

苏州帕诺米克生物医药科技有限公司

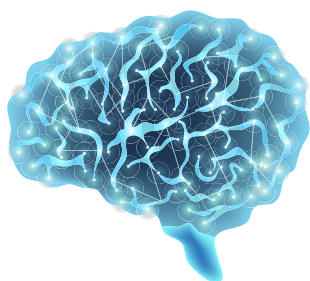


诺米代谢
PANOMIX
Suzhou PANOMIX Biomedical Tech Co., LTD

High-Resolution
Spatial Metabolomics

诺米代谢

高分辨空间代谢组产品手册



定性定量定位
开启超清极视

关于诺米代谢

苏州帕诺米克生物医药科技有限公司（简称：诺米代谢）于 2013 年在苏州工业园区成立，是中国最早成立、规模最大的代谢组学公司之一，致力于打造临床质谱和代谢组学全方案提供商。业务板块包括组学技术服务、临床质谱、组学临床产品与大数据平台。公司为客户提供更快更精准的代谢组学检测服务及产品。

公司布局

公司已获得元生创投、薄荷天使及沃生投资等行业知名基金的多轮投资，并取得科技领军企业、CMA 认证企业、高新技术企业、江苏省民营科技企业、ISO-9001 质量管理体系认证等资质，知识产权 30 余项，临床注册产品近 20 项。



800+

合作高校、医院、研究所、企业

10000+

合作项目数

200+

学术期刊上合作发表文章

我们的客户



高校



医院



研究所



制药企业



乳品企业



生物公司



政府机构

产品应用方向



基础医学



临床医学



中医药



农林



畜牧



水产



轻工业



环境科学

项目经验

诺米代谢已完成包括动物组织、肿瘤样本、植物叶片等各类项目，积累了丰富的项目经验。基于自身完整的样品预处理平台、高分辨率质谱平台、海量代谢物库与核心匹配算法、及自主知识产权的云数据分析系统 BioDeep™，诺米代谢已为国内外 400 余家科研院所、300 余家三甲医院以及食品与制药企业提供全面、专业的代谢组学服务。

自主研发数据库

首家提供多种权威数据库注释，全面解析检测到的物质，强大的 BioDeepDB 自建数据库，融合了 MoNA、METLIN、HMDB、LipidSearch 数据库，实现超高量物质种类的鉴定。

代谢组学云平台——BioDeep™



全球领先的代谢组学云分析平台

轻松分析代谢组学数据，零基础也能一秒出图

一站式服务

诺米代谢专注科研服务，从售前实验方案设计，样本制备、质谱成像和数据处理及售后技术答疑等各环节全程跟踪，提供一站式空间代谢组研究解决方案。



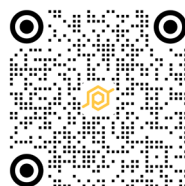
诺米代谢推出科研宝典

《代谢组学与多组学研究实用手册》

扫描二维码，关注公众号

回复“诺米代谢”

免费送 不限量



诺米代谢
PANO MIX
Metabolic Research & Tech. Co., Ltd.

CMA 资质认证



主要组学平台



Thermo TRACE 1310-ISQ LT



LECO PEGASUS® BT



LECO Pegasus® BT 4D GCxGC-TOFMS



Thermo Q Exactive™ 系列



AB sciex 6500+



Thermo Orbitrap Fusion Lumos



AP-MALDI QE

产品管线

公司服务项目囊括非靶向代谢组学、靶向代谢组学、全靶、脂质组学、风味组学、空间及单细胞代谢组学，应用领域包括农业、环境、肿瘤、心血管疾病、代谢类疾病及肠道微生物相关的研究领域，覆盖 80 余项细分检测分析服务内容，为客户提供个性化的代谢组学科研及临床解决方案。

01 代谢组学

- 空间代谢组学 - 2021新品, 高分必备
- 非靶向代谢组学
 - GC-MS代谢组学
 - GCxGC全二维代谢组学
 - LC-MS代谢组学
 - 全局精准非靶向代谢组学
 - 全局精准花青素非靶向代谢组学
 - 全局精准黄酮非靶向代谢组学
 - 风味组学
 - 成分组学
- 靶向代谢组学
 - 短链脂肪酸定量分析
 - 脂肪酸定量分析
 - 胆汁酸定量分析
 - TMAO及相关代谢物定量分析
 - 氨基酸定量分析
 - 黄酮类代谢物定量分析
 - 神经递质定量分析
 - 有机酸定量分析
 - 糖类定量分析
 - 植物激素定量分析
 - 类胡萝卜素定量分析
 - 单宁类定量分析
 - 酚酸类定量分析
 - 花青素定量分析
 - 维生素定量分析
 - 花生四烯酸定量分析
 - 代谢流定量分析
 - 能量代谢定量分析
 - 色氨酸代谢定量分析

02 蛋白质组学

- 定量蛋白质组学
 - 标记定量蛋白质组学
 - TMT/iTRAQ蛋白质组学
 - 非标记定量蛋白质组学
 - Label free蛋白质组学 (DDA模式)
 - 非标记蛋白质组学 (DIA模式)
 - PRM定量靶向蛋白质组学
- 修饰蛋白质组学
 - 磷酸化修饰蛋白质组学
 - 乙酰化修饰蛋白质组学
 - 泛素化修饰蛋白质组学
 - 糖基化修饰蛋白质组学
 - 甲基化修饰蛋白质组学
 - 乳酸化修饰蛋白质组学
 - 巴豆酰化修饰蛋白质组学
 - 二羟基异丁酰化修饰蛋白质组学
 - 琥珀酰化修饰蛋白质组学

03 脂质组学

04 转录组学

- 真核生物转录组学
- 原核生物转录组学
- LncRNA研究
- Small RNA 测序
- CircRNA 测序
- 全转录组测序
- 全长转录组测序
- 单细胞转录组测序

05 离子组学

- 多种物质离子组学研究

06 微生物组学

- 微生物多样性 (16S)
- 宏基因组
- 宏蛋白组
- 宏转录组

07 多组学整合

- 代谢组-蛋白质组研究
- 代谢组-转录组研究
- 代谢组-微生物组研究
- 代谢组-蛋白组-转录组-微生物组研究

08 脑肠轴研究

- 16S-非靶/全靶代谢组联合分析
- 16S-短链脂肪酸/胆汁酸/脂肪酸/TMAO/神经递质/氨基酸联合分析

09 外泌体研究

- 外泌体代谢组学
- 外泌体脂质组学
- 外泌体蛋白质组学
- 外泌体转录组学
- 外泌体提取
- 外泌体鉴定
 - WB鉴定
 - NTA鉴定
 - 电镜鉴定

10 数据分析

- 各组学数据分析
- 多组学整合分析
- 脑肠菌轴研究分析

诺米代谢高分辨空间代谢组产品

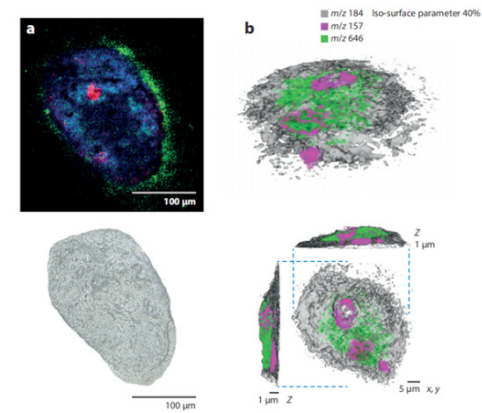
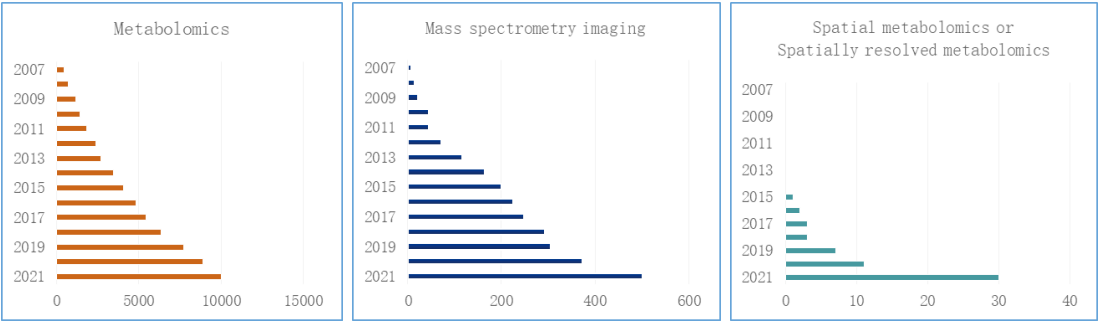
什么是高分辨空间代谢组学

传统代谢组学旨在阐释动植物组织或细胞中含有的代谢物整体含量及其变化规律，对所有代谢物进行定性和定量分析，是研究代谢物谱、表型、变化、途径的强大工具，对于生物标志物的发现过程有重大意义。随着研究的不断深入，缺少空间分布信息逐渐成为限制传统代谢组学发展的制约因素。

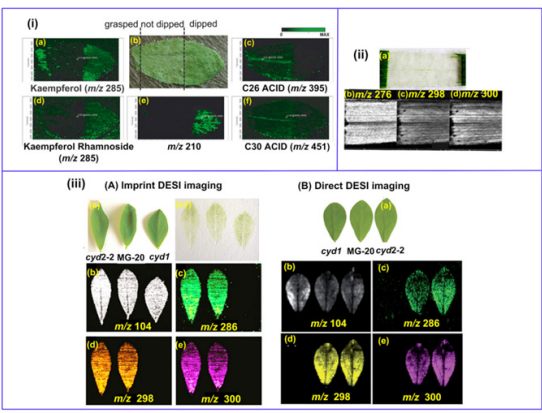
质谱成像技术（MSI）作为一种新型的分子影像技术，被广泛应用于动植物组织中各类代谢物、多肽和蛋白的空间分布研究。它能够直接从生物组织中获得大量内源性代谢物和外源性药物等分子结构、含量和空间分布信息，具有无标记、非特异、高灵敏度、高化学覆盖等优势。

空间代谢组学整合了质谱成像和代谢组学技术，对动植物及人体组织和细胞内 / 外源性代谢物的种类、含量和空间分布情况进行精准测定，从 **定性**、**定量**、**定位** 三个维度阐释生物代谢过程差异。

从 2007 年 -2021（预）年间代谢组学、质谱成像和空间代谢组学技术发表论文数目的趋势来看，MSI 技术是当前十分热门的研究领域之一，发展空间巨大。



Ian S. Gilmore et al., 2019



Yonghui Dong et al., 2016

空间代谢组学应用范围

空间代谢组学可应用在多个研究领域，从生物组织原位发现差异代谢物。

医学领域	生殖科学	新生儿罕见病	肿瘤代谢与免疫
	疾病生物标志物筛选	精准用药研究	药物评价和新药研发
农林领域	药用植物部位成分定位	种子、胚胎发育学	植物保护
	动物与环境互作研究	动物疾病诊断和预防	
工业领域	微生物发酵	大宗化学品	精细化工
	食品生产和保存	食品营养鉴定	

技术原理介绍

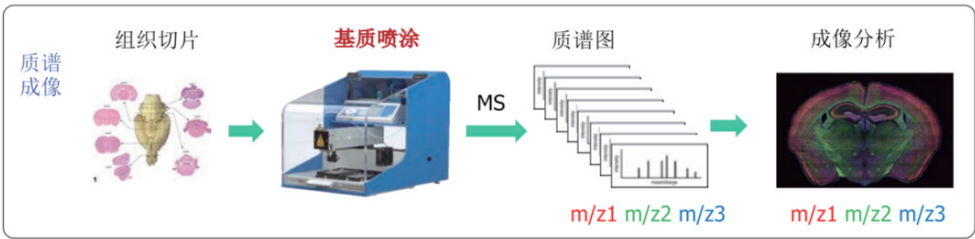
1987 年，Tanaka 和 Karas 发明了基质辅助激光解吸 / 电离（Matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI）技术，开创性地将 MALDI 质谱技术用于生物大分子检测的应用，此后 MALDI 和 MSI 技术结合，不断的发展和拓展，时至今日 MSI 已成为最热门最活跃的交叉学科研究领域之一。

质谱成像技术中，离子源是关键。根据不同离子源，常将 MSI 分为以下几种：

- 基质辅助激光 / 解吸电离质谱成像 (MALDI-MSI)
- 二次离子质谱成像 (SIMS)
- 解吸电喷雾电离质谱成像 (DESI-MSI)
- 激光溅射 - 电喷雾电离质谱成像 (LA-ESI-MSI)

其中，MALDI-MSI 已成为当前主流且应用最广泛的一类技术。

MALDI-MSI 的基本原理是将能吸收 337 nm 或 355 nm 紫外激光的基质分子与待测物混合形成共晶，利用基质分子吸收激光能量，防止多余能量直接作用在待测物分子使其碎片化。MALDI 技术具有软电离特性、超高的检测灵敏度和耐盐性好等优点，被广泛用于蛋白、核酸等生物大分子分析^[1]。



[1] 殷志斌, 黄文洁, 伍欣宙, 等. 空间分辨代谢组学进展和挑战 [J]. 生物技术通报 2021 年 37 卷 1 期, 32-51 页, ISTIC PKU CSCD CA, 2021.

诺米代谢优势

诺米代谢高分辨空间代谢组基于质谱成像技术发展而来，在 MALDI-MSI 技术上进一步提升，采用大气压基质辅助激光 / 解吸电离——(AP)MALDI 做为离子源。AP-MALDI MSI 技术，能高通量获取检测对象中物质成分信息，从空间布局维度精准定位目标物质的在特定空间变化，多平面组合后可以通过计算机数据模拟 3 维空间的物质分布，极大延伸了质谱的应用领域，拓展了质谱在临床检测和生物制药行业中的应用，提供了新的筛选或检测工具，弥补了现有传统质谱研究中高通量不足、需要标记物、前处理方法复杂等缺陷。

1. 细胞级采样，超清无死角

细胞的平均直径在 10-20um 之间，诺米代谢高分辨空间代谢组分辨率可达 5um，真正做到细胞级采样，超高分辨率为您带来极致体验。



不同质谱成像离子源分辨率比较

分类	缩写	名称	空间分辨率	技术点
等离子解吸附	DART	实时直接分析	N/A	主要用于挥发性的弱极性物质，容易产生加和离子，空间分辨率极低
液滴萃取	DESI	解吸电喷雾电离	30-200μm	适合分析极性化合物，无需基质，空间分辨率低
	LESA	液滴萃取表面分析	1mm	液液萃取，物质少
基质辅助激光解吸电离	AP-MALDI	大气压基质辅助激光解吸电离	≤ 5μm	横向分辨率 1.4μm，空间分辨率高，需要基质。软电离技术不产生或产生较少的碎片离子

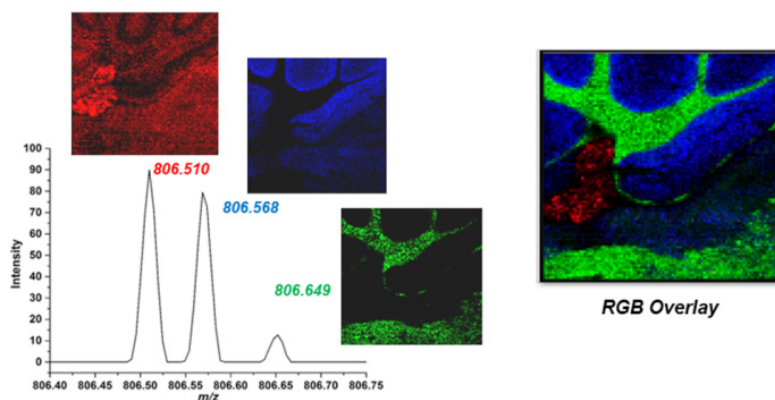
2. Q Exactive™ 质谱，双效联合

诺米代谢采用 Thermo Scientific™ Q Exactive™ 质谱仪，充分利用该质谱仪高分辨率优势，实现了 (AP)MALDI + Thermo Scientific™ Q Exactive™ 强强联合。



AP-MALDI QE

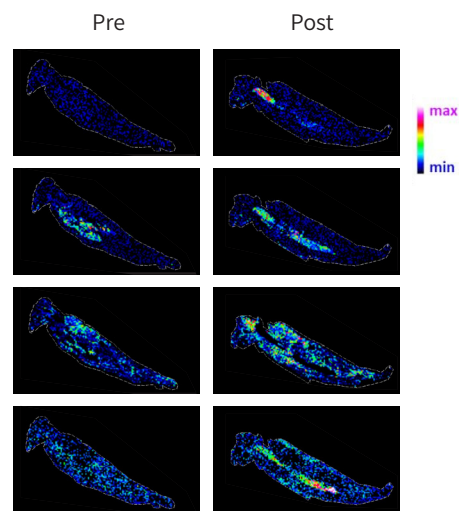
质谱成像系统后端质谱仪的分辨率也很重要，比如传统的真空 MALDI-TOF 分辨率线性模式分辨率仅几千，在下图实例中，三种完全不同的肽无法完全区分。反射模式虽然有 2~4 万的分辨率，但由于飞行距离变长，离子动能损失，灵敏度会大大降低。而我们通过高分辨质谱成像图可以根据空间分布认识到这三种肽可能具有完全不同的生理功能，因此能够避免产生认知谬误。



3. 高通量覆盖，极低量检测

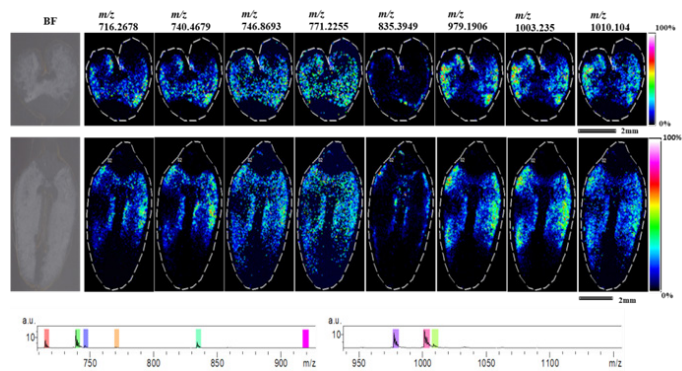
诺米代谢 AP-MALDI 联合 Q Exactive™ 质谱仪实现高覆盖、高灵敏的组织代谢物成像分析，解决了生物组织中低含量代谢物难检测、覆盖种类少、成像质量差等技术难题，可实现至多 1000 个代谢物同时成像分析，包括脂肪酸、胆汁酸、氨基酸、黄酮、神经递质、糖类、类胡萝卜素、维生素、单宁、酚酸、核苷、有机酸、碳水化合物等，精准还原其空间分布信息。

空间代谢组成像展示



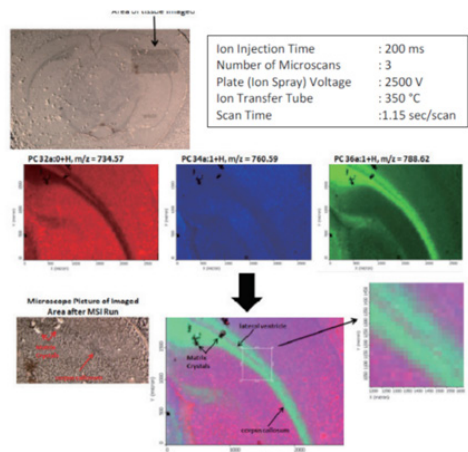
蝗虫切片空间代谢组成像

MALDI-MSI for wheat



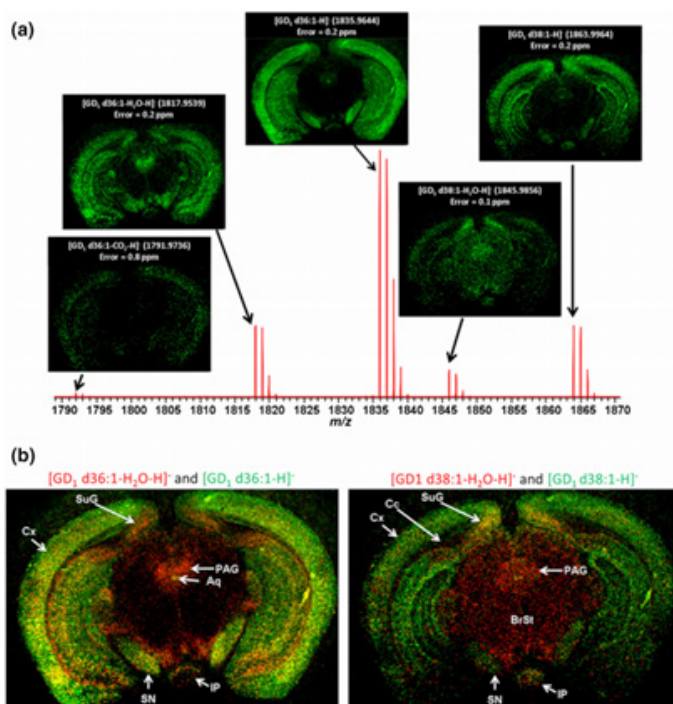
小麦切片空间代谢组成像

样品:小鼠脑切片
切片厚度:18 μm
基质:DHA (10 mg/mL)
空间分辨率:20 μm (本例)
MS 条件:
扫描模式:正离子模式
质谱分辨率:60,000
扫描范围:700-2000amu

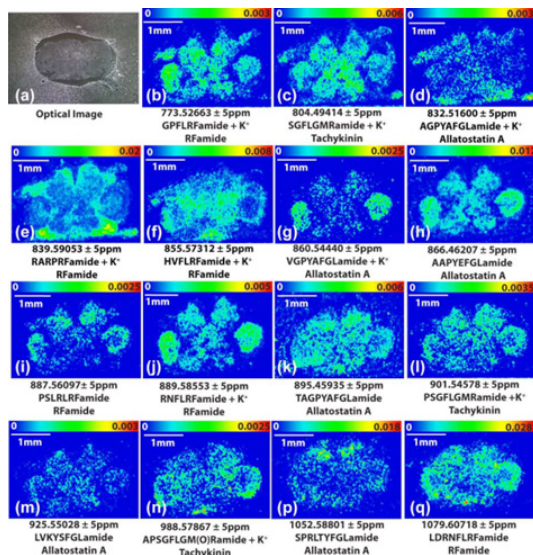


数据来源:
NIH 美国国立卫生研究院国家滥用药物研究所

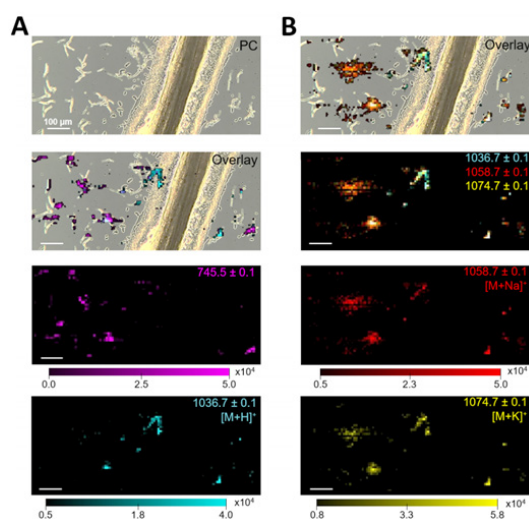
鼠脑切片空间代谢组成像



大鼠脑神经节苷脂 AP-MALDI 质谱成像^[2]



甲壳类动物脑组织切片的高分辨率 MS/MS^[3]



枯草杆菌微菌落质谱成像^[4]

[2] Jackson S N , Muller L , Roux A , et al. AP-MALDI Mass Spectrometry Imaging of Gangliosides Using 2,6-Dihydroxyacetophenone[J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2018.

[3] Chen B , Ouyang C , Tian Z , et al. A high resolution atmospheric pressure matrix-assisted laser desorption/ionization-quadrupole-orbitrap MS platform enables in situ analysis of biomolecules by multi-mode ionization and acquisition[J]. Analytica chimica acta, 2018:16.

[4] Pe Ss Otti R , Hansen B L , Zacharia V M , et al. High Spatial Resolution Imaging Mass Spectrometry Reveals Chemical Heterogeneity Across Bacterial Microcolonies[J]. Analytical Chemistry, 2019, XXXX(XXX).

经典案例分享

年 份	影响因子	期刊	文章名
2020	11.2	PNAS	Rhizosphere microbiome mediates systemic root metabolite exudation by root-to-root signaling
2020	10.2	New Phytologist	High mass resolution, spatial metabolite mapping enhances the current plant gene and pathway discovery toolbox
2019	17.7	Nature Microbiology	In plaque-mass spectrometry imaging of a bloom-forming alga during viral infection reveals a metabolic shift towards odd-chain fatty acid lipids
2020	11.6	Theranostics	Mass spectrometry imaging-based metabolomics to visualize the spatially resolved reprogramming of carnitine metabolism in breast cancer
2019	28.5	Nature methods	Comprehensive mapping of neurotransmitter networks by MALDI-MS imaging
2021	14.1	Science advances	Mass spectrometry imaging identifies abnormally elevated brain L-DOPA levels and extrastriatal monoaminergic dysregulation in L-DOPA-induced dyskinesia
2020	14.1	Science advances	Microbiome-derived carnitine mimics as previously unknown mediators of gut-brain axis communication
2020	11.6	Theranostics	Mass spectrometry imaging-based metabolomics to visualize the spatially resolved reprogramming of carnitine metabolism in breast cancer
2016	11.2	PNAS	Cell-specific localization of alkaloids in Catharanthus roseus stem tissue measured with Imaging MS and Single-cell MS
2017	28.5	Nature Methods	Atmospheric pressure MALDI mass spectrometry imaging of tissues and cells at 1.4- μ m lateral resolution
2020	17.7	Nature Microbiology	Spatial metabolomics of in situ host-microbe interactions at the micrometre scale
2020	15.3	Angewandte Chemie (International ed. in English)	Morphometric Cell Classification for Single-Cell MALDI-Mass Spectrometry Imaging

The distribution and changes of glycoalkaloids in potato tubers under different storage time based on MALDI-TOF mass spectrometry imaging

基于 MALDI 质谱成像的马铃薯块茎中糖类生物碱在不同贮藏时间下的分布与变化

期刊: Talanta | 影响因子: 6.057 | 发表时间: 2020 年

摘要:

糖生物碱 (GAs) 是马铃薯中有毒的次生代谢产物, 对人体有害。贮藏时间对 GAs 的合成和分布有很大影响。本文利用空间代谢组学研究了不同贮藏时间 (0、10、15、20、30、40 和 60 天) 的马铃薯块茎中 GAs 的分布和变化。用 logistic 方程建立了 4 种主要 GAs 在芽、周皮和髓质中的生长趋势模型。结果表明 4 种 GAs 在芽和周皮的生长速度和相对含量均显著高于髓质。本研究有助于了解马铃薯中 GAs 在不同部位的代谢情况和监测食品安全。

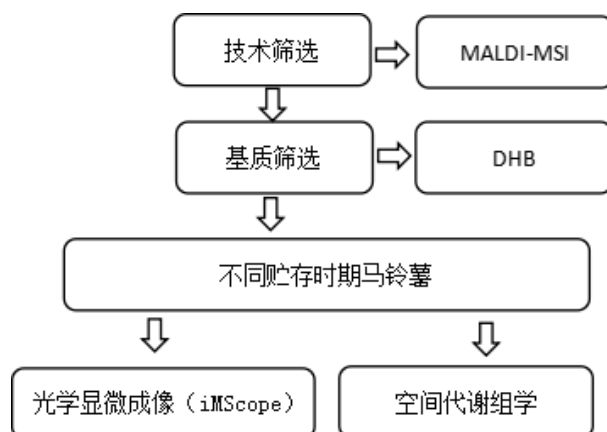
研究背景:

糖生物碱 (GAs) 是茄科植物如马铃薯、茄子中常见的次生代谢产物。GAs 是一种天然的有毒物质, 对人类健康和食品安全构成威胁。机械损伤、光照、储存时间和温度等多种环境因素可刺激 GAs 的生物合成。因此, 研究贮藏时间对马铃薯块茎中 GAs 含量的影响具有重要意义。

目前测定马铃薯制品中 GAs 的方法主要有传统的酶联免疫吸附分析 (ELISA), 气相色谱质谱 (GC-MS), 高效液相色谱紫外检测器 (HPLC-UV) 和液相色谱质谱或串联质谱 (LC-MS)。但这些方法都需要复杂的样品制备。例如, GC-MS 总是需要复杂的衍生化, LC-MS 必须经过复杂的样品提取和纯化过程。由于分析是在组织匀浆上进行的, 缺乏样品中分析物的空间定位。

基质辅助激光解吸电离 (MALDI) 是一种常见的质谱成像技术 (MSI), MALDI-MSI 可以实现高空间分辨率、高精度的测量, 是目前应用最广泛的测量技术。MALDI-MSI 由于其独特的优势, 已广泛应用于各个研究领域, 特别是生物组织切片的医学和药学研究。

技术路线:



结果分析:

1. 方法学考察

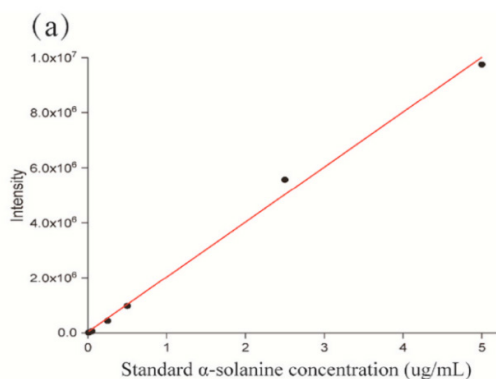


图 1 α -茄碱标曲

不同浓度 α -茄碱 (0.01-5 $\mu\text{g/mL}$) 的 2,5-二羟基苯甲酸 (2,5-dihydroxybenzoic acid, DHB) 基质表达, 标准曲线如图 1 所示。这一结果说明 MALDI-TOF-MSI 方法用于组织样品的 GAs 鉴定和定量分析的潜力。

2. 储存时间对马铃薯块茎不同部位 GAs 相对含量及空间分布的影响

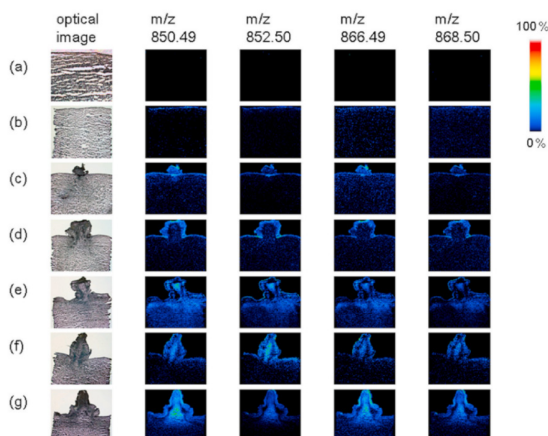


图 2 马铃薯块茎光学图像和四种 GAs 的质谱图像

如图 2 所示, 我们可以清楚地查看马铃薯块茎的光学图像和分布的四个 GAs: dehydrochaconine ($[M+H]^+ + 850.49 \text{ m/z}$), α -chaconine ($[M+H]^+ + 852.50 \text{ m/z}$), dehydrosolanine ($[M+H]^+ + 866.49 \text{ m/z}$), α -solanine ($[M+H]^+ + 868.50 \text{ m/z}$) 在不同部位在不同存储时间。从光学图像可以直接观察到马铃薯块茎发芽的形态变化。

从图 2a 可以看出, 马铃薯块茎的外观没有变化, 0 天时, 几乎检测不到四种 GAs。这一结果表明, 在正常贮藏条件下, 新鲜马铃薯块茎中所含的 GAs 极少。当贮藏时间在第 10 天时, 可以观察到明显的变化, 如图 2b 所示。4 种 GAs 开始生物合成和增加, 并在马铃薯块茎组织中表现出明显的分布特征。在本次实验中, 块茎 GAs 的生物合成主要发生在周皮的内层细胞层中, 并且清楚地观察到马铃薯块茎的周皮先于髓质产生 GAs。从质谱图上看, 这 4 种 GAs 主要分布在表皮和皮周, 皮周的 GAs 相对含量高于髓质。第 15 天, 马铃薯块茎出现了小芽, 形成了芽、周皮和髓质三个明显区域, 如图 2c 所示。马铃薯块茎中 GAs 的相对含量显著增加, 且在这三个部位分布不均匀。在质谱图像的颜色尺度上, 颜色越亮, 该区域的 GAs 含量越高。总体而言, 4 种 GAs 在 3 个部位的分布基本一致, 芽中含量最高, 周皮次之, 髓质中含量最低。从第 20 ~ 30 天开始, 如图 2d 和 e 所示, 3 个部分中 4 种 GAs 的相对含量随着芽的生长迅速增加。同时, GAs 的分布特征仍主要集中在芽和髓质区域。后期 (40 ~ 60 天), 如图 2f 和 g 所示, 芽生长缓慢, GAs 分布向髓质扩散, 但仍主要分布在芽和周皮区域。同时, 4 种 GAs 的相对含量趋于稳定或缓慢增长。

3. GAs 含量增长模型构建

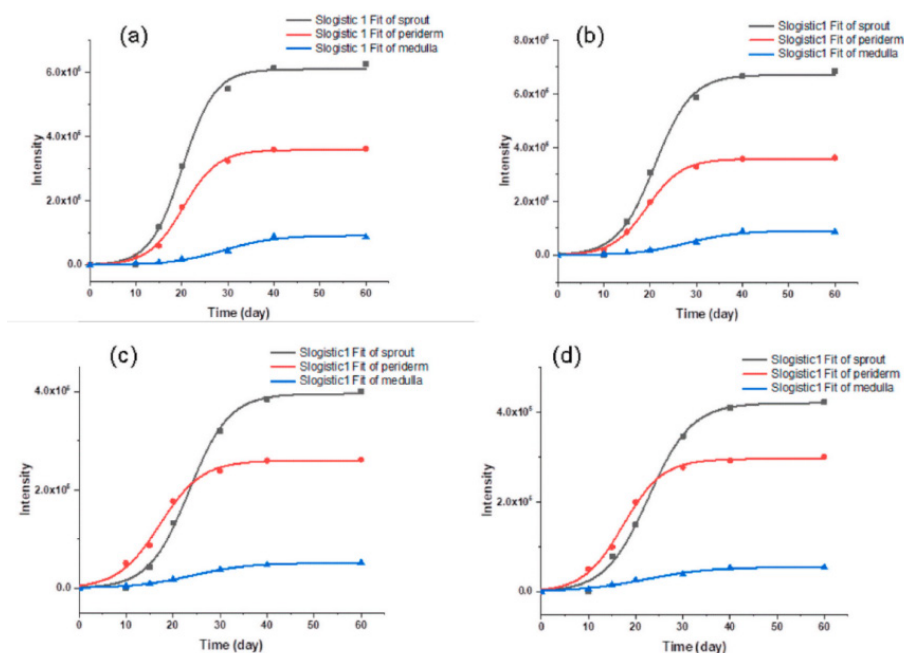


图 3 拟合四种 GAs 的 Sigmoidal 生长模型生长曲线

马铃薯块茎不同部位的 GAs 实验数据如图 3 所示。初始阶段增长率急剧上升, 随后达到平台。GAs 增长的完全趋势类似于 s 型曲线。结果表明, 该模型与实验结果吻合较好。4 种 GAs 在芽和周皮的生长速率保持在相同的水平, 远远高于髓质。四种 GAs 在芽和周皮的快速生长期几乎早于髓质的快速生长期。在含量上, 四种 GAs 的含量在芽中最高, 在髓质中最低。

马铃薯块茎的芽、周皮和髓质中 GAs 的相对含量和分布差异较大，可能是由于不同地区呼吸代谢强度不同所致。呼吸代谢的活性取决于底物的存在、呼吸酶的浓度、氧气和二氧化碳的浓度。休眠芽萌发时，马铃薯块茎芽和周皮呼吸活动的底物浓度较高；呼吸酶浓度高；GAs 合成酶活性高；氧气很容易获得；二氧化碳很容易排放。但马铃薯块茎髓质底物浓度小，呼吸酶浓度低，氧气不易获得，二氧化碳不易排放。因此，GAs 主要分布在马铃薯块茎的芽和周皮中。

通过 MALDI-TOF-MSI 图像将马铃薯块茎分为 3 部分，在芽、髓质和周皮中 α - 链果碱与 α - 茄碱的比值分别为 1.59、1.21 和 1.65。结果表明，髓质中该比值略低于其他组织。因为 α - 卡茄碱的毒性高于 α - 茄碱，所以这个比值越低越好。因此，马铃薯块茎髓质区 GAs 含量和周皮区低，且相对安全。这也是很多研究人员发现去除土豆芽和土豆皮后，土豆中 GAs 的含量和毒性大大降低的原因。

4. 马铃薯不同组织中 4 种 GAs 的相关性分析

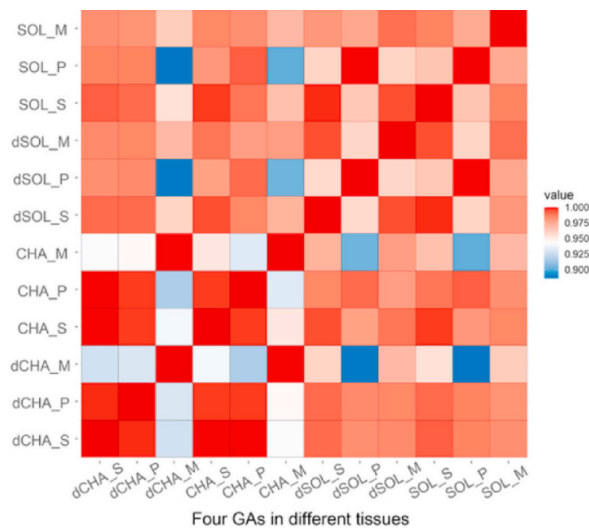


图 4 四种 GAs 在不同组织中的相关分析热图

通过相关性分析验证了不同组织中四种 GAs 含量之间的关系。结果表明，4 种 GAs 在马铃薯块茎芽、周皮和芽中的分布均呈显著相关。随着贮藏时间的延长，3 个部位中 4 种 GAs 的含量有相似的变化趋势。四种 GAs 在芽中呈上升趋势，在周皮和髓质中呈上升趋势。值得注意的是，髓质中去氢查可碱和 α - 查可碱的变化过程相关性较低。(图 4 中蓝色部分)。这可能是因为这两种 GAs 在髓质中的含量较低，变化趋势不明显，相关性较低。这也证实了之前的分析。

结论：

本试验采用空间代谢组技术研究了不同贮藏时间下 4 种有毒 GAs 在马铃薯块茎不同部位的空间分布及变化。从形态学和质谱上观察到四种 GAs 随时间的变化。采用 logistic 增长模型拟合了贮存时间与 GAs 强度的可靠关系。各组织区域 GAs 生长速率和相对含量差异较大，不同的 GAs 也呈现出不同的增长趋势。重要的是，从 GAs 生物合成和代谢的角度，揭示了这些结果可能的原因。本研究对揭示马铃薯块茎不同部位的 GAs 代谢具有重要意义，可为马铃薯的贮藏和食品安全监测提供指导。

摘要:

百里醌 (Thymoquinone) 是黑种草 (*Nigella sativa*) 种子的主要成分之一, 已被证实在肿瘤, 衰老及降低血糖等方面具有不同的生物功能。作者在本研究中构建了大鼠脑缺血再灌注损伤模型, 使用 MALDI-MSI 研究了百里醌在大鼠脑损伤中的影响, 并发现百里醌能够显著改善脑缺血再灌注损伤后的神经行为。

结果分析:

1. 百里醌在脑缺血再灌注损伤大鼠模型中的保护作用

作者首先利用瞬时中脑闭塞 (MCAO) 建立了大鼠缺血性再灌注损伤模型, 并将实验大鼠分为假手术组 (sham)、模型组 (Mo)、2.5 mg/kg 百里醌组 (LTQ)、5 mg/kg 百里醌组 (HTQ) 以及阳性对照组 (ED), 随后评估了不同组别中神经行为评分 (图 1a), 梗塞体积 (图 1b,c) 及水肿损伤程度 (图 1d), 发现高剂量的百里醌有较好的神经保护作用。

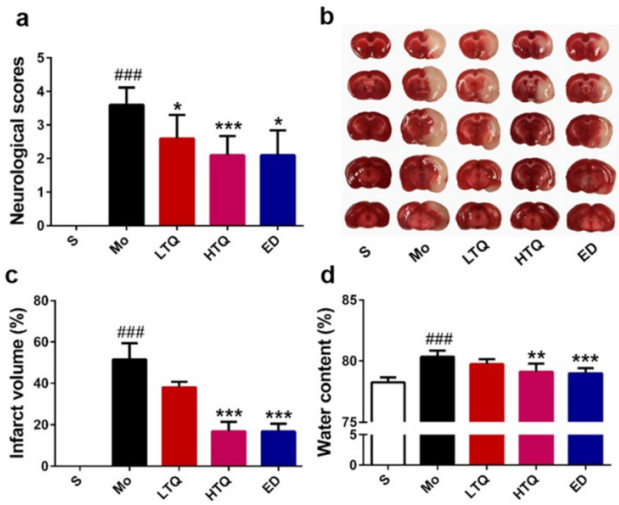


图 1

2. 百里醌治疗对脑缺血再灌注损伤后皮质神经元细胞形态的影响

随后作者评估了缺血半暗带的神经损伤程度, 利用苏木精 - 伊红染色后发现, 与 Sham 组相比, Mo 组发生了严重细胞损伤 (图 2a,b), 且皮质缺血半暗带中的变性细胞数量和变性细胞指数 (DCI) 显著增加 (图 2e), 但 HTQ 组及 ED 组均显著增加了缺血半暗带中正常细胞的数量并降低了 DCI (图 2e)。

尼氏体数量和大小的增加表明神经蛋白质合成的正常功能。相比于神经元形态正常的 Sham 组, Mo 组中神经元明显受损, 尼氏体数量和大小均减少, 细胞核固缩, 尼氏小体染色强度降低, 尼氏阳性神经元数量明显减少。但 HTQ 组与 ED 组均显著减轻了这些组织损伤 (图 2c,d,f)。

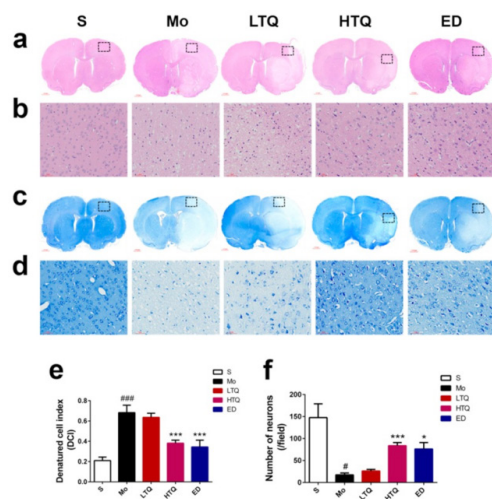


图 2

3. 有氧化相关分子的空间分布和含量变化

利用 MALDI-MSI 技术，作者检测了与有氧化有关的四个小分子的质谱信号，分别为葡萄糖、丙酮酸、柠檬酸和琥珀酸，如图 3 所示，脑缺血再灌注损伤后，这四种分子的含量均显著增加，且 5mg/kg 百里醌 (TQ 组) 显著减少了葡萄糖、柠檬酸和琥珀酸的含量，但对丙酮酸无影响。

通过对 TCA 循环下游产物相关的四种转化产物（谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸和 N-乙酰-L-天冬氨酸）进行质谱成像观察，结果显示这四种神经递质的含量均被降低，这种变化在 TQ 组与 ED 组中均有所回复。

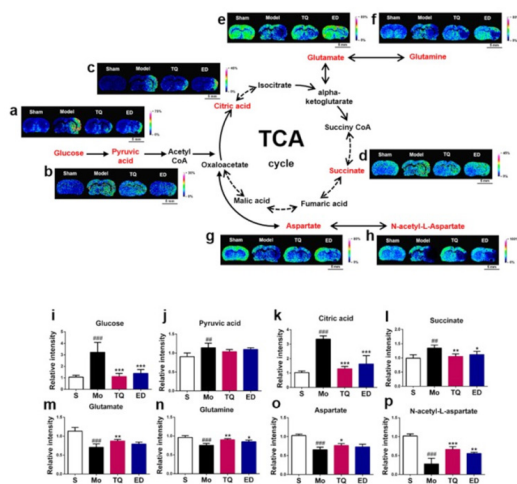


图 3

4. 能量代谢相关分子的空间分布和含量变化

由于脑部缺血再灌注损伤影响了正常的能量代谢过程，五种 ATP 的下游代谢物（ADP、AMP、GMP、腺苷和次黄嘌呤）、黄嘌呤以及肌酸的空间分布及含量也被利用 MALDI-MSI 技术进行了检测。如图 4 所示，除黄嘌呤含量明显增加外，其余物质均显著降低，且 5 mg/kg 百里醌治疗对除次黄嘌呤外的其他六种物质有一定的调节作用。

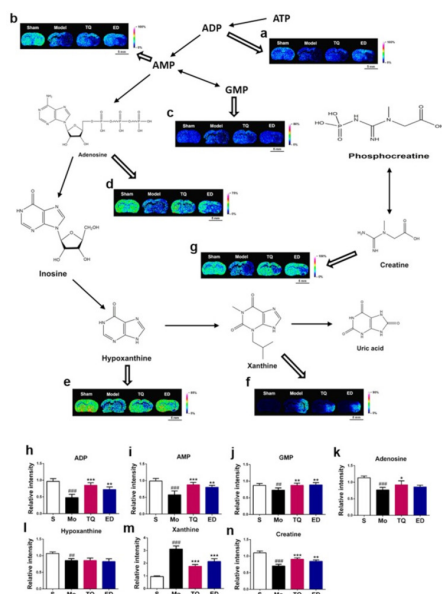


图 4

5. 磷脂分子的空间分布和含量变化

利用 1,5-DAN hydrochloride 作为基质可以检测各种分子量的磷脂分子，图 5 中显示了脑损伤区域中 8 种磷脂分子的空间分布和相对含量，其中，磷脂酰乙醇胺 (PE)(16:0/22:6)、PE(p-18:0/22:6)、PE(18:0/22:6)、磷脂酰肌醇 (PI) (18:0/20:4)，磷脂酰丝氨酸 (PS), (18:0/22:6) 和磷脂酸 (PA), (18:0/22:6) 显著降低，而 PE (18:0) 和 PI (18:0) 的水平显著增加，百里醌给药后，除 PA (18:0/22:6) 和 PI (18:0) 未发现统计学差异外，其余分子均被显著调节。

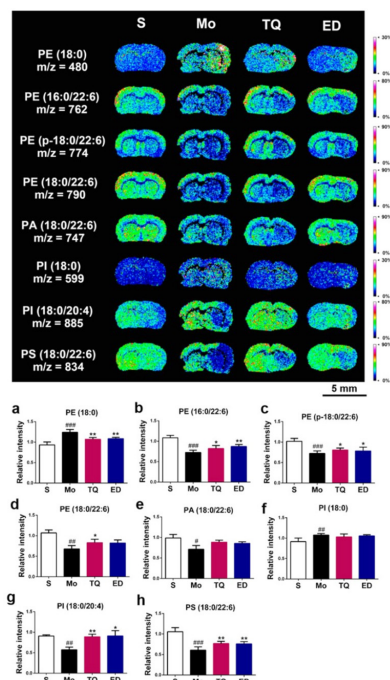


图 5

6. 其他代谢物的空间分布及含量变化

脑缺血再灌注损伤也会影响脑部正常离子的稳定状态、活性氧的累积及氧化应激反应，作者随后检测了脑部钠离子、钾离子及三种抗氧化分子（牛磺酸（Taurine）、抗坏血酸（Ascorbic acid）和还原性谷胱甘肽（Glutathione））的变化，如图 6 所示，钠离子含量在损伤后升高，钾离子与三种抗氧化分子的含量降低，且百里醌对这些变化均有显著的回复作用。

除此之外，作者还发现了 4 个小分子（花生四烯酸（arachidonic acid）、泛酰巯基乙胺 4'-磷酸（pantetheine 4'-phosphate）、甘油 3-磷酸（glycerol 3-phosphate）和马尿酸（hippuric acid））也在脑损伤区域显示出变化，质谱成像结果显示，损伤脑中花生四烯酸、3-磷酸甘油和马尿酸水平显著降低，而泛酰巯基乙胺水平 4'-磷酸增加。百里醌给药后，泛酰巯基乙胺水平 4'-磷酸和花生四烯酸的变化有显著回复，但甘油 3-磷酸和马尿酸并未被显著调节。

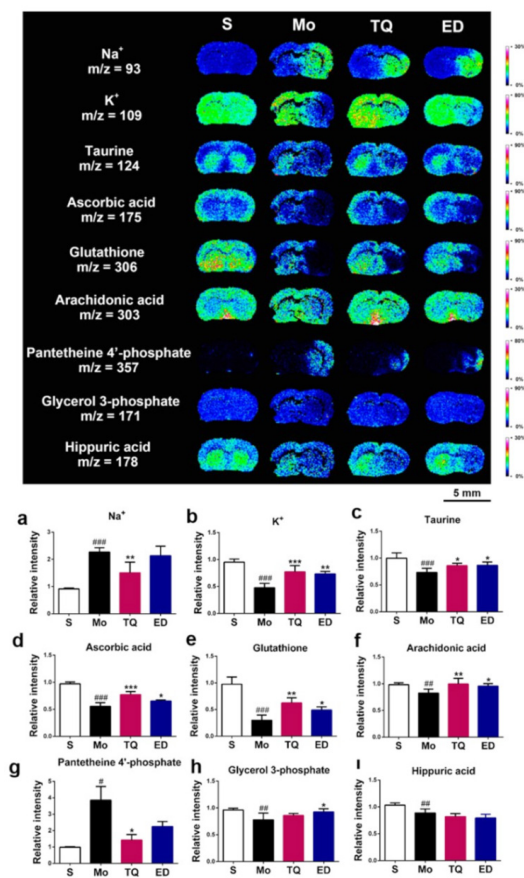


图 6

7. 大脑切片代表性分段聚类图像

质谱成像技术可以有效地结合分子成像和质谱分析，以显示不同 m/z 分子的空间分布和相对含量。MSI 分割分析结果显示，脑缺血再灌注损伤主要损伤右半球的皮质和纹状体。进一步的分割分析表明（图 7，分割 2-8），Mo 组的缺血半球可分为正常脑区、缺血半暗带区和缺血核心区。如图 7 的分割 8 所示，右侧缺血区域显示不同的颜色，深红色代表正常大脑区域，蓝色代表缺血半暗带区域，绿色代表缺血核心区区域。与 Sham 组相比，Mo 组右半球出现缺血性损伤，缺血核心区 and 缺血核心区外的缺血半暗带区域更大。百里醌给药后缺血半影区和缺血核心区的面积被显著减少。

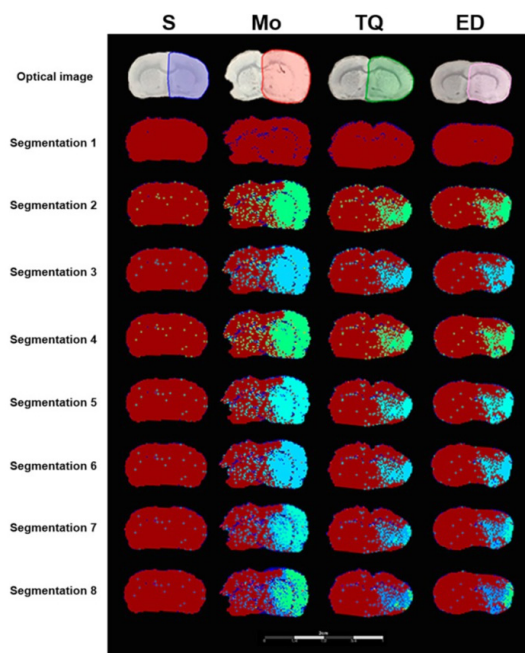


图 7

8. 百里醌对小分子代谢物的调节作用

百里醌对以上小分子代谢物的影响，调节作用最终减少了脑组织的损伤。给药后含量增加的物质以红色表示，显著减少的用蓝色表示。

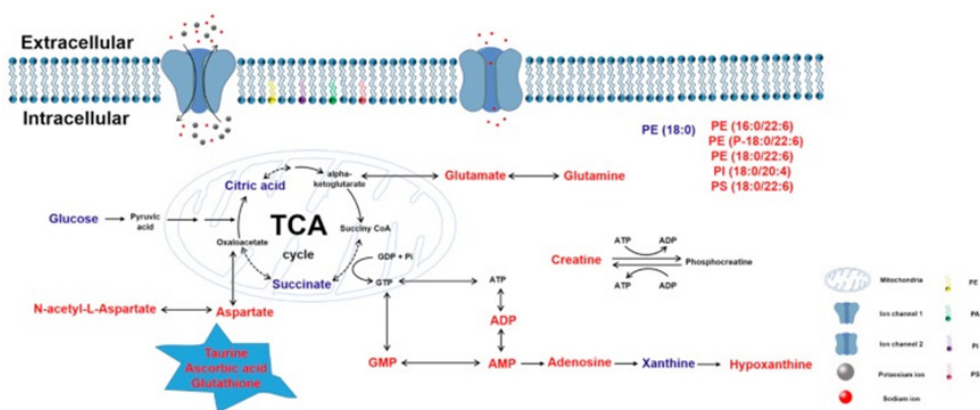


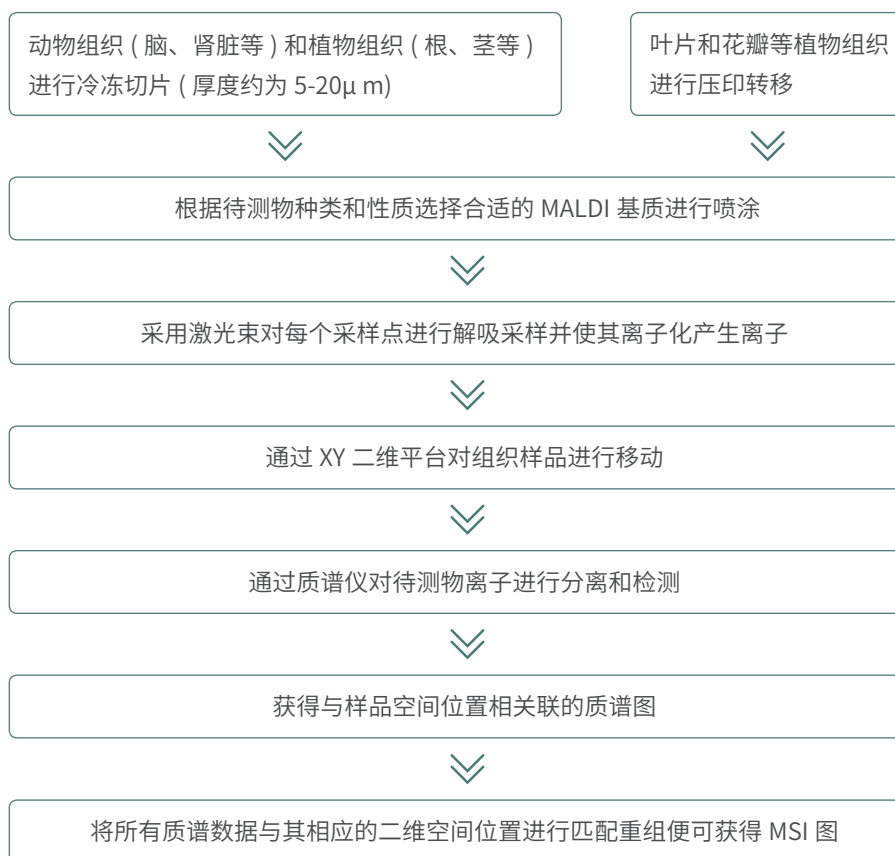
图 8

结论：

在这项研究中，研究人员以脑缺血再灌注损伤大鼠为模型，发现 5 mg/kg 的百里醌能通过降低神经缺陷分数、减少脑梗塞大小、减轻脑水肿损伤、改善细胞形态损伤和增加正常神经元数量，对脑损伤有显著保护作用。MALDI-MSI 结果表明，百里醌能通过促进葡萄糖有氧氧化，调节细胞内能量代谢，提高磷脂分子水平，增加抗氧化小分子含量，平衡钠钾离子稳态来调节脑损伤区域的异常代谢。

项目服务流程

1. 诺米代谢检测流程



2. 样本要求

新鲜的生物组织样本 / 未加盖玻片的切片样本

样本尺寸建议

- ① 常规动物及人体组织: 1cm*1cm*0.3cm(成型组织块)
- ② 植物叶片: 3cm*3cm(完整叶片, 叶片表面无破损, 无孔洞)
- ③ 植物茎秆: 5cm* (1~5) cm(茎秆过长, 可按照 5cm 长度截断)

无法检测的样本类型:

不成型组织块 (碎块组织)、含水量 $\geq 80\%$ 的样本、样本面积过小 (低于样本尺寸要求)、坚硬外壳包裹植物样本、HE 染色后切片、石蜡包埋组织、病理切片 (加盖盖玻片)、骨骼样本

3. 样本准备流程



4. 寄送运输要求

- ① 寄送过程中, 样本必须全部埋在干冰中, 保证整个运输过程, 干冰全程覆盖
- ② 寄送样本必须存放在 50 毫升离心管或塑料容器中, 切记勿直接用锡箔纸包裹寄送, 以防样本在运输过程中遭到挤压, 无法用于后续实验
- ③ 50 毫升离心管中空余部分, 使用填充物填充 (可选择棉花, 泡沫颗粒等柔软填充物), 填充到包裹住样本盒, 样本盒在离心管中不会晃动及偏移, 防止样本寄送过程, 样本从样本盒中脱落

5. 常见问题

如何选取合适的切片进行检测?

切面应根据研究方向和目的, 选择合适的功能区域, 确定切面。建议在切片前, 和项目负责人沟通是否有特定切面的需求。



代谢组学行业领跑者



苏州帕诺米克生物医药科技有限公司

电话: 0512-62959105

地址: 江苏省苏州市工业园区新平街 388 号 2 号楼

邮箱: info@bionovogene.com

网址: <https://www.bionovogene.com>
<https://www.biodeep.cn>