

应用纪要

在临床研究中利用全新的Xevo™ TQ Absolute IVD质谱仪对一组类固醇激素进行UPLC™-MS/MS分析表现出极高的分析灵敏度

Robert Wardle, Dominic Foley, Gareth Hammond

Waters Corporation

仅供研究使用，不适用于诊断。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本应用简报展示了Xevo TQ Absolute IVD质谱仪在临床研究中仅用100 µL血清分析一组类固醇激素所表现出的极高的分析灵敏度和定量性能。

优势

- 利用Xevo TQ Absolute IVD质谱仪定量分析低浓度类固醇激素
- 采用简单的SPE样品前处理方法
- 通过UPLC分离同分异构体以进行选择性的检测

简介

类固醇激素在许多生化过程中起着核心作用，包括控制新陈代谢、炎症、免疫功能、盐水平衡、性征的发育以及抵抗疾病和伤害的能力。参与类固醇生物合成的某些酶类在这些代谢过程中非常关键。在临床研究中，通过测定合成途径中的类固醇激素，可以监测这些酶是否出现功能异常。

若使用免疫分析法测定这些类固醇激素，由于分析的抗体会与结构相似的类固醇激素以及合成途径的衍生物发生交叉反应，因此分析极易受到干扰。而使用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)测定这些类固醇激素可以获得极高的灵敏度、准确度和精密度。



图1.ACQUITY™ UPLC I-Class FL IVD系统和Xevo TQ Absolute IVD质谱仪

Xevo TQ Absolute IVD质谱仪采用了StepWave™ XS离子传输光学元件和Xtended Dynamic Range (XDR)，线性动态范围覆盖六个数量级，并具有出色的灵敏度、稳定性和可靠性。在临床研究中，使用MassTrak™内分泌类固醇校准品和质控品套装以Oasis™ MAX μElution™技术进行简单的样品前处理，并对类固醇激素进行UPLC分离，再结合Xevo TQ Absolute IVD质谱仪带来的种种优势，可实现具有高选择性和高灵敏度的类固醇激素分析。本研究考察的类固醇激素为雄烯二酮、17-羟基孕酮(17-OHP)、脱氢表雄酮(DHEA)、孕酮、二氢睾酮(DHT)和睾酮。

在临床研究中利用全新的Xevo™ TQ Absolute IVD质谱仪对一组类固醇激素进行UPLC™-MS/MS分析表现出极高的分
析灵敏度

实验

样品前处理和UPLC-MS/MS分析

样品萃取采用Hamilton STAR液体处理机器人。向100 μ L MassTrak内分泌类固醇校准品、质控品和样品中加入内标，并使用甲醇和水（每次加入试剂后混合）沉淀样品。在样品离心过程中，对Oasis MAX μ Elution板(p/n: 186001829 <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/186001829-oasis-max-96-well--elution-plate-2-mg-sorbent-per-well-30--m-1-p.html>>)进行活化和平衡。从每份预处理后的样品中取一部份上样至Oasis MAX μ Elution板的各个孔中，使样品缓慢通过板孔。依次使用甲酸的15%乙腈水溶液和氨水的15%乙腈水溶液进行连续清洗，以减少潜在的离子干扰。然后，使用60%乙腈水溶液洗脱分析物，最后在洗脱样品中加入水。

随后将样品进样至ACQUITY UPLC I-Class FL系统和Xevo TQ Absolute IVD质谱仪，采用水/甲醇/氯化铵梯度和Waters™ CORTECS™ UPLC C₁₈色谱柱进行分析。

用于检测所有分析物的多重反应监测(MRM)通道、定量离子对和定性离子对如图2所示。

结果与讨论

所有同分异构的类固醇激素均实现了色谱分离，进样间时间约为7.0分钟。典型色谱图如图2所示。

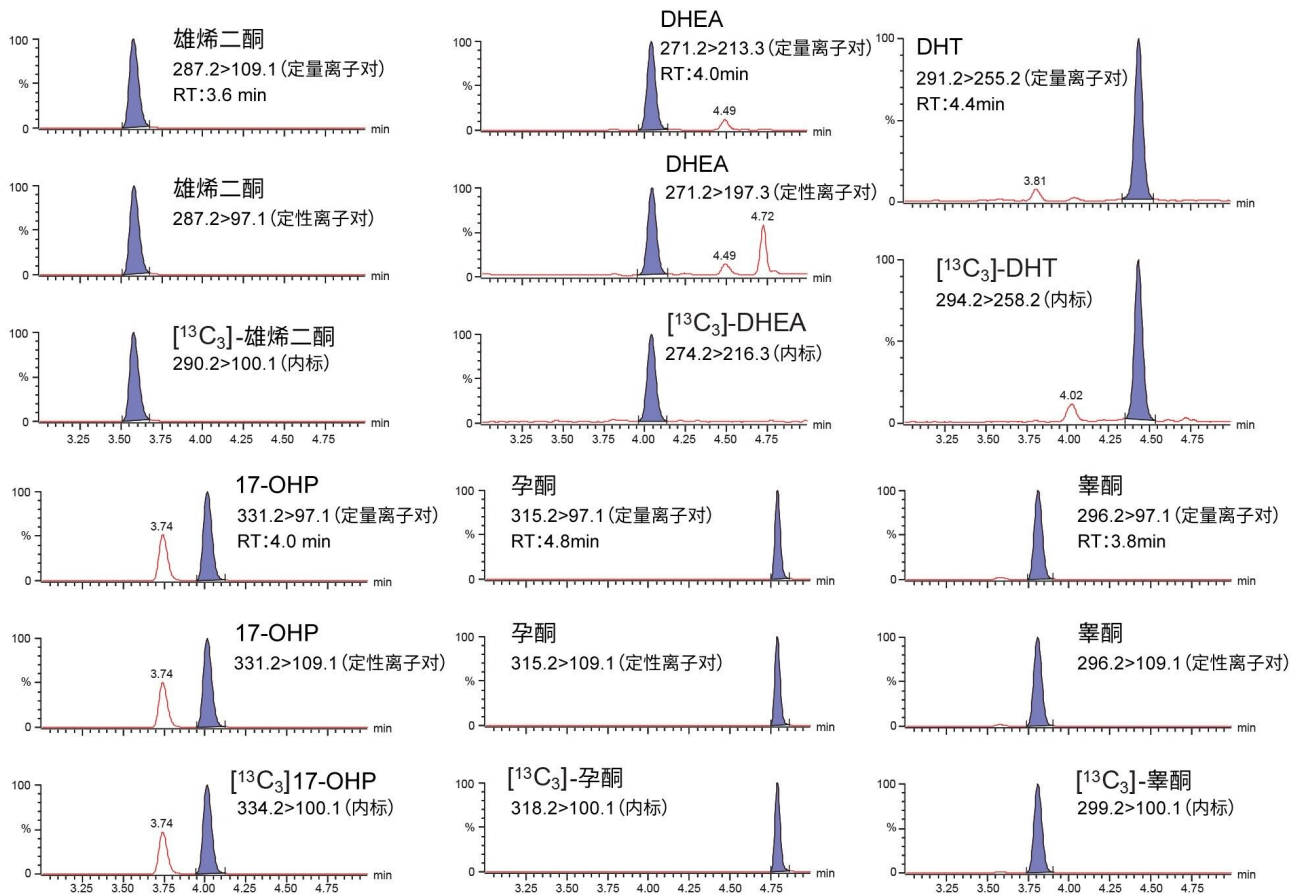


图2.类固醇激素组的典型色谱图

校准曲线在表1所示的校准范围内呈线性，所有分析物五次独立测定所得的相关系数>0.99，偏差百分比在±15%以内（校准品1为±20%）。校准曲线示例如图3所示。

	校准曲线范围 (ng/mL)
雄烯二酮	0.051-48.81
DHEA	0.21-46.86
DHT	0.024-2.13
17-OHP	0.049-94.30
孕酮	0.028-50.80
睾酮	0.010-19.10

表1.类固醇激素组的校准范围

化合物名称: 睾酮

相关系数: $r = 0.999653$, $r^2 = 0.999306$

校准曲线: $0.230342 * x + 0.000556085$

响应类型: 内标 (参比7), 峰面积* (内标浓度/内标峰面积)

曲线类型: 线性, 原点: 排除, 权重: 1/x, 轴转: 无

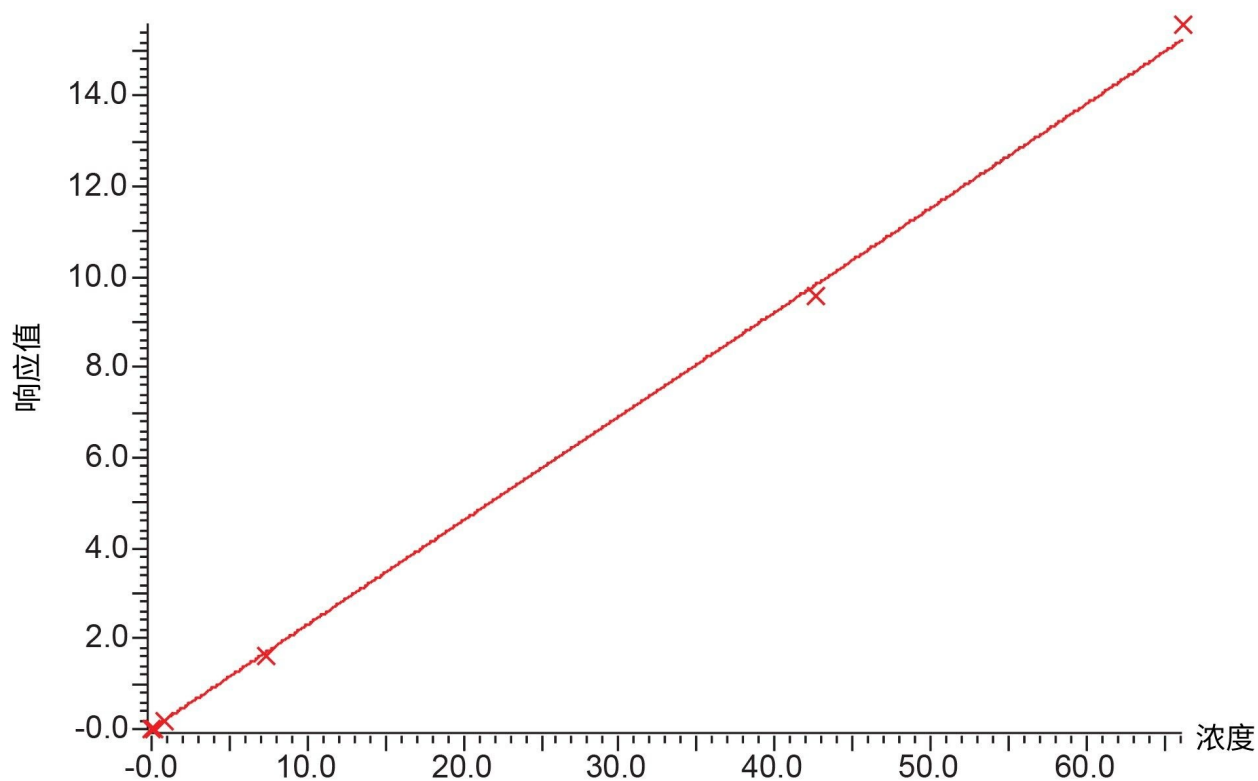


图3. 睾酮的校准曲线示例

通过萃取和分析低、中、高浓度MassTrak内分泌QC套装的五个重复样，每个重复样独立测定五次，来评估精密度性能。在所有浓度水平下，所有类固醇激素的批次内精密度和总精密度均为 $CV \leq 6.8\%$ ，结果汇总于表2中。

	QC1			QC2			QC3		
	指定浓度 (ng/mL)	精密度(%CV)		指定浓度 (ng/mL)	精密度(%CV)		指定浓度 (ng/mL)	精密度(%CV)	
		批次内精密度	总精密度		批次内精密度	总精密度		批次内精密度	总精密度
雄烯二酮	0.22	2.5	4.1	2.13	2.3	3.2	35.85	1.8	3.0
DHEA	0.79	5.8	6.6	8.41	3.2	4.5	33.17	3.3	4.5
DHT	0.096	6.0	6.8	0.92	2.2	2.5	1.61	2.7	3.8
17-OHP	0.23	3.0	3.3	2.21	3.3	3.5	73.00	2.0	3.0
孕酮	0.14	3.4	4.2	1.26	2.1	3.8	37.45	2.1	5.0
睾酮	0.055	2.8	3.2	0.52	1.9	2.4	14.68	2.2	3.2

表2.使用ACQUITY UPLC I-Class FL和Xevo TQ Absolute IVD萃取和分析类固醇激素的精密度性能汇总

用Golden West Biologicals MSG4000处理血清稀释校准品2溶液，制备低浓度混合样品，以此评估分析灵敏度。每个样品10个重复样进行萃取和分析，每个重复样独立测定四次，计算%CV，结果如表3所示。20.8 pg/mL雄烯二酮、17.9 pg/mL 17-OHP、11.9 pg/mL孕酮和3.3 pg/mL睾酮的分析结果%CV≤20%。图4还显示了每种分析物在上述浓度下的典型色谱图。

	低浓度样品		
	平均浓度 (pg/mL)	精密度 (%CV)	S:N (ptp)
雄烯二酮	20.8	17.8	19.26
17-OHP	17.9	19.6	13.41
孕酮	11.9	11.6	11.93
睾酮	3.3	19.4	10.08

表3.分析组中四种类固醇激素的分析灵敏度水平

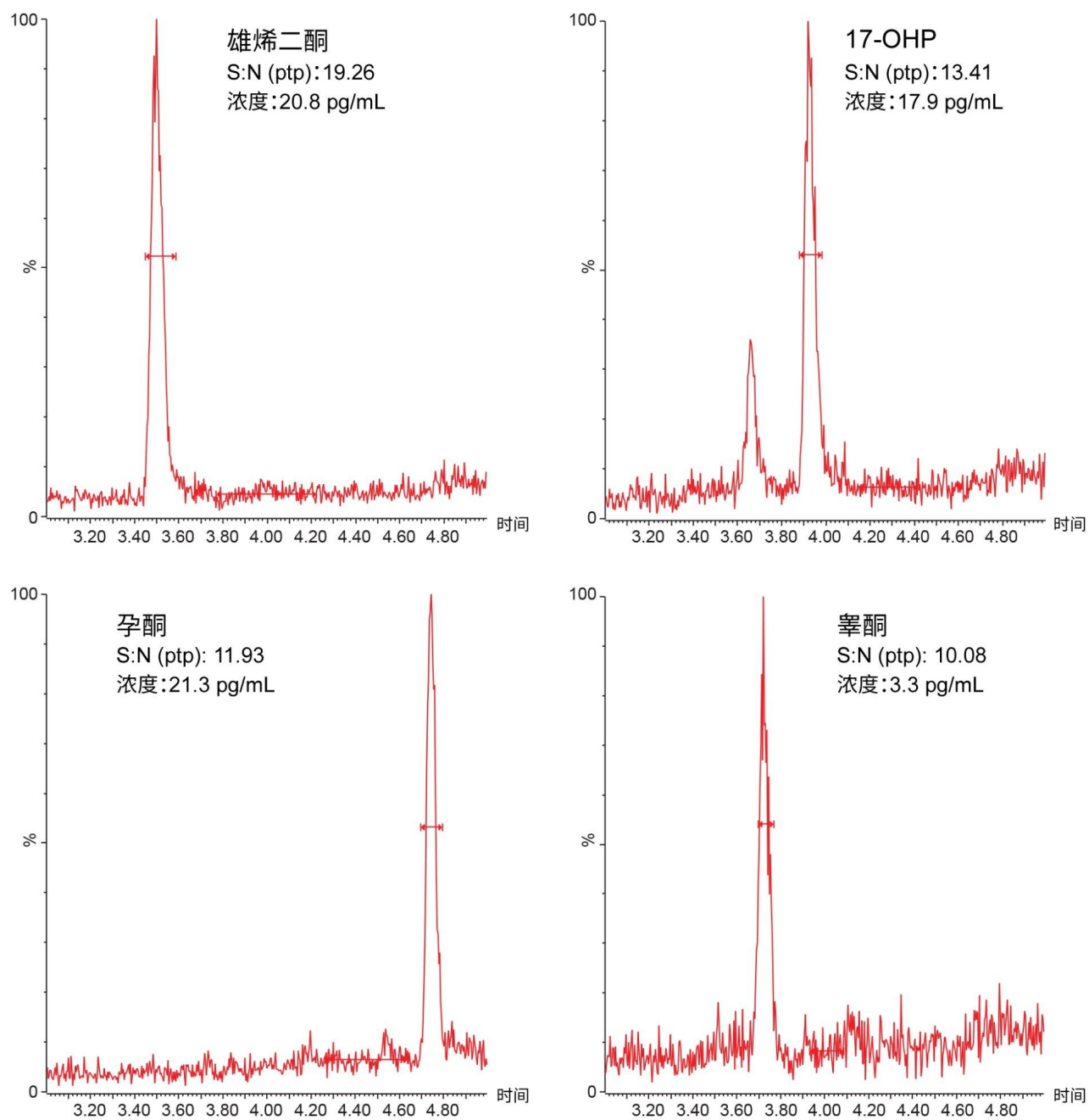


图4.分析组中四种类固醇激素的示例色谱图

在临床研究中利用全新的Xevo™ TQ Absolute IVD质谱仪对一组类固醇激素进行UPLC™-MS/MS分析表现出极高的分
析灵敏度 9

结论

Xevo TQ Absolute IVD在临床研究中分析类固醇激素组时表现出优异的分析灵敏度和定量性能，具有以下方法性能特征：

- 在所有运行中，所有类固醇激素的校准曲线的相关系数(r^2)均>0.99。
- 批次内精密度和总精密度结果为 $CV \leq 6.8\%$ 。
- 20.8 pg/mL雄烯二酮、17.9 pg/mL 17-OHP、11.9 pg/mL孕酮和3.3 pg/mL睾酮的分析均表现出优异的灵敏度， $\%CV < 20\%$ ，S:N (ptp) >10:1，仅使用了100 μ L血清。

仅供研究使用。不适用于诊断。

特色产品

[MassTrak ACQUITY UPLC I-Class PLUS/Xevo TQ Absolute IVD系统](https://www.waters.com/nextgen/cn/zh/products/mass-spectrometry-systems/masstrak-acquity-uplc-i-class-plus-xevo-tqd-ivd-system.html)

[ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统](https://www.waters.com/134613317)

720007892ZH, 2023年3月

© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

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

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)