

应用纪要

使用自动化Andrew+移液机器人进行Ostro样品前处理以实现准确的衣康酸LC-MS生物分析定量

Kathryn Brennan, Mary Trudeau

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

您想进一步了解Andrew+移液机器人吗？

[申请产品演示](#)

摘要

本研究展示了自动化液体处理装置Andrew+移液机器人在样品前处理和提取过程中发挥的功能。使用Andrew+自动制备样品并通过Ostro蛋白沉淀和96孔磷脂去除板从人血浆中提取衣康酸，随后使用ACQUITY Premier系统和Xevo TQ-S micro质谱仪进行LC-MS/MS分析和定量。

优势

- 所用方法可轻松转移，有助于减少用户之间的误差
- 使用适合特定消耗品的“Domino”，可以在工作台上轻松移动
- 简便易用的OneLab软件，适用于创建、转移和记录方法
- 自动化液体处理可以提高效率，让用户有时间执行其他任务
- 液体处理功能有助于降低人为错误的风险
- OneLab软件在“用户操作”中结合了图像和视频指南，使用户可以控制方法中的特定步骤并获取针对特定应用的提示

简介

样品前处理是整个LC-MS生物分析工作流程中至关重要的一步，目的是从生物基质中提取、纯化和浓缩样品用于后续分析。常见的样品前处理技术包括样品稀释、蛋白沉淀(PPT)、液液萃取(LLE)和固相萃取(SPE)。为了在LC-MS分析过程中实现优异的灵敏度、选择性和准确定量，通常需要采用样品纯化和净化步骤。其中，PPT是一种较为简单的样品净化方式，其过程包括采集生物样品、用破坏蛋白质的溶液（通常由有机溶剂组成）稀释，然后将目标分析物从基质提取到溶液中。该工作流程看起来很简单；但是，由于需要人工干预，此步骤经常发生错误¹。当用户操作移液器移取或稀释样品时，可能会发生这样的错误。用户可能不小心移取了错误的体积、稀释了错误的样品或在样品吸取过程中溅出而造成污染。减少人为错误对于改善样品前处理工作流程至关重要。

Andrew+移液机器人是一款自动化液体处理装置，可以高效执行样品前处理工作流程的移液和提取步骤。

Andrew+采用云端OneLab软件运行，创建对生物样品进行液体处理和提取的方法，并通过真空装置启动液流，所有操作都在一个工作台上完成。易于组装的Domino可放置在适当的空间内，并通过磁体连接，以确保任何部件在方法的任何步骤中都不会移出适当的位置。本研究展示了Andrew+自动制备标准曲线标样和QC样品并使用Waters Ostro PPT和磷脂去除板以简单的直通式提取方法从人血浆中提取衣康酸用于后续LC-MS分析和定量的过程。

结果与讨论

利用Andrew+制备人血浆中衣康酸的校准曲线标样（浓度范围为0.5~100 ng/mL (N = 2)）以及浓度分别为0.75

ng/mL、7.5 ng/mL和75 ng/mL (N = 4)的质量控制(QC)样品。有关使用Ostro样品板进行标准曲线制剂提取以及LC-MS分析的更多信息可参见沃特世应用纪要720006683 <

[https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/Bioanalytical-LC-MS-](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/Bioanalytical-LC-MS-Quantification-of-Itaconic-Acid-A-Potential-Metabolic-Biomarker-of-Inflammation.html)

[Quantification-of-Itaconic-Acid-A-Potential-Metabolic-Biomarker-of-Inflammation.html](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/Bioanalytical-LC-MS-Quantification-of-Itaconic-Acid-A-Potential-Metabolic-Biomarker-of-Inflammation.html)> ²。利用

Andrew+和人工操作流程开展针对低浓度和高浓度QC样品的回收率实验，比较全自动化工作流程与手动工作流程的准确度和精密度。Andrew+将血浆样品和蛋白质破坏溶剂加载到Ostro PPT板上，抽吸使其混合。然后由

Andrew+施加真空，在-5 psi的恒定压力下持续5 min。在软件上实施用户操作通知，指示用户将沉淀的样品手动取出并转移至氮气蒸发器中，吹干后放回Andrew+进行复溶。完整的Andrew+工作台布局如图1所示。在分析过程中，利用ACQUITY Premier系统和色谱柱减少分析物与金属的螯合，确保衣康酸从色谱柱和系统中得到回收。

低浓度和高浓度QC样品的回收率分别为100%和99%，均优于手动操作的回收率。Andrew+自动化工作流程与手动工作流程的回收率比较结果见图2。QC样品的日内准确度和精密度（每个浓度下N = 4）见表1。准确度和精密度在

104.9%~112.8%之间，RSD在1.3%~3.6%之间。该方法获得了优异的定量性能，在200倍的浓度范围内， $R^2 =$

0.997，如图3所示。

0.997，如图3所示。

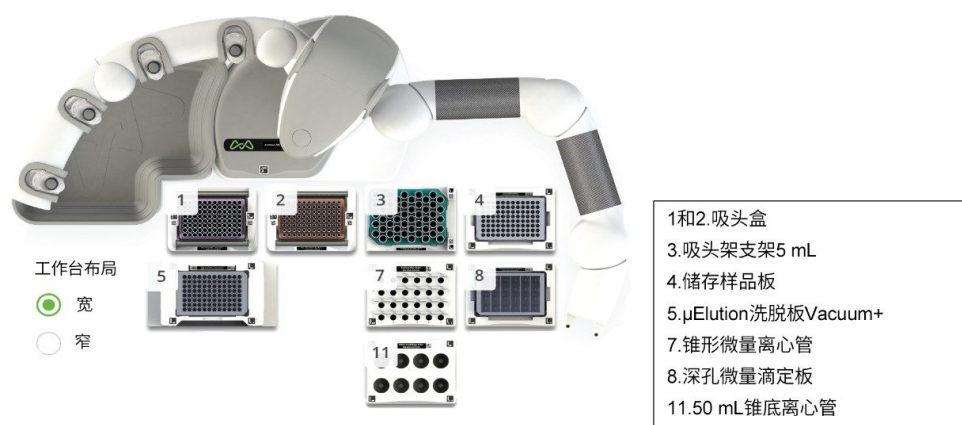


图1. Andrew+移液机器人工作台布局，使用Ostro PPT和96孔磷脂去除板进行衣康酸样品前处理和提取。

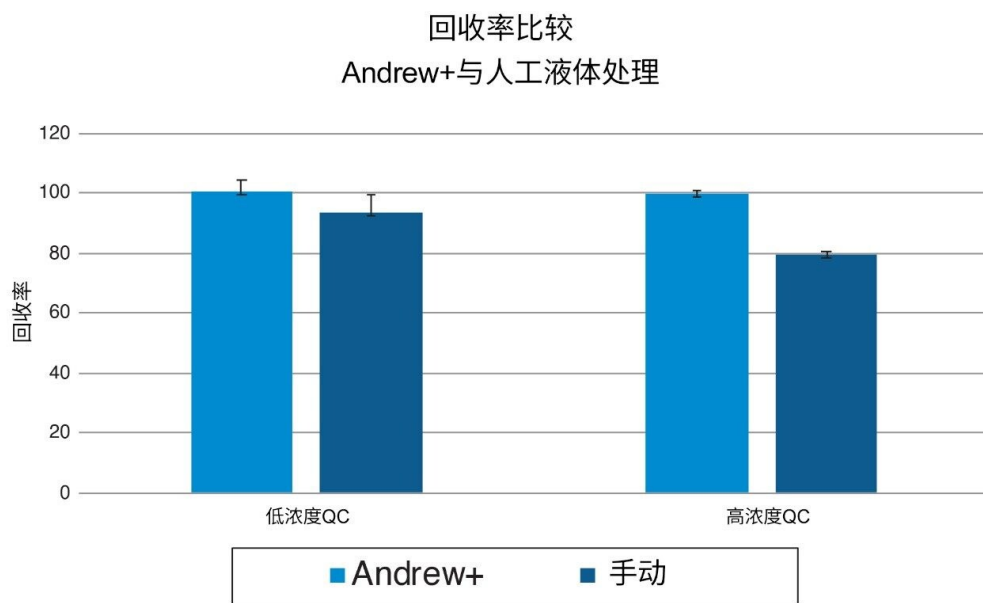


图2.比较Andrew+与手动方法利用Ostro PPT和96孔磷脂去除板进行样品前处理和提取获得的人血浆中衣康酸的回收率

QC样品的日内准确度和精密度 (N = 4)			
	浓度 (ng/mL)	准确度(%)	RSD%
LQC	0.75	104.9	3.6
MQC	7.5	112.8	2.8
HQC	75	106.9	1.3

表1.使用Andrew+通过Ostro PPT和磷脂去除板进行样品前处理和提取后执行LC-MS分析得到的人血浆中衣康酸QC样品的日内准确度和精密度(N = 4)

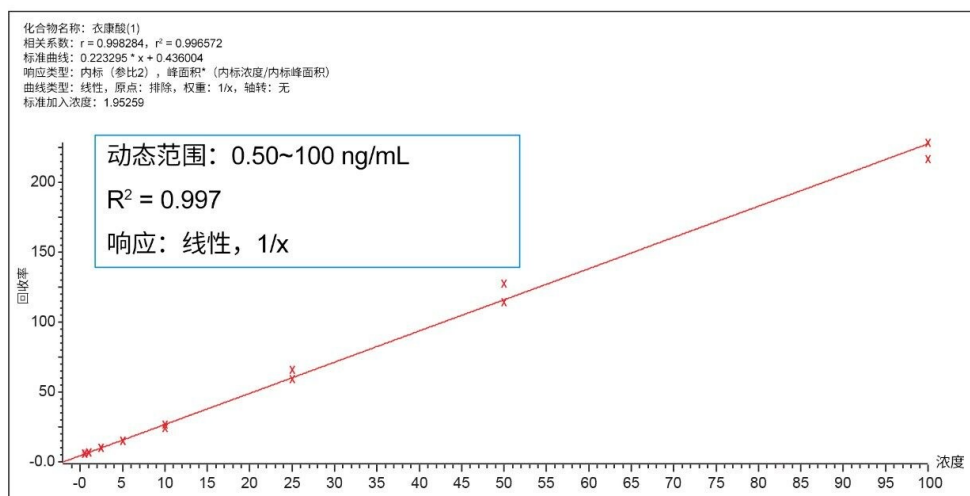


图3.使用Andrew+移液机器人通过Ostro PPT和磷脂去除板从血浆中提取的衣康酸的LC-MS定量性能

结论

本研究证明, 使用Andrew+移液机器人结合Waters Ostro 96孔板可以成功实现自动化样品前处理和PPT提取。与手动工作流程相比, Andrew+表现出更高的回收率和更好的RSD, 获得了良好的日内QC准确度和精密度, 符合建议的生物分析定量测定性能标准³。Andrew+方法能够自动移液并提取完整的标准曲线标样, 获得优异的定量性能。总而言之, Andrew+移液机器人以及广泛适用的生物分析工作流程为Ostro PPT和磷脂去除提供了简便易用的自动化液体处理和提取解决方案。

参考资料

1. Chapter 5 Automation Tools and Strategies for Bioanalysis, in Progress in Pharmaceutical and Biomedical Analysis, David A. Wells, Editor 2003, Elsevier.p. 135–197.
2. Brennan K, *et al.* Bioanalytical LC-MS Quantification of Itaconic Acid: A Potential Metabolic Biomarker

of Inflammation. Waters Application Note, 720006683 <
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/Bioanalytical-LC-MS-Quantification-of-Itaconic-Acid-A-Potential-Metabolic-Biomarker-of-Inflammation.html>> , 2019,
p.1-7.

3. Bansal S, DeStefano A. Key Elements of Bioanalytical Method Validation for Small Molecules. *The AAPS Journal* 2007, 9 (1), E109-E114.

特色产品

在LC和LC-MS样品前处理工作流程中实现自动化液体处理 <

<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135070059>>

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134798856>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720007176ZH, 2021年2月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号