

# 采用全新一代三重四级杆液质联用仪建立生物体内41种氨基酸和生物胺类靶标代谢组学分析方法

范自全, 徐牛生 赛默飞世尔科技(中国)有限公司

## 关键词:

TSQ Altis, 靶标代谢组学, 神经递质, 氨基酸, 生物胺

## 摘要

氨基酸及生物胺类物质是体内重要的代谢物, 涉及多种代谢途径, 和中枢系统、胰岛素抵抗、氧化应激、免疫系统等疾病密切相关, 是生命科学和临床上研究的重点领域。本文建立了41种内源性氨基酸和生物胺类物质的靶标代谢组学分析方法, 采用异硫氰酸苯酯作为衍生化试剂进行衍生, 以0.2%FA的乙腈和H<sub>2</sub>O为流动相, 结果表明: TSQ Altis 测定41种代谢物线性及重现性良好, R<sup>2</sup>>0.99; 灵敏度极佳, 柱上LOD低至0.002~8.3fmol水平。采用该方法, 结合稳定同位素标记化合物作为内标, 可排除不同生物基质样品带来的基质干扰, 适用于血浆、血清、尿液、组织样本中的检测。

## 前言

代谢组学是近些年广受关注的热点, 作为精准医学研究的重要组成部分, 已迅速发展为系统生物学的一个重要分支, 是目前最炙手可热的研究方向之一<sup>[1-5]</sup>。在肿瘤、代谢性疾病、神经退行性疾病、心血管疾病等科学难点领域发挥着重要作用。在依托质谱技术开展的代谢组学研究中, 通常有两种主流的分析研究策略: 立足于发现差异表达生物标记物的非靶向代谢组学分析 (untargeted metabolomics); 以及对预定科学假说进行定量验证或确证的靶标代谢组学 (targeted metabolomics)<sup>[6-8]</sup>

。通常意义上, 一个完整流程的代谢组学研究大多始于基于高分辨质谱的非靶标代谢组学, 而后演进到串联质谱的靶标代谢组学定量确证<sup>[9]</sup>。靶标代谢组学通常用于特定的代谢物有目标的进行精确定量分析, 研究具有特定结构和生物学功能的代谢物。随着科学家对疾病研究的不断深入, 目前成熟的检测分析方案多集中于氨基酸、能量代谢、酰基肉碱、胆汁酸、神经递质、生物胺等途径的研究<sup>[10]</sup>。代谢物的准确定量将使代谢组学研究更全面更可靠, 有助于建立临床疾病预测指标, 推动个性化医疗体系的建立。

在靶标代谢组学研究中, 通常超高效液相色谱-串联四级杆质谱平台, 具有检测线性范围宽的优点, 可以最大程度的满足复杂样本中代谢物的检测, 它的重复性好, 使得大量样本分析时数据的可靠性得以保证, 且无需对得到的谱图进行峰匹配, 在对非靶标代谢组学提出的科学假说进行生物学意义验证中应用越来越广泛。

本文拟采用TSQ Altis分析平台建立41种小分子代谢物的定量分析方法, 以期通过对关键代谢物的准确定量, 帮助建立研究代谢物在不同人群中的变化规律的方法。



图1: Thermo Fisher 公司靶标代谢组学研究方案

## 2. 实验部分

### 2.1 1.1 仪器、试剂与材料

#### 2.1.1 Thermo Scientific™ Vanquish™ Flex超高效液相色谱仪

Thermo Scientific™ TSQ Altis™三重四极杆质谱仪

2.1.1.2乙腈（色谱纯，美国Thermo Fisher公司）；实验用水为Milli-Q去离子水；甲酸（色谱纯，SIGMA）；异硫氰酸苯酯（色谱纯，SIGMA）

### 2.2 化合物信息及溶液配制

41种代谢物及内标来源于AbsoluteIDQ® p400 HR Kit试剂盒，按照体内代谢物分布水平进行配制8个浓度，标准曲线浓度为0.025~2000 μmol不等。

表1: 41种氨基酸及生物胺类化合物信息

#### 2.3色谱条件:

色谱柱: Thermo p400 HR C18 (2.6 μm, 50 x 2.1 mm) ;

柱温: 50℃;

进样量: 5 μL;

流动相: A: 0.2%FA+H<sub>2</sub>O; B: 0.2%FA+ACN, 梯度洗脱程序 (表2)

时间	流速mL/min	A%	B%
0	0.8	100	0
0.25	0.8	100	0
1.5	0.8	88	12
2.7	0.8	82.5	17.5
4	0.8	50	50
4.5	0.8	5	95
5	0.8	5	95
5.1	0.8	100	0

表2 梯度洗脱程序

No.	RT	Compound	简称	中文名称	Formula
1	2.36	Acetylornithine	AcOrn	乙酰鸟氨酸	C7H14N2O3
2	1.95	Asymmetric dimethylarginine	ADMA	非对称性二甲基精氨酸	C8H18N4O2
3	2.74	Alanine	Ala	丙氨酸	C3H7NO2
4	2.73	alpha-Amino adipic acid	alpha-AAA	氨基己二酸	C6H11NO4
5	1.61	Arginine	Arg	精氨酸	C6H14N4O2
6	1.76	Asparagine	Asn	天门冬酰胺	C4H8N2O3
7	2.22	Aspartate	Asp	天(门)冬氨酸盐	C4H7NO4
8	2.02	cis-4-Hydroxyproline	c4-OH-Pro	顺式-羟脯氨酸	C5H9NO3
9	1.47	Carnosine	Carnosine	肌肽	C9H14N4O3
10	2.08	Citrulline	Cit	瓜氨酸	C6H13N3O3
11	0.18	Creatinine	Creatinine	肌酸酐	C4H7N3O
12	3.2	Dopa	DOPA	左旋多巴	C9H11NO4
13	3.51	Dopamine	Dopamine	多巴胺	C8H11NO2
14	1.83	Glutamine	Gln	谷氨酰胺	C5H10N2O3
15	2.26	Glutamate	Glu	谷氨酸盐	C5H9NO4
16	1.97	Glycine	Gly	甘氨酸	C2H5NO2
17	1.41	Histidine	His	组氨酸	C6H9N3O2
18	1.44	Histamine	Histamine	组胺	C5H9N3
19	3.98	Kynurenine	Kynurenine	犬尿氨酸	C10H12N2O3
20	4.04	Lysine	Lys	赖氨酸	C6H14N2O2
21	3.72	Methionine	Met	甲硫氨酸	C5H11NO2S
22	2.08	Methionine sulfoxide	Met-SO	蛋氨酸亚砜	C5H11NO3S
23	3.99	Nitrotyrosine	Nitro-Tyr	硝基酪氨酸	C9H10N2O5
24	3.94	Ornithine	Orn	鸟氨酸	C5H12N2O2
25	4.41	Phenylethylamine	PEA	苯基乙胺	C8H11N
26	4.08	Phenylalanine	Phe	苯丙氨酸	C9H11NO2
27	2.75	Proline	Pro	脯氨酸	C5H9NO2
28	4.12	Putrescine	Putrescine	腐胺	C4H12N2
29	2.17	Sarcosine	Sarcosine	肌氨酸	C3H7NO2
30	2.02	Symmetric dimethylarginine	SDMA	对称性二甲基精氨酸	C8H18N4O2
31	1.93	Serine	Ser	丝氨酸	C3H7NO3
32	3.65	Serotonin	Serotonin	5-羟色胺	C10H12N2O
33	4.5	Spermidine	Spermidine	亚精胺	C7H19N3
34	4.61	Spermine	Spermine	精胺	C10H26N4
35	1.58	trans-4-Hydroxyproline	t4-OH-Pro	反式-羟脯氨酸	C5H9NO3
36	1.4	Taurine	Taurine	牛磺酸	C2H7NO3S
37	2.51	Threonine	Thr	苏氨酸	C4H9NO3
38	4.02	Tryptophan	Trp	色氨酸	C11H12N2O2
39	3.53	Tyrosine	Tyr	酪氨酸	C9H11NO3
40	3.78	Valine	Val	缬氨酸	C5H11NO2
41	4.03	leucine	Leu	亮氨酸	C6H13NO2

## 2.4 质谱条件:

可加热电喷雾电离源 (HESI), 正离子扫描模式; 扫描方式: SRM; 喷雾电压 (+): 3500V; 离子传输管温度: 320°C; 鞘气压力40 arb; 辅助气压力 10 arb; 离子源温度: 350°C; 碰撞气压力: 1.5 mTorr。

## 2.5 样品前处理

按照试剂盒推荐的样品处理流程, 取10 μL标准曲线及尿液样品, 加入10μL内标, 采用异硫氰酸苯酯进行衍生化[11], 具体流程见下图:

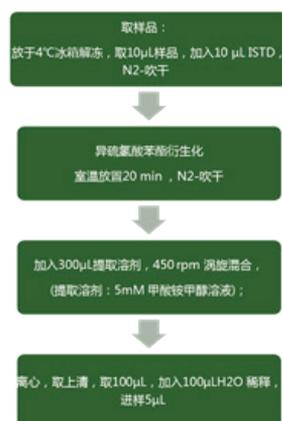


图2: 样品前处理流程

## 3. 实验结果与讨论

氨基酸及生物胺类物质是体内重要的代谢物, 涉及多种代谢途径, 和中枢系统、胰岛素抵抗、氧化应激、免疫系统等疾病密切相关, 如多巴胺、多巴、五羟色胺等均为脑内重要的神经递质, 一直是生命科学和临床上研究的重点领域。但这类氨基酸物质的检测存在一定的难点, 如极性较大, 在反相色谱柱上难保留; 亲水性色谱柱上色谱峰形较差, 稳定性不好等问题。

本文建立了异硫氰酸苯酯作为衍生化试剂进行衍生, 稳定同位素标记化合物作为内标的方法, 通过衍生化手段可以有效解决这些问题。

## 3.1 色谱图

采用衍生化处理后, 41种代谢物的保留行为较好, 可获得良好的色谱峰形, 同时灵敏度也得到了提升, 下图为41种代谢物的提取离子流图。

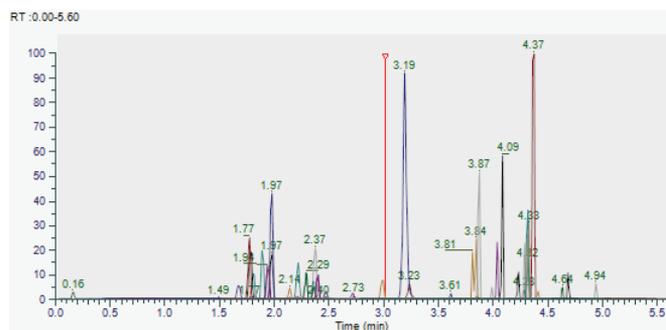


图3 41种小分子代谢物提取离子流图

## 3.2 线性范围、灵敏度及重现性

代谢组学研究中其中一个难点在于, 代谢物在体内分布极广。除了对仪器的线性范围提出了极高的要求之外, 对体内检测浓度范围的确定同样重要。本文中采用的线性范围通过大量样本的检测, 确立下来41代谢物的线性范围, 浓度见表3 (注: 因前处理过程中, 标曲和样品稀释了60倍, 处理后进样的样品线性范围需除以60)。各代谢物在浓度范围内线性良好, 线性相关系数 $r^2$ 均大于0.99, 灵敏度柱上低至0.002-8.33 fmol, 其中37个代谢物的RSD在0.05~4.66%之间, 4个代谢物在9.4~15.6%之间。41种代谢物线性范围、线性相关系数、柱上LOD及RSD结果见表3, 部分化合物标准曲线及LOD图见图4, 图5。

RT	名称	英文名称	分子式	LOD(on column, fmol)	Linear range (μM)	Linear range (处理后绝对量 nmol)	y-Intercept	Slope	R <sup>2</sup>
2.36	乙酰鸟氨酸	Acetylmornithine	C7H14N2O3	0.083	0.05-40	0.83-666.67	7.88E-04	8.62E-02	0.9911
2.74	丙氨酸	Alanine	C3H7NO2	1.333	2-1600	33.33-26666.67	1.94E-01	6.49E-03	0.99
2.73	氨基己二酸	alpha-Aminoadipic acid	C6H11NO4	0.167	0.1-80	16.67-1333.33	5.09E-03	1.60E-01	0.9967
1.61	精氨酸	Arginine	C6H14N4O2	0.042	0.5-400	8.33-6666.67	1.08E-02	1.65E-02	0.9968
1.76	天门冬酰胺	Asparagine	C4H8N2O3	0.042	0.5-400	8.33-6666.67	1.47E-02	2.32E-02	0.9986
2.22	天(门)冬氨酸盐	Aspartate	C4H7NO4	8.333	0.5-400	8.33-6666.67	2.44E-03	3.72E-03	0.997
1.95	非对称性二甲基精氨酸	Asymmetric dimethylarginine	C8H18N4O2	0.002	0.025-20	0.42-333.33	4.08E-04	2.34E-01	0.9968
1.47	肌肽	Carnosine	C9H14N4O3	0.017	0.05-40	8.33-6666.67	1.34E-04	1.83E-02	0.9957
2.02	顺式-羟脯氨酸	cis-4-Hydroxyproline	C5H9NO3	0.042	0.1-80	1.67-1333.33	9.54E-04	5.55E-02	0.9982
2.08	瓜氨酸	Citrulline	C6H13N3O3	0.083	0.5-400	8.33-6666.67	9.58E-03	2.84E-02	0.9988
0.18	肌酸酐	Creatinine	C4H7N3O	0.017	1-800	16.67-13333.33	9.75E-02	1.28E-02	0.9971
3.2	左旋多巴	Dihydroxyphenylalanine	C9H11NO4	0.042	0.05-40	8.33-6666.67	3.00E-03	2.00E-01	0.9966
3.51	多巴胺	Dopamine	C8H11NO2	0.008	0.1-80	1.67-1333.33	3.05E-03	3.15E-01	0.9981
2.26	谷氨酸盐	Glutamate	C5H9NO4	0.833	1-800	16.67-13333.33	8.42E-03	1.00E-02	0.9972
1.83	谷氨酰胺	Glutamine	C5H10N2O3	0.067	2-1600	33.33-26666.67	4.68E-02	7.89E-03	0.9945
1.97	甘氨酸	Glycine	C2H5NO2	0.208	2.5-2000	41.67-33333.33	1.52E-02	3.90E-03	0.9974
1.44	组胺	Histamine	C5H9N3	0.008	0.1-80	1.67-1333.33	2.39E-04	9.85E-02	0.9995
1.41	组氨酸	Histidine	C6H9N3O2	0.042	0.5-400	8.33-6666.67	1.53E-02	2.26E-02	0.997
3.98	犬尿氨酸	Kynurenine	C10H12N2O3	0.033	0.1-80	1.67-1333.33	8.92E-01	1.15E+00	0.9954
4.03	亮氨酸	leucine	C6H13NO2	0.083	1-800	16.67-13333.33	6.36E-02	3.19E-02	0.9993
4.04	赖氨酸	Lysine	C6H14N2O2	0.033	1-800	16.67-13333.33	5.56E-02	3.44E-02	0.9973
3.72	甲硫氨酸	Methionine	C5H11NO2S	0.208	0.5-400	8.33-6666.67	7.22E-03	2.64E-02	0.995
2.08	蛋氨酸亚砷	Methionine sulfoxide	C5H11NO3S	0.083	0.1-80	1.67-1333.33	1.13E-03	2.36E-02	0.9975
3.99	硝基酪氨酸	Nitrotyrosine	C9H10N2O5	0.033	0.1-80	1.67-1333.33	2.05E-03	1.61E-01	0.9986
3.94	鸟氨酸	Ornithine	C5H12N2O2	0.083	0.5-400	8.33-6666.67	9.77E-03	1.07E-02	0.9965
4.08	苯丙氨酸	Phenylalanine	C9H11NO2	0.042	0.5-400	8.33-6666.67	1.26E-02	1.16E-02	0.9964
4.41	苯基乙胺	Phenylethylamine	C8H11N	0.004	0.01-8	0.17-133.33	1.73E-04	2.74E+06	0.9933
2.75	脯氨酸	Proline	C5H9NO2	0.083	1-800	16.67-13333.33	4.27E-02	1.54E-02	0.9901
4.12	腐胺	Putrescine	C4H12N2	0.002	0.01-8	1.67-133.33	1.11E-01	1.52E-01	0.9956
2.17	肌氨酸	Sarcosine	C3H7NO2	0.167	0.1-80	1.67-133.33	1.62E-02	2.07E-01	0.9944
1.93	丝氨酸	Serine	C3H7NO3	0.042	0.5-400	8.33-6666.67	1.07E-01	8.80E-02	0.9971
3.65	5-羟色胺	Serotonin	C10H12N2O	0.008	0.01-8	0.17-133.33	2.83E-04	3.25E-01	0.9992
4.5	亚精胺	Spermidine	C7H19N3	0.004	0.025-20	0.42-333.33	9.31E-01	6.67E+01	0.9907
4.61	精胺	Spermine	C10H26N4	0.208	0.025-20	4.17-333.33	-7.05E-03	5.45E-01	0.9905
2.02	对称性二甲基精氨酸	Symmetric dimethylarginine	C8H18N4O2	0.008	0.01-8	0.17-133.33	1.00E-03	2.79E-01	0.9986
1.31	牛磺酸	Taurine	C2H7NO3S	0.021	0.25-200	4.17-3333.33	2.79E-02	1.02E-01	0.9977
2.51	苏氨酸	Threonine	C4H9NO3	0.083	0.5-400	8.33-6666.67	1.79E-02	1.61E-02	0.9976
1.80	反式-D-羟脯氨酸	trans-4-Hydroxyproline	C5H9NO3	0.033	0.1-80	1.67-133.33	9.94E-03	1.04E-01	0.9988
4.02	色氨酸	Tryptophan	C11H12N2O2	0.017	0.5-400	8.33-6666.67	9.66E-01	2.30E+00	0.9975
3.53	酪氨酸	Tyrosine	C9H11NO3	0.017	0.5-400	8.33-6666.67	2.45E-02	2.62E-02	0.9968
3.78	缬氨酸	Valine	C5H11NO2	0.417	1-800	16.67-13333.33	3.31E-02	1.47E-02	0.9973

表3 41种化合物的线性范围、相关系数及柱上LOD

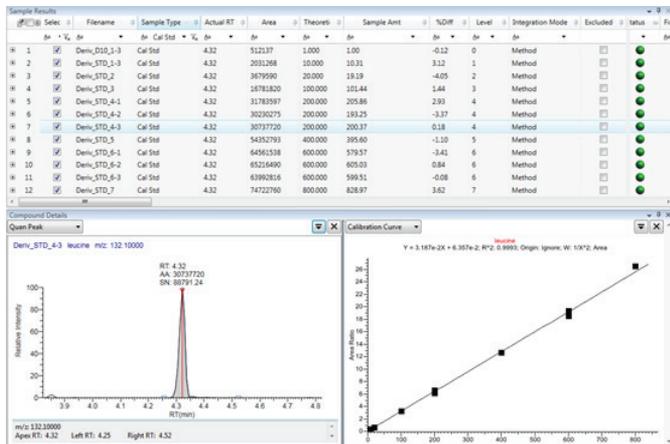


图4: 亮氨酸标准曲线线性良好, R2=0.9993

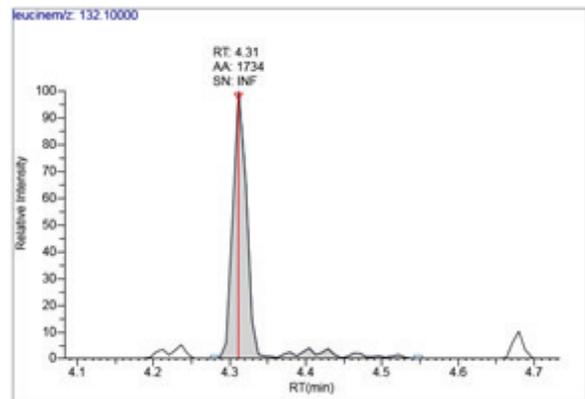


图5: 亮氨酸柱上LOD: 0.083fmol

### 3.3 实际样品检测

取正常人的尿液, 按照本文建立的方法进行分析, 各代谢物含量见下表:

Rt	中文名称	英文名称	分子式	A1	A2	B1	B2
2.36	乙酰鸟氨酸	Acetylmornithine	C7H14N2O3	0.05	0.21	0.05	0.04
2.74	丙氨酸	Alanine	C3H7NO2	40.6	N/F	N/F	20.12
2.73	氨基己二酸	alpha-Amino adipic acid	C6H11NO4	10.26	10.29	9.27	9.29
1.61	精氨酸	Arginine	C6H14N4O2	9.72	2.91	4.57	2.86
1.76	天门冬酰胺	Asparagine	C4H8N2O3	19.43	19.52	17.13	17.42
2.22	天(门)冬氨酸盐	Aspartate	C4H7NO4	N/F	N/F	N/F	N/F
1.95	非对称性二甲基精氨酸	Asymmetric dimethylarginine	C8H18N4O2	5.8	5.69	5.38	5.13
1.47	肌肽	Carnosine	C9H14N4O3	2.05	1.99	1.7	1.66
2.02	顺式-羟脯氨酸	cis-4-Hydroxyproline	C5H9NO3	0.05	0.91	0.13	0.05
2.08	瓜氨酸	Citrulline	C6H13N3O3	0.72	2	0.79	0.8
0.18	肌酸酐	Creatinine	C4H7N3O	2575.32	2430.66	2423.28	2409.55
3.2	左旋多巴	Dihydroxyphenylalanine	C9H11NO4	0.02	0.02	0.03	0.05
3.51	多巴胺	Dopamine	C8H11NO2	0.25	0.28	0.25	0.22
2.26	谷氨酸盐	Glutamate	C5H9NO4	1.84	4.04	3.1	2.99
1.83	谷氨酰胺	Glutamine	C5H10N2O3	96.25	98.88	83.28	84.2
1.97	甘氨酸	Glycine	C2H5NO2	431.05	425.67	387.54	378.3
1.44	组胺	Histamine	C5H9N3	0.05	0.45	0.14	0.1
1.41	组氨酸	Histidine	C6H9N3O2	145.84	142.91	127.2	130.89
3.98	犬尿氨酸	Kynurenine	C10H12N2O3	0.56	0.63	0.49	0.42
4.03	亮氨酸	leucine	C6H13NO2	4.72	6.04	5.33	5.23
4.04	赖氨酸	Lysine	C6H14N2O2	41.37	40.47	37.48	35.98
3.72	甲硫氨酸	Methionine	C5H11NO2S	1.21	2.09	1.17	0.96
2.08	蛋氨酸亚砷	Methionine sulfoxide	C5H11NO3S	0.57	1.1	0.57	0.52
3.99	硝基酪氨酸	Nitrotyrosine	C9H10N2O5	N/F	0.13	N/F	N/F
3.94	鸟氨酸	Ornithine	C5H12N2O2	2.66	2.95	2.44	2.42
4.08	苯丙氨酸	Phenylalanine	C9H11NO2	6.71	7.37	6.21	6.37
4.41	苯基乙胺	Phenylethylamine	C8H11N	0.01	0.02	0.04	0.04
2.75	脯氨酸	Proline	C5H9NO2	N/F	7.52	0.3	0.3
4.12	腐胺	Putrescine	C4H12N2	0.18	0.19	0.9	0.89
2.17	肌氨酸	Sarcosine	C3H7NO2	0.79	0.63	0.64	0.37
1.93	丝氨酸	Serine	C3H7NO3	69.87	69.57	64.16	61.84
3.65	5-羟色胺	Serotonin	C10H12N2O	0.07	0.09	0.07	0.07
4.5	亚精胺	Spermidine	C7H19N3	0.12	0.11	0.3	0.34
4.61	精胺	Spermine	C10H26N4	1.75	1.61	5.72	7.56
2.02	对称性二甲基精氨酸	Symmetric dimethylarginine	C8H18N4O2	7.62	7.45	7.45	7.04
1.31	牛磺酸	Taurine	C2H7NO3S	47.53	47.08	46.42	47.61
2.51	苏氨酸	Threonine	C4H9NO3	25.09	26.63	24.27	24.42
1.58	反式-羟脯氨酸	trans-4-Hydroxyproline	C5H9NO3	0.29	0.94	0.37	0.29
4.02	色氨酸	Tryptophan	C11H12N2O2	9.25	9.66	8.63	9.29
3.53	酪氨酸	Tyrosine	C9H11NO3	13.74	14.7	12.38	12.04
3.78	缬氨酸	Valine	C5H11NO2	4.38	6.57	4.26	4.3

## 4. 总结

靶标代谢组学作为代谢组学的重要组成部分，可用于验证非靶标代谢组学提出的假说，采用串联质谱方法对筛选出来的潜在生物标志物定量，进行临床验证。代谢物的准确定量将使代谢组学研究更可靠，有助于更深入地研究疾病机制。本文建立了41种内源性氨基酸和生物胺类异硫氰酸苯酯衍生化，结合稳定同位素标记化合物作为内标的方法，排除不同生物基质样品带来的基质干扰，适用于血浆、血清、尿液、组织样本中的检测。

## 5. 参考文献

1. Pablo Sierra Gonzalez, James O' Prey, Simone Cardaci, et al. Mannose impairs tumour growth and enhances chemotherapy. Nature volume 563, pages719–723 (2018) .
2. Grankvist N, Watrous JD, Lagerborg KA, et.al. Profiling the Metabolism of Human Cells by Deep 13C Labeling. Cell Chem Biol. 2018 Nov 15;25(11):1419-1427.e4. doi: 10.1016/j.chembiol.2018.09.004. Epub 2018 Sep 27.
3. Jonas Zierer, Matthew A. Jackson, Gabi Kastenmüller, et al. The fecal metabolome as a functional readout of the gut microbiome. Nature Genetics, 50, pages790–795 (2018)
4. Dyar KA, Lutter D, Artati A, et al. Atlas of Circadian Metabolism Reveals System-wide Coordination and Communication between Clocks. Cell. 2018 Sep 6;174(6):1571-1585.e11. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.042.
5. Long T, Hicks M, Yu HC, et al. Whole-genome sequencing identifies common-to-rare variants associated with human blood metabolites. Nat Genet. 2017 Apr;49(4):568-578. doi: 10.1038/ng.3809. Epub 2017 Mar 6.
6. Dunn WB, Broadhurst DI, Atherton HJ, et al. Systems level-studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. Chem Soc Rev, 2011, 40 ( 1 ) : 387-426.
7. Griffiths WJ, Koal T, Wang Y, et al. Targeted metabolomics for biomarker discovery [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2010, 49 ( 32 ) : 5426-5445.
8. Beger, R.D., Dunn, W., Schmidt, M.A. et al. Metabolomics (2016) 12: 149. <https://doi.org/10.1007/s11306-016-1094-6>
9. 吴泽明, 江峥, 陈伟. 高分辨质谱技术视野下的细胞代谢组学研究策略[J]. 生命的化学, 2014, 34(2):000221-224.
10. 杨杰, 程建华, 董方霆. 靶标代谢组学在不同代谢物群研究中的应用[J]. 国际药学研究杂志, 2015, 42(3):331-337.
11. Anastasia Kalli. Targeted Metabolomics Analysis of Type 2 Diabetes Serum Samples Using Mass Spectrometry and a Standardized Quantitative Method. Special Issues. Volume 37, Issue 7, pg 18–23



赛默飞  
官方微信

热线 800 810 5118  
电话 400 650 5118  
[www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

**Thermo Fisher**  
SCIENTIFIC