

# LCMS-8050 CL 用于新生儿筛查稳定性的应用研究

## LCMSMS-396

**摘要:** 本研究使用珀金埃尔默新生儿筛查试剂盒在岛津 LCMS-8050 CL 上进行稳定性考察实验, 实验结果显示, 所有氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱质控品的测定结果均在试剂盒要求的质控范围内 (质控范围为靶值  $\pm 3SD$ )。5 天测定的 90 批次质控分析数据, 超过 99.5% 的高低质控数据落在靶值  $\pm 2SD$  以内, 高浓度质控数据超过 95% 落在靶值  $\pm 1SD$  以内, 低浓度质控数据超过 87% 落在靶值  $\pm 1SD$  以内, 远优于试剂盒规定的质控范围为靶值  $\pm 3SD$ 。LCMS-8050 CL 液质联用系统进行新生儿筛查检测灵敏度、精密度及稳定性优异, 能够满足临床新生儿筛查检验需求。

**关键词:** LCMS-8050 CL 新生儿筛查 稳定性

新生儿筛查 (newborn screening, NBS) 是指一些目前还无法在产前作出诊断的先天性疾病, 在新生儿期间取少量血液进行快速地检查, 从而来判别新生儿是否患有遗传性的疾病。其目的是对那些患病的新生儿在临床症状尚未表现之前或表现轻微时通过筛查, 得以早期诊断、早期治疗, 防止机体组织器官发生不可逆的损伤。避免患儿发生智力低下、严重的疾病或死亡。

串联质谱用于新生儿遗传代谢病的筛查诊断, 是

新生儿筛查发展史上最重要的进展。它主要通过数十种小分子的分析, 筛查出包括氨基酸病、有机酸代谢紊乱和脂肪酸氧化缺陷在内的几十种遗传代谢病, 大大提高了筛查效率, 实现了“一种实验检测一种疾病”到“一种实验检测多种疾病”的转变。

本文应用非衍生化样本处理的串联质谱技术检测新生儿足跟血干血斑中氨基酸、琥珀酰丙酮和肉碱浓度 (具体分析物见表 1), 用以考察 LCMS-8050 CL 进行新生儿筛查检测准确度、灵敏度及稳定性。

表 1 检测分析物

编号	氨基酸	缩写
1	丙氨酸	Ala*
2	精氨酸	Arg
3	瓜氨酸	Cit*
4	甘氨酸	Gly*
5	亮氨酸 / 异亮氨酸 / 羟基脯氨酸	Leu/Ile/Pro-OH*
6	蛋氨酸	Met*
7	鸟氨酸	Orn
8	苯丙氨酸	Phe*
9	脯氨酸	Pro*
10	酪氨酸	Tyr*
11	缬氨酸	Val*
12	琥珀酰丙酮	SA*

编号	肉碱	缩写
1	游离肉碱	C0*
2	乙酰肉碱	C2*
3	丙酰肉碱	C3*
4	丙二酰肉碱 /3- 羟基 - 丁酰肉碱	C3DC/C4OH
5	丁酰肉碱	C4*
6	甲基丙二酰肉碱 /3- 羟基 - 异戊酰肉碱	C4DC/C5OH
7	异戊酰肉碱	C5*
8	异戊烯酰肉碱	C5:1
9	戊二酰肉碱 /3- 羟基 - 己酰肉碱	C5DC/C6OH*
10	己酰肉碱	C6*
11	己二酰肉碱	C6DC
12	辛酰肉碱	C8*
13	辛烯酰肉碱	C8:1
14	癸酰肉碱	C10*
15	癸烯酰肉碱	C10:1
16	癸二烯酰肉碱	C10:2
17	十二碳酰肉碱	C12*
18	十二碳烯酰肉碱	C12:1
19	十四碳酰肉碱 (肉豆蔻酰肉碱)	C14*
20	十四碳烯酰肉碱	C14:1
21	十四碳二烯酰肉碱	C14:2
22	3- 羟基 - 十四碳酰肉碱	C14OH
23	十六碳酰肉碱 (棕榈酰肉碱)	C16*
24	十六碳烯酰肉碱	C16:1
25	3- 羟基 - 十六碳酰肉碱	C16OH
26	3- 羟基 - 十六碳烯酰肉碱	C16:1OH
27	十八碳酰肉碱 (硬脂酰肉碱)	C18*
28	十八碳烯酰肉碱 (油酸肉碱)	C18:1
29	十八碳二烯酰肉碱 (亚油酸肉碱)	C18:2
30	3- 羟基 - 十八碳酰肉碱	C18OH
31	3- 羟基 - 十八碳烯酰肉碱	C18:1OH

注：\* 为质控分析物

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津临床用超高效液相色谱仪 LC-30A CL 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 联用系统。具体配置为 LC-30AD CL×2 (输液泵)，DGU-20A5R CL (在线脱气机)，SIL-30ACMP CL (自动进样器)，CTO-30A CL (柱温箱)，CBM-20A CL 系统控制器，LCMS-8050 CL 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站，Neonatal Solution Ver. 2.30 新生儿筛查工作站。

## 1.2 分析条件

液相色谱条件:

色谱柱: 无, 安装在线过滤器, 珀金埃尔默试剂盒提供

流动相: 珀金埃尔默试剂盒提供

流速: 0.15 mL/min

柱温: 室温

进样量: 1  $\mu$ L

自动进样器温度: 4°C

洗脱方式: 流速梯度, 时间程序见表 2。

表 2 流速梯度时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.10	Pumps	Total flow.	0.05
0.65	Pumps	Total flow..	0.30
0.66	Pumps	Total flow.	1.00
1.00	Controller	Stop	

质谱条件:

分析仪器: LCMS-8050 CL

DL 温度: 300°C

离子源: ESI (+)

加热模块温度: 450°C

雾化气流速: 3.0 L/min

干燥气流速: 5.0 L/min

加热气流速: 15.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

接口温度: 300°C

## 1.3 材料与方法

### 1.3.1 材料

高质控干血斑: 珀金埃尔默试剂盒提供

低质控干血斑: 珀金埃尔默试剂盒提供

内标准溶液: 珀金埃尔默试剂盒提供

样品稀释液: 珀金埃尔默试剂盒提供

### 1.3.2 方法

方法原理: 使用含稳定同位素标记的氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱内标准品的溶剂萃取滤纸干血片中的氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱, 然后用 MS/MS 系统进行分析。通过测定每个氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱与其对应的同位素内标的离子峰强度, 由已知水平的内标, 即可通过岛津新生儿筛查软件自动计算出所测样本的氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱浓度水平。

样本前处理方法: 用直径 3 mm 打孔器在滤纸血片上取样, 置于 96 孔板中, 每孔加入含氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱同位素内标的溶液 100  $\mu$ L, 45°C 密封孵育震荡 (650 ~ 750 r/min) 45 min, 提取 75  $\mu$ L 萃取液转移至 V 型底 96 孔板内, 铝膜覆盖, 上机检测, 如图 1 所示。每天分别制备 5 批次低浓度质控 (LC), 5 批次高浓度质控 (HC) 进行测定, 每个批次重复进样 3 针, 第二天重新测定第一天制备质控品, 并重新制备 5 批次低浓度质控, 5 批次高浓度质控进行测定, 如此连续测定 5 天, 共进样 270 针样品。

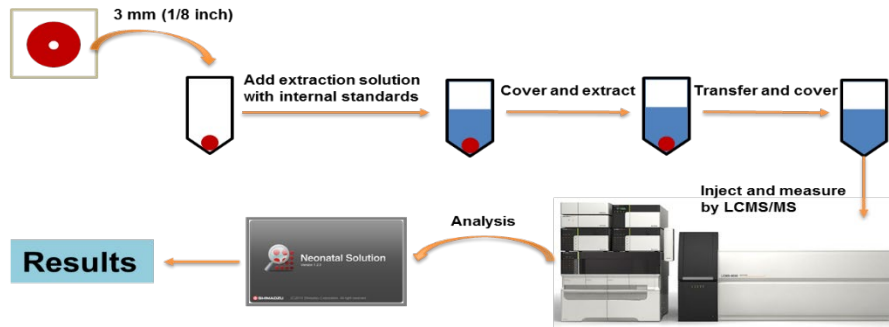


图1 样本前处理及分析流程

## 实验结果

质控品测定谱图见图2，9种氨基酸质控品、琥珀酰丙酮及13种肉碱质控品测定稳定性结果见图3及表3。

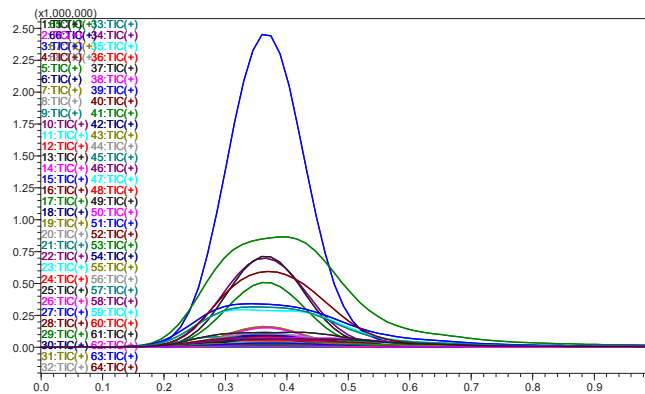
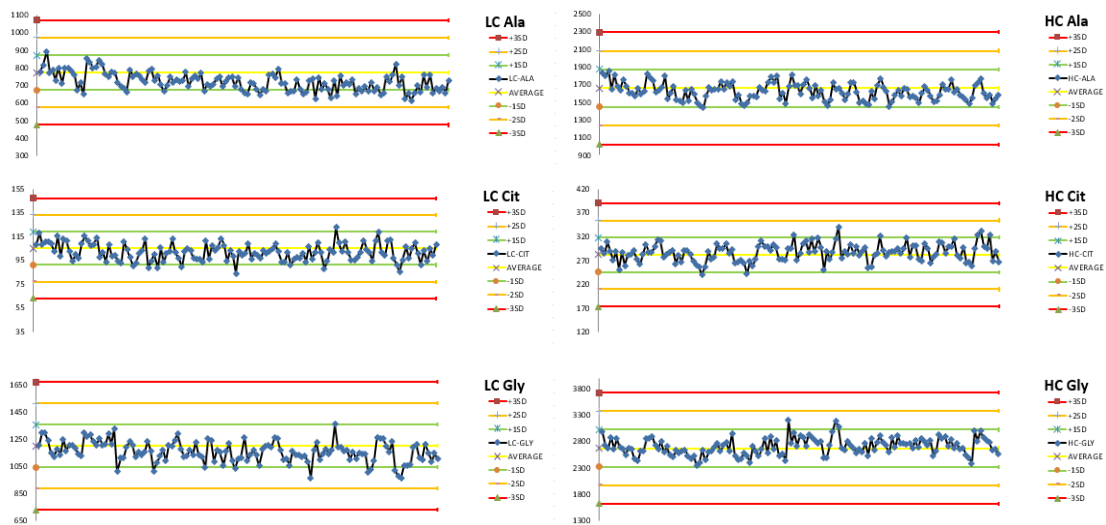


图2 质控品测定谱图



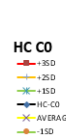
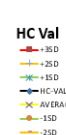
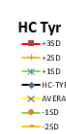
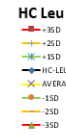
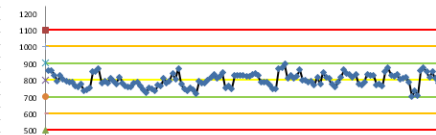
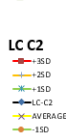
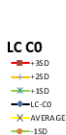
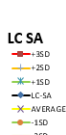
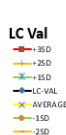
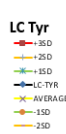
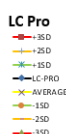
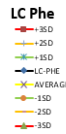
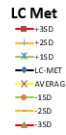
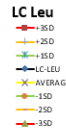
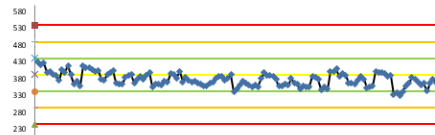




图 3 质控品连续 5 天测定结果

表 3. 连续五天测试质控数据统计结果

分析物	±1SD 以内占比 /%		±2SD 以内占比 /%		±3SD 以内占比 /%	
	LC	HC	LC	HC	LC	HC
Ala	76.3	99.3	100	100	100	100
Cit	93.3	93.3	100	100	100	100
Gly	91.9	97.8	100	100	100	100
Leu	96.3	99.3	100	100	100	100
Met	83.7	88.1	100	99.3	100	100
Phe	91.9	100.0	100	100	100	100
Pro	92.6	100.0	100	100	100	100
Tyr	86.7	97.0	99.3	100	100	100
Val	98.5	100.0	100	100	100	100
Sa	55.6	72.6	92.6	100	100	100
C0	97.0	99.3	100	100	100	100
C2	91.1	99.3	100	100	100	100
C3	88.9	98.5	100	100	100	100
C4	89.6	98.5	100	100	100	100
C5	83.7	97.8	100	100	100	100
C5DC	71.9	89.6	98.5	100	100	100
C6	77.0	98.5	100	100	100	100
C8	93.3	98.5	100	100	100	100
C10	90.4	99.3	100	100	100	100
C12	88.1	98.5	100	100	100	100
C14	94.1	96.3	100	100	100	100
C16	92.6	99.3	100	100	100	100
C18	89.6	97.0	100	100	100	100

## ■ 结果与讨论

本研究使用珀金埃尔默新生儿筛查试剂盒在岛津 LCMS-8050 CL 上进行测定稳定性考察实验, 实验结果显示, 5 天测定的所有氨基酸、琥珀酰丙酮及肉碱质控品的测定结果均在试剂盒要求的质控范围内 (质控范围为靶值  $\pm 3SD$ )。其中, 5 天测定的 90 批次质控数据 (每批次重复 3 针进样, 质控品中含有 23 个质控分析物), 超过 99.5% 的高低质控数据落在靶值  $\pm 2SD$  以内, 高浓度质控数据超过 95% 落在靶值  $\pm 1SD$  以内, 低浓度质控数据超过 87% 落在靶值  $\pm 1SD$  以内, 远优于试剂盒的规定。使用 LCMS-8050 CL 液质联用系统进行新生儿筛查检测灵敏度及精密度良好, 稳定性优异, 能够满足临床新生儿筛查检验需求。