[技术简报]

使用在线SPE自动样品前处理LC-MS系统测定血浆中三种变肾上腺素类激素

Darwin Asa，沃特世公司（美国马萨诸塞州米尔福德）
Joanne Adaway和Brian Keevil，英国南曼彻斯特大学医院

目的

验证使用在线SPE系统（ACQUITY UPLC® 在线自动样品前处理系统）可实现血浆中三种变肾上腺素类激素的高灵敏度LC/MS分析。

背景

血浆变肾上腺素类激素通常被作为多种神经内分泌系统肿瘤的诊断指征进行测定。更具体而言，在患有神经嵴组织或肾上腺副神经节瘤的患者中，变肾上腺素中的儿茶酚胺类激素的含量会明显增加。血浆中变肾上腺素类激素水平的升高通常用于诊断肿瘤存在与否，并在某些情况下能诊断肿瘤的位置。高血压通常是神经内分泌肿瘤的症状之一。因此，许多临床实验室会利用LC/MS技术，通过筛选血浆变肾上腺素类激素水平高的高血压患者，进一步确认是否存在神经内分泌肿瘤。

早在多年前，临床实验室已开发出可测定血浆变肾上腺素类激素的LC/MS方法，用于诊断多种神经内分泌肿瘤。然而，尽管LC/MS能够十分准确地定量检测血浆变肾上腺素，但对各种变肾上腺素类激素进行有效的样品前处理和详细的分析却一直是个难点。尤其是诸如3-甲氧基酪胺（3-MT）的变肾上腺素，其色谱分离方法已经证实存在问题，可能导致变肾上腺素水平的过高评估。此外，许多实验室并不检测3-MT，因为其所用分析方法的灵敏度不足以测量低浓度的分析物。然而，3-MT的准确检测有助于进一步诊断肿瘤类型、位置和潜在的转移。

在线SPE技术明显改进血浆变肾上腺素类激素的测定方法。

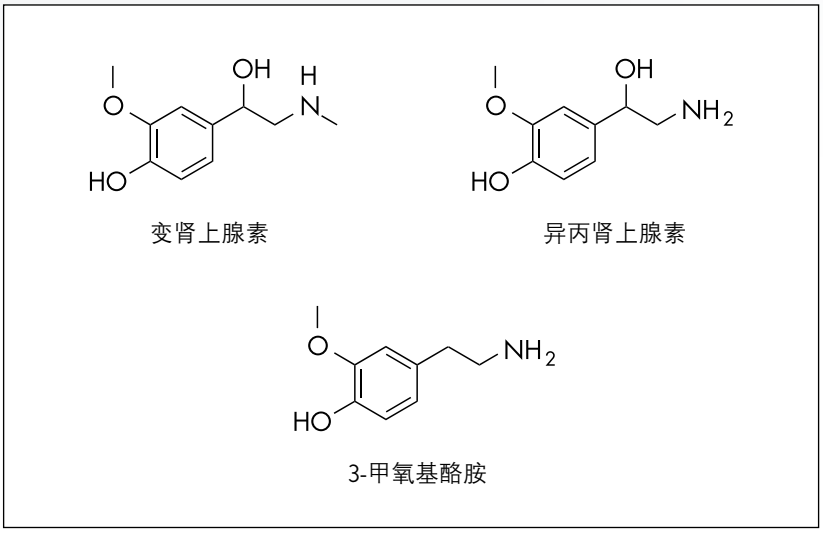


图1. 变肾上腺素的结构。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

解决方案

本研究开发了一种同时准确测定血浆中的三种生物胺（变肾上腺素、异丙肾上腺素、3-甲氧基酪胺）的方法。该方法利用在线SPE系统（ACQUITY UPLC在线自动样品前处理系统）的独特功能来实现上述变肾上腺素类激素的灵敏精确测定。这些关键生物标记化合物的测定结果能为临床医生鉴定有关神经内分泌肿瘤的存在、位置以及类型提供宝贵信息。

方法

LC系统： ACQUITY UPLC
质谱仪： Xevo® TQ-S
色谱柱： Atlantis® HILIC，2.1 × 50 mm，3 µm
样品制备： ACQUITY UPLC在线SPE管理器（OSM）
SPE： MassTrak™ WCX OSM小柱

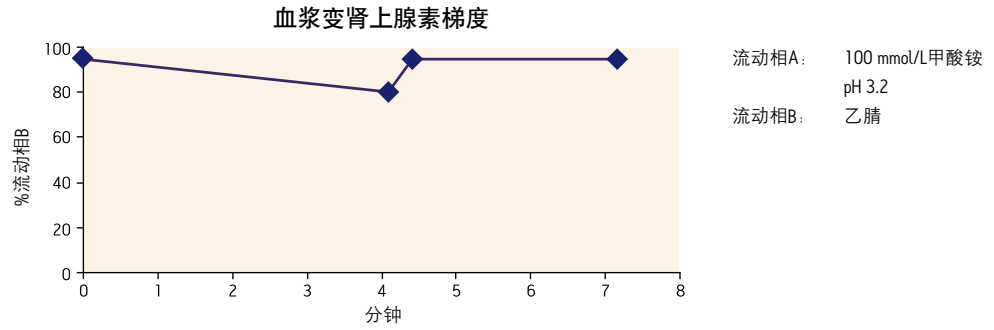
样品制备方法

使用内标按1:1稀释血浆样品，然后使用最大截留分子量10 k MW的离心过滤设备进行离心处理，以除去样品中的蛋白质。

除去蛋白后，向配备在线SPE的LC/MS系统中注入等分样品。在线SPE系统按照以下步骤进行自动SPE样品前处理过程：

步骤	溶剂	体积 (µL)
活化	0.1%甲酸 (v/v) 的乙腈溶液	200
活化2	0.1%甲酸 (v/v) 的乙腈溶液	200
活化3	20% 10 mmol/L甲酸铵，pH 3.2：80%乙腈	250
活化4	95%乙腈	250
平衡	H_2O	250
上样	H_2O	250
清洗	H_2O	200
清洗2	95%乙腈	200
钳夹冲洗	95%乙腈	250

完成SPE过程后，按照下列梯度条件对样品进行LC/MS分析：



结果

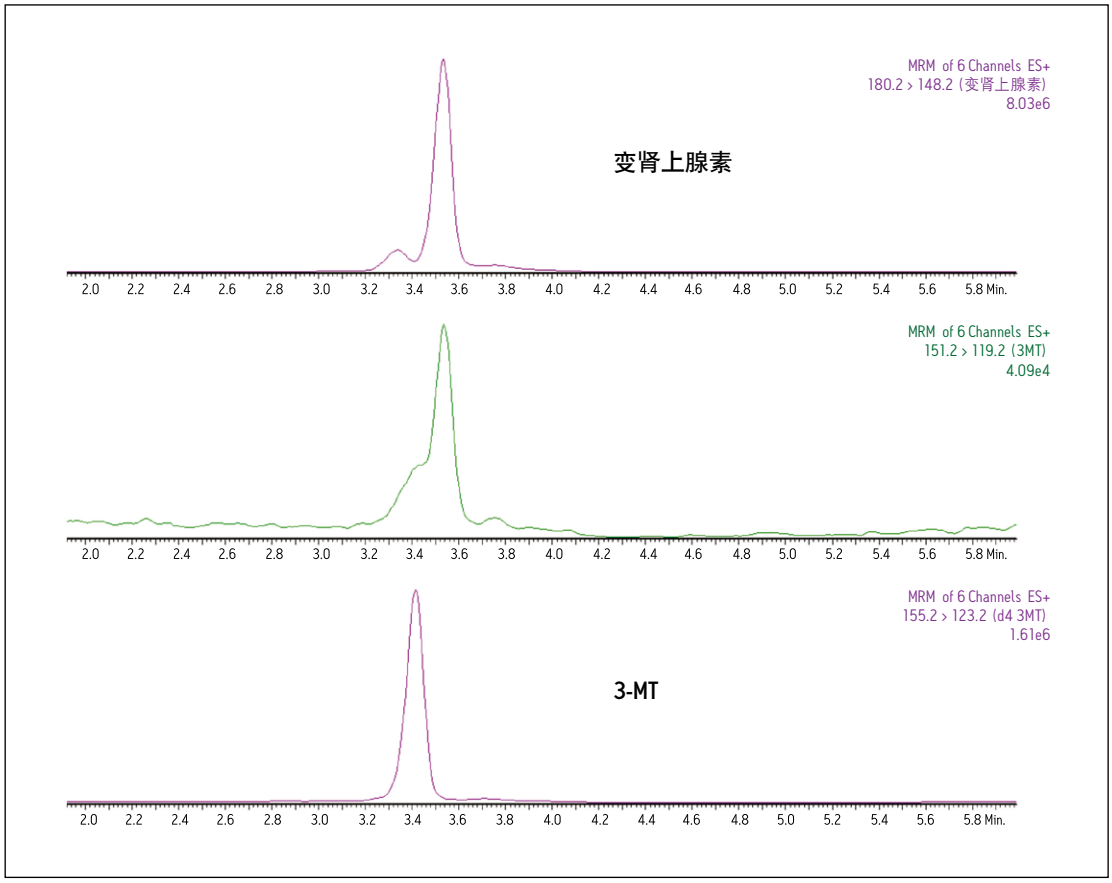


图2. 变肾上腺素和3-甲氧基酪胺的LC/MS分析色谱图。3-MT在变肾上腺素之前发生洗脱，这有助于避免由变肾上腺素离子串扰所引起的潜在干扰而导致的3-MT检测结果偏高。

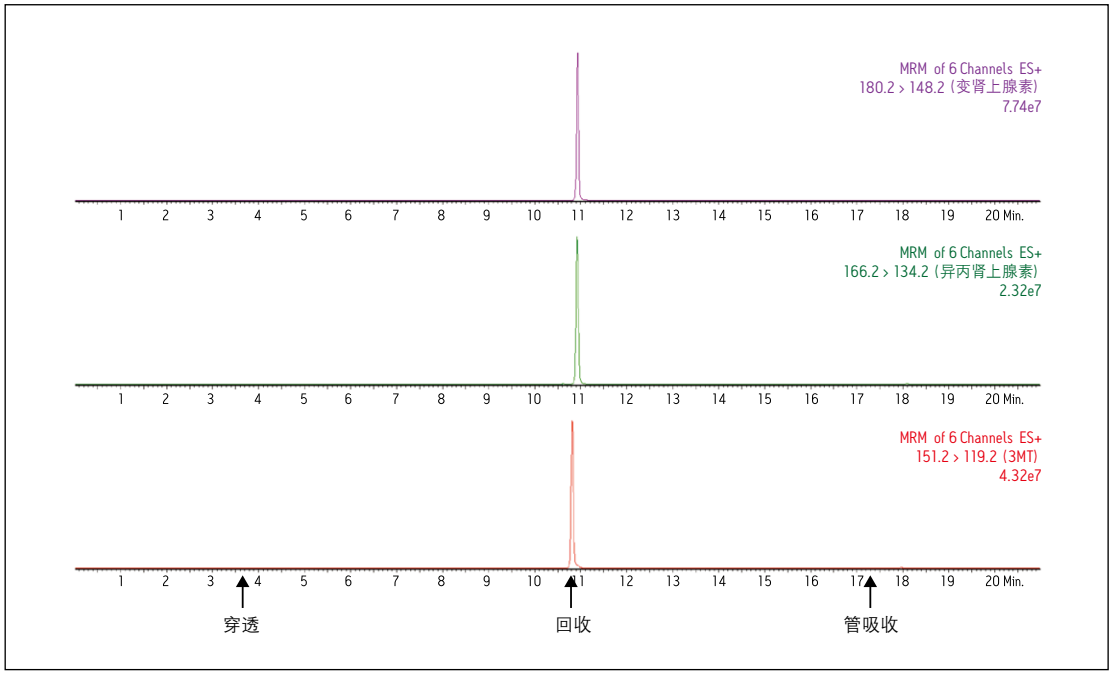


图3. 使用在线SPE方法测定变肾上腺素类激素的回收率。

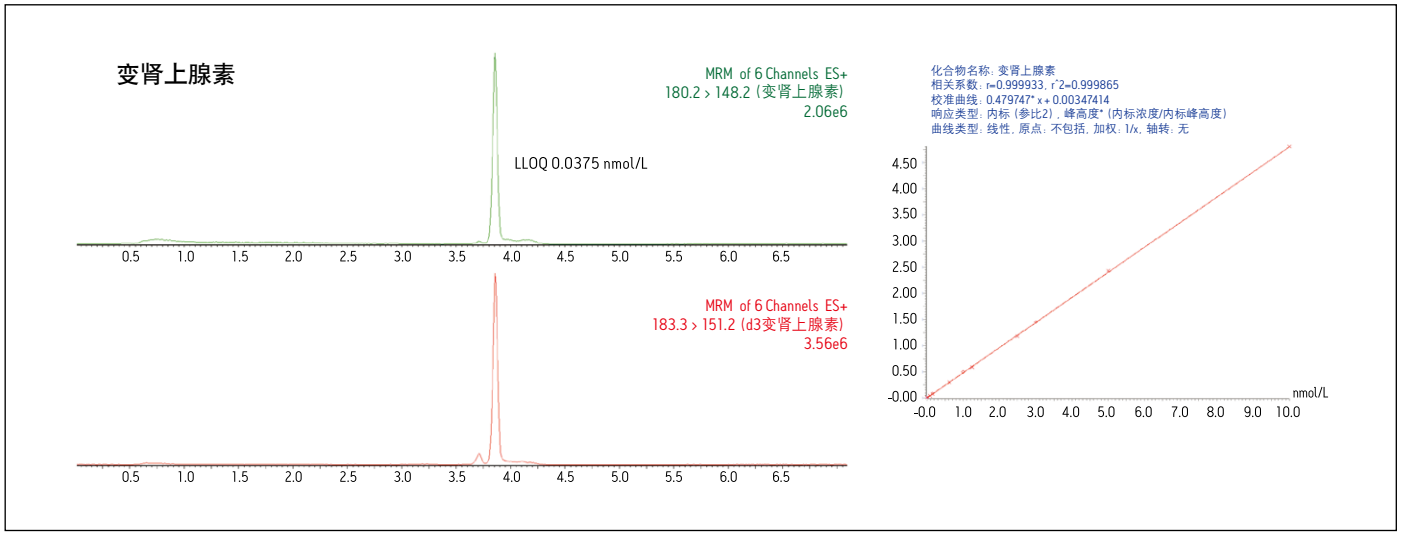


图4. 使用配备在线SPE的LC/MS系统进行血浆变肾上腺素分析。

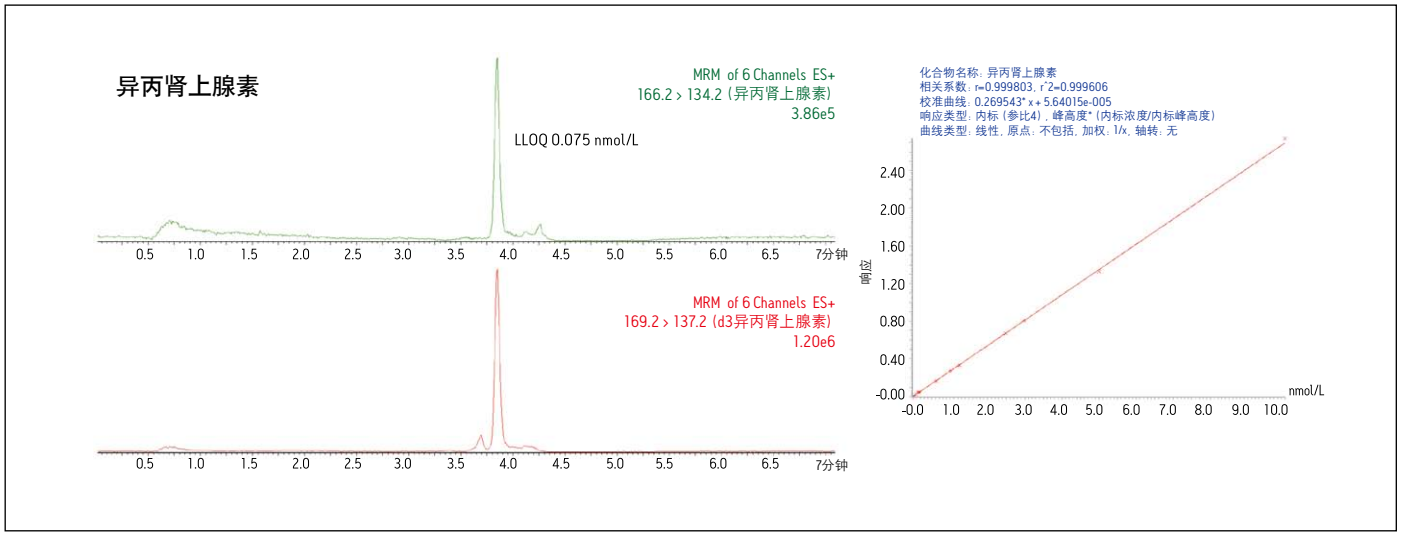


图5. 使用配备在线SPE的LC/MS系统进行血浆异丙肾上腺素分析。

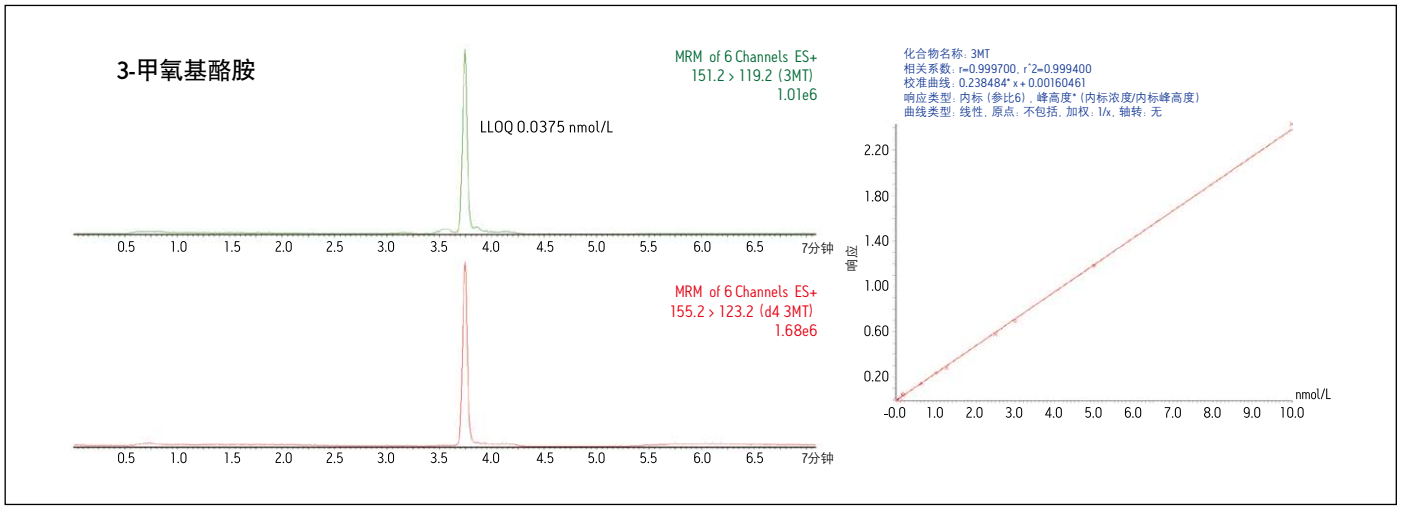


图6. 使用配备在线SPE的LC/MS系统进行血浆3-甲氧基酪胺分析。

总结

本研究开发了一种同步测量三种血浆变肾上腺素类激素的方法。该方法使用LC/MS和在线SPE系统。SPE样品制备与LC/MS分析的结合，使这些重要的血浆变肾上腺素类激素的分析更为灵敏且高效。

上述方法可实现：

- 同时测定血浆中的变肾上腺素、异丙肾上腺素和3-甲氧基酪胺
- 从异丙肾上腺素中分离3-MT，从而避免了干扰和检测结果偏高的问题
- LC/MS与高效SPE样品前处理系统相结合
- 十分优异的灵敏度（所有分析物的LLOQ都低于皮摩尔）

以上信息仅用于科学研究，不适用于临床诊断。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters，ACQUITY UPLC，Xevo，Atlantis和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。MassTrak是沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2013 年沃特世公司。印制于中国。2013年5月 720004613ZH IH-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6554 5999
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com