

微生物代谢复杂样品的 GC-GC-MS 开发与应用

柳国霞

(中科院微生物所 公共技术中心, 北京 100084)

摘要: 为了解决微生物代谢复杂基质中微量复杂样品的合成产物精准定性定量问题, 将 GCMS 开发改造为 GC-GC-MS, 通过调控进样口及中心切割单元的载气压力和流量程序化改变, 实现了一针进样经多维色谱柱分离后串接 MS 检测的技术创新, 之前不能有效分离鉴定的样品可以通过 GC-GC-MS 实现高精度的分析鉴定, 扩宽了适用样品范围。在不用卸真空的前提下, 可随意更换色谱柱, 极大提高效率, 利于方法开发。

关键词: GC-GC-MS; 开发改造; 小分子代谢物; 功能微生物

1 专业技术成果介绍

1.1 构建了复杂样品中小分子代谢物精准鉴定的关键技术体系, 解决微生物代谢复杂基质中微量复杂样品的合成产物精准定性定量问题

GCMS 由于其离子源特性及第三方质谱库较为完善, 广泛应用于微生物代谢及合成生物学小分子化合物的分析鉴定, 但是存在或痕量合成产物与基质或已有代谢物不能很好地分离, 导致无法给出确定的定性鉴定结果。我提出了一个基于多维色谱柱分离的解决方案, 主持 1 项中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目《基于微生物代谢复杂样品的 GCMS 改造与应用》, 国内首次实现了双柱分离切割后接 MS 检测的技术办法。

开发改造后的 GC-GC-MS, 引入了双柱箱和中心切割单元, 设计多维毛细管色谱柱同时串接质谱检测器办法, 调控进样口及中心切割单元的载气压力和流量程序化改变, 实现了普通 GCMS 所不具备的一针进样多维色谱柱精准分析的功能, 之前不能有效分离鉴定的样品可以通过多维色谱柱之间的精准切割实现高精度的分析鉴定, 同时避免了多次进样及反复抽真空卸真空操作, 节约大量工作时间, 扩宽了适用样品范围。

构建了复杂样品中小分子代谢物高精度定性关键技术体系

- 第一发明人申请并授权发明专利1项《一种气相色谱质谱检测系统及方法》202010857577.X
- 支撑发表SCI论文6篇，其中TOP 25% 4篇
 - *Biotechnology for Biofuels, Applied and Environmental Microbiology, Applied Microbiology and Biotechnology, Microbial Cell Factories, Fungal Genetics and Biology*等SCI期刊

举例——生物基丁酸丁酯

非洲卢旺达的2017级留学生Jean Paul Sinuvayo
荣获“中科院优秀国际毕业生”称号



这一技术突破助力了微生物发酵生产丁酸丁酯的研发。在双液相生产丁酸丁酯时，检测样品由高沸点溶剂十六烷边发酵边萃取获得，GCMS检测时会严重过载导致离子源污染，使用GC-GC-MS可以将先分离出来的丁酸丁酯载进检测器定性定量分析后，通过时间程序和压力调控实现反吹功能，将十六烷溶剂反吹到进样口，高精度定量的同时避免了检测器污染，该检测成果为非洲卢旺达的2017级留学生Jean Paul Sinuvayo荣获2021年“中科院优秀国际毕业生”称号提供了有力的支撑。不仅如此，应用改造后的GC-GC-MS，已发表SCI论文6篇，其中TOP 25% 4篇，获得授权发明专利1项。

1.2 建设和推广发展中国家功能性益生菌菌种库，作为中科院-发展中国家科学院CAS-TWAS生物技术卓越中心科研主管，与TWAS成员国在微生物技术领域方面开展国际合作

通过对发展中国家典型功能微生物的搜集整理，和对国内及国际相关领域的微生物资源的整合，生物技术卓越中心创建了服务发展中国家农业和食品科技的功能益生菌菌种库（FPCC），以解决发展中国家研究人员缺少实验素材的难题，以实物资源开展与发展中国家的科技合作。

截至目前，FPCC现有保藏菌株300余株，可以广泛用于食品生物与人类健康以及农牧业菌剂研发等应用研究。依托FPCC，结合微生物小分子代谢检测方面的技术创新与积累，已与喀麦隆、毛里求斯、马来西亚等发展中国家研究学者共同合作，研究成果已发表SCI论文6篇以上。

其中，与马来西亚Min-Tze Liong教授在益生菌对改善防治阿兹海默症作用开展了长期合作，经果蝇模型、小鼠模型及临床实验研究，通过行为认知实验、肠道微生物组及相关基因调控水平等研究设计论证，相关研究成果已累计发表SCI论文4篇，并于2018年就部分研究内容在有益微生物国际会议ICOBM 2018发表口头报告，相关科研合作以“Cooperation

between CAS-TWAS Centre of Excellence for Biotechnology and the Universiti Sains Malaysia”
为题，于 2021 年在 TWAS 官方网站报道。

(<https://twas.org/article/cooperation-between-cas-twas-centre-excellence-biotechnology-and-universiti-sains-malaysia>)

Journal of Applied Microbiology

ORIGINAL ARTICLE | Full Access

Lactic acid bacteria feeding reversed the malformed eye structures and ameliorated gut microbiota profiles of *Drosophila melanogaster* Alzheimer's Disease model

Guoxia Liu, Florence Hui-Ping Tan, Sie-Yik Amy Lau, Mohamad Hafis Jaafar, Fiona Yi-Li Chung, Ghows Azzam, Min-Tze Liang, Yin Li

Cooperation between institutions in China and Malaysia to study the probiotic function of lactobacilli in the gut microbiome sequencing and data analysis

International Journal of Molecular Sciences

Article

Lactobacillus plantarum DR7 Modulated B Movement and Gut Microbiota Associated Dopamine and Serotonin Pathways in Stress

Guoxia Liu¹, Hui-Xian Chong², Fiona Yi-Li Chung², Yin Li^{1,*} and Min-Tze Liang^{1,5*}

¹ CAS Key Laboratory of Microbial Physiological and Metabolic Engineering, State Key Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing liuguoia@im.ac.cn

² School of Industrial Technology, Universiti Sains Malaysia, Penang 11800, Malaysia; hui.xian.l26@gmail.com (H.X.C.); fionayli@iut.usm.my (F.Y.-L.C.)

* Correspondence: yili@im.ac.cn (Y.L.); mintze.liang@usm.my (M.-T.L.); +86-10-64604-653-2114 (M.-T.L.); Fax: +86-10-6480-7468 (Y.L.); +604-653-6375 (M.-T.L.)

¹School of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia, 11800 Penang, Malaysia; ²CAS Key Laboratory of Microbial Physiological and Metabolic Engineering, State Key Laboratory of Microbial Resources, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China P.R.; ³School of Industrial Technology, Universiti Sains Malaysia, 11800 Penang, Malaysia; ⁴Department of Microbiology, Yeungnam University, 38541 Gyeongsang, Republic of Korea; ⁵USM-RIKEN International Centre for Ageing Science (URICAS), Universiti Sains Malaysia, 11800 Penang, Malaysia; yli@im.ac.cn; ghows@usm.my; mintze.liang@usm.my; # these authors contributed equally to this paper

2 专业技术人才介绍

2.1 个人简介

柳国霞，高级工程师，中国科学院北京生命科学大型仪器区域中心优秀个人获得者，CAS-TWAS 生物技术卓越中心科研主管。主持中科院仪器功能开发项目，合成生物学领域国家重点研发计划，NSFC 青年科学基金等，承担中科院先导项目（A）子任务，NSFC 面上项目等其他参与项目累计 10 余项。在 ACS Catalysis、Protein & cell、Current Biology 等高水平 SCI 杂志上发表论文 30 余篇。

2.2 专业技术研究方向

合成生物学及代谢产物、酶元件开发、糖类化合物解析

主要从事合成生物学及微生物组领域的酶元件、功能微生物开发构建，合成代谢与糖类化合物功能分析及技术开发等研究方向的工作。已构建功能益生菌资源库 300 余株，开发研究功能机理，已与马来西亚、毛里求斯等国家合作发表 SCI 论文 5 篇以上；已系统性地开发了生物样品中糖类化合物的分析办法，如单糖、寡糖、磷酸糖、核苷酸糖及其他衍生物的精确定量等高通量分析技术体系，该技术针对药物多糖、真菌多糖、微生物合成代谢等样品

具有绝对优势；已构建了微生物代谢复杂样品中功能代谢物高精度定性关键技术体系，并申请授权发明专利，应用该技术体系发表 SCI 论文 6 篇以上，支撑卢旺达国际留学生荣获“中科院优秀国际毕业生”称号。

2.3 承担科技项目及代表论著

2.3.1 科研项目列表：

(1) 中国科学院仪器功能开发项目，基于微生物代谢复杂样品的 GCMS 改造与应用，2015.09-2018.09。

(2) 国家重点研发计划(合成生物学)，特殊酵母的优势表型染色体模块的设计与适配，2021YFA0910603，2021.12-2026.11。

(3) 国家自然科学基金青年项目，小亚基对核酮糖-1,5-二磷酸羧化/加氧酶催化功能的影响，21506245，2016.01-2018.12。

2.3.2 以技术骨干参与代表性项目：

中国科学院战略性先导科技专项 A，原位腐解菌群设计构建与原位促腐技术集成，XDA28030403，2021.09-2026.08

2.3.3 代表性专利：

授权专利：柳国霞等，一种气相色谱质谱检测系统及方法，202010857577.X（第一发明人）

2.4 获奖及荣誉

荣获 2020 年度中国科学院北京生命科学大型仪器区域中心院所两级“优秀个人”称号。