

Application News

No. C91

LC/MS
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

使用 LCMS-8040 测定 DBS (Dried Blood Spot) 中富马酰乙酰乙酸水解酶活性

Measurement of Fumarylacetoacetate Activity in DBS (Dried Blood Spot) with LCMS-8040

测定氨基酸代谢中的富马酰乙酰乙酸水解酶活性时，可使用代谢中间产物富马酰乙酰乙酸或琥珀酰丙酮 (SuAC) 作为指标 (图 1)。

本文为您介绍 Meyer Children's Hospital, Mass Spectrometry, Clinical Chemistry and Pharmacology Lab. (Florence, Italy) 使用三重四极杆液相色谱质谱联用仪 LCMS-8040 对琥珀酰丙酮进行测定的方法。

■ DBS 样品提取和 MS 测定

Sample Extraction from DBS and MS Analysis

将干血斑滤纸片 DBS (Dried Blood Spot) 剪切成 3.2 mm 直径的切片后，按照图 2 所示的预处理方法提取样品。因为也可从血浆或尿液中提取样品，所以图中也表示了其预处理方法，仅供参考。

LC 和 MS 条件如表 1 所示。本次分析将琥珀酰丙酮作为目标化合物，将 $^{13}\text{C}_4$ -琥珀酰丙酮作为内标，进行了 MRM (Multiple Reaction Monitoring) 测定。

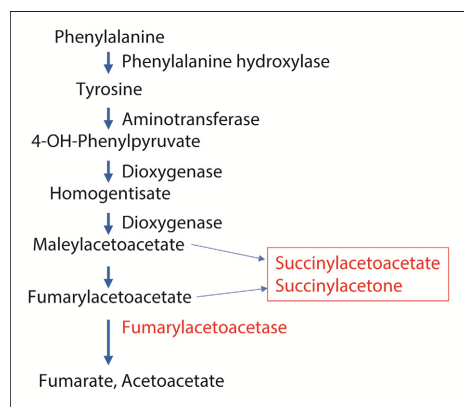


图 1 代谢途径
Metabolic Pathway

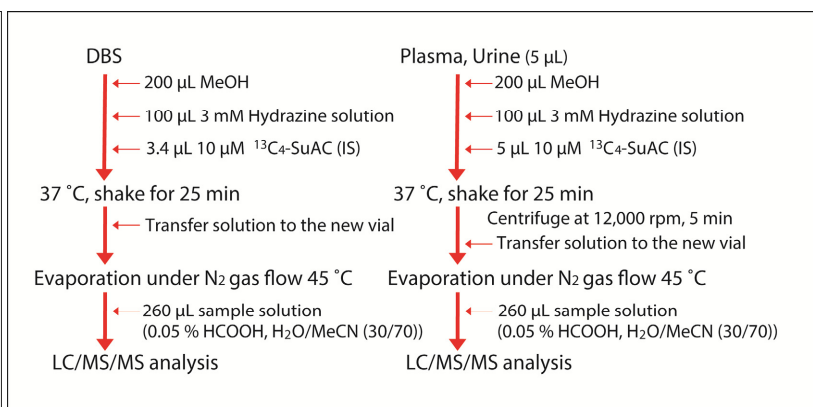


图 2 预处理方法
Preparation Protocol

表 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Synergi POLAR-RP (150 mm L. × 2.0 mm I.D., 4 µm)	Ionization Mode	: ESI(+)
Mobile Phase A	: 0.1 % HCOOH-H ₂ O	Probe Voltage	: +4.5 kV
Mobile Phase B	: CH ₃ OH	Nebulizing Gas Flow	: 2.5 L/min
Ratio	: 80 %B	Drying Gas Flow	: 15.0 L/min
Flowrate	: 0.2 mL/min	DL Temperature	: 250 °C
Column Temperature	: 30 °C	Block Heater Temperature	: 400 °C
Injection Volume	: 5 µL	MRM	: Succinylacetone (154.8 > 136.9) $^{13}\text{C}_4$ -Succinylacetone (158.9 > 141)
Analysis Time	: 4 min		

■ 测定结果

Analysis Results

测定结果如图 3 所示。Sample 组为无富马酰乙酰乙酸水解酶活性的样品，Control 组为有酶活性的样品。Positive Control 组为

使用了预先添加琥珀酰丙酮的 DBS。只有 Sample 组中检测到琥珀酰丙酮的典型色谱峰。根据该分析的测定结果可以确认酶活性。

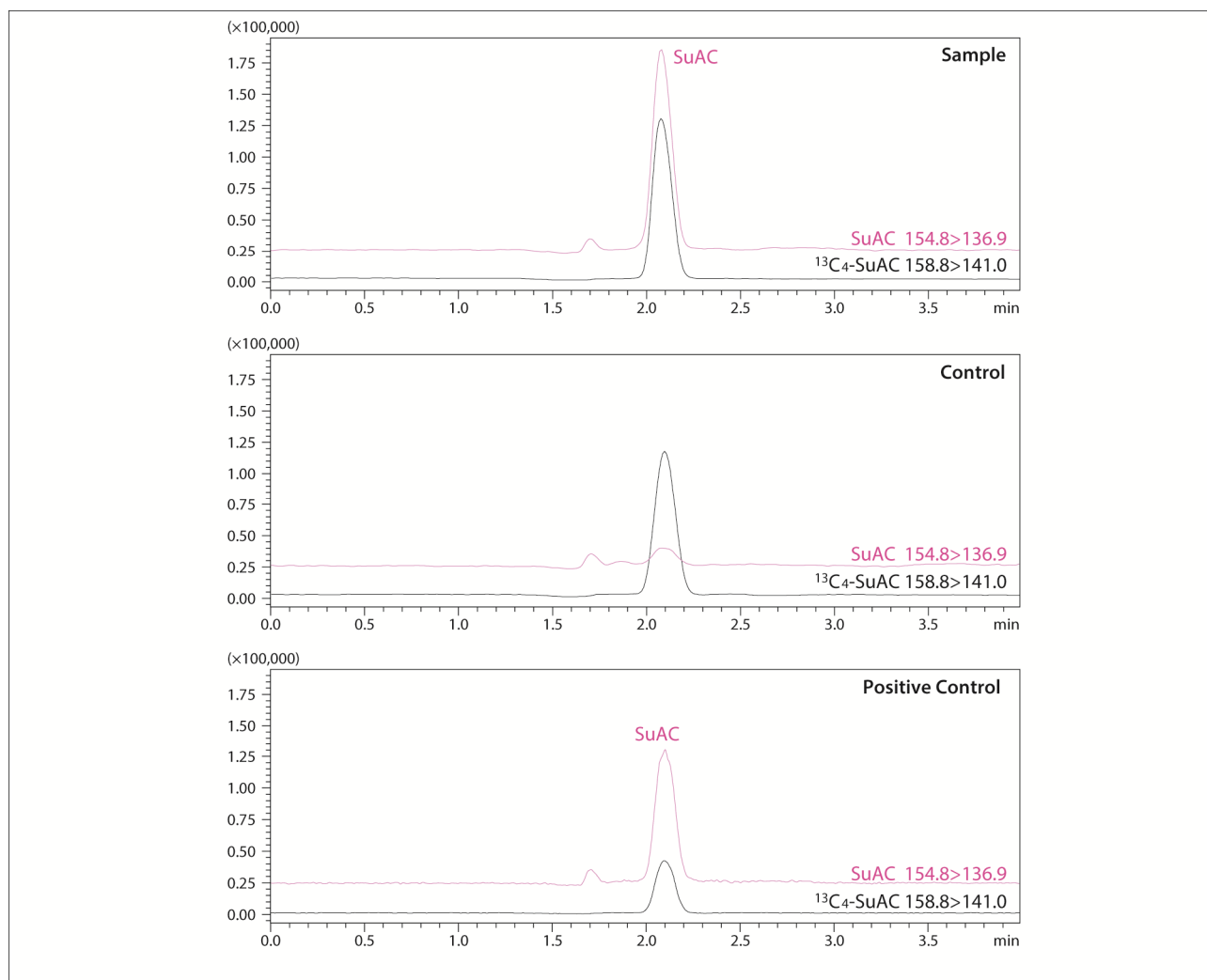


图 3 各目标化合物的提取离子流色谱图
Extracted-Ion Chromatograms of Target Compounds

[参考文献]

- la Marca G, et al. Progress in expanded newborn screening for metabolic conditions by LC-MS/MS in Tuscany: Update on methods to reduce false positive. JIMD Short report #127 (2008)
la Marca G, et al. The inclusion of succinylacetone as marker for tyrosinemia type I in expanded newborn screening programs. Rapid Commun. Mass Spectrom. 22 (2008) 812-818
la Marca G, et al. The successful of succinylacetone as a marker of tyrosinaemia type I in Tuscany newborn screening program. Rapid Commun. Mass Spectrom. 23 (2009) 3891-3893

[鸣谢]

本篇 Application News 是由 Dr. G. la Marca (Meyer Children's Hospital, Mass Spectrometry, Clinical Chemistry and Pharmacology Lab., Florence, Italy) 提供样品，并在其指导下完成。在此深表感谢。

注：本系统仅可用于研究，请勿用于临床诊断。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

※ 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
※ 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2014年5月