

# SCIEX Triple Quad™液质联用系统用于人血浆中脂蛋白的检测

## Quantification of Lipoprotein(a) in Human Plasma by SCIEX Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry System

贺琳娟, 赵祥龙, 郭立海

He Linjuan, Zhao Xianglong, Guo Lihai

**Keywords:** Lipoprotein(a), Human Plasma, Quantification

### 引言

脂蛋白 (Lipoprotein(a), Lp(a)) 是一种特殊的脂蛋白, 由载脂蛋白A (Apolipoprotein(a), Apo(a)) 与低密度脂蛋白 (LDL) 样的颗粒共价结合的球状物质, 分为内外两层, 主要参与细胞外脂质的包装、运输、储存和代谢。多项研究证实, 脂蛋白的浓度与心血管疾病风险 (Cardiovascular Disease, CVD) 之间存在因果关联, 可通过参与动脉粥样硬化的发生发展, 促进血栓的形成或引起血管痉挛而增加CVD风险。此外, 脂蛋白代谢异常也与糖尿病、肥胖症、肿瘤等疾病的发生密切相关。研究表明, 由于Apo(a)是Lp(a)的独特蛋白组分, 因此Apo(a)的定量是多数方法定量Lp(a)的基础。而Apo(a)存在特殊的结构域, 会导致不同个体Apo(a)大小的异质性。因此, Lp(a)浓度的检测方法应该避开相关区域, 以防止该区域的变异对检测造成影响。

目前, 现有的检测方法性能参差不齐, 缺乏标准化, 既不利于对Lp(a)的深入研究, 也难以在常规检测中推广。因此, 亟待开发一种可靠的脂蛋白定量分析方法。近年来, 采用液相色谱串联质谱 (LC-MS/MS) 技术被广泛应用于蛋白质组的靶向定量分析中, 提高了灵敏度、特异性和精密度。与传统的免疫学方法相比, LC-MS/MS在定量的准确性、特异性、灵敏度、重现性、线性范围等方面具有很大优势。

本文采用SCIEX液相色谱串联质谱系统, 建立血清中脂蛋白定量检测方法, 选取特征性肽段, 对脂蛋白进行精准定量及分析。本方法采用常规溶液内酶解, 将脂蛋白酶解为目标肽段, 无需特殊富集或净化耗材, 可以有效地满足临床检测需求。

## 1. 实验部分

### 1.1. 样品前处理

将血浆样本置于EP管内, 加入DTT, 还原。然后加入碘代乙酰胺于暗处烷基化, 随后加入胰酶酶解, 用酸终止酶解后, 待上机分析。本实验所选择的三种脂蛋白特征肽段序列信息, 见表1。

表1. 特征肽段序列信息

简称	完整肽段序列
GISS	GISSTTVTGR
TPAY	TPAYPNAGLIK
TPEN	TPENYPNAGLTR

### 1.2. 液相条件

色谱柱: Phenomenon C18 (2.6  $\mu\text{m}$ , 2.1  $\times$  100 mm), 流动相: A相为含酸水溶液, B相为含酸乙腈溶液, 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$ , 流速: 0.3mL/min。洗脱方式采用梯度洗脱, 见表2。

表2. 液相梯度洗脱条件

时间 (min)	A (%)	B (%)
0.0	95	5
1.0	95	5
2.5	5	95
3.5	5	95
3.6	95	5
5.0	95	5

### 1.3. 质谱条件

采用正电喷雾离子源 (Electrospray Ionization, ESI) 和多反应监测 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) 模式进行质谱检测。

离子源参数：喷雾针（Ionspray, IS）正模式电压为5500 V；加热气（Gas1）为45 psi，辅助加热气（Gas2）为60 psi，脱溶剂气温度为450 °C；气帘气（Curtain Gas, CUR）为25 psi，碰撞气（Collision Gas, CAD）为8 psi。为了获取较好的稳定性和灵敏度，各化合物监测离子对的去簇电压（Declustering Potential, DP）和碰撞电压（Collision Energy, CE），目标物离子对以及内标物监测离子对等参数均经过系统优化，具体信息见表3。

表3. 目标组分和同位素内标物质的质谱参数

Q1	Q3	ID	DP	CE	CXP
490	808.4	GISS-1*	45	25	14
490	143.2	GISS-2	45	28	14
654.6	712.6	TPAY-1*	35	35	20
654.6	875.4	TPAY-2	35	34	20
667.1	728.3	TPEN-1*	40	40	20
667.1	891.4	TPEN-2	40	36	20
493.1	814.5	GISS-IS-1*	60	21	11
493.1	143.2	GISS-IS-2	60	35	11
658	719.5	TPAY-IS-1*	65	36	11
658	882.6	TPAY-IS-2	65	32	11
670.5	735.5	TPEN-IS-1*	93	36	11
670.5	1012.5	TPEN-IS-2	93	39	11

\* 定量离子

## 2. 结果与讨论

### 2.1. 线性关系

图1为各蛋白特征肽段的典型色谱图。各肽段标准曲线及线性回归方程见表4。各蛋白特征肽段在相应的线性范围内线性良好，回归系数r均大于0.995。

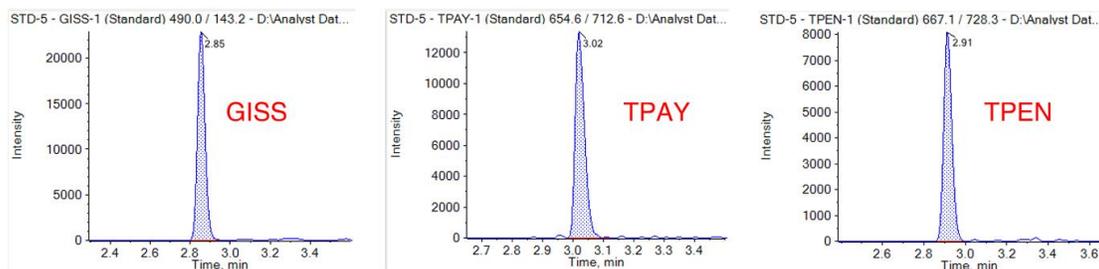


图1. 三种脂蛋白肽段的典型色谱图

表4. 回归方程和线性范围

特征肽段序列	回归方程	相关系数 r	线性范围
GISS	$Y=595.68402x+264.32838$	$r=0.99695$	2.5~1000 pg/mL
TPAY	$Y=296.79505x \pm 575.52468$	$r=0.99889$	5~5000 pg/mL
TPEN	$Y=231.86761x \pm 171.91599$	$r=0.99935$	10~1000 pg/mL

### 2.2. 重现性与准确性

为考察方法的重现性及准确性，对于脂蛋白各特征肽段的精密度和准确度进行方法验证。从表5可以看出，各肽段制备低、中、高三个浓度的精密度（RSD）均在0.65%-4.34%以内，准确度在93.47%-105.45%以内，符合方法学分析要求。

表5. 准确度及精密度结果

化合物名称	理论浓度 (pg/mL)	检测浓度 (pg/mL)	准确度 (%)	精密度 (%)
GISS	5	5.17	103.48	4.08
	75	72.83	97.11	1.86
	750	712.60	94.50	0.65
TPAY	10	10.55	105.45	3.96
	75	78.14	104.18	3.03
	750	776.99	103.60	1.47
TPEN	10	9.35	93.47	4.34
	750	726.86	96.91	1.71
	7500	7229.37	96.39	0.72

## 总结

本方案基于SCIEX高灵敏度和高稳定性的三重四极杆串联质谱系统，实现了对人体血清中脂蛋白的定量检测。实验采用电喷雾离子源正离子和MRM多反应监测模式，前处理通过蛋白变性还原及胰酶酶解等过程，将脂蛋白酶解为特征性目标肽段，实现对于血浆中脂蛋白快速、准确的定量分析。同时，基于LC-MS/MS方法的高灵敏度和高特异性的优势特点，针对特征性肽段进行MRM检测，各化合物在浓度范围内线性良好 ( $r > 0.995$ )；准确度 (93.47%-105.45%) 和精密度 (0.65%-4.34%) 均符合方法学要求。本方法的建立有助于更准确地检测血浆中脂蛋白的浓度水平，为临床检测提供数据支撑和参考。

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。

© 2024 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-32969-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](#)