

Protein G富集联合LC-MS/MS定量检测人血清中仑卡奈单抗

Determination of Lecanemab in Human Serum by Protein G Magnetic Beads Extraction combined with SCIEX Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry.

胡凤梅, 刘丹, 黄超, 赵祥龙, 刘冰洁

Hu Fengmei, Liu Dan, Huang Chao, Zhao Xianglong, Liu Bingjie

Key words: Lecanemab, Protein G Magnetic Beads; LC-MS/MS

引言

仑卡奈单抗(lecanemab)是一种人源化免疫球蛋白IgG1单克隆抗体,可直接拮抗聚集的可溶性和不溶性脑内 β 淀粉样蛋白(amyloid β protein, A β),从而减少阿尔茨海默病患者脑内的A β 沉积,缓解疾病进展,美国食品药品监督管理局于2023年1月6日批准其上市,用于治疗伴有轻度认知功能障碍或轻度痴呆的早期阿尔茨海默病(AD)。仑卡奈单抗作为AD的治疗药物,具有较好的临床治疗效果。但单抗药物在个体之间表现出很大的差异,用药方案需要根据个体进行优化,因此根据用药个体进行药物浓度检测,为精准用药提供临床指导以获得最大的治疗效益显得尤为重要。

随着生物药的应用普及,开发一种有效和通用的方法来准确定量血清中的仑卡奈单抗浓度具有非常迫切和实际的临床应用意义。液相色谱串联质谱法(LC-MS/MS)以其卓越的特异性,极高的检测灵敏度和高通量样本检测等优点,得到越来越多的临床认可,也逐步成为临床检验的一项重要手段。本方法基于SCIEX液相色谱串联质谱系统,采用英夫利昔作为内标的校正方法,准确检测血清中仑卡奈单抗的定量方法。本实验采用Protein G进行单抗的纯化,再进一步将单抗酶解后上机分析,实验耗时较短,可以满足临床检测样品的需求。检测化合物相关信息如下。

表1. 待测化合物信息列表

中文名	英文名	缩写	CAS编号	分子式
仑卡奈单抗	Lecanemab	LUN	1260393-98-3	C ₆₅₄₄ H ₁₀₀₈₈ N ₁₇₄₄ O ₂₀₃₂ S ₄₆
英夫利昔(内标)	Infliximab	IFLX	170277-31-3	C ₆₄₂₈ H ₉₉₁₂ N ₁₆₉₄ O ₁₉₈₇ S ₄₆

实验部分

样品前处理

本实验采用Protein G磁珠对抗体进行纯化再进行酶解的方式进行样本处理,步骤如下:

单抗纯化:取适量磁珠置于EP管中,清洗后,加入待测样本、内标和缓冲溶液,涡匀后在混匀仪上室温环境下孵育,孵育完成后清洗两次;使用酸性溶液将抗体从磁珠上洗脱;

抗体酶解:取洗脱液置于新的EP管中,加入适量碳酸氢铵溶液调节pH,高温变性后向溶液中加入胰酶溶液酶解;

终止酶解:将酶解液冷却至室温,向酶解液上加酸终止反应,涡流混匀后离心5 min,取上清进样分析。

色谱条件

色谱柱: Kinetex C18, 2.1 $\times$ 100 mm I.D, 2.6 μ m, Phenomenex;

流动相: A相为含0.1%甲酸的水溶液, B相为含0.1%甲酸的乙腈溶液;

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 40 $^{\circ}$ C;

进样体积：5 μ L；
洗脱方式：梯度洗脱，见表2；

表2. 液相梯度洗脱条件

时间（ min ）	A(%)	B(%)
0	90	10
1	90	10
7.5	65	35
8	10	90
10	10	90
10.1	90	10
12	90	10

质谱条件：
质谱平台：SCIEX LC-M/MS
电离方式：电喷雾离子源，正离子模式；
检测方式：多反应监测 (MRM)；
离子源温度 (TEM): 500 $^{\circ}$ C； 雾化气 (Gas1): 55 psi；
辅助气 (Gas2): 50 psi； 气帘气 (Gurtain Gas): 30 psi；
电喷雾电压：5500 V； 碰撞气(Collision Gas): 8
对应MRM通道及参数见表3。

结果与讨论

仑卡奈单抗及内标英夫利昔单抗在所选择肽段处各自出峰位置峰形对称，响应良好。在本方法条件下，仑卡奈及内标英夫利昔所选肽段之间不存在互相干扰。典型液相色谱图如图1。

表3. 仑卡奈单抗和内标特异性肽段的质谱参数

Name	Compound ID	Q1	Q3	DP	CE	肽段
仑卡奈单抗	LUN	482.7	558.2	60	28	EGGYYYGR
英夫利昔单抗	IFLX_IS	642.8	834.4	80	34.3	YASEMSGIPSR

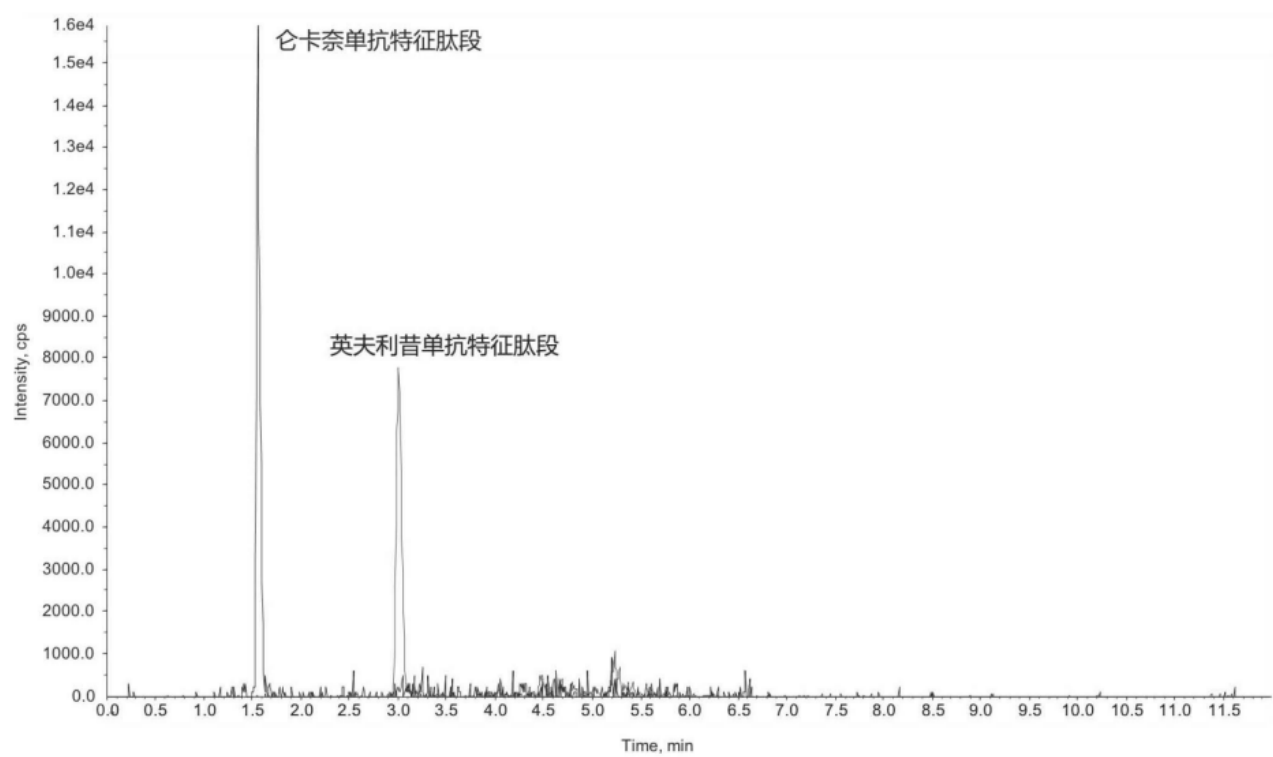


图1. 仑卡奈单抗及内标所选特异性肽段的典型液相色谱图

标准曲线

以空白血清作为基质，配制标准工作曲线。仑卡奈单抗的线性范围内线性良好， $r^2>0.99$ ，符合生物样本检测的通用要求。具体结果见表4。

加标准准确度

以当前样本前处理的方式连续进行三批血清样本加标准准确度的检测，在加标血清样本中，所选肽段都有较为明显的色谱峰，适于定量，在低、中、高浓度的加标准准确度测试中各个浓度的准确度均在可接受的范围内。具体数据见表5。

总结

在SCIEX液质联用平台上，实现了对仑卡奈单抗的定量检测，方案灵敏度满足要求。方案整体采用Protein G磁珠纯化再进行酶解的样本前处理，并以英夫利昔作为内标进行校准，实现了对实际血清样本中仑卡奈单抗的定量，方法线性良好，加标准准确度满足要求，方案无需氮吹、正压等设备，通用性强，可用于临床实际样本的检测。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料

表4. 仑卡奈单抗的标准曲线（连续三批）

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	回归方程(相关系数r)
仑卡奈单抗	0.500-200	$y = 0.23542x + 0.04013$ ($r=0.99692$)
		$Y=0.23546 X + 0.00943$ ($r=0.99543$)
		$Y=0.24078 X + -0.01087$ ($r=0.99867$)

表5. 仑卡奈单抗的加标准准确度（连续三批）

化合物名称	加标浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	检测浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	Accuracy %
仑卡奈 (特异性肽段 EGGYYYGR)	2.00	1.94	97.15
		2.13	106.45
		2.01	100.62
	20.0	20.8	103.92
		21.3	106.73
		19.1	95.26
		97.9	97.93
	100	100.5	100.54
		107.9	107.93

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。

© 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-35671-A