的新型大孔径苯基色谱柱填料对于生物大分子具有广泛的应用范围, 可测定的蛋白质分子量范围为 12 kDa - 250 kDa。

ABSTRACT: In this paper, a new type of large-pore phenyl reversed-phase chromatography packing (Welch Blossmate Phenyl) applied for the separation of macromolecular proteins was prepared by a "one-pot" copolymerization method. According to the the macromolecular protein characteristics of molecular size, aggregation morphology and hydrophilic-hydrophobic effect, etc., We studied the chromatographic parameters such as the pore size of the packing, the type of ligand, the bonding density, and the durability test under acidic conditions. Six standard macromolecular protein samples including ribonuclease A, cytokine C, lysozyme, transferrin, α -lactalbumin and carbonic anhydrase were used, and various chromatographic parameters such as column temperature, chromatographic parameters were investigated. We also compared our packing with other wide pore packing in similar particle sizes totally porous particles of the effect of column flow rate and type of bonded phase on the chromatographic behavior of protein peak broadening, retention capacity and separation using reversed-phase chromatographic column separation experiments. Results show that the new phenyl reversed-phase column packing has a particle size of 3.5 μm , a pore size of 450 \AA , a specific surface area of 15 m^2/g , a carbon loading of 1.0%, pH tolerance of 1.5-10.0, and a surface porous and other characteristics, which can improve protein resolution and quantitative accuracy in a shorter separation time. Compared with a chromatographic column with a size-

exclusion fully porous particle packing (SEC), the column has a shorter analysis time and higher resolution. The separation degree of transferrin and lysozyme reached 3.87, the theoretical plate number was 42087, and the retention time was 8.8 minutes. The separation degree of α -lactalbumin and transferrin reached a separation degree of 2.55, and the theoretical plate number was 75760, the retention time is 9.3 minutes. The column uses a stable porous layer packed bed to prolong the service life of the column. The new large-pore phenyl column packing prepared in this paper has a wide range of applications for biological macromolecules, and can be used to determine the molecular weight of proteins ranges from 12 kDa to 250 kDa.



峰结果

名称	保留时间 (分钟)	面积 (微伏*秒)	高度 (微伏)	% 面积	USP 分离度	USP 理论塔板数	USP 拖尾
1 核糖核酸酶A	4.479	2740222	521395	15.26		18343	
2 细胞色素C	6.470	2369215	412742	13.19	14.82	39592	
3 溶菌酶	8.136	3443765	700496	19.18	13.06	77448	2.30
4 转铁蛋白	8.841	4900384	664186	27.29	3.87	42062	
5 α -乳白蛋白	9.339	2133699	337141	11.88	2.55	75760	
6 碳酸酐酶	11.776	2370479	425492	13.20	16.90	113433	1.88

图1 新型分离大分子蛋白用大孔径苯基反相色谱柱 (Blossmate Phenyl, 2.1×50mm, 3.5 μ m)分离六种蛋白质色谱图

Figure 1 Chromograms of the six proteins separated by a large-aperture phenyl reverse-phase chromatography column (Blossmate Phenyl, 2.1×50mm, 3.5 m)

万古霉素修饰硅胶基固定相的制备及其 HPLC 分离性能研究

任兴发^{1,2}, 潘旖旎¹, 徐婷², 张凌怡¹, 张维冰^{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

²月旭科技(上海)股份有限公司, 上海, 201600

*weibingzhang@ecust.edu.cn

随着生命科学、环境科学等领域的快速发展, 日益多样化的复杂样品对分离科学提出了更高的要求。而材料科学领域中各种新型功能材料的研制成果也极大促进了具有特殊功能的分离介质的进步。固定相基质表面上不同的改性方式可以产生不同的选择性分离效果。万古霉素作为大环抗生素的一种, 具有复杂、独特的分子结构, 以其作为改性剂制备的万古霉素修饰硅胶基固定相, 可以在多种分离模式下应用, 具有广阔的应用前景。

本文根据万古霉素独特的分子结构特征, 通过直接和间接键合法制备万古霉素键合色谱固定相, 并将其应用于反相、亲水以及离子交换等色谱分离模式的研究。直接法的制备流程在图 1 中给出。

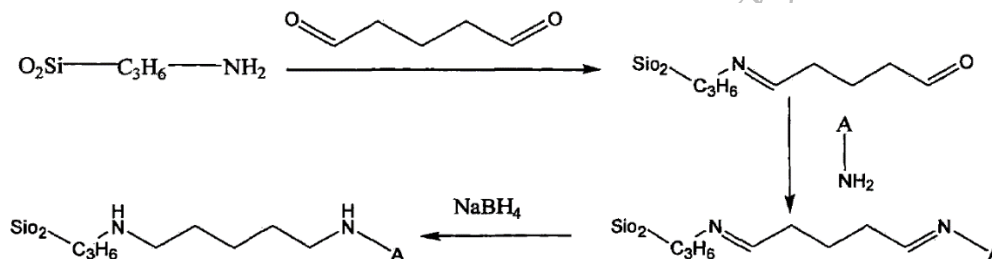


图 1 万古霉素固定相的直接法制备

以不同粒径的氨基硅胶颗粒为载体, 戊二醛为间隔臂, 在优化的反应条件下, 制备成万古霉素键合色谱固定相。该固定相具有良好的稳定性, 重复进样 300 次, 仍具有良好的分离能力。将其应用于多种不同的分离模式, 均取得了良好的分离效果。利用万古霉素分离中的多手性中心的作用, 在正相和反相色谱的分离模式发展了多种手性化合物的分离方法。也将其应用于萘帕芬胺、安眠药物、甜菊糖以及有机酸等样品在亲水、阴离子交换模式等不同分离模式下的方法发展, 均得到较好的分离效果, 进一步拓展了万古霉素键合固定相的应用范围。

二氧化硅纳米磁珠的制备及其在核酸提取中的应用研究

卓婷婷* 刘德云 任兴发 屠炳芳 (月旭科技(上海)股份有限公司)

¹月旭科技(上海)股份有限公司, 上海, 201600

*E-mail: tingtingzhuo@welchmat.com

摘要: 在近几年新冠大流行期间, 新冠核酸快速检测成为检测人体是否感染新冠病毒的一种重要手段, 完整的核酸检测的流程则是“采样-样本前处理-核酸提取-核酸扩增-结果分析”。其中“核酸提取”过程中核酸提取的质量和数量严重影响着核酸检测结果的准确性, 高得率高纯度核酸的获得, 能够大大减少新冠核酸快速检测的检测时间, 助力疫情更精、更快的防控。核酸提取的方法有很多种, 其中磁珠法, 是通过磁性纳米颗粒对样本溶液进行反复的吸附洗涤操作, 从而去除杂质获得核酸, 这种方法主要是利用了磁性纳米颗粒的偶联容量大、比表面积大、扩散速度快、易于修饰、悬浮稳定性高、生物相容好的优点对核酸等物质提取。所以磁性纳米颗粒的制备是影响下游应用的关键因素。

本研究中, 利用月旭科技专利技术制备了强磁性四氧化三铁纳米颗粒 (Fe_3O_4 NPs), 作为核, 通过 Stober 法在 Fe_3O_4 NPs 表面包覆二氧化硅 (SiO_2) 层, 得到 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ NPs, 表面硅层含有大量羟基。利用透射电镜 (TEM)、扫描电镜 (SEM)、振动样品磁强计 (VSM)、粒度分析仪对其进行表征。结果表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ 纳米磁珠具有典型的超顺磁性、均匀的纳米粒径 (300~500nm)、高达 70emu/g 的饱和磁强度、优异分散性以及酸稳定性。将本研究合成的多组纳米磁珠作为核酸提取材料用于提取牛血样中的核酸, 同时也用市场上同类型磁珠产品作为对比, 本研究的纳米磁珠核酸提取量最高达到 115.017ng/uL, 得率达到 11.5017ug/300uL, 与市场上同类型产品应用效果一致甚至稍优。结果表明, 本研究制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ NPs 完全可以满足核酸提取的需求。

关键词: 核酸提取 $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ NPs

参考文献:

1. V. F. Cardoso, F. António, C. Ribeiro, et al, Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications, *Adv. Healthc. Mater.*, **2017**, 1700845.
2. H. Deng, X. L. Li, Q. Peng, X. Wang, J. P. Chen, Y. D. Li, Monodisperse Magnetic Single-Crystal Ferrite Microspheres, *Angewandte. Chemie.*, **2004**, 44, 2782-2785.
3. W. Wang, A. Zheng, Y. Jiang, D. S. Lan, F. H. Lu, L. L. Zheng, L. Zhuang, R. J. Hong, Large-scale preparation of size-controlled $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ particles for electrophoretic display with non-iridescent structural colors, *RSC Adv.*, **2019**, 9, 498-506.
4. M. Zhang, L. X. Li, B. C. Li, N. Tian, M. J. Yang, H. Zhang, C. G. You, J. P. Zhang, Adsorption of DNA by using polydopamine modified magnetic nanoparticles based on solid-phase extraction, *Anal. Biochem.*, **2019**, 579, 9-17.

Exploring fatty acids biomarkers of obesity for children based on GC-MS with on-line derivatization and multivariate statistical analysis

Zhi Huang¹, Ping Guo¹, Ying Wang¹, Ziming Li², Xiaochen Yin², Ming Chen², Yuming Hu^{2,*} and Bo Chen^{1,*}

1. Key Laboratory of Phytochemical R&D of Hunan Province, School of Chemistry & Chemical Engineering, Hunan Normal University, Changsha, 410006.

2. The department of Toxicology, Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha, 410005.

Correspondence: huyuming@vip.sina.com (Y.H.); dr-chenpo@vip.sina.com (B.C.)

Abstract Background Biomarker represented dynamic change of individual metabolism is crucial for the precision prevention and treatment of obesity. The aim of this study is to establish a rapid method to detect plasma fatty acids profiles and identify fatty acids biomarkers with obesity.

Methods 94 children (50 normals, 26 who were overweight and 18 with obesity) between 5 and 7 years of age were recruited. Fatty acid profiles of plasma from children were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) with on-line derivatization. Then, the multivariate statistical method of principal component analysis (PCA) and Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was used to identify biomarkers for obesity. **Results** A total of 11 plasma fatty acids were detected. C16:0, C18:0, C18:1n-9, C18:2n-6 and C20:4n-6 accounted for more than 90 % of the total fatty acids. C20:3n-6 is a related biomarker to distinguish normal and overweight or obesity. C16:0, SFA, C18:2n-6, n-6 PUFA and PUFA are related markers to distinguish overweight and obesity in children. **Conclusion** Plasma fatty acids are effected biomarkers of obesity for children and GC-MS with on-line derivatization is a rapid and effective tool for the analysis of plasma fatty acids.

Keywords On-line derivatization; Multivariate statistical analysis; Obesity; Overweight; Fatty acids.

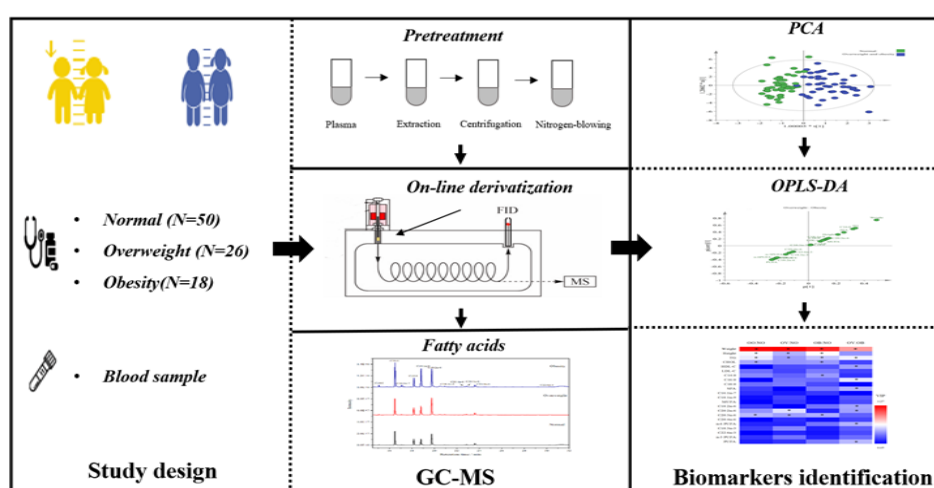


Figure 1 Graphical abstract

Funding This research was funded by the National Natural Science Foundation of China (21775040, 21775041, 21575040), the Aid Program for S&T innovation research team in higher education in-stitutions,

the construction program of key disciplines of Hunan Province (2015JC1001).

Reference

1. Jauregibeitia, I.; Portune, K.; Rica, I.; Tueros, I.; Velasco, O.; Grau, G.; Trebolazabala, N.; Castano, L.; Larocca, A.V.; Ferreri, C., et al. Fatty Acid Profile of Mature Red Blood Cell Membranes and Dietary Intake as a New Approach to Characterize Children with Overweight and Obesity. *Nutrients* 2020, 12, doi:10.3390/nu12113446.
2. Chen, Y.Q.; Shen, H.; Yang, R.J.; Wan, J.B. Accurate quantification of endogenous N-acylethanolamides by chemical isotope labeling coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2021, 1179, 338839, doi:10.1016/j.aca.2021.338839.
3. Dai, L.; Goncalves, C.M.; Lin, Z.; Huang, J.; Lu, H.; Yi, L.; Liang, Y.; Wang, D.; An, D. Exploring metabolic syndrome serum free fatty acid profiles based on GC-SIM-MS combined with random forests and canonical correlation analysis. *Talanta* 2015, 135, 108-114, doi:10.1016/j.talanta.2014.12.039.
4. Gomes Reis, M.; dos Reis, M.M.; Leath, S.; Stelwagen, K. Direct analysis of fatty acid profile from milk by thermochemolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2011, 1218, 316-323, doi:10.1016/j.chroma.2010.11.011.

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术大会

化学发光光纤传感器在痕量生物标记物检测中的应用

杨巾栏*, 赵思琪, 李顶松, 杨丽*

东北师范大学化学学院

通讯联系人 E-mail: yangjl282@nenu.edu.cn; yangl330@nenu.edu.cn

痕量生物标记物的超灵敏检测是分析化学领域关注的热点问题, 在临床诊断以及药物评估等领域有着极为重要的作用。化学发光生物传感器由于其高度的特异性和灵敏度, 无需外界激发光源和复杂的仪器, 操作简单等优点, 在生物标志物的分析检测中的优势愈发明显。在化学发光传感器的构建中, 光纤是一种理想的生物识别分子固相载体和优良的光信号的传导介质, 具有易于修饰, 微米级尺寸, 试剂消耗少等优点, 可在构建小型化的生物传感器的同时简化分析流程。尽管光纤具有以上优点, 但其极小的表面积导致固定生物识别分子的空间有限, 同时也限制了光纤化学发光传感器检测的灵敏度。

针对这一问题, 我们发展了一些新型的技术方法构建化学发光光纤传感器, 极大地提高了其检测灵敏度^[1,2]。这些技术方法一般基于以下两种战略: 一是使用微纳材料修饰光纤表面, 有效增加光纤比表面积, 使更多的识别分子被固定, 从而提高传感器响应; 另一种是增强化学发光信号, 通过设计专门的检测系统来提高发射的收集效率, 或者在化学发光检测中引入信号放大策略, 提升传感器的响应。在最新的研究工作中, 我们构建了基于适配体特异性识别和核酸位点特异性识别的光纤传感器, 将等温核酸信号扩增策略引入到光纤传感器的表面, 进一步提升了光纤的检测灵敏度, 同时并基于该策略开发了便携式的标记物现场检测设备, 成功应用于人血清样本中癌胚抗原和髓过氧化物酶的高灵敏检测, 检测极限分别低至 3.2 fg/mL 和 0.0017 mU/mL^[3,4]。我们的研究为生物样本中疾病标志物的即时快速检测提供了一种非常有前景的方法。

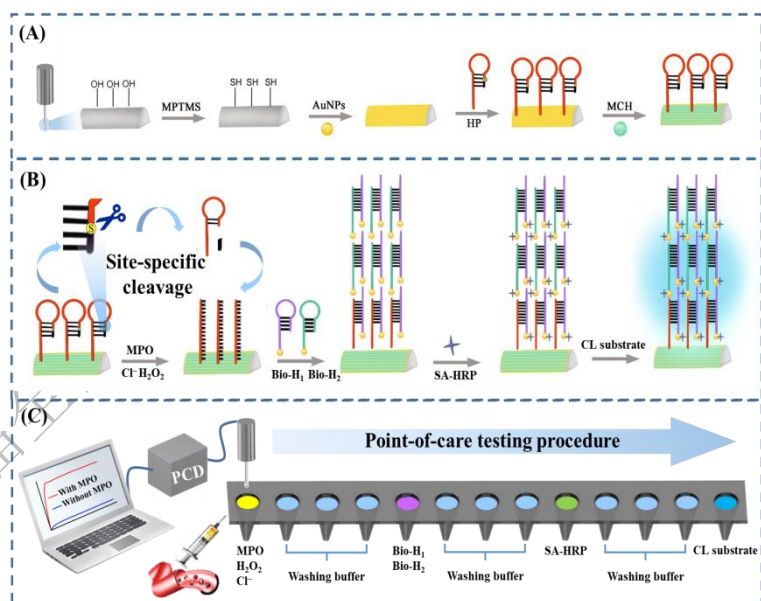


图 1. 基于位点特异性切割的化学发光光纤生物传感器构建和便携式设备的研发

参考文献:

1. R. Nie, J. Huang, X. Xu, L. Yang*, *Anal. Chem.* 2020, 92, 6257.
2. X. Xu, R. Nie, J. Huang, L. Yang*, *Sensors* 2020, 20, 4912.
3. S. Zhao, J. Huang, D. Li, L. Yang*, *Biosens. Bioelectron.* 2022, 214, 114505.
4. J. Yang, D. Li, Y. Jia, L. Yang*, *Sensor. Actuat. B-Chem.* 2023, 384, 133629.

质谱成像技术在生物医药领域的应用

狄双双^{1,2}, 王光熙³, 郭丽梅³, 王文军⁴, 李娜^{1,2}, 聂洪港^{*1,2}

1. 北京大学化学与分子工程学院, 北京分子科学国家研究中心, 北京, 100871;

2. 北京大学分析测试中心, 北京, 100871;

3. 北京大学医学部病理学系, 北京 100091;

4. 北京君飞科技有限公司, 北京, 100081.

通讯联系人 E-mail: hgnc@pku.edu.cn

质谱成像技术是一种结合质谱检测与分子成像的可视化技术, 通过对样品切片逐点或逐行连续采集质谱信号, 将某一质核比离子的相对强度用以亮度的形式在对应的空间位置展现出来, 从而得到不同离子在样品切片中分子的空间分布和含量变化信息。质谱成像技术通常不需要标记, 就可以实现生物组织中成百上千中物质的定性、定量和定位分析, 结合生物信息学分析, 发展为空间代谢组学方法, 可从生物组织原位发现差异代谢物, 并识别其生物学功能。本工作主要介绍了采用常压基质辅助激光解析电离质谱成像技术在研究肺癌(1) (图1)、胰腺癌(2)、高血脂症(3) (图2) 等多种疾病的过程中的具体应用, 以及在食品、中药和环境研究中的应用情况。

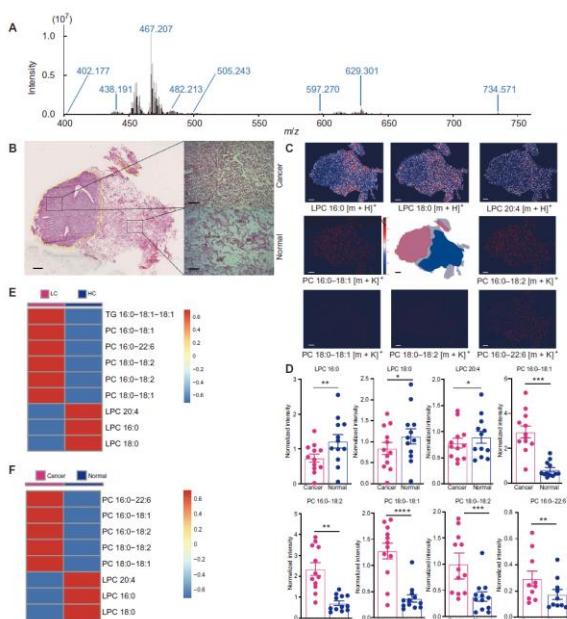


图1. 早期肝癌组织质谱成像相关结果

(A) 肝癌组织质谱图; (B) 肝癌组织切片染色图; (C) 肝癌组织质谱成像图; (D) 质谱成像中脂质分子的t检验结果($n = 12$). t. $*P \leq 0.05$; $**P \leq 0.01$; $***P \leq 0.001$; $****P \leq 0.0001$; (E) 脂质组学数据热图; (F) 质谱成像数据热图。

参考文献:

1. Wang GX, Qiu MT, Xing XD, Zhou JT, Yao HT, Li MR, et al. Lung cancer scRNA-seq and lipidomics reveal aberrant lipid metabolism for early-stage diagnosis. *Sci Transl Med.* 2022;14(630):14.
2. Wang GX, Yao HT, Gong Y, Lu ZP, Pang RF, Li Y, et al. Metabolic detection and systems analyses of pancreatic ductal adenocarcinoma through machine learning, lipidomics, and multi-omics. *Sci Adv.* 2021;7(52):13.
3. Mao H, Wang W, Xiang X, Li Y, Zhao J, Huang Y, et al. Analysis of Metabolite Distribution in Rat Liver of High-Fat Model by Mass Spectrometry Imaging. *Metabolites.* 2023;13(3):411.

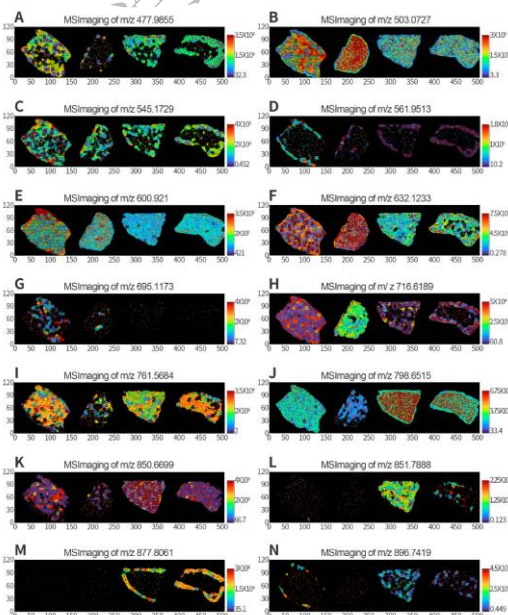


图2. 对照鼠与高脂血症鼠肝脏质谱成像结果。

(A-N) 分别是 m/z of 477.9855, 503.0727, 545.1729, 561.9513, 600.921, 632.1233, 695.1173, 716.6189, 761.5684, 798.6515, 850.6699, 851.7888, 877.8061和896.7419的代谢物质谱成像结果。(所有图中由左至右分别为对照14周、对照8周、高脂14周和高脂8周鼠的肝组织)

高效凝胶电泳耦合 UHPLC-MS/MS 分析 DNA 表观遗传修饰

郑婧, 汪海林*

(中国科学院生态环境研究中心, 北京, 100085)

通讯联系人 E-mail: hlwang@reccs.ac.cn

电泳技术因其强大的分离能力而广泛应用于氨基酸、核苷酸、多肽、蛋白质等物质的分离与鉴定。1955 年, 研究人员通过淀粉胶电泳技术, 区分了正常人血清中蛋白组分的分组变异¹。受此启发, 在凝胶基质中的基于分子量大小的电泳分离方法也开始应用于分离核酸分子^{2,3}。超高效液相色谱串联质谱(UHPLC-MS/MS)技术可用于各种 DNA 修饰的准确鉴定和定量, 是测定表观遗传 DNA 修饰的丰度和生物学功能的有力工具。在进行 UHPLC-MS/MS 分析之前, 必须先从细胞或组织中提取 DNA, 然后通过核酸酶消化为单核苷。为研究 DNA 修饰在基因组水平的丰度, 对 DNA 提取、酶解、核苷衍生以及色谱流动相选择等步骤做出了一系列改进优化以提高质谱检测的灵敏度和效率。由 DNA 修饰介导的生物过程在过去几十年中得到了广泛的研究, 其中 5-甲基胞嘧啶(5mC)修饰是最丰富的一种, 参与多种发育和生理过程, 甚至在人类疾病中都对基因表达产生广泛的影响^{4,5}。

提取基因组 DNA 后直接酶解再进行 UHPLC-MS/MS 分析只能检测 DNA 修饰在全基因组的水平。对于含量低的非染色质基因组 DNA 以及染色质基因组 DNA 上的亚染色质结构, 如线粒体 DNA⁶、染色质外环状 DNA⁷ 和核基质附着区⁸, 想要对其上的 DNA 修饰进行更精准的分析 and 定量, 就需要对目的 DNA 进行更精准的提取和分离。

在本研究中, 我们建立并优化了 DNA 样品分离酶解技术, 结合 UHPLC-MS/MS 分析, 为复杂、少量 DNA 样品在减少样品损耗的同时获得更准确的修饰信息提供了可行的方法。

参考文献:

1. Smithies, O., *Biochem. J.* **1955**, *61* (4), 629-41.
2. Bachvaroff, R.; McMaster, P. R., *Science* **1964**, *143* (3611), 1177-9.
3. Bishop, D. H. L.; Claybroo, Jr; Spiegelm, S., *J. Mol. Biol.* **1967**, *26* (3), 373-&.
4. Downen, R. H.; Pelizzola, M.; Schmitz, R. J.; Lister, R.; Downen, J. M.; Nery, J. R.; Dixon, J. E.; Ecker, J. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2012**, *109* (32), E2183-E2191.
5. De Smet, C.; Lurquin, C.; Lethe, B.; Martelange, V.; Boon, T., *Mol. Cell. Biol.* **1999**, *19* (11), 7327-7335.
6. Hao, Z.; Wu, T.; Cui, X.; Zhu, P.; Tan, C.; Dou, X.; Hsu, K. W.; Lin, Y. T.; Peng, P. H.; Zhang, L. S.; Gao, Y.; Hu, L.; Sun, H. L.; Zhu, A.; Liu, J.; Wu, K. J.; He, C., *Mol. Cell* **2020**, *78* (3), 382-395 e8.
7. Wang, Y. G.; Wang, M.; Djekidel, M. N.; Chen, H.; Liu, D.; Alt, F. W.; Zhang, Y., *Nature* **2021**, *599* (7884), 308+.
8. Zhang, R.; Lai, W. Y.; Wang, H. L., *Anal. Chem.* **2021**, *93* (47), 15567-15572.

基于脱氨酶的 R-loop 分析

房天骄, 赖玮毅, 楚富云, 高美茜, 汪海林*

中国科学院生态环境研究中心

通讯联系人 E-mail: HLWang@rcees.ac.cn

R-loop 是一类由 DNA: RNA 杂合体和单链 DNA 组成的特殊三链核酸结构。它在基因转录调控、免疫球蛋白类别转换重组、DNA 复制和修复等生物过程中发挥着积极的生理学作用。然而, R-loop 的存在可能会威胁基因组的稳定性和完整性, 其异常积累与一些人类疾病和癌症的发生有关。因此, 准确定位 R-loop 在基因组的位置对于了解其分布特征、动态形成和解析以及相关生物学功能具有重要意义。

我们提出了一种基于单链 DNA 脱氨酶的 R-loop 分析测序方法。利用重组脱氨酶在体外温和高效的脱氨反应, 在 R-loop 暴露的单链 DNA 中产生胞嘧啶 (dC) 到尿嘧啶 (dU) 的转换。在本课题组前期发展的多种高灵敏准确的脱氧核苷和表观遗传修饰的 HPLC-MS/MS 分析方法的基础上, 我们发展了 dU 的检测方法, 以 RNaseH 处理消除 R-loop 结构作为对照, 通过在整体水平上 dU 含量的变化来识别和定量 R-loop。此外, 我们选择和优化了适合于脱氨后 gDNA 的单链 DNA 文库构建方法, 期望结合高通量测序以及生物信息学分析流程, 以接近单碱基分辨率在全基因组水平上识别和定位 R-loop。

参考文献:

1. T. García-Muse, A. Aguilera, *Cell*, **2019**, 179, 604-618.
2. B. Liu, X. Liu, W. Lai, H. Wang, *Anal. Chem.*, **2017**, 89, 6202-6209.

五氯酚代谢物影响斑马鱼胚胎的羟甲基化水平

王芳, 赖玮毅, 汪海林*

中国科学院生态环境研究中心环境, 江汉大学环境与健康学院

通讯联系人 E-mail: HLWang@rcees.ac.cn

5-羟甲基化胞嘧啶 (5-hydroxymethylcytosine, 5hmC) 是生物中常见的表观遗传标记, 具有非常重要的生物学功能。5hmC 不仅参与了染色体重新编程、基因表达的转录调控, 而且还可以作为肿瘤的一种标志物¹。高效液相色谱串联质谱 (High performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS) 可以灵敏且精确地分析 5hmC 水平的变化。

据报道五氯酚 (Pentachlorophenol, PCP) 是一种型的持久性有机污染物, 具有高毒性、持久性、生物积累性、并有很强的致癌、致畸、致突变性²。PCP 在全球范围被广泛用作杀菌剂和木材防腐剂, 在水体中普遍存在。

目前, 国内外关于 PCP 及其代谢物的毒性研究多集中在其急性毒性、胚胎毒性等方面, 但是关于 PCP 及其代谢物对斑马鱼早期胚胎 5hmC 水平的研究较少。因此, 我们以斑马鱼胚胎为模型, 研究五氯酚代谢物对斑马鱼胚胎 5hmC 水平的影响, 探究致癌机制。

参考文献:

1. Bachman, M.; Uribe-Lewis, S.; Yang, X.; Williams, M.; Murrell, A.; Balasubramanian, S., 5-Hydroxymethylcytosine is a predominantly stable DNA modification. *Nat Chem* **2014**, *6* (12), 1049-55.
2. Li, J.; Wang, W.; Moe, B.; Wang, H.; Li, X. F., Chemical and toxicological characterization of halobenzoquinones, an emerging class of disinfection byproducts. *Chem Res Toxicol* **2015**, *28* (3), 306-18.

高效等电聚焦微阵列芯片用于成人 β -地中海贫血筛查查根哈¹, 肖璇², 田佑吏³, 陈萍^{2*}, 张强^{1*}, 曹成喜^{1,2}

1. 上海交通大学电子信息与电气工程学院, 2. 广西医科大学第一附属医院, 3. 上海交通大学生命科学技术学院

通讯联系人 E-mail: billy_zq@sjtu.edu.cn

地中海贫血症 (Thalassemia), 连同镰状细胞贫血和血红蛋白变异体, 是一类普遍的遗传性 Hb 疾病, 全球有 2.87 亿地中海贫血携带者、4.61 亿镰状细胞贫血患者和 1.51 亿 Hb 变异体患者[1]。地中海贫血的两种主要根治方法是基因治疗[2]和骨髓移植[3], 但其治疗费用昂贵。因此, 婚前和产前筛查对于降低患者的出生率和致病基因频率至关重要[4]。大多数筛查方法都有诸多优点, 如自动化程度高, 快速等, 但是毛细管等电聚焦(IEF)、液相色谱(LC)和毛细管区带电泳(CZE)在血红蛋白病筛查中分辨率较低。其中, 经典等电聚焦因其分辨率高而受到广泛关注和用于 Hb 测定[5]。然而, 基于自然 pH 梯度的 IEF 容易受到 pH 梯度不稳定性的影响[6]。为了改善不稳定性, 开发了固定 pH 梯度(IPG), 但仍然存在自动化差、吞吐量低和耗时长的问题[7], 不适用于大规模临床筛查。为了解决上述问题, 开发了自动 IPG 微柱 IEF (mIEF) 阵列芯片, 用于血红蛋白分析。

本方法首先采集待测样本静脉血或者指尖血 1 μ L, 使用红细胞裂解液裂解并稀释 900 倍, 加入最终浓度为 0.4% (v/v)、pH 5.2-7.8 的载体两性电解质, 取 25 μ L 稀释液到微柱上用于上样, 样品在 200v 电压下聚焦 1min, 400v 电压下聚焦 2min, 600v 电压下聚焦 7min, 等电聚焦在 12 分钟内完成, 最后 1min 进行成像和分析。

实验结果表明, 芯片上的 Hb A、F、A₂ 和变异体种类得到清晰分离, 分辨率大大高于 LC/CZE/cIEF。本装置最多可同时分析 24 个样品, 运行时间仅需 12 分钟。本方法的日内和日间相对标准偏差分别为 3.32-4.91% 和 4.07-5.33%。将 mIEF 的测定结果与 LC (n=327) 和 PCR (n=307) 进行比较, 共测定了 634 个样品。当以 3.5% HbA₂ 为截断值时, mIEF 筛查的灵敏度为 100%, 特异度为 89.1%; 如果参考 HbA₂ 和 F, 则 mIEF 和 PCR 的符合率为 96.7%。与目前使用的方法相比, 该方法具有便捷、高效、特异性和灵敏性的优点, 暗示着其在 β -地中海贫血和血红蛋白病筛查中具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators, *Lancet*, **2017**, 90, 1211-1259.
- [2] H. Gabr, M. K. E. Ghamrawy, A. H. Almaeen, A. S. Abdelhafiz, A. O. S. Hassan, M. H. E. Sissy, *Stem Cell Res. Ther.*, **2020**, 11, 390-398.
- [3] J. Gaziev, A. Isgro, K. Paciaroni, M. Marziali, G. D. Angelis, M. Ribersani, C. Alfieri, M. Andreani. *Blood*, **2018**, 132, 5777.
- [4] D. Z. Li, Y. D. Yang, *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, **2017**, 39, 41-52.
- [5] H. Srivorakun, G. Fucharoen, K. Sanchaisuriya, S. Fucharoen, *Int. J. Lab. Hematol.*, **2017**, 39, 101-111.
- [6] C. X. Cao, L. Y. Fan, W. Zhang, *Analyst*, **2008**, 133, 1139-1157.
- [7] G. Q. Li, H. G. Li, F. F. Dong, Y. F. Bi, Q. Zhang, F. Z. Kong, X. P. Liu, S. Saud, H. Xiao, F. Luo, Y. Peng, H. J. Lu, L. Y. Fan, Y. X. Wang, C. X. Cao, *Anal. Chim. Acta*, **2019**, 1063, 178-186.

安捷伦 Protein A-SEC/CEX 2D-LC 多维表征单抗关键质量属性

周洁¹, 邢占磊¹, 刘彬¹

¹安捷伦科技(中国)有限公司, 北京, 100102

*E-mail: Bin.Liu@agilent.com

关键词: MHC-2D-LC, Protein A-SEC/CEX, 单克隆抗体, 聚集体, 电荷异质性

治疗性单克隆抗体 (mAb) 具有对分析要求很高的结构复杂性。这些通过生物技术生产出来的药物是由两条轻链和重链上的大约 1300 个氨基酸组成, 整个 mAb 分子量约 150kDa, 并且为了实现生物学活性, 空间构型呈现四级结构。这些组成的氨基酸可以进一步共翻译或者翻译后修饰, 产生各种电荷或者疏水异构体。四级结构也可以产生碎片或者进一步形成聚集体。这些结构上的变化, 都会给药物的治疗性、安全性、有效性带来风险。因此, 有别于小分子药物的质量控制, mAb 的质量属性决定了检测项目和检测技术要更加具有多样性。这也增加了质量控制的难度和复杂性。

为了简化 CQA 的操作流程和提高分析效率, 通过在一套系统中整合不同的分析技术, 实现 MW、氨基酸序列、聚集体、氧化还原、电荷异质性等质量属性的控制, MAA 原则得到了业界广泛认可。而 2D-LC 技术, 就是 MAA 原则应用的成功范式。

本文通过安捷伦专属 MHC-2D-LC 技术, 将 Protein A 亲和色谱、体积排阻色谱 (SEC) 以及阳离子交换色谱 (CEX) 结合起来, 实现了 mAb 滴度分析、聚集体以及片段分析和电荷异质性分析的自动化流程。利用 Protein A-SEC 方法, 考察 2D-LC 方案所得主成分与聚集体分离度、灵敏度等, SEC 第二维分离度及灵敏度良好。同时, Protein A-SEC 在线二维分析技术也减少了 mAb 在经过亲和色谱纯化后由于传统离线 SEC 发生进一步聚集的风险, 能够更真实地表征样品本身的质量属性。利用 Protein A-CEX 方法, 可以分别切割 Protein A 洗脱峰的不同位置所得 CEX 中酸性变体与主成分比例。不同位置聚集体与主成分比例基本相同, 可通过切割峰尖位置的结果表征整个 Protein A 内酸性结构变异体的结果。

使用 Agilent 1290 Infinity II 2DLC 液相系统可以将生产所得发酵液过膜后直接进样, 在一维滴度的前提下, 利用 2DLC 原理第二维分别使用 SEC 与 CEX 柱, 获得聚集体以及酸性变异体的相关信息。Protein A-SEC 模式可直接采取大体积进样, 即可获得 SEC 的良好分离; Protein A-CEX 模式需使用 Agilent 独特的 ASM 阀, 可通过在线稀释功能稀释 protein A 中大量的盐, 以期在 CEX 色谱柱获得保留并降低溶剂效应。

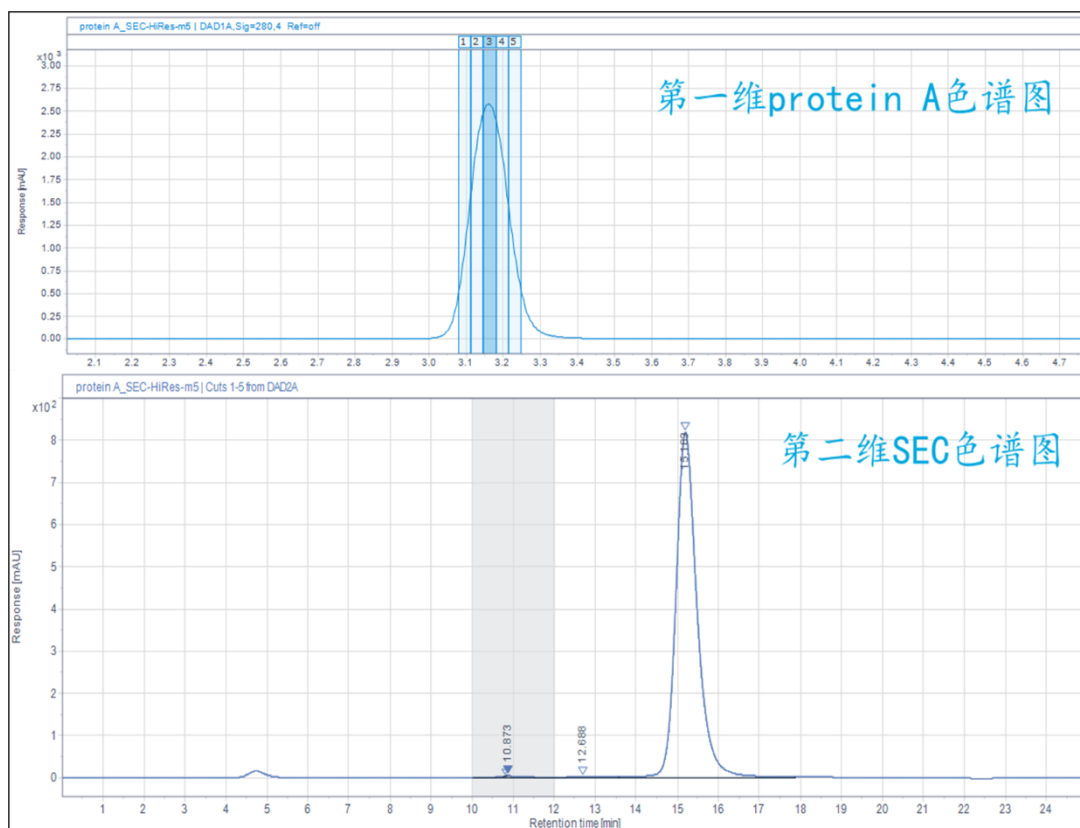


Fig. 1 Figure for the Protein A-SEC

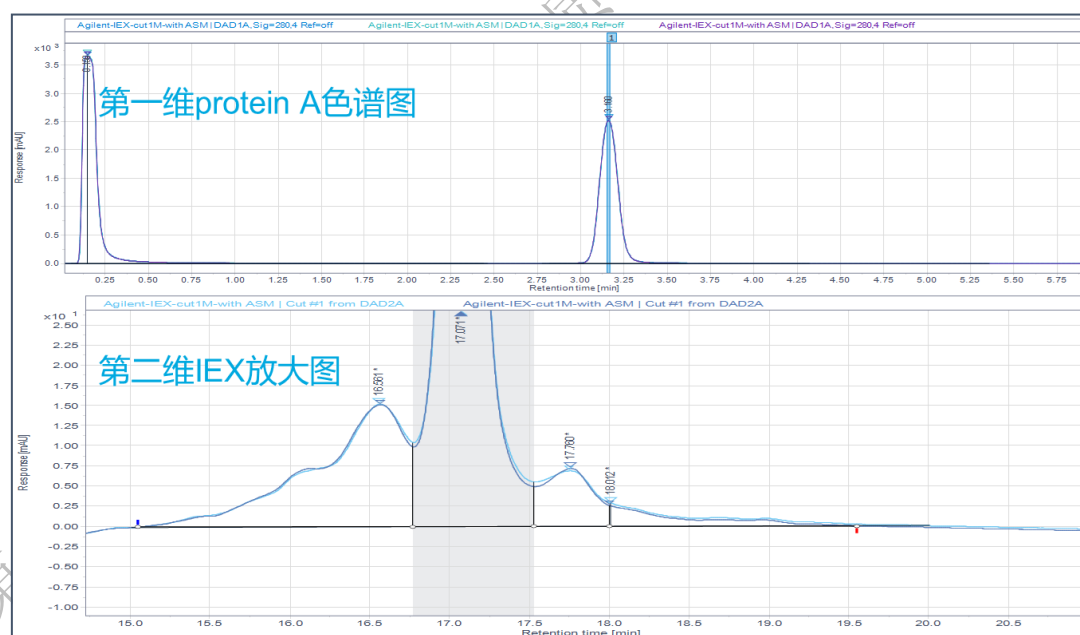


Fig. 2 Figure for the Protein A-CEX

参考文献:

1. S Schipperges, S Schneider, and U Huber. Determination of Multiple Attributes of Monoclonal Antibodies. Agilent Technologies, 2021, 5994-3521EN

采用 Agilent 1290 Infinity II ELSD 分析基因治疗 AAV 病毒原液中的转染试剂 PEI 残留

殷承华*, 张婷婷, 鲁锐

安捷伦科技(中国)有限公司

通讯联系人 E-mail: cheng-hua.yin@agilent.com

本文介绍了利用Agilent 1290 Infinity II ELSD和Poroshell 120 CS-C18色谱柱 (3.0 mm×100 mm, 2.7 μm) 对AAV病毒原液中的转染试剂聚乙烯亚胺 (Polyethyleneimine, PEI) 残留进行定量分析的方法。条件采用含 0.2% 三氟乙酸水溶液和 0.2% 三氟乙酸乙腈溶液为流动相, 使用梯度条件对病毒原液中的 PEI 进行分离和检测。该方法操作方便、分离度好、灵敏度高, 且具有良好的线性关系、精密度、准确度和加标回收率, 为生物制药企业测定基因治疗病毒原液中 PEI 残留含量检测提供一种优异的解决方案。

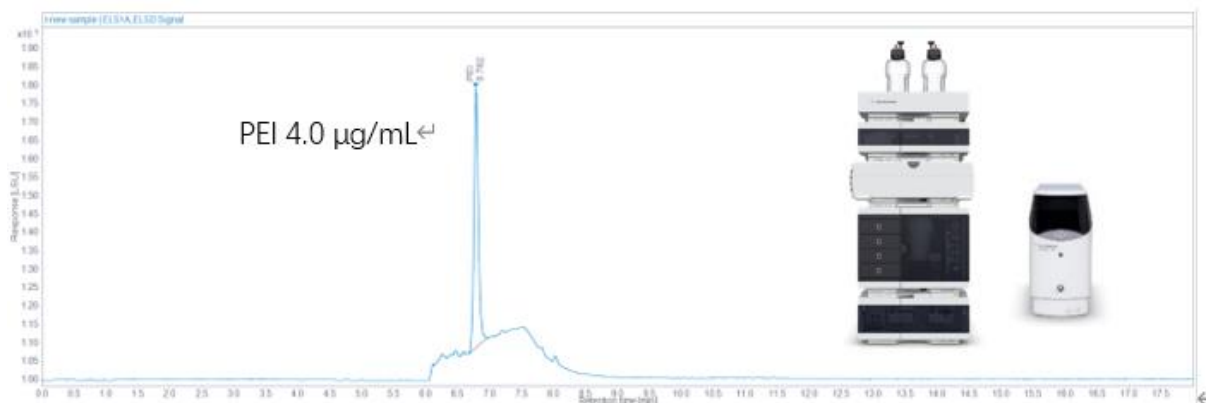


图 1. HPLC-ELSD 液相色谱法分析检测聚乙烯亚胺 PEI (4.0 μg/mL) 的色谱图

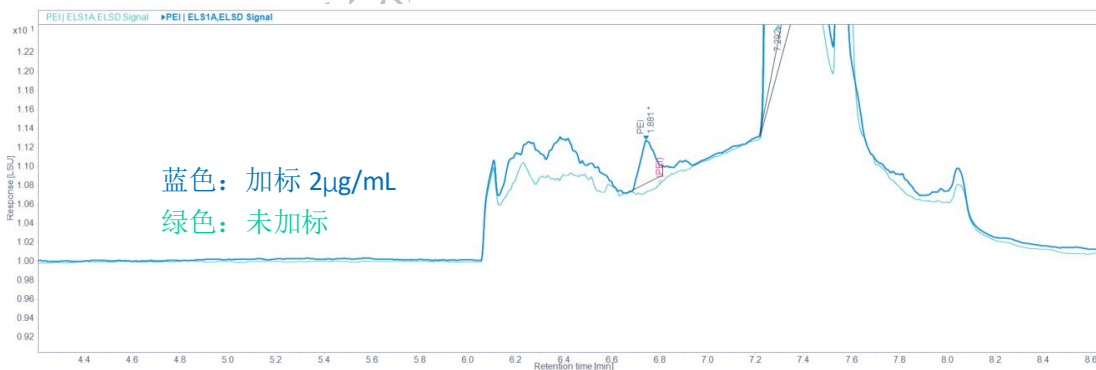


图 2. 未加标病毒原液样品和 PEI 加标浓度为 2 μg/mL 的病毒原液样品的叠加色谱图

参考文献:

1. 安捷伦生物制药辅料及生产工艺残留分析解决方案, 安捷伦科技(中国)有限公司应用文集, 出版号 5994-3710ZHCN, 2021

使用 LC-MSD 对 ADC 药物中游离的小分子毒素进行定量分析

沈梦洁*, 鲁锐

安捷伦科技(中国)有限公司上海第一分公司

通讯联系人 E-mail: meng-jie.shen@agilent.com

抗体偶联药物 (antibody-drug conjugate, ADC) 是将小分子毒素药物与单克隆抗体通过连接子 (linker) 偶联, 利用单克隆抗体的靶向性、特异性去识别肿瘤细胞, 释放小分子毒素, 杀死肿瘤细胞, 具有高靶向性和高药效的优点^[1]。MMAE (Monomethylauristatine, 单甲基奥瑞他汀E) 是常用的小分子毒素 (drug)^[2]。在ADC药物设计中, 通过将马来酰亚胺和MMAE连接形成马来酰亚胺-vc-MMAE (Linker-drug, 以下简称为vc-MMAE), 再连接到抗体上。最后会将多余的drug和Linker-drug除去, 但仍有可能有少量游离的MMAE和vc-MMAE残留在产品中。此外, 已偶联上的小分子在药物存放过程中有可能会从ADC上脱落。游离的小分子毒素无靶向性, 毒性大, 会影响ADC药物的安全性^[3]。因此, 监测ADC药物中游离的小分子毒素的含量非常重要。本文使用Agilent 1290 Infinity II 超高效液相色谱 (UHPLC) 系统和Agilent 6125C 单四极杆质谱检测器, 为ADC药物中游离的小分子毒素MMAE和vc-MMAE的定量建立了两种分析方法。方法一采用含0.1% 甲酸的乙腈和含0.1% 甲酸的水溶液作为流动相, 使用Agilent PLRP-S, 2.1 × 50 mm, 5 μm, 1000 Å 色谱柱, 样品经流动相适当稀释后, 以梯度方法在20分钟内对游离小分子MMAE和vc-MMAE与基质进行分离。质谱检测器使用 m/z=718.3 (MMAE的[M+H]⁺) 和 m/z=658.9 (vc-MMAE的[M+2H]²⁺) 的选择离子模式进行检测, 此外, 通过质谱上的阀切换将目标物质切入质谱, 将基质切入废液可以避免检测器污染。该方法操作简便, MMAE和vc-MMAE在0.01 μg/mL-1 μg/mL浓度范围内, 相关系数R²大于0.999; 且方法重复性好, 浓度为0.01 μg/mL 的MMAE和vc-MMAE混标溶液连续进样5针, 保留时间RSD分别为0.17%和0.08%, 面积的RSD分别为1.03%和1.67%; 回收率为85.0%-102.2%。方法二, 样品需经有机溶剂沉淀的方式去除样品中主要基质, 再使用Poroshell 120 SB-C8, 3.0 × 50 mm, 2.7 μm 色谱柱对MMAE和vc-MMAE 进行分离, 该方法同样具有良好的线性关系、精密度和准确度。使用方法二时, MMAE和vc-MMAE在6.25 ng/mL-1 μg/mL的浓度范围内, 相关系数R²大于0.999; 以线性最低点浓度连续进样5针, MMAE和vc-MMAE的保留时间RSD分别为0.22%和0.03%, 面积的RSD分别为2.22%和4.11%; 回收率在83.8%-99.7%。与方法一相比, 方法二虽有简单的样品前处理过程, 但该方法具有更高的灵敏度。本文的两种分析方法可为生物制药企监测ADC药物中游离的小分子提供可选的解决方案。

参考文献:

1. 姚雪静. 抗体药物偶联物的研究进展. *中外医学研究*, 2020, 452(12): 185-188.
2. Ilona Pysz, Paul J.M. Jackson, et al. *J. Chromatogram. B* 1146 (2020) 122075.
3. 张弛, 周维, 黄鹏, 刘君. 专利/CN 112285238 A.

衍生化辅助的双电压扫描质谱技术—胆汁酸深度分析研究

王彦真, 朱泉霏*, 冯钰琦*

武汉大学化学与分子科学学院, 武汉, 430072

通讯联系人 E-mail: yqfeng@whu.edu.cn; qf_zhu@whu.edu.cn

Bile acids (BAs) are a kind of the gut microbiota-host co-metabolites with the abundant structural diversity, and play an essential role in maintaining gut microbiota-host metabolic homeostasis^[1]. Recently, Quinn et al. found that gut microbes mediate the conjugations between free BA and amino acids (phenylalanine, tyrosine, and leucine conjugates of cholic acid)^[2]. The new findings imply that a large number of new conjugates of BAs in host-microbiota co-metabolism remains uncovered. In this study, we described a new derivatization-assisted alternating dual-collision energy scanning mass spectrometry (AMPP-dual-CE MS) strategy for in-depth profiling of BA metabolome in mice (Fig.1). We discovered and characterized novel conjugation types of host BAs, amino acid conjugations (alanine conjugation and proline conjugation) and acetyl conjugation. Additionally, new leucine- and phenylalanine-conjugated BAs with the different sterol backbone were also discovered and characterized. The findings in this work broaden the knowledge of BA conjugates, and provide the substantial insights into structural diversity of BAs derived from gut microbiota.

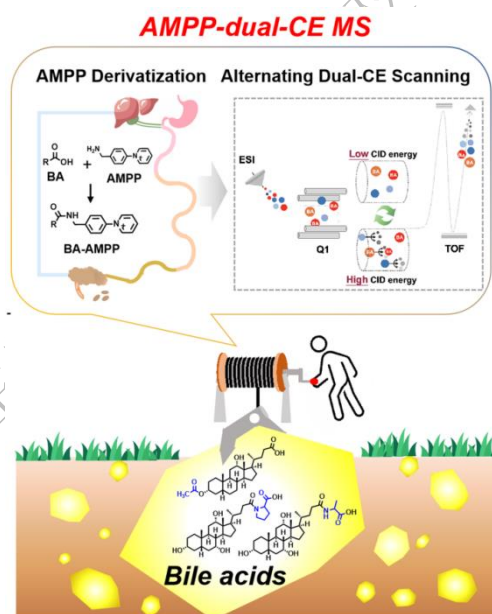


Fig. 1 Schematic diagram of AMPP derivatization-assisted alternating dual-collision energy scanning mass spectrometry (AMPP-dual-CE MS) strategy for profiling bile acids.

参考文献

- Perino, A., Schoonjans, K. Metabolic Messengers: bile acids. *Nat Metab* **4**, 416 – 423 (2022).
- Quinn, R.A., Melnik, A.V., Vrbanac, A. et al. Global chemical effects of the microbiome include new bile-acid conjugations. *Nature* **579**, 123 – 129 (2020).

器官特异性代谢物注释方法助力药物代谢组学研究

朱颖¹, 臧清策¹, 付雅馨¹, 纪文明¹, 刘率男¹, 申竹芳¹, 张瑞萍¹, 再帕尔·阿不力孜^{1,2,*}

¹ 中国医学科学院, 北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京, 100050

² 中央民族大学, 生物成像与系统生物学研究中心, 北京, 100081

E-mail: zeper@imm.ac.cn

代谢组学关注生物体受外源因素扰动后内源性小分子代谢物的整体变化规律, 在疾病发生发展和药物作用的分子机制研究中发挥了重要作用, 得益于质谱分析的高灵敏度和宽覆盖范围, LC-MS 可获得生物体上千个代谢物的结构、含量等信息, 但由于代谢物数目多, 大量非代谢物背景信号, 使得代谢物注释鉴定成为研究的难点问题。本研究建立了一种器官特异性代谢物注释方法, 采用 LC-MS/MS 的数据依赖性采集 (DDA) 模式获得小鼠脑、肝、肾、心、脾、肺、肌肉、胰腺 8 个器官和血清丰富的二级质谱信息, 鉴定出共计 1620 个不同的代谢物, 利用鉴定的代谢物构建器官特异性代谢物数据库, 通过加合离子预测扩充, 建立了包含 27407 个离子同时适用于 LC-MS 和 MSI 的质谱数据库。进一步开发自动化工具 MSIannotator, 能在三分钟内完成对数百个离子的注释, 操作简单耗时短, 实现了高覆盖范围、高效率和高可信度的代谢物注释。

2 型糖尿病 (T2D) 是严重威胁人类健康的代谢疾病, 可引起多个组织器官损伤, 组织器官的代谢失调也可诱导 T2D, 尤其是糖脂代谢失调。2936-Na 是一种新的抗糖尿病候选药物, 通过抑制肝脏果糖-1,6-二磷酸酶 (FBPase) 降低血糖^[1,2], 药效研究同时发现还能显著降低血脂, 但降脂作用机制尚不清楚。采用建立的方法, 我们基于 AFADESI-MSI 技术对 T2D 模型和 2936-Na 给药治疗小鼠的整体动物开展空间分辨代谢组学研究, 可视化了药物及其 3 种代谢产物的体内分布, 揭示 2936-Na 的肝脏靶向性, 代谢通路分析发现 2936-Na 引起心脏、肝脏和脑等多个器官代谢通路的变化; 靶向分析了糖、脂肪酸和氨基酸类代谢物, 发现肝脏中多个糖异生代谢物、多不饱和脂肪酸、胆汁酸和生糖氨基酸含量显著下调。进一步基于 AFADESI-MSI 和 LC-MS/MS 技术分析 2936-Na 给药治疗 ZDF 大鼠肝脏和血浆的代谢轮廓, 同样地发现 2936-Na 显著降低肝脏胆汁酸和多不饱和脂肪酸水平, 血浆多种类型脂质含量显著降低, 揭示 2936-Na 可能通过调控肝脏的胆固醇-胆汁酸轴发挥广泛的降脂作用。本研究采用 AFADESI-MSI 和 LC-MS/MS 技术结合器官特异性代谢物注释方法发现 2936-Na 的体内药物代谢及其对全身各组织器官的代谢调控作用, 阐明了 2936-Na 潜在降脂作用机制, 该方法也可用于其他药物促进药物代谢组学研究。

本研究得到国家自然科学基金委国家重大科研仪器设备研制专项 (No. 21927808), 天然药物活性物质与功能国家重点实验室 A 类自主课题 (No. GTZA201807), 北京高校卓越青年科学家计划项目 (No. BJJWZYJH01201910023028) 资助。

关键词: 器官特异性、代谢物注释、抗糖尿病候选药物、药物代谢组学

参考文献:

1. M. Roden, G. I. Shulman, *Nature*, **2019**, 576, 51-60.
2. J. Zhou, J. Bie, X. Wang, Q. Liu, R. Li, H. Chen, J. Hu, H. Cao, W. Ji, Y. Li, S. Liu, Z.-f. Shen, B. Xu, *Journal of Medicinal Chemistry*, **2020**, 63, 10307-10329

组织原位化学衍生化结合敞开式质谱成像可视化食管癌移植瘤氧化脂质时空异质性代谢特征

刘佳琳¹, 臧清策¹, 张瑞萍¹, 再帕尔·阿不力孜^{1,2,*}

1. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京, 100050

2. 中央民族大学 质谱成像与代谢组学国家民委重点实验室, 北京, 100081

3. 中央民族大学 生物成像与系统生物学研究中心, 北京, 100081

E-mail: zeper@imm.ac.cn, zeper@muc.edu.cn (Z.A.)

组织原位化学衍生化 (on-tissue chemical derivatization, OTCD) 能有效提高低丰度、难电离内源性代谢物的电离效率, 从而增强其质谱成像 (mass spectrometry imaging, MSI) 检测灵敏度和覆盖率。氧化脂质在机体的生命活动中有着重要调控作用, 包括炎症反应、免疫防御、内分泌调节, 以及代谢应激等, 与肿瘤的发生发展密切相关, 表征其在肿瘤组织中的时空特征具有挑战性。我们通过结合 OTCD 与空气动力辅助离子化质谱成像技术 (air flow-assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, AFADESI-MSI) 提出了一种可视化肿瘤内氧化脂质代谢异质性的方法。本研究建立食管癌皮下移植瘤小鼠模型, 收集 100 mm³、300 mm³、500 mm³ 和 800 mm³ 不同体积的肿瘤组织以模拟肿瘤进程; 采用吉拉德试剂 P 作为衍生化试剂, 通过缩合反应将易电离的酰肼和季铵基团引入羰基代谢物中; 继而, 比较衍生化前后 AFADESI-MSI 对肿瘤组织氧化脂质的检测能力; 最后通过整合 t-分布邻域嵌入 (t-distribution stochastic neighbor embedding, t-SNE) 和随机森林 (random forest, RF) 以实现 MSI 图中微区的精准分割。结果发现 OTCD 能可视化肿瘤组织中 127 个脂肪醛和 71 个羰基脂肪酸, 显著提高了 AFADESI-MSI 对肿瘤组织氧化脂质的检测灵敏度。t-SNE 与 RF 用于定义肿瘤核心与外周区域间的边界, 并观察到 162 个氧化脂质呈现肿瘤核心区域上调且 11 个氧化脂质随肿瘤进展上调的趋势。通过计算不同体积肿瘤的核心区域面积占肿瘤总面积的比值, 我们发现该比值随肿瘤进展而增大。本研究揭示了氧化脂质随肿瘤进展的时空异质性代谢特征, 体现出 OTCD 结合 MSI 在深入探究肿瘤代谢方面的意义与价值。

本研究得到国家自然科学基金委国家重大科研仪器设备研制专项 (No. 21927808), 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (No. 2022-I2M-2-002) 资助。

关键词: 组织原位化学衍生化, 敞开式质谱成像, 氧化脂质, 食管癌, 代谢异质性

参考文献:

1. C. Harkin, K. W. Smith, F. L. Cruickshank, C. Logan Mackay, B. Flinders, R. M. A. Heeren, T. Moore, S. Brockbank, D. F. Cobice, *Mass Spectrom. Rev.*, **2022**, 41, 662-694.
2. Zang Q, Wang M, Zhu Y, Wang L, Luo Z, Li X, He J, Zhang R and Zeper A, *Anal Chem.*, **2021**, 93(46), 15373-15380.

基于 MICROFASP 方法的高通量高灵敏度蛋白质组学样品处理 集成平台

张振宾*

宁波大学新药技术研究院, 浙江, 宁波, 315211

通讯联系人 E-mail: zhangzhenbin@nbu.edu.cn

常规的蛋白质组学样品预处理方法如胶内酶解法、溶液酶解法和滤膜辅助样品处理方法 (FASP 法) 等, 由于样品与容器接触面积大、样品转移步骤多、需要多次冻干和复溶等, 存在着严重的样品损失, 限制了蛋白质组学方法在临床活检样品、循环肿瘤细胞等微量生物样品中的广泛应用。

为了保留 FASP 方法与表面活性剂兼容性好的优势, 同时减少样品处理过程中的损失, 我们发展了一种微型滤膜辅助样品处理 (MICRO-FASP) 方法, 样品与滤膜接触面积小于 0.1 mm^2 , 整个过程只有两次样品转移步骤, 大大提高样品处理方法的灵敏度。MICROFASP 微反应器可以与反相 C18 或强阳离子交换 (SCX) 微反应器无缝连接, 组成微量样品处理和分级集成平台。采用该集成平台对 $1 \mu\text{g}$ K562 细胞蛋白进行 MICROFASP 处理和高 pH 反相或 SCX 分级。由于减小了微反应器的尺寸, 每个分级步骤只需要 $5 \mu\text{L}$ 的洗脱液, 使得快速洗脱和冻干成为可能。此外, 该馏分被直接洗脱到自动进样器样品瓶中, 避免额外的样品转移步骤和可能的样品损失和污染。采用高 pH 反相分级方法将 $1 \mu\text{g}$ 蛋白酶解产物简单分成四个馏分, 每个组分进行 120 分钟 LC-ESI-MS/MS 分析, 鉴定到 48890 条肽段和 4723 个蛋白质。结果与使用基于 nanoflow 高效液相色谱分级方法相当, 但显著降低了成本和时间消耗。采用 CE-MS 联用技术对分级后的馏分进行分析, 鉴定到 3296 个蛋白和 21985 条肽段, 而对不分级的样品进行单针 CE-MS 分析只能鉴定到 1872 个蛋白和 8510 条肽段。发展的基于 MICROFASP 方法的微量蛋白质组学样品处理集成平台在微量生物样品的深度蛋白质组学分析方面具有广阔的应用前景。

参考文献:

1. J.R. Wisniewski, A. Zougman, N. Nagaraj, M. Mann, *Nat. Methods*, **2009**, 6, 359-362.
2. P.W. Huber, N.J. Dovichi, *Anal. Chem.*, **2020**, 92 (7), 5554-5560.
3. Z. Zhang, K.M. Dubiak, E. Shishkova, P.W. Huber, J.J. Coon, N.J. Dovichi, *Anal. Chem.*, **2022**, 94 (7), 3254-3259.
4. Z. Zhang, N.J. Dovichi, *Anal. Chem.*, **2022**, 94 (28), 10135-10141.
5. N.A. Kulak, P.E. Geyer, M. Mann, *Mol. Cell. Proteomics*, **2017**, 16 (4), 694-705.

糖类代谢物含量及同位素分布同时测定的液质联用方法开发及其在同位素示踪细胞中的应用

赵雅梦, 范若宁, 王储尧, 李良君, 刘建军, 雷雯*

上海化工研究院有限公司

通讯联系人 E-mail: leiwensrici@163.com

肿瘤细胞的快速增殖与糖类代谢物的代谢密切相关, 自 warburg 效应^[1]发现以来, 越来越多的研究证明糖酵解、磷酸戊糖代谢通路是肿瘤细胞增殖的主要能量来源。以¹³C₆-葡萄糖示踪的代谢组学分析, 结合代谢物的同位素标记形式(即同位素分布)与代谢网络, 可以靶向测定糖类代谢物在体内的流向与分布规律, 对于癌症机理研究、治疗靶点开发等具有重要意义^[2-4]。细胞、血液等生物样本基质复杂、代谢物种类繁多且浓度范围跨度大, 而糖类代谢物质谱离子化效率低, 存在多种同分异构体, 高灵敏度、高准确性、简单便捷的鉴定复杂样本中糖类代谢物含量及同位素分布十分重要。

本文以葡萄糖、葡萄糖-6-磷酸等代谢物标准品为样本, 通过缓冲盐浓度、流动相梯度、检测含量等条件优化, 结合R语言等机器学习建立了基于高分辨液质联用的糖类代谢物含量及同位素分布的检测方法, 通过化合物精确质量数、保留时间及二级谱图等信息可以实现复杂生物样本中糖类化合物及其分布的快速筛查。实验表明10种糖类代谢物线性关系良好且相关系数(R²)> 0.99, 检出限范围为0.01-10 mg/L(如图1a所示), 且在模拟基质下3个添加水平的回收率范围为77.07%-115.18%, 日内、日间RSD均在6%以内, 证明此方法具有较宽的线性范围和良好的准确性。以¹³C₆-葡萄糖示踪的黄色短杆菌进行代谢物提取和上机检测, 检测到细菌样品中葡萄糖、葡萄糖-6-磷酸等7种糖类代谢物, 检出含量范围为6.15-3704.21 mg/L, ¹³C同位素丰度范围为12.10%~25.56%, 代谢物的质量分布向量如图。

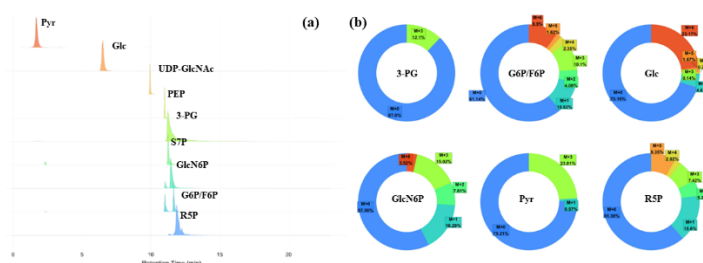


图 1: (a) 10 种糖类代谢物提取离子流图 (b) 细菌样本中 7 种代谢物的质量分布向量图

参考文献:

1. Warburg O, Wind F, Negelein E. *General Physiology*, **1927**, 8: 519-530.
2. Kim, J.; Lee, H. M.; Cai, F.; Ko, B.; Yang, C.; Lieu, E. L.; Muhammad, N.; Rhyne, S.; Li, K.; Haloul, M.; Gu, W.; Faubert, B.; Kaushik, A. K.; Cai, L.; Kasiri, S.; Marriam, U.; Nham, K.; Girard, L.; Wang, H.; Sun, X.; Kim, J.; Minna, J. D.; Unsal-Kacmaz, K.; DeBerardinis, R. J., *Nature Metabolism.*, **2020**, 2, 1401-1412.
3. Lesner, N. P.; Gokhale, A. S.; Kota, K.; DeBerardinis, R. J.; Mishra, P., *Metabolic Engineering.*, **2020**, 60, 157-167.
4. Zhang, R.; Chen, B.; Lin, L.; Zhang, H.; Luan, T., *Science of The Total Environment.*, **2021**, 770, 145329.

基于微流控芯片的单细胞蛋白质组平台构建

张雪, 白玉*, 刘虎威

北京大学化学与分子工程学院, 北京分子科学国家研究中心

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

细胞异质性普遍存在, 单细胞分析能够更加准确的阐明细胞的结构与功能, 为基于单细胞的精准医学提供重要依据^[1,2]。单细胞研究不仅使人类对细胞与生命的本质有了更为精确的认识, 也为疾病的诊断、分型、治疗以及预后提供更为强有力的工具^[3]。通过对蛋白质结构和功能、蛋白质之间相互作用进行定性、定量分析, 能够在大规模水平上鉴定细胞、组织或有机体内全部的蛋白质组, 从而揭示蛋白质与生命活动之间的相互关联^[4,5]。与单细胞基因组或转录组相比, 单细胞蛋白质组可以为生命体的动态生物功能网络提供更直接的补充^[6]。然而, 单细胞内蛋白质含量低(仅几百皮克)、种类繁多、动态范围宽, 且缺乏有效的扩增策略, 使得单细胞蛋白质组学分析面临着巨大的技术和方法挑战^[7]。

本工作基于多功能单细胞样品预处理微流控芯片, 建立单细胞样品预处理和分离检测一体化新方法, 实现微量单细胞样品的在线自动化蛋白质组分析。通过设计新型微流控芯片通路以改进样品预处理流程, 利用低死体积 nanoLC-MS 完成蛋白酶解液的在线除盐、富集、分离和高灵敏检测, 从而建立单细胞蛋白质组学在线分析新平台, 开展基于单细胞的肿瘤重大疾病相关分子基础和应用研究。本研究设计了一种具有细胞裂解、蛋白质变性功能的微流控芯片(图 1), 内部呈鱼骨型凹槽的蛇形通道, 该结构可以实现微流体的快速混匀和流路转换, 使细胞裂解后的蛋白质变性更加完全。在微流控芯片上完成细胞裂解和蛋白质变性, 然后将微流控芯片-固定化酶反应器-预柱在线联用, 初步实现了 500 个 HeLa 细胞的在线裂解-蛋白质变性/酶解-除盐/肽段富集, 共鉴定到 457 个肽段, 对应 136 种蛋白质。结果表明构建的在线样品预处理平台, 可以用于少量细胞的蛋白质组学分析。为单细胞蛋白质组学在线分析平台的建立奠定基础。

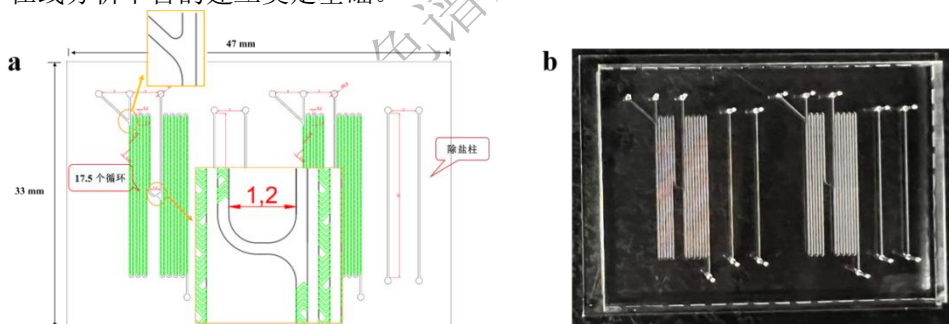


图 1 在线蛋白质变性芯片的设计图纸 (a) 和实物图 (b)

本工作受北京分子科学国家研究中心博士后项目、国家自然科学基金(22125401, 22074003)、国家重点研发计划(2022YFC3400700)资助。

参考文献:

1. T. Stuart, R. Satija, *Nat. Rev. Genet.*, **2019**, 20, 257-272.
2. L. Zhang, A. Vertes, *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2018**, 57, 4466-4477.
3. Y. Lei, R. Tang, J. Xu, W. Wang, B. Zhang, J. Liu, X. J. Yu, S. Shi, *J. Hematol. Oncol.*, **2021**, 14, 91.
4. I. V. Vinereanu, I. Peride, A. Niculae, A. T. Tiron, A. Carageorghopol, D. Manda, I. A. Checherita, *Medicina*, **2021**, 57, 452.
5. T. Wooten, E. Brown, D. R. Sullivan, M. W. Logue, C. B. Fortier, J. R. Fonda, J. DeGutis, D. H. Salat, R. McGlinchey, W. Milberg, M. Esterman, *Brain Behav. Immun.*, **2021**, 95, 84-95.
6. R. Aebersold, M. Mann, *Nature*, **2016**, 537, 347-355.
7. O. T. Schubert, H. L. Röst, B. C. Collins, G. Rosenberger, R. Aebersold, *Nat. Protoc.*, **2017**, 12, 1289-1294.

高选择性识别多肽的设计筛选

张黎民, 王蔚芝*

北京理工大学

通讯联系人 E-mail: wangwz@bit.edu.cn

高选择性识别分子是助力分离分析的有力工具。从普遍存在于生物体中的分子出发, 构筑高亲和力和选择性的识别分子不仅具有安全性高等内在优势, 还有望实现复杂生命体系中关键分子结构与功能的探测。多肽作为内源性的活性物质, 与其他种类的识别分子相比, 具有种类丰富、可批量合成等优势, 在生命体系的快速识别, 诊断分析中显示出巨大的潜力。然而, 目前高性能识别多肽数量较少, 应用范围受到极大限制, 仍需发展多肽设计、合成、筛选新方法来获取全新序列的识别多肽; 另一方面, 在生理环境中, 小分子识别多肽易降解, 如何提升其结构稳定性是目前面临的另一难题。基于上述问题, 我们提出了高内涵识别多肽分子文库构筑筛选新策略, 通过合理排布性质各异的残基来调控多肽发生自组装、靶标识别以及接触外界溶液环境作用力的动态平衡, 从而促使多种非共价键高效协同; 进一步, 通过“一株一物”组合化学的方法建立多肽分子文库, 使用微流控芯片筛选平台联合三维分子文库进化平台对多肽的亲合力, 特异性, 组装构象等多个参数进行鉴定, 最终获得可适用于复杂体系中靶标识别的活性多肽¹。基于上述新策略和新技术, 我们针对免疫检查点PD-L1, CD47以及肿瘤相关蛋白DDR2, Rbm38等筛选到了一系列具有高亲和力并能发生自组装的识别多肽, 其在细胞, 活体水平上均显示了极高的特异性与安全性²⁻⁴, 有望发展为新型在体识别工具。

参考文献:

1. L. Zhang, Z. Jiang, X. Yang, Y. Qian, M. Wang, S. Wu, L. Li, F. Jia, Z. Wang, Z. Hu, M. Zhao, X. Tang, G. Li, H. Shang, X. Chen, W. Wang, *Adv. Mater.*, **2023**, 35, e2207330.
2. L. Zhang, Y. Tian, M. Li, M. Wang, S. Wu, Z. Jiang, Q. Wang, W. Wang, *Chem. Sci.*, **2022**, 13, 14052-14062.
3. L. Zhang, M. Li, M. Wang, L. Li, M. Guo, Y. Ke, P. Zhou, W. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2022**, 61, e202212527.
4. Y. Tian, L. Zhang, F. Liu, M. Wang, L. Li, M. Guo, H. Xu, Z. Yu, W. Wang, *Biosens. Bioelectron.*, **2021**, 184, 113235.

A comprehensive evaluation of a polymeric zwitterionic hydrophilic monolith for nucleotide separation

Liang Lai^{1,†}, Chusheng Liu^{1,2,†}, Mengyun Zhang¹, Jiahuan Qu¹, Dongsheng Xu^{1,*}, Zhengjin Jiang^{1,*}

¹ Institute of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou, 510632, China.

² Department of Clinical Laboratory, The Third People's Hospital of Shenzhen, The Second Affiliated Hospital of Southern University of Science and Technology, National Clinical Research Center for Infectious Diseases, Shenzhen 518114, China.

* Responding authors.

E-mail: jzjackson@hotmail.com (Z.J. Jiang), Dongsheng.xu@hotmail.com (D.S. Xu)

Abstract:

Rapid and effective separation of nucleotides (NTs) and their derivatives is crucial for studying their physiological functions. In this work, we comprehensively evaluated the separation ability of a zwitterionic hydrophilic monolith, i.e. poly(*N,N*-dimethyl-*N*-(3-methacrylamidopropyl)-*N*-(3-sulfopropyl)ammonium betaine-*co*-*N,N'*-methylenebisacrylamide) (poly(SPP-*co*-MBA)) for NTs analysis, including its selectivity, chemical stability under extremely basic condition and compatibility with hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) coupled with mass spectrometry (HILIC-MS). The poly(SPP-*co*-MBA) monolith exhibited excellent chemical stability, as evidenced by the low relative standard deviation of retention time (0.16% - 1.05%) after 4000 consecutive injections over one month under strong alkaline elution condition (pH 10). After optimizing the separation conditions, including buffer pH and concentration, organic solvent content and column temperature, four nucleoside triphosphates, five nucleoside diphosphates and five nucleoside monophosphates were baseline separated within 7 minutes. Additionally, the mixtures containing one nucleoside and its corresponding mono-, di-, and triphosphates were baseline separated within only 3 minutes, respectively. It is good HILIC-MS compatibility was also confirmed by the satisfactory peak shape and high response of nine NTs. Overall, the proposed poly(SPP-*co*-MBA) monolith exhibited good mechanical stability and compatibility of HILIC-MS, making it a promising technique for NTs analysis.

Keywords: nucleotides separation, zwitterionic hydrophilic chromatography, polymeric monolith, strong alkali condition.

基于 RNA 核苷切割型 DNAzyme 毛细管电泳-激光诱导荧光偏振检测 Pb^{2+}

章大鹏,^{1,2} 汪海林*^{1,2}

1 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

2 国科大杭州高等研究院环境学院, 杭州, 310024

通讯联系人 E-mail: hlwang@rcees.ac.cn

铅是地球上分布广泛、含量丰富的环境有毒污染物之一。铅被认为是污染物中毒性很大并对机体无任何生理功能的重金属元素, 其可以作用于全身对许多器官系统和生理功能产生危害, 已严重危害人类健康, 特别是对儿童的健康危害成为一个重要的社会关注问题, 因此发展一种快速、简单、高灵敏检测环境中铅的分析方法显得尤为重要。近年来, 随着金属离子与DNA相互作用研究的发展, 基于功能性DNA分子检测 Pb^{2+} 受到关注。目前, 已有两种功能性DNA分子已被用于检测 Pb^{2+} : DNAzyme和核酸适配体。DNAzyme不仅与核酸适配体一样具有特异的结构识别能力, 而且还具有高效的催化活性, 起到信号放大作用。此外, 大多数DNAzyme具有金属离子依赖性, 只有在特定金属离子存在时才表现出催化活性, 因此可应用于目标金属离子的特异性检测。

毛细管电泳-激光诱导荧光偏振具有灵敏度高、快速和高效分离的优点, 已被用于灵敏检测一些污染物。本研究选取 Pb^{2+} -依赖的RNA核苷切割型GR-5 DNAzyme作为模型, 首先将含RNA切割位点的DNA底物链的5'-末端进行单个荧光基团TMR标记。当溶液中存在目标物 Pb^{2+} 时, 荧光标记的DNA底物被催化切割后其构象由与DNAzyme链结合形成的稳定双螺旋结构变为不稳定的单链, 即分子大小发生了明显的改变, 根据 Pb^{2+} 依赖的切割型DNAzyme的这一特性并结合本课题组提出的金属离子介导毛细管电泳分离核酸技术, 可将DNAzyme的这一特性转换为可以检测的激光诱导荧光信号。即通过金属离子介导毛细管电泳可以将荧光标记的底物、酶切后的产物以及底物与DNAzyme链形成的双链复合物进行有效分离。此外, 酶切被释放的DNAzyme链又可以继续与底物链结合形成双链被 Pb^{2+} 识别和酶切, 以此进行循环。通过对实验条件的优化, 在最佳条件下利用毛细管电泳激光诱导荧光对 Pb^{2+} 进行检测, 结果表明该方法具有较高的灵敏度 (LOD=200 pM) 和选择性。因此, 利用金属离子介导毛细管电泳还可用于分析其他DNAzyme。

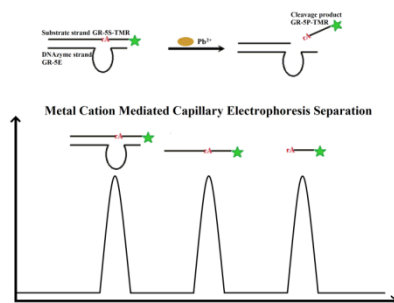


图1. 基于RNA核苷-切割型DNAzyme金属离子介导毛细管电泳分离示意图

参考文献:

1. H. Needleman, *Annu. Rev. Med.*, 2004, 55, 209-222.
2. J. Liu, Z. Cao, Y. Lu. *Chem. Rev.*, 2009, 109, 1948-19981.

等电聚焦胶条水化上样的浓差极化模型

田佑吏^{1,2}, 查根晗², 曹毅仁², 张强², 曹成喜^{1,2*}

1. 上海交通大学生命科学技术学院 2. 上海交通大学电子信息与电气工程学院

等电聚焦是一种基于两性物质等电点不同将物质进行分离浓缩的技术^{1,2}, 可以实现高效、快速的分离分析。³⁻⁵然而, 对于等电聚焦胶条水化上样过程, 仍没有系统的理论研究, 实验可重复性差, 并很难对胶条内物质含量进行精确定量。本文基于等电聚焦电泳, 提出了浓度极化模型, 从静态与动态去阐述了等电聚焦最优上样体积, 并利用微阵列等电聚焦仪⁶及其配套设备开展实验, 实验结果表明, 本工作所提出浓差极化模型可以较好地解释水化过程中各类现象, 与实验结果十分吻合, 表明了模型的有效性和正确性。

首先, 我们建立了等电聚焦胶条水化上样的浓度极化模型。该模型表明。在凝胶水化的最初阶段, 凝胶孔径较小, 此时只有水分子和较小的两性分子扩散可以扩散进入凝胶, 较大的蛋白质分子无法进入凝胶, 因而在最开始一段时间, 大分子在溶液相-凝胶局部浓度上升, 即浓度开始极化。而后, 随着水分子逐渐进入凝胶, 凝胶孔径逐渐变大, 大分子因极化浓度差开始缓慢扩散进入凝胶, 而同时水分子仍以更快的速度扩散进入凝胶, 进一步加强浓度极化; 较高的浓度势能差带来了更快的扩散速度和更多的水化上样。极化浓度差在溶液相体积为 V_m 时所达到极大, 此时最大的浓度差带来最快的上样速度以及最大的上样量。

其次, 为了阐述模型的正确性, 我们模拟和检测血红蛋白在微芯片水化过程中内外浓度变化趋势。实验中, 我们选取了 V_m (20 μL) 至 $5V_m$ (100 μL) 作为水化上样体积。由图 3 可看出, 当水化体积为 V_m 的时候, 血红蛋白的内外浓度达到最大值, 此时即可获得最大上样量。一旦超过 V_m , 浓度极化现象即会减弱, 导致内外浓度上升被抑制, 继而导致最终上样量的减小。模拟仿真结果和所测结果吻合良好, 进一步说明了模型的成功搭建。

针对等电聚焦水化上样, 提出了一种浓差极化模型, 本模型能够较好解释等电聚焦胶条水化过程各类现象, 理论结果与实验结果十分吻合, 表明了模型的有效性和正确性。该模型对等电聚焦上样具有普适性和应用意义, 并对水凝胶负载药物的研究有着指导意义。

参考文献:

- (1) Vesterberg, O.; Svensson, H. *Acta Chem. Scand.*, **1966**, 20 (3), 820-834.
- (2) Roudeau, S.; Trist, B. G.; Carmona, A.; et al. *Anal. Chem.*, **2021**, 93 (32), 11108-11115.
- (3) Wu, J., McElroy, W., Pawliszyn, J., & Heger, C. D. *Trends Anal. Chem.*, **2022**, 150, 116567.
- (4) He, Y. C.; Kong, F. Z.; Fan, L. Y.; Wu, J. Y.; Liu, X. P.; Li, J.; Sun, Y.; Zhang, Q.; Yang, Y., Wu, X. J.; Xiao, H.; Cao, C. X. *Anal. Chim. Acta.*, **2017**, 982, 200-208.
- (5) Zhang, S.; He, D.; Yang, Y.; Lin, S. X.; Zhang, M.; Dai, S. Z.; Chen, P. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2016**, 113 (39), 10872-10877.
- (6) Li, G. Q.; Li, H. G.; Dong, F. F.; Bi, Y. F.; Zhang, Q.; Kong, F. Z.; Liu, X. P.; Saud, S.; Xiao, H.; Luo, F.; Ye, P.; Lu, H. J.; Wang, L. Y.; Cao, X. Y.; Cao, C. X. *Anal. Chim. Acta.*, **2019**, 1063, 178-186.

基于多面体低聚倍半硅氧烷的两性离子杂化聚合物的快速制备及其在分离与富集的应用

王树强, 雷霄云, 张冰宇, 吴晓苹*

食品安全分析与检测教育部/福建省重点实验室; 福州大学化学学院, 福州 350108

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

多面体低聚倍半硅氧烷(POSS)是一种具有笼状结构的新型纳米尺度有机无机杂化分子, 由于其与聚合物相容性良好, 耐高温、耐氧化, 而且热稳定性、力学性能良好, 通过化学反应引入聚合物侧链, 可以用于制备真正分子水平的纳米级杂化复合材料。

两性离子聚合物是一类整体呈电中性且同时存在阴阳离子基团的聚电解质, 因其亲水性强、生物相容性好, 近年来在生物医药与膜分离领域展现出良好的应用前景。磷酰胆碱分子(PC)作为细胞外层膜中的最外层基团同时带有正、负两种电荷, 可以与水分子形成非常牢固的水合层, 还能进一步与疏水化合物共聚制备仿细胞膜结构的聚合物, 具有抗吸附污染的功能, 广泛应用于分离、药物运输等研究。N-苄基奎宁鎓氯化物(N-BQN)是另一种具有季铵盐、喹啉和苄基的两性化合物, 结构中的季铵盐基团和苯环分别能提供强的阴离子交换和 π - π 堆积作用, 可以用于制备亲水整体色谱柱材料。近年来, 两性离子聚合物在样品前处理领域的应用开始得到关注并迅速发展。本课题组近期将两性离子聚合物引入 POSS 材料的改性研究中, 制备了一些新型两性离子纳米杂化聚合物, 应用一些极性、亲水性小分子及肽类物质的分离与富集。主要研究成果如下:

(1) 以季戊四醇三丙烯酸酯(PETA)为交联剂, 通过 MPC 和 POSS-MA 的快速光引发聚合, 制备了适用于毛细管电色谱(CEC)的 MPC-POSS 混合模式整体固定相, 应用于典型极性化合物(如酰胺、碱基、核苷和苯甲酸)和多肽抗生素的 CEC 分离, 展现出亲水作用色谱和弱阳离子交换色谱的混合模式保留机制, 其柱效高达 93500 板/米(硫脲)。

(2) 以 MPC 和 N-BQN 为双功能单体, POSS-MA 作为交联剂, 离子液体和正丙醇为致孔剂, 在偶氮二异丁腈(AIBN)的引发下快速热聚合制备了 poly(MPC-co-N-BQN-co-POSS-MA)杂化聚合物, 应用于微囊藻毒素(MCs)的移液吸头固相微萃取。采用 CEC 对聚合物富集 MCs 的性能进行表征, 实验结果表明, 聚合物对 MCs 有良好的吸附性能, 对 MC-LR 的最大吸附量为 $32.0 \mu\text{g mg}^{-1}$, 可以实现毒素的快速富集分析。

关键词: 两性离子聚合物 多面体低聚倍半硅氧烷 毛细管电色谱 移液吸头固相微萃取

本研究受国家自然科学基金(NO: 22076024)项目资助。

参考文献

1. Massey, I. Y.; Wu, P.; Wei, J.; Luo, J.; Ding, P.; Wei, H.; Yang, F., A Mini-Review on Detection Methods of Microcystins. *Toxins* 2020, 12 (10), 641-673.
2. Lei, X.; Cui, J.; Wang, S.; Huang, T.; Wu, X., Preparation of a biomimetic ionic liquids hybrid polyphosphorylcholine monolithic column for the high efficient capillary microextraction of glycopeptide antibiotics. *J. Chromatogr. A* 2020, 1623, 461175-461185.
3. Huang, T.; Zhang, W.; Lei, X.; Chen, H.; Lin, C.; Wu, X., Rapid polymerization of polyhedral oligomeric siloxane-based zwitterionic sulfoalkylbetaine monolithic column in ionic liquid for hydrophilic interaction capillary electrochromatography. *J. Chromatogr. A* 2021, 1659, 462651-462661.

低共熔溶剂负载的核壳型 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MIL-101}(\text{Cr})$ 磁固相萃取环境水样中的非甾体抗炎药

杨丽, 王爽, 胡爽*

山西医科大学药学院

E-mail: hurrah3743@163.com

非甾体抗炎药 (NSAIDs) 是一类广泛用于治疗疼痛、发烧和炎症的药物。然而, 急性过量或长期使用 NSAIDs 可能会引起一些副作用, 如肾损伤、消化道出血和心血管风险等^[1]。此外, NSAIDs 在制造和使用过程中可能被转移到环境中, 即使在相对较低的浓度水平也会对人类健康造成重大威胁, 并对水生动植物造成伤害, 近年来, 其作为环境污染物的主要来源之一也受到越来越多的关注^[2]。因此, 开发用于监测环境水样中 NSAIDs 的高灵敏度、高准确度分析方法至关重要。

通过将 L-薄荷醇和乳酸组成的疏水性低共熔溶剂 (DES) 直接负载到核壳型 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{MIL-101}(\text{Cr})$ 纳米材料的孔隙中, 我们建立了一种新型的 DES 负载的磁固相萃取 (DES-L-MSPE) 方法, 并结合 HPLC 对环境水样中的 6 种 NSAIDs (酮洛芬、萘普生、氟比洛芬、双氯芬酸钠、布洛芬、甲芬那酸) 进行富集浓缩和含量测定。该工作对影响目标分析物萃取效率的因素进行了考察和优化, 包括 DES 的种类和比例、吸附剂用量、样品相 pH、盐浓度、萃取时间、洗脱溶剂和时间等。在最佳萃取条件下, 酮洛芬和布洛芬在 0.005-1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、氟比洛芬和甲芬那酸在 0.0015-0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、萘普生在 0.0025-1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、双氯芬酸钠在 0.003-0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间呈良好的线性关系, 其相关系数在 0.9972-0.9993 之间; 该方法的检出限和定量限分别为 0.0002-0.0011 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.0006-0.0034 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 日内和日间精密度的 RSD 分别在 1.2%-7.8% 和 3.3%-9.6% 范围内; 实际水样测定中, 迎泽湖水的加样回收率为 89.2%-110.4%, 汾河河水的加样回收率为 83.8%-109.0%。

本方法充分利用了 Fe_3O_4 的磁性、MIL-101(Cr) 的多孔性、DES 对目标分析物的高亲和性等特点, 集磁固相萃取与液相微萃取优势于一体, 具有简单、环保、省时、灵敏、高效等优点。此外, DES 还可有效改善磁性纳米材料在水中的分散性, 从整体上提高了对目标化合物的萃取效率和萃取能力。该方法对环境水样乃至其他复杂基质中痕量 NSAIDs 的测定具有潜在应用前景。未来, 通过调整磁性纳米材料的种类、MIL-101(Cr) 的壳层厚度和孔径大小或选择合适的填充溶剂, 有望使其萃取效率得到进一步提高。

参考文献:

1. N. Bhala, J. Emberson, A. Merhi, et al, *Lancet*, **2013**, 382(9894), 769-779.
2. A. Rastogi, M.K. Tiwari, M.M. Ghangrekar, *J. Environ. Manage.*, **2021**, 300, 113694.

后修饰荧光共价有机骨架材料的制备及在样品前处理中的应用研究

高蝶^{1,*}, 王丹丹¹, 王庐椿¹, 刘秋宜¹, 夏之宁^{2,*}

1. 西南医科大学药学院, 646000

2. 重庆大学药学院, 401331

样品前处理作为痕量分析的关键步骤, 所选方法应具有高选择性、高富集效率、对目标物吸附能力强的特点。在样品前处理中, 吸附剂的选择尤为重要, 合适的吸附剂能提高萃取的选择性和提高吸附效率。共价有机骨架 (Covalent organic frameworks, COFs) 是一类通过化学共价键连接有机单元而形成的有序结晶多孔材料。因具有高比表面积、可调的孔隙尺寸、密度低、高化学稳定性以及表面易修饰等特点, 在分析化学领域显示出可观的前景。特别是具有荧光特性的 COFs 的开发使其在样品前处理领域展现了巨大的优势。然而, 常规的荧光 COFs 在溶剂中分散性差, 使其对目标物质的检测和吸附性能受到较大影响。另外, 针对某些需现场检测的目标物质, 单独使用粉末状的荧光 COFs 难以实现现场的可视化检测。因此, 本课题组针对上述荧光 COFs 存在的问题, 研制了不同种类的荧光 COFs, 并对它们进行了后修饰, 通过引入特定基团, 改善了所制备荧光 COFs 的分散性能; 通过引入水凝胶, 制备出 COFs 杂化水凝胶材料, 实现了目标成分的吸附和可视化荧光检测。例如, 我们以 1,3,5-三(对甲酰基苯基)苯和 2,5-双(烯丙氧基)对苯二甲酰肼为反应单体, 通过优化反应溶剂种类、催化剂用量、反应溶剂用量、反应时间、反应温度等因素, 研制出具有高结晶度且荧光性能优异的 COF-TPDD, 并利用点击反应将 GSH 修饰到 COF-TPDD 中, 以改善 COF-TPDD 的水分散性、与阳离子染料选择性作用效果等。最后, 构建出基于 COF-TPDD-COOH 的阳离子染料荧光检测和吸附的双功能平台, 并将该平台应用于养殖用水中阳离子染料的检测和富集。我们以 4,4',4''-(1,3,5-三嗪-2,4,6-三基)三苯胺和 2,5-二乙烯基对苯二甲醛为反应单体, 通过优化一系列影响结晶度的条件, 首次在室温下合成了高结晶度的双发射荧光 COF (TD-COF)。TD-COF 具有良好的荧光和吸附性能, 可作为荧光传感和吸附铬黑 T、铬蓝黑 R 和铬蓝 SE 的双平台。该平台可实现三种染料的荧光检测和高效吸附。随后, TD-COF 与巯基化海藻酸钠发生硫醇烯“点击”反应, 合成了一种发光杂化水凝胶材料(GelTSA@TD-COF), 提高了铬蓝黑 R 和铬蓝 SE 的最大吸附容量。由于 GelTSA@TD-COF 的块状外观, 与粉状 TD-COF 相比, 它更加便携实用, 可用于染料的现场荧光可视化。最后, 在实际水样中对三种染料的检测和吸附效果进一步验证了 TD-COF 和 GelTSA@TD-COF 的实际应用价值。

光/pH-双响应磁性纳米材料的制备及其在棕榈酰化蛋白组学和糖基化蛋白组学分析中的应用

郑海娇*

吉林大学化学学院

通讯联系人 E-mail: hjzheng@jlu.edu.cn

质谱技术在蛋白质组学中的应用不断发展进步，从最初的蛋白质结构鉴定到功能层次的蛋白质PTMs定性和定量研究，逐渐成为蛋白质组学研究中的核心技术。^[1-3] 随着对单一类型蛋白质翻译后修饰的深入研究，两种或两种以上修饰类型的同时分析逐渐成为质谱技术研究蛋白质组学的焦点。蛋白质的棕榈酰化修饰和糖基化修饰两者对蛋白质的功能都有至关重要的影响，如影响癌症或炎症反应的发生或发展。^[4, 5] 众所周知，高效而简化的富集技术可以为后续后修饰蛋白或多肽的鉴定提供纯净的样品，直接影响实验的准确性。因此，发展高效、简易的能够同时富集低丰度棕榈酰化肽和糖基化肽材料是不可忽略的问题。

本工作制备了一种新型双响应磁性纳米复合材料，可作为连续或同时富集棕榈酰化肽和糖肽的分离富集平台。以偶氮苯和环糊精的光响应主客体自组装的行为作为二乙烯基砷磁性纳米粒子和苯硼酸化合物连接的方式。采用的二乙烯基砷具有在不同pH条件下识别棕榈酰化肽或糖肽的能力，同时，苯硼酸化合物增强了材料对糖肽的亲合力。所制备的双响应磁性纳米复合材料表现出灵活的光照、酸碱和磁响应能力，首次实现了疏水的棕榈酰化肽和亲水的糖肽的同时富集。将所制备的材料用于磁性固相微萃取-质谱技术的平台，对复杂生物样品中的棕榈酰化肽和糖基化肽的进行分离分析。

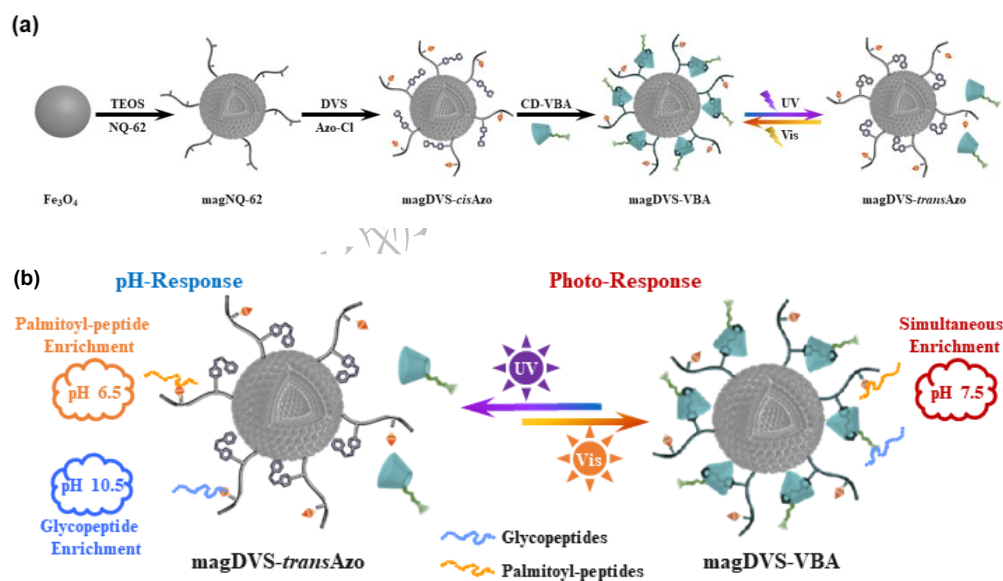


Fig. 1 Preparation of (a) photo/pH dual responsive magnetic nanocomposites (magDVS-VBA) and (b) application to the enrichment of palmitoyl-peptides and glycopeptides.

参考文献:

1. U. Dreses-Werringloer, J. C. Lambert, V. Vingtdeux, Cell 2008, 133, 1149.
2. W. Choi, N. Clemente, W. Sun, J. Du, W. Lu, Nature 2019, 576, 163.
3. H. J. Zheng, J. X. Jia, Z. Li, Q. Jia, Anal. Chem. 2020, 92, 2680.
4. D. Schoeman, B. C. Fielding, Virol J. 2019, 16, 69.
5. A. Kuzmin, P. Orekhov, R. Astashkin, V. Gordeliy, I. Gushchin, Proteins 2022, 90, 1102.

磁性多孔纤维素分子印迹材料的研制及其在双酚类化合物萃取中的应用研究

文曾, 牛红, 林静, 夏之宁*, 王丹丹*

(西南医科大学, 药学院, 泸州, 646000, E-mail: tcm_anal_cqu@163.com; wangdandan_93@163.com)

关键词: 多孔纤维素, 分子印迹聚合物, 磁分离, 双酚类化合物

本研究以 Fe_3O_4 为磁性材料、低共熔溶剂为辅助溶剂、双酚 A 为模板分子、N-异丙基丙烯酰胺为功能单体, 制备了磁性多孔纤维素分子印迹聚合物 (Magnetic porous cellulose molecularly imprinted polymers, MPCMIPs)。采用扫描电子显微镜、傅里叶变换红外光谱、X-射线衍射、振动样品磁强计、热重分析和 BET 对 MPCMIPs 进行了表征。通过静态、动态和选择性吸附实验研究了 MPCMIPs 对双酚 A、双酚 F 和双酚 AF 的吸附性能。多孔纤维素材料的引入显着提高了材料的性能, MPCMIPs 对双酚 A 的吸附容量、传质效率和选择性分别是传统分子印迹聚合物的 5.9、4.0 和 4.4 倍。通过吸附等温线模型、动力学模型和热力学模型探究了磁性多孔纤维素分子印迹聚合物对目标分子的吸附特性, 结果表明 MPCMIPs 主要通过氢键相互作用吸附双酚类化合物。MPCMIPs 具有良好的稳定性和可重复使用性, 极具应用价值。最后, 结合超高效液相色谱-质谱联用仪, 将 MPCMIPs 用于牛奶、水果罐头和鱼肉中双酚 A、双酚 F、双酚 AF 的富集及检测。与传统的有机溶剂萃取法相比, MPCMIPs 法具有更高的选择性、灵敏性和准确性。

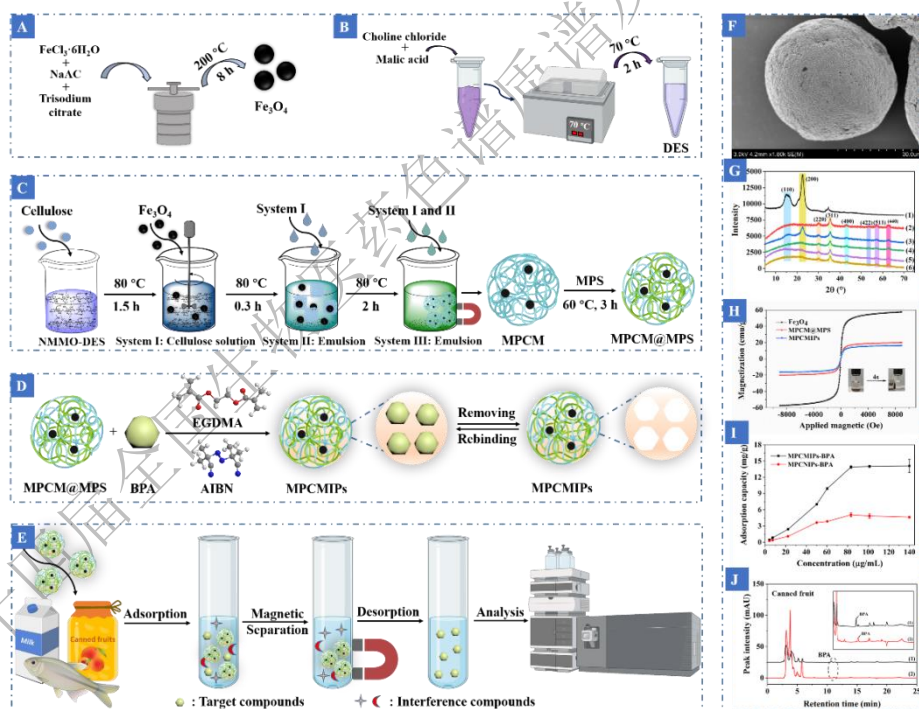


图 1 (A) Fe_3O_4 、(B) 低共熔溶剂、(C) 多孔纤维素、(D) MPCMIPs 的制备过程示意图; (E) MPCMIPs 萃取食品中双酚类化合物的过程示意图; 关于 MPCMIPs 的部分研究结果: (F) SEM; (G) XRD; (H) VSM; (I) 静态吸附曲线; (J) 食品中双酚类化合物的检测结果

参考文献:

Z. Wen#, D. Gao#, J. Lin, S.Y. Li, K.L. Zhang, Z.N. Xia*, D.D. Wang*, Magnetic porous cellulose surface-imprinted polymers synthesized with assistance of deep eutectic solvent for specific recognition and purification of bisphenols, International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 216, 374-387.

介质阻挡放电等离子体合成与调控多孔纳米材料

何娟, 温小惠, 吴兰, 陈瀚蛟, 胡静*, 侯贤灯*

四川大学分析测试中心, 成都, 610064

通讯联系人 E-mail: hujing2019@scu.edu.cn; houxd@scu.edu.cn

由于纳米材料具有不同于大宗材料的诱人化学和物理特性, 近年来, 纳米材料研究的蓬勃发展引起了科学家们的极大兴趣, 广泛应用于色谱/质谱等领域。为了满足科学和工业领域对纳米材料日益增长的需求, 迫切需要开发绿色、经济、节能的纳米材料合成、性能调控的新方法。介质阻挡放电 (DBD) 等离子体是一种典型的低温常压非热等离子体, 由丰富的活性自由基、高能电子和激发态物质组成。DBD 等离子体技术具有功耗低、结构简单、常温下常压操作、等离子体特性高度可调等一系列独特优势, 已被广泛应用于各种纳米材料的合成和改性。

任何常见的气体如 H_2 、 O_2 、 N_2 、空气、 I_2 、 CO_2 、Ar、 NH_3 和 H_2S 或常规溶剂都可以用来产生 DBD 等离子体。在不同的放电介质中, 等离子体物种的组成和比例不同。因此, 通过微调放电气体种类, 如 H_2 (还原性)、Ar (惰性) 和 O_2 (氧化性), 可以调节等离子体的特性, 实现不同纳米材料的快速制备, 比如金属/金属氧化物/金属卤化物等无机纳米材料; 碳纳米、多孔碳、石墨烯等有机纳米材料、金属有机骨架 (MOFs) / 共价有机框架 (COFs) 等新兴晶体多孔材料等。同时, DBD 等离子体技术可利用气体或液体放电等离子体中产生的电子、离子、自由基、激发态和亚稳态粒子等化学活性物种与纳米材料表面相互作用, 导致其物理和化学性质的变化, 从而暴露更多的活性位点, 优化电子结构, 赋予其理想的性能, 如提高催化、发光性能等。通过调控 DBD 等离子体的类型, 可调控等离子体活性物种与材料发生以下不同的相互作用: 化学还原、氧化、表面蚀刻、掺杂、活性基团接枝、分解、剥离或协同效应等。大多数固体纳米材料可通过 DBD 等离子体处理进行直接改性, 而无需表面功能化。此外, DBD 放电的均匀性很适合等离子体表面均匀改性。DBD 温和的非热力学平衡放电特性使等离子体作用于材料的表面而不影响材料的整体性能, 而这是其他改性技术难以实现的。此外, 基于各种气体放电的改性过程不涉及溶剂, 几乎不产生废物。因此, DBD 等离子体处理是一种高效环保的、新颖的纳米材料合成与表面改性技术 (图1)。

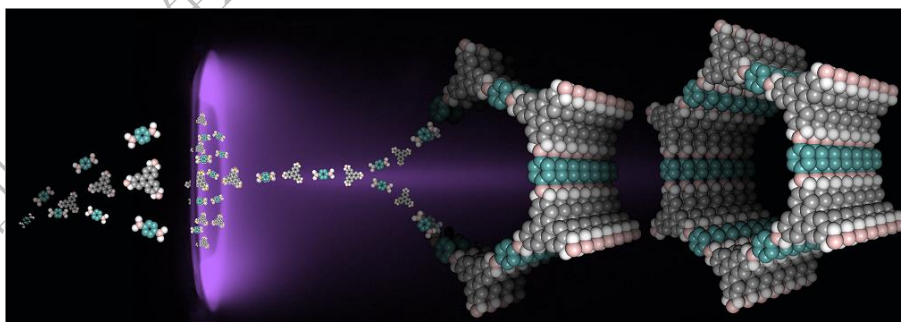


图. 1 DBD 等离子体合成与调控纳米材料示意图。

参考文献:

1. J. He, X. H. Wen, L. Wu, H. J. Chen, J. Hu*, X. D. Hou*, *TrAC-Trends Anal. Chem.*, **2022**, 156, 116715.
2. J. He, X. Jiang, F. J. Xu, C. H. Li, Z. Long, H. J. Chen*, X. D. Hou*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, 60, 9984–9989.

基于极性整体吸附剂从掌叶大黄中分离纯化糖苷类成分

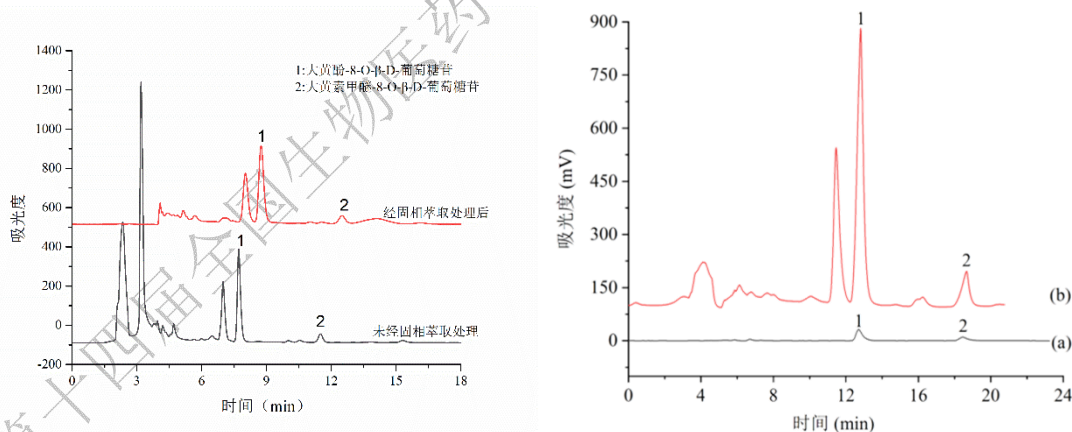
白立改*, 刘海燕, 朱涛, 唐保坤, 乔晓强, 闫宏远

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

通讯联系人 E-mail: blg@hbu.edu.cn

对中草药活性成分进行分离分析和萃取纯化, 不仅是目前中草药质量控制的重要指标, 而且是研究相关活性成分药理和毒理等作用并进行新药研发的关键步骤¹。中草药的许多天然糖苷类成分具有多种药理作用, 如掌叶大黄中含有的大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒等药理活性², 大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷具有抗肿瘤、抗氧化和神经保护活性³。

本文针对上述两种糖苷类成分的化学结构, 选择带有氨基、羟基和羧基的 N-[4-氰基-3-(三氟甲基)苯基]甲基丙烯酸酰胺和 α -甲基丙烯酸为共同单体, 制备了极性整体吸附剂, 通过固相萃取法对掌叶大黄中的这两种糖苷类成分进行萃取。该极性吸附剂与糖苷可产生氢键、偶极-偶极、 π - π 等相互作用, 分别与 HPLC 和半制备 HPLC 在线联用, 实现了大黄酚-8-O- β -D-葡萄糖苷和大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷的萃取分析和分离纯化, 结果如图所示。由图 A 可知, 与固相萃取前获得的色谱图相比, 经固相萃取后的色谱图中的基质组分已基本被除去, 而两种糖苷的峰面积无明显减少, 表明该方法可用于大黄粗提液中两种糖苷的在线萃取; 分离制备的色谱图如图 B 所示, 进样量增至 5.0 mL 时, 两个目标峰均与相邻峰具有良好的分离度, 且无基质峰干扰, 因此可用于分离制备。此外, 还通过红外光谱法和质谱法对分离制备的两种产物进行了鉴定, 并利用 HPLC 法测定了产品纯度, 经计算纯度分别为 98.3% 和 92.5%, 收率分别为 5.68 mg/g 和 1.20 mg/g。常规的纯化方式会在转移浓缩的过程中造成损失, 而本方法在闭环模式下减少了提取和纯化过程中的损失, 实现了高回收率和高纯度, 为中草药中活性成分的萃取、富集和分离制备提供了一种简便、快速、高效的方法。



掌叶大黄中两种糖苷成分的分离分析和分离制备色谱图

图 A 为掌叶大黄粗提液在固相萃取前/后的色谱图, 进样量 15 μ L, 检测波长 254 nm, 流速 1.0 mL/min; 图 B 中 (a) 为大黄酚糖苷 (50 μ g/mL) 和大黄素甲醚糖苷 (100 μ g/mL) 的混合对照品溶液色谱图, 进样量 200 μ L; (b) 为掌叶大黄粗提液色谱图, 进样量 5.0 mL, 检测波长 254 nm, 流速 3.0 mL/min。

参考文献:

1. S. Mohan, M.M.E. Taha, H.A. Makeen, *et al*, *Molecules*, **2020**, 25, 48783.
2. X. Li, Y.J. Liu, S.F. Chu, *et al*, *Chem.-Biol. Interact.*, **2019**, 310: 108722.
3. R.B. Ammar, T. Miyamoto, L. Chekir-Ghedira, *et al*, *Nat. Prod. Res.*, **2019**, 33, 280-286.

双氨基酸功能化 Zr-Fc 金属有机骨架纳米片的制备及其对糖肽的高效选择性富集研究

袁晓钰, 苏萍, 宋佳一*, 杨屹*

(北京化工大学化学学院, 北京, 100029)

通讯联系人 E-mail: songjy@mail.buct.edu.cn, yangyi@mail.buct.edu.cn

蛋白质糖基化作为最普遍的蛋白质翻译后修饰之一, 在调节许多复杂的生物学过程中发挥着重要作用^[1]。由于糖肽在生物样品中丰度较低并且在质谱分析时易受到干扰, 在分析检测前分离富集糖肽是非常有必要的^[2]。在本文中, 制备了双氨基酸功能化的二维金属有机骨架复合材料 (Zr-Fc MOF@Au@GC), 基于亲水相互作用法^[3]富集糖肽。合成以 Zr-O 为金属团簇和二茂铁二甲酸 (Fc(COOH)₂) 为配体的亲水性 Zr-Fc MOF 纳米片, 再修饰上谷胱甘肽 (GSH) 和 L-半胱氨酸 (L-Cys) 进一步提高亲水性。在糖肽富集时, Zr-Fc MOF@Au@GC 的二维形貌极大地减少了材料与糖肽之间的空间位阻, 较大的比表面提供了丰富的结合位点, 并且修饰的 GSH 和 L-Cys 具有协同作用, 这些原因使复合材料对糖肽的富集能力明显提升, 在模型蛋白 HRP 和 IgG 酶解液中分别富集到 39 和 44 种糖肽。同时, 复合材料还表现出优异的灵敏度 (0.1 fmol/μL)、选择性 (1:2000)、结合容量 (200 mg/g) 和重复使用性, 将其用于复杂生物样品人血清中的糖肽分析时, 也表现出优秀的富集性能, 能够检测到 655 种糖肽, 对应于 366 种糖蛋白。这些结果表明, Zr-Fc MOF@Au@GC 在蛋白质糖基化的研究中表现出潜力, 可以应用于临床医疗和相关疾病的诊断。

关键词: 蛋白质糖基化、糖肽富集、金属有机骨架(MOFs)、亲水相互作用法、人血清

参考文献:

1. K. T. Schjoldager, Y. Narimatsu, H. J. Joshi, H. Clausen, Global view of human protein glycosylation pathways and functions, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, 21(12): 729-749.
2. I. Pujić, H. Perreault, Recent advancements in glycoproteomic studies: Glycopeptide enrichment and derivatization, characterization of glycosylation in SARS CoV2, and interacting glycoproteins, *Mass Spectrometry Reviews*, 2022, 41(3): 488-507.
3. G. QING, J. YAN, X. HE, X. Li, X Liang, Recent advances in hydrophilic interaction liquid interaction chromatography materials for glycopeptide enrichment and glycan separation, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 124: 115570.

本研究由国家自然科学基金 (21675008) 和北京市自然科学基金 (2202037, 2224099) 资助。

基于两种整体材料的反相/亲水二维液相色谱对药用植物中羟基 芫花素的富集与纯化

刘海燕^{1,2*}, 白立改^{1,2}, 王明伟^{1,2}, 乔晓强^{1,2}, 闫宏远^{1,2*}

1.河北大学药学院, 保定市, 071002

2.药物化学与分子诊断教育部重点实验室, 保定市, 071002

E-mail: lhy1610@126.com; yanhy@hbu.edu.cn

二维液相色谱是由同种色谱的不同选择性分离柱或不同类型色谱分离技术组合构成的联用系统, 可实现复杂样品的分离纯化。它弥补了传统单模式色谱“单柱单用”的缺点, 具有选择性高、载药量大、分离效率高、经济环保等优点。本文分别制备了疏水性的 MOF@ 聚合物复合整体柱和亲水性的 N-甲基烯丙基胺整体柱, 分别作为固相萃取吸附剂, 与高效液相色谱联用, 组成反相/亲水相互作用混合模式色谱, 对药用植物中的羟基芫花素进行了富集和纯化。图 1 为富集条件一定时, 不同洗脱条件下单一疏水性整体柱对芫花中羟基芫花素纯化结果。结果表明, 被富集在疏水性整体柱上的羟基芫花素被不同流动相洗脱时, 伴随羟基芫花素出来的杂质也不完全相同, 而且杂质都较多。图 2 为芫花提取液经反相/亲水二维液相色谱法富集纯化后与未经处理的药材原液的色谱对比图。可以看出, 药材提取液经二维液相色谱纯化后, 杂质明显减少。

关键词: 反相整体柱; 亲水整体柱; 二维液相色谱; 羟基芫花素; 富集纯化

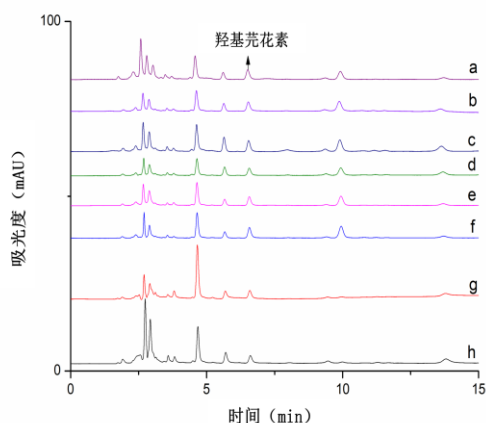


图 1 不同洗脱条件下单一疏水整体柱对芫花中羟基芫花素的富集纯化色谱图

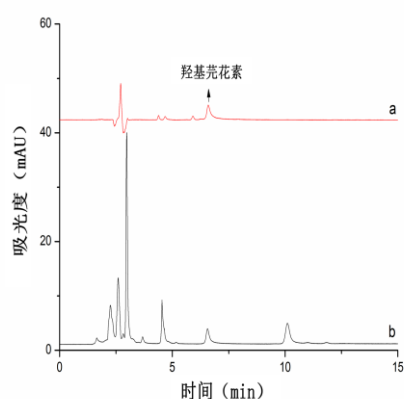


图 2 芫花提取液经二维液相色谱法富集纯化后 (a) 与未经处理的药材原液 (b) 的色谱对比图

参考文献:

1. Q. Wu, X.D. Hou, H.T. Lv, et al., *J Chromatogr. A*, **2021**, 1656: 462548.
2. Y.T. Mao, L.Y. Hou, L.G. Bai, *Microchem. J.*, **2023**, 181: 107831.
3. 本文得到国家自然科学基金 (21974034) 资助。

基于高灵敏复合酶解的蛋白-DNA 互作研究

张清华^{1,2}, 胡涌刚², 汪海林^{1*}

1.中国科学院生态环境研究中心, 北京, 100085; 2.华中农业大学, 武汉, 430070

通讯联系人 E-mail: hlwang@rcees.ac.cn

蛋白质-DNA 相互作用 (protein-DNA interactions, PDIs) 贯穿生命体发育始终, 在 DNA 复制、重组和修复等过程中发挥重要作用。对 PDIs 的精准、动态表征有助于在分子层面深度解析 PDIs 异常疾病的相关机理。因此, 建立和发展灵敏、快速、精确的分析方法是进行蛋白质-DNA 相互作用研究的关键。课题组前期研究构建了单个受保护核酸片段分子测序技术, 用以解析蛋白质-DNA 相互作用图谱¹。开发了毛细管电泳-双色交替激发的单分子荧光成像技术, 揭示了 RecA 不饱和和组装核蛋白纤维介导 DNA 链交换反应的分子机制, 提出了基于侧翼链分离活性的新型链交换模型^{2,3}。

本研究开发了一套复合酶解体系, 可实现未受蛋白保护的核酸的高效特异性酶解及酶解产生的短片段 DNA 背景清除, 在接近单核苷酸分辨率下富集受保护的 DNA 片段。通过调整蛋白-DNA-酶的比例和反应液的离子浓度, 在多种复杂 ssDNA 中表现出稳定性的游离末端清除效果。结合二代测序技术可在单碱基水平上定位这种动态的相互作用。进一步的, 该样品前处理方法不仅可以探索已知蛋白与 DNA 的特异性相互作用, 也可在固定化条件下对未知多重相互作用进行检测。结合高通量测序、色谱分析等技术手段可发展新的分析方法, 对 PDIs 复合物的定性、定位及动态互作研究具有重要意义。

参考文献:

1. Yuan, Z., Zhang, D., Yu, F., Ma, Y., Liu, Y., Li, X., & Wang, H., *Chemical Science*, **2021**, 12(6), 2039-2049.
2. Zhao, B., Zhang, D., Li, C., Yuan, Z., Yu, F., Zhong, S., Jiang, G., Yang, Y. G., Le, X. C., Weinfeld, M., Zhu, P., & Wang, H., *Cell discovery*, **2017**, 3, 16053.
3. Yu, F., Zhang, D., Zhao, C., Zhao, Q., Jiang, G., & Wang, H., *Nucleic acids research*, **2023**, 51(5), 2270-2283.

基于改性 MOF 衍生的多孔碳多环芳烃高效吸附

卢春松, 刘虎威, 白玉*

北京大学化学与分子工程学院

通讯联系人 E-mail: yu.bai@pku.edu.cn

多环芳烃 (PAHs) 是具有两个或多个苯环的疏水性有机化合物, 具有半挥发性、环境持久性、生物蓄积性和高致癌性等特点, 易吸附到土壤有机质和粘土矿物上, 从而增加污染土壤的生态风险。¹ 土壤中的 PAHs 可通过土壤微生物、植物、动物的食物链在人体内积累, 因此多环芳烃引起的环境污染得到了全世界关注。² 当前研究者致力于物理、化学、生物三种途径对 PAHs 造成的污染进行修复, 包括吸附、超临界流体萃取、微生物降解、化学降解³ 等途径, 因此发展高效的 PAHs 修复方法及材料显得尤为重要。

本工作利用改性的 MOF 衍生合成多孔碳, 该材料具备磁分离、吸附和催化等多重功能, 实现了 PAHs 的高效吸附。基于材料的一系列表征, 进一步阐明材料对 PAHs 的吸附机理。其中材料的比表面积达 $282.62 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, 较大的比表面为 PAHs 提供了潜在的吸附位点。通过 XPS 元素分析和拉曼光谱诠释了材料表面主要为 sp^2 型碳, 因此 π - π 以及疏水作用作为主要吸附机制促使材料对 PAHs 的高效吸附。更重要的是: 通过降解后的材料仍具备较好的吸附以及磁分离功能, 实现了较好的可重复利用性和经济性。

参考文献:

1. Bandowe B., Wei C., Wei C., Han Y., Ha Y., Polycyclic aromatic compounds (PAHs, oxygenated PAHs, nitrated PAHs and azaarenes) in soils from china and their relationship with geographic location, land use and soil carbon fractions. *Science of The Total Environment*, 2019, 690, 1268-1276.
2. Huang B., Liu M., Bi X., Phase distribution, sources and risk assessment of PAHs, NPAHs and OPAHs in a rural site of Pearl River Delta region, China. *Atmospheric Pollution Research*, 2014, 5, 2, 210-218.
3. Yap C. L., Gan S., Ng H. K., Fenton based remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soils. *Chemosphere*, 2011, 83, 11, 1414-1430.
4. Wang F. X., Zheng J., Qiu J. L., Liu S. Q., Chen G. S., Tong Y. X., Zhu F., Ouyang G. F., In Situ Hydrothermally Grown TiO_2 @C Core-Shell Nanowire Coating for Highly Sensitive Solid Phase Micro-extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *ACS Applied Materials Interfaces* 2017, 9, 2, 1840-1846.

Ionization of Glycans from Alkali Metal Salt-impregnated Paper

Ping Guo¹, Ke Min¹, Wei Luo¹, Si Huang¹, Zihui Yang¹, Ming Ma¹, Shubin Liu², Zhengfa Fang¹, Bo Chen^{1*}, and Han Zuilhof^{3*}

¹Key Laboratory of Phytochemical R&D of Hunan Province and Key Laboratory of Chemical Biology & Traditional Chinese Medicine Research of Ministry of Education, Hunan Normal University, Changsha, China.

²University of North Carolina, North Carolina 27599, USA.

³Wageningen University, Stippeneng 4, 6703 WE Wageningen, The Netherlands.

* E-mail: dr-chenpo@vip.sina.com; han.zuilhof@wur.nl

Abstract Ambient ionization of glycans is simply and efficiently achieved by spraying from an alkali metal salt-impregnated paper surface. Monosaccharides, oligosaccharides and ring glycans easily form abundant alkali metal adduct ions, and give simple and clean high-quality mass spectra. The enhancement is specific for glycans, compared to a wide variety of non-glycan compounds present in a matrix. In addition, molecular weight of unknown glycans can be further identified based on the ion mass difference of various alkali metal adduct ions from a certain compound when using a mixed salt-impregnated paper containing five cation salts. Successful determination of glycans and glycoconjugates in plant extracts, honey, blood and urine demonstrates the practicability of this approach to complicated matrices, especially biological matrices.

Keywords Ambient ionization mass spectrometry; Paper spray ionization; Glycans analysis; Alkali metal adduct ions.

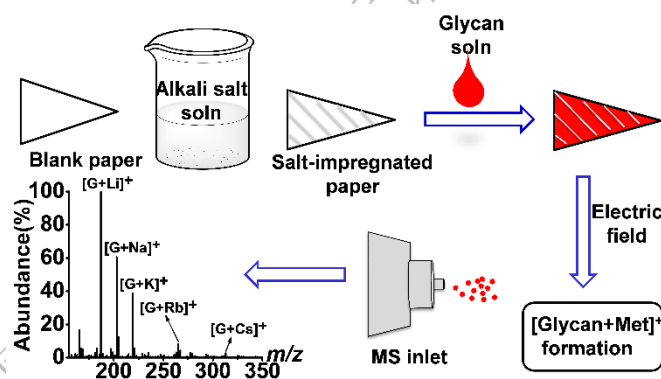


Figure 1. Schematic depiction of salt-impregnated paper spray (SIPS) mass spectrometry for the detection of glycans by using a mixed salt-impregnated paper containing Li, Na, K, Rb and Cs salts.

Acknowledgements The authors acknowledge support from the National Natural Science Foundation of China (22276050, 22276049).

Reference

1. R. G. Cooks, Z. Ouyang, et al. *Science* **2006**, 311, 1566-1570.
2. T. H. Kuo, E. P. Dutkiewicz, et al. *Anal. Chem.* **2020**, 92, 2353-2363.
3. H. Wang, J. Liu, et al. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, 49, 877-880.

水自由基阳离子固氮形成羟胺和硝酰基

张小平¹, 李晶铃¹, Konstantin Chingin², 张兴磊¹, 陈焕文^{2*}¹东华理工大学, 江西省质谱科学与仪器重点实验室, 江西南昌, 330013²江西中医药大学药学院, 南昌, 330004*Email: chw8868@gmail.com

氮是地球上所有生物的基本元素。分子氮(N₂)的体积占大气的75%以上,它在化学上极其稳定,不能直接利用,除非将其氧化状态转换为生物可利用的形式。因此,将氮气转化为高附加值的含氮化合物是备受关注且具有挑战性的研究课题。水分子结构具有特殊性,同时具备“氢源”和“氧源”。那么,是否可以根据水分子结构的特殊性,设计一种新策略在常规条件下利用水将氮气活化,同时实现氮气的还原和氧化(即歧化反应)。

本研究提出通过调控裸露的反应物分子或离子的电子云分布的策略,利用质谱学方法原理探索氮气与水的反应,使之成为氮气与氧气、氢气反应可相提并论的第三个反应。首先利用质谱制备了高活性的水二聚体自由基阳离子(H₂O)₂⁺,并进一步探究其与氮气的相互作用,发现其会产生具有经济价值的硝酰基(HNO, *m/z* 32)和羟胺(NH₂OH, *m/z* 33)产物(图1)¹。这两种产物在多个领域(如化学工业、空间探索和生物医学应用等)都具有潜在的高经济价值。通过同位素标记实验、串联质谱实验、振动光谱实验和荧光探针实验等进行结构验证。并进一步通过理论计算表明,该反应是由电子激发的N₂与两中心三电子(2c-3e)构型²的(H₂O)₂⁺作用而发生的。通过放大装置实验可获得NH₂OH的法拉第效率(FE)≈64%,NH₂OH的产率≈1.14 μg cm⁻² h⁻¹;HNO的FE≈20%,产率≈0.37 μg cm⁻² h⁻¹。本研究可为氮资源的高效利用开辟一种全新的途径,有望应用于农业生产等。

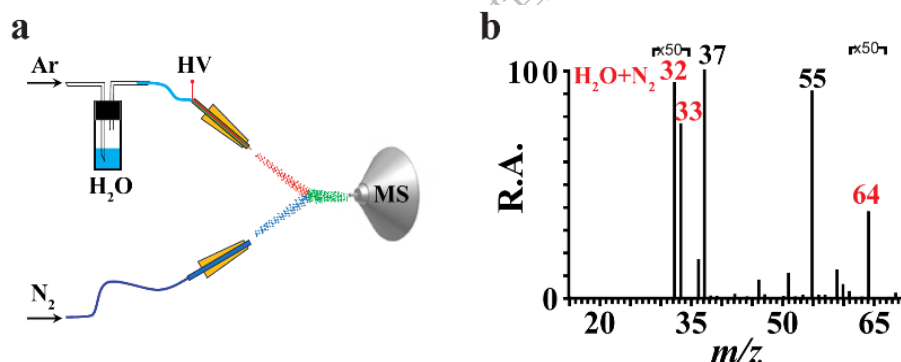


Fig. 1 **a** Experimental setup to study the interaction of N₂ with water vapor plasma by online mass spectrometry. **b** Mass spectrum of the ionic species. Red-color marks correspond to the products specific to the reaction between water vapor plasma and N₂.

关键词: 固氮作用; 水二聚体自由基阳离子; 羟胺; HNO; 质谱

参考文献

[1] Xiaoping Zhang, Liping Huang, Jingling Li, Wenwen Yang, Konstantin Chingin, Roman Balabin, Jingjing Wang, Xinglei Zhang, Weifeng Zhu, Rui Su, Keke Huang, Shouhua Feng, Huanwen Chen*. *under review*. 2023.

[2] Pan, PR.; Lin, YS.; Tsai, MK.; Kuo, JL.; Chai, JD. *Phys Chem Chem Phys*. 2012,14:10705.

基于水自由基阳离子高效检测烷烃物质的直接质谱分析

李晶铃¹, 张小平^{1*}, 张兴磊, Konstantin Chingin², 陈焕文^{2*}

¹ 东华理工大学, 江西省质谱科学与仪器重点实验室, 江西南昌, 330013

² 江西中医药大学药学院, 南昌, 330004

*Email: zhangxpsunshine@163.com, chw8868@gmail.com

烷烃是一类重要的难电离、非极性分子, 广泛存在于大气或呼出气体中。采用常规基于电喷雾技术原理的直接质谱方法电离效率非常低, 而经典的GC-MS方法难以实现直接检测, 且耗时较长。因此, 发展一种分析速度快、灵敏度高、装置简单、环境友好、无需有机衍生试剂、无需样品预处理、能实现复杂基体(如呼出气体)中非极性难电离烷烃类物质的直接质谱方法非常重要。

本项目研究团队基于分子间电子云共享机制理论, 根据电晕放电原理(电极尖端击穿气体分子发生电离), 通过精密调控能荷传递方式, 已成功研制出常压条件下能高效产生 $(\text{H}_2\text{O})_2^+$ 的电晕放电电离装置, 建立了常压制备 $(\text{H}_2\text{O})_2^+$ 的低能量电晕放电电离质谱方法¹⁻²。在此基础上, 本研究团队创造性的提出一种新型离子-分子反应衍生策略—— $(\text{H}_2\text{O})_2^+$ 与氮气分子作用形成羟胺自由基阳离子 (NH_2OH^+) 后进一步高效捕获烷烃分子形成易被质谱检测的C-N偶联产物, 建立适用于烷烃检测的双通道电晕放电电离质谱分析方法, 旨在实现复杂基体呼气中痕量烷烃的高灵敏快速检测。该策略与方法的优点包括: ① 策略新颖, 尚未有 NH_2OH^+ 与烷烃分子反应的相关研究报道; ② 离子-分子反应速度快、选择性高、形成的产物易电离; ③ 双通道装置有效地避免样品分子直接接触高压, 保证呼出气体样品的无创、直接检测; ④ 装置简单、环境友好, 无需有机衍生试剂、无需样品预处理等。

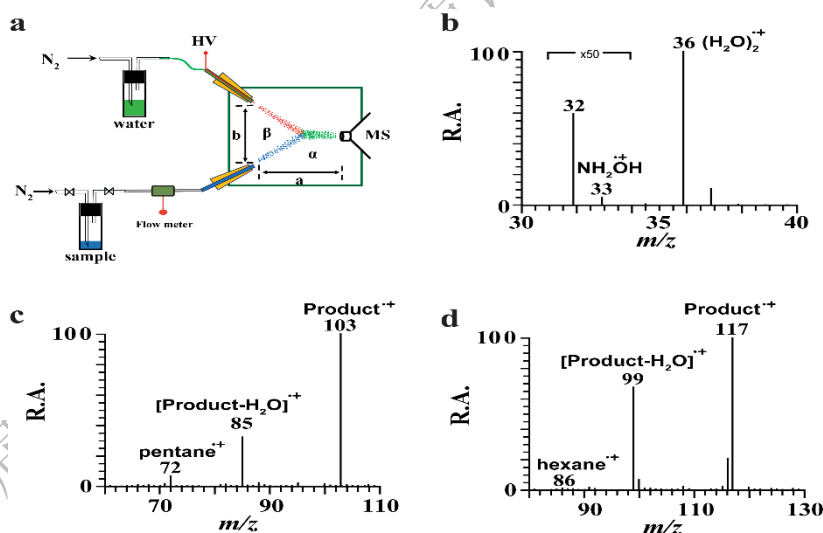


图 基于水自由基阳离子高灵敏检测烷烃(戊烷与己烷)的装置与方法

关键词: 烷烃; 水自由基阳离子; 直接质谱

参考文献

- [1] Zhang X. P., Ren X., Zhong Y., Chingin K., Chen H. W. Rapid and sensitive detection of acetone in exhaled breath through the ambient reaction with water radical cations. *Analyst* **2021**, *146*, 5037-5044.
- [2] Zhang X., Ren X., Chingin K., Xu J., Yan X., Chen H. Mass spectrometry distinguishing C=C location and cis/trans isomers: A strategy initiated by water radical cations. *Anal. Chim. Acta* **2020**, *1139*, 146-154.

基于水自由基阳离子高效检测不饱和脂肪酸的直接质谱分析

杨文雯, 张军, 王国栓, 梁海龙, 张小平*

东华理工大学, 江西省质谱科学与仪器重点实验室, 江西南昌, 330013

*Email: zhangxpsunshine@163.com

不饱和脂肪酸是红茶重要挥发性化合物之一, 对红茶香气具有很大贡献。目前常将 GC-MS 与固相微萃取 (SPME)、同时蒸馏萃取 (SDE) 等萃取技术联用对茶叶中微量酸进行鉴定和定量分析, 这些方法操作繁琐, 且需要大量有机试剂, 易造成环境污染。因此, 简便快速、成本低廉且绿色环保的新技术的开发迫在眉睫。本课题组前期研究发现, 水自由基阳离子是一种高活性物种, 能与丙酮^[1]、烯醇^[2]等有机物快速发生化学反应, 基于此开发出通过水自由基阳离子与不饱和脂肪酸 C=C 的环氧化反应来快速鉴别和定量红茶中的微量不饱和脂肪酸的直接质谱分析方法。

本研究以己烯酸与辛烯酸为例进行方法探究, 具体策略如下: 通过自制表面解吸常压化学电离 (SDAPCI) 源尖端电晕放电使空气中的水蒸气电离, 制备出丰富的水自由基阳离子, 示于图 (b), 进而与不饱和脂肪酸 C=C 发生环氧化反应。自制电离装置装有一块可控温陶瓷加热板, 用于促进样品从表面解吸出来, 见图 1 (a), 3-己烯酸环氧化后的一级谱图示于图 1 (c)。该方法能快速获得武夷山正山小种、印度大吉岭茶、以及江西修水宁红的化学指纹图谱, 实现不同品种红茶的区分与鉴定, 进而追溯其地理来源, 如图 1 (d) 为正山小种的特征化学指纹谱图。此外, 产物离子信号强度与样品浓度有良好的线性关系, 基于此计算出了 3 种红茶中己烯酸和辛烯酸的含量: 大吉岭茶中己烯酸含量为 0.59%, 辛烯酸含量为 0.58%; 宁红茶中己烯酸含量为 0.59%, 辛烯酸含量为 0.83%; 正山小种中己烯酸含量为 0.31%, 辛烯酸含量为 0.21%。该方法环氧化反应快速 (几秒以内), 无需萃取过程直接检测茶汤; 绿色无污染; 消除了有机试剂参与。

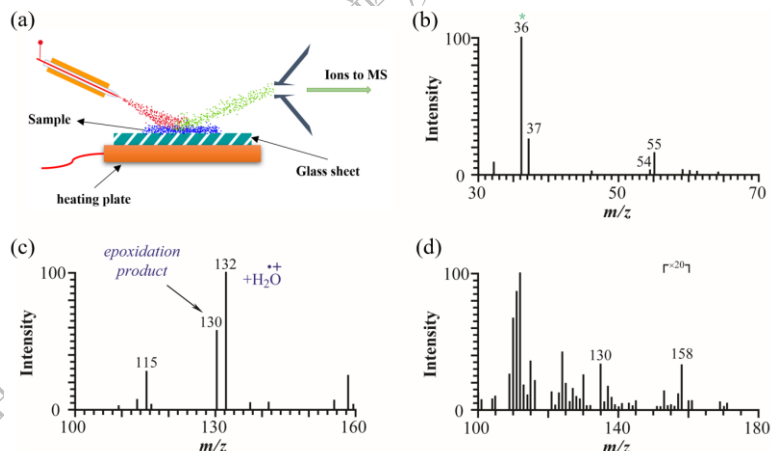


Fig. 1 Direct mass spectrometry analysis of unsaturated fatty acids in black tea. (a) Self-made surface desorption atmospheric pressure ionization device; (b) Mass spectra of water radical cation clusters and protonated water clusters produced. (c) Full MS spectrum of the epoxidized products of trans-3-hexenoic acid and water radical cations. (d) Mass spectra of hexenoic acid, octenoic acid in black tea after epoxidation reaction with water radical cations

关键词: 水自由基阳离子; 红茶; 不饱和脂肪酸; 直接质谱

参考文献:

1. X. Zhang, X. Ren, Y. Zhong, K. Chinglin, H. Chen, *Analyst*, **2021**, 146, 16: 5037-5044.
2. X. Zhang, X. Ren, K. Chinglin, J. Xu, X. Yan, H. Chen, *Anal. Chim. Acta.*, **2020**, 1139: 146-154.

Development of In-depth mass cytometry and its application

Shaojie Qin, Daiyu Miao, Yi Zhang, Yu Bai*, Huwei Liu

Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Key Laboratory of Bioorganic Chemistry and Molecular Engineering of Ministry of Education, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, P. R. China.

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

Cell heterogeneity is broadly present in all cell populations^[1]. Comprehensive single-cell metabolic profiling is critical to systematic characterization of cellular phenotypic heterogeneity, which in turn has significant implications in signaling response and disease diagnosis^[2]. However, it is still in its infancy owing to limited metabolites coverage and disability of universal isomer discrimination. Herein, we established a novel single-cell metabolome analytical strategy called In-depth mass cytometry (ID-cyto MS), which combined ultrasonication for online cell lysis with organic mass cytometry^[3]. 289 and 214 metabolites were successfully identified among MCF-7 single cells in positive and negative mode, respectively. ~20 s single-cell detection window was realized. Extended analysis time enabled multiple MS/MS information acquisition, which allowed isomers discrimination at single-cell level. Benefiting from above advantages, ID-cyto MS enables deep single cell metabolic profiling and cancer cell subtyping, which lays the foundation for exploration of sophisticated cell phenotypic heterogeneity.

This work was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (22125401, 22074003) and National Key R&D Program of China (2022YFC3400700).

References:

1. S. J. Altschuler, L. F. Wu, *Cellular Heterogeneity: Do Differences Make a Difference?*. *Cell*, **2010**, 141, 559-563.
2. M. Fessenden, *Metabolomics: Small molecules, single cells*. *Nature*, **2016**, 540, 153-155.
3. S. Xu, M. Liu, Y. Bai, H. Liu, *Multi-Dimensional Organic Mass Cytometry: Simultaneous Analysis of Proteins and Metabolites on Single Cells*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 1806-1812.

敞开式质谱法快速分析山银花及其皂苷类成分

杨蓉, 王鑫, 马铭, 陈波*

湖南师范大学化学化工学院, 长沙, 410081;

湖南省植化单体开发与利用湖南省重点实验室, 湖南师范大学, 长沙, 410081

通讯联系人 E-mail: dr-chenpo@vip.sina.com

为避免山银花与金银花混杂使用而带来的安全性风险, 本研究借助敞开式质谱法 (Ambient Mass Spectrometry) 建立了一种快速区分山银花和金银花原药材的方法, 同时建立了一种快速测定山银花中常春藤皂苷元型皂苷类成分的方法 (见图 1)。

本研究首先采用常压敞开式质谱法中的电喷雾电离质谱原位直喷分析的方式, 以灰毡毛忍冬皂苷乙 (Macranthoidin B, MaB)、灰毡毛忍冬皂苷甲 (Macranthoidin A, MaA) 和川续断皂苷乙 (Dipsacoside B, DiB) 为目标监测化合物, 以正离子扫描模式, 对山银花和金银花原药材中的目标物的 $[M+K]^+$ 加合离子进行检测, 再借助常压敞开式质谱法中的纸喷雾质谱法, 以正离子扫描模式下目标物 $[M+H+K]^2+$ 加合离子作为监测离子, 通过优化实验条件, 对山银花原药材中的三种常春藤皂苷元型模型皂苷进行半定量分析。

结果发现, 借助原位直喷质谱技术所得的山银花原药材的质谱图中, MaB、MaA 和 DiB 的 $[M+K]^+$ 加合离子质谱响应信号清晰可见、背景噪音小, 金银花中则几乎未捕获相应的质谱响应信号, 而且山银花中这三种皂苷与内标物的质谱响应信号的峰面积比要高于金银花, 有的甚至高 1 个数量级。此结果说明, 以此三种典型的常春藤皂苷元型皂苷为鉴别指针, 在用极少量的有机溶剂、无需或仅需简单样品前处理的情况下, 能从化学角度实现对山银花和金银花原药材的原位快速区分。另外, 借助纸喷雾质谱法对山银花中所含 MaB、MaA 和 DiB 的含量进行进一步测定的结果表明, 该方法符合半定量分析的精度, 不仅测定的结果与传统的高效液相色谱检测结果相一致, 而且具有分析操作时间短、有机溶剂消耗少、无需色谱分离过程的优势。因此, 本研究所建立的方法, 不仅为进一步合理开发利用山银花的药用资源奠定了基础, 也为中药材的质量安全评价提供了新思路。

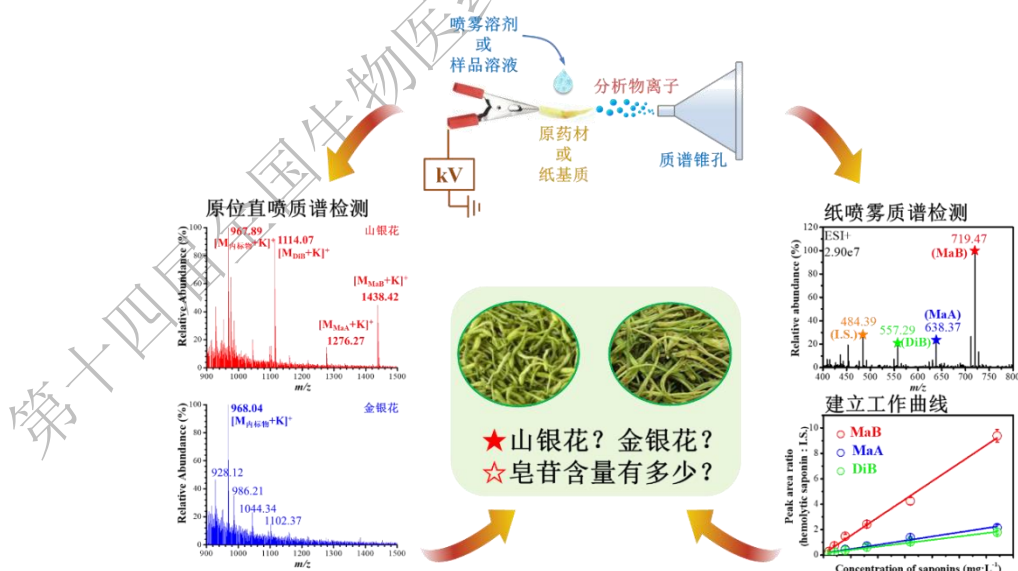


图 1 敞开式质谱法分析检测山银花及其皂苷类成分的检测过程示意图

关键词: 敞开式质谱法; 山银花; 金银花; 原位直喷质谱; 纸喷雾质谱.

基于 2-胍基吡啶衍生和 DCBI-MS/MS 法检测植物油中的醛类化合物

秦雨, 曾慧媚, 汤姗, 陈波, 马铭*

化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 植化单体开发与利用湖南省重点实验室,

湖南师范大学, 长沙, 410081

*E-mail address: mingma@hunnu.edu.cn

植物油在长期储存或油炸过程中, 容易发生聚合、氧化、水解等复杂的化学反应。其中多不饱和和脂肪酸氧化会导致过氧化氢(初级氧化产物)的形成, 其二级降解化合物主要是醛类化合物, 并已被证明与蛋白质和核酸反应从而具有细胞毒性和基因毒性^[1,2]。它们与油脂的氧化指标具有很好的相关性, 并且与帕金森、阿兹海默症等神经性疾病的发病机理有关^[3]。

本研究通过 2-胍基吡啶中的亚胺基团和醛类化合物中的羰基发生希弗碱反应, 引入易电离的吡啶基团来提高醛类化合物的离子化效率, 达到提高灵敏度、降低检出限的目的。衍生化产物与其产生的特征碎片组成的多反应监测 (MRM) 离子对, 相较于质谱全扫来说响应更好, 更适用于微量醛类化合物的检测。以 2-胍基吡啶为衍生化试剂对实际油样中的烯醛进行轻型衍生, 2-胍基-5-甲基吡啶作为衍生化试剂的内标, 对醛类标准品进行重型衍生。在最佳条件下, 比较重复使用的植物油和新鲜植物油中醛类化合物种类和含量的差异。利用 DCBI-MS/MS 法分析速度快, 无需经过色谱柱分离和消耗大量溶剂的优点, 提供一种能快速鉴别新鲜植物油的方法。

关键词: 醛类化合物; 植物油; 衍生; 2-胍基吡啶

参考文献:

- [1] L. Wang, J. Wang, J. Xu, S. Liu, S. Huang, et al. Highly sensitive qualitative and quantitative detection of saturated fatty aldehydes in edible vegetable oils using a "turn-on" fluorescent probe by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **2020**, 1621.
- [2] C. Douny, A. Tihon, P. Bayonnet, et al. Validation of the Analytical Procedure for the Determination of Malondialdehyde and Three Other Aldehydes in Vegetable Oil Using Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) and Application to Linseed Oil. *Food Analytical Methods*, **2015**, 8, 1425-1435.
- [3] J.H. Suh, Y.S. Niu, W.-L. Hung, et al. Lipidomic analysis for carbonyl species derived from fish oil using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, **2017**, 168, 31-42.

本研究受国家自然科学基金项目 (22276050, 22276049) 资助。

单个免疫细胞代谢质谱在肿瘤内 NK 细胞失能研究中的应用

侯壮豪, 郑小虎, 魏海明, 黄光明*

化学系, 化学与材料科学学院, 中国科学技术大学, 合肥, 安徽 230026

通讯联系人 E-mail: gmhuang@ustc.edu.cn

免疫细胞在肿瘤微环境中起着重要的作用, 针对免疫细胞体积小、代谢物成分复杂, 代谢变化快等挑战, 本研究开发了单个免疫细胞代谢质谱平台, 采用免疫分选的方式实现高纯度的NK细胞, 采用显微取样结合负压抽取的方式, 将NK细胞的细胞内物质和细胞膜组分同时抽取, 采用感应电喷雾进行代谢物与基质的超快分离与离子化, 实现了免疫细胞内小分子化合物与脂质等代谢物的同时快速检测。对正常肝组织、正常人外周血和癌患者肝癌肿瘤内的NK细胞进行单细胞代谢质谱分析, 发现癌组织中的NK细胞内鞘磷脂的水平显著降低。结合扫描电镜、透射电镜及生物学功能实验, 发现癌组织中的NK细胞内鞘磷脂的降低与NK细胞的突触丢失及抗癌能力减弱有关。对NK细胞的单细胞代谢质谱分析, 发现肿瘤内NK细胞的鞘磷脂降低与细胞内丝氨酸代谢通路有关, 抑制肿瘤内NK细胞的鞘磷脂的降解能够有效恢复NK细胞的抗癌能力。

参考文献:

1. Gerriets V A, Rathmell J C. Metabolic pathways in T cell fate and function[J]. *Trends in Immunology*, 2012, 33(4):168-173.
2. Butler, A, Hoffman, P, Smibert, P, Papalexi, E, Satija, R, Integrating single-cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species *Nature Biotechnology* **2018**.
3. Zheng X., Hou Z., Qian Y., Zhang Y., Cui Q., Wang X., Shen Y., Liu Z., Zhou Y., Fu B., Sun R., Tian Z., Huang G., Wei H., Tumors evade immune cytotoxicity by altering the surface topology of NK cells *Nat Immunol* **2023**.

质谱成像用于生物体内氧化还原及代谢异质性的研究

韩静, 刘会会, 熊彩侨, 聂宗秀*

中国科学院化学研究所

通讯联系人 E-mail: znie@iccas.ac.cn

生物体内的氧化应激与细胞凋亡, 疾病衰老等息息相关¹。在这些情况下, 谷胱甘肽(GSH)和还原性辅酶NADPH通过调节氧化还原稳态以抵御氧化应激的伤害²。与GSH和NADPH相关的氧化还原系统的调控是疾病治疗的一个重要研究领域³。然而, 代谢异质环境和复杂的组织结构往往导致治疗效果差和机制不明确, 这严重限制了基于氧化应激的治疗的发展⁴。因此, 基于成像的空间代谢组学研究显得尤为重要。

质谱成像可以同时给出数百种代谢物的空间分布信息, 分辨率可以达到单细胞水平 (~10-50 μm)。近些年, 基于质谱成像的空间代谢组学方法用于研究多种疾病癌症的关键代谢物组织分布情况, 对于探究复杂的生物系统和病理过程具有重要意义⁵。

本项目, 建立体内合成金纳米颗粒方法, 通过金纳米颗粒的质谱指纹峰信号, 指示发生氧化应激的区域, 同时结合空间代谢组学方法, 对该区域的关键代谢物及相关通路异质性进行研究。实验发现不同细胞, 不同细胞亚型的还原能力存在差异性。将离子形态的金递送到小鼠体内, 发现在肾组织区域, 被还原的金纳米颗粒具有区域异质性, 主要分布在肾皮质区域。在注射离子金之后, 产生大量差异性代谢物, 主要集中在氨基酸代谢和谷胱甘肽代谢通路中。通过质谱成像对谷胱甘肽代谢通路上的分子进行研究, 发现谷胱甘肽含量明显上升, 主要发生在皮质区域。结合免疫组学和免疫荧光成像, 发现谷胱甘肽合成相关酶的表达主要集中在肾皮质区域, 说明代谢物的异质性往往与相关酶的表达异质性相关。NADPH是合成谷胱甘肽中重要的辅酶, 通过质谱成像、酶活性研究、相关mRNA的表达量综合研究发现, G6PD和IDH1是主要合成NADPH的通路。在实体瘤内, 同样发现了氧化还原和相关代谢物的分布及含量异质性, 并发现氧化应激可以促进肿瘤相关巨噬细胞对实体瘤的浸润, 为肿瘤治疗提供新的研究思路。

参考文献:

1. M. T. Lin, M. F. Beal, *Nature*, **2006**, 443, 787-795.
2. R. Kandar, *Biomed Chromatogr*, **2016**, 30, 13-28.
3. C. Ji, H. Li, L. Zhang, P. Wang, Y. Lv, Z. Sun, J. Tan, Q. Yuan, W. Tan, *Angew Chem Int Ed Engl*, **2022**, 61, e202200237
4. J. D. Hayes, A. T. Dinkova-Kostova, K. D. Tew, *Cancer Cell*, **2020**, 38, 167-197 (2020).
5. V. Ruiz-Rodado, A. Lita, M. Larion, *Nat Methods*, **2022**, 19, 1048-1063.

Ti⁴⁺修饰纸喷雾质谱在生物样品分析中的应用

罗玮^{1,2}, 陈波^{1*}, Han Zuilhof^{2*}, Gert IJ. Salentijn^{2*}

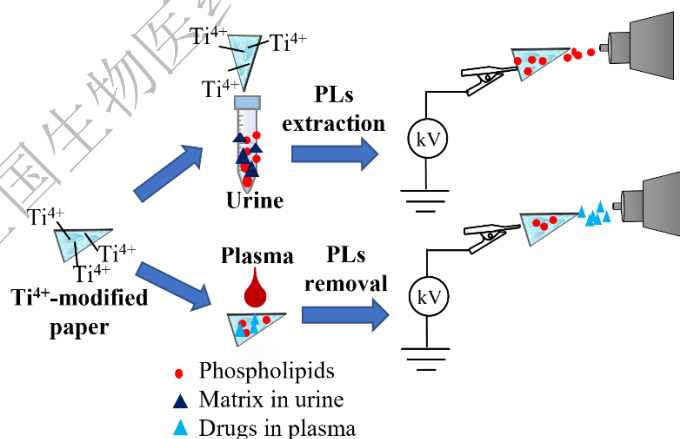
1. 湖南师范大学化学化工学院, 长沙, 410081; 植化单体开发与利用湖南省重点实验室, 湖南师范大学, 长沙, 410081。

2. Wageningen University, Netherlands。

磷脂 (phospholipids, PLs) 是细胞膜的主要成分, 在细胞增殖、死亡及信号传导等方面起着非常重要的作用[1]。由于PLs可作为一些成人疾病的相关标志物, 磷脂成分和浓度的相对变化显得尤为重要, 其中磷脂酰胆碱和溶血磷脂酰胆碱是人体血液和尿液中较为常见的两种磷脂[2], 其定量分析检测受到关注。另一方面来说, 磷脂作为一类重要的生物化合物, 是引起基质效应的主要内源性化合物, 磷脂高离子化特性在一定程度上影响了其他分析物的电离效率[3]。因此, 在生物样品分析中磷脂的去除是样品制备过程中极其重要的一步。

根据路易斯酸碱理论, 过渡金属能与富电子的N、P、S等发生配位作用, 由此发展的固定金属亲和色谱法被广泛用于含有磷酸基团的相关化合物。其中Ti⁴⁺修饰材料由于其特异性亲和, 已被广泛用作吸附剂, 以选择性分离和分子识别含有磷酸基团类物质。此类化合物可在酸性条件下与金属离子结合, 并在碱性条件下解吸。

本研究类比课题组已有的硼亲和纸基工作[4], 将Ti⁴⁺修饰纸基与纸喷雾质谱相结合, 利用Ti⁴⁺修饰纸基与磷脂的特异性结合, 将其应用于尿液中磷脂的选择性分析, 可有效去除尿液中的盐类等其他基质干扰, 提高了纸喷雾质谱的选择性和灵敏度, 在实际尿样中最低检测限达0.01-0.03 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 实现对慢性肾病等疾病的快速筛查。另一方面则进行完全相反的应用, 利用Ti⁴⁺修饰纸基将磷脂保留在修饰纸基上, 从而有效降低磷脂对血浆中药物小分子分析的基质干扰, 有效提高目标分析物的灵敏度。以血浆中的可乐定为模型分析物, 对比常规纸喷雾质谱法, 最低定量限由1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 降低为0.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 为利用纸喷雾质谱检测药物分子提供新思路。



参考文献:

1. H.K. Min, G. Kong, M.H. Moon. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010, 396 (3): 1273-1280.
2. H. Kim, E. Ahn, M.H. Moon. *Analyst*, 2008, 133: 1656-1663.
3. J.A. Salatti-Dorado, N. Caballero-Casero, M.D. Sicilia, M.L. Lunar, S. Rubio. *Anal. Chim. Acta*, 2017, 950: 71-79.
4. W. Luo, Teris A. B., B. Chen, Han Z., Gert IJ. S. *Anal. Chim. Acta*, 2022, 1235: 340508.

New methods and applications of mass spectrometry diagnosis based on extracellular vesicles

Yi Zhang, Huwei Liu, Yu Bai*

College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University

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

Extracellular vesicle (EV) is the generic term for particles naturally released from cells that are delimited by a lipid bilayer and cannot replicate¹. Exosome is a subtype of extracellular vesicles. It plays an important role in many biological processes such as intercellular communication, tumorigenesis, signal transduction and immune response. In recent years, exosomes are becoming ideal vehicles for drug delivery due to their good biocompatibility. As new biomarkers, exosomes are showing great potential in liquid biopsy².

At present, there are still many problems in the field of exosomes research under development. This project hopes to develop a simple, low-cost, and rapid method for exosome capture, and to achieve rapid analysis of peptides and metabolites loaded in the exosomes by MALDI-MS³, so that building a platform for disease biomarker discovery and diagnosis. Presently, the nanoscale, magnetic material was synthesized and characterized, which forms a “core-shell” structure with a particle size of about 300 nm, and the affinity peptide was anchored on the material for exosome specifically capture. The exosomes secreted by tumor cells was separated and characterized as model exosomes, and the capture efficiency was determined by fluorescence and western blot method. The MALDI-MS method was established for peptides and metabolites detection in intact exosomes. The fast capture and MS “fingerprint” analysis of exosomes will provide a powerful method for disease biomarker discovery and early disease diagnosis.

This work was financially supported by the National Key R&D Program of China (2022YFC3400700) and the National Natural Science Foundation of China (No. 22125401 and 22074003).

Reference:

1. R. Kalluri and V. S. LeBleu, *Science*, **2020**, 367, 640-654.
2. F. Y. Gao, F. L. Jiao, C. S. Xia, Y. Zhao, W. T. Ying, Y. P. Xie, X. Y. Guan, M. Tao, Y. J. Zhang, W. J. Qin and X. H. Qian, *Chem. Sci.*, **2019**, 10, 1579-1588.
3. Y. D. Zhu, H. Pick, N. Gasilova, X. Y. Li, T. E. Lin, H. P. Laeubli, A. Zippelius, P. C. Ho and H. H. Girault, *Chem*, **2019**, 5, 1318-1336.

Single cell analysis of *cis*-diol containing metabolites using non-contact ionization and in-tube derivatization

Xiaodan Qiu, Yu Bai*, Huwei Liu

College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University

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

Single cell analysis is of great significance in revealing cell heterogeneity and obtaining more comprehensive and accurate biological information^[1]. As an important part of single cell analysis, single cell mass spectrometry (MS) has developed rapidly in recent years, but there are still challenges in detecting metabolites with low abundance or low ionization efficiency^[2]. Adopting derivatization methods to enhance the MS response of metabolites or adopting appropriate methods to reduce matrix effects can solve the above detection challenges^[3]. *cis*-Diol-containing metabolites are widely distributed in organisms and play an important role in maintaining life activities^[4]. Therefore, it is necessary to develop certain methods to conduct in-depth research on *cis*-diol containing metabolites at the single cell level. Compounds containing boric acid units in their structures are widely used in the recognition and capture of *cis*-diol containing compounds due to their high reactivity towards *cis*-diol. Herein, this study reported an in-tube boronic derivatization approach for determination of *cis*-diol containing metabolites in single epidermal cell of *A. cepa* bulb using 2-bromopyridine-5-boronic acid. The micropipette needles with a tip diameter of about 1 μm were directly inserted into live cells to sample metabolites. The capillary needle was then used as a microreactor where 2-bromopyridine-5-boronic acid reacted with *cis*-diol containing compounds. After derivatization, the micropipette was directly acted as the spray emitter to analyze derivatized cell contents using the non-contact electrospray ionization mass spectrometry. The characteristic isotope peaks of bromine and boron elements can be used to better identify the derivatized *cis*-diol metabolites. The research results revealed that the detection sensitivity of *cis*-diol containing compounds was increased by at least 50 times after derivatization. There are significant differences in the contents of *cis*-diol containing metabolites in the inner and outer epidermal cells, and the *cis*-diol containing metabolites mainly included flavonoids, fructans, etc. Taken together, this study utilized the non-contact electrospray ionization mass spectrometry and in-tube derivatization to determine the *cis*-diol containing metabolites in inner and outer epidermal cells of *A. cepa* bulb, which is conducive to analyzing the cell heterogeneity, and also conducive to the in-depth characterization of *cis*-diol containing metabolites.

This work was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (22125401 and 22074003) and National Key R&D Program of China (2022YFC3400700).

References:

1. R. Zenobi, Single-Cell Metabolomics: Analytical and Biological Perspectives. *Science*, **2013**, 342, 1243259.
2. L. Zhang, et al., Single-Cell Mass Spectrometry Approaches to Explore Cellular Heterogeneity. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 4466 – 4477.
3. Y. Cao, et al., Single-Cell On-Probe Derivatization–Noncontact Nanocarbon Fiber Ionization: Unraveling Cellular Heterogeneity of Fatty Alcohol and Sterol Metabolites. *Anal. Chem.*, **2020**, 92, 8378–8385.
4. G.E. Ritchie, et al., Glycosylation and the Complement System. *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 2, 305–320.

基于原位电离质谱的高效样品表面分析

李红丽*, 赵正燕, 白志如, 陈大勇*

南京师范大学化学与材料科学学院

通讯联系人 E-mail: lihongli@njnu.edu.cn

物体表面含有多种重要物质, 表面分析对于揭示物体表面成分组成, 以及了解成分在样品表面的分布至关重要[1, 2]。质谱成像 (Mass spectrometry imaging, MSI) 技术能够探索样品表面的分子特征以及分子在样品表面的空间分布[3, 4]。然而, MSI 方法通常需要繁琐的样品制备和复杂的分析系统, 并且要受到样本大小、长扫描时间、仪器成本高等的限制。因此, 亟需开发一种直接的、简单的表面分析方法来揭示样品表面的化学成分以及分析物在产品上的分布信息。

在这项工作中, 我们开发了一种基于原位电离离子源和高分辨率质谱 (MS) 的高效样品表面分析方法 (见图 1)。通过搭建和改进实时直接分析离子源 (Direct analysis in real time, DART) 的装置, 包括离子源出口孔径、传输管形状和自动采样平台等, 实现了样品表面的二维扫描分析。该方法和系统成功应用于了多种样品表面的直接二维分析和成分的分布研究, 包括果皮、人参表面、植物和萝卜体样品等。结果表明, 无需任何预处理, 在这些样品表面直接检测到了多种活性化合物包括糖类、生物碱、酚类、胺类等。获得了独特而丰富的化学图谱, 并很好地展示了不同分析物的分子分布图, 有助于物质在样品上的定位。通过扫描电子显微镜分析验证了 DART 电离虽然会对样品表面造成一定的损伤, 但损害并不大。本论文开发的原位电离质谱 (DART-MS) 样品表面分析方法适用于不同形状、不同尺寸、粗糙和不平整样品的分析; 该方法是高效和稳健的, 无需额外的源供应、复杂的采样系统和样品预处理, 可用于各种样品表面的常规和快速分析。

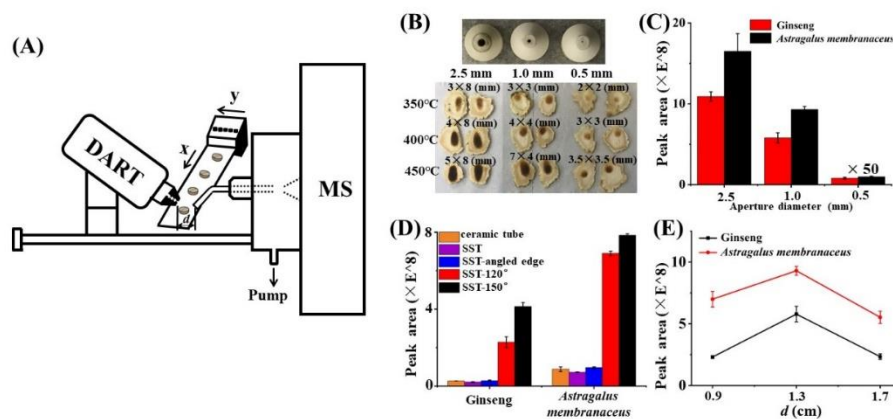


图 1. 基于原位电离离子源 (DART) 和高分辨率质谱 (MS) 的样品表面分析方法示意图。

参考文献:

1. W. Li, Y. N. Yao, L. Wu, B. Hu, *J. Agric. Food Chem.* **2019**, 67, 2265-2271.
2. I. A. Rather, W. Y. Koh, W. K. Paek, J. Lim, *Front. Pharmacol.* **2017**, 8, 830.
3. Y. Shi, Y. Zhao, J. Qian, Z. Dong, G. Wen, D. Zhao, E. J. Kennelly, *J. Nat. Prod.* **2021**, 84, 570-587.
4. K. Chughtai,; R. M. Heeren, *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3237-3277.

基于 MALDI-MS 的大蒜中风味品质成分的空间分布特征研究

马海潇^{1,2}, 狄双双³, 刘贵巧², 邱静¹, 钱永忠¹, 聂洪港^{3,*}, 翁瑞^{1,*}

1. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京, 100081

2. 河北工程大学, 生命科学与食品工程学院, 河北邯郸, 056038

3. 北京大学, 化学与分子工程学院, 北京, 100871

通讯联系人 E-mail: wengrui@caas.cn

大蒜是我国极重要的农作物品种之一, 其风味品质成分主要为有机硫化合物、游离氨基酸和酚类化合物。考虑到植物体内代谢物的合成和累积具有精准的空间分布, 且生理功能与其在组织中的空间分布紧密相关, 高空间分辨地精准定位大蒜中风味品质成分在大蒜中的空间分布特征, 阐明其时空累积规律对大蒜的精准品质育种至关重要。因此, 本项目基于MALDI-MS, 优化确定2,5-二羟基苯甲酸(DHB)为辅助激光解析的基质, 选择20 min为大蒜切片的冷冻时长、30 μm为冷冻切片厚度, 建立了大蒜中有机硫化合物、游离氨基酸和酚类化合物等风味品质成分的空间代谢组学分析方法, 实现了大蒜中风味品质成分的空间可视化, 明确了特征风味品质成分在大蒜中的时空分布特征。其中, 有机硫化合物主要分布在大蒜发芽孔, 游离氨基酸和酚类化合物集中分布在大蒜储藏叶。基于空间分布特征, 初步解析大蒜生长过程中由半胱氨酸和谷氨酸合成有机硫化合物的反应是由储藏叶到发芽孔的方向进行的。大蒜风味品质的风味品质成分的空间分布特征和时空累积规律为大蒜品种培优和品质提升提供了坚实的理论和数据基础。

使用BioAccord™ LC-MS 对自动化高通量多并行 Ambr®15 微生物反应器系统进行过程中培养基监测

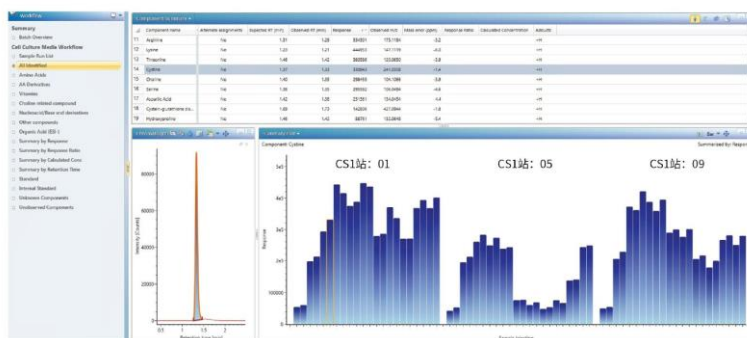
Yun Alelyunas, Charles Prochaska, Clint Kukla, Mark Wrona, Ying Qing Yu

Waters Corporation

通讯联系人 E-mail: Jiaying_Hong@waters.com

BioAccord™ LC-MS 系统已用于分析来自Ambr®15生物反应器的细胞培养基样品。全面的 LC-MS方法、工作流程和批处理分析软件使生物工艺工程师能够快速、轻松地运行和处理大量样品。多变量数据分析可以提供所有容器的成分和浓度差异的概览信息。当这些信息与其他工艺或产品相关的质量属性相结合时，将使生物工艺团队能够快速了解关键生物工艺参数对产品 CQA 的影响。

细胞培养基为维持细胞健康和生长提供必需的营养物质和成分，并大幅提高生物治疗药物的产量和质量。生物工艺团队越来越需要对原始培养基、补料、补充剂和用过的细胞培养基进行监测，并在监测的同时将这些信息快速提供给工艺工程师。除了必需氨基酸、维生素和其他主要补料成分外，使用过的培养基中还含有数百种其他化合物和代谢物。在克隆选择和/或工艺优化期间，常规全面监测可以提供有关细胞培养性能的额外信息。本技术简报介绍了基于 BioAccord LC-MS 系统 1 开发的细胞培养基监测方法，适用于对 Ambr®15高通量生物反应器系统中的过程中样品进行常规筛选。



原文图 1.waters_connect 数据查看面板示例，显示了自定义工作流程、表格化的结果数据以及不同容器和采样时间下的胱氨酸响应值趋势图。

参考文献：

1. Alelyunas YW, Wrona MD, Chen W. 使用搭载 ACQUITY Premier 的 BioAccord LC-MS 系统监测生物工艺开发所用细胞培养基中的营养成分及代谢物, 沃特世应用纪要: 720007359ZH, 2021 年 9月.

参考文献:

1. FDA网站,“Biosimilar Development, Review, and Approval”

(<https://www.fda.gov/drugs/biosimilars/biosimilar-development-review-and-approval#data> <

<https://www.fda.gov/drugs/biosimilars/biosimilar-development-review-and-approval#data>>),2022年1月11

日访问.

2. Jung SK, Lee, KH, Jeon JW, Lee JW, Kwon BO, Kim YJ, Bae JS, Kim D, Lee SY, Chang SJ; Physiochemical Characterization of Remsima®.mAbs. 2014; 6(5): 1163–1177.

3. Hong J, Lee Y, Lee C, Eo S, Kim S, Lee N, Park J, Park S, Seo D, Jeong M, Lee Y, Bou-Assaf G, Sosic Z, Zhang W, Jaquez O; Physiochemical and Biological Characterization of SB2, A Biosimilar of Remicade® (infliximab); mAbs.2017; 9(2): 365–383.

3. Hong J, Lee Y, Lee C, Eo S, Kim S, Lee N, Park J, Park S, Seo D, Jeong M, Lee Y, Bou-Assaf G, Sosic Z, Zhang W, Jaquez O; Physiochemical and Biological Characterization of SB2, A Biosimilar of Remicade® (infliximab); mAbs.2017; 9(2): 365–383.

4. Lee C, Jeong M, Lee JJ, Seo S, Cho SC, Zhang W, Jaquez O; Glycosylation Profile and Biological Activity of Remicade® Compared With Flixabi® and Remsima®; mAbs.2017; 9(6): 968-977.

5. Mortishire-Smith R, Richardson K, Denny R, Hughes C. Intelligent Data Capture: Real-Time Noise Reduction for High Resolution Mass Spectrometry. Waters White paper:720006567 <
<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006567en.pdf>> , June 2019.

6. Yoo E, Yu LJ, Wims LA, Goldberg D, Morrison SL; Differences in N-glycan Structures Found on Recombinant IgA1 and IgA2 Produced in Murine Myeloma and CHO Cell Lines; mAbs.2010; 2(3): 320-334.

7. FDA网站, 2022年5月11日访问.“Biosimilar Drug Products” Avsola Factsheet (

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/761086s000lbl.pdf <

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/761086s000lbl.pdf>).

8. Ippoliti S, Shmudlach A, Lauber MA, Yu YQ.使用BioResolve SCX色谱柱、IonHance CX-MS pH 浓缩

液和 BioAccord 系统对 mAb 电荷异构体进行在线 IEX-MS 分析.沃特世应用纪要: 720006672ZH, 2019

年9月.

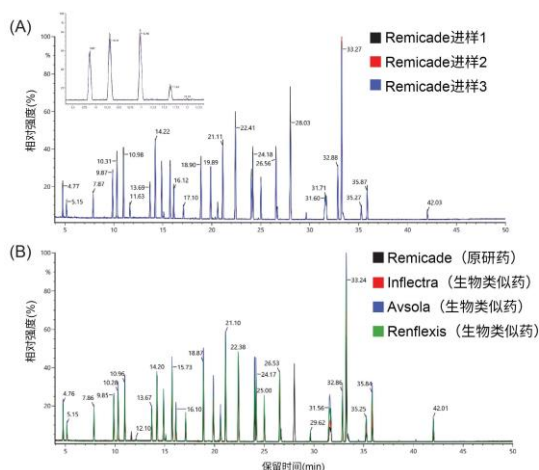
在 Xevo™ G3 QTof 平台上应用肽图分析和多属性方法(MAM) 工作流程执行 mAb 药品的生物类似药比较

Kellen DeLaney, Samantha Ippoliti, Lisa Reid, Owen Cornwell, Ying Qing Yu, Emma Harry, Mark Towers
Waters Corporation

通讯联系人 E-mail: Jiaying_Hong@waters.com

随着越来越多的单抗(mAb)生物类似药不断涌现, 业界非常需要采用简化的流程来表征这些产品。要在快节奏、不断增长的市场中占有一席之地, 拥有能够提供数据以可靠地鉴定和定量肽属性的仪器, 以及能够在保持合规性的同时加快并自动完成分析的数据分析流程, 至关重要。全新的 Xevo G3 QTof平台与ACQUITY™ Premier UPLC™系统相结合, 能够对生物治疗性蛋白质进行稳定可靠的分析。基于应用程序的合规信息学平台waters_connect™能够简化从采集到分析的数据管理流程。这些集成式工具能够开发出高效的生物制药工作流程, 包括用于表征和属性监测的工作流程。

本研究展示了waters_connect如何与Xevo G3 QTof配合用于单抗生物类似药的表征和监测。我们分析了四种英夫利昔单抗样品(原研药和三种生物类似药)的肽图, 旨在研究这些样品的脱酰胺、氧化、赖氨酸剪切和糖基化等产品属性。使用合规软件waters_connect内的Peptide MAM应用程序定量分析各单抗之间的相对丰度差异。还对原研药和一种生物类似药进行了目标属性的降解研究, 以根据每种单抗的热降解鉴定关键质量属性(CQA)。结果展示了搭载集成式waters_connect数据采集和处理工具的Xevo G3 QTof平台如何成为比较肽图分析工作流程以确定mAb生物相似性的合适平台。



原文图 2. mAb 酶解物的基峰离子(BPI)叠加色谱图:

(A)原研药(Remicade)样品的重复进样结果, 显示峰几乎完全重叠;(B)原研药和三种生物类似药的进样结果, 显示出相似的肽图谱。

参考文献:

1. Rogers RS, Nightlinger NS, Livingston B, Campbell P, Bailey R, Balland A. Development of a Quantitative Mass Spectrometry Multi-Attribute Method for Characterization, Quality Control Testing, and Disposition of Biologics.mAbs. Taylor and Francis, 2015 Aug, 7(5), 881–890.
2. Ranbaduge N, Yu YQ. 以精简、合规的工作流程执行肽段多属性方法(MAM). 沃特世应用纪要: 720007094ZH, 2020 年 12 月.
3. Ranbaduge N, Yu YQ. 智能数据捕获(IDC)为多属性方法(MAM)研究提供出色的 Xevo G2-XS 数据采集和处理性能. 沃特世应用纪要: 720007441ZH, 2021 年 12 月.
4. Faid V, Leblanc Y, Berger M, Seifert A, Bihoreau N, Chevreux G. C-terminal Lysine Clipping of IgG1: Impact on Binding to Human FcγRIIIa and Neonatal Fc Receptors. Eur J Pharm Sci. 2021 Jan, 159, 105730.
5. Duivelshof BL, Jiskoot W, Beck A, Veuthey J, Guillaume D, D'Atri V. Glycosylation of Biosimilars: Recent Advances in Analytical Characterization and Clinical Implications. Analytica Chimica Acta. 2019 Dec, 1089, 1–18.
6. Haw A, Wiggenhorn M, van de Weert M, Garbe JHO, Mahler H, Jiskoot W. Forced Degradation of Therapeutic Proteins. J Pharm Sci. 2012 March, 101(3), 895–913.
7. Pisupati K, Benet A, Yian Y, Okbazghi S, Kang J, Ford M, Saveliev S, Sen KI, Carlson E, Tolbert TJ, Ruotolo BT, Schwendeman SP, Schwendeman A. Biosimilarity Under Stress: A Forced Degradation Study of Remicade® and Remsima™. mAbs. Europe PMC, 2017 Aug, 9(7), 1197–1209.

基于 MALDI 质谱成像技术解析三七炮制过程皂苷类成分的空间分布

范文翔, 杨远贵, 李林楠, 范林宏, 王峥涛^{1, 2*}, 杨莉^{1, 2*}

¹上海中医药大学中药研究所, 中药标准化教育部重点实验室, 国家中医药管理局中药新资源与质量评价重点实验室, 上海市复方中药重点实验室, 上海, 201203

²上海中药标准化研究中心, 上海, 201203

*E-mail: ztwang@shutcm.edu.cn; yl7@shutcm.edu.cn

研究背景: 三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎, 临床上常用于散瘀止血, 消肿定痛。在民间, 三七常被炮制为熟三七并作为补益气血药使用, 因此三七有“生熟异治”的用法。目前研究表明由炮制引起的化学成分转化是导致生三七和熟三七药理活性不同的主要原因。然而, 系统性地研究三七炮制过程的化学轮廓信息和动态转化规律仍然是一项具有挑战性的工作。

方法: 本研究基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 高分辨质谱和 MALDI 原位质谱成像技术建立了一种集多成分表征、炮制轨迹绘制、差异化合物发现、化学成分转化机制解析、差异化合物原位空间分布的新方法, 阐明了三七中皂苷类成分在炮制过程中的时-空分布变化规律。

结果: 本研究鉴定或初步鉴定了 136 个人参皂苷 (主要是稀有的人参皂苷), 并通过主成分分析 (PCA) 描绘了其随炮制时间和温度变化的化学轨迹。进一步采用正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 确定了其中的 19 个炮制相关的标志物。为解析差异化合物的产生和转化机制, 采用前体离子扫描模式结合模拟炮制的方法, 阐明了不同人参皂苷的炮制转化途径。质谱成像结果表明主要人参皂苷 M-Rb1、R1、Rg1、Rb1、Rd 和 Re 在炮制过程中呈现出特定的空间分布规律, 并随着炮制时间和温度的变化呈下降趋势。并首次对炮制产生的稀有皂苷(Rg3、Rk1、Rg5 等)的空间分布进行了可视化, 结果显示稀有皂苷的相对丰度逐渐增加。结合皂苷的转化途径, 证明了人参皂苷在炮制过程中会发生原位转化。此外, 质谱成像的变化趋势与非靶向代谢组学结果一致, 进一步验证了该方法的可行性。

结论: 基于整体化学轮廓表征和原位质谱成像的分析策略有助于解析三七炮制过程中人参皂苷的动态变化规律, 阐明三七“生熟异治”的科学内涵。

关键词: 三七、人参皂苷、质谱成像、炮制

本研究受国家自然科学基金项目资助 (No. 81920108033; 82074011)。

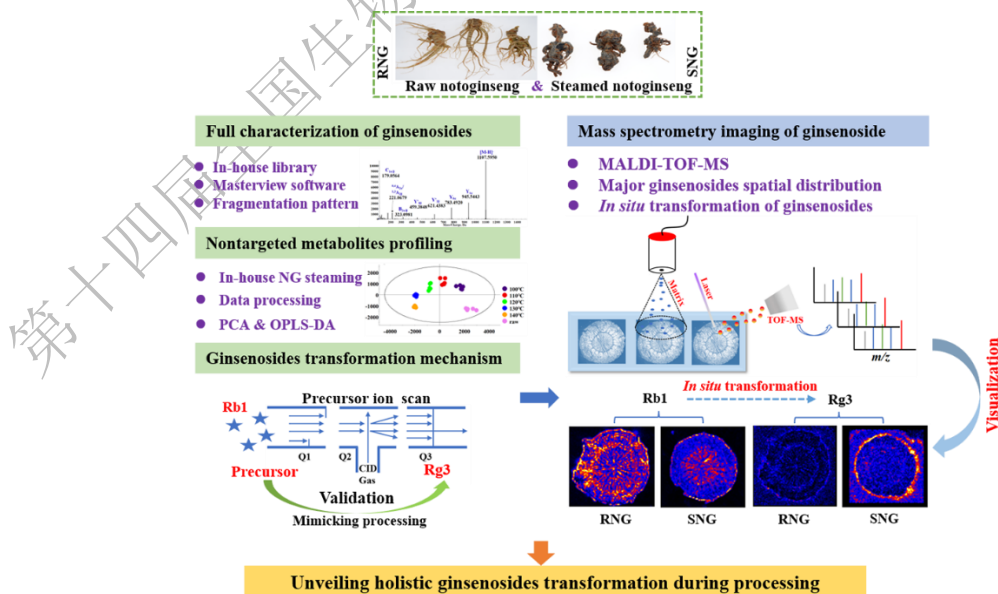


Figure 1. Workflow for the proposed strategy to unveil the holistic ginsenoside transformations of *Panax notoginseng* induced by processing.

参考文献:

1. Y.G. Yang, Z.C. Ju, Y.B. Yang, Y.H. Zhang, L. Yang, Z.T. Wang, Phytochemical analysis of Panax species: a review, *J. Ginseng Res.*, **2021**, 45(1), 1-21.
2. W.X. Fan, Y.L. Huang, H. Zheng, S.Q. Li, Z.H. Li, L. Yuan, X. Cheng, C.S. He, J.F. Sun, Ginsenosides for the treatment of metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Pharmacology and mechanisms, *Biomed. Pharmacother.*, **2020**, 132, 19.
3. M. Li, X. Wang, L. Han, L. Jia, E. Liu, Z. Li, H. Yu, Y. Wang, X. Gao, W. Yang, Integration of multicomponent characterization, untargeted metabolomics and mass spectrometry imaging to unveil the holistic chemical transformations and key markers associated with wine steaming of Ligustri Lucidi Fructus, *J. Chromatogr. A.*, **2020**, 1624.

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

低共熔溶剂用于氢取代石墨炔的可控构筑及其在药物分析中的应用研究

朱涛, 闫宏远*

河北大学“药物化学与分子诊断”教育部重点实验室, 河北大学生命科学与绿色发展研究院
河北省公共卫生安全重点实验室, 河北大学药学院, 保定 071002
通讯联系人 E-mail: zhutao@hbu.edu.cn; yanhy@hbu.edu.cn

低共熔溶剂 (Deep eutectic solvents, DESs) 是一种绿色环保、生物可降解的溶剂。本课题围绕新型石墨炔基材料的绿色合成, 研究不同形貌的多孔氢取代石墨炔 (HsGYs) 的物理化学性质变化和电化学性能变化, 并将材料应用于农药残留的前处理研究。HsGYs 由于其优异的电化学性能而被认为是一种很有前景的新型材料, DESs 作为反应介质, 由于其可设计性, 在先进碳纳米结构材料的制造中受到广泛关注。

(1) 以氯化胆碱为氢键受体, 乙二醇、苯酚、尿素为氢键供体, 分别合成三种 DESs。以两种有机溶剂 (均三甲苯和 N,N-二甲基甲酰胺) 和以上三种 DESs 分别作为反应溶剂, 1,3,5-三乙基苯和 1,3,5-三溴苯为单体在碱性条件下交叉偶联聚合, 生成氢取代石墨单炔 (Hydrogen-substituted graphyne, HsGY)。通过傅里叶变换红外光谱、固体核磁共振氢谱和能量色散光谱表征分析五种材料的元素和官能团结构, 场发射扫描电镜结果表明, 溶剂的选择对聚合物的微观形貌有很大影响。(2) 通过表征分析可知, 该二维碳材料的层间距为 0.382 nm, 具有较好的热稳定性、超强疏水性能, 且具有半导体的性质。将材料用于吸附干枣样本中的多菌灵和噻菌灵。液相色谱结果表明, 相比于商品化的疏水性材料 (C18 和 PS-DVB 填料), 五种 HsGYs 对多菌灵和噻菌灵都具有优异的吸附能力, 将其作为吸附剂用于吸附干枣基质中的多菌灵和噻菌灵, 在不影响其他物质的情况下, 具有絮状多孔结构的 HsGY-D 对目标物的吸附能力最强, 吸附率分别为 76.7% 和 99.3%。

关键词: 氢取代石墨单炔, 低共熔溶剂, 色谱分析, 农药残留, 吸附性能

本研究得到国家自然科学基金 (21808173、22178081、82073605)、河北大学高层次引进人才培育基金 (521000981409), 以及河北大学自然科学多学科交叉研究计划 (DXK202014、DXK202116) 资助。

参考文献:

1. Yanmei Chen, Baokun Tang, Dandan Han, and **Tao Zhu***, Adsorption and electrochemical properties of deep eutectic solvent-functionalized oxidized hydrogen-substituted graphyne and its composites with multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Molecular Liquids*, 2022, 365, 120099.
2. Shanshan Lan, Yaofen Li, Song Xue, **Tao Zhu*** and **Hongyuan Yan***, Application of deep eutectic solvents modified oxidized Hydrogen-substituted graphyne in adsorption and electrochemistry. *Journal of Molecular Liquids*, 2021, 335, 116532.
3. Yaofen Li, Shanshan Lan and **Tao Zhu***, Recent advances of graphene-based sorptive materials in extraction: A review. *Recent advances of graphene-based sorptive materials in extraction: A review. TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 142, 116319.

Mechanochemical assisted extraction as a green approach in preparation of bioactive components extraction from natural products



上海中醫藥大學
Shanghai University of Traditional Chinese Medicine

Institute of Chinese Materia Medica, SHUTCM

上海中医药大学中药研究所

Mechanochemical assisted extraction as a green approach in preparation of bioactive components extraction from natural products

Lin hong Fan ^a, Wenxiang Fan ^a, Yuqi Mei ^a, Longchan Liu ^a, Linnan Li ^a, Zhengtao Wang ^{a,*}, Li Yang ^{a,b,*}

^a The MOE Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicines and the SATCM Key Laboratory of New Resources and Quality Evaluation of Chinese Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

^b Institute of Interdisciplinary Integrative Medicine Research, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

ABSTRACT

Highly efficient, economic and environment-friendly extraction of target bioactive components from the complex matrices of food supplements or natural medicines has always been a challenge, whether it is for the purposes of bioactivity assay, batch preparation, and more constantly the quality assessment of natural products. Mechanochemical assisted extraction (MCAE), as a green technology, shows distinctive superiority in application of high energy mechanical force acting on the raw materials to dissociate the target components from nature products in aqueous media under normal temperature and without the use of any harmful, dangerous and costly organic solvents. Furthermore, the one pot reaction of MCAE provides a quick process, good reproducibility and a direct transfer of the solution into the instruments like a reverse-phase HPLC system for the subsequent analysis. This review represents the recent advances in MCAE dealing with the mechanisms, types of equipment, impact parameters, advantages / disadvantages comparing with the other extraction technologies and the application in extraction of food, nutrition and health products derived from natural sources, focusing on samples preparation for the purposes of quality control and physiological & biological activity assay. Different types of equipment that meet the needs of experiment research and industrial production, and the conditions and impact parameters depending on the diversity of the target compounds to be extracted from the natural raw materials. In one word, MCAE can play a very important role in the sustainable green industrial production of food, nutraceutical and health products.

RESULTS AND DISCUSSION

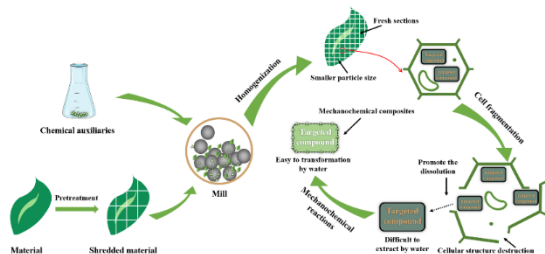


Fig. 1 The mechanisms of MCAE method of bioactive components.

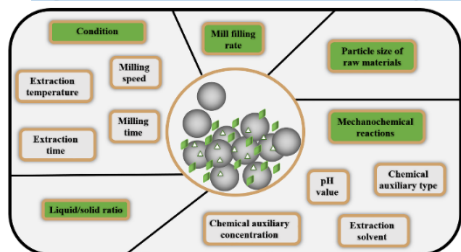


Fig. 2 Impact parameters in the application of MCAE.

CONCLUSION

MCAE seems to be moving towards meeting the growing interest in using more environmentally friendly techniques to extract bioactive components from natural products. Compared with conventional extraction methods such as reflux extraction and soxhlet extraction, MCAE has a unique extraction mechanism that makes it less dependent on temperature, time and organic solvent, and at the same time improves extraction efficiency. More importantly, in addition to the content of bioactive components, more attention should be paid to the safety of its application in functional foods or medicines. Reducing or replacing organic solvents in the extraction process is undoubtedly a greater guarantee of safety. In the literature referred to above, MCAE proved to be a promising extraction method.

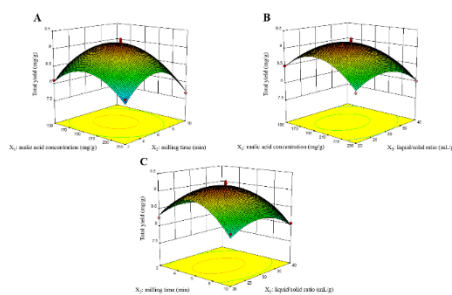


Fig. 3. The 3D response surface showing the effect of the malic acid concentration (X1), milling time (X2) and liquid/solid ratio (X3) on the total ginsenosides yield.

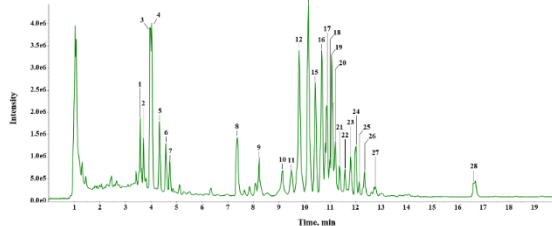


Fig. 4. UPLC-Q-TOF-MS TIC of the MCAE extracts acquired in negative ion mode.

REFERENCES

1. Wu, K. J., Ju, T., Deng, Y., & Xi, J. (2017). Mechanochemical assisted extraction: A novel, efficient, eco-friendly technology. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 166-175.
2. Cao, D., Liu, Q., Jing, W. Q., Tian, H. Y., Yan, H. Y., Bi, W. T., Jiang, Y. L., & Chen, D. D. Y. (2020). Insight into the Deep Eutectic Solvent Extraction Mechanism of Flavonoids from Natural Plant. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(51), 19169-19177.
3. Chemat, F., Vian, M. A., Fabiano-Tixier, A. S., Nutrizio, M., Jambak, R. A., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Binello, A., & Cravotto, G. (2020). A review of sustainable and intensified techniques for extraction of food and natural products. *Green Chemistry*, 22(8), 2325-2353.

Rapid screening of neuraminidase inhibitors using an at-line nanofractionation platform involving parallel oseltamivir-sensitive/resistant neuraminidase bioassays

Zhixu Chen¹, Jincui Wang¹, Zhen Wang¹, Zhengchao Tu¹, Zhengjin Jiang^{1,*}

(¹Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, College of Pharmacy / Guangdong Province Key Laboratory of Pharmacodynamic Constituents of TCM and New Drugs Research / International Cooperative Laboratory of Traditional Chinese Medicine Modernization and Innovative Drug Development of Ministry of Education (MOE) of China, Jinan University, Guangzhou 510632, China, E-mail: jzjjackson@hotmail.com)

Abstract:

How to rapidly screen novel neuraminidase inhibitors (NAIs) with high efficacy and good capacity to prevent drug resistance from natural products remains a great challenge in the battle against drug-resistant influenza virus strains. In this study, an advanced at-line nanofractionation based screening platform was developed to screen potential NAIs from *Lonicera japonica* Thunb by involving two parallel bioassays, for determining both oseltamivir-sensitive neuraminidase (NAS) and oseltamivir-resistant neuraminidase (NAR) inhibitory activities. 20 potential NAIs with both NAS and NAR inhibitory effects were screened from *Lonicera japonica* Thunb, including 11 phenolic acids, 8 flavonoids and one iridoid glycoside. The proposed at-line nanofractionation based screening platform for NAIs was also used to rapidly screen nine batches of water extracts of *Lonicera japonica* Thunb or its fakes. Clear differences in the number and content of active components were easily observed, demonstrating that the proposed method possesses great potential for the quality control of herb medicines.

Keywords: Neuraminidase inhibitors, at-line nanofractionation, high-throughput screening, parallel oseltamivir-sensitive/resistant neuraminidase bioassays, *Lonicera japonica* Thunb.

Acknowledgments: This work was financial supported by the National Natural Science Foundation of China (82173781, 81872832), the High-End Foreign Experts Project, China (G2021199005L), the Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation, China (2019A1515010806), the Natural Science Foundation of Guangdong Province, China (2021A0505020014, 2021A0505030039)

References:

1. Z.X. Chen, J.C. Wang, J.M. Yuan, et al, *Journal of Chromatography A*, 2023, 1687: 463693.
2. S.F. Luo, L.B. Guo, C.M. Sheng, et al, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, 10(10): 1846-1855.

基于青皮贮藏过程中理化特性和代谢物变化的质量评价与优化

程云霞, 刘震营, 徐博, 宋平平, 巢志茂*

(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

*巢志茂 E-mail: chaozhimao@163.com

[摘要] 青皮, 作为茶枝柑的干燥未成熟果皮, 是一种可用于保健食品的中药。青皮与陈皮来源相同, 陈皮至少需贮藏 3 年以获得较好品质。据课题组前期对新会地区青皮质量的调查, 青皮也需要贮藏一段时间。目前, 青皮在贮藏期间的质量变化尚未见报道, 也未见关于其最佳品质的贮藏年限的报道。本研究基于青皮贮藏 1~5 年过程中的理化性质和代谢物变化, 以确定青皮的最佳贮藏时间。结果青皮在贮藏过程中颜色加深; 对色差仪测定的颜色参数进行聚类分析, 发现青皮在贮藏 3 年前后颜色存在差异; 三种黄酮类化合物(橙皮苷、川陈皮素和桔皮素)和总黄酮含量及抗氧化活性在贮藏期间均呈下降趋势, 总酚含量在贮藏期间呈波动变化; 基于 UPLC-MS 分析, 共鉴定出 9 个可用于区分青皮贮藏年限的特定差异代谢物。这是首次报道青皮贮藏过程中品质变化的研究。质量评价指标的优化结果表明, 青皮贮藏不应超过 3 年。

1. 材料与方法

1.1 材料

新鲜的茶枝柑连续 5 年内在同一天于新会区昌文专业种植基地采收。果皮被及时剥离、日光晒干并置于食品级塑料筐贮存。

1.2 方法

采用传统感官鉴定和色差仪分析色泽变化; 采用 HPLC 法分析 3 种黄酮类组分含量; 采用紫外-可见分光光度计测定总酚、总黄酮、抗氧化活性; 采用 UPLC-MS 技术分析代谢物变化。

2. 结果

青皮在贮藏时间过程中颜色加深; 三种黄酮类化合物(橙皮苷、川陈皮素和桔皮素)和总黄酮含量及抗氧化活性在贮藏期间均呈下降趋势, 总酚含量在贮藏期间呈波动变化; 基于 LC-MS 分析, 共鉴定出 9 个可用于区分青皮贮藏年限的特定差异代谢物。

3. 结论

青皮在贮藏期间的较深的颜色也是由非酶性褐变引起的。根据理化特性和代谢物变化等质量评价和优化结果, 青皮在贮藏过程中颜色加深、部分化合物含量降低, 抗氧化活性降低, 差异代谢物发生了变化。因此, 建议药用和食用青皮保存不超过 3 年, 以确保最佳质量。

参考文献:

1. 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
2. Y. Wang, W. Cui, G. Pang, L. Xiong, Q. Liu, L. Xu, H. Li, Y. Lin, *Molecules*, **2022**, 27, 3285.
3. L. Yi, N. Dong, S. Liu, Z. Yi, Y. Zhang, *Food Chem.*, **2015**, 186, 192-199.
4. X. He, S. Huang, M. Wu, M. Wu, Y. Zhang, Z. Ma, L. Liu, H. Cao, *Phytochem. Anal.*, **2021**, 32, 1152-1161.
5. S. Safranko, I. Corkovic, I. Jerkovic, M. Jakovljevic, K. Aladic, D. Subaric, S. Jokic, *Foods*, **2021**, 10, 1043.
6. 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 在线获取: <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/e33435ce0d894051b15490aa3219c4cd4.shtml>.

反相高效液相色谱-蒸发光散射检测（RPLC-ELSD）分析新型疫苗佐剂 MF59

张婷婷*, 鲁锐, 杨新磊

安捷伦科技（中国）有限公司上海第一分公司

通讯联系人 E-mail: ting-ting.zhang@agilent.com

随着现代生物技术和基因工程技术的迅速发展，研制出了各种新型基因工程疫苗。为了增强疫苗的免疫作用，新型免疫佐剂的研究显得至关重要，已经从传统、单一形式向新型、多元化形式发展。新型疫苗佐剂MF59是一种使用动物源角鲨烯的水包油纳米乳液^[1]，同时含有吐温80和司盘85，被广泛应用于季节性流感病毒疫苗，可以产生更强大、更广泛且持久的免疫应答^[2]。

疫苗佐剂MF59中各物质的组成及质量直接影响疫苗的安全性、有效性和稳定性，因此我们参考文献^[3]建立了高效液相色谱方法来准确检测MF59中各物质的含量。由于MF59中吐温80和司盘85是混合物，且没有显著的紫外吸收波长，我们选择蒸发光散色检测器（ELSD）作为液相的检测器，同时优化色谱条件，实现一针进样可以同时准确定量分析MF59中的四种物质，包括角鲨烯、吐温80、司盘85和阳离子脂质体。色谱条件：色谱柱：Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.1*150mm, 2.7 μm；流动相：MPA: 5ml/L TEAA（乙酸三乙胺）水溶液；MPB: 5ml/L TEAA 甲醇溶液；MPC: 1% 乙酸异丙醇溶液；梯度分析：流速：0.3ml/min；色谱柱温度：50℃；蒸发光散色检测器：雾化温度：55℃；漂移管温度：65℃；气流：1.6 SLM；进样体积：10 μL。在此色谱条件下，角鲨烯在0.5-2.0 mg/mL浓度范围内，线性方程： $\log(y) = 1.3436\log(x) + 4.6368$, $r=0.999$ ；阳离子脂质在0.1-0.4 mg/mL浓度范围内，线性方程： $\log(y) = 1.4498\log(x) + 4.5978$, $r=0.999$ ；选择吐温80和司盘85的主峰进行定量分析，吐温80在0.1-0.4 mg/mL浓度范围内，线性方程： $\log(y) = 1.9673\log(x) + 3.7245$, $r=0.999$ ，司盘85在0.1-0.4 mg/mL浓度范围内，线性方程： $\log(y) = 1.6784\log(x) + 4.3405$, $r=0.999$ 。通过标准曲线可准确定量MF59佐剂中四种物质的含量，角鲨烯为25.15 mg/mL，吐温80为5.10 mg/mL，司盘85为5.02 mg/mL，阳离子脂质为5.04 mg/mL，回收率在80%-120%之间，保证佐剂的质量，为新型疫苗的研发和生产保驾护航。

参考文献：

1. 张纯青, 黄香玉, 邵进士, 李军丽, 宋庆德, 庄玉辉, 何秀云. *中华微生物学和免疫学杂志*, **2014**, 003: 241-246.
2. 杨忠东, 王石磊, 许文婷, 李冬梅. *国际生物制品学杂志*, **2011**, 34 (3): 126-129.
3. Caleb Kinsey, Tian Lu, Alyssa Deiss, Kim Vuolo, Lee Klein, Richard R. Rustandi, John W. Loughney. *Electrophoresis*, **2022**, 43:1091-1100.

基于局部全二维液相色谱的人参和红参的化学差异表征分析及主要人参皂苷的测定

张艳海*, 鲁锐, 杨新磊

单位: 安捷伦科技(中国)有限公司

E-mail: yanhai.zhang@agilent.com

目的: 建立局部全二维液相色谱的表征分析方法, 系统表征人参和红参的化学差异, 并对10个主要人参皂苷的含量及其他关键差异标志物的相对含量变化进行对比分析。

方法: 样品采用70%甲醇超声提取, 提取液上机分析。第一维 (¹D) 采用Eclipse Plus C18作为分析柱, 柱温为35℃, 乙腈和0.1%磷酸(V/V)作为流动相, 梯度洗脱; 第一维流速为0.5 ml/min, 采用柱后分流方式; 第二维 (²D) 采用bonus-RP色谱柱, 流速: 2.2 ml/min; 柱温为45℃, 紫外检测波长为203 nm, 采集频率40 Hz; 全二维分析时间范围: 24.2 min~40.2 min; Loop环体积为80 μL, 调制时间为0.8 min, Loop填充比例为80%; 分别对10批次人参和红参的数据分析, 采用正交偏最小二乘法(OPLS-DA)对数据进行处理和分析, 筛选差异化合物。

结果: 在保持第一维的分离效能基础上, 对目标的保留区域(24.2~40.2 min)做全二维的表征分析, 结果可显著改善峰叠加较严重且以原人参二醇型皂苷为主的保留时间区域, 基于第一维和第二维的数据, 采用PLS-DA统计分析, 筛选到了VIP>1的潜在标志物21个, 其中来自第二维分离的15个化合物。从PLS-DA图可以发现, 人参和红参化学差异明显, 但红参各样品较为分散, 说明红参样品间化学差异较大。通过构建的局部全二维方法对10个主要人参皂苷Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rg₂, Rc, Rb₂, Rb₃, Rd和Ro进行定量分析, 各化合物的线性相关系数均>0.999, 精密度的RSD<1.6%, 回收率在93.9%~103.6%。

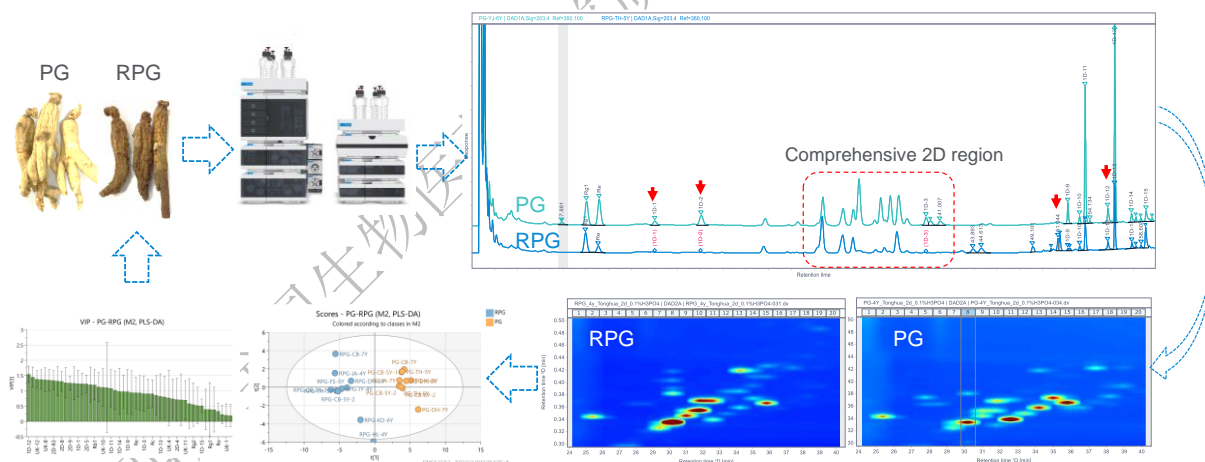


图 1 基于局部全二维系统表征人参和红参的化学差异

结论: 通过构建局部的全二维液相色谱分析方法, 可充分优化和保持第一维分离效能的同时, 对谱图中叠加严重的关键区域进行靶向的全二维表征分析, 有效挖掘潜在的差异标志物并直观对比化学成分的相对含量变化, 实验可为人参蒸制工艺及完善红参质量标准提供参考。

参考文献:

1. L.L. Zhu, X.N.Luan, D.Q.Dou, L.Q.Huang, *J. Chromatogr. Sci.*, **2019**, 1-8.
2. X.Li, J. Liu, T.T. Zuo, Y. Hu, Z.Li, H.D. Wang, X.Y. Xu, W.Z. Yang, D.A. Guo, *Nat. Prod. Rep.*, **2022**, 39, 875

裸花紫珠配方颗粒成分迁移行为及质量控制研究

朱思洁, 罗淑荣, 李海, 马铭, 陈波*

化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 植化单体开发与利用湖南省重点实验室,
湖南师范大学, 长沙, 中国, 410081

*E-mail: dr-chenpo@vip.sina.com

裸花紫珠为马鞭草科植物裸花紫珠的干燥叶, 含有挥发油类、黄酮类、萜类和苯丙素类等成分, 具有抗菌、抗炎、抗病毒、止血凝血、促进伤口愈合及抗肿瘤等功效。目前, 国家药品监督管理部门批准的裸花紫珠剂型有分散片、颗粒、胶囊和片剂, 并颁布了关于裸花紫珠药材、干浸膏、裸花紫珠片/胶囊的质量控制标准^[1], 但缺乏对裸花紫珠颗粒的质控项目。裸花紫珠颗粒是由单味中药饮片经水加热提取、分离、浓缩、干燥、制粒而成的颗粒, 在中医药理论指导下, 按照中医临床处方调配后, 供患者冲服使用。因此, 建立裸花紫珠颗粒的质量标准至关重要。

本研究建立裸花紫珠药材、干浸膏、配方颗粒指纹图谱, 对其相关性进行评价, 对特征成分进行含量测定, 为裸花紫珠颗粒制备过程的质量控制提供参考。本方法采用色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为0.1%甲酸水-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量1 mL/min; 柱温40 °C; 检测器为二极管阵列检测器, 木犀草苷检测波长为350 nm, 毛蕊花糖苷检测波长为330 nm。木犀草苷和毛蕊花糖苷的峰面积和质量浓度的线性关系良好, R²均大于0.999, 日间精密度、重复性和稳定性RSD均小于3%。对不同批次的裸花紫珠药材、干浸膏、颗粒进行测定, 并进行相似度评价, 裸花紫珠药材、干浸膏、颗粒的指纹图谱相似度在0.9以上(如图1)。该方法可以为裸花紫珠配方颗粒质量控制提供参考。

关键词: 裸花紫珠, 指纹图谱, 干浸膏, 配方颗粒

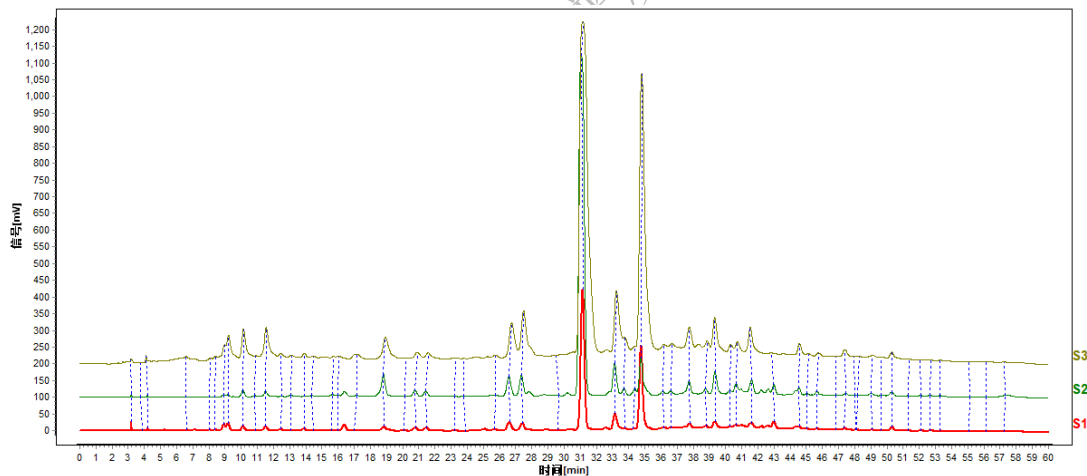


图1 裸花紫珠药材、干浸膏、配方颗粒 HPLC 对照指纹图谱 (S1:颗粒 S2:药材 S3:干浸膏)

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 203-204.

¹ 国家自然科学基金项目(22276049, 22276050)资助。

HPLC-FLD 法定量检测母乳初乳中 8 种母乳低聚糖

罗淑荣, 朱思洁, 李海, 马铭, 陈波*

化学生物学及中药分析教育部重点实验室, 植化单体开发与利用湖南省重点实验室,
湖南师范大学, 长沙, 中国, 410081

通讯联系人 E-mail: dr-chenpo@vip.sina.com

母乳低聚糖 (HMOs) 是人类母乳中的第三大固体组分, 仅次于乳糖和脂肪^[1]。其具有促进肠道双歧杆菌的生长的益生元、抗黏附抗菌、免疫调节、促进大脑发育等生理功能^[2]。本实验采用 HPLC-FLD 法对母乳初乳中的 HMOs 进行定量检测, 利用 MS 检测器进行确证。母乳初乳样品中 HMOs 用荧光衍生剂 2-萘胺衍生后加入 2-Picoline-borane 进行还原^[3], 再通过比较其与衍生反应后的 HMOs 标准品的保留时间、分子量 (通过质谱检测) 和 ESI-QqQ 质谱中的二级离子碎片来鉴定。采用高速离心法去除母乳中的脂质、无水乙醇沉淀法去除蛋白质^[4], 经 2-萘胺衍生和 2-Picoline-borane 还原反应后, 利用 HPLC-FLD 在激发波长 285 nm、发射波长 420 nm 条件下进行分析。在选定的色谱条件下, 经 ESI-QqQ 在 SIM (+) 和 MRM (+) 模式下确证后, 利用 2'-岩藻糖乳糖 (2'-FL)、3'-岩藻糖乳糖 (3'-FL)、3'-唾液酸乳糖 (3'-SL)、乳糖-N-岩藻五糖 I (LNFP I)、乳糖-N-二岩藻六糖 II (LNDFH II)、乳糖-N-四糖 (LNT)、乳糖-N-新四糖 (LNnT)、唾液酸乳糖-N-四糖 (LSTa) 8 个标准品建立标准曲线对母乳初乳样品中的 HMOs 进行定量。8 种 HMOs 标准品标准曲线在设定质量浓度范围内线性良好 ($R^2 > 0.999$), 方法的精密度与准确度良好, 可满足母乳初乳中 8 种 HMOs 的定量需求。

本研究受国家自然科学基金项目 (22276049, 22276050) 资助。

参考文献:

- [1] Xunwen Huang, Baoli Zhu, Tiemin Jiang, Chunying Yang, Weicang Qiao, Juncai Hou, Yanhui Han, Hang Xiao, and Lijun Chen, *J. Agric. Food Chem.*, **2019**, 67, 12237–12244.
- [2] Yingying Zhu, Wenli Zhang, and Wanmeng Mu*, *J. Agric. Food Chem.*, **2022**, 70, 2061–2063.
- [3] L. Renee Ruhaak, Evelyne Steenvoorden, Carolien A. M. Koeleman, Andre' M. Deelder, Manfred Wuhrer, *Proteomics*, **2010**, 10, 2330–2336.
- [4] Yuanwu Bao, Ceng Chen, David S. Newburg*, *Analytical Biochemistry, Analytical Biochemistry*, **2013**, 433, 28–35.

衍生化试剂 PPZ 的合成及其在氨基酸分析中的应用

全迎新¹, 金彪², 金东日^{1*}

(1. 延边大学理学院化学系, 2. 延边大学分析测试中心, 吉林 延吉, 133002)

通讯联系人 E-mail: drjin@ybu.edu.cn

摘要: 氨基酸是人体蛋白质的主要组成部分, 具有促进大脑发育、防止细胞退化等生理功能。目前, 常采用衍生化-高效液相色谱法对氨基酸进行分析测定并提高和改善其检测灵敏度。本研究以衍生化试剂1-(5-氟-2,4-二硝基-苯基)-4-甲基哌嗪 (PPZ) (图1), 探索PPZ与氨基酸反应的最佳衍生化条件及色谱分离条件, 从而建立了一种测定氨基酸含量的柱前衍生化-HPLC法。利用此方法对复方氨基酸胶囊 (8-11) 中的8种氨基酸进行定量测定。

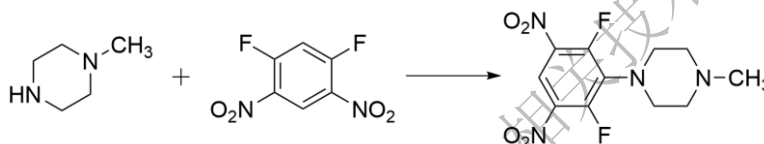


图 1 PPZ的合成步骤

关键词: 高效液相色谱法; 氨基酸; 衍生化试剂

参考文献:

1. FERRE S, VICTOR González-Ruiz, RUDAZ S, et al. Analytical strategies for the determination of amino acids: past, present and future trends [J]. Journal of Chromatography B, 2019, 1132:121819.
2. NISHIO T, HIGASHI T, FUNAISHI A, et al. Development and application of electrospray-active derivatization reagents for hydroxysteroids [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2007, 44(3):786-795.

Specificity detection of cis-diol compounds in Chinese medicinal

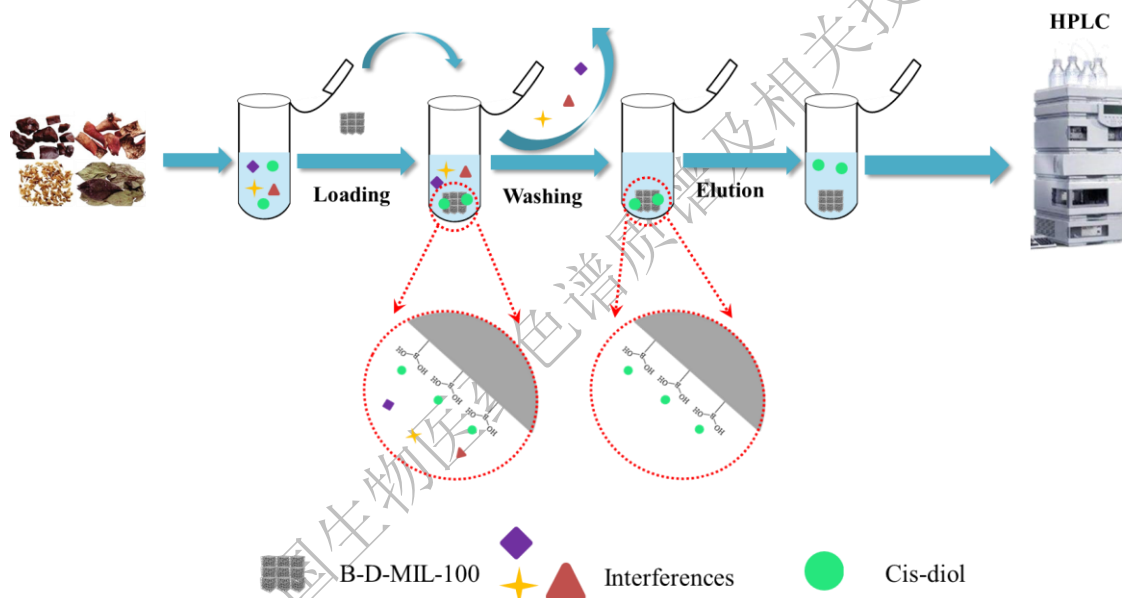
materials based on boron-affinity metal-organic framework

Jiacheng Dong, Xiuling Zhao, Yaqian Zhang, Tianrun Wu, and Yang Chen*

School of Pharmacy, Bengbu Medical College, Bengbu, China

*Email: yangchen@bbmc.edu.cn

The identification and quality control of Chinese medicinal materials are essential for ensuring the efficacy of drugs, with the cis-diol compounds being important components of their therapeutic effects. In this study, we propose a method for detecting cis-diols in Chinese medicinal materials using a boron-affinity metal-organic framework material as a solid-phase extraction agent in combination with high-performance liquid chromatography (HPLC). We successfully demonstrated the feasibility of this method by analyzing various cis-diol compounds, including rutin in *Sophora japonica*, catechin in *Ramulus acaciae*, chlorogenic acid in *Eucommia* leaves, and gallic acid in Pomegranate peel. This method has high specificity and sensitivity, which provides a new idea for the identification and quality control of Chinese medicinal materials.



Scheme 1. Schematic diagram of extraction analysis using B-D-MIL-100.

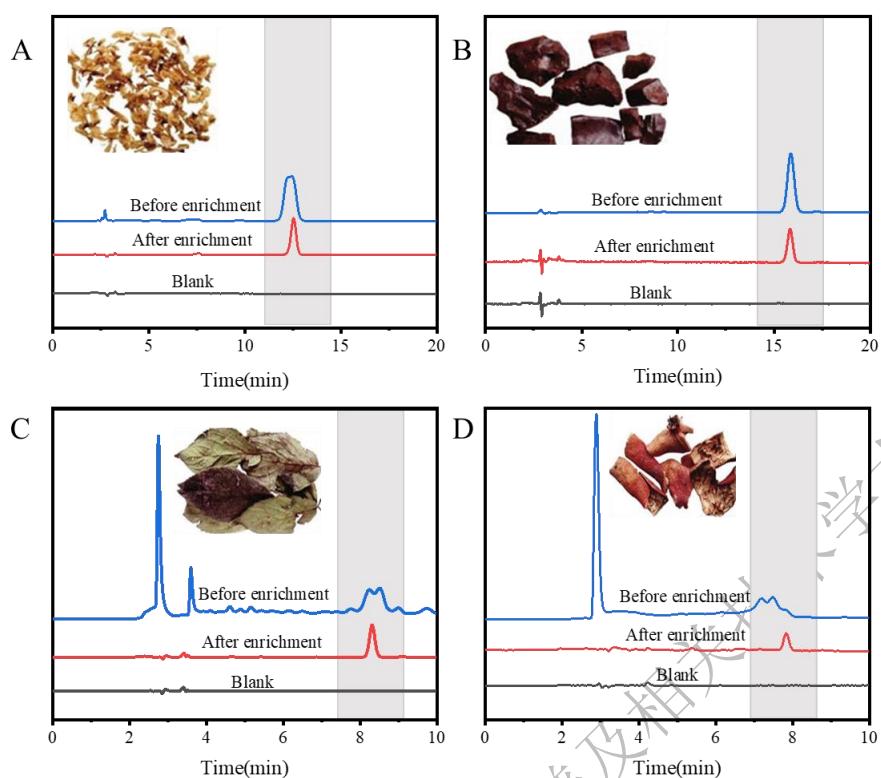


Figure 1. Chromatographic diagram of Chinese medicinal materials before and after enrichment (A) *Sophora japonica*, (B) *Ramulus acaciae*, (C) *Eucommia leaf*, (D) *Pomegranate peel*.

Keywords: Boron affinity, Mental-Organic Framework, Chinese medicinal materials, Cis-diol, Solid phase extraction, HPLC

References:

1. Xiao, Q., Mu, X., Liu, J., Li, B., Liu, H., Zhang, B., Xiao, P., *Chin. Med.* **2022**, *17* (1), 45.

High-throughput screening of Monoamine Oxidase B inhibitors in natural products based on at-line nanofractionation post-column activity assay

Yu Fan¹, Huaixin Liu¹, Ruin Moaddel², Zhengjin Jiang^{1*}, Tingting Zhang^{1*}

(¹Institute of Pharmaceutical Analysis, College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou, Guangdong, 510632, China

²Biomedical Research Center, National Institute on Aging, National Institutes of Health, 251 Bayview Boulevard, Baltimore, Maryland, 21224, United States

*Corresponding author: E-mail address: tzhtt008@jnu.edu.cn (T. Zhang), jzjjackson@hotmail.com (Z. Jiang)

Abstract: Parkinson's disease (PD), the second most common neurodegenerative disease after Alzheimer's disease, affects over 6 million people worldwide. Monoamine oxidase B inhibitors (MAO-BI) play an irreplaceable role in treatment of PD, making rapid screening of hMAO-BI significant. Natural products are a major source of active compounds, and it is of great research significance to high-throughput target and isolate active compounds with potential hMAO-BI rapidly and efficiently from complex systems. An at-line nanofractionation screening platform was developed to rapidly screen and identify potential hMAO-BI from natural products. According to the oxidative deamination properties of monoamine oxidase, a sensitive 384-wells microplates fluorescence bioassay was constructed and optimized. This platform was applied to preliminary screening of 28 traditional Chinese medicines, and *Chuanxiong Rhizoma* with lower IC₅₀ (at 23.80 µg/mL) and abundant active peaks was identified as a candidate. Extracts of *Chuanxiong Rhizoma* simplified by semi-preparation, over 70 potential active peaks were screened out in a dose-response relationship. Identified compounds exhibited good inhibitory activity on hMAO-B through accurate peak shape and retention time matching between bioactivity chromatograms and MS chromatograms. Compounds I* and II* in the activity peak were identified as a pair of phthalide isomers, exhibiting nanomolar inhibitory activity against hMAO-B, with Compound I* (IC₅₀=103 nM) showing comparable inhibition of hMAO-B to the second generation commercially available drug resagiline. Kinetic studies revealed that compounds I* and II* were competitive reversible inhibitors for hMAO-B. Also, compounds I* and II* displayed low toxicity and good neuroprotective effects in SH-SY5Y cell assays, and compound I* exhibited protective effects equivalent to those of resagiline. Further, docking experiments coupled with molecular dynamics (MD) simulations, revealed that active compounds were well accommodated within the active site of hMAO-B and interacted with both substrate and entrance cavity residues.

Keywords: Parkinson's disease, monoamine oxidase B inhibitors, high-throughput screening, at-line nanofractionation, SH-SY5Y cells

References:

1. Bloem B R, Okun M S, Klein C. *The Lancet*, **2021**, 397(10291): 2284-2303.
2. Armstrong M J, Okun M S. *Jama*, **2020**, 323(6): 548-560.
3. Liu R, Kool J, Jian J, et al. *Journal of Chromatography A*, **2021**, 1635: 461740.

基于绿色生物质印迹材料的疾病标志物萃取检测新方法

王明伟^{1,2}, 周亮¹, 韩晔红¹, 闫宏远^{1,2*}

¹ 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

² 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

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

肿瘤作为全球性的公共健康问题, 对人类的生命健康构成重大威胁, 我国新发肿瘤病例和死亡病例人数均居全球第一^[1]。神经内分泌肿瘤作为一种罕见肿瘤, 起源于神经内分泌细胞, 包括类癌瘤、神经母细胞瘤和嗜铬细胞瘤等, 研究表明所有的神经内分泌肿瘤均有转化为恶性肿瘤的可能性。近年来我国神经内分泌肿瘤的发病率一直呈上升趋势, 而神经内分泌肿瘤患者的临床症状和体征各异, 症状多样且复杂, 诊断缺乏特异性, 容易误诊导致多数患者确诊时已到晚期, 严重威胁人类健康^[2,3]。因此, 亟需开发神经内分泌肿瘤的早期诊断方法, 实现神经内分泌肿瘤的早期筛查和诊断。肿瘤标志物通过肿瘤细胞分泌进入血液、尿液等体液中, 对肿瘤标志物进行实时监测在肿瘤的早期诊断、药效监测、术后判断等方面有着重大意义。然而, 由于体液样品中干扰物质较多, 对其检测存在特异性弱和基质干扰严重等问题。分子印迹聚合物是采用化学合成的方法制备的一种具有类似抗原-抗体特异性识别机制的聚合物, 可以实现目标物的特异性吸附^[4]。分子印迹聚合物具有性质稳定的化学识别体系和仿生的生物识别体系双重优点, 作为吸附剂在前处理中实现复杂样品中痕量目标物的选择性分离富集的同时具有较好的净化能力^[5,6]。本课题以葡萄糖衍生的极性多孔碳为基底, 采用自然界来源的壳聚糖为绿色亲水功能单体, 结合表面印迹技术, 在极性体系下制备具有特异选择性好、吸附容量高和传质速率快的绿色亲水生物质印迹材料, 解决传统分子印迹材料水相识别能力差和传质速率慢的问题。将其作为固相萃取吸附剂, 优化了萃取参数, 结合高效液相色谱法, 建立了尿液中神经内分泌肿瘤标志物的快速灵敏检测新方法, 其检测限为 4.3 ng/mL, 加标回收率为 92.4-109.7%, RSD ≤ 3.0% (n = 3), 加标尿样经过方法处理后净化富集效果明显, 优于 C₁₈、HLB 等商业化吸附剂。结果表明建立的检测新方法可以实现尿样中神经内分泌肿瘤标志物 5-羟吲哚乙酸的准确快速检测, 为神经内分泌肿瘤等相关癌症的早期诊断提供了一种新的研究思路和方法。

参考文献:

1. G.F. Luo, W.H. Chen, X. Zeng, X.Z. Zhang, *Chem. Soc. Rev.*, **2021**, 50, 945-985.
2. N. Kanarek, B. Petrova, D.M. Sabatini, *Nature*, **2020**, 579, 507-517.
3. X. Guan, X. Deng, J. Song, X. Wang, S. Wu, *Anal. Chem.*, **2021**, 93, 6763-6769.
4. M. Wang, F. Qiao, H. Yan, *Green Chem.*, **2021**, 23, 5179-5188.
5. Z. Gu, Y. Dong, S. Xu, L. Wang, Z. Liu, *Angew. Chem. Int. Edit.*, **2021**, 133, 2695-2699.
6. M. Wang, S. Liang, L. Bai, F. Qiao, H. Yan, *Anal. Chim. Acta*, **2019**, 1064, 47-55.

基于蜂窝树脂离心柱固相萃取的人尿中阿莱替尼及其代谢物检测新方法研究

韩晔红, 张鹏飞, 白立改, 刘海燕, 闫宏远^{1,2*}

(1 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)

(2 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)

阿莱替尼及其代谢物M4在治疗晚期非小细胞肺癌方面具有良好的临床疗效。但是由于患者的个体差异, 阿莱替尼及其代谢物M4治疗药物监测是保证临床合理用药的关键。然而, 药物代谢样品的成分复杂, 适合的样品前处理方法已成为实现阿莱替尼药物监测的关键因素。固相萃取由于其简单、快速和经济的优点, 成为最广泛使用的样品预处理方法之一^[1]。与传统的SPE相比, 小型离心柱固相萃取具有高通量、自动化、成本低等优势^[2]。在离心柱固相萃取过程中, 吸附剂的选择和开发将直接影响到分析物的萃取效率。酚醛树脂由于具有孔隙率高、热稳定性好和合成成本较低等优点在吸附萃取表现突出^[3]。本工作利用苯酚和甲醛合成了一种亲水性好、吸附力大、孔结构稳定的蜂窝状酚醛树脂(PFR), 致孔剂F127和P123的加入形成了均匀规则的凹槽结构, 确保了大的接触面积和快速的传质。通过扫描电镜表征可以看出, 显示PFR具有直径为10-20 μm的蜂窝状结构(图1A, B), 高度多孔的结构确保了良好的传质和较大的接触表面。通过与商业吸附剂进行了比较, 显示出PFR的吸附性能优于市售吸附剂(图1C)。本工作将制备的PFR作为吸附剂, 结合离心柱固相萃取技术和高效液相色谱检测手段, 建立了尿液中阿莱替尼及其代谢物M4的快速检测方法。与其他使用固相萃取的检测方法相比, 本方法吸附剂用量少(15.0 mg), 具有较高的回收率(98.8%~103%), RSD ≤ 4.87%, 结果表明PFR离心柱固相萃取法可以高效萃取尿液中阿莱替尼及其代谢物M4, 建立的离心柱萃取-液相色谱法为阿莱替尼及其代谢物M4药物监测提供了技术支持(图1D)。

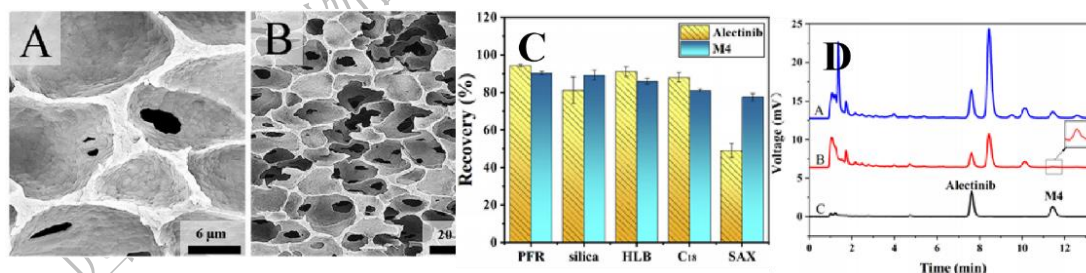


图1 PFR的SEM (A、B)、PFR与商用吸附剂的比较 (C)、阿莱替尼和M4的色谱图 (D)

参考文献:

1. Y. Lu, P. Li, C. Yang, Y. Han, H. Yan, *J. Chromatogr. A*, **2020**, 1623, 461214.
2. S. Seidi, E.S. Karimi, A. Rouhollahi, *J. Chromatogr. A*, **2019**, 1599, 25-34.
3. Z. Zhao, P. Li, C. Yang, Y. Han, H. Yan, *J. Chromatogr. A*, **2023**, 1690, 463787.

基金项目: 国家自然科学基金(82073605)和河北大学多学科交叉研究项目(DXK202014)资助。

通讯作者简介: 闫宏远, 教授, 博士生导师. Tel: +86-312-5079788, E-mail: yanhy@hbu.edu.cn.

RdRp inhibitors screening from natural products based on magnetic beads-based ligand fishing

Hao Tian¹, Yuexiang Chang¹, Huaixin Liu¹, Jingwei Zhou¹, Zhengjin Jiang^{1*}

(¹Institute of Traditional Chinese Medicine & Natural Products, College of Pharmacy / Guangdong Province Key Laboratory of Pharmacodynamic Constituents of TCM and New Drugs Research / International Cooperative Laboratory of Traditional Chinese Medicine Modernization and Innovative Drug Development of Ministry of Education (MOE) of China, Jinan University, Guangzhou 510632, China, E-mail: jzjjackson@hotmail.com)

Abstract:

Influenza is an acute respiratory infectious disease caused by influenza virus, which has the characteristics of high pathogenicity, high morbidity and high mortality. As the core target of RdRp enzyme, P_N endonuclease has been used to develop RdRp inhibitor for anti-influenza virus because of its high conservation and anti-tolerance. Magnetic beads-based ligand fishing has been widely used for the screening of enzyme inhibitors from complex matrices due to the advantages of easy magnetic separation, easy preparation and modification, large specific surface area, etc. This project aims at developing P_N endonuclease modified magnetic beads for screening potential RdRp inhibitors from *Artemisiae Argyi* Folium.. P_N endonuclease was immobilized on the magnetic beads with both covalent binding and affinity binding immobilization methods. By comparison of two immobilization methods, it proposed that the affinity binding method directly immobilized enzyme from bacteria lysate and high efficiency used for ligand fishing. The excellent ligand fishing efficiency indicates that the proposed method possesses great potential for screening potential active ingredients from traditional Chinese medicine.

Keyword

Influenza, PA endonuclease, magnetic beads-based ligand fishing, inhibitor.

Acknowledgments: This work was financial supported by the National Natural Science Foundation of China (82173781, 81872832), the High-End Foreign Experts Project, China (G2021199005L), the Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation, China (2019A1515010806), the Natural Science Foundation of Guangdong Province, China (2021A0505020014, 2021A0505030039).

References:

3. S.F. Luo, L.B. Guo, C.M. Sheng, et al, Acta Pharmaceutica Sinica B, 2020, 10(10).

离子排斥色谱间接测定油脂中硬脂酰乳酸钠乳化剂含量及其分离方法的初步研究

薛斌*, 付媛媛, 屠炳芳

月旭科技(上海)股份有限公司, 上海, 201600

薛斌 E-mail: binxue@welchmat.com

硬脂酰乳酸钠(SSL)是一种油溶性的合成食品乳化剂。由于其是以不同硬脂酸与乳酸摩尔比酯化合成的多种SSL分子种组成的混合物,且无法确定其具体的分子结构和组成,所以也无法对油脂中SSL的含量进行具体的测定。本研究通过先将油脂及其所含的SSL全部皂化水解后,然后用离子排斥色谱技术,测定水解后释放的总游离乳酸含量,来间接测定油脂中SSL的总含量。以人工添加SSL的油脂样品进行评估,以释放的游离乳酸总量计,该检测方法的回收率大于90%,重复性RSD小于5%,最低检测限达0.1 mg/g。进一步的研究采用微型柱层析吸附分离技术,即用内径为12.8mm的层析柱,内装填0.5g~1g的硅胶吸附剂,用5mL的淋洗液(环己烷:异丙醇=98:2)溶解1g的含有SSL的油脂并过柱,然后用5mL~10mL的淋洗液继续淋洗层析柱,使油脂全部被从层析柱上洗脱并收集,但其中的SSL都被层析柱所吸附,从而实现了SSL与油脂的分离。

关键词: 硬脂酰乳酸钠; 离子排斥色谱; 固相萃取

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生与计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760-2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [2] 中华人民共和国卫生与计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂 硬脂酰乳酸钠: GB 1886.92-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [3] 胡德亮, 陈丽花, 黄恺. 食品乳化剂[M]. 中国轻工业出版社, 2011.
- [4] 陈小华等. 固相萃取技术与应用(第二版)[M]. 科学出版社, 2019.
- [5] 孙毓庆, 有育筑. 液相色谱溶剂系统的选择与优化[M]. 化学工业出版社, 2008.

基于光子晶体结构的传感薄膜研究

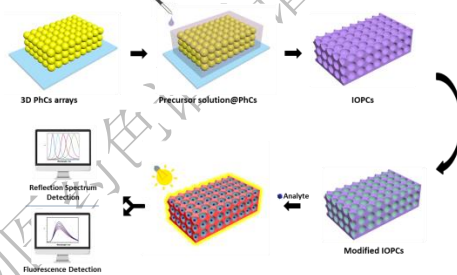
杨吉^{1,2}, 何娟¹, 孟子晖^{2*}, 侯贤灯¹

¹四川大学分析测试中心, ²北京理工大学化学与化工学院

通讯联系人 E-mail: m_zihui@yahoo.com

开发一种灵敏快速、选择性好、简单便携的新型VOCs气体传感器一直都是近年来国内外的一个研究热点。光子晶体作为一种新型的传感材料,具有快速、简单、易制备等特点。基于光子晶体结构的光学传感器,可以通过对其光谱反射峰和结构色的直观变化对外界环境刺激作出判断,使其在生化传感、环境监测等方面有巨大潜能,比如VOCs气体传感器。

以三维的光子晶体为模板,在外面包覆不同材料,再将模板洗去,可制备用于VOCs气体传感和对映体识别的不同反蛋白石薄膜(IOPCs)。经过二甲基亚砜(DMSO)改性的IOPCs薄膜可以对包括酒精、丙酮和过氧化氢在内的分析物进行可视化现场监测。DMSO-IOPCs暴露于醇和丙酮后,其入射光衍射峰发生红移,结构色也发生了显著变化。甲醇和乙醇蒸气的检出限分别为110 ppm和102 ppm。而经过手性处理的这种薄膜可以对多种手性物质对映体进行识别,其荧光光谱强度出现明显差别。这种手性-IOPCs对1-苯乙醇两种异构体的手性分离因子(EF)为3.3。这种IOPCs薄膜在酒精蒸气的原位检测方面表现出良好的潜力,可用于快速且无创的酒驾现场检测。



参考文献:

1. J. Yang, Z. G. Zhu, J. S. Feng, M. Xue, Z. H. Meng, *Microchem. J.* 157 (2020) 105074.
2. S. John, *Phys. Rev. Lett.* 58.23 (1987) 2486–2489.
3. J. Weissman, H. Sunkara, A. Tse, S. Ashert. *Science.* 274 (1996) 959-960.

Chromatographic Determination of the Mycotoxin Patulin in 219

Chinese Tea Samples and Implications for Human Health

Hai Li ^{1,†}, Candi Liu ^{1,†}, Shurong Luo ¹, Sijie Zhu ¹, Shan Tang ¹, Huimei Zeng ¹, Yu Qin ¹, Ming Ma ¹,
Dong Zeng ^{2,*}, Teris A. van Beek ^{3,*}, Hui Wang ⁴, and Bo Chen ^{1,*}

¹ Key Laboratory of Phytochemical R&D of Hunan Province, Key Laboratory of Chemical Biology & Traditional Chinese Medicine Research of Ministry of Education, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;

² Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha 410005, China

³ Laboratory of Organic Chemistry, Wageningen University, Stippeneng 4, 6708 WE Wageningen, The Netherlands;

⁴ Changsha Institute for Food and Drug Control, National Quality Supervision and Inspection Center of Liquor Products (Hunan), Changsha 410013, China;

† These authors contributed equally.

E-mail: dr-chenpo@vip.sina.com

Patulin (PAT) is a mycotoxin, with several acute, chronic, and cellular level toxic effects ^[1], produced by various fungi. A limit for PAT in food of has been set by authorities to guarantee food safety. Research on PAT in tea has been very limited although tea is the second largest beverage in the world. In this paper, HPLC–DAD and GC–MS methods for analysis of PAT in different tea products, such as non-fermented (green tea), partially fermented (oolong tea, white tea, yellow tea), completely fermented (black tea), and post-fermented (dark tea and Pu-erh tea) teas were developed. The methods showed good selectivity with regard to tea pigments and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and a recovery of 90–102% for PAT at a 10–100 ppb spiking level. Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) in tea were 1.5 ng/g and 5.0 ng/g for HPLC–UV, and 0.25 ng/g and 0.83 ng/g for GC–MS. HPLC was simpler and more robust, while GC–MS showed higher sensitivity and selectivity. GC–MS was used to validate the HPLC–UV method and prove its accuracy. The PAT content of 219 Chinese tea samples was investigated. Most tea samples contained less than 10 ng/g, ten more than 10 ng/g and two more than 50 ng/g. The results imply that tea products in China are safe with regard to their PAT content. Even an extreme daily consumption of 25 g of the tea with the highest PAT content (124 ng/g), translates to an intake of only 3 µg/person/day, which is still an order of magnitude below the maximum allowed daily intake of 30 µg for an adult.

Keywords: patulin; tea; HPLC–DAD; GC–MS; mycotoxin detection

本研究受国家自然科学基金项目(21775040,21775041,21575040), 高校科技创新研究团队资助项目(2014HNTHEI-12), 湖南省重点学科建设项目(2015JC1001)资助。

References:

[1] Iman, S.; Ipek, G. The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin. *Food Chem. Toxicol.* 2019, 129, 301–311.

基于高分辨质谱的水产养殖中氯丙嗪的靶向及非靶向代谢研究

代金霞, 乔俊琴, 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, 江苏南京 仙林大道 163 号, 210023

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

在水产养殖中, 常使用针对神经系统的麻醉剂或镇静剂等药物来防止运输过程中的损伤[1]。氯丙嗪 (CPZ) 是治疗精神疾病的代表性吩噻嗪衍生物, 同时也是一种兽药, 用于镇静、催眠、麻醉、止吐和加重。此外, CPZ 还可以降低动物的应激反应并降低长途运输过程中的死亡率[2]。然而, 过度或非法使用可能会污染水体并导致水产品中的药物残留, 从而影响鱼类的健康和水质以及水生生态系统。据报道, 环境废水中的 CPZ 残留物会对鱼类产生不利影响, 并已在鱼体中检测到[3]。CPZ 可在人体内广泛代谢, 另外在环境影响下可转化为多种降解产物[4]。然而, CPZ 在水生生物体内的代谢途径尚不清楚, 药物及代谢物残留可能会通过食物链在生物体内累积, 对人类健康存在潜在风险。目前常用的液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 靶向分析方法对化合物的覆盖范围有限, 忽略了未知的风险化合物。因此本研究采用高分辨质谱通过靶向和非靶向筛查方法来综合分析鱼体中已知和未知的 CPZ 代谢物, 旨在阐明 CPZ 在鱼体内的代谢途径, 并鉴定出标志性代谢物, 从而对水产养殖中更科学的风险评估提供指导。

本工作采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap MS) 研究 CPZ 在养殖鱼体内的药物代谢。对给药组和对照组样品进行分析以筛查差异代谢物, 鉴定未知 CPZ 代谢物, 并对不同鱼组织中已知靶向代谢物进行定量分析。结果在鱼的血清、肝脏和肌肉样品中分别筛选鉴定出 6 种、14 种、14 种代谢产物, 并通过预测的元素组成以及碎片离子推导出了不同代谢物的转化途径以及可能结构。CPZ 在鱼体内代谢主要发生氧化、脱甲基以及脱氯反应, 其中氧化作用是主要的代谢途径。在停药后 1、2、4、7 天采样, 并对 CPZ 及靶向代谢物氯丙嗪亚砷 (CPZSO)、7-羟基氯丙嗪 (7-HOCPZ)、去甲基氯丙嗪 (DMCPZ)、丙嗪 (PZ) 进行定量。停药后 1 天时, CPZ 在肝脏和肌肉中的浓度分别是初始药浴水中浓度的 4.3 倍和 3.7 倍, 表明 CPZ 在鱼体内具有生物富集性。值得关注的是 CPZSO, 其在血清、肝脏、肌肉样品中浓度分别为 1070.3、14486.2、7709.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 都远高于母体药物浓度。停药后 7 天时, 血清中不再检测到母体药物, 而 CPZSO 的浓度仍为 53.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 此时肌肉和肝脏样品中 CPZSO 分别是母体药物浓度的 56.2 倍和 7.7 倍。结果表明, CPZSO 是 CPZ 的重要标志性代谢物。CPZ 代谢主要发生在肝脏中, 其次是肌肉中。已有研究表明其代谢物具有一定毒性, 因此食用肌肉组织时对人体健康具有潜在风险。另外本研究采用超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱 (UHPLC-Q-TOF MS) 来分析药浴 CPZ 后对鱼体内内源性代谢物产生的影响, 进行非靶向代谢组学研究, 结果与本地数据库中代谢物进行匹配, 并进行结构鉴定。统计分析结果表明药物处理组与对照组在代谢组上具有显著性差异。已知 CPZ 是一种镇静剂, 但研究结果显示, 与调节鱼类神经递质相关的谷氨酰胺、重要的能量底物天冬氨酸以及肌肉运动相关的缬氨酸呈现上调趋势, 这也验证了给药后鱼产生异常兴奋的原因, CPZ 可能对鱼的健康具有一定影响。

参考文献:

1. S. Hong, N. Kwon, H. Kang, E. Jang, H. Kim, E. Han, *J. AOAC Int.*, **2022**, 105(3), 774-783.
2. W. Wang, J. Wang, M. Wang, J. Shen, *Int. J. Anal. Chem.*, **2021**, 2021, 6633016-8.
3. J. Escudero, J.L. Muñoz, T. Morera-Herreras, R. Hernandez, J. Medrano, S. Domingo-Echaburu, D. Barceló, G. Orive, U. Lertxundi, *Sci. Total Environ.*, **2021**, 769, 144634.
4. J.J. Jiménez, B.E. Muñoz, M.I. Sánchez, R. Pardo, M.S. Vega, *Chemosphere*, **2016**, 162, 285-292.

基于“陈久者良”理论联合多色谱技术对药食同源物质陈皮的品质评价研究

刘震萱, 吴翠, 程云霞, 徐博, 宋平平, 巢志茂*

中国中医科学院

通讯联系人 E-mail: chaozhimao@163.com

摘要:

南朝陶弘景在《本草经集注》中首次提出陈皮、半夏等六味药材为“陈久者良”，被历代医家记载、沿用。截至目前，关于陈用药材的品质评价研究以“六大陈药”为主，其中又以药食同源陈皮的研究最多。但存在研究品种不明确、研究内容不系统等问题。基于此，本研究于广东新会收集了12批不同贮藏年份的陈皮（芸香科植物茶枝柑 *C. reticulata* ‘Chachi’的成熟果皮），采用色差仪和电子感官技术评价色泽、气味等性状，采用紫外分光光度法测定总酚和总黄酮含量及抗氧化活性，采用高效液相色谱法（HPLC）整体比较指纹图谱，采用超高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱（UPLC-QTOF-MS）结合非靶向代谢组学技术对非挥发性代谢物进行分析并筛选差异代谢物，采用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用技术（HS-SPME-GC-MS）测定挥发性成分的种类和相对含量。结果表明，随着贮藏年份的延长，陈皮色泽由橙黄色逐渐加深为褐色，苦味增强，这与日常看到的陈皮色泽以及当地传统观点认为贮藏后陈皮泡水代茶饮的滋味从刺激变为醇厚的结果是一致的。对总酚、总黄酮和抗氧化活性结果表明其在贮藏1~14年无明显变化，贮藏17~23年明显降低，HCA分析发现贮藏1~2年、3~14年和17~23年的陈皮分别被聚为一类。对指纹图谱进行HCA分析，发现贮藏1~2年、3~23年陈皮分别被聚为一类，说明贮藏1~2年与3年及以上的陈皮在化学成分上存在差异。对非挥发性代谢物进行分析，筛选、鉴定出9个差异代谢物，与贮藏1~2年陈皮相比，黄樟醇、6,8-二-C-葡萄糖苷、谷氨酸、5-甲基尿苷、picraquassioside A和柠檬苦素在贮藏3年及以上的陈皮中含量降低，野漆树苷、橙皮素、单羟基-五甲氧基黄酮和单羟基-四甲氧基黄酮4个具有神经保护、抗肿瘤等多种药理活性的黄酮苷或苷元类成分的含量升高，推测它们是陈皮“陈久者良”的物质基础。对挥发性成分进行分析，2-丁氧乙酸丁酯等4种成分含量波动下降，推测它们是陈皮“陈则烈气消”和贮藏前期气味浓烈且刺鼻的物质基础；顺式-2-甲基-5-(1-甲基)-2-环己烯-1-醇等4种成分含量波动升高，推测它们是陈皮贮藏后期药香浓郁的物质基础；芳香类化合物整体在贮藏14年以后显著降低。总之，本研究对不同贮藏年份的药食同源陈皮的品质进行了系统性评价，基本明确了其“陈久者良”的物质基础，且并非贮藏时间越长越好，综合口味和作用，以贮藏3~14年为宜。

参考文献:

1. 梁·陶弘景.本草经集注 [M].北京:人民卫生出版社,1994, 52.
2. 朱丽云,,,,, 郑琴, *中国中药杂志*, 2021, 46, 6403-6409.
3. X. Bian,,,,,, J.L. Wu, *Food Chem.*, 2022, 373(Pt A), 131399.

UHPLC-MS/MS 分析揭示代谢检查点抑制 DNA 6mdA 错误掺入

陈少坤¹, 赖玮毅¹, 李向军², 汪海林^{1,2*}

1 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

2 中国科学院大学, 北京, 100049

通讯联系人 E-mail: hlwang@rcees.ac.cn

细胞内RNA N⁶-甲基腺嘌呤 (m6A) 降解可能导致DNA N⁶-甲基腺嘌呤 (6mdA) 的异常错误掺入。生理功能上, 和具有表观遗传效应的甲基化DNA 6mdA一样, 错误掺入的6mdA会破坏DNA双螺旋的稳定, 影响碱基配对, 从而干扰DNA的复制和转录。本研究采用重稳定同位素标记技术和超灵敏UHPLC-MS/MS分析技术, 发现在大多数测试的哺乳动物细胞系中胞内RNA m6A降解几乎不会导致游离的6mdA物种的产生, 且不会进一步导致错误掺入DNA 6mdA的产生(图1), 这说明存在阻断6mdA错误结合的N⁶-甲基腺嘌呤代谢检查点的存在。进一步实验表明, 脱氨酶ADAL、腺苷酸激酶1 (AK1) 以及其他调控蛋白(如已发现的MTH1)共同组成了该代谢检查点。少数哺乳动物细胞(如NIH3T3)中该代谢检查点的调控效果降低, 则会导致异常的高水平6mdA掺入。上述实验结果揭示了维持基因组6mdA表观遗传完整的一种新机制。

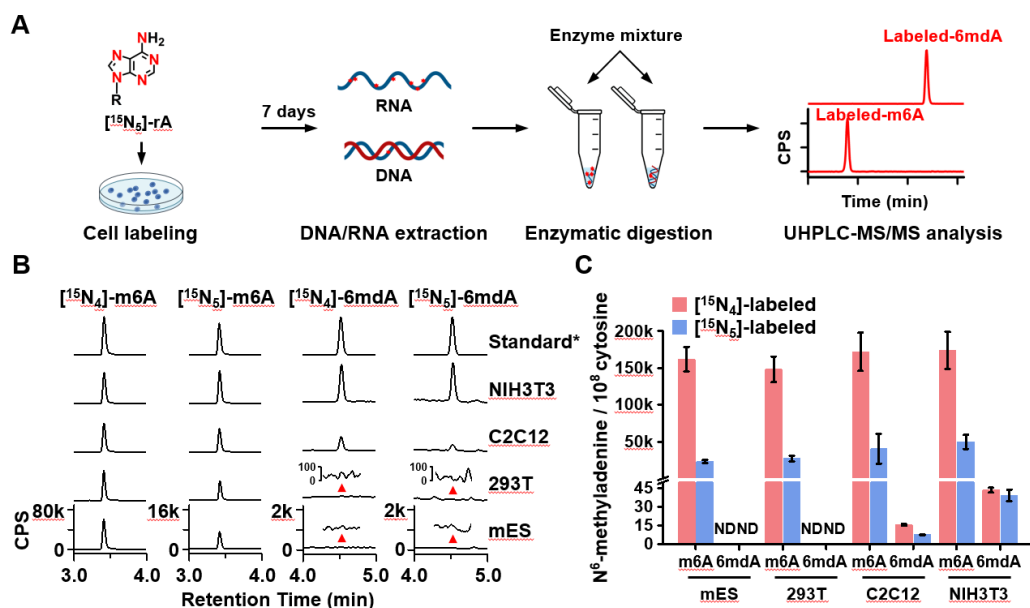


图 1. 稳定同位素示踪技术结合 UHPLC-MS/MS 分析追踪四种哺乳动物细胞系中 RNA m6A 到 DNA 6mdA 的转化代谢。

参考文献:

- Musheev, M. U., Baumgärtner, A., Krebs, L., & Niehrs, C. *Nat. Chem. Biol.*, **2020**, 16, 630-634.
- Liu, X., Lai, W., Li, Y., Chen, S., Liu, B., Zhang, N. et al. *Cell Res.*, **2021**, 31, 94-97.
- Chen, M., Urs, M. J., Sánchez-González, I., Olayioye, M. A., Herde, M., & Witte, C. P. *The Plant Cell*, **2018**, 30, 1511-1522.

基于新型分子印迹酚醛树脂吸附剂的牛奶中全氟化合物的萃取检测方法研究

韩晔红, 王明伟, 王志强, 韩丹丹,

(1 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)

2 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)

全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸 (PFOS) 是全球广泛关注的新型有机污染物。有报道在食品基质中检测到全氟化合物, 它们具有高毒性、不可降解性和生物蓄积性, 可对消化系统、神经系统和生殖系统造成损害^[1]。所以复杂样品中痕量 PFOA 和 PFOS 的萃取方法研究已成为科研工作者的研究热点之一^[2-3], 然而, 在选择性萃取过程中, 由于全氟化合物链状结构, 不具备共轭平面结构使其印迹吸附剂制备困难, 存在印迹效率低等问题^[2]。本研究以间氨基苯酚为单体, 长链戊二醛为交联剂, 全氟壬酸 (PFNA) 为虚拟模板, 在室温下合成了一种新型氨基功能化分子印迹酚醛树脂 (MIP-PR)。通过扫描电镜表征可以看出, 与非印迹材料 (NIP-PR, 图 1 A) 相比, 印迹材料 (MIP-PR, 图 1 B) 的粒径在 0.6~0.8 μm 范围内更为均匀, 且球形嵌合形成中空结构, 有利于分析物与吸附剂充分接触。通过竞争性吸附考察了材料对于全氟化合物的选择性, MIP-PR 对 PFOA 和 PFOS 的吸附量均高于其他 4 种分析物 (图 1 C), 说明 MIP-PR 对 PFOA 和 PFOS 具有较高的选择性。这归因于 MIP-PR 与分析物之间的氢键、静电和离子交换相互作用。本工作将制备的新型分子印迹酚醛树脂作为吸附剂, 结合分散固相萃取技术和高效液相色谱串联质谱检测手段, 建立了牛奶样品中 PFOA 和 PFOS 的萃取检测方法。与已有方法相比, 开发的 MIP-PR-DEE 方法具有快速、选择性强、成本低等优点。MIP-PR-DFE-LC-MS/MS 检出限低 (0.006~0.022 ng/mL), 加样回收率高 (94.7~109%), 精密度好 (RDS \leq 9.5%), 本研究为全氟化合物印迹树脂吸附剂的研制提供了新思路, 为食品中 PFOA 和 PFOS 的残留检测提供了新方法。

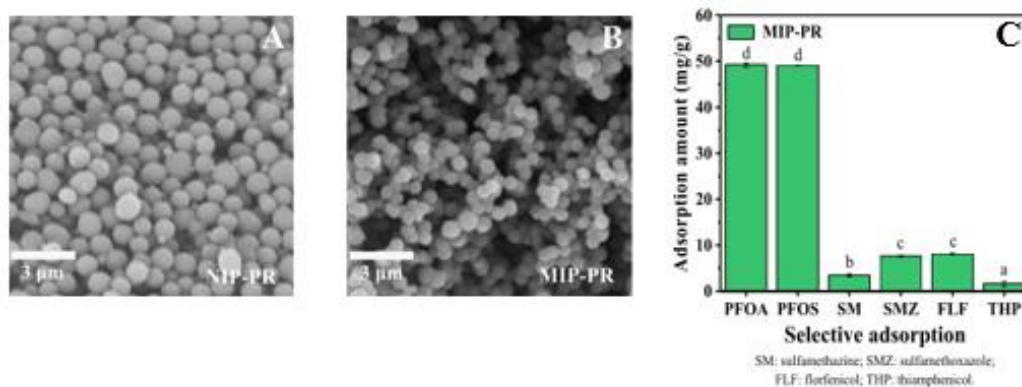


图 1 非印迹吸附剂 (A) 和印迹吸附剂 (B) 的 SEM 图, 竞争性吸附 (C)

参考文献:

1. X. Gao, W. Ni, S. Zhu, Y. Wu, Y. Cui, J. Ma, Y. Liu, J. Qiao, Y. Ye, P. Yang, C. Liu, F. Zeng, *Environ. Res.*, **2021**, 201, 111632.
2. F. Cao, L. Wang, Y. Tian, F. Wu, C. Deng, Q. Guo, H. Sun, S. Lu, *J. Chromatogr. A*, **2017**, 1516, 42–53.
3. J. Ren, Y. Lu, Y. Han, F. Qiao, H. Yan, *Food Chem.*, **2023**, 400, 134062.

基金项目: 国家自然科学基金 (82073605) 和河北大学多学科交叉研究项目 (DXK202014) 资助。

通讯作者简介: 闫宏远, 教授, 博士生导师. Tel: +86-312-5079788, E-mail: yanhy@hbu.edu.cn.

基于 GC/Orbitrap 的肉中挥发性化合物及其前体物质的轮廓分析

杨悠悠* 邢维海 朱季升

中国农业科学院北京畜牧兽医研究所

通讯联系人 E-mail: yangyouyou@caas.cn

食品风味是有效区别食品的重要质量特征。随着消费者对食品的要求逐渐由“数量与安全”转变为“美味与营养”，食品风味的研究也变得更为迫切。基于此，科学家们致力于通过育种、养殖以及加工工艺调整来改进、提升和标准化风味，这些需以风味微观解析以及特征风味前体物质的准确鉴定为基础。脂肪酸、氨基酸和糖是肉的初级代谢产物，也是重要的风味前体化合物[1,2]。气相色谱质谱联用，已广泛应用于挥发性化合物的分析鉴定；同时，由于其出色的色谱分离度，能高效分离分析氨基酸、糖和脂肪酸等极性代谢产物，可作为液相色谱串联质谱技术研究代谢组学和脂质组学的重要补充[3]。

本研究基于气相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱仪（GC/Orbitrap），进行了生肉中代谢物和熟肉中挥发性化合物的轮廓分析，并探索了挥发性化合物随代谢物含量变化的规律。代谢物经提取、甲氧基化和硅烷化，匹配NIST谱库和gc-orbitrap metabolomics数据库，共鉴定出100种代谢产物，包括脂肪酸、氨基酸、糖、有机酸、核苷、维生素等。挥发性化合物经固相微萃取技术富集，匹配NIST谱库和自建homeflavor数据库，共鉴定出145种挥发性化合物，包括醛、酮、酸、酯、呋喃、含硫化合物以及芳香烃等。经偏最小二乘判别分析，鸡肉、牛肉、猪肉、羊肉的代谢物（图1）和挥发性化合物（图2）轮廓均可以得到有效分离。经研究发现，挥发性化合物和代谢物之间部分存在较强相关性，如图3所示，熟肉重要气味化合物甲硫醛的变化趋势与甲硫氨酸变化趋势一致。

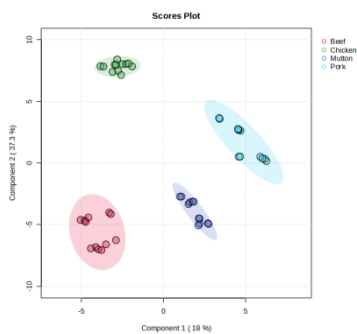


图 1

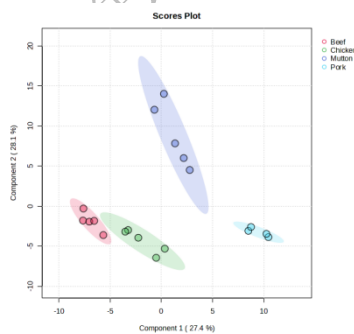


图 2

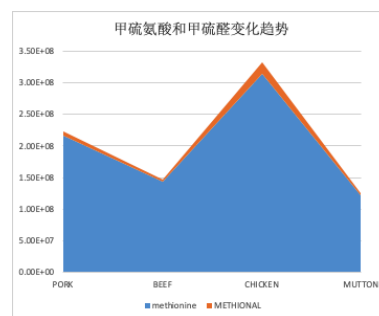


图 3

参考文献:

基于有色蛋白凝胶电泳图像的智能分类方法用于不同肉种类鉴定

田佑吏^{1,2}, 张强¹, 刘天¹, 曹成喜^{1,2*}

1. 上海交通大学电子信息与电气工程学院, 2. 上海交通大学生命科学技术学院

通讯联系人 E-mail: cxcao@sjtu.edu.cn

家禽和牲畜肉作为人类蛋白质的重要来源, 每年在全球都有大量消费[1]。肉的种类和品质是影响肉制品品质的重要因素。肉制品中肉类如果出现掺杂或者替换可能会导致严重的社会和医疗问题, 如穆斯林对肉种类有严格的要求, 未知标签肉类可能会导致过敏等[2]。对于大块肉类, 形态学和物理方法能很好的识别肉类。对于碎肉和加工肉的种类鉴定已有方法如红外和拉曼光谱、聚合酶链式反应、液相色谱-质谱以及电泳等[3-6]。这些方法通常特异性高且灵敏度好, 但需要依赖昂贵仪器和有经验的专业人员, 且需要进行大量数据分析。为确保食品安全和质量, 简化肉类识别过程, 本文选择肌红蛋白(Mb)/血红蛋白(Hb), 结合微柱等电聚焦(mIEF)和卷积神经网络(CNN)对肉类品种直观识别。

首先, 进行微阵列等电聚焦电泳[7]。第一、取 20 μ L 样品装入 mIEF 微柱, 室温水化 20 min。加载样品后, 在 mIEF 芯片中加入 4ml 冷却液, 防止焦耳热导致芯片过热。样品在 100v 电压下聚焦 90s, 200v 电压下聚焦 90s, 400v 电压下聚焦 90s, 800v 电压下聚焦 360s(共 10min)分离 Hb 和 Mb。第二、利用光学成像设备, 波长 405nm 处记录所有泳道胶条的 8 位灰度图像。

其次, 基于电泳谱图进行神经网络训练。第一、选择 8 个家畜品种和 6 个家禽品种共 14 种肉类, 通过 mIEF 获得 1000 张 Mb/Hb 电泳图。第二, 通过采集的 1000 张电泳图, 随机选取 700 张图用于训练, 其余 300 张图用于测试。第三, 利用训练好的网络对电泳图进行鉴定, 并通过质谱(MS)数据进一步验证。

针对肉类有色蛋白 Mb 和 Hb, 发展了一种微阵列等电聚焦电泳结合神经网络对于肉种类的快速识别方法。该方法快速、简便、成本低, 识别准确率大于 99%。开发的方法在未来可以扩展到其他食品或产品类别的识别。

参考文献:

- [1] J. Q. Luo, C. Taylor, T. Nebl, K. Ng, L. E. Bennett, *Food Chem.*, **2018**, 254, 292-301.
- [2] K. Yogesh, S. Chandrakant Karne, *Trends Food Sci. Tech.*, **2017**, 62, 59-67.
- [3] A. Rohman, *JAVAR*, **2019**, 6(1), 9-17.
- [4] M. A. Sentandreu, E. Sentandreu, *Food Res. Int.*, **2014**, 60, 19-29.
- [5] M. Y. Zhang, Y. Y. Li, Y. Y. Zhang, C. D. Kang, W. T. Zhao, N. Ren, W. P. Guo, S. W. Wang, *Food Chem.*, **2022**, 371, 11.
- [6] B. B. Dzantiev, N. A. Byzova, A. E. Urusov, A. V. Zherdev, *Trends Analyt. Chem.*, **2014**, 55, 81-93.
- [7] T. Liu, Y. L. Tian, Y. R. Cao, Z. H. Wang, G. H. Zha, W. W. Liu, L. Wei, H. Xiao, Q. Zhang, C. X. Cao, *Food Res. Int.*, **2023**, 166, 112600.

硝苯地平溶液标准物质的检测方法制备工艺及稳定性研究

陈璐, 李燕, 王慧芳, 栾立霞, 唐博文, 徐银*

天津阿尔塔科技有限公司

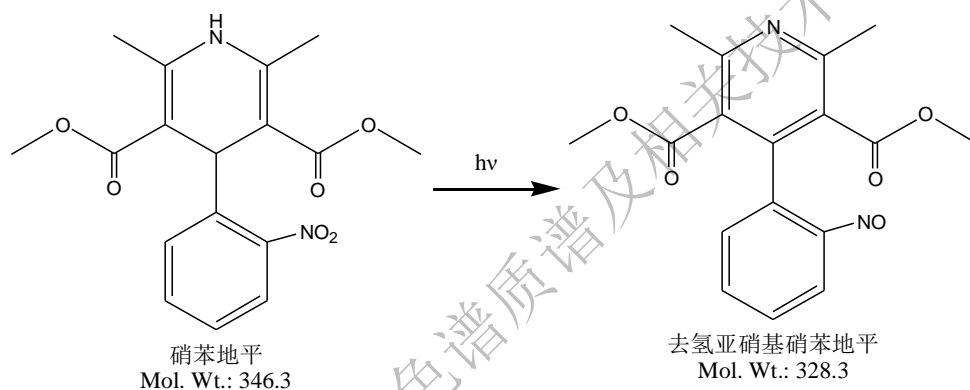
E-mail:yin.xu@altasci.com.cn

摘要

采用单杆质谱与高效液相联用, 建立硝苯地平溶液标准物质的检测方法, 此方法实现了硝苯地平和其杂质的更好分离, 并准确的判断杂质为去氢亚硝酸硝苯地平。

探究了硝苯地平溶液标准物质在不同制备条件时, 在避光和不避光不同条件下的长期稳定性, 总结其变化规律和降解趋势, 确定最优的制备条件和工艺。通过制备条件的严格控制, 硝苯地平溶液标准物质的有效期可达到 2 年。

本研究对硝苯地平溶液标准物质的现行检测方法做了改善。具有检测成本低、准确、快速的优点, 光稳定性实验为硝苯地平溶液标准物质的制备及稳定性研究提供了数据支持, 提升了硝苯地平溶液标准物质制备的工艺水平。



关键词: 硝苯地平, 标准物质, 检测方法, 稳定性, 制备工艺, 避光, 单杆质谱, 高效液相

参考文献

1. 马春艳, 段琼, 冯淑华. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食品及保健食品中硝苯地平、去氢硝苯地平和去氢亚硝基硝苯地平含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 10 (11): 7037-7044.
2. 朱培曦, 丁丽霞, 何佳佳, 等. 高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱法快速鉴定硝苯地平原料药中杂质[J]. 色谱, 2012, 10 (30): 1026-1030.
3. 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1533.
4. 王晓东. 硝苯地平的制备及其杂质分离方法与应用: 103204814A[P]. 2013-07-17.
5. 陈孝武. 液相色谱-质谱联用技术在食品安全分析中的应用[D]. 郑州大学化学系, 2011: 1-67.

离子液体作为流动相添加剂对 G-四链体反相液相色谱保留行为的影响

王菊¹, 乔俊琴^{1*}, 茅力², 练鸿振^{1*}

¹ 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

² 现代毒理学教育部重点实验室, 南京医科大学公共卫生学院, 南京, 211166

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

G-四链体(G4)广泛存在于人类基因组中,尤其是基因启动子区域^[1]和端粒区域^[2],具有十分重要的生物学功能,这使得G4s的研究备受关注,也促进了G4分析方法的不断发展。当前,研究G4s的常用方法在使用上存在局限,对于多个G4结构同时共存的复杂体系中各个G4结构的解析存在不足。近年来,反相高效液相色谱(RP-HPLC)逐渐在生物大分子的研究中受到重视,在G4多态结构解析中具有巨大的应用潜力^[3]。建立优异的RP-HPLC分离方法是获取满意的G4多态结构分析的保障。然而,常规色谱优化方法对于部分弱保留、峰型差的核酸序列无能为力,新的色谱改进策略十分有必要。离子液体(ionic liquids, ILs)为室温下的熔融盐,在HPLC中,ILs可用作表面结合的固定相、流动相或者流动相添加剂^[4],能够改善多种分析物的色谱保留行为,但其对G4s的保留行为影响情况尚不清晰。

我们将离子液体引入RP-HPLC作为流动相添加剂,系统考察了IL浓度、流动相pH值、IL阳离子和阴离子类型对不同构象的G4s的保留行为影响。研究发现,ILs的加入能够显著增强G4s的保留,并能够明显改善色谱峰形和分离效果。此外,在一定浓度范围内,G4保留时间与流动相中的IL浓度呈线性,这将有助于不同IL浓度下的G4s保留预测。在所研究的G4s中,我们发现ILs对不同构象的G4s的保留影响程度存在差异,暗示着G4s的性质差异或ILs潜在的构象相关效应。基于实验结果,我们发现离子液体主要通过静电作用吸附到固定相上,ILs对G4保留行为的影响是多种相互作用的结果,其中疏水相互作用占主导地位。研究表明,离子液体的加入可以有效提高RP-HPLC中G4s的分离效率,有利于G4的结构分析,特别有利于对具有多种构型的G4s的结构分析。本工作首次将离子液体引入到G4s的RP-HPLC分离分析中,此改进方案有望服务于复杂体系中的G4s的结构解析,有利于促进G4结构与其生物功能之间的关系研究。

参考文献:

1. M.L. Greco, A. Kotar, R. Rigo, C. Cristofari, J. Plavec, C. Sissi, *Nucleic Acids Res.*, **2017**, 45, 10132-10142.
2. T. Phan, *FEBS J.*, **2010**, 277, 1107-1117.
3. J.Q. Qiao, Z.M. Cao, C. Liang, H.J. Chen, W.J. Zheng, H.Z. Lian, *J. Chromatogr. A*, **2018**, 1542, 61-71.
4. Y. Wang, M. Tian, W. Bi, K.H. Row, *Int. J. Mol. Sci.*, **2009**, 10, 2591-2610.

功能性 DNA 发夹的膜上自组装用于癌细胞的精准识别和协同杀伤

李志豪, 舒杨*

东北大学化学系, 辽宁省沈阳市和平区文化路三巷 11 号, 110819

通讯联系人 E-mail: shuyang@mail.neu.edu.cn

基于多种治疗剂的新型联合治疗策略已在临床中得到广泛使用, 并在癌症治疗中显示出良好的前景。随着多种癌症标志物及相应适配体的发现, 使得癌细胞的精准识别以及药物的靶向递送成为可能。本文设计了一种基于双适配体的 DNA 逻辑电路, 用于癌细胞的精确识别和药物共递送。具体而言, 双适配体逻辑电路与细胞膜表面生物标志物执行逻辑计算触发杂交链式反应(HCR)。对于 HCR 的发夹, 化疗药物 DOX 负载于富含 GC 碱基对的发夹茎区, 在其 3' 或 5' 端引入 G 四链体用于负载光敏剂 TMPyP₄, 同时修饰了 Cy5 荧光基团, 用于指示逻辑计算结果。实验结果表明, 功能化的 DNA 发夹通过 HCR 在膜上进行组装, DOX 和光敏剂随着 HCR 产物一起进入细胞, 实现了两种药物的协同靶向递送。细胞实验表明, 该 DNA 逻辑电路设计实现了对靶细胞的精确识别和协同杀伤。

关键词: 适配体、杂交链式反应(HCR)、药物递送

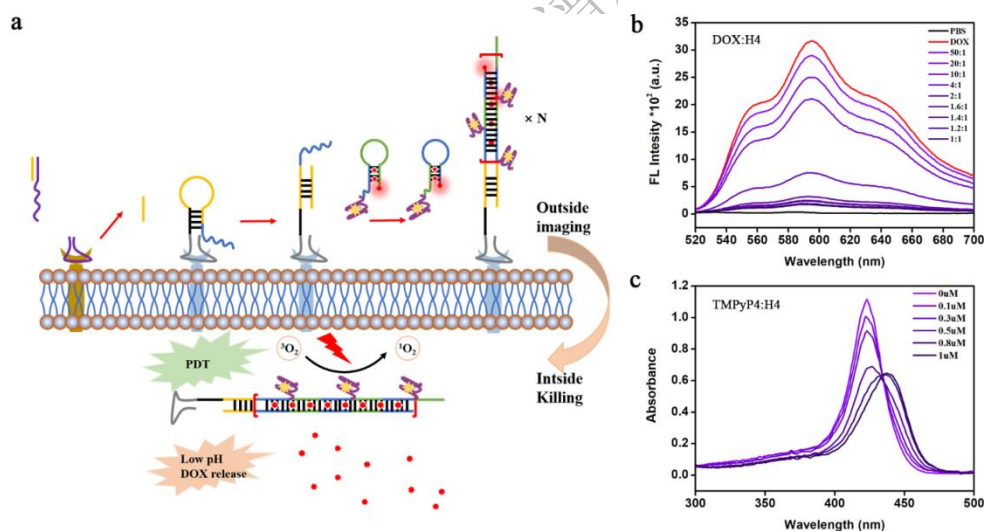


Fig.1 (a) 功能 DNA 发夹的膜上组装及胞内杀伤示意图, (b) DOX 在 DNA 发夹上负载的荧光吸收光谱, (c) TMPyP₄ 在 DNA 发夹上负载的紫外可见吸收光谱.

本研究受国家自然科学基金委项目 (22174013) 资助。

参考文献:

1. X. H. Liu, D. S. Mao, Y. C. Song, L. C. Zhu, Albertina N. Isak, C. C. Liu, G. L. Deng, F. Chen, F. Y. Sun, Y. Yang, X. L. Zhu, W. H. Tan, Computer-aided design of reversible hybridization chain reaction (CAD-HCR) enables multiplexed single-cell spatial proteomics imaging, *Sci. Adv.*, **2022**, 8, eabk0113.
2. K. W. Ren, Y. Liu, J. Wu, Y. Zhang, J. Zhu, M. Yang, H. X. Ju, A DNA dual lock-and-key strategy for cell-subtype-specific siRNA delivery, *Nat. Commun.*, **2016**, 7, 13580.

基于二氧化硅纳米颗粒掺杂的低交联乙酰化泛素九肽印迹整体柱的制备

魏 琴, 黄艳萍*, 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: huangyp100@163.com; zhaoshengliu@sohu.com

关键词: 二氧化硅纳米颗粒, 接枝聚合, 分子印迹, 泛素化, 乙酰化

泛素化和赖氨酸乙酰化是真核生物中存在最广泛的翻译后修饰之一, 但丰度低、结构类型多样、时空动态变化等特点给泛素化和乙酰化研究带来了巨大挑战。质谱技术的快速发展为深入泛素化和乙酰化研究提供了保障, 在此基础上发展新的富集分离方法成为了揭示泛素化、乙酰化结构功能的突破口。目前, 泛素化蛋白和赖氨酸乙酰化修饰的主要分离方法都是利用抗体的免疫亲和分离法[1]。然而该方法成本高、稳定性差。最重要的是基于抗 K- ϵ -GG 的泛素蛋白分离无法针对多聚泛素链进行分离分析。因此, 如何建立新的富集分离方法, 满足单泛素化、多聚泛素化以及赖氨酸乙酰化等翻译后修饰的分离, 是亟待解决的问题。

利用液晶单体代替部分化学交联剂制备的低交联分子印迹聚合物 (MIP) 能够有效解决印迹位点包埋、分子传质阻碍等问题, 特别适合生物大分子的分离富集。多面体低聚倍半硅氧烷(POSS)是一种笼形结构的纳米材料, 其作为一种功能单体可以提高聚合物的吸附性能[2]。以二氧化硅纳米颗粒 (FSNP) 形式存在的硅纳米颗粒尺寸非常小, 具有高表面积、良好的吸附性能和力学稳定性。FSNP 常被固定到整体材料中用于改善整体材料的吸附性能、提高整体材料的比表面积[3]。将 POSS 和 FSNP 引入到低交联 MIP 的制备中, 有望改善 MIP 的吸附特异性、提高吸附容量。

本研究首先利用三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸酯 (TRIM) 制备整体柱骨架, 其表面残留的双键可供 MIP 接枝, 以解决低交联 MIP 的刚性不足的问题。我们选取了泛素 N 端的九个氨基酸, 同时在赖氨酸上修饰乙酰化, 即 MQIFVKacTLT 作为模板, 利用抗原决定基策略来特异性捕获单/多聚泛素化以及赖氨酸乙酰化蛋白。聚合体系包括丙烯酰胺、4-乙烯基吡啶、POSS、N,N-亚甲基双丙烯酰胺、液晶单体 4-氰基苯基环己基乙烯, 以二甲亚砜、乙腈和十二醇为致孔剂, 掺入 FSNP, 在聚 TRIM 骨架上接枝 MIP。我们详细考察了 FSNP 和 POSS 的含量、聚合时间、模板与功能单体比例、功能单体种类和交联度对印迹效果的影响。结果显示 POSS-FSNP-MIP 具有较强的印迹效果, 印迹因子为 3.5, 是 POSS-MIP 和 FSNP-MIP 的 2.7 和 2.3 倍。在最佳条件下制备的 POSS-FSNP-MIP 对模板肽的回收率为 84.5%, 印迹因子为 4, 并且能够成功的从组蛋白酶解液加标样品中萃取模板肽 (图 1)。进一步我们研究了该印迹柱对大鼠肝脏蛋白的富集效果, 实验结果显示在未经 MIP 处理的大鼠肝中没有检测泛素化蛋白, 而经 MIP 处理后大鼠肝中分别检测到 12 个泛素蛋白和 13 个泛素肽段, 并且经 MIP 处理后检测到的乙酰化蛋白和乙酰化肽段是未经处理的 4.5 倍和 5.8 倍 (图 2)。此外, 经 MIP 处理后检测到的独特蛋白数和肽段数是未经处理的 4.9 倍和 5.2 倍。此外, 从洗脱液中分别检测到了 M1 型泛素链、K64 泛素链以及单泛素, 表明该印迹整体柱可以用于同时富集单泛素化和多聚泛素化。

本实验采用抗原决定基策略选择乙酰化泛素九肽作为模板制备乙酰化泛素九肽印迹整体柱, 将 POSS 和 FSNP 引入到低交联 MIP 的制备中, 有效提高了 MIP 整体柱的印迹效果, 使得该整体柱即使在复杂环境中也能对模板肽具有较高的选择性。该乙酰化泛素九肽印迹整体柱对大鼠肝的预处理显著提高了质谱对泛素化和乙酰化修饰的检测能力, 有望成为单泛素和多聚泛素以及乙酰化修饰高通量分析的强有力工具。

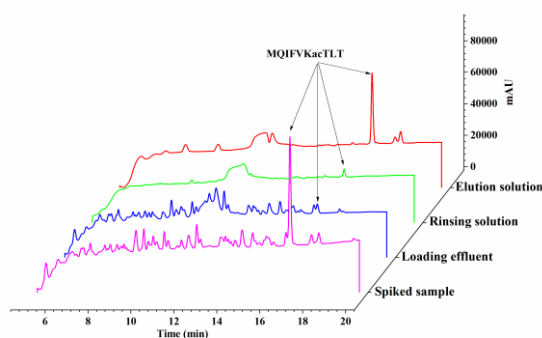


Fig. 1 Chromatograms of spiked sample and the corresponding loading, rinsing, elution solution.

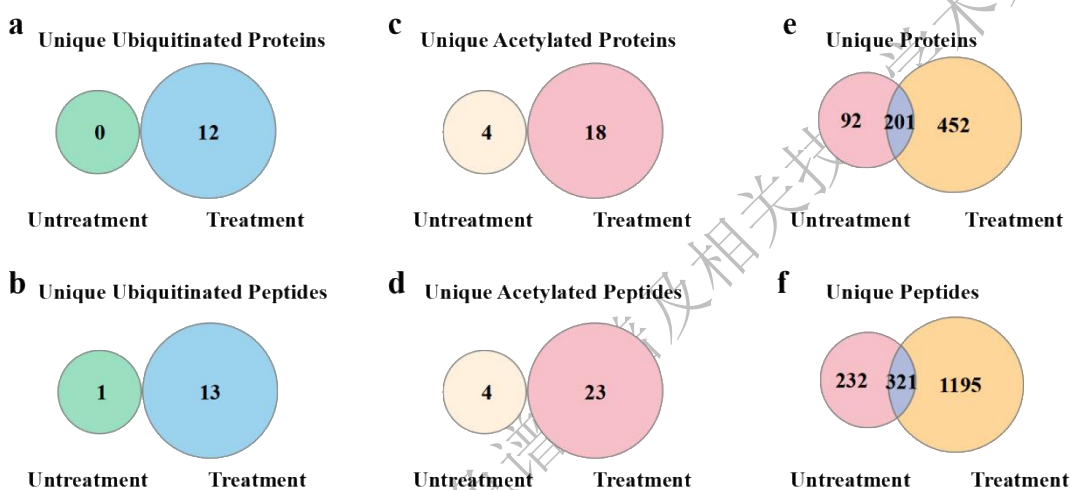


Fig. 2 Venn diagram comparison of number identified by MS before and after treatment of the imprinted monolith to rat liver.

致谢：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. D.J. Ryder, S.M. Judge, A.W. Beharry, C.L. Farnsworth, J.C. Silva, A.R. Judge, Identification of the acetylation and ubiquitin-modified proteome during the progression of skeletal muscle atrophy, *Plos One*, **2015**, 10, e0136247.
2. W.J. Hao, W.J. Chen, Chai M.H., F.F. Yuan, L.M. Huang, Z.H. Wei, X. Zhang, Y.P. Huang, Z.S. Liu, Microfluidic platform based on site-specific post-imprinting modification of molecularly imprinted monolith with Connizzaro reaction to improve identification of N-myristoylated peptides, *Sens. Actuators B Chem.*, **2022**, 356, 131338.
3. G. Nisansala, Z. El Rassi, Poly(glyceryl monomethacrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) monolithic columns with incorporated bare and surface modified gluconamide fumed silica nanoparticles for hydrophilic interaction capillary electrochromatography, *Talanta*, **2018**, 179, 632-640.

MAX 材料双重富集磷酸化肽/糖基化肽并应用于生物样品

杨世庶^{1,*}, 仇华¹, 古志远^{2,*}

¹河南师范大学化学化工学院, 新乡, 453007

²南京师范大学化学与材料科学学院, 南京, 210023

E-mail: guzhiyuan@njnu.edu.cn; yangshishu@htu.edu.cn

众所周知, 蛋白是许多疾病重要的生物标记物, 例如, 阿尔茨海默症、心血管疾病、糖尿病、帕金森和骨发育不全等[1]。基于质谱(MS)的蛋白质组学鸟枪法可以快速准确鉴别肿瘤细胞的蛋白表达, 同样其也可以通过高通量的蛋白组学大量筛选此类疾病中的蛋白标记物[2]。但是, 一些潜在的标记物属于低丰度的肽段, 包括蛋白水解产物中的翻译后修饰肽段, 例如糖基化肽段和磷酸化肽段, 其在生物体内浓度极低(低于1 nM), 因此, 从复杂生物样品中直接进行质谱分析困难重重。由此, 大量的纳米材料被设计合成出来用于肽段富集中, 包括介孔材料[3]、二维材料[4]、磁性材料[5]。尽管材料的发展越来越迅速, 但是在MALDI-TOF MS分析之前, 寻求一种从复杂生物样品中高效稳定富集低丰度肽段的新型亲和材料依然面临巨大挑战。

在本体系中, 选择了具有层状结构的MAX ($M_{n+1}AX_n$, $n=1, 2, 3$) 材料 (Ti_3AlC_2 和 V_2AlC) 和剥离的MXene纳米片 (Ti_3C_2 和 V_2C), 并首次应用于糖基化肽段/磷酸化肽段富集, 通过实验结果对比可知, MXene纳米片富集效果较差, 从而在本体系中主要探讨MAX材料, 其合成简便且易于购得, 根据实验证明得出 Ti_3AlC_2 可展现出双重富集糖基化肽段和磷酸化肽段的效果, 并且其能展现出良好的检测灵敏度和选择性, 随后在血清样品和小鼠脑样品蛋白质组学检测中, Ti_3AlC_2 依然显示出良好的鉴别效果, 为其在蛋白质组学领域的深入研究提供了新的可能。

关键词: MAX 材料、双重富集、磷酸化肽、糖基化肽、生物样品

本研究受国家自然科学基金项目资助。

参考文献:

1. M. Perluigi, E. Barone, Aberrant Protein Networks in Alzheimer Disease, *Nat. Rev. Neurol.*, **2022**, 18, 255-256.
2. W. E. Ek, T. Karlsson, J. Höglund, M. Rask-Andersen, Å. Johansson, Causal Effects of Inflammatory Protein Biomarkers on Inflammatory Diseases, *Sci. Adv.*, **2021**, 7, eabl4359.
3. C. Pu, H. Zhao, Y. Hong, Z. Wang, Y. Zheng, M. Lan, Hierarchical Dendritic Mesoporous TiO_2 Nanocomposites for Highly Selective Enrichment of Endogenous Phosphopeptides, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, **2021**, 9, 5818-5826.
4. J. Xiao, S.-S. Yang, J.-X. Wu, H. Wang, X. Yu, W. Shang, G.-Q. Chen, Z.-Y. Gu, Highly Selective Capture of Monophosphopeptides by Two-Dimensional Metal-Organic Framework Nanosheets, *Anal. Chem.*, **2019**, 91, 9093-9101.
5. H. Wang, F. Jiao, F. Gao, J. Huang, Y. Zhao, Y. Shen, Y. Zhang, X. Qian, Facile Synthesis of Magnetic Covalent Organic Frameworks for the Hydrophilic Enrichment of N-Glycopeptides. *J. Mater. Chem. B*, **2017**, 5, 4052-4059.

LC-MS/MS 快速检测人血浆中卡马西平浓度

黄晓冬¹, 孙元社¹, 李艳杰², 唐涛¹, 李彤^{1*}

(1, 依利特(苏州)分析仪器有限公司, 苏州, 215123; 2, 天津国科医工科技发展有限公司, 天津, 301822)

*E-mail: Tonglii@eliteHPLC.com

癫痫为常见的神经系统疾病, 严重影响患者的身心健康。临床上常用的广谱抗癫痫药物种类很多, 卡马西平可作为该类药物的首选, 在临床上应用广泛^[1]。卡马西平治疗癫痫的效果显著, 但其有效浓度范围较窄(4~12 μg/mL)^[2], 超过有效浓度范围易发生中毒反应。因此, 临床常需要对其进行治疗药物监测(TDM), 以帮助提高疗效或降低不良反应发生率。

目前, 抗癫痫药血药浓度常用的检测方法有均相酶免疫法、高效液相色谱法和液质联用法^[3-5], 但上述方法耗时长且操作复杂。本文研究建立测定人血浆中卡马西平浓度的快速方法。以苯乙酮为内标物, 血浆样品经甲醇沉淀后, 采用高效液相色谱-三重四级质谱串联法测定血浆中卡马西平的浓度。该法采用依利特自主生产的 ECoreShell SOS C18 (ID2.1mm×50mm, 2.7 μm 90Å) 核-壳色谱柱, 在流速为 0.4 mL/min, 柱温为室温, 进样量 2 μL, 流动相为 0.1% 的甲酸水溶液和乙腈中进行梯度洗脱。结果表明: 内标物苯乙酮的保留时间为 0.444 min, 卡马西平的保留时间为 2.921 min, 单个样品分析时间小于 5min; 卡马西平分离度很好, 色谱峰形对称, 柱效高。卡马西平的浓度对峰面积作线性回归, 得相应的标准曲线回归方程为 $Y=24006.5534X+550307.0436$, $r=0.9800$, 采用加内标拟合, 得相应的标准曲线与回归方程为 $Y=0.5985X+9.0364$, $r=0.9835$ 。连续进样 105 次, 卡马西平保留时间 RSD 值为 0.95%, 峰面积 RSD 值为 0.78%。卡马西平回收率为 80-120%。结论: E3200LC-HTQ2020 液质联用仪和 ECoreShell SOS C18 2.7μm, ID2.1mm×50mm 色谱柱, 可以满足人血浆中卡马西平浓度的快速检测, 分离度好, 灵敏度高, 重复性好。

关键词: 核-壳色谱柱、LC-MS/MS、卡马西平、苯乙酮、治疗药物监测(TDM)

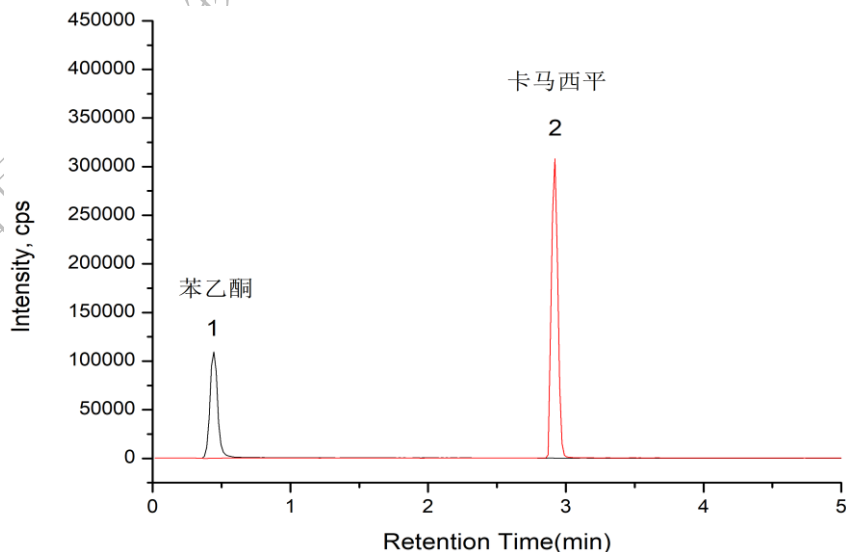


图1 卡马西平及其内标物分离色谱图

本研究受国家重点研发计划项目 2021YFC2401102、2021YFC2401104 课题资助。

参考文献:

- [1] 蒋建华, 刘玉琴. 抗癫痫药超敏反应综合征研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2010, 26(07): 502-503.
- [2] 于尧. 苯巴比妥与卡马西平联合用药对癫痫病患者的效果分析[J]. 首都食品与医药, 2019, 26(2): 59.
- [3] 毕重文, 杨丽, 李丹青等. UPLC-MS/MS 法检测人血清中卡马西平浓度及其临床应用[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(12): 1715-1718.
- [4] 高元峰, 欧阳林旗, 肖望重等. HPLC 法外标法快速测定人血清中卡马西平的血药浓度[J]. 海峡药学, 2020, 32(3): 49-52.
- [5] 王伟, 丁仁奎, 李清艳等. UPLC-MS/MS 法同时测定人血浆中卡马西平、文拉法辛、罗格列酮和硝苯地平的浓度[J]. 中国药房, 2018, 29(2): 194-198.

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

新型生物抑菌剂替代叠氮化钠在液相色谱应用的可行性研究

戚志然, 孙元社, 黄晓冬, 唐涛, 李彤*

依利特(苏州)分析仪器有限公司, 江苏苏州, 215123

*E-mail: Tong_lii@eliteHPLC.com

叠氮化钠是实验室样品和储备溶液的常用防腐剂, 在液相色谱分析时经常将其配制成浓度为0.02%~0.1%的水溶液, 作为液相色谱柱的储存溶剂之一, 防止长时间保存时滋生细菌, 引起色谱柱污染。当叠氮化钠处于水溶液中时, 爆炸风险较低, 而固体形态在受到冲击或加热到275℃时非常具有爆炸性, 并且在有机合成中产生的叠氮酸气体是有剧毒的, 实验室一般用量较少, 采购及存储困难。因此, 本论文考察了4种生物抑菌剂是否可代替叠氮化钠, 作为液相色谱柱的储存溶剂。

磷酸盐是液相色谱分析时常用的缓冲液, 也很容易滋生细菌, 使用时一般需要新鲜配制, 常温下最多可以放置2-3天。因此, 本文选择在高浓度磷酸盐缓冲液中添加不同浓度的不同抑菌剂, 分别采用紫外可见分光光度计扫描抑菌剂溶液光谱、肉眼观察抑菌效果和生物显微镜观察霉菌变细菌三种测试方法, 间隔放置一定时间考察其抑菌效果。实验结果显示: 1) 当叠氮化钠的水溶液浓度大于0.05%, 才能达到比较理想的抑菌效果; 2) 4种PC-300、PC-950、BND-10和GML-2抑菌剂或其组合, 可以达到叠氮化钠同等抑菌效果; 3) PC-300抑菌剂长时间放置后, 水溶液会变黄; 4) PC-950等抑菌剂在紫外光谱范围内存在吸收, 液相色谱柱长时间储存后, 需彻底置换保存溶液后再使用。

最后, 将其应用于Sephadex G-10葡聚糖凝胶色谱柱的储存溶液, 可以满足长时间保存时抑菌的要求, 完全可以替代叠氮化钠, 毒性小, 危险性低。

关键词: 液相色谱柱、抑菌剂、叠氮化钠、储存溶剂

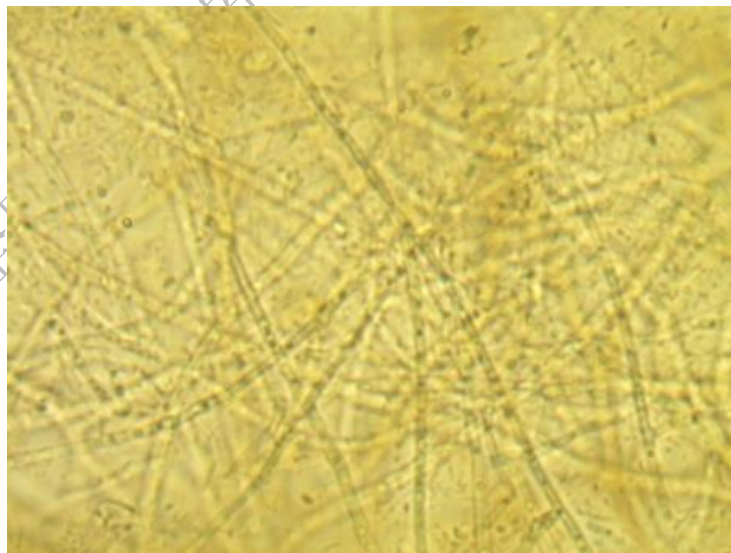


图1 磷酸盐缓冲溶液中菌丝的显微镜图片

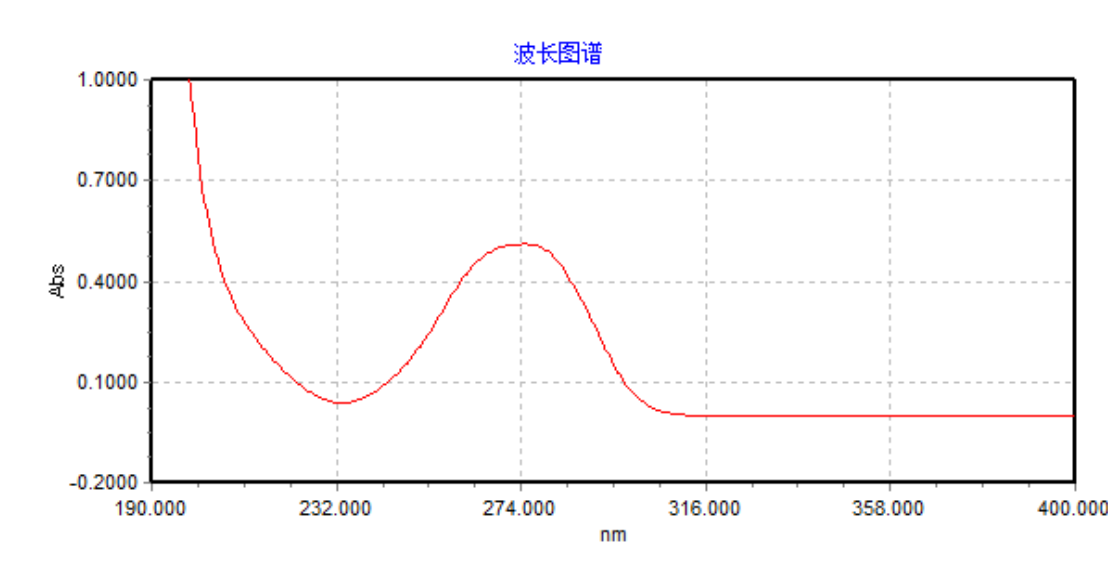


图2 PC-950 抑菌剂紫外吸收光谱图

本研究受国家重点研发计划项目 2021YFC2401102、2021YFC2401104 课题资助。

参考文献

1. 戴戎强, 魏慧敏, 廖桂萍. 叠氮化钠剧毒化学品取代实验研究[J]. 兰州石化职业技术学院学报, 2019, 19(01):1-4.
2. .PROCLIN 系列防腐剂[J]. 生命科学仪器, 2004(01):23-24.
3. Affatato S, Bersaglia G, Emiliani D, Foltran I, Toni A. Sodium-azide versus ProClin 300: influence on the morphology of UHMWPE particles generated in laboratory tests. [J]. Biomaterials, 2004, 25(5):835-842.

基于 UHPLC-MS/MS 的亚染色质结构 DNA 5-甲基胞嘧啶分析

赖玮毅, 张蕊, 汪海林*

中国科学院生态环境研究中心, 北京市海淀区双清路 18 号, 100085

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

DNA 表观遗传修饰 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine) 涉及基因表达调控、X 染色体失活、染色质重构等一系列重要的生物过程。过去, 研究人员发展了多种分析手段以获得 5mC 在基因组 DNA 中的含量、分布和功能, 如基于高通量测序的方法, 色谱-质谱法, 基于抗体识别的方法等等。其中, 超高效液相色谱串联质谱法 (Ultrahigh-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UHPLC-MS/MS) 因灵敏度高、定性定量准确, 被认为是 DNA 修饰识别和定量的金标准[1]。在使用该法对 DNA 修饰水平进行定量时, 通常从细胞或组织样品中提取基因组 DNA, 然后加入核酸酶和碱性磷酸酶, 将 DNA 彻底酶解为单核苷[2]。高等真核生物细胞核存在高级结构, 如常染色质、异染色质、核基质附着区域 (Matrix attachment regions, MARs) 等, 这些亚染色质结构在控 DNA 复制、转录等过程中发挥这非常重要的调控作用。而 DNA 修饰在这些亚核结构上的水平和功能并未被报道, 并且通常液质分析的方法无法区分这些亚核结构的 DNA 修饰。

为研究亚核结构 DNA 修饰, 我们发展了一种染色质分级分离的方法, 利用可剪切核小体间 DNA 的微球菌核酸酶 (Micrococcal Nuclease) 对哺乳动物染色质进行酶切, 然后通过低盐/高盐抽提进行分级分离最后通过液质联用, 对各亚核结构组分 DNA 5mC 进行定量。这一方法不仅能分离 MAR DNA, 通过调整 MNase 的量和酶解时间, 还可分离常染色质、异染色质。除 5mC 修饰, 还能对其氧化去甲基化中间产物 5-羟甲基胞嘧啶、5-醛基胞嘧啶、5-羧基胞嘧啶进行定量。该法为研究高等真核生物亚染色质结构 DNA 修饰的水平和功能提供了新工具。

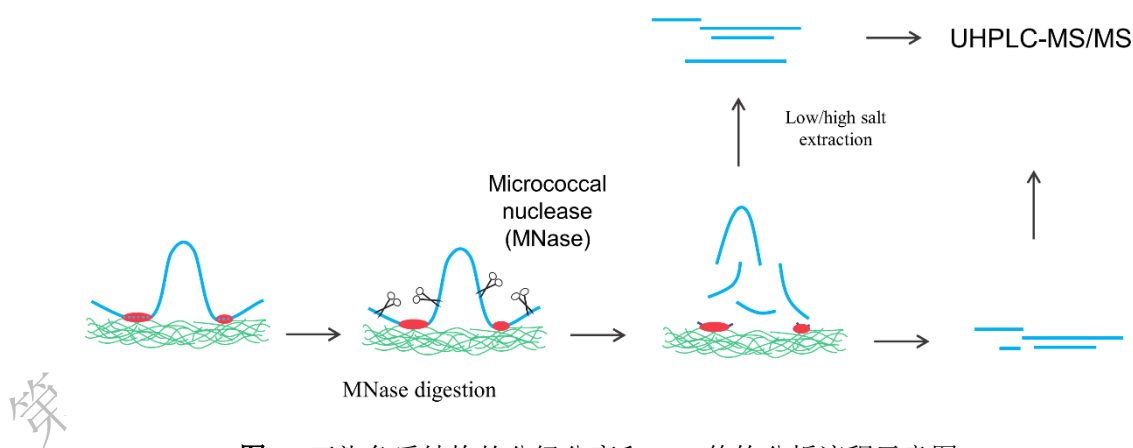


图. 1 亚染色质结构的分级分离和DNA修饰分析流程示意图

关键词: UHPLC-MS/MS; 亚染色质结构; 表观遗传修饰; 5-甲基胞嘧啶

参考文献

1. M. Helm. Nat. Rev. Genet.,18: 275(2017).
2. W. Lai. Anal. Chem., 90: 6859–6866(2018).

纤维素基手性拆分材料

张金明*, 尹春春, 张军

中国科学院化学研究所

通讯联系人 E-mail: zhjm@iccas.ac.cn

手性是自然界中的普遍现象,是生命体系的基本特征,与人类健康和日常生活密切相关。手性对称的一对对映异构体分子虽然化学结构完全一样,但空间构象的不同使得它们往往具有不同的生物活性,一种对映体具有正效应,另一种对映体往往表现出无效应甚至负效应。因此,获得光学纯单一对映体在医药、生物、材料等领域具有极其重要的意义^[1-5]。

针对纤维素衍生物手性拆分机理不清晰且其化学结构难以调控的问题,设计、合成了系列结构的纤维素芳香酯和混合酯(调控取代度、取代基团种类、取代基团分布、聚合度和多糖类型),加深了“化学结构—手性拆分性能”关系的认识,揭示了纤维素衍生物手性拆分机理以及性能优异手性拆分材料的结构特征:疏水螺旋结构、弱氢键给予能力结合取代基团合理分布是实现高手性拆分能力的关键(Chinese J. Polym. Sci., 2015, 33, 1633; Anal. Chim. Acta, 2019, 1073, 90)。发展了一种简单、有效的制备键合型手性色谱柱的新方法,实现了与涂覆型手性色谱柱相当的手性拆分性能(Sep. Purif. Technol., 2019, 210, 175)。基于以上原理,制得系列性能优异的新型手性色谱柱,优于目前手性拆分效果最好的商品手性色谱柱。

参考文献:

1. Ward, T. J.; Ward, K. D. *Analytical Chemistry*, 2012, 84, 626–635.
2. Scriba, G. K. E. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1467, 56–78.
3. Okamoto, Y.; Yashima, E. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, 37, 1020-1043.
4. Ikai, T.; Okamoto, Y. *Chemical Reviews*, 2009, 109, 6077–6101.
5. Shen, J.; Okamoto, Y. *Chemical Reviews*, 2016, 116, 1094–1138.

基于 UPLC-QTOF-MS 技术结合 UNIFI 快速筛查中草药中有毒生物碱

李慧晨¹, 陈晓宁¹, 何聿^{1*}

¹ 福州大学化学学院

通讯联系人 E-mail: heyu@fzu.edu.cn

中草药是指在中医理论指导下, 用于预防、治疗、诊断疾病并具有康复与保健作用的物质, 也是中医区别于其他医学的重要标志。进入 21 世纪以来, 随着现代科学技术在中医药研究中的应用日益广泛, 中草药在世界各地的应用范围也不断扩大。自 2020 年新冠肺炎疫情爆发以来, 中草药在治疗新型冠状病毒感染的肺炎方面也发挥了至关重要的作用^[1]。由于中草药以植物药居多, 故有“诸药以草为本”的说法, 不少的人认为中草药比化学药品的药性更温和、更安全, 不会发生药物毒副作用, 但有些药物可能会因剂量、持续时间或伴随的药物使用而产生严重的毒性。中草药中毒一般是由于药物含有毒性成分, 此毒性成分大部分为有毒生物碱, 这部分生物碱可能影响多器官系统, 包括心血管、肾、肝、神经、胃肠和血液系统。比如乌头类生物碱可引起昏迷、心律失常、呼吸衰竭甚至死亡^[2]; 吡咯里西啶类生物碱会导致肺、肾等器官毒性, 致突变、致癌以及发育毒性^[3]; 而马兜铃酸具有明显肾毒性, 可造成肾小管功能受损, 甚至存在引发肾癌的风险, 且对环境也可能造成一定的危害^[4]。面对中草药中成千上百种未知有毒生物碱的存在, 建立一种快速、灵敏的生物碱筛查方法对于有效预防中草药中毒以及中毒后的救治具有重要的理论指导意义。

本研究基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱技术 (UPLC-Q-TOF-MS) 检测 43 种常见中草药中的有毒生物碱, 采用 Masslynx 软件采集数据, 利用自建的有毒生物碱数据库以及 UNIFI 软件对采集的样品数据进行分析, 实现对中草药中有毒生物碱的非靶向高通量快速筛查, 为中草药临床应用安全提供了强有力的理论基础。研究结果显示, 在 43 种常见的中草药中共筛查出 58 种有毒生物碱, 包括 6 种马兜铃类生物碱、9 种吡咯里西啶类生物碱、16 种乌头类生物碱以及 27 种其他类型生物碱。

关键词: 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS); UNIFI; 中草药; 有毒生物碱

参考文献:

1. J. L. Capodice, B. M. Chubak, *Chin. Med.*, 2021, 16, 24.
2. S. Y. Jeon, W. Jeong, J. S. Park, Y. You, H. J. Ahn, S. Kim, D. Kim, D. Park, H. Chang, S. W. Kim, *Am. J. Emerg. Med.*, 2021, 40, 184-187.
3. I. Geburek, L. Rutz, L. Gao, J. H. Kupper, A. These, D. Schrenk, *Chem. Res. Toxicol.*, 2021, 34, 1101-1113
4. W. W. Li, C. K. Chan, Y. S. Liu, J. Yao, B. Mitic, E. N. Kostic, B. Milosavljevic, I. Davinic, W. H. Orem, C. A. Tatu, P. C. Dedon, N. M. Pavlovic, W. Chan, *J. Agric. Food Chem.*, 2018, 66, 11468-11476.

基于聚乙烯醇/淀粉纳米纤维的肉类新鲜度智能指示包装研究

王玥^{1,2}, 刘立言¹, 樊柳荫^{1*}

1, 上海交通大学学生创新中心, 2, 上海交通大学化学化工学院, 上海, 200240

通讯联系人 E-mail: lyfan@sjtu.edu.cn

比色指示型智能薄膜是一种通过检测肉类腐败过程中挥发出的胺类物质含量来可视化追踪肉类的新鲜度的新型检测技术^[1], 因具有方便快捷、可实时监测的优点, 近十年已成为研究热点。目前通过传统的流延法所制备的智能包装薄膜存在比表面积小, 延展性差, 颜色指示易受环境因素干扰, 准确性不足等问题^[2], 限制了其在食品包装领域的实际应用。除此之外, 目前智能包装薄膜通常使用化学染料如溴甲酚紫、甲基红等作为指示剂, 存在指示剂泄露威胁食品安全的隐患。因此, 制备指示准确度高、力学性能良好同时安全无毒的指示薄膜成为了目前智能食品包装的核心需求之一。

静电纺丝是近年来得到快速发展的新兴技术, 可高效制备兼具高比表面积、高孔隙率与良好延展性的纳米级化学纤维薄膜^[3], 相较传统方法制备所得智能指示薄膜具备更高的灵敏性, 但目前静电纺丝在智能包装领域应用的报道有限。同时, 从植物中提取的天然指示剂具有安全无毒、生物活性良好^[4]的特点, 相较化学染料其对 pH 变化的响应更灵敏准确, 在智能指示薄膜的制备中有良好应用潜力。因此, 本项目将聚乙烯醇, 马铃薯淀粉, 二氧化钛纳米颗粒和天然指示剂矢车菊素阳离子共混, 通过静电纺丝技术制备得到纳米纤维薄膜, 用于肉类新鲜度的指示与监测。

通过对纳米纤维薄膜的机械性能, 水汽阻隔性能与表面形貌进行表征与观察, 表明所制备薄膜中纳米纤维光滑均匀, 具有优异的延展性与阻隔性能。在模拟实际肉类新鲜度监测的环境下对纳米纤维薄膜的颜色变化及其抑菌抗菌效果进行测试评估, 结果表明, 随着肉类样品的腐败, 纳米纤维薄膜能够产生显著的颜色变化, 准确对应不同新鲜程度, 同时相较空白对照表现出良好的抗菌性, 抑菌率达 52.43%。本研究所制备纳米纤维薄膜同时具备良好的延展性、指示准确性与保鲜效果, 可实现实时肉类新鲜度可视化监测, 在智能食品包装领域展现出较好的应用前景。

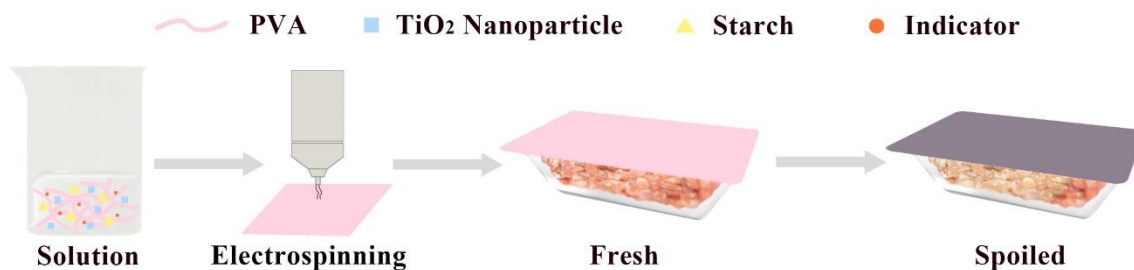


图 1. 智能食品包装薄膜的制备与应用示意图

关键词: 静电纺丝、智能食品包装、比色指示、新鲜度监测

本研究受国家自然科学基金项目(No.22074091)资助。

参考文献:

1. K.L. Yam, P.T. Takhistov, J. Miltz, Intelligent Packaging: Concepts and Applications, *J. Food Sci.*, **2005**, 70(1), 1-10.

2. Y. Meng, H. Luo, C. Dong, C. Zhang, Z. He, Z. Long, R. Cha, Hydroxypropyl Guar/Cellulose Nanocrystal Film with Ionic Liquid and Anthocyanin for Real-Time and Visual Detection of NH₃, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, **2020**, 8(26), 9731-9741.
3. D.H. Reneker, A.L. Yarin, Electrospinning jets and polymer nanofibers, *Polymer*, **2008**, 49(10), 2387-2425.
4. S. Roy, J.W. Rhim, Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films, *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, **2021**, 61(14), 2297-2325.

第十四届全国生物医药色谱质谱及相关技术学术交流会

基于二氧化硅纳米颗粒掺杂的低交联乙酰化泛素九肽印迹整体柱的制备

魏 琴, 刘照胜, 黄艳萍*

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: huangyp100@163.com

泛素化和赖氨酸乙酰化是真核生物中广泛存在的翻译后修饰 (PTMs), 它们之间的相互作用一直是人们研究的焦点, 研究表明乙酰化和泛素化之间的串扰, 是控制重要细胞功能的关键调控机制^[1, 2]。质谱是翻译后修饰蛋白质组学研究的常用工具。由于生物样本基质复杂, PTMs 丰度低, 因此在质谱分析之前必须选择合适的手段对目标物进行分离富集处理。针对这两种 PTMs, 目前已经报道了许多富集方法, 其中最为常用的依然是传统的基于抗体的免疫亲和富集法^[3]。但现有的方法均是针对单一的乙酰化或泛素化, 缺乏同时用于两种 PTMs 蛋白富集的有效策略, 使得乙酰化和泛素化之间的相互作用研究仍面临着巨大的挑战。

本研究以三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸酯 (TRIM) 整体柱为骨架, 在其表面接枝聚合二氧化硅纳米颗粒 (FSNP) 掺杂的低交联 MIP, 得到用于识别乙酰化蛋白和泛素化蛋白的双功能富集材料。基于表位印迹策略, 本研究设计了一种乙酰化九肽, 序列为 MQIFVKacTLT 作为模板。该模板是来自泛素的 N 端九肽, 其赖氨酸残基被乙酰基修饰, 这使得 MQIFVKacTLT 印迹整体柱上拥有了能够分别识别乙酰化赖氨酸和泛素末端九肽的两种类型的亲和位点。该模板在 MIP 上产生的开放入口印迹腔, 使泛素化蛋白能够从 N 端方向被识别, 这可以避免类泛素蛋白的干扰。基于液晶单体的低交联印迹策略能够有效解决印迹位点包埋、分子传质阻碍等问题, 特别适合生物大分子的分离富集。FSNP 粒径小、比表面积大, 被固定到整体材料中有助于改善整体材料的吸附性能、提高整体材料的比表面积。在详细考察了制备参数和固相萃取条件后, 该印迹整体柱对模板肽的回收率为 84.5%, 印迹因子可达 4.0。组蛋白加标酶解液萃取实验显示该印迹整体柱能够从复杂环境中选择性的富集模板肽 (如图 1)。将印迹整体柱用于大鼠肝脏中的乙酰化蛋白和泛素化蛋白的提取, 经该印迹整体柱处理后共鉴定到 18 个乙酰化蛋白和 15 个泛素化蛋白。而在未经富集处理的样品中仅能 4 个乙酰化蛋白和 0 个泛素化蛋白。结果表明, 本实验制备的印迹整体柱为复杂生物样品中乙酰化的蛋白质和泛素化蛋白的富集提供了有效手段, 显著提高了质谱检测灵敏度, 并为制备多功能富集材料提供了新的思路。

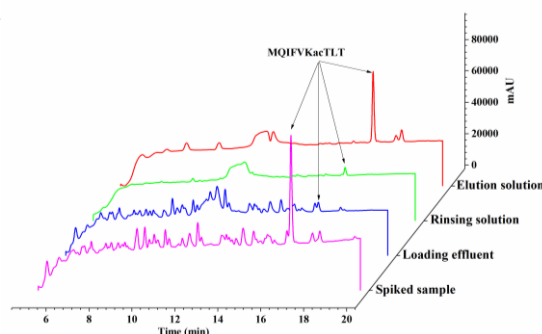


Fig. 1 Chromatograms of spiked sample and the corresponding loading, rinsing, elution solution.

参考文献:

3. K. Shimizu, M. Gi, S. Suzuki, et al, *Cell Rep.*, **2021**, 37, 109988.
4. G. Wang, S. Li, J. Gilbert, et al, *Cell Rep.*, **2017**, 20, 1335-1347.
5. J. Brandi, R. Noberini, T. Bonaldi, D. Cecconi, *J. Chromatogr. A*, **2022**, 1678, 463352.

尿液中 VX 含磷、含氮小分子生物标志物的同时液质定量检测

江沛玉, 袁玲, 刘昌财*

国民核生化灾害防护国家重点实验室

通讯联系人 E-mail: liuchangcai@sklnbpc.cn

VX是分子结构中含有P-S-(CH₂)₂N(iPr)₂结构的硫赶磷酸酯类化合物, 其可通过皮肤、口服或吸入暴露途径发挥高急性毒性作用, 因此被禁止化学武器公约(CWC)严令禁止^[1]。VX进入体内后可发生快速水解或转化, 其暴露指证主要依赖于同时检测其甲基磷酸乙氧基基团和2-二异丙基氨基乙基硫基团相关代谢物或加合物^[2,3]。为了实现尿液中VX的全分子准确溯源, 一种液质同时定量分析尿液中含氮和含磷基团生物标志物的检测方法被建立, 目标分析物为本课题组已在尿液中鉴定的VX含氮小分子生物标志物2-(二异丙基氨基)乙基磺酸(DiPSA)和目前研究已报道的VX尿液中含磷小分子生物标志物甲基磷酸乙酯(EMPA)。尿样中三种分析物应用Silica固相萃取柱进行固相萃取(SPE)以实现尿样中DiPSA和EMPA的提取和分离, 使用hilic色谱柱完成了DiPSA和EMPA在尿液基质中的分离和高灵敏检测, 其中甲酸铵的加入被证明对分析物色谱峰形的改善有着重要影响, 选定与分析物具有相似碎裂行为的内标建立定量分析方法并进行方法学考察。结果表明, 分析物经Silica-SPE样品前处理的提取回收率均高于60%; 分析方法具有良好的专属性, DiPSA和EMPA在对应保留时间处均未发现明显的背景干扰峰; DiPSA和EMPA分别在0.05~400 ng/mL和0.5~400 ng/mL范围内具有良好的线性, 在尿样中DiPSA和EMPA的检测限分别可达0.01和0.2 ng/mL; DiPSA和EMPA天内/日间准确度范围为92.6%~107%, 相对标准偏差(RSD)≤13.4%; 稳定性通过贮存于不同温度(-20/4/25°C)和在28天内反复冻融至少3次来考察, DiPSA和EMPA的准确度范围在82.9~119%之间, 精密度≤11.3% RSD。本研究建立了VX含氮小分子生物标志物DiPSA和含磷小分子生物标志物EMPA在尿液基质中的同时高灵敏液质定量分析方法, 实现了尿液中VX的全分子准确溯源。

参考文献:

1. Z. Witkiewicz, S. Neffe, *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2020**, 130, 1-10.
2. C. Valdez, R. Leif, *Molecules*, **2021**, 26, 6-15.
3. K. Andreas, K. Jim, S. Michael, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2018**, 410, 1463-1474.

MOF 基离子阱纳米纤维膜对重金属的吸附性能研究

黄鹏飞, 周政, 黄丽霞, 袁娜, 张震, 张婕, 马媛, 王雪梅*

高原交汇区水资源安全与水资源保护教育部重点实验室, 兰州, 730070

甘肃省生物电化学与环境分析重点实验室, 兰州, 730070

西北师范大学化学化工学院, 兰州, 730070

E-mail: wangxuemei@nwnu.edu.cn

重金属及其化合物的慢性环境暴露可以引起多器官疾病, 甚至癌症的发生^[1]。在现有的众多重金属处理方案中, 吸附法因其效率高、成本低、操作简单而备受关注^[2]。大多数常见商业吸附剂对金属离子的亲和性较弱且往往没有选择能力, 然而, 来自采矿、电镀、冶炼等工业活动的重金属种类, 总是多种多样且复杂的^[3]。为了解决这一需求, 需要一种非特异性的广谱重金属离子吸附剂。乙二胺四乙酸 (EDTA) 具有六个配位原子: 四个羧基氧和两个叔胺氮, 与大多数金属离子能够形成稳定的螯合物, 意味着EDTA可以与多种重金属离子结合。然而, 由此EDTA与金属的配合物总是水溶性的, 限制了其作为吸附剂的应用。金属有机框架 (MOF) 是一种新型的多孔晶体材料, 其独特的三维孔道结构, 易于合成后修饰的纳米级特性使其成为理想的载体材料。将EDTA接枝到符合条件的MOF材料上, 构建一种MOF基广谱重金属离子阱 (MOF-based Heavy Metal ion Trap, MOF-HMT) 可以实现对不同重金属的非特异性螯合。

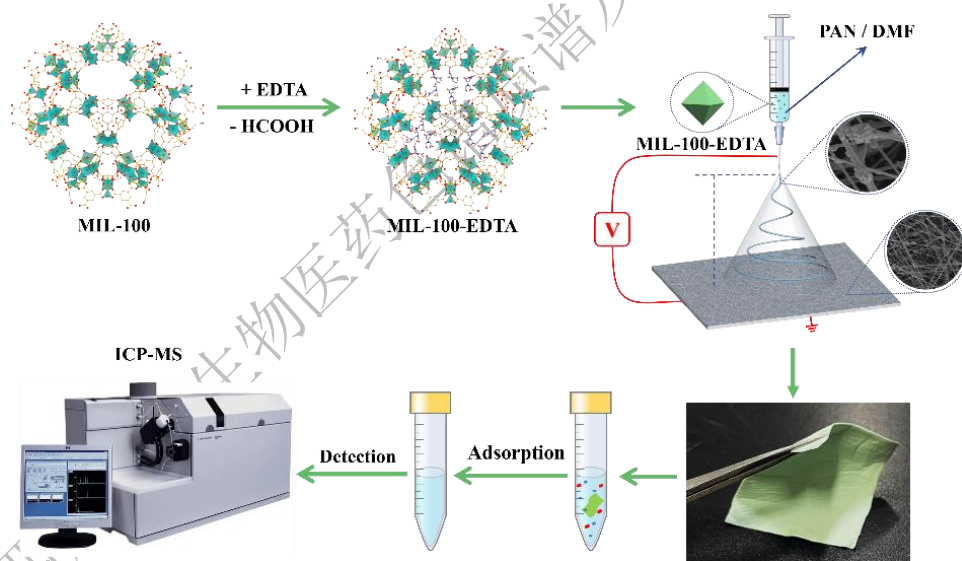


图1. MOF基离子阱纳米纤维膜的制备及其吸附重金属示意图

本文以三元羧酸配体的MIL-100为模板, 将具有广谱螯合性能的EDTA分子接枝到MOF的框架上, 再利用静电纺丝技术将所合成的MOF基离子阱与亲水性的聚丙烯腈 (PAN) 混纺, 制备了一种复合纳米纤维膜, 用于吸附去除水溶液中的重金属离子。实验所制备的新型MOF基离子阱纳米纤维膜对软硬酸及临界酸类型的重金属离子均具有广谱的吸附性能, 吸附量大, 耗时短, 且可重复使用, 是一种简单高效且成本低廉的重金属吸附介质。

参考文献:

[1] 江桂斌, 刘维屏主编, *环境化学前沿*, 2017 (第一版)。

[2] I. Ali, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 5073–5091.

[3] Q. Sun, B. Aguila, J. Perman, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 2786–2793.

分层多孔 MOFs@COFs 分子阱固相微萃取对多环芳烃的高效捕获及机理研究

张震, 袁娜, 黄丽霞, 黄鹏飞, 马媛, 张婕, 周政, 王雪梅*

高原交汇区水资源安全与水环境保护教育部重点实验室, 兰州, 730070

甘肃省生物电化学与环境分析重点实验室, 兰州, 730070

西北师范大学化学化工学院, 兰州, 730070

E-mail: wangxuemei@nwnu.edu.cn

金属有机框架 (MOFs) 和共价有机框架 (COFs) 因其具有可调节的孔隙尺寸、分层的多级孔隙结构、较大的比表面积以及丰富的活性位点, 受到了广大环境分析研究者的关注。其中, 具有分层多孔结构的核壳 MOFs@COFs 复合材料综合了二者的显著优势, 现已发展成为一种新型的多功能材料^[1]。特别是其分层的孔隙结构和大的比表面积都为其更好实现环境水样中痕量持久性有机污染物 (POPs) 的高效富集提供了巨大的研究潜力^[2]。将此类复合材料作为固相微萃取 (SPME) 纤维的涂层, 结合 SPME 操作简单, 溶剂用量少、可在复杂环境基质中实现重复使用的性能优势^[3], 可发展成为一种高效的样品前处理分离分析方法。

本文以 $\text{NH}_2\text{-UiO-66}$ 为核心, 以分步修饰的方式在其表面包覆 COF-LZU1, 形成具有分层多孔结构的核壳 $\text{NH}_2\text{-UiO-66@COF-LZU1}$ 复合材料。之后通过物理粘合方式将核壳 MOFs@COFs 分子阱材料作为固相微萃取纤维涂层, 用于高效捕获并检测水样中的多环芳烃。核壳结构 MOFs@COFs 分子阱材料与传统单一的 MOFs 和 COFs 材料相比, MOFs 材料自身的刚性结构改善了单一 COFs 材料稳定性差的劣势, 修饰的 COFs 更有助于增加材料在吸附有机污染物时的疏水作用及 $\pi\text{-}\pi$ 相互作用等, 从而提高材料整体的富集容量。因此, 本实验制备的核壳结构 MOFs@COFs 分子阱材料通过分层多孔的孔隙结构对于持久性有机污染物具有显著的富集能力, 孔隙可调、富集容量大, 操作简便, 所需样品少, 是一种简易、高效的持久性有机污染物的富集检测方法。

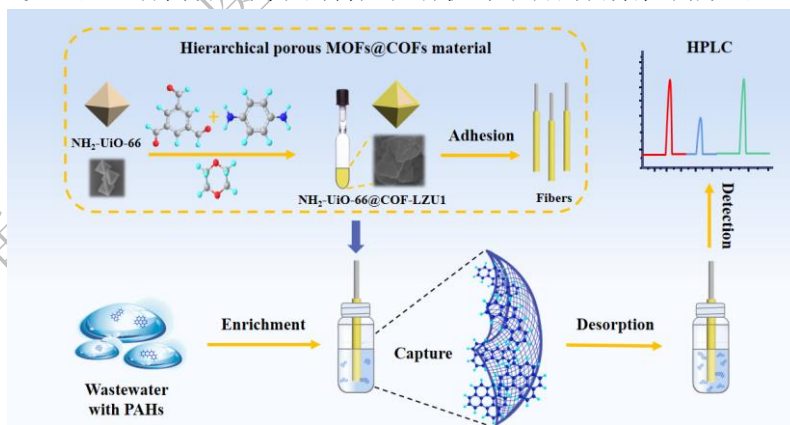


图 1 分层多孔核壳 MOFs@COFs 分子阱固相微萃取纤维用于水样中多环芳烃的高效捕获及检测参考文献:

1. H. J. Peng, J. Raya, F. Richard, W. Baaziz, O. Ersen, A. Ciesielski, P. Samorì, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, 59(44), 19602-19609.
2. Q. Z. Wang, Y. J. Zhao, Z. Shi, X. Y. Sun, T. Bu, C. Q. Zhang, Z. X. Mao, X. H. Li, L. Wang, *Chem. Eng. J.*, **2021**, 420, 129955.
3. W. Filipiak, B. Bojko, *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2019**, 115, 203-213.

基于蛋白组学技术的化学战剂暴露标志物筛选策略

陈博, 梁德莘, 任哲, 刘石磊*

国民核生化灾害防护国家重点实验室, 北京, 102205

通讯联系人 E-mail: liu_shilei@lacricd.com

化学战剂是指用于战争目的、具有剧烈毒性、能够大规模地毒害或杀伤敌方人畜和植物的化学物质。通常化学战剂的化学性质活泼, 进入人体后存在多条代谢途径, 包括与蛋白质等大分子发生加合反应。化学战剂的蛋白加合物常被用作其溯源性检测的暴露标志物[1-3], 但由于加合位点数量较多, 化学战剂与蛋白加合位点的鉴定存在困难, 进一步限制了蛋白加合物作为暴露标志物的应用。本研究建立了一种基于蛋白组学技术的化学战剂暴露标志物筛选策略, 通过基于蛋白组学“自下而上”策略的加合位点鉴定、基于多种蛋白酶酶解策略的暴露标志物的筛选与鉴定以及基于多种暴露标志物的灵敏溯源性检测方法建立, 完成了化学战剂蛋白加合物从“位点鉴定”到“灵敏检测”的全流程实现。以硫芥类糜烂性毒剂为例, 应用本策略成功鉴定到其在白蛋白上的41个加合位点; 基于上述加合位点, 分别采用胰蛋白酶、糜蛋白酶、嗜热菌蛋白酶、胃蛋白酶、Glu-C酶、蛋白酶K和链霉菌蛋白酶酶解, 系统筛选到系列暴露标志物; 选择其中5个氨基酸加合物作为进一步高灵敏溯源性检测的暴露标志物, 应用三重四极杆质谱进行靶向检测。该方法进一步引入了丙酰化衍生, 有效改善了分析目标物的色谱行为, 是目前报道的基于氨基酸加合物的最灵敏的检测方法, 检出限可达1.00 ng/mL染毒浓度。方法成功应用于第六次OPCW生物医学水平考试人血浆样品、跨物种血浆样品及家兔体内染毒代谢动力学样品分析, 还成功应用于6种其它硫芥类糜烂性毒剂(1-HD, 2-HD, 3-HD, 4-HD, 5-HD, O-HD)染毒人血浆样品的分析。该策略为化武核查、中毒救治、人员健康监测提供技术支撑。

关键词: 化学战剂、硫芥类糜烂性毒剂、蛋白组学、氨基酸加合物、丙酰化衍生

本研究受国民核生化灾害国家重点实验室(SKLNBC2019-12)项目资助。

1. C. Liu, L. Liang, Y. Xiang, H. Yu, S. Zhou, H. Xi, S. Liu and J. Liu, An improved method for retrospective quantification of sulfur mustard exposure by detection of its albumin adduct using ultra-high pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, 407, 7037-7046.
2. B. Chen, H. Yu, S. Liu, C. Liu, L. Liang, X. Li, X. Li, J. Wu and Y. Yang, A sensitive quantification approach for detection of HETE-CP adduct after benzyl chloroformate derivatization using ultra-high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2019**, 41, 3405-3415.
3. F. Fu, F. Sun, X. Lu, T. Song, J. Ding, R. Gao, H. Wang and C. Pei. A Novel Potential Biomarker on Y263 Site in Human Serum Albumin Poisoned by Six Nerve Agents. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, **2019**, 1104, 168-175.

Development of In-depth mass cytometry and its application

Shaojie Qin, Daiyu Miao, Yi Zhang, Yu Bai*

Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Key Laboratory of Bioorganic Chemistry and Molecular Engineering of Ministry of Education, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, P. R. China.

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

Cell heterogeneity is broadly present in all cell populations^[1]. Comprehensive single-cell metabolic profiling is critical to systematic characterization of cellular phenotypic heterogeneity, which in turn has significant implications in signaling response and disease diagnosis^[2]. However, it is still in its infancy owing to limited metabolites coverage and disability of universal isomer discrimination. Herein, we established a novel single-cell metabolome analytical strategy called In-depth mass cytometry (ID-cyto MS), which combined ultrasonication for online cell lysis with organic mass cytometry^[3]. 289 and 214 metabolites were successfully identified among MCF-7 single cells in positive and negative mode, respectively. ~20 s single-cell detection window was realized. Extended analysis time enabled multiple MS/MS information acquisition, which allowed isomers discrimination at single-cell level. Benefitting from above advantages, ID-cyto MS enables deep single cell metabolic profiling and cancer cell subtyping, which lays the foundation for exploration of sophisticated cell phenotypic heterogeneity.

References:

1. S. J. Altschuler, L. F. Wu, *Cellular Heterogeneity: Do Differences Make a Difference?*. *Cell*, **2010**, 141, 559-563.
2. M. Fessenden, *Metabolomics: Small molecules, single cells*. *Nature*, **2016**, 540, 153-155.
3. S. Xu, M. Liu, Y. Bai, H. Liu, *Multi-Dimensional Organic Mass Cytometry: Simultaneous Analysis of Proteins and Metabolites on Single Cells*. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 1806-1812.

3D 微流控纸芯片显色法筛选血管紧张素转化酶抑制剂

张剑, 李文静, 张博, 张光菊, 刘春叶*

西安医学院药学院 西安 中国

通讯联系人 E-mail: doris8976@163.com

高血压是威胁人类健康的主要疾病之一。血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 又称激肽酶 II 或肽基-羧基肽酶, 可催化血管紧张素 I (十肽) 水解成八肽的血管紧张素 II, 使血管收缩, 血压升高。因此, ACE 抑制剂 (ACEI) 广泛应用于治疗高血压、心力衰竭、心肌梗塞等疾病。目前, ACE 活性检测的常用方法包括紫外分光光度法、荧光光度法、高效液相色谱法、毛细管电泳法等^[1-2]。这些方法的普遍缺陷是需要大型仪器设备。

微流控纸芯片, 也称微流控纸分析器件 (microfluidic paper-based analytical devices, μ PAD), 是由 Whitesides 组^[3]于 2007 年首次提出, 是继 HPLC 和毛细管电泳 (CE) 后又一强有力的分离分析方法。 μ PAD 同时兼具了传统材质微流控芯片和纸张的特征, 具有分析成本低、样品和试剂用量小、分析速度快、便于携带、不需要大型仪器设备等。

本研究设计并制作了一种操作简单、稳定可靠的折叠式 3D 微流控纸芯片 (图 1), 以此为研究平台, 采用显色法对 ACE 活性及药物抑制性进行测定。底物马尿酸-甘氨酸甘氨酸 (HGG) 在 ACE 作用下分解为马尿酸和甘氨酸二肽, 分解产物与显色剂茚三酮反应生成蓝紫色化合物, 颜色强度与酶活性呈正相关。采用手机拍照记录实验结果, Photoshop 软件分析色度值。实验结果表明, 底物最佳浓度为 24 mmol/L, 反应液的最佳上样量和显色剂的最佳加载量分别为 4.0 μ L 和 50.0 μ L, 65 $^{\circ}$ C 下显色 2 min。在较优条件下, 纸芯片法测得卡托普利、天麻素和乙酰天麻素对 ACE 的 IC_{50} 值分别为 (1.98 \pm 0.08) nmol/L、(506.31 \pm 1.04) μ mol/L 和 (304.82 \pm 3.18) μ mol/L, 与文献值及紫外法所得结果符合较好, 相对误差在 \pm 5%。该方法具有分析成本低、样品用量小、检测效率高、操作简单等优势, 可用于酶抑制剂类药物的活性筛选。

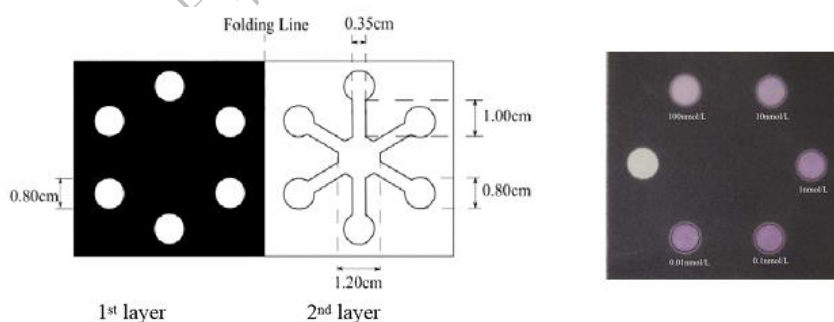


图 1 3D 纸芯片设计与卡托普利显色结果

参考文献:

1. H. Luo, Y. Qian, J. Qi, X. Liu, *J Chromatogr B*, **2022**, 1195, 123203.
2. X. Chen, J. Chen, F. Wang, X. Wang, M. Luo, X. Ji, Z.K. He, *Biosens. Bioelectron.*, **2012**, 35, 363-368.
3. A. W. Martinez, S. T. Phillips, M. J. Butte, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 1318-1320.

DLLM-HPLC 测定食用植物油中的对羟基肉桂酸和橙皮素

王梦伟, 龚灿, 许旭*

上海应用技术大学 化学与环境工程学院, 上海, 201418

通讯联系人 E-mail: xuxu3426@sina.com

建立一种分散液液微萃取 (DLLM)-高效液相色谱检测方法, 同时测定食用植物油中的对羟基肉桂酸和橙皮素两种酚类物质。样品以正己烷为分散剂, 水(5%氨水, 10%乙腈)为萃取剂进行前处理后, 以水(0.3%三氟乙酸)-乙腈为流动相梯度洗脱, 温度25°C, 流速1 mL/min, 紫外波长280 nm下检测。结果 样品提取过程的方法精密度 (峰面积RSD) 均小于3%, 对羟基肉桂酸 (0.1 - 1.0 $\mu\text{g/g}$) 和橙皮素 (0.02-1.0 $\mu\text{g/g}$) 在各自浓度范围内的线性相关系数均大于0.99。对羟基肉桂酸和橙皮素的回收率为89.5% - 103.7%, RSD为1.2% - 5.7%, 检测限分别为8.7 ng/g和6.2 ng/g。将方法用于8种不同厂家的葵花籽油、大豆油和玉米油的分析。浸出法的产品均未检出这两种成分, 对羟基肉桂酸仅在压榨法(非低温)葵花籽油中测出0.14-0.94 $\mu\text{g/g}$, 橙皮素在这些植物油样品中的含量在0.07 $\mu\text{g/g}$ 以下。该方法前处理简单快速, 精密度好, 适用于食用植物油中两种酚类成分的快速检测。

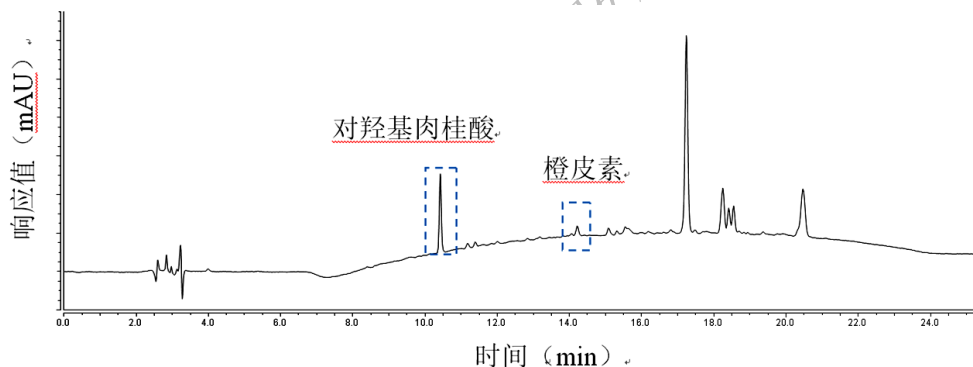


图1 葵花籽油的分离色谱图

致谢: 国家自然科学基金 (31671928)

参考文献: 略

HPLC method for simultaneous determination of free total and low-molecular-mass thiols in serum derivatized with 2,2'-dithiodipyridine

Zhiyu Shao, Jie Zeng, Jun Dong, Wenxiang Chen, Zhaoyang Liu, Siming Wang*

The Key Laboratory of Geriatrics, Beijing Institute of Geriatrics, Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing Hospital/National Center of Gerontology of National Health Commission, NO.1 Da Hua Road, Dong Dan, Beijing 100730, P.R.China.

Email: wangsiming4446@bjhmoh.cn

Objective: Thiols are a class of non-aromatic organic compounds that contain sulfhydryl functional groups. Human serum thiols are composed of protein thiols and low-molecular-mass thiols. Low-molecular-mass thiols consist of cysteine, homocysteine, glutathione, cysteinylglycine and γ -glutamylcysteine. Several clinical studies suggest that serum total and free thiol levels are significantly and negatively correlated with the severity of coronary artery disease.¹The reduced free thiol levels may be used as a potential and independent predictor of coronary artery disease.² Therefore, we developed a rapid, simple and precise high performance liquid chromatography (HPLC) method to detect serum free thiol levels.

Methods: The method is based on derivatization of analytes with 2,2'-dithiodipyridine (DTDP), followed by reversed-phase HPLC quantification with ultraviolet detector at 280 nm. The sample preparation step was optimized to achieve an optimal DTDP concentration of 20 mmol L⁻¹ for serum reaction. Phosphate buffer with pH 7.0 was selected. Derivatization reaction was incubated for 10 min at room temperature. Zinc sulfate and methanol was used as a precipitant to precipitate proteins in serum. Aliquots of 50 μ l of the supernatant was chromatographically separated on an Agilent Eclipse XDB-C18 column (5 μ m, 4.6 \times 150 mm) at 20 °C with a flow rate of 1 mL min⁻¹. Mobile phase A is 0.1% formic acid in water, and mobile phase B is 0.1% formic acid in acetonitrile (A:B = 92:8, v/v).

Results: Six chromatographic peaks were separated well and detected within 12min, representing 2-thiopyridone, cysteine-2-thiopyridone, homocysteine-2-thiopyridone, glutathione-2-thiopyridone, cysteinylglycine-2-thiopyridone, and γ -glutamylcysteine-2-thiopyridone, respectively. Among them, 2-thiopyridone reflects the total free thiol level in serum, and five thiol-2-thiopyridones reflect their respective corresponding free low-molecular-mass thiol levels. Intra-assay coefficients of variation was less than 1.5%. The calibration curve was linear in the range of 0.25-4 mmol L⁻¹ with correlation coefficient more than 0.999. Our method could achieve direct ultraviolet detection of five low-molecular-mass thiols without complex reaction conditions.

Conclusion: A rapid, convenient and precise HPLC method was developed for detection of human serum free thiols. With short analytical time and simple operation, this method can simultaneously detect free total thiol levels and free low-molecular-mass thiol levels in serum, and can be applied to further analyze the relationship between serum thiol levels and coronary heart disease.

Key words: Thiols; Coronary heart disease; High performance liquid chromatography.

References:

1. Altıparmak IH, Erkus ME, Sezen H, et al. *Kardiol Pol*, **2016**, 74, 1346-1353.
2. Abdulle AE, Bourgonje AR, Kieneker LM, et al. *BMC Med*, **2020**, 18, 130.

This work was supported by National High Level Hospital Clinical Research Funding (No. BJ-2022-125), Beijing Hospital Nova Project (No. BJ-2020-085), National Natural Science Foundation of China (No. 81501842), Beijing Natural Science Foundation (No. 7182145), and National Key R&D Program of China (No. 2021YFE0114200).

Determination of Phosphatidylethanol in Human Blood as a Biomarker for Alcohol Intake by Scheduled-MRM Tandem Mass Spectrometry

Zhaoyang Liu, Jun Dong, Zhiyu Shao, Siming Wang*

The Key Laboratory of Geriatrics, Beijing Institute of Geriatrics, Institute of Geriatric Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing Hospital/National Center of Gerontology of National Health Commission, NO.1 Da Hua Road, Dong Dan, Beijing 100730, P.R.China.

Email: wangsiming4446@bjhmoh.cn

Objective: Phosphatidylethanol (PEth) are a group of biological markers of alcohol intake with potential clinical applications. In this study, we developed a method for the simultaneous determination of PEth in human whole blood samples by scheduled time-zone MRM tandem mass spectrometry acquisition technology.

Methods: The methanol/methyl tert-butyl ether/water was used as the extraction system. A Waters XBridge C18 column (100×2.1 mm, 3.5 μm) was selected for gradient elution with 2.5 mmol/L ammonium acetate isopropanol solution and 2.5 mmol/L ammonium acetate aqueous solution/acetonitrile (v:v, 50:50) as the mobile phases in a ratio of 6:4. Negative electronic spray ionization in Scheduled-MRM mode was applied for the MS/MS detection, which could segment the signal acquisition cycle properly, select the exclusive open time for different ion channels, and implement different ions on the dynamic scanning.

Results: The method verifies that a linear correlation coefficient greater than 0.999 (0.9990-0.9999), with linear ranges of 10-2500 ng/mL. The limits of detection and quantification were 0.66-2.81 ng/mL and 2.19-9.38 ng/mL, respectively. The spiked recoveries ranged from 91.0% to 102.2% with intra-batch precision and total precision between 0.4% and 7.4%. This method used an intelligent split-time acquisition method to assign appropriate scan intervals to each ion channel, increasing the effective acquisition time of each target ion channel and the signal response of each target analyte. Whole blood samples from 598 volunteers with regular drinking habits were analyzed using this method. Total PEth concentrations ranged from 51.13 ng/mL to 2.89 μg/mL with an average of 363.16 ng/mL. Meanwhile PEth16:0/18:1, 16:0/18:2, 18:0/18:2, 18:0/18:1, 18:0/20:4, 16:0/20:4, 16:0/16:0, these six homologs accounted for more than 76% of the total PEth levels, which can effectively reflect the total PEth concentration of the samples.

Conclusion: The proposed method can be used for the determination of samples from the population and can accurately reflect the distribution of PEth homologs and alcohol intake status, which is expected to provide a new and more objective technical tool for clinical monitoring of alcohol intake and evaluation of intervention effects.

KEY WORDS: Drink; Ethanol; Biomarker; Phosphatidylethanol; Scheduled-MRM

This work was supported by National High Level Hospital Clinical Research Funding (No. BJ-2022-125), Beijing Hospital Nova Project (No. BJ-2020-085), National Natural Science Foundation of China (No. 81501842), Beijing Natural Science Foundation (No. 7182145), and National Key R&D Program of China (No. 2021YFE0114200).

NiCo-LDH@PSs 复合纳米材料的 SPME 纤维对多环芳烃的超级捕获

张婕, 马媛, 张震, 黄鹏飞, 张新中, 陈军, 刘经纬, 范琳, 王雪梅*

高原交汇区水资源安全与水环境保护教育部重点实验室, 兰州, 730070

甘肃省生物电化学与环境分析重点实验室, 兰州, 730070

西北师范大学化学化工学院, 兰州, 730070

E-mail: wangxuemei@nwnu.edu.cn

多环芳烃 (PAHs) 是一类普遍存在于环境中具有较高毒性的有机污染物, 主要是如煤、石油、汽油和木材等不完全燃烧时产生的^[1]。大部分的PAHs具有致癌、致畸、致突变的“三致”效应, 对生态环境和人类健康构成了严重威胁^[2]。因此建立PAHs的分析方法至关重要。目前, PAHs的检测方法主要有高效液相色谱法 (HPLC) 和气相色谱-串联质谱法 (GC-MS/MS) 等。因环境样品形态多样, 基质复杂, 种类繁多, 浓度水平低, 样品前处理是必不可少的步骤。在诸多样品前处理技术中, 固相微萃取 (SPME) 因具有操作简单、耗时短、所需溶剂少、绿色环保等优点而被广泛应用^[3]。涂层材料的特性对SPME的灵敏性和高吸附性起着重要作用, 因而开发新的SPME涂层材料对实际样品进行高效检测是极其关键的。

中空多壳层结构的复合材料是一种具有高比表面积、丰富活性位点和稳定性良好的优质吸附剂。本工作采用沉淀法和水热法制备了多孔中空核壳结构的纳米材料NiCo-LDH@PSs, 结合硅酮密封胶将其用作固相微萃取 (SPME) 纤维涂层, 建立了NiCo-LDH@PSs-SPME-HPLC-UV法对环境水样中的PAHs快速测定 (如图1)。结果表明, 该材料对PAHs表现出了超级捕获能力, 将其应用到实际水样的高效检测, 证明具有中空核壳结构的NiCo-LDH@PSs作为SPME的复合涂层具有巨大的实际应用潜力。



图 1 NiCo-LDH@PSs 涂层的制备以及测定环境水样中的多环芳烃示意图

参考文献:

1. J M Godinho, J Lawhorn, B E Boyes, *J. Chromatogr. A*, **2020**, 1628, 461432.
2. Y Zhang, L Yuan, S He, H Tao, W Xie, X Zhang, Z Zhu, *Int. J. Env. Res. Pub. He*, **2022**, 19(5), 2790.
3. M Llompart, M Celeiro, C García-Jares, *Trend. Anal. Chem*, **2019**, 112, 1-12.

中空双壳层 $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{C}$ 复合材料作为 SPME 涂层对多环芳烃的高效富集

黄丽霞, 袁娜, 张震, 黄鹏飞, 张新中, 陈军, 刘经纬, 范琳, 王雪梅*

高原交汇区水资源安全与水环境保护教育部重点实验室, 兰州, 730070

甘肃省生物电化学与环境分析重点实验室, 兰州, 730070

西北师范大学化学化工学院, 兰州, 730070

E-mail: wangxuemei@nwnu.edu.cn

多环芳烃 (PAHs) 是指分子结构中包含两个或两个以上芳环的一类有机化合物。由于其具有较高的熔点、沸点以及较低的水溶解性等特性, 很容易在环境中积累和迁移, 给生态系统和人类健康造成威胁^[1]。因此, 建立简便、高效、快速的多环芳烃检测方法迫在眉睫。然而, PAHs 在环境中处于痕量水平, 且存在较多基质干扰, 对实际样品进行前处理是后续进行一起分析的先决条件。固相微萃取 (SPME) 集采样、分离、富集、解析及进样分析于一体, 因操作方便, 耗时短, 所用仪器简单等优点被广泛应用^[2], 其中吸附介质 (材料) 是这类萃取技术的核心。因此开发具有高选择性和富集性强的吸附材料是该技术亟待解决的突出问题。

本实验首先用单宁酸 (TA) 蚀刻 ZIF-67 制备了中空核壳层 ZIF-67 复合材料 (CSH-ZIF-67), 再将其碳化成功设计了中空双壳层 $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{C}$ 复合材料 (DSH- $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{C}$), 将其作为 SPME 纤维的涂层材料, 结合 HPLC 对环境水样中的 7 种 PAHs 进行富集及分析检测。在优化的条件下, 该方法表现出较低的检出限、宽的线性范围、相关系数 (R^2) 均大于 0.9968、良好的重复性 (2.2%-5.9%) 和再现性 (0.61%-7.8%, 纤维对纤维)。该优异的萃取性能主要归因于中空双壳层结构之间的协同效应。与商用 SPME 纤维相比, DSH- $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{C}$ 对 PAHs 表现出高效的富集能力。最后, 将建立的 DSH- $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{C}$ -SPME-HPLC-UV 方法成功应用于实际水样中多种 PAHs 的同时测定。

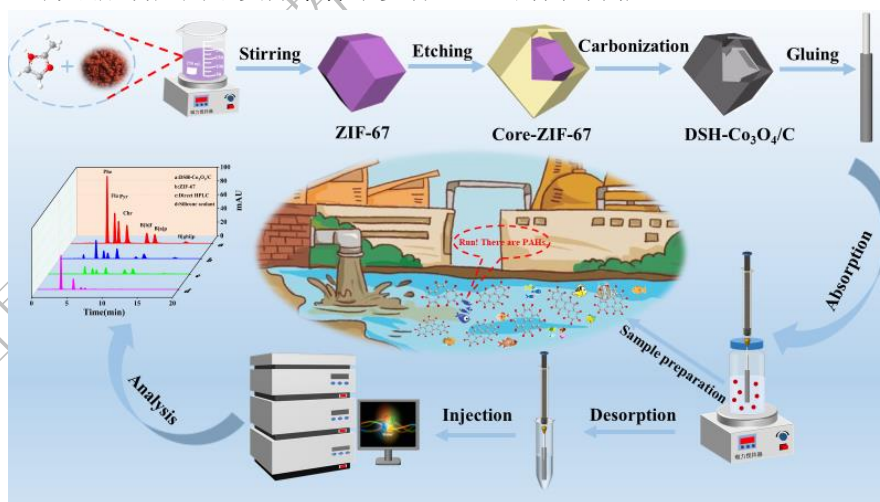


图 1 DSH- $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{C}$ 涂覆的 SPME 纤维对环境样品中七种 PAHs 分析的示意图

参考文献:

1. M. P. Santos, M. D. N. Sanchez, J. L. P. Pavon, B. M. Cordero, *TrAC-Trend. Anal. Chem.*, **2019**, 113, 194-209.
2. N. Naseri, S. Kharrazi, K. Abdi, R. Alizadeh, *Anal. Chim. Acta.*, **2021**, 1183, 338983.

金属氧化物掺杂的 MOF 复合材料用于电化学检测铜离子

马媛, 张震, 张婕, 袁娜, 黄丽霞, 黄鹏飞, 周政, 王雪梅*

高原交汇区水资源安全与水环境保护教育部重点实验室, 兰州, 730070

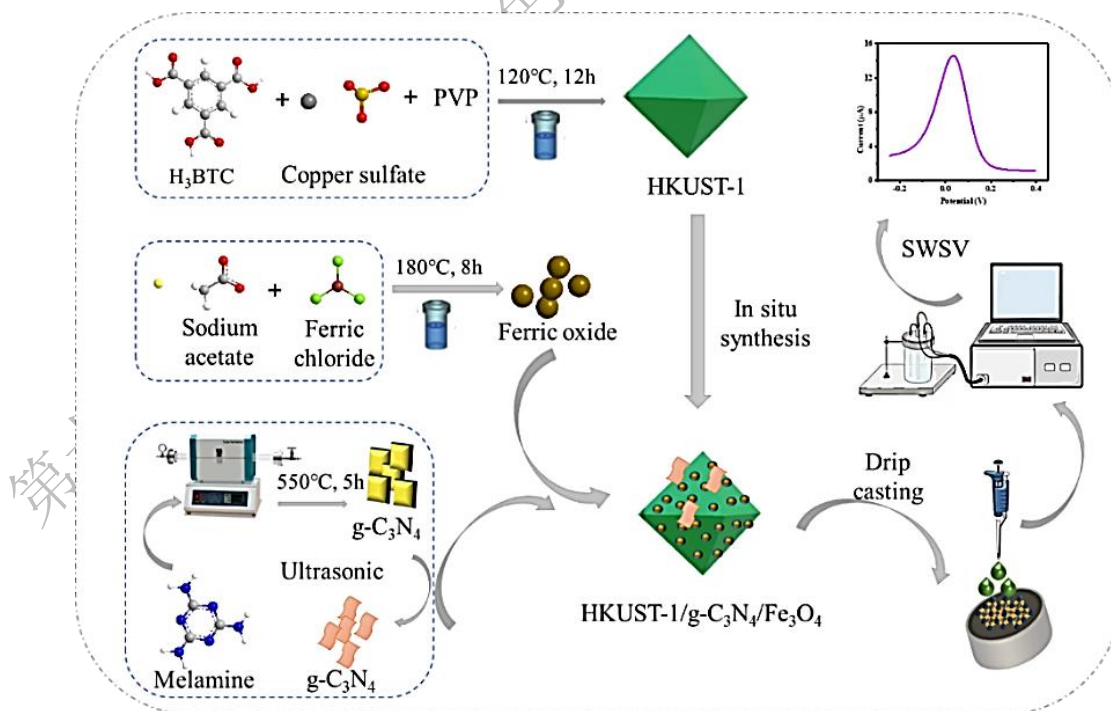
甘肃省生物电化学与环境分析重点实验室, 兰州, 730070

西北师范大学化学化工学院, 兰州, 730070

E-mail: wangxuemei@nwnu.edu.cn

随着全球人口的急剧增长和工业化的加剧, 污染物(如重金属)也随之持续增加, 由于其潜在的毒性、持久性和生态毒理学效应已成为紧迫的世界性难题。分布较广的水资源尤其容易受到污染, 因此对水体中污染物含量的实时监测和检测对人类健康和生态环境具有重要意义, 电化学传感器因其灵敏度高, 操作简单等优势被广泛应用于各类污染物的检测。金属有机框架(MOFs)由于其特有优势常被作为前驱体引入电化学传感器中。目前, 部分金属有机框架改性的电化学传感器虽然已投入使用, 但在稳定性及导电性等方面仍然受到限制, 这严重影响了传感器的电化学性能^[1]。为了弥补该类材料在电化学传感器应用方面的不足, 研究者们通常在其中引入金属、金属氧化物和碳材料^[2]等。

本实验制备了金属有机框架材料 HKUST-1, 并且原位掺杂了四氧化三铁和石墨氮化碳。HKUST-1 具有丰富的孔容与大的比表面积, 增强了对 Cu^{2+} 的吸附作用; 石墨氮化碳改善了稳定性不足的问题; 而 Fe_3O_4 的加入提供了更多活性位点。将此复合材料首次与玻碳电极结合, 构建了电化学传感器, 利用差分脉冲伏安法(DPV)检测环境水样中的铜离子。在最佳检测条件下, 该方法具有良好的线性和较低的检测限, 并且在实际样品的检测中获得了令人满意的回收率, 为高效、快速监测其他污染物和构建新型电化学传感器提供了指导。

图 1 HKUST-1 /g-C₃N₄/ Fe₃O₄/GCE的制备对Cu²⁺的电化学检测

参考文献:

1. H. Huang, Y. Chen, Z. Z. Chen, *J Hazard Mater.* **2021**, 416, 125895.
2. M. X. Lu, Y. J. Deng, Y. Luo, *Anal Chem.* **2019**, 91 (1), 888-895.

1,5-双(己-5-烯-1-氧基)萘杂化整体柱对水样中六种农药的快速萃取

袁娜, 黄丽霞, 张震, 黄鹏飞, 张新中, 陈军, 刘经纬, 范琳, 王雪梅*

高原交汇区水资源安全与水环境保护教育部重点实验室, 兰州, 730070

甘肃省生物电化学与环境分析重点实验室, 兰州, 730070

西北师范大学化学化工学院, 兰州, 730070

E-mail: wangxuemei@nwnu.edu.cn

毛细管整体柱微萃取(MCM)是管内固相微萃取(In tube-SPME)技术的典型代表,它集样品收集、富集、解吸和进样等步骤于一体^[1]。因整体柱材料具有制备简单、渗透性好、传质快和pH稳定性好等优势,在样品预处理领域受到了极大的关注。随着制备技术的逐渐成熟和设备的不断改进,整体柱微萃取技术因其操作简单、有机溶剂用量少、误差范围小、效率高等优点,已被应用于食品检测、天然产物分离、医药卫生等诸多领域,MCM已经成为最具活力的样品预处理技术之一^[2]。然而,在目前已有的报道中,只有少数工作涉及将整体柱材料作为萃取介质从复杂的环境样品中提取痕量待测物^[3],这是由于传统混合整体柱对存在基质干扰的实际样品选择性较低,因此开发具有特异选择性功能单体的整体柱是十分必要的。

本实验通过加热回流法以1,5-二羟基萘和6-溴-1-己烯为原料,碳酸钾作催化剂,成功制备了富含苯环和双键结构的1,5-双(己-5-烯-1-氧基)萘,并以此作为功能单体,甲基丙烯酸缩水甘油酯和乙二醇二甲基丙烯酸酯作为交联剂,偶氮二异丁腈为引发剂,60℃条件下成功制备了1,5-双(己-5-烯-1-氧基)萘杂化整体柱。所获得整体柱的有效长度为4.5cm,由于此整体柱含有丰富的苯环结构,因此被用作MCM的萃取介质,借助丰富的 $\pi-\pi$ 堆积和疏水作用从实际水样中快速萃取六种含有苯环的有机农药并结合高效液相色谱进行分析测定。

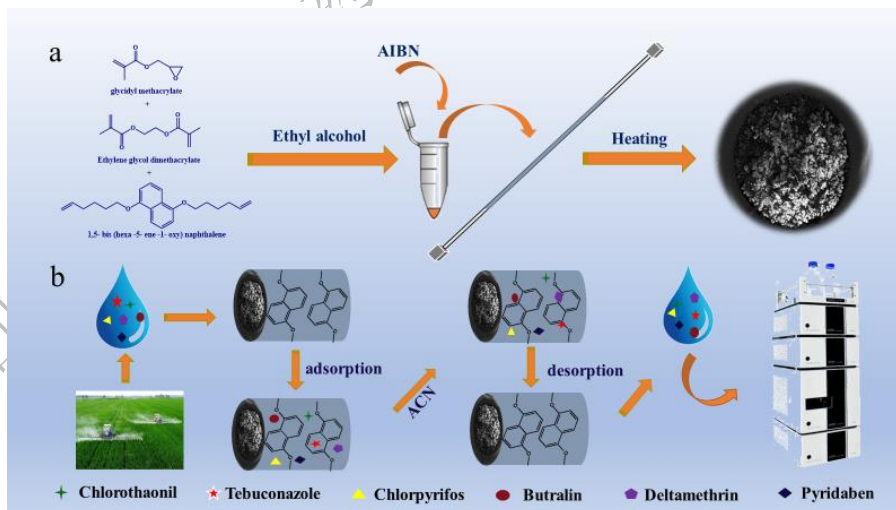


图1 毛细管整体柱微萃取用于水样中六种农药的快速萃取

参考文献:

1. M. Llompарт, M. Celeiro, C. García-Jares, T. Dagnac, *Trends Anal. Chem.*, **2019**, 112, 1-12.
2. N. Reyes-Garcés, E. Gionfriddo, G. A. Gómez-Ríos, M. N. Alam, E. Boyacı, B. Bojko, V. Singh, J. Grandy, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.*, **2018**, 90(1), 302-360.
3. X. L. Liu, M. He, B. B. Chen, B. Hu, *Talanta*, **2019**, 197(15), 334-340.

功能化介孔硅纳米材料的制备及其应用

周铂凯, 金明实*

延边大学, 吉林省延吉市公园路 977 号, 133002

*Email: msjin1231@ybu.edu.cn

外泌体是生物体内各种细胞(包括正常细胞和肿瘤细胞),通过胞吐形式所分泌到体液中的杯状脂质双分子层囊泡,尺寸在30-150nm不等,属于细胞外囊泡中的一种。由于其在细胞内合成导致其会携带供体细胞的mRNA/miRNA、DNA等遗传物质,因此可以起到细胞间信息交流的作用。外泌体的应用领域也越来越广,如作为癌症早期标志物、靶向药物载体等。如何从体液中快速、无损的分离出外泌体是目前所面临的困难,目前传统的分离方法包括超速离心法、免疫亲和法等。其中免疫亲和法通过合成纳米材料作为捕获器并对其表面进行化学修饰连接捕获基因以达到高特异性捕获外泌体的目的。本研究,为实现更高效的外泌体分离,通过利用介孔硅的结构可控,孔道均匀,比表面积大等优点,设计具有碗状结构的介孔硅作为外泌体捕获器。同时通过化学修饰连接链霉亲和素室温下分离细胞上清中的外泌体,并对比相同条件下不同结构基础材料的捕获效率。综上,这种具有特殊碗状结构的介孔硅材料在高效捕获外泌体的研究具有重要意义。

关键词: 外泌体; 介孔硅; 高效捕获

参考文献:

1. S. Zhang, S. Li, W. Zhou, *Chem. Phys.*, **2011**,135:14304.
2. C.Liu, J. Guo, F. Tian, *ACS Nano*, **2020**, 5:2052.

氨基甲酸酯类农药中毒溯源检测的研究进展

吕巧, 张巧利, 刘昌财*, 刘石磊*

国民核生化防护国家重点实验室

通讯联系人 E-mail: liuchangcai@sklnbcpc.cn

Liu_shilei@lacricd.com

氨基甲酸酯类化合物是一类由氨基甲酸衍生的有机化合物, 部分作为农药广泛应用于农业生产中。氨基甲酸酯农药是乙酰胆碱酯酶抑制剂, 可以通过吸入、口服、皮肤或眼部接触等途径暴露, 在体内引起一系列神经性中毒症状。解析氨基甲酸酯体内代谢途径, 寻找中毒生物标志物对于临床救治和法证鉴定具有重要意义。目前用于中毒溯源的生物标志物包括: (1) 血液中胆碱酯酶活性, (2) 血液或尿液中原体、水解和氧化产物, 及其与硫酸盐或葡萄糖醛酸的结合物; (3) 氨基甲酸酯与胆碱酯酶、白蛋白、血红蛋白等蛋白质共价结合形成的蛋白加合物。气相色谱-质谱和液相色谱-质谱联用技术等方法已广泛应用于各种基质中氨基甲酸酯类农药及其代谢物的定性和定量分析, 可以实现氨基甲酸酯农药暴露的溯源检测。本文综述了生物医学样本中氨基甲酸酯农药中毒的生物标志物, 总结了确定中毒类型和剂量的溯源分析方法, 展望了其未来发展趋势。

基于液质联用技术的有毒化学品暴露筛查策略研究进展

梁德莘^{1,2}, 陈博¹, 刘石磊^{1*}

¹ 国民核生化灾害防护国家重点实验室

² 南京理工大学

通讯联系人 E-mail: liu_shilei@lacricd.com

液相色谱质谱联用技术可以实现复杂样品中未知有毒化学品及其加合物的高灵敏度和高特异性的筛查鉴定, 广泛应用于毒剂、药物及工业化学品中毒等法证鉴定筛查工作。根据仪器与筛查目的的不同可分为靶向检测与非靶向检测。早期的靶向检测是利用串联质谱的多反应监测模式, 对已知化合物进行针对性的高灵敏检测, 但该方法检测化合物数量有限, 无法满足未知化合物的筛查鉴定。现阶段的靶向筛查策略在数据采集时不对化合物进行预先设置, 而是基于质谱的全扫描模式, 采集后在总离子流图中根据既定化合物或数据库检索提取目标化合物的 m/z 值, 从而实现可疑目标物的回顾性筛查和结构鉴定, 此类方法不需针对单一目标物建立方法, 筛查范围大, 但需对筛查到的可疑目标物进行进一步鉴定分析。非靶向检测策略可以对样品中目标范围内的化合物进行盲筛, 主要利用三重四极杆质谱的母离子扫描技术及高分辨质谱的数据依赖性产物离子扫描技术, 通过可疑目标物的共性诊断离子反向筛查生成该离子的化合物。目前主要的非靶向筛查技术包括: 数据处理过滤技术和保留时间校准技术、海量化合物数据库的建立和使用等。非靶向检测具有通用性强, 筛查快速等优点, 但存在灵敏度低、基质干扰大、化合物结构鉴定困难等不足。建立高通量及高灵敏度的筛查方法对未知有毒化学品暴露的筛查和法证鉴定具有重要意义。

第十四届全国生物医药色谱质谱学术交流会

COF 表面自组装整体柱管内固相微萃取苯二氮卓类药物研究

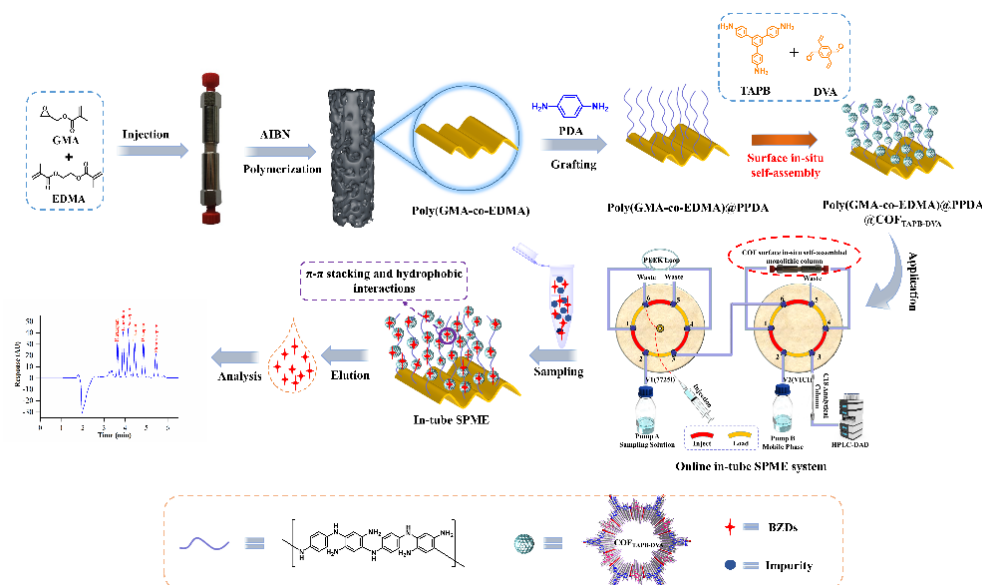
孙健, 郑哲珩, 王家斌*

福州大学生物科学与工程学院

通讯联系人 E-mail: jbwang@fzu.edu.cn

针对现有的共价有机框架 (COF) 功能化整体柱存在的 COF 表面覆盖率低的问题, 本工作创造性地提出了一种“表面原位自组装”策略, 实现了 COF 微球在整体柱表面的高覆盖。首先将聚对苯二胺 (PPDA) 纤维接枝到聚(甲基丙烯酸缩水甘油酯-共-乙二醇二甲基丙烯酸酯) (poly(GMA-co-EDMA)) 基质整体柱的表面, 然后巧妙地利用 PPDA 纤维表面的大量氨基作为 COF 自组装的锚定位点, 使 COF 微球原位生长在整体柱表面, 得到了一种表面高覆盖的 COF 表面自组装整体柱 (poly(GMA-co-EDMA)@PPDA@COF_{TAPB-DVA}), 并通过对制备的整体柱进行详细的表征考察了 COF 在整体柱表面的覆盖情况。

得益于所制备的整体柱与苯二氮卓类药物 (BZDs) 之间的疏水和 π - π 堆积作用, 将所得的整体柱作为管内固相微萃取 (in-tube SPME) 吸附剂, 建立 in-tube SPME-HPLC-DAD 在线联用系统, 通过优化 SPME 的操作参数 (即吸附剂的类型、上样相 ACN 含量和三氟乙酸含量、洗脱体积、上样和洗脱流速), 该方法在较宽的线性范围内 (5~300 ng/mL) 显示出优越的灵敏度 (LODs \leq 2 ng/mL), 对唾液样品中的 BZDs 具有良好的回收率 (81.4% ~ 98.0%), 并实现了唾液以及饮料样品中的 6 种苯二氮卓类管制药物 (硝西泮、艾司唑仑、奥沙西泮、三唑仑、地西泮、氟硝西泮) 的高效富集与高灵敏检测。本工作为 COF 功能化整体柱的制备提供了一种新思路, 并为生物分析和样品前处理领域提供了一种新型的、具有广阔应用前景的整体吸附剂。



关键词: 整体柱; 共价有机框架; 表面原位自组装; 管内固相微萃取; 苯二氮卓类药物
主要参考文献

[1] H. Wang, Z. Li, W. Feng, et al., *New J. Chem.*, 2017, 41(21), 13043-13050.

[2] R. Wang, T. Wan, W. Li, et al., *Talanta*, 2021, 226, 122098.

致谢 感谢国家自然科学基金项目 (No. 31771893), 福建省科技厅引导性项目 (No. 2020Y0017) 对本课题研究的资助。

葡萄籽油生产工艺的研究

Ming Bai, Ting Zhou, Jianlong Ma*

Ningxia University, Yinchuan 750021, P. R. China

E-mail: nks008@163.com

Grape seed is the main component of the residue of winemaking industry, and the grape seed oil extracted from it contains a large amount of unsaturated fatty acids, and also contains trace active substances such as vitamin E and phytosterols, which has high utilization value. In this paper, the pilot-scale extraction and refining of grape seed oil were carried out, and the influence of the pilot-scale refining process on the content of trace components was studied. The main research contents are as follows:

The supercritical CO₂ fluid extraction method was used to extract grape seed oil from the red grape seeds provided by Ningxia Huangkou Winery Co., Ltd. The level of each factor was optimized by single factor experiment, and the optimal experimental results were obtained by orthogonal design experiment. The optimal experimental scheme was obtained as extraction pressure 28 MPa, extraction temperature 45 °C, CO₂ flow rate 700 L/h, extraction time 150 min, and the extraction yield was 9.93%.

The grape seed oil is refined and processed in pilot scale. Through the scale-up experiment of the best refining process in the laboratory, the scale-up results are different from the laboratory test results. The degumming rate, deacidification rate and decolorization rate were 21.30%, 40.95% and 84.89%, respectively. The quality changes of grape seed oil in the refining process were studied, and the sensory quality and physicochemical properties of the oil at each stage were determined. The results showed that the quality of refined grape seed oil was improved, the color changed from yellow-green to yellow and the acid value (KOH) decreased from 4.83 mg/g to 3.79 mg/g; physical and chemical indicators such as iodine value, peroxide value and saponification value all meet national standards for edible oil.

The grape seed essential oil was deodorized by EM bacteria. A total of 23 volatile substances were detected in the deodorized grape seed essential oil. The study found that the synergistic effect of the bacterial liquid could effectively enhance the pleasant smell of the grape seed essential oil.

Key words: grape seed oil; supercritical CO₂ extraction; refining process;

References:

1. 郭国强. 脱色剂预混油脂脱色工艺的研究与应用[J]. 价值工程, 2016, 35(03): 109-110.
2. Li H, Fu X, Deng G, et al. Extraction of oil from grape seeds (*Vitis vinifera* L.) using recyclable CO₂-expanded ethanol[J]. Chemical Engineering and Processing - Process Intensification, 2020, 157: 108147.
3. 李遥, 唐顺之, 蔡鸿飞, 等. 氧化铝用于油脂脱酸工艺研究[J]. 广东化工, 2021, 48(12): 33-34.

Extraction of the effective ingredients of fenugreek

Yawen Liu, Jianlong Ma*

Ningxia University, Yinchuan 750021, P. R. China

E-mail: nks008@163.com

Fenugreek is an annual herbaceous plant of the genus Fenugreek. Its seeds, stems, and leaves contain various active ingredients such as alkaloids, saponins, polysaccharides, volatile oils, flavonoids, and terpenoids. Its extracts and chemical components have various pharmacological activities such as hyperglycemic, hypolipidemic, anti-tumor, antioxidant, and so on.

In this article, trigonelline, dioscin and 4-hydroxyisoleucine in fenugreek leaves were extracted by heating reflux method and extraction method, and after extraction, macroporous adsorption resin was used for purification. We used n-Propanol: methanol: water = 4:1:4 was used as the developing agent for thin layer chromatography detection, and each concentrated solution after purification and elution was detected by ultraviolet, and finally used high performance liquid chromatography (column: VP-ODS mobile phase: acetonitrile: methanol=75:25 flow rate: 1ml/min) was used for detection and analysis. The detection results showed that the sample had a clear absorption peak at 254nm in the chromatography, and the retention time measured according to the standard solution was basically consistent with the extracted sample. In order to determine whether it was the measured substance, the added solution was also determined, and its concentration was significantly increased, which could be basically determined as the required substance, but because the extract content was too low, the conventional method could not detect it.

References:

1. 张肖冲, 李明慧, 高岩, 宋鑫, 徐阳, 孙海明, 赵桂云. 薯蓣皂苷元提取方法及研究进展[J]. 吉林农业, 2018(07):68-69.
2. Umesh C.S. Yadav & Najma Z. Baquer (2014) Pharmacological effects of *Trigonella foenum-graecum* L. in health and disease, *Pharmaceutical Biology*, 52:2, 243-254
3. Steels, E.; Steele, M. L.; Harold, M.; Coulson, S., Efficacy of a Proprietary *Trigonella foenum-graecum* L. De-Husked Seed Extract in Reducing Menopausal Symptoms in Otherwise Healthy Women: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Phytother Res* 2017, 31 (9), 1316-1322.

氮芥类毒剂染毒植物样品溯源分析方法研究

张芮乾, 邢中方, 于惠兰*, 刘石磊*

国民核生化灾害防护国家重点实验室

通讯联系人 E-mail: 1254629386@qq.com

氮芥 (HN1、HN2、HN3) 与芥子气 (HD) 化学性质相似, 动物体染毒后会造成 DNA 损伤、肺部、眼睛和皮肤损伤等^{1,2}, 已被世界卫生组织国际癌症研究机构列入 II A 类致癌物清单, 氮芥还是禁化武组织禁控的有毒化学品。尽管氮芥可以用于化学武器, 但到目前还没将其用作化学武器使用的记录³, 但由于其高毒性, 有可能应用新技术改变其使用途径, 同时氮芥作为重要的医药中间体化合物, 广泛应用于药品的工业生产中, 其泄漏事故常有报道。植物因其来源丰富、取材方便和样品处理相对简单并可作为有毒化学品暴露的哨兵物种, 近年来引起了禁化武组织 (OPCW) 的高度关注, 植物染毒标志物有望成为有毒化学品暴露的一种新颖、实用的生物标志物。本研究以烟草为模式植物, 对烟草进行染毒实验, 成功筛查出多种氮芥-小分子、大分子加合物, 同时对部分加合物进行全合成, 成功建立了该加合物的定性定量分析方法, 并将该方法应用到多种植物染毒实验中, 均成功检测出染毒后该加合物的存在, 说明该方法具有一定的普适性, 该加合物可成为潜在的植物氮芥暴露标志物, 为反恐怖化学检测鉴定和工业化学品泄漏监测与溯源提供新思路 and 参考。

参考文献:

1. 丁小平, 宋世良. *中华劳动卫生职业病杂志*, **2004**, 2, 78-79.
2. 奉水东, 李华文. *中国公共卫生*, **2005**, 4, 25-27.
3. Hamzah N, Kjellberg M, Vanninen P. *Journal of Chromatography B*, **2021**, 1176, 122762.

烷基磷酸酯类化合物的高通量检测方法研究

瞿港, 赵宇新, 杨旸*, 刘石磊*

国民核生化灾害防护国家重点实验室

通讯联系人 E-mail: ricdyihui@163.com, Liu_shilei@lacricd.com

有机磷神经性毒剂 (OPNAs) 作为一类毒剂极强的化学战剂, 通过与乙酰胆碱酯酶形成不可逆的共价键, 抑制乙酰胆碱的水解活性, 造成人体中枢和外周胆碱能神经系统功能的严重紊乱。当 OPNAs 暴露于环境后, 会快速水解生成甲基磷酸酯类化合物 (MPs), 成为 OPNAs 的环境溯源暴露标志物。因此, 基于暴露环境中 MPs 的快速检测与溯源性分析, 对突发事件处理、暴露环境修复与受伤人员诊治具有重大现实意义^[1-3]。开发了适用于环境中 MPs 的磁性 QuEChERS (M-QuEChERS) 方法, 与 DART-MS/MS 技术联用, 构建了环境基质中 MPs 的 M-QuEChERS-DART-MS/MS 高通量检测方法。利用磁性介孔材料的分离性能好、净化性能强的特点, 以及操作过程中无需仪器配套使用等优点^[3, 4], 以 Fe₃O₄ 为核心设计合成了 SiO₂ 包覆的新型材料 Fe₃O₄@nSiO₂@mSiO₂, 比表面积为 549 m²/g, 磁化强度为 59.6 emu/g^[4]。将此类型材料应用于复杂环境基质中 MPs 的净化, 方法的 LODs 与 LOQs 分别为 2.50-5.00 ng/mL 与 10.0-20.0 ng/mL, 提取回收率为 70.2%-103%, RSD 为 1.97-10.6%, 20 min 内可完成 70 个样品的制备与检测。以河水基质中 MPs 为研究对象, 比较了其与传统液相色谱-质谱技术灵敏度与检测时效的差异, 两者相比, DART-MS/MS 技术的 LODs 与 LOQs 无明显差异, 单个样品检测时间则从之前的 30 min 缩减至 12 s, 极大的提高了检测效率, 将该方法应用于国际禁止化学武器组织环境样品水平考试样品基质中 MPs 的加标实验检测中 (加标浓度为 50.0 ng/mL), 方法准确度为 95.2-116%, RSD 为 1.16-7.83%, 证明了该方法的稳定性与可靠性, 能适用于环境中 MPs 的高通量分析。

参考文献:

1. Hulse E J, Haslam J D, Emmett S R. *Brit J Anaesth*, **2019**, 123(4): 457-463.
2. Mcghee S, Finnegan A, Angus N. *Emergency nurse*, **2022**, 30(4): 27-31.
3. Pagliano E. *Anal. Bioanal. Chem*, **2020**, 412(9): 1963-1971.
4. Otsuka M, Tsuge K, Seto Y. *J Chromatogr A*, **2018**, 1577: 31-37.

基于铈基纳米材料的荧光/比色双通道传感器用于维生素 C 的高灵敏检测

王海燕*, 李广豪, 刘一凡, 廖琪

长沙学院, 长沙, 邮编 410022

通讯联系人 E-mail: wanghaiyan@ccsu.edu.cn

纳米酶是一种具有类酶催化特征的纳米材料, 它可以通过自身的催化活性实现模拟酶的仿生催化功能, 具有催化性能稳定、价格低廉等优点^[1,2]。然而, 目前许多纳米酶的合成存在制备过程复杂、制备条件苛刻、耗时长等问题^[3]。本论文以三磷酸腺苷(ATP)和 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 为前驱体, 采用水浴法, 在常温常压下, 制备得到铈基纳米材料(Ce NPs)。在pH为6.0的条件下, 所制备的纳米材料具有类过氧化氢酶催化活性。当体系中不存在维生素C(VC)时, Ce NPs能催化 H_2O_2 氧化OPD生成邻苯二醌(OPDox), 该物质在紫外可见光谱(UV-vis)图中440 nm处出现一个新的特征吸收峰^[4]。与此同时, OPDox在荧光光谱图中565 nm处具有荧光发射峰。当体系中存在AA时, Ce NPs能催化 H_2O_2 优先氧化VC生成脱氢型维生素C(DHVC), 而被氧化的OPD减少, 使得OPDox的吸光度值和荧光强度下降。与此同时, 由于DHVC与OPD反应生成喹啉^[5], 其在荧光光谱图中430 nm处具有荧光信号, 且随着VC的浓度不断增加, 喹啉在340 nm处吸光度值不断增大及其荧光强度不断增强, 而OPDox的吸光度值和荧光强度不断减小。因此, 基于Ce NPs的类酶催化性能, 构建了荧光和比色传感器用于VC的检测。在最优条件下, 荧光和比色传感器的检测限分别为8 μM 和6.8 μM 。该传感器具有良好的重现性、稳定性和选择性, 且可用于药片中的维生素C的高灵敏检测。

关键词: 纳米酶, 铈基纳米材料, 类过氧化氢酶, 双信号传感器, 维生素 C

资助项目: 本研究受国家自然科学基金(21964006)、湖南省教育厅科研基金(22B0835)、长沙市自然科学基金(kq2208426)、长沙市科技规划项目(kq2203003)和长沙学院人才引进项目(SF1954)的资助。

参考文献:

1. Dhara K, Debiprosad R M. Review on nanomaterials-enabled electrochemical sensors for ascorbic acid detection. *Anal. Biochem.*, 2019, 586(02): 113-115.
2. Wang B, He J, Liu F, et al. Rapid synthesis of $\text{Cu}_2\text{O}/\text{CuO}/\text{rGO}$ with enhanced sensitivity for ascorbic acid biosensing[J]. *J. Alloy. Compd.*, 2017, 693(03): 902-908.
3. 朱峰, 王静, 刘林海, 陈宗保. 石墨烯-二氧化锰-离子液体修饰玻碳电极同时测定尿液中尿酸、抗坏血酸、黄嘌呤[J]. *分析试验室*, 2020, 39(06): 640-644.
4. 武文波, 张越诚, 李承佳, 马红燕, 杨晓军. 碳量子点/曙红 Y 比率型荧光探针测定 L-抗坏血酸[J]. *发光学报*, 2020, 41(03):331-338.
5. Ruiz B G, Roux S, Courtois F, et al. Spectrophotometric method for fast quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in simple matrix for kinetics measurements. *Food Chem.*, 2016, 211(6): 583-589.

玉米醇溶蛋白新型色谱固定相的制备及应用研究

沈清^{1,2}, 邵士俊¹, 董树清^{1,*}

¹中国科学院兰州化学物理研究所 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室/甘肃省天然药物重点实验室, 中国甘肃兰州天水中路 18 号, 730000

²中国科学院大学研究生院, 中国北京石景山区玉泉路 19 号 (甲), 100049

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

高效液相色谱法是目前最为常用的分离分析手段之一, 开发新型高效色谱固定相材料对分离分析的发展具有重要作用。目前已开发了以硅胶、氧化铝、聚合物等为基质的多种色谱填料, 其中硅胶基质具有良好的机械性能, 且可通过化学键合和改性制备出满足多种分离分析需求的理想色谱填料。玉米醇溶蛋白 (Zein) 具有优异的自组装性、生物相容性和可降解性^{1,2}, 目前已在食品领域得到广泛应用, 主要用于食品包装材料和可食用载体等。此外, Zein 在药物递送系统和生物组织支架的设计中也发挥着重要作用, 大量研究已经证明了 Zein 在口服给药和控制释放水溶性药物方面的作用和前景。随着醇溶蛋白的广泛应用, Zein 在吸附/萃取、传感和电化学分析方面的研究也日新月异。作为玉米中的主要贮藏蛋白质, Zein 富含亮氨酸、丙氨酸和脯氨酸等疏水氨基酸³, 具有独特的溶解性, 可以溶于体积分数为 60%-95% 的醇水溶液中。借助其特殊的溶解性能和蛋白特性, Zein 已被逐步分离分析领域。由于 Zein 表面存在大量氨基酸残基的活性位点, 经过交联、糖基化、酰化改性等化学修饰, 可制备出一系列不同的玉米醇溶蛋白复合材料固定相, 由此显示出亲水、疏水、离子交换等多种不同的保留机制, 有效提高对复杂样品的分离选择性。本研究通过物理涂覆法和化学交联法, 制备了 Zein@SiO₂ 和 PEI-Zein@SiO₂ 等系列核壳型微球固定相, 实现核苷碱基等亲水化合物和烷基苯等疏水化合物的有效分离, 并通过优化和考察不同的分离测试条件研究其色谱性能, 阐明分离机制。

参考文献:

- (1) Yu, X.; Afreen, S.; Kong, Q.; Wang, J. *Langmuir*. **2020**, 36, 11975-11984.
- (2) El-Rashidy, A. A.; Waly, G.; Gad, A.; Roether, J. A.; Hum, J.; Yang, Y.; Detsch, R.; Hashem, A. A.; Sami, I.; Goldmann, W. H.; Boccaccini, A. R. *Biomedical Materials*. **2018**, 13, 065006.
- (3) Patel, A. R. *Advanced Functional Materials*. **2018**, 30, 1806809.

基于毛细管电泳单分子荧光成像系统的蛋白质-DNA 复合物检测

凌晓婷, 章大鹏, 赵强, 汪海林*

中国科学院生态环境研究中心

通讯联系人 E-mail: : hlwang@rcees.ac.cn

亲和毛细管电泳具有分离效率高、分析时间快速、样品消耗小、操作简单等优势,能在生理条件下研究生物大分子如蛋白质和DNA之间的相互作用并进行多参数表征[1-4]。部分蛋白质与DNA在生理条件下可自发产生聚集,为细胞提供重要的生理功能。通过亲和毛细管电泳-激光诱导荧光偏振技术,不仅能够快速、灵敏地区分蛋白质-DNA复合物和游离的蛋白质或DNA,还能够进行多参数分析,包括柱效,结合常数,解离速率常数,偏振值[3],结合计量比,扩散系数等。通过基于方形毛细管的毛细管电泳单分子荧光成像系统[5],能够分离、检测并成像单个蛋白质-DNA复合物,是研究蛋白质-DNA之间的相互作用重要的分析技术。此外,毛细管涂层的修饰可以减少样品的非特异性吸附[6];在样品中加入适量的甘油、聚乙醇等有机渗透剂[7]不仅可以增强蛋白质-DNA的结合亲和力,还可以降低复合物的解离速率,增强复合物的稳定性。

参考文献:

1. H L Wang, M L Lu, M S Tang, et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, **2009**, 106, 12849.
2. D P Zhang, M L Lu, H L Wang, *J Am Chem Soc*, **2011**, 33, 9188.
3. B L. Zhao, D P Zhang, C M Li, et al., *Cell Discov*, **2017**, 3, 16053.
4. F Z Yu, D P Zhang, C B Zhao, et al, *Nucleic Acids Res*, **2023**, 51, 2270-2283.
5. S Q Liu, B L Zhao, D P Zhang, et al., *J Am Chem Soc*, **2013**, 135, 4644-4647.
6. Z Yuan, P Xu, F Z Yu, et al., *Anal Methods*, **2020**, 12, 5833.
7. T Li, H L Wang, *Anal Chem*, **2009**, 81, 1988-1995.

聚合物刷修饰聚合物微球的合成及其对生物碱吸附分离研究

刘宝乾 裴栋 邸多隆*

中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室和甘肃省天然药物重点实验室

中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州 730000

通讯联系人 E-mail: dldi@licp.cs.cn

物碱是一类天然化合物, 在自然界广泛存在, 来源于植物、动物、细菌和真菌等, 具有镇痛、抗菌消炎、降糖、抗病毒、抗肿瘤等功效¹。因此, 生物碱的分离纯化具有重要意义。聚苯乙烯微球是一类不含交换基团, 且具有大量孔道结构的树脂, 主要以苯乙烯和二乙烯基苯为骨架。由于聚苯乙烯微球具有可控的孔径以及巨大的比表面积, 并且吸附效率高、易操作、低消耗、长寿命、容易回收等特点, 现在已经广泛的应用于生物碱的分离纯化。然而, 聚苯乙烯微球具有疏水性, 其吸附选择性及吸附量较差, 因此设计合成对生物碱具有较高吸附量及选择性的聚苯乙烯微球具有重要意义。

为了增大吸附量及选择性, 利用表面原子转移自由基聚合法将丙烯酸钠聚合物刷引入到聚苯乙烯微球表面(合成路线见图 1)。同时选择小檗碱(Berberine)、茶碱(Theophylline)、褪黑素(Melatonin)、甜菜碱(Betaine)和阿托品(Atropine)作为目标化合物(图 2), 研究生物碱在聚合物刷修饰的聚苯乙烯微球上吸附性能。

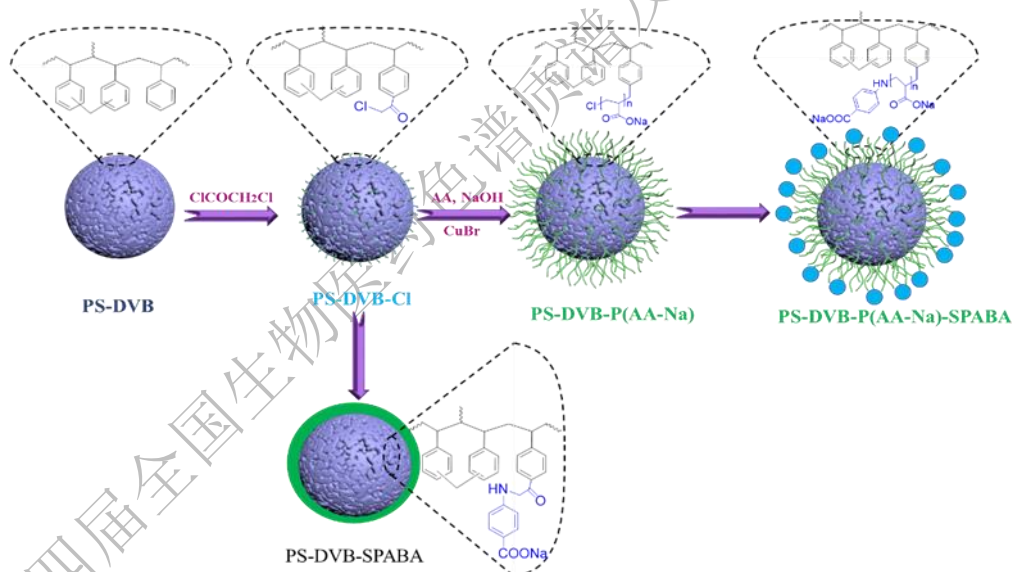


图 1 丙烯酸钠聚合物刷的合成示意图

Figure 1 Synthesis of sodium acrylate polymer brush

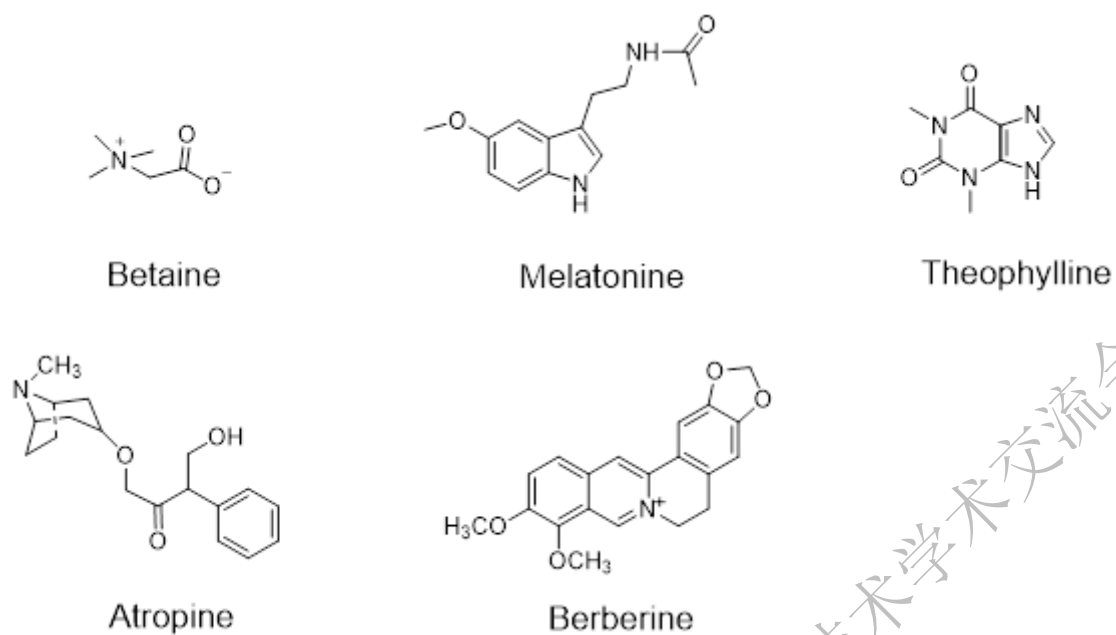


图2 五种生物碱的结构式

Figure 2 Chemical structure of five alkaloids

参考文献:

1. GONZÁLEZ-RUIZ V, GONZÁLEZ-CUEVAS Y, ARUNACHALAM S, et al. Fluorescence properties of the anti-tumour alkaloid luotonin A and new synthetic analogues: pH modulation as an approach to their fluorimetric quantitation in biological samples[J]. Journal of Luminescence, 2012, 132 (9): 2468-2475.

以二维硼纳米片为基质和选择性吸附剂的邻二醇类化合物的 SALDI-TOF MS 检测方法

秦世江, 李放, 罗尧, 郑国灿*

重庆大学 分析测试中心, 重庆, 401331

通讯联系人 E-mail: gczheng@cqu.edu.cn

表面辅助激光解吸/电离飞行时间质谱 (SALDI-TOF MS) 是检测低质量分子的有效方法。本文通过热氧化蚀刻耦合液体剥离技术制备了二维硼纳米片 (2DBs), 并将其用作 SALDI-TOF MS 检测顺式二醇化合物的基质和选择性吸附剂。2DBs 的纳米结构和硼酸活性位点使其在顺式二醇化合物检测中具有优异的选择性和低背景干扰。以葡萄糖、阿拉伯糖和乳糖为模型分析物, 通过 SALDI-TOF MS 研究了 2DBs 作为基质的特异性原位富集能力。在 100 倍以上干扰物质的存在下, 2DBs 对顺式二醇化合物表现出高选择性, 并且通过富集处理表现出比氧化石墨烯基质更好的灵敏度和更低的检测极限, 检出限达 1nM/L。该方法还被进一步用于牛奶样品中乳糖的富集和检测。

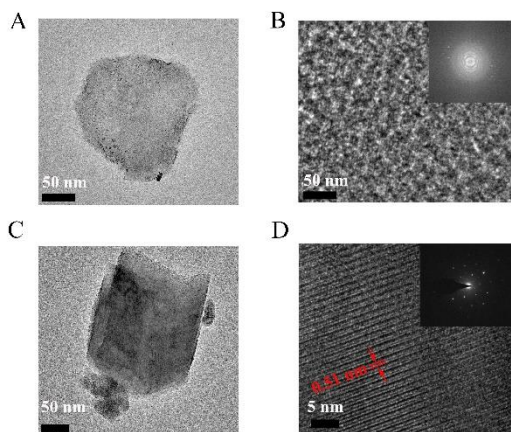


图 1 硼材料 TEM 和 SAED 图 (A,B:硼粉;C,D:2DBs)

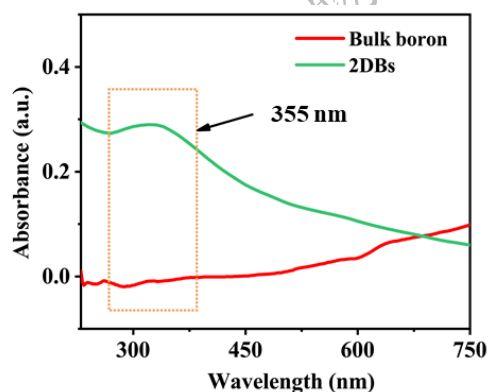


图 2 硼材料 UV 吸收性质

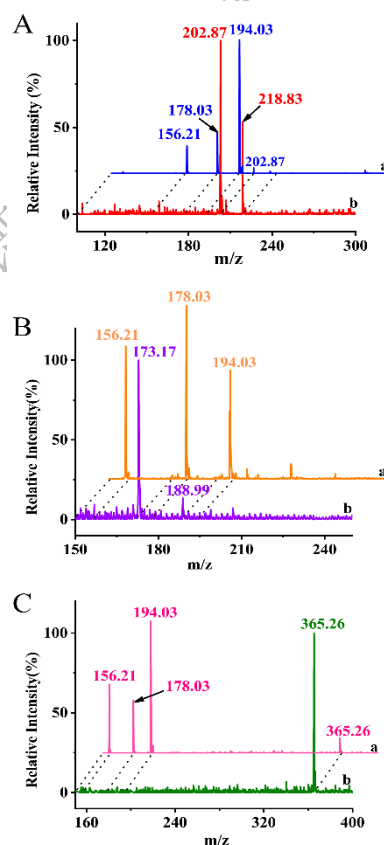


图 3 顺式二醇的选择性富集效果 (A: 组氨酸/葡萄糖; B: 组氨酸/阿拉伯糖; C: 组氨酸/乳糖), 分析物与非特异性化合物的质量比为 1:100

参考文献:

1. J. Zhang, X. Zheng, Y. Ni. J. Am. Soc. Mass. Spectrom., 2015, 26: 1291-1298.
2. H. Li, L. Jing, W. Liu, J. Lin, R.Y. Tay, S.H. Tsang, E.H.T. Teo. ACS Nano, 2018, 12: 1262-1272.
3. X. Ji, N. Kong, J. Wang, W. Li, Y. Xiao, S.T. Gan, Y. Zhang, Y. Li, X. Song, Q. Xiong, S. Shi, Z. Li, W. Tao, H. Zhang, L. Mei, J. Shi. Adv. Mater., 2018, 30: 1803031-1803042.