

# 基于SCIEX LC-MS/MS系统对血清中4种神经酰胺的检测

## Detection of four ceramides in serum by SCIEX LC-MS/MS System

刘瑞琛, 胡凤梅, 裴旭哲, 黄超, 赵祥龙, 郭立海

Liu Ruichen, Hu Fengmei, Pei Xuzhe, Huang Chao, Zhao Xianglong, Guo Lihai

**关键词:** ceramides, serum

### 引言

鞘脂属于一类建立在鞘氨醇骨架上的非甘油基脂质。鞘氨醇的氨基上有不同链长的不饱和脂肪酸酰化生成鞘氨醇衍生物称为神经酰胺 (Ceramide, CER)。神经酰胺和二氢神经酰胺 (Dihydroceramide, dhCER) 是具有生物活性的脂质, 参与细胞增殖、分化和凋亡。CER与许多疾病有关, 如阿尔茨海默病、癌症、抑郁症、心血管疾病以及传染病。因此, 临床迫切需要建立一种简便、快速、灵敏的人血清中多种神经酰胺的检测方法。

目前, 神经酰胺非极性偏大, 在血清中的检测仍存在诸多难点, 如检测灵敏度低、色谱残留严重、提取回收率低、传统反相色谱保留强和基质干扰严重等。因此, 建立一种灵敏、准确、快速的分析方法实现血清中多种神经酰胺同时检测具有重要意义。

本方案基于SCIEX液相色谱串联质谱系统, 采用沉淀蛋白法对血清中4种神经酰胺进行精准定量及分析, 并对方法灵敏度、线性、准确度和携带效应进行了系统的方法学验证, 该方案可为临床心血管病诊断、愈后和治疗等提供检测方法参考和数据支持。

### 实验部分

#### 1. 样品前处理:

准确量取50  $\mu$ L血清样品于1.5 mL离心管中, 加入含同位素标记的350  $\mu$ L沉淀蛋白试剂, 涡旋混匀1 min, 4  $^{\circ}$ C 14000 r/min离心10 min, 离心后取上清, 待LC-MS/MS分析。

#### 2. 色谱质谱条件:

色谱条件: 色谱柱: C8 (2.6  $\mu$ m, 2.1  $\times$  100 mm), 流动相: A: 10 mM碳酸氢铵水溶液, B: 异丙醇:乙腈=3:7溶液, 洗针液: 甲醇:乙腈:异丙醇:水=1:1:1:1, 柱温: 50 $^{\circ}$ C, 进样量: 2  $\mu$ L, 梯度洗脱, 液相梯度见表1。

表1. 色谱柱液相梯度洗脱条件

| 时间 ( min ) | A(%) | B(%) |
|------------|------|------|
| 0.0        | 20   | 80   |
| 1.0        | 20   | 80   |
| 1.5        | 10   | 90   |
| 3.0        | 5    | 95   |
| 3.2        | 0    | 100  |
| 4.9        | 0    | 100  |
| 5.0        | 20   | 80   |
| 6.0        | 20   | 80   |

质谱条件: ESI源

气帘气 CUR: 30 psi

碰撞气 CAD: Medium

雾化气 GS1: 55 psi

辅助气 GS2: 55 psi

IS电压: -4500 V

源温度 TEM: 550 $^{\circ}$ C

质谱参数见表2

表2. 目标组分的质谱参数

| 分析物        | Q1    | Q3    | Dwell time | ID         | DP   | CE  |
|------------|-------|-------|------------|------------|------|-----|
| Cer16:0    | 536.4 | 280.2 | 35         | cer16:0-1* | -100 | -46 |
|            | 536.4 | 237.2 | 35         | cer16:0-2  | -100 | -54 |
| Cer18:0    | 564.5 | 308   | 35         | cer18:0-1* | -125 | -47 |
|            | 564.5 | 237.1 | 35         | cer18:0-2  | -125 | -45 |
| Cer24:0    | 648.7 | 392.2 | 35         | cer24:0-1* | -130 | -52 |
|            | 648.7 | 349.2 | 35         | cer24:0-2  | -130 | -55 |
| Cer24:1    | 646.6 | 390.2 | 35         | cer24:1-1* | -138 | -50 |
|            | 646.6 | 347.5 | 35         | cer24:1-2  | -138 | -48 |
| cer16:0-d7 | 543.4 | 280.2 | 35         | cer16:0-d7 | -100 | -46 |
| cer18:0-d7 | 571.5 | 308   | 35         | cer18:0-d7 | -125 | -47 |
| cer24:0-d7 | 655.7 | 392.2 | 35         | cer24:0-d7 | -130 | -52 |
| cer24:1-d7 | 653.6 | 390.2 | 35         | cer24:1-d7 | -138 | -50 |

\* 定量离子

## 结果与讨论

### 1. 灵敏度

以PBS为替代基质，考察4种神经酰胺的线性范围最低点灵敏度和峰形情况，结果表明化合物灵敏度高、峰形良好，4种神经酰胺的特征图谱见图1。

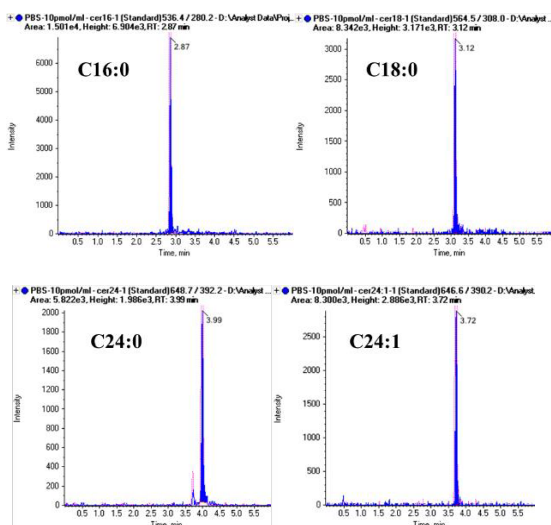


图1. 4种神经酰胺色谱图

### 2. 线性

以PBS为替代基质，配制混合标曲溶液，按上述前处理步骤进行处理，制作标准工作曲线。表3显示，Cer16:0、Cer18:0在10-1000 pmol/mL和Cer24:0、Cer24:1在50-10000 pmol/mL均具有良好的线性，其回归系数 $r > 0.999$ 。

### 3. 准确度

为了考察该检测方法的准确性，向血清中添加低、中、高三个浓度的工作溶液计算加标回收率，表3显示，不同浓度水平的加标回收率在93.9~113.6%之间，回收率良好，满足方法学要求。

表3. 线性、加标回收率实验结果

| 分析物     | 工作曲线                 | r      | 回收率(%) |       |       |
|---------|----------------------|--------|--------|-------|-------|
|         |                      |        | 低质控    | 中质控   | 高质控   |
| Cer16:0 | $y=0.02861x+0.03505$ | 0.9995 | 113.6  | 108.9 | 103.9 |
| Cer18:0 | $y=0.02311x-0.06540$ | 0.9996 | 99.9   | 100.7 | 93.9  |
| Cer24:0 | $y=0.02077x-0.04438$ | 0.9995 | 108.1  | 95.88 | 112.2 |
| Cer24:1 | $y=0.02315x-0.00106$ | 0.9995 | 111.6  | 103.4 | 112.6 |

### 4. 血清样本检测

在本方法条件下，各化合物在各自出峰位置峰形对称，响应良好。4种神经酰胺也可以实现基线分离，实际人血清样本中4种化合物的色谱图如图2。

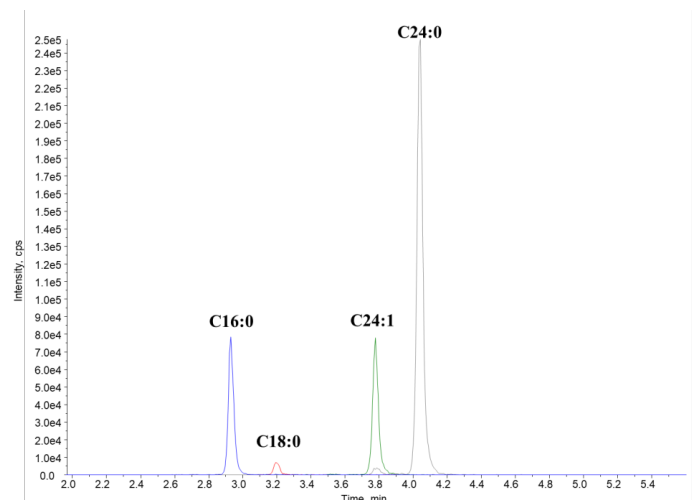


图2. 血清中4种神经酰胺色谱图

## 总结

本方案基于SCIEX Triple Quad™系统，建立了血清中4种神经酰胺含量测定LC-MS/MS方法。该方法通过简便快捷的沉淀蛋白法，结合质谱负离子采集模式，在6 min内实现同时检测4种神经酰胺，方法具有准确、灵敏、耐用性好的特点。该方案可为临床心血管病诊断、愈后和治疗等提供检测方法参考和数据支持。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15532-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808-1388  
传真：010-5808-1390  
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419-7201  
传真：021-2419-7333  
官网：[sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州办公室  
广州国际生物岛星岛环北路1号  
B2栋501、502单元  
电话：020-8842-4017

官方微信：[SCIEX-China](#)