



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115073766 A

(43) 申请公布日 2022.09.20

(21) 申请号 202110277255.2

(22) 申请日 2021.03.15

(71) 申请人 中国医学科学院药物研究所
地址 100050 北京市西城区南纬路甲2号

(72) 发明人 张瑞萍 再帕尔·阿不力孜
汪满江措 臧清策 贺玖明 厉欣
王玉成 张国宁

(51) Int. Cl.

C08J 3/075 (2006.01)

C08L 89/00 (2006.01)

G01N 27/64 (2006.01)

权利要求书1页 说明书20页 附图8页

(54) 发明名称

固态衍生化水凝胶及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及生物分析技术领域,公开了固态衍生化水凝胶及其制备方法和应用,特别涉及固态衍生化水凝胶及其制备方法和应用、生物组织衍生化方法、生物组织代谢物的表征方法。本发明提供的固态衍生化水凝胶,包括水凝胶、衍生化试剂和水;所述衍生化试剂分散于固态衍生化水凝胶的三维网状结构内部和表面;所述水凝胶的质量占水凝胶、衍生化试剂和水总质量的百分数为5~45%;所述衍生化试剂在水凝胶、衍生化试剂和水形成的混合溶液中的质量浓度为0.1~200mg/mL;本发明提供的固态衍生化水凝胶对生物组织进行衍生化,衍生化效率高,能够显著提高生物组织中内源性代谢物的检测灵敏度,有效实现生物组织中低丰度、难电离的代谢物的质谱成像分析及原位表征。

1. 一种固态衍生生化水凝胶,其特征在于,包括水凝胶、衍生生化试剂和水;所述衍生生化试剂分散于固态衍生生化水凝胶的三维网状结构内部和表面;

所述水凝胶的质量占水凝胶、衍生生化试剂和水总质量的百分数为5~45%;

所述衍生生化试剂在水凝胶、衍生生化试剂和水形成的混合溶液中的质量浓度为0.1~200mg/mL。

2. 根据权利要求1所述的固态衍生生化水凝胶,其特征在于,所述水凝胶包括琼脂、琼脂糖或明胶中的一种或多种;

所述衍生生化试剂包括吉拉德试剂P、丹磺酰氯、丹磺酰肼和苯甲酰氯中的一种或多种。

3. 权利要求1或2任一项所述固态衍生生化水凝胶的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

将水凝胶、衍生生化试剂和水混合,得到混合溶液;

将所述混合溶液静置,得到固态衍生生化水凝胶;

所述混合溶液中水凝胶的质量百分数为5~45%;

所述混合溶液中衍生生化试剂的质量浓度为0.1~200mg/mL。

4. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,所述静置的温度为-20~4℃,时间为4~10h。

5. 权利要求1或2任一项所述固态衍生生化水凝胶或权利要求3-4任一项所述制备方法得到的固态衍生生化水凝胶在制备衍生生化生物组织中的应用。

6. 一种生物组织衍生生化方法,其特征在于,包括以下步骤:

提供生物组织切片;

将固态衍生生化水凝胶贴附于所述生物组织切片表面,进行衍生生化反应,制备得到衍生生化生物组织切片;

所述固态衍生生化水凝胶为权利要求1或2任一项所述固态衍生生化水凝胶或权利要求3或4任一项的制备方法得到的固态衍生生化水凝胶。

7. 根据权利要求6所述的衍生生化方法,其特征在于,所述衍生生化反应的温度为25~40℃,时间为15min~5h。

8. 根据权利要求6所述的衍生生化方法,其特征在于,所述生物组织切片包括心组织切片、肝组织切片、脾组织切片、肺组织切片、肾组织切片、脑组织切片、肌肉组织切片、生殖腺组织切片或肿瘤组织切片。

9. 一种生物组织代谢物非诊断和治疗为目的的表征方法,其特征在于,包括以下步骤:

按照权利要求6~8任意一项所述衍生生化方法得到衍生生化生物组织切片;

采用质谱成像技术对所述衍生生化生物组织切片中的代谢物进行表征。

10. 根据权利要求9所述的表征方法,其特征在于,所述代谢物包括羰基代谢物、羟基代谢物、羧基代谢物和巯基代谢物中的一种或多种。

固态衍生生化水凝胶及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物分析技术领域,特别涉及固态衍生生化水凝胶及其制备方法和应用、生物组织衍生生化方法、生物组织代谢物的表征方法。

背景技术

[0002] 组织衍生生化是在生物组织切片上利用具有高质谱响应官能团的衍生生化试剂对包含反应官能团的代谢物进行化学衍生生化,通过质谱成像技术测定和可视化衍生生化之后高响应的衍生生物离子,从而实现生物组织中低丰度、难电离代谢物的原位表征。

[0003] 质谱成像技术通常采用探针对生物组织或其他样本中所含的多种分子按空间位置逐点进行扫描检测,获得其离子强度与位置关系的多维数据阵,然后通过数据处理软件对不同质荷比 (m/z) 的离子按照其强度和空间位置进行重构和可视化,最终实现多种分子的同时成像分析。

[0004] 目前现有的组织衍生生化方法,大多是用于基质辅助激光解吸电离质谱 (Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, MALDI) 的喷涂法,该方法依赖于精密的喷涂装置,容易造成衍生生化试剂的过载。此外,将衍生生化试剂添加到喷雾溶剂中的在线衍生生化方法衍生生化效率低,只能针对极少数个别代谢物进行衍生生化,难以实现生物组织中具有不同官能团的多种类代谢物的衍生生化分析。

[0005] 然而,在生物组织中存在大量低丰度、弱离子化的代谢物,如神经递质、甾体激素、脂肪酸、脂肪醛等,其质谱检测灵敏度低,在进行质谱成像分析时易受背景离子的干扰。但这些代谢物具有重要的生物功能,参与多种疾病的发生、发展,是极具临床应用潜力的生物标志物,了解其在生物组织样本中的空间分布和相对含量,对解析其生理病理作用机制有着重要的意义。

发明内容

[0006] 本发明解决的技术问题在于提供固态衍生生化水凝胶及其制备方法和应用,本发明提供的固态衍生生化水凝胶对生物组织进行衍生生化,衍生生化效率高,能够显著提高生物组织中内源性代谢物的检测灵敏度,有效实现生物组织中低丰度、难电离的代谢物的质谱成像分析及原位表征。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明提供了如下技术方案:

[0008] 本发明技术方案的第一方面是提供了一种固态衍生生化水凝胶,包括水凝胶、衍生生化试剂和水;所述衍生生化试剂分散于固态衍生生化水凝胶的三维网状结构内部和表面;

[0009] 所述水凝胶的质量占水凝胶、衍生生化试剂和水总质量的百分数为5~45%;

[0010] 所述衍生生化试剂在水凝胶、衍生生化试剂和水形成的混合溶液中的质量浓度为0.1~200mg/mL。

[0011] 如无特殊说明,在本发明中,所用原料均为本领域技术人员熟知的市售产品。

[0012] 本发明提供的固态衍生生化水凝胶,包括水凝胶、衍生生化试剂和水;所述衍生生化试剂

均匀分散于固态衍生生化水凝胶的三维网状结构内部和表面；在本发明中，所述水凝胶优选包括琼脂、琼脂糖或明胶中的一种或多种，更优选包括琼脂、琼脂糖或明胶，最优选包括琼脂或明胶；在本发明中，所述衍生生化试剂优选包括吉拉德试剂P、丹磺酰氯、丹磺酰肼和苯甲酰氯中的一种或多种，更优选包括吉拉德试剂P、丹磺酰氯、丹磺酰肼或苯甲酰氯，在本发明中，当所述衍生生化试剂优选包括上述具体物质的两种以上时，本发明对所述具体物质的质量配比没有特殊要求，采用任意配比即可。在本发明中，所述吉拉德试剂P优选为 d_0 -吉拉德试剂P或 d_5 -吉拉德试剂P，所述 d_0 -吉拉德试剂P和 d_5 -吉拉德试剂P互为同位素关系。

[0013] 在本发明中，所述水凝胶的质量占水凝胶、衍生生化试剂和水总质量的百分数为5~45%，优选为10~35%，更优选为12.5~30%；所述衍生生化试剂在包含水凝胶、衍生生化试剂和水的混合溶液中的质量浓度为0.1~200mg/mL，优选为10~150mg/mL，最优选为25~100mg/mL。

[0014] 在本发明中，所述固态衍生生化水凝胶还包括pH调节剂，所述pH调节剂的用量优选为调节所述固态衍生生化水凝胶的pH值至衍生生化试剂与生物组织切片中的代谢物进行衍生生化反应所需的pH值，在本发明中，所述pH调节剂优选包括弱酸溶液或弱碱溶液，在本发明中，所述弱酸溶液优选包括甲酸溶液或醋酸溶液，所述弱碱溶液优选包括氨水，在本发明中，所述弱酸溶液的质量浓度优选为0.5~3%，更优选为1~2%；所述弱碱溶液的质量浓度优选为0.5~3%，更优选为1~2%。

[0015] 本发明技术方案的第二方面是提供了本发明技术方案第一方面所述固态衍生生化水凝胶的制备方法，包括以下步骤：

[0016] 将水凝胶、衍生生化试剂和水混合，得到混合溶液；

[0017] 将所述混合溶液静置，得到固态衍生生化水凝胶；

[0018] 所述混合溶液中水凝胶的质量百分数为5~45%；

[0019] 所述混合溶液中衍生生化试剂的质量浓度为0.1~200mg/mL。

[0020] 本发明提供了上述技术方案所述固态衍生生化水凝胶的制备方法，包括以下步骤：

[0021] 将水凝胶、衍生生化试剂和水混合，得到混合溶液；

[0022] 将所述混合溶液静置，得到固态衍生生化水凝胶；

[0023] 所述混合溶液中水凝胶的质量百分数为5~45%；

[0024] 所述混合溶液中衍生生化试剂的质量浓度为0.1~200mg/mL。

[0025] 本发明将水凝胶、衍生生化试剂和水混合，得到混合溶液。

[0026] 本发明对所述水凝胶、衍生生化试剂和水的混合顺序没有特殊要求，在本发明的具体实施例中，所述混合优选为将所述水凝胶和水配成水凝胶溶液后，再与衍生生化试剂混合；在本发明中，所述混合的温度优选为70℃；在本发明中，所述混合后优选添加pH调节剂，在本发明中，所述pH值调节剂的种类与范围与上文相同，在此不再赘述。

[0027] 得到混合溶液后，本发明将所述混合溶液静置，得到固态衍生生化水凝胶。

[0028] 在本发明中，所述静置的温度优选为-20~4℃，更优选为-15~2℃；所述静置的时间优选4~10h，更优选为5~8h，最优选为6h；在本发明中，所述静置优选在赋形模具中进行，本发明对所述赋形模具的形状和结构没有特殊要求。本发明通过控制静置的温度为-20~4℃，使所述混合溶液更有效的凝固成具有一定弹性和机械强度的固态衍生生化水凝胶。

[0029] 本发明将水凝胶、衍生生化试剂和水混合后静置，得到的固态衍生生化水凝胶，所述衍

生化试剂分散于固态衍生生化水凝胶的三维网状结构内部和表面,分散于固态衍生生化水凝胶表面的衍生生化试剂通过固态衍生生化水凝胶的物理吸附作用在固态衍生生化水凝胶表面形成含有衍生生化试剂的水分子层,为衍生生化反应提供良好的液态微环境。

[0030] 本发明技术方案的第三方面是提供了技术方案第一方面所述固态衍生生化水凝胶或上技术方案第二方面所述制备方法得到的固态衍生生化水凝胶在制备衍生生化生物组织中的应用。

[0031] 本发明对所述固态衍生生化水凝胶在生物组织衍生生化中的应用没有特殊要求,将所述固态衍生生化水凝胶和生物组织接触进行衍生生化反应即可。

[0032] 本发明技术方案的第四方面是提供了一种生物组织衍生生化方法,包括以下步骤:

[0033] 提供生物组织切片;

[0034] 将固态衍生生化水凝胶贴附于所述生物组织切片表面,进行衍生生化反应,制备得到衍生生化生物组织切片;

[0035] 所述固态衍生生化水凝胶为上述技术方案所述固态衍生生化水凝胶或上述技术方案所述制备方法得到的固态衍生生化水凝胶。

[0036] 本发明提供生物组织切片。

[0037] 在本发明中,所述生物组织切片优选包括心组织切片、肝组织切片、脾组织切片、肺组织切片、肾组织切片、脑组织切片、肌肉组织切片、生殖腺组织切片或肿瘤组织切片。

[0038] 在本发明的实施例中,所述生物组织切片的制备方法优选包括以下步骤:

[0039] 将生物组织依次进行解冻、包埋、切片和干燥,得到所述生物组织切片。

[0040] 在本发明中,所述生物组织的温度优选为 -80°C ,所述解冻的温度优选为 -20°C ;在本发明中,所述包埋用包埋剂优选为莱卡冷冻切片包埋剂(Leica Cryo-Gel),本发明对所述包埋的具体实施过程没有特殊要求。在本发明中,所述切片优选在切片机中进行,本发明对所述切片的具体实施过程没有特殊要求,在本发明中,所述生物组织切片的厚度优选为 $12\mu\text{m}$ 。在本发明中,所述干燥的温度优选为 25°C ,所述干燥的优选为6h。本发明对所述生物组织的来源没有特殊要求,在本发明的具体实施例中,所述生物组织为小鼠组织。

[0041] 得到固态衍生生化水凝胶和生物组织切片后,本发明将所述固态衍生生化水凝胶贴附于所述生物组织切片任一侧表面,进行衍生生化反应,得到衍生生化生物组织切片。

[0042] 在本发明中,所述衍生生化反应的温度优选为 37°C ;时间优选为 $15\text{min}\sim 5\text{h}$,更优选为 $30\text{min}\sim 3\text{h}$,最优选为 $1\text{h}\sim 2\text{h}$ 。

[0043] 贴附之前,本发明优选将所述固态衍生生化水凝胶优选制备成固态衍生生化水凝胶片,在本发明中,所述制备方法优选为切制。在本发明中,所述固态衍生生化水凝胶片的尺寸优选为 $20\text{mm}\times 10\text{mm}\times 10\text{mm}$,在本发明中,所述固态衍生生化水凝胶片优选根据生物组织切片的尺寸进行微调,所述固态衍生生化水凝胶片的尺寸优选与生物组织切片的尺寸相同。

[0044] 本发明制备的固态衍生生化水凝胶通过物理吸附方式在固态衍生生化水凝胶表面形成含有衍生生化试剂的水分子层,提供了良好的液态微环境;通过固态衍生生化水凝胶表面的水分子层与生物组织切片表面进行充分接触,使水分子层中的衍生生化试剂与生物组织中的代谢物进行充分的衍生生化反应;同时利用固态衍生生化水凝胶去除衍生生化后的生物组织表面的无机盐、季铵盐、易溶于水的高质谱响应的代谢物。

[0045] 本发明技术方案的第五方面提供了一种生物组织代谢物的非诊断和治疗为目的

的表征方法,包括以下步骤:

[0046] 按照技术方案第四方面所述衍生化方法得到衍生化生物组织切片;

[0047] 采用质谱成像技术对所述衍生化生物组织切片中的代谢物进行表征。

[0048] 本发明按照上述技术方案所述衍生化方法得到衍生化生物组织切片。

[0049] 在本发明中,所述衍生化生物组织切片在表征前优选进行前处理,在本发明中,所述前处理优选为干燥,所述干燥的温度优选为25℃,干燥的时间优选为6h,所述干燥优选真空干燥,本发明对所述真空干燥的真空度没有特殊要求。

[0050] 本发明采用质谱成像技术对所述衍生化生物组织切片中的代谢物进行表征。

[0051] 在本发明中,采用质谱成像技术对所述衍生化生物组织切片中的代谢物进行表征的方法包括以下步骤:

[0052] 采用质谱成像技术,获得衍生化生物组织切片中衍生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵;

[0053] 参比代谢物发生衍生化后生成的衍生化代谢物离子的精确质量数,设定质量误差为5ppm,对衍生化的代谢物离子进行提取和识别,并通过二级质谱分析对代谢物的分子结构进行进一步推断,通过质谱成像技术中的数据处理软件,对衍生化生物组织切片中的衍生代谢物按照离子强度和位置关系进行重构和可视化。

[0054] 本发明采用质谱成像技术,获得衍生化生物组织切片中衍生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵。

[0055] 本发明对所述质谱成像技术没有特殊要求,采用本领域技术熟知的质谱成像技术即可;在本发明的具体实施例中,所述质谱成像技术为本发明人自主研发的空气动力辅助解吸电喷雾离子化质谱成像技术(Air flow assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, AFADESI-MSI)。

[0056] 在本发明中,所述质谱成像技术的具体实施过程为:配制喷雾溶液,设定电压为7KV,喷雾流速为5 μ L/min,喷雾气压力为0.8MPa,X轴扫描速度为2mm/s,Y轴步进距离为2mm/s,所述喷雾溶液优选为乙腈和水的混合溶液,所述乙腈和水的体积比优选为8:2;设定采集模式为正离子模式,对衍生化生物组织切片中的代谢物按空间位置逐点进行扫描检测,获得衍生化生物组织切片中衍生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵。

[0057] 获得衍生化生物组织切片中衍生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵后,本发明参比代谢物发生衍生化后生成的衍生化代谢物离子的精确质量数,设定质量误差为5ppm,对衍生化的代谢物离子进行提取和识别,并通过二级质谱分析对代谢物的分子结构进行进一步推断,通过质谱成像技术中的数据处理软件,对衍生化生物组织切片中的衍生代谢物按照离子强度和位置关系进行重构和可视化。

[0058] 在本发明中,所述代谢物发生衍生化后生成的衍生化代谢物离子的精确质量数的获得方法包括已知数据库中储存的数据或通过实验室测量衍生化加标生物组织浆条获得的数据。在本发明中,所述已知数据库包括Metlin数据库、HMDB数据库或Lipid Maps数据库。

[0059] 在本发明中,通过实验室测量衍生化加标生物组织匀浆条获得数据的方法与上述衍生化生物组织切片中衍生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵的

获得方法相同,在此不再赘述。

[0060] 在本发明中,所述衍生化加标生物组织匀浆条的制备方法包括以下步骤:

[0061] 将生物组织匀浆和含有代谢物标准品的标准储备液混合,得到加标生物组织匀浆;

[0062] 将所述加标生物组织匀浆固化,得到加标生物组织匀浆条;

[0063] 将所述加标生物组织匀浆条按照上述技术方案所述衍生化方法进行衍生化,得到衍生化加标生物组织匀浆条。

[0064] 本发明将生物组织匀浆和含有代谢物标准品的标准储备液混合,得到加标生物组织匀浆。

[0065] 在本发明中,所述生物组织匀浆优选为生物组织和生理盐水的混合溶液,在本发明中,所述生物组织的质量和生理盐水的体积比优选为3:4;在本发明中,所述含有代谢物标准品的标准储备液中的代谢物标准品优选包括羰基代谢物、羟基代谢物、羧基代谢物和巯基代谢物中的一种或多种,更优选为羰基代谢物,最优选为孕烯酮醇、睾酮、雄酮和脂肪醛;在本发明中,所述加标生物组织匀浆中代谢物标准品的质量浓度优选为100 μ g/mL。

[0066] 得到加标生物组织匀浆后,本发明将所述加标生物组织匀浆固化,得到加标生物组织匀浆条。

[0067] 本发明对所述固化的具体实施方案没有特殊要求,在本发明的具体实施例中,所述固化为:用打孔器于PVC不干胶上制作连续的25mm矩形孔;将打孔后的PVC不干胶粘附于正电荷防脱载玻片上;利用微量移液器吸取5 μ L加标生物组织匀浆于载玻片的矩形孔中;将载玻片置于真空干燥器中干燥6h。

[0068] 得到加标生物组织匀浆条后,本发明将所述加标生物组织匀浆条按照上述技术方案所述衍生化方法进行衍生化,得到衍生化加标生物组织匀浆条。

[0069] 在本发明中,所述代谢物的范围与标准代谢物种类的范围相同,在此不再赘述。

[0070] 本发明提供了一种固态衍生化水凝胶,包括水凝胶、衍生化试剂和水;所述衍生化试剂分散于固态衍生化水凝胶的三维网状结构内部和表面;所述水凝胶的质量占水凝胶、衍生化试剂和水总质量的百分数为5~45%;所述衍生化试剂在水凝胶、衍生化试剂和水形成的混合溶液中的质量浓度为0.1~200mg/mL。本发明提供的固态衍生化水凝胶将衍生化试剂均匀分散于固态衍生化水凝胶的三维网状结构内部和表面;分散于固态衍生化水凝胶表面的衍生化试剂通过固态衍生化水凝胶的物理吸附作用在固态衍生化水凝胶表面形成含有衍生化试剂的水分子层,为衍生化反应提供良好的液态微环境;通过固态衍生化水凝胶表面的水分子层与生物组织表面进行充分接触,使水分子层中的衍生化试剂与代谢物进行充分的衍生化反应,且当水分子层中的衍生化试剂浓度因反应降低时,分散于水凝胶三维网络结构内部的衍生化试剂在浓度差的作用下,不断向水分子层中扩散,提高了生物组织中代谢物的衍生化效率;同时利用固态衍生化水凝胶表面的水分子层对衍生化后的生物组织表面的水溶性无机盐、季铵盐、易溶于水的高质谱响应的代谢物进行溶解,并在浓度差的作用下,向固态衍生化水凝胶的三维网络结构中扩散,实现对水溶性无机盐、季铵盐、易溶于水的高质谱响应的代谢物的去除,减小背景干扰。本发明提供的固态衍生化水凝胶对生物组织进行衍生化时,衍生化效率高,能够显著提高生物组织中内源性代谢物的检测灵敏度,可以有效实现生物组织中低丰度、难电离的代谢物的质谱成像分析及原位表征。

附图说明

[0071] 图1为本发明实施例1提供的固态衍生生化水凝胶进行生物组织衍生生化方法的示意图；

[0072] 图2为本发明应用例1提供的固态衍生生化水凝胶对加标大鼠肝组织匀浆条进行衍生生化前后雄酮和黄体酮的质谱成像结果对比图；

[0073] 图3为本发明应用例1提供的固态衍生生化水凝胶对加标大鼠肝组织匀浆条进行衍生生化前后雄酮和黄体酮的质谱响应结果对比图；

[0074] 图4为本发明应用例2提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片进行衍生生化前后未知代谢物的质谱成像结果对比图；

[0075] 图5为本发明应用例2提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片进行衍生生化前后未知代谢物的质谱响应结果对比图；

[0076] 图6本发明应用例2提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片衍生生化前后左旋肉碱C18:0、C18:1、C18:2和C16:0的质谱成像结果对比图；

[0077] 图7本发明应用例2提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片衍生生化前后溶血磷脂酰胆碱C18:0、C18:1、C18:2和C16:0的质谱成像结果对比图；

[0078] 图8本发明应用例2提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片衍生生化前后磷脂酰胆碱C34:1和C34:2的质谱成像结果对比图；

[0079] 图9本发明应用例2提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片衍生生化前后左旋肉碱C18:0、C18:1、C18:2、C16:0、溶血磷脂酰胆碱C18:0、C18:1、C18:2、C16:0和磷脂酰胆碱C34:1、C34:2的质谱响应结果对比图；

[0080] 图10本发明应用例3提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠脑组织切片衍生化的实物图；

[0081] 图11本发明应用例2~4提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片、脑组织切片和肝组织切片衍生生化后短碳链脂肪醛类代谢物FAL3:0、FAL4:0、FAL5:0、FAL6:0、FAL7:0、FAL8:0、FAL9:0和FAL10:0的质谱成像空间分布图；

[0082] 图12本发明应用例2~4提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片、脑组织切片和肝组织切片衍生生化后长碳链脂肪醛类代谢物FAL11:0、FAL12:0、FAL13:0、FAL14:0、FAL15:0、FAL16:0、FAL17:0和FAL18:0的质谱成像空间分布图；

[0083] 图13本发明应用例2~4提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片、脑组织切片和肝组织切片衍生生化后短碳链含氧脂肪酸类代谢物FA5:1;0、FA7:1;0、FA8:1;0、FA9:1;0和FA10:1;0的质谱成像空间分布图；

[0084] 图14本发明应用例2~4提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片、脑组织切片和肝组织切片衍生生化后长碳链含氧脂肪酸类代谢物FA11:1;0、FA12:1;0、FA13:1;0和FA14:1;0的空间分布图；

[0085] 图15本发明应用例2~4提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片、脑组织切片和肝组织切片衍生生化后脂质代谢物FAL16:4;0和FA17:5;0₂的质谱成像空间分布图；

[0086] 图16本发明应用例2~4提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片、脑组织切片和肝组织切片衍生生化后脂质代谢物FAL6:2和FA9:4的质谱成像空间分布图；

[0087] 图17本发明应用例2~4提供的固态衍生生化水凝胶对大鼠肾组织切片、脑组织切片

和肝组织切片衍生化后脂质代谢物FAL17:4;0和FA19:1;02的质谱成像空间分布图;

[0088] 图18本发明应用例5提供的采用同位素 d_0 -吉拉德试剂和 d_5 -吉拉德试剂制备得到的固态衍生化水凝胶对大鼠肾组织切片和脑组织切片衍生化后代谢物FAL10:2;0、FAL6:0;0、FAL14:3和FAL11:0的质谱成像空间分布对比图。

具体实施方式

[0089] 为了更好地理解本发明,下面结合实施例进一步阐明本发明的内容,但本发明的内容不仅仅局限于下面的实施例。

[0090] 实施例1

[0091] 于70℃配制含有1%甲酸和50mg/mL d_0 -吉拉德试剂P的浓度为15%的明胶水凝胶的混合水溶液,转移至室温放凉1小时后置于4℃冰箱静置6小时,得到具有一定机械强度的含有衍生化试剂的固体衍生化水凝胶。

[0092] 应用例1

[0093] 取含有孕烯酮醇、睾酮、雄酮和脂肪醛(FAL 6:0、FAL 7:0、FAL 8:0)的标准储备液0.1mL,生理盐水0.4mL与0.3g大鼠肝组织组织匀浆液,配制成含上述标准代谢物浓度为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的加标大鼠肝组织匀浆;

[0094] 取上述配制的加标大鼠肝组织匀浆,在打孔器于PVC不干胶上制作连续的2mm×5mm矩形孔,再将PVC不干胶粘附于正电荷防脱载玻片上;利用微量移液器准确吸取5 μL 加标大鼠肝组织匀浆于载玻片的类矩形孔中,并置于真空干燥器中抽真空6h,制备加标大鼠肝组织匀浆条;

[0095] 将实施例1制备得到的固体衍生化水凝胶按照20mm×10mm×10mm的尺寸,切成一系列完整的固体衍生化水凝胶片,并按照加标大鼠肝组织匀浆条对其尺寸进行微调,将制备好的固体衍生化水凝胶片贴附于加标大鼠肝组织匀浆条一侧表面,于37℃下放置2小时,完成加标大鼠肝组织匀浆条中代谢物与衍生化试剂的衍生化反应,得到衍生化加标大鼠肝组织匀浆条;并置于真空中干燥连续干燥6h;

[0096] 配制乙腈:水体积比为8:2的喷雾溶液,将衍生化加标大鼠肝组织匀浆条进行AFADESI-MSI的测试,电压设定为7KV,喷雾针流速为5 $\mu\text{L}/\text{min}$,喷雾气压力为0.8MPa,X轴扫描速度为2mm/s,Y轴步进距离为2mm/s,采集模式为正离子模式进行采集,获得衍生化加标大鼠肝组织匀浆条中衍生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵;

[0097] 采用相同的方法测定未衍生化的加标大鼠肝组织匀浆条中标准品的代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵;

[0098] 得到衍生化加标大鼠肝组织匀浆条和未衍生化加标大鼠肝组织匀浆条中的雄酮和黄体酮的质谱成像结果对比图和质谱响应结果对比图,如图2、图3和表1所示,被衍生化的雄酮和黄体酮的质谱响应分别提高了124.72倍和30.39倍。

[0099] 应用例2

[0100] 将冰冻大鼠肾组织于-80℃中转移至-20℃,并用Lecia Cryo-Gel包埋胶进行包埋固定于切片机中,进行连续12 μm 的切片,得到大鼠肾组织切片,并于25℃干燥6小时备用;

[0101] 将实施例1制备得到的固体衍生化水凝胶按照20mm×10mm×10mm的尺寸,切成一系列完整的固体衍生化水凝胶片,并按照大鼠肾组织切片对其尺寸进行微调,将制备好的

固体衍生化水凝胶片贴附于大鼠肾组织切片一侧表面,于37℃下放置2小时,完成大鼠组织中代谢物与衍生化试剂的衍生化反应,得到衍生化大鼠肾组织切片;并置于真空中干燥连续干燥6h;

[0102] 配制乙腈:水体积比为8:2的喷雾溶液,将完成衍生化的大鼠肾组织切片进行AFADESI-MSI的测试,电压设定为7KV,喷雾针流速为5 μ L/min,喷雾气压力为0.8MPa,X轴扫描速度为2mm/s,Y轴步进距离为2mm/s,采集模式为正离子模式进行采集,获得衍生化大鼠肾组织切片中衍生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵;

[0103] 设置质量误差为5ppm,根据AFADESI-MSI的数据处理软件对衍生化大鼠肾组织切片中代谢物的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵进行提取,得到衍生化大鼠肾组织切片中的代谢物的质谱成像图。

[0104] 对比经过衍生化后与未衍生化的大鼠肾组织切片的未知代谢物的质谱成像结果对比图和质谱响应结果对比图,如图4和图5和表1所示,被衍生化的未知代谢物的质谱响应提高了33.58倍;同时,如图6、图7、图8和图9所示,大鼠肾组织切片经过固态衍生化水凝胶衍生化处理,未发生衍生化的左旋肉碱C18:0、C18:1、C18:2和C16:0、溶血磷脂酰胆碱C18:0、C18:1、C18:2和C16:0和磷脂酰胆碱C34:1和C34:2代谢物的质谱响应均有4.5倍以上的提升,表明本发明提供的通过固态衍生化水凝胶进行衍生化的方法有效去除了高浓度的盐类成分,降低了基质效应,提高了弱极性代谢物的的质谱响应。

[0105] 表1衍生化前后大鼠肝组织匀浆条中雄酮和黄体酮以及衍生化前后大鼠肾组织切片中未知代谢物的质谱响应结果

代谢物种类	强度 (单位: NL)		衍生化后/前
	衍生化后	衍生化前	
[0106] 雄酮	2946594	23625	124.72
黄体酮	8267615	272021	30.39
未知代谢物	110681	3296	33.58

[0107] 表2衍生化前后的大鼠肾组织切片的左旋肉碱C18:0、C18:1、C18:2和C16:0、溶血磷脂酰胆碱C18:0、C18:1和C16:0和磷脂酰胆碱C34:1和C34:2代谢物的的质谱响应结果

代谢物种类	强度 (单位: NL)		衍生化后/前
	衍生化后	衍生化前	
[0108] 左旋肉碱 C16:0	47206	8275	5.70
左旋肉碱 C18:0	22708	4987	4.55
左旋肉碱 C18:1	61930	10703	5.79
左旋肉碱 C18:2	45558	4921	9.26
溶血磷脂酰胆碱 C16:0	236934	8636	27.43

[0109]	溶血磷脂酰胆碱 C18:0	104043	2849	36.52
	溶血磷脂酰胆碱 C18:1	180615	547	330.19
	磷脂酰胆碱 C34:1	376048	34843	10.79
	磷脂酰胆碱 C34:2	205418	17149	11.98

[0110] 应用例3

[0111] 将冰冻大鼠脑组织于-80℃中转移至-20℃,并用Lecia Cryo-Gel包埋胶进行包埋固定于切片机中,进行连续12μm的切片,得到大鼠脑组织切片,并于25℃干燥6小时备用;

[0112] 将固体衍生生化水凝胶按照20mm×10mm×10mm的尺寸,切成一系列完整的固体衍生生化水凝胶片,并按照大鼠脑组织切片对其尺寸进行微调,将制备好的固体衍生生化水凝胶片贴附于大鼠脑组织切片表面(如图10所示),于37℃下放置2小时,完成大鼠组织中代谢物与衍生生化试剂的衍生生化反应,得到衍生生化大鼠脑组织切片;并置于真空中干燥连续干燥6h;

[0113] 配制乙腈:水体积比为8:2的喷雾溶液,将完成衍生生化大鼠脑组织切片进行AFADESI-MSI的测试,电压设定为7KV,喷雾针流速为5μL/min,喷雾气压力为0.8MPa,X轴扫描速度为2mm/s,Y轴步进距离为2mm/s,采集模式为正离子模式进行采集,获得衍生生化大鼠脑组织切片中衍生生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵;

[0114] 设置质量误差为5ppm,根据AFADESI-MSI的数据处理软件对衍生生化大鼠脑组织切片中代谢物的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵进行提取,得到衍生生化大鼠脑组织切片中的代谢物的质谱成像图。

[0115] 应用例4

[0116] 将冰冻大鼠肝组织于-80℃中转移至-20℃,并用Lecia Cryo-Gel包埋胶进行包埋固定于切片机中,进行连续12μm的切片,得到大鼠肝组织切片,并于25℃干燥6小时备用;

[0117] 将实施例1制备得到的固体衍生生化水凝胶按照20mm×10mm×10mm的尺寸,切成一系列完整的固体衍生生化水凝胶片,并按照大鼠肝组织切片对其尺寸进行微调,将制备好的固体衍生生化水凝胶片贴附于大鼠肝组织切片一侧表面,于37℃下放置2小时,完成大鼠肝组织中代谢物与衍生生化试剂的衍生生化反应,得到衍生生化大鼠肝组织切片;并置于真空中干燥连续干燥6h;

[0118] 配制乙腈:水体积比为8:2的喷雾溶液,将完成衍生生化大鼠肝组织切片进行AFADESI-MSI的测试,电压设定为7KV,喷雾针流速为5μL/min,喷雾气压力为0.8MPa,X轴扫描速度为2mm/s,Y轴步进距离为2mm/s,采集模式为正离子模式进行采集,获得衍生生化大鼠肝组织切片中衍生生化代谢物离子的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵;

[0119] 设置质量误差为5ppm,根据AFADESI-MSI的数据处理软件对衍生生化大鼠肝组织切片中代谢物的质荷比与离子强度、位置关系的多维数据阵进行提取,得到衍生生化大鼠肝组织切片中的代谢物的质谱成像图。

[0120] 将应用例2~4得到的大鼠肾、脑和肝的质谱数据进行Metlin、HMDB、Lipid Maps数据库比对,并通过脂质碳链数增加及不饱和度增加规则,共得到266种脂肪酸及含氧脂肪酸类代谢物,如表3所示。

[0121] 根据表3中衍生生化后代谢物的精确质量数,对大鼠脑、肾和肝组织中部分代谢物数

据进行提取,对短碳链、长碳链脂肪醛及含氧脂肪酸进行空间分布成像表征,如图11、图12、图13、图14、图15、图16和图17所示。结果表明,通过本发明提供的生物组织衍生化方法可以实现对不同生物组织样本中的不同类型代谢物的衍生化,有效提高质谱成像分析的灵敏度。

[0122] 表3应用例2~4通过衍生化和质谱分析技术对生物组织中266种脂肪醛及含氧脂肪酸类代谢物的精确识别

	代谢物名称	分子式	精确质量数	理论衍生化后	实测衍生化后	误差
				精确质量数	精确质量数	
[0123]	FAL 5:0	C ₅ H ₁₀ O	86.0732	220.1445	220.1442	-1
	FAL 6:0	C ₆ H ₁₂ O	100.0888	234.1601	234.1597	-2
	FAL 6:0;O	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.0837	250.155	250.1546	-2
	FAL 6:1	C ₆ H ₁₀ O	98.0732	232.1445	232.1441	-2
	FAL 6:1;O	C ₆ H ₁₀ O ₂	114.0681	248.1394	248.139	-2

	FAL 7:0	C ₇ H ₁₄ O	114.1045	248.1758	248.1753	-2
	FAL 7:1	C ₇ H ₁₂ O	112.0888	246.1601	246.1597	-2
	FAL 7:1;O	C ₇ H ₁₂ O ₂	128.0837	262.155	262.1546	-2
	FAL 7:2	C ₇ H ₁₀ O	110.0732	244.1445	244.1441	-2
	FAL 7:2;O	C ₇ H ₁₀ O ₂	126.0681	260.1394	260.139	-2
	FAL 8:0	C ₈ H ₁₆ O	128.1201	262.1914	262.1918	2
	FAL 8:1	C ₈ H ₁₄ O	126.1045	260.1758	260.1762	2
	FAL 8:1;O	C ₈ H ₁₄ O ₂	142.0994	276.1707	276.1704	-1
	FAL 8:2	C ₈ H ₁₂ O	124.0888	258.1601	258.1605	2
	FAL 8:3	C ₈ H ₁₀ O	122.0732	256.1445	256.1448	1
	FAL 9:0	C ₉ H ₁₈ O	142.1358	276.2071	276.2075	1
	FAL 9:1	C ₉ H ₁₆ O	140.1201	274.1914	274.1918	1
	FAL 9:1;O	C ₉ H ₁₆ O ₂	156.115	290.1863	290.1859	-1
	FAL 9:1;O2	C ₉ H ₁₆ O ₃	172.1099	306.1812	306.1806	-2
[0124]	FAL 9:2	C ₉ H ₁₄ O	138.1045	272.1758	272.1762	1
	FAL 9:2;O	C ₉ H ₁₄ O ₂	154.0994	288.1707	288.1702	-2
	FAL 9:3	C ₉ H ₁₂ O	136.0888	270.1601	270.1604	1
	FAL 10:0	C ₁₀ H ₂₀ O	156.1514	290.2227	290.222	-2
	FAL 10:1	C ₁₀ H ₁₈ O	154.1358	288.2071	288.2074	1
	FAL 10:2	C ₁₀ H ₁₆ O	152.1201	286.1914	286.1918	1
	FAL 10:3	C ₁₀ H ₁₄ O	150.1045	284.1758	284.1762	1
	FAL 11:0	C ₁₁ H ₂₂ O	170.1671	304.2384	304.2377	-2
	FAL 11:1	C ₁₁ H ₂₀ O	168.1514	302.2227	302.222	-2
	FAL 11:2	C ₁₁ H ₁₈ O	166.1358	300.2071	300.2074	1
	FAL 11:3	C ₁₁ H ₁₆ O	164.1201	298.1914	298.1918	1
	FAL 11:4	C ₁₁ H ₁₄ O	162.1045	296.1758	296.1751	-2
	FAL 12:0	C ₁₂ H ₂₄ O	184.1827	318.254	318.2544	1
	FAL 12:1	C ₁₂ H ₂₂ O	182.1671	316.2384	316.2386	1
	FAL 12:1;O	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.1463	330.2176	330.2169	-2
	FAL 12:2	C ₁₂ H ₂₀ O	180.1514	314.2227	314.222	-2

	FAL 12:5	C ₁₂ H ₁₄ O	174.1045	308.1758	308.1751	-2
	FAL 13:0	C ₁₃ H ₂₆ O	198.1984	332.2697	332.2689	-2
	FAL 13:1	C ₁₃ H ₂₄ O	196.1827	330.254	330.2531	-3
	FAL 13:3	C ₁₃ H ₂₀ O	192.1514	326.2227	326.222	-2
	FAL 14:0	C ₁₄ H ₂₈ O	212.214	346.2853	346.2845	-2
	FAL 14:1	C ₁₄ H ₂₆ O	210.1984	344.2697	344.269	-2
	FAL 14:1;O	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	226.1933	360.2646	360.2641	-1
	FAL 14:2	C ₁₄ H ₂₄ O	208.1827	342.254	342.2534	-2
	FAL 14:2;O	C ₁₄ H ₂₄ O ₂	224.1776	358.2489	358.248	-3
	FAL 14:3	C ₁₄ H ₂₂ O	206.1671	340.2384	340.2375	-3
	FAL 14:4	C ₁₄ H ₂₀ O	204.1514	338.2227	338.2219	-2
	FAL 14:5;O2	C ₁₄ H ₁₈ O ₃	234.1256	368.1969	368.1961	-2
	FAL 15:0	C ₁₅ H ₃₀ O	226.2297	360.301	360.3001	-2
	FAL 15:1	C ₁₅ H ₂₈ O	224.214	358.2853	358.2845	-2
	FAL 15:4	C ₁₅ H ₂₂ O	218.1671	352.2384	352.2376	-2
[0125]	FAL 16:0	C ₁₆ H ₃₂ O	240.2453	374.3166	374.317	1
	FAL 16:0;O	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.2402	390.3115	390.3107	-2
	FAL 16:1	C ₁₆ H ₃₀ O	238.2297	372.301	372.3002	-2
	FAL 16:2	C ₁₆ H ₂₈ O	236.214	370.2853	370.2856	1
	FAL 16:2;O	C ₁₆ H ₂₈ O ₂	252.2089	386.2802	386.2795	-2
	FAL 16:3	C ₁₆ H ₂₆ O	234.1984	368.2697	368.2702	1
	FAL 17:0	C ₁₇ H ₃₄ O	254.261	388.3323	388.3313	-3
	FAL 17:1	C ₁₇ H ₃₂ O	252.2453	386.3166	386.3158	-2
	FAL 17:2	C ₁₇ H ₃₀ O	250.2297	384.301	384.3007	-1
	FAL 17:3	C ₁₇ H ₂₈ O	248.214	382.2853	382.2844	-2
	FAL 18:0	C ₁₈ H ₃₆ O	268.2766	402.3479	402.3484	1
	FAL 18:1	C ₁₈ H ₃₄ O	266.261	400.3323	400.3327	1
	FAL 18:2	C ₁₈ H ₃₂ O	264.2453	398.3166	398.317	1
	FAL 18:3	C ₁₈ H ₃₀ O	262.2297	396.301	396.3014	1
	FAL 19:0	C ₁₉ H ₃₈ O	282.2923	416.3636	416.3625	-3

	FAL 19:1	C ₁₉ H ₃₆ O	280.2766	414.3479	414.3468	-3
	FAL 20:0	C ₂₀ H ₄₀ O	296.3079	430.3792	430.3784	-2
	FAL 20:4	C ₂₀ H ₃₂ O	288.2453	422.3166	422.3157	-2
	FAL 2:0	C ₂ H ₄ O	44.0262	178.0975	178.0972	-2
	FAL 2:0;O	C ₂ H ₄ O ₂	60.0211	194.0924	194.0923	-1
	FAL 2:1	C ₂ H ₂ O	42.0106	176.0819	176.0817	-1
	FAL 2:1;O	C ₂ H ₂ O ₂	58.0055	192.0768	192.0766	-1
	FAL 3:0	C ₃ H ₆ O	58.0419	192.1132	192.1129	-1
	FAL 3:0;O	C ₃ H ₆ O ₂	74.0368	208.1081	208.1078	-1
	FAL 3:1	C ₃ H ₄ O	56.0262	190.0975	190.0973	-1
	FAL 3:1;O	C ₃ H ₄ O ₂	72.0211	206.0924	206.0922	-1
	FAL 3:2	C ₃ H ₂ O	54.0106	188.0819	188.0816	-1
	FAL 4:0	C ₄ H ₈ O	72.0575	206.1288	206.1285	-2
	FAL 4:0;O	C ₄ H ₈ O ₂	88.0524	222.1237	222.1234	-1
[0126]	FAL 4:1	C ₄ H ₆ O	70.0419	204.1132	204.1129	-1
	FAL 5:1	C ₅ H ₈ O	84.0575	218.1288	218.1285	-1
	FAL 5:1;O	C ₅ H ₈ O ₂	100.0524	234.1237	234.1234	-1
	FAL 5:2;O	C ₅ H ₆ O ₂	98.0368	232.1081	232.1077	-2
	FAL 7:0;O	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.0994	264.1707	264.1702	-2
	FAL 7:4	C ₇ H ₆ O	106.0419	240.1132	240.1127	-2
	FAL 7:4;O	C ₇ H ₆ O ₂	122.0368	256.1081	256.1077	-1
	FAL 8:0;O	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.1150	278.1863	278.1858	-2
	FAL 8:4	C ₈ H ₈ O	120.0575	254.1288	254.1283	-2
	FAL 8:4;O	C ₈ H ₈ O ₂	136.0524	270.1237	270.1233	-2
	FAL 9:0;O	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.1307	292.2020	292.2013	-2
	FAL 9:3;O	C ₉ H ₁₂ O ₂	152.0837	286.1550	286.1545	-2
	FAL 9:5	C ₉ H ₈ O	132.0575	266.1288	266.1283	-2
	FAL 10:0;O	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.1463	306.2176	306.2169	-2
	FAL 10:1;O	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170.1307	304.2020	304.2014	-2
	FAL 10:2;O	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	168.1150	302.1863	302.1857	-2

	FAL 11:0;O	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186.1620	320.2333	320.2325	-2
	FAL 11:1;O	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	184.1463	318.2176	318.2173	-1
	FAL 11:2;O	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.1307	316.2020	316.2014	-2
	FAL 11:3;O	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	180.1150	314.1863	314.1856	-2
	FAL 12:0;O	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200.1776	334.2489	334.2482	-2
	FAL 12:2;O	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.1463	330.2176	330.2169	-2
	FAL 12:3	C ₁₂ H ₁₈ O	178.1358	312.2071	312.2061	-3
	FAL 12:3;O	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194.1307	328.2020	328.2013	-2
	FAL 12:4	C ₁₂ H ₁₆ O	176.1201	310.1914	310.1907	-2
	FAL 12:4;O	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192.1150	326.1863	326.1858	-2
	FAL 12:6	C ₁₂ H ₁₂ O	172.0888	306.1601	306.1595	-2
	FAL 12:6;O	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	188.0837	322.1550	322.1545	-2
	FAL 13:0;O	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214.1933	348.2646	348.2638	-2
	FAL 13:1;O	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	212.1776	346.2489	346.2486	-1
	FAL 13:2	C ₁₃ H ₂₂ O	194.1671	328.2384	328.2376	-2
[0127]	FAL 13:2;O	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	210.1620	344.2333	344.2326	-2
	FAL 13:3;O	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	208.1463	342.2176	342.2169	-2
	FAL 13:4	C ₁₃ H ₁₈ O	190.1358	324.2071	324.2065	-2
	FAL 13:4;O	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206.1307	340.2020	340.2014	-2
	FAL 14:0;O	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.2089	362.2802	362.2794	-2
	FAL 14:3;O	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	222.1620	356.2333	356.2324	-2
	FAL 14:4;O	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220.1463	354.2176	354.2169	-2
	FAL 14:5	C ₁₄ H ₁₈ O	202.1358	336.2071	336.2062	-3
	FAL 15:0;O	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.2246	376.2959	376.2951	-2
	FAL 15:1;O	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	240.2089	374.2802	374.2796	-2
	FAL 15:2;O	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	238.1933	372.2646	372.2642	-1
	FAL 15:3	C ₁₅ H ₂₄ O	220.1827	354.2540	354.2532	-2
	FAL 15:3;O	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	236.1776	370.2489	370.2481	-2
	FAL 15:4;O	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.1620	368.2333	368.2326	-2
	FAL 15:5	C ₁₅ H ₂₀ O	216.1514	350.2227	350.222	-2

	FAL 15:5;O	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	232.1463	366.2176	366.2171	-1
	FAL 15:6	C ₁₅ H ₁₈ O	214.1358	348.2071	348.2062	-2
	FAL 16:1;O	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254.2246	388.2959	388.2951	-2
	FAL 16:3;O	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	250.1933	384.2646	384.2638	-2
	FAL 16:4	C ₁₆ H ₂₄ O	232.1827	366.2540	366.2532	-2
	FAL 16:4;O	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	248.1776	382.2489	382.2484	-1
	FAL 16:5	C ₁₆ H ₂₂ O	230.1671	364.2384	364.2374	-3
	FAL 16:5;O	C ₁₆ H ₂₂ O ₂	246.1620	380.2333	380.2321	-3
	FAL 16:6	C ₁₆ H ₂₀ O	228.1514	362.2227	362.2217	-3
	FAL 16:7	C ₁₆ H ₁₈ O	226.1358	360.2071	360.2073	1
	FAL 16:9	C ₁₆ H ₁₄ O	222.1045	356.1758	356.1749	-2
	FAL 17:0;O	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.2559	404.3272	404.3263	-2
	FAL 17:1;O	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268.2402	402.3115	402.3109	-2
	FAL 17:2;O	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	266.2246	400.2959	400.2955	-1
	FAL 17:3;O	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	264.2089	398.2802	398.2794	-2
[0128]	FAL 17:4	C ₁₇ H ₂₆ O	246.1984	380.2697	380.2688	-2
	FAL 17:4;O	C ₁₇ H ₂₆ O ₂	262.1933	396.2646	396.2639	-2
	FAL 17:5	C ₁₇ H ₂₄ O	244.1827	378.2540	378.2529	-3
	FAL 17:6	C ₁₇ H ₂₂ O	242.1671	376.2384	376.2371	-3
	FAL 17:6;O	C ₁₇ H ₂₂ O ₂	258.1620	392.2333	392.2357	6
	FAL 18:0;O	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.2715	418.3428	418.342	-2
	FAL 18:1;O	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.2559	416.3272	416.3264	-2
	FAL 18:2;O	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.2402	414.3115	414.3107	-2
	FAL 18:3;O	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.2246	412.2959	412.2951	-2
	FAL 18:4	C ₁₈ H ₂₈ O	260.2140	394.2853	394.2844	-2
	FAL 18:4;O	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	276.2089	410.2802	410.2794	-2
	FAL 18:10;O	C ₁₈ H ₁₆ O ₂	264.1150	398.1863	398.1834	-7
	FAL 19:2	C ₁₉ H ₃₄ O	278.2610	412.3323	412.3313	-2
	FAL 19:3	C ₁₉ H ₃₂ O	276.2453	410.3166	410.3158	-2
	FAL 19:4	C ₁₉ H ₃₀ O	274.2297	408.3010	408.3001	-2

	FAL 19:4;O	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290.2246	424.2959	424.2951	-2
	FAL 19:5	C ₁₉ H ₂₈ O	272.2140	406.2853	406.2842	-3
	FAL 20:0;O	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312.3028	446.3741	446.3733	-2
	FAL 20:1;O	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310.2872	444.3585	444.3575	-2
	FAL 20:3;O	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306.2559	440.3272	440.3264	-2
	FAL 20:4;O	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.2402	438.3115	438.3107	-2
	FAL 20:5	C ₂₀ H ₃₀ O	286.2297	420.3010	420.2999	-3
	FAL 20:6	C ₂₀ H ₂₈ O	284.2140	418.2853	418.2844	-2
	FAL 20:6;O	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	300.2089	434.2802	434.2794	-2
	FAL 6:2	C ₆ H ₈ O	96.0575146	230.1288	230.1285	-2
	FAL 9:4	C ₉ H ₁₀ O	134.0731646	268.1445	268.144	-2
	FA 5:1;O	C ₅ H ₈ O ₃	116.0473	250.1183	250.1182	0
	FA 5:2;O	C ₅ H ₆ O ₃	114.0317	248.1027	248.1027	0
	FA 6:2;O	C ₆ H ₈ O ₃	128.0473	262.1183	262.1182	0
	FA 7:1;O	C ₇ H ₁₂ O ₃	144.0786	278.1496	278.1495	0
[0129]	FA 8:1;O	C ₈ H ₁₄ O ₃	158.0943	292.1653	292.165	-1
	FA 8:2;O	C ₈ H ₁₂ O ₃	156.0786	290.1496	290.1498	1
	FA 8:2;O ₂	C ₈ H ₁₂ O ₄	172.0736	306.1446	306.1444	-1
	FA 9:1;O	C ₉ H ₁₆ O ₃	172.1099	306.1809	306.1806	-1
	FA 9:2;O	C ₉ H ₁₄ O ₃	170.0943	304.1653	304.1651	-1
	FA 10:1;O	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	186.1256	320.1966	320.1962	-1
	FA 10:2;O	C ₁₀ H ₁₆ O ₃	184.1099	318.1809	318.1807	-1
	FA 10:2;O ₂	C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200.1049	334.1759	334.1754	-1
	FA 10:3;O	C ₁₀ H ₁₄ O ₃	182.0943	316.1653	316.165	-1
	FA 11:1;O	C ₁₁ H ₂₀ O ₃	200.1412	334.2122	334.2118	-1
	FA 11:3;O	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	196.1099	330.1809	330.1807	-1
	FA 12:1;O	C ₁₂ H ₂₂ O ₃	214.1569	348.2279	348.2274	-1
	FA 12:2;O	C ₁₂ H ₂₀ O ₃	212.1412	346.2122	346.2118	-1
	FA 12:2;O ₂	C ₁₂ H ₂₀ O ₄	228.1362	362.2072	362.2067	-1
	FA 12:4;O	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208.1099	342.1809	342.1805	-1

	FA 13:1;O	C ₁₃ H ₂₄ O ₃	228.1725	362.2435	362.2429	-2
	FA 13:3;O	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	224.1412	358.2122	358.2118	-1
	FA 14:1;O	C ₁₄ H ₂₆ O ₃	242.1882	376.2592	376.2586	-2
	FA 14:2;O	C ₁₄ H ₂₄ O ₃	240.1725	374.2435	374.2432	-1
	FA 15:1;O	C ₁₅ H ₂₈ O ₃	256.2038	390.2748	390.2746	-1
	FA 16:1;O	C ₁₆ H ₃₀ O ₃	270.2195	404.2905	404.29	-1
	FA 16:2;O	C ₁₆ H ₂₈ O ₃	268.2038	402.2748	402.2742	-1
	FA 16:3;O	C ₁₆ H ₂₆ O ₃	266.1882	400.2592	400.2589	-1
	FA 17:1;O	C ₁₇ H ₃₂ O ₃	284.2351	418.3061	418.3058	-1
	FA 17:4;O	C ₁₇ H ₂₆ O ₃	278.1882	412.2592	412.2586	-1
	FA 18:1;O ₂	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	314.2457	448.3167	448.3168	0
	FA 18:2;O	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	296.2351	430.3061	430.3057	-1
	FA 18:3;O	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	294.2195	428.2905	428.29	-1
	FA 18:3;O ₂	C ₁₈ H ₃₀ O ₄	310.2144	444.2854	444.2849	-1
[0130]	FA 18:5;O	C ₁₈ H ₂₆ O ₃	290.1882	424.2592	424.2581	-3
	FA 20:1;O	C ₂₀ H ₃₈ O ₃	326.2821	460.3531	460.3526	-1
	FA 20:3;O	C ₂₀ H ₃₄ O ₃	322.2508	456.3218	456.3211	-2
	FA 2:1;O	C ₂ H ₂ O ₃	74.0004	208.0717	208.0714	-1
	FA 4:2;O	C ₄ H ₄ O ₃	100.0160	234.0873	234.0871	-1
	FA 7:2;O ₂	C ₇ H ₁₀ O ₄	158.0579	292.1292	292.1286	-2
	FA 7:2;O	C ₇ H ₁₀ O ₃	142.0630	276.1343	276.1341	-1
	FA 8:3;O	C ₈ H ₁₀ O ₃	154.0630	288.1343	288.1339	-1
	FA 9:2;O ₂	C ₉ H ₁₄ O ₄	186.0892	320.1605	320.1599	-2
	FA 10:3;O ₂	C ₁₀ H ₁₄ O ₄	198.0892	332.1605	332.16	-2
	FA 11:2;O ₂	C ₁₁ H ₁₈ O ₄	214.1205	348.1918	348.1912	-2
	FA 11:2;O	C ₁₁ H ₁₈ O ₃	198.1256	332.1969	332.1963	-2
	FA 11:3;O ₂	C ₁₁ H ₁₆ O ₄	212.1049	346.1762	346.1758	-1
	FA 12:3;O	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	210.1256	344.1969	344.1962	-2
	FA 12:3;O ₂	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	226.1205	360.1918	360.191	-2
	FA 12:4;O ₂	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	224.1049	358.1762	358.1756	-2

	FA 13:2;O2	C ₁₃ H ₂₂ O ₄	242.1518	376.2231	376.2224	-2
	FA 13:2;O	C ₁₃ H ₂₂ O ₃	226.1569	360.2282	360.2275	-2
	FA 13:3;O2	C ₁₃ H ₂₀ O ₄	240.1362	374.2075	374.2068	-2
	FA 13:4;O2	C ₁₃ H ₁₈ O ₄	238.1205	372.1918	372.1912	-2
	FA 13:4;O	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	222.1256	356.1969	356.1963	-2
	FA 13:5;O	C ₁₃ H ₁₆ O ₃	220.1099	354.1812	354.1805	-2
	FA 14:2;O2	C ₁₄ H ₂₄ O ₄	256.1675	390.2388	390.2382	-1
	FA 14:3;O2	C ₁₄ H ₂₂ O ₄	254.1518	388.2231	388.2223	-2
	FA 14:3;O	C ₁₄ H ₂₂ O ₃	238.1569	372.2282	372.2274	-2
	FA 14:4;O2	C ₁₄ H ₂₀ O ₄	252.1362	386.2075	386.2068	-2
	FA 14:4;O	C ₁₄ H ₂₀ O ₃	236.1412	370.2125	370.2118	-2
	FA 15:2;O2	C ₁₅ H ₂₆ O ₄	270.1831	404.2544	404.2542	-1
	FA 15:2;O	C ₁₅ H ₂₆ O ₃	254.1882	388.2595	388.2587	-2
	FA 15:3;O2	C ₁₅ H ₂₄ O ₄	268.1675	402.2388	402.238	-2
[0131]	FA 15:3;O	C ₁₅ H ₂₄ O ₃	252.1725	386.2438	386.243	-2
	FA 15:4;O2	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	266.1518	400.2231	400.2224	-2
	FA 15:4;O	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250.1569	384.2282	384.2274	-2
	FA 15:5;O2	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264.1362	398.2075	398.2067	-2
	FA 15:5;O	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	248.1412	382.2125	382.2116	-2
	FA 16:2;O2	C ₁₆ H ₂₈ O ₄	284.1988	418.2701	418.2697	-1
	FA 16:3;O2	C ₁₆ H ₂₆ O ₄	282.1831	416.2544	416.2538	-1
	FA 16:4;O2	C ₁₆ H ₂₄ O ₄	280.1675	414.2388	414.238	-2
	FA 16:4;O	C ₁₆ H ₂₄ O ₃	264.1725	398.2438	398.2432	-2
	FA 16:5;O2	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.1518	412.2231	412.2222	-2
	FA 16:5;O	C ₁₆ H ₂₂ O ₃	262.1569	396.2282	396.2274	-2
	FA 17:2;O2	C ₁₇ H ₃₀ O ₄	298.2144	432.2857	432.2858	0
	FA 17:2;O	C ₁₇ H ₃₀ O ₃	282.2195	416.2908	416.2902	-1
	FA 17:3;O2	C ₁₇ H ₂₈ O ₄	296.1988	430.2701	430.2694	-2
	FA 17:3;O	C ₁₇ H ₂₈ O ₃	280.2038	414.2751	414.2744	-2
	FA 17:4;O2	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	294.1831	428.2544	428.2536	-2

	FA 17:5;O2	C ₁₇ H ₂₄ O ₄	292.1675	426.2388	426.2373	-3
	FA 17:5;O	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	276.1725	410.2438	410.2426	-3
	FA 18:1;O	C ₁₈ H ₃₄ O ₃	298.2508	432.3221	432.3214	-2
	FA 18:2;O2	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	312.2301	446.3014	446.3007	-1
	FA 18:4;O2	C ₁₈ H ₂₈ O ₄	308.1988	442.2701	442.2693	-2
	FA 18:4;O	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	292.2038	426.2751	426.2743	-2
	FA 18:5;O2	C ₁₈ H ₂₆ O ₄	306.1831	440.2544	440.253	-3
	FA 19:3;O2	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	324.2301	458.3014	458.3007	-1
	FA 20:2;O	C ₂₀ H ₃₆ O ₃	324.2664	458.3377	458.3369	-2
	FA 20:3;O2	C ₂₀ H ₃₄ O ₄	338.2457	472.3170	472.3165	-1
[0132]	FA 20:4;O2	C ₂₀ H ₃₂ O ₄	336.2301	470.3014	470.3006	-2
	FA 20:4;O	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	320.2351	454.3064	454.3057	-2
	FA 20:5;O2	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	334.2144	468.2857	468.285	-2
	FA 20:5;O	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	318.2195	452.2908	452.2899	-2
	FA 8:1;O2	C ₈ H ₁₄ O ₄	174.0892	308.1605	308.1598	-2
	FA 9:1;O2	C ₉ H ₁₆ O ₄	188.1049	322.1762	322.1755	-2
	FA 10:1;O2	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	202.1205	336.1918	336.1911	-2
	FA 11:1;O2	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	216.1362	350.2075	350.2068	-2
	FA 12:1;O2	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	230.1518	364.2231	364.2225	-2
	FA 15:1;O2	C ₁₅ H ₂₈ O ₄	272.1988	406.2701	406.2701	0
	FA 19:1;O2	C ₁₉ H ₃₆ O ₄	328.2614	462.3327	462.3317	-2

[0133] 实施例2

[0134] 与实施例1的制备方法相同,区别为本实施例分别使用d₀-吉拉德试剂P和d₅-吉拉德试剂P制备两种衍生生化试剂的固体衍生生化水凝胶。

[0135] 应用例5

[0136] 采用实施例2制备的两种固态衍生生化水凝胶分别对相邻的大鼠肾组织切片和脑组织切片进行衍生化和质谱成像分析,如图18所示,采用d₀-吉拉德试剂P固态衍生生化水凝胶和d₅-吉拉德试剂P固态衍生生化水凝胶分别对相邻的大鼠肾组织切片和脑矢状面组织切片进行衍生生化后,代谢物FAL10:2;0、FAL6:0;0、FAL14:3和FAL11:0均能够被两种衍生生化试剂衍生生化,产生了差5个中子质量的离子,两种衍生生化试剂衍生的同一种代谢物在相邻的两个组织切片中展现出了相同的精细组织微区分布特征,能够进一步证明目标代谢物与衍生生化试剂确实发生了衍生生化反应,通过d₀-吉拉德试剂P和d₅-吉拉德试剂P两种衍生生化试剂对目标代谢物的共定位进一步排除了衍生生化代谢物识别的假阳性结果。

[0137] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人

员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

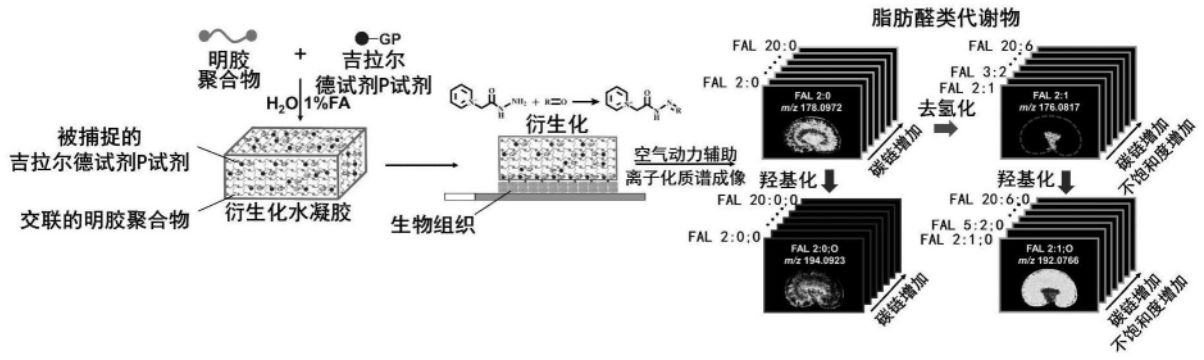


图1

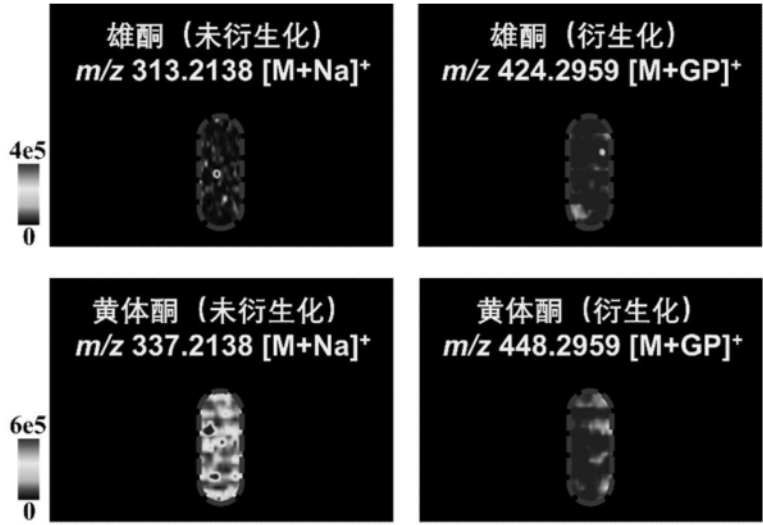


图2

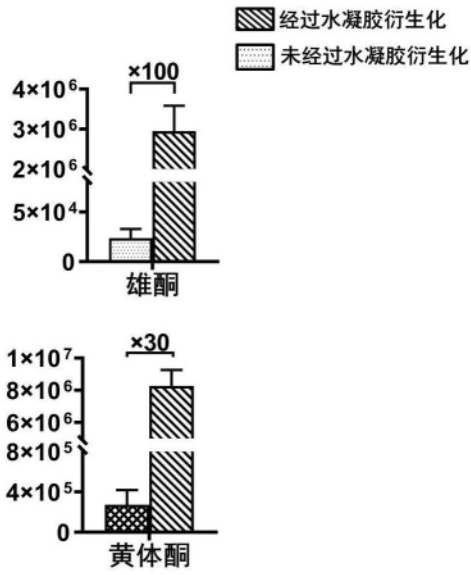


图3

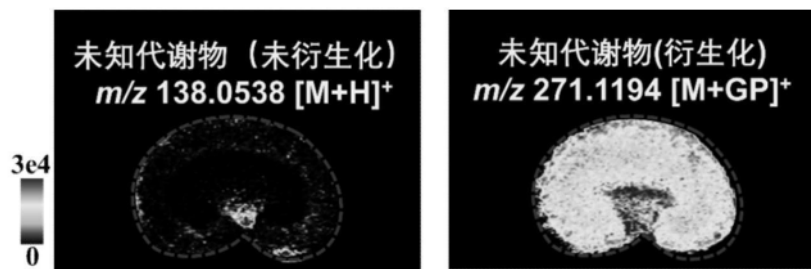


图4

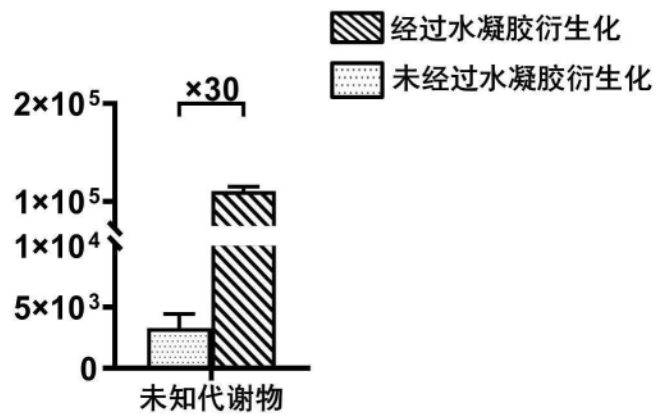


图5

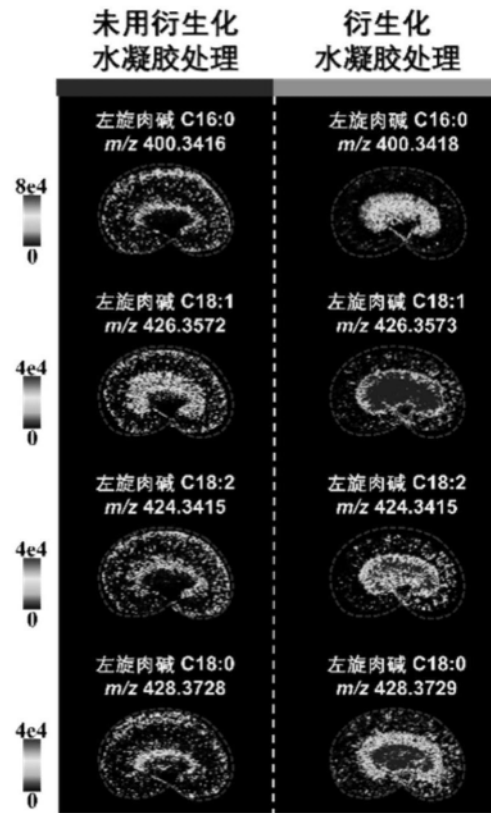


图6

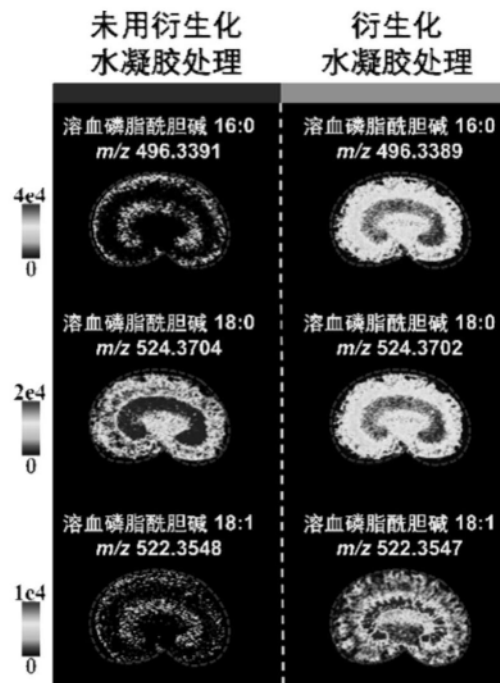


图7

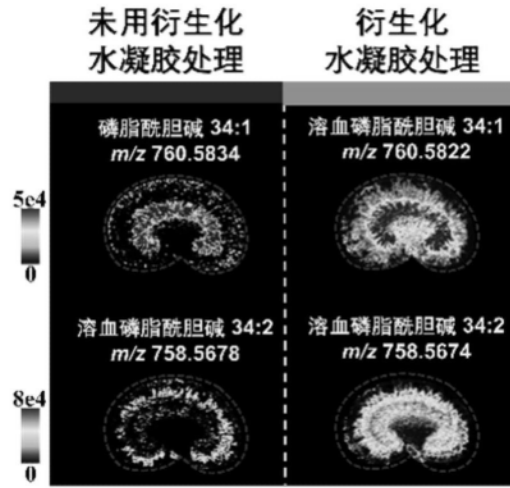


图8

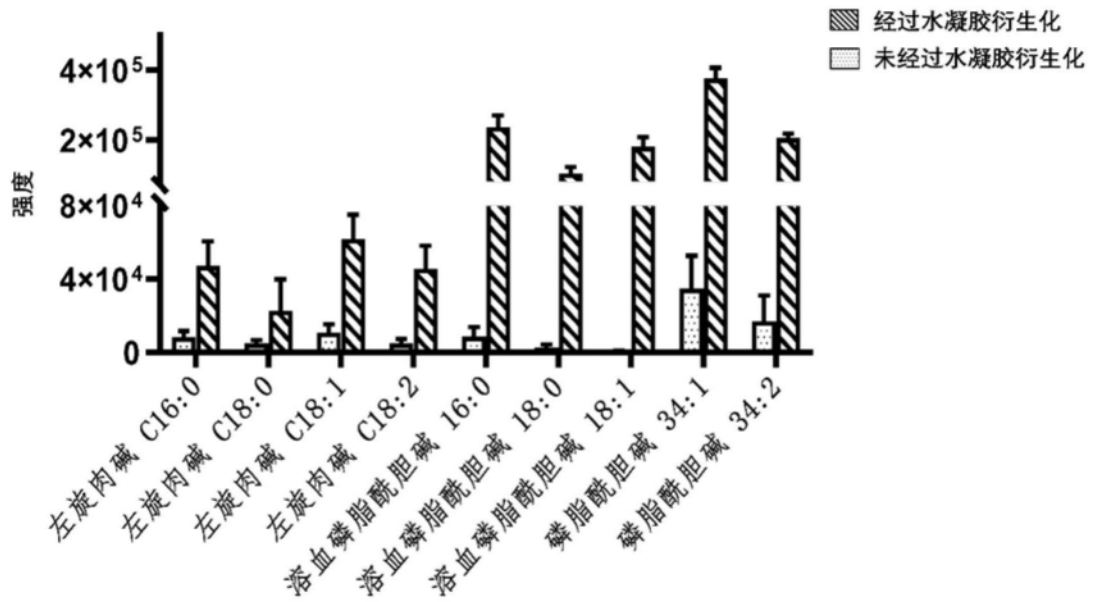


图9



图10

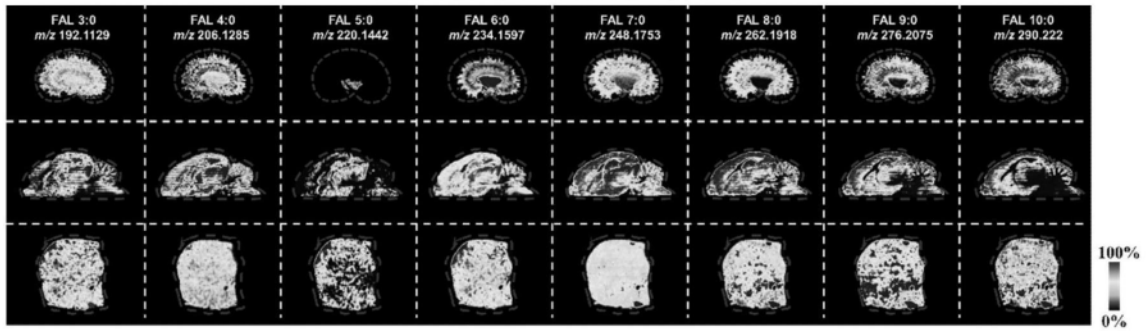


图11

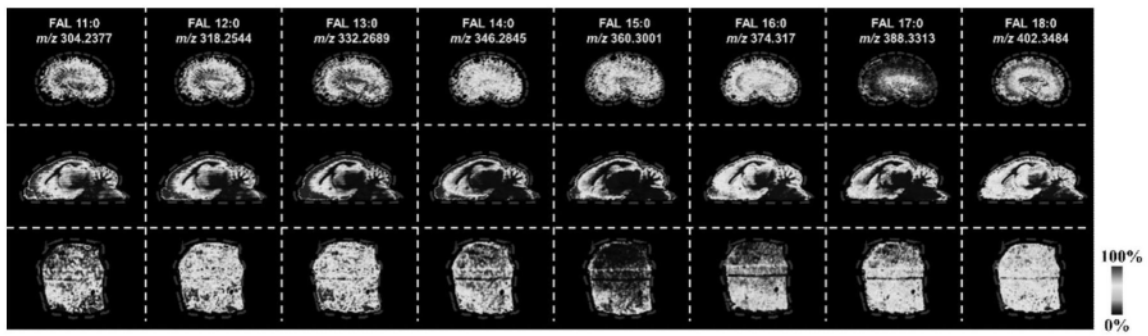


图12

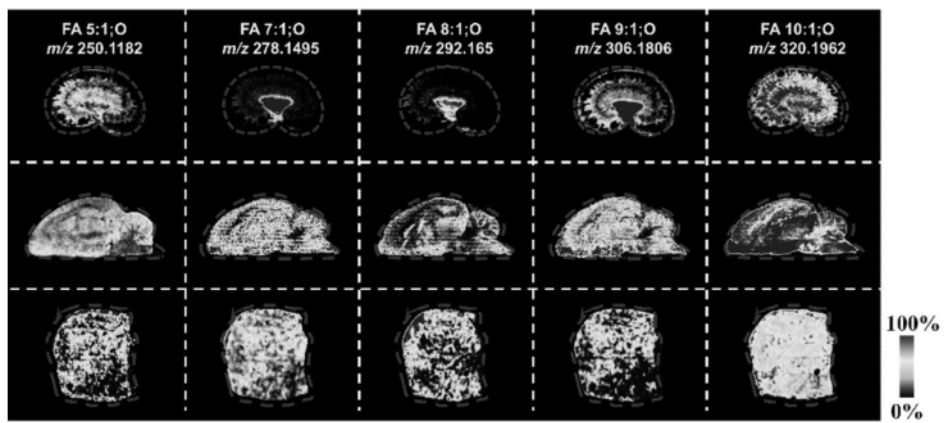


图13

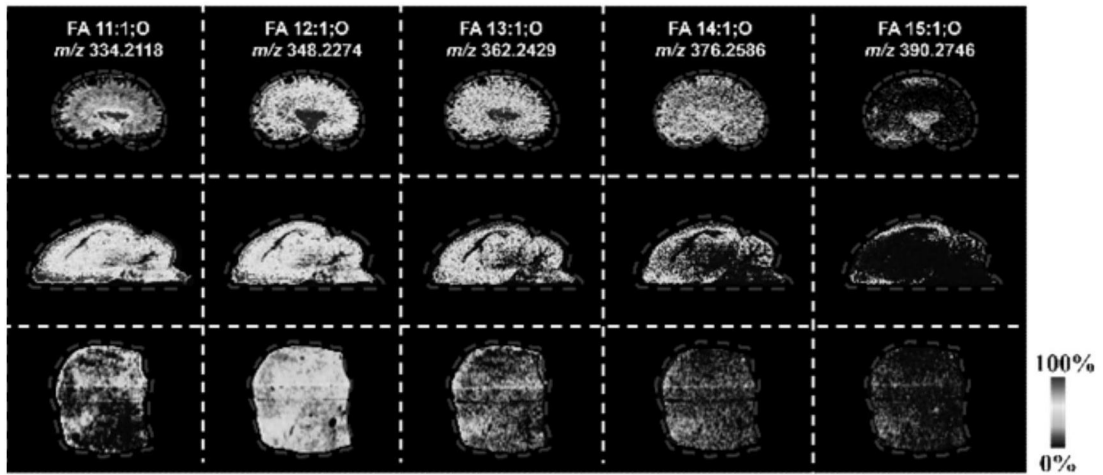


图14

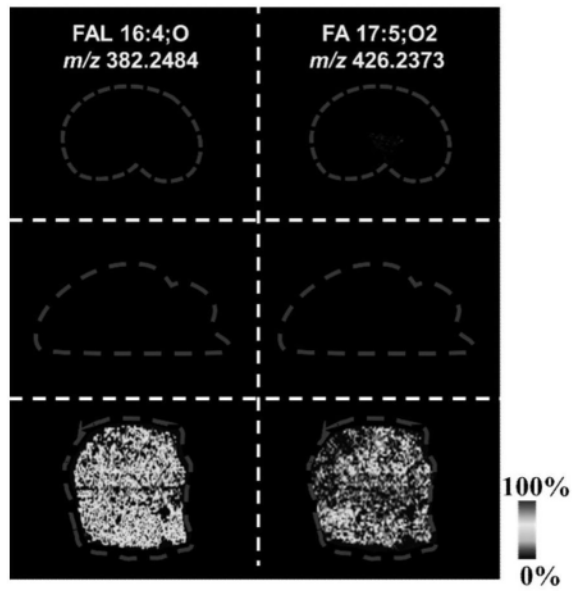


图15

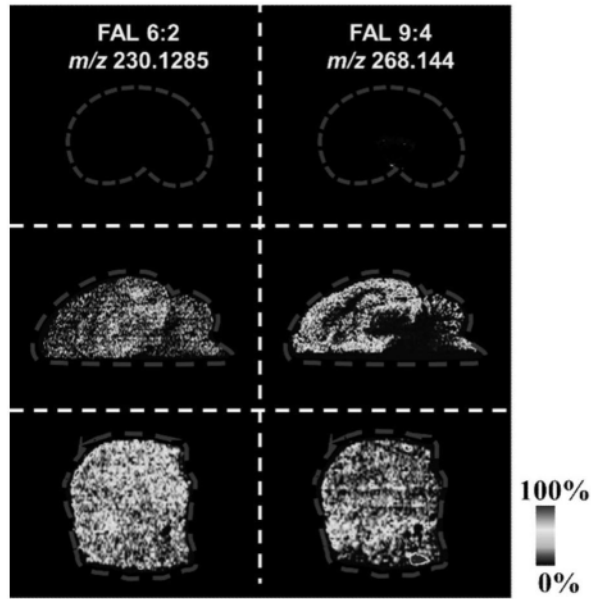


图16

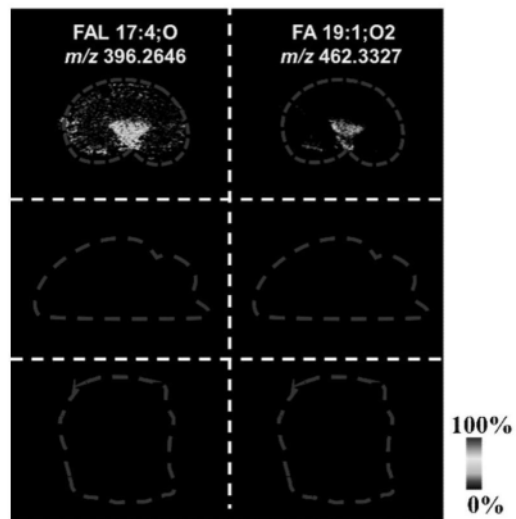


图17

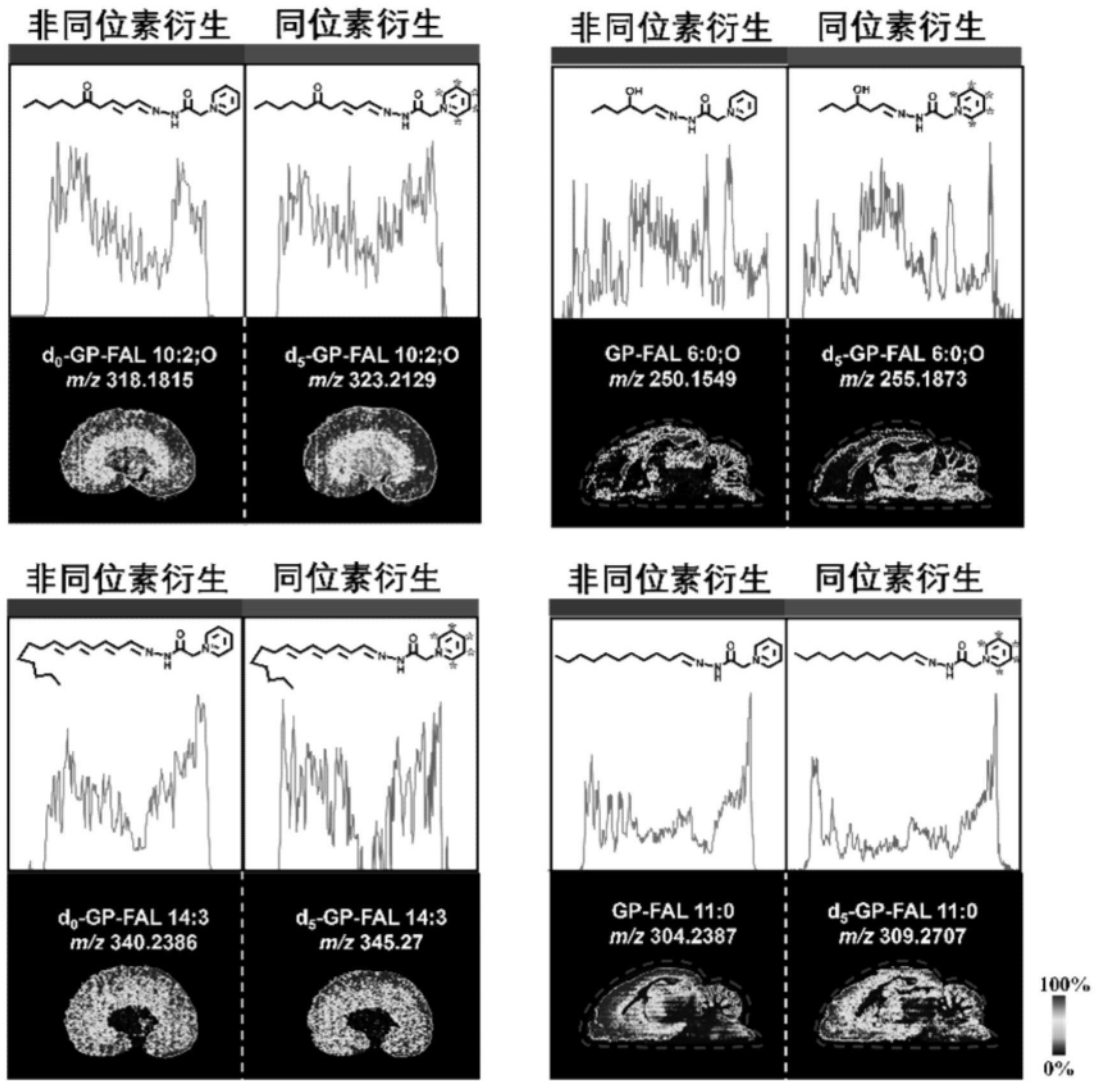


图18