

# LCMS-8050 CL 同时测定人脑脊液中淀粉样蛋白 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40

LCMSMS-561

**摘要：** 本文利用岛津临床用 LCMS-8050 CL 三重四极杆液质联用系统建立了人脑脊液中淀粉样蛋白 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40 同时分析的方法，该方法采用内标法定量，对方法的线性、准确度及精密度进行考察，结果显示：该方法线性良好，线性相关系数均在 0.998 以上；0.2 ng/mL 混合标准溶液，连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别小于 0.14% 和 8.89%，仪器精密度良好；质控测定结果与理论值接近，回收率在 93.1~105.0% 之间，平行处理三次的相对标准偏差在 1.0~4.8% 之间，可用于实际样品的检测。

**关键词：** LCMS-8050 CL 三重四极杆液质联用系统 脑脊液 淀粉样蛋白

阿尔茨海默病 (AD) 是一种与衰老相关的进行性发展的神经系统退行性疾病。由于平均寿命的延长，AD 的患病率急剧上升，由于其高昂的财务成本和沉重的社会负担，AD 正成为主要的公共卫生问题之一。有研究表明，AD 的病理过程可能在临床症状出现之前几十年就开始了。因此，AD 的早期诊断对于减缓 AD 的退化过程和启动预防性治疗具有重要意义。

$\beta$ -淀粉样蛋白 (amyloid- $\beta$ , A $\beta$ ) 是由淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经  $\beta$ - 和  $\gamma$ - 分泌酶的蛋白水解作用而产生的含有 39 ~ 43 个氨基酸的多肽，被广泛用于 AD 的早期诊断。它可由多种细胞产生，循环于血液、脑脊液和脑间质液中，大多与伴侣蛋白分子结合，少数以游离状态存在。人体内 A $\beta$  最常见的亚型是 A $\beta$ 1-40 和 A $\beta$ 1-42，A $\beta$ 1-42 具有更强的

毒性，且更容易聚集，从而形成 A $\beta$  沉淀的核心，引发神经毒性作用。A $\beta$  的沉积不仅与神经元的退行性病变有关，而且可以激活一系列病理事件，包括星型胶质细胞和小胶质细胞的激活、血脑屏障的破坏和微循环的变化等，是 AD 病人脑内老年斑周边神经元变性和死亡的主要原因。目前，酶联免疫吸附测定 (ELISA)、免疫亲和富集-LC/MRM-MS 和液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 是最常用的 A $\beta$  定量测定方法。但在 A $\beta$  肽的定量过程中，由于其易于自聚集、非特异性吸附及低内源性浓度等问题导致 A $\beta$  肽的定量具有一定的挑战。

本文采用岛津临床用三重四极杆液质联用系统 LCMS-8050 CL，建立了人脑脊液中淀粉样蛋白 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40 同时分析的方法，该方法灵敏度高、分析速度快，供相关人员参考。

## ■ 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 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A CL

脱气机：DGU-20A<sub>5</sub> CL

输液泵：LC-30AD CL × 2

自动进样器：SIL-30ACMP CL

柱温箱：CTO-30A CL

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.98

### 1.2 溶液配制

标准储备液的配制：使用 1% 氨水将 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40 标准品及内标溶解配制成一定浓度的标准品储备液。

标准曲线的配制：取 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40 标准品储备液，用乙腈-水-氨水的混合溶液将储备液稀释到 1 ug/mL 的混合标准溶液，再用人工脑脊液将混合标准溶液稀释为标准系列工作溶液，浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、2、5、10、20 ng/mL。

内标工作液配制：取 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40 内标准品储备液，用乙腈-水-氨水的混合溶液将内标储备液稀释为 100 ng/mL 内标准品工作溶液。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准曲线最低点 MRM 色谱图

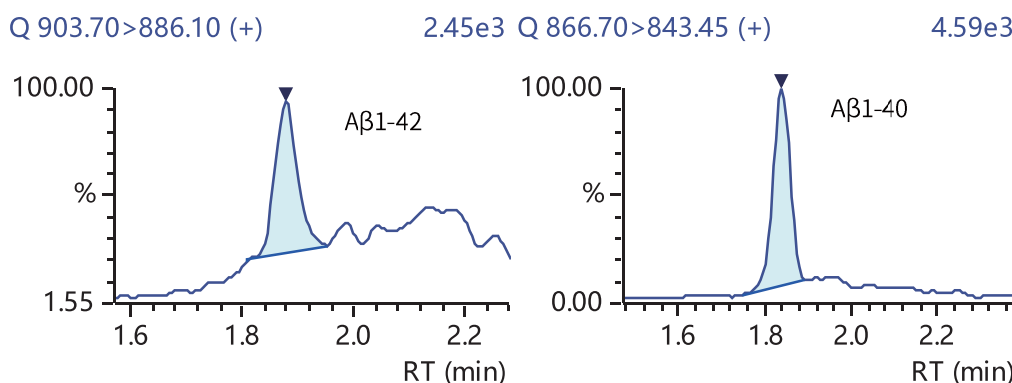


图 1 标准曲线最低点 MRM 色谱图

### 2.2 线性范围

按照 1.2 配制标准系列工作溶液，处理后上机分析，以内标法绘制标准曲线，标准曲线如图 2，曲线结果如下表 3 所示，所得校准曲线线性关系良好，线性相关系数在 0.998 以上，准确度在 94.4%-108.6% 之间。

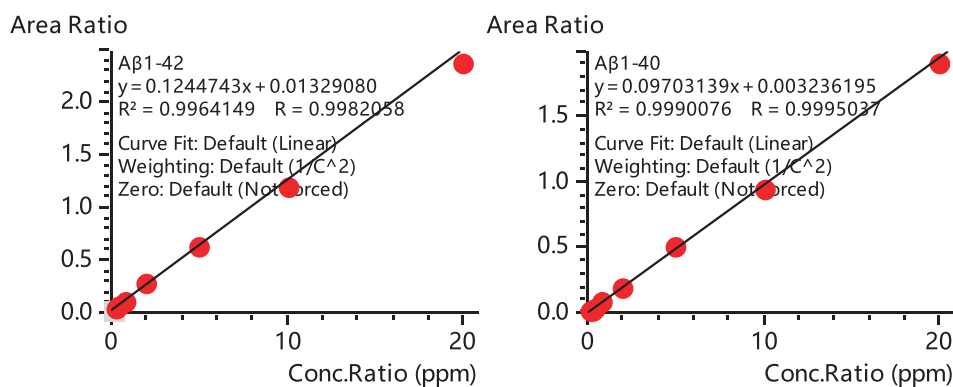


图 2 Aβ1-42 和 Aβ1-40 标准曲线

表 3 标准曲线结果

化合物	线性方程	线性范围 (ng/mL)	相关系数	准确度 (%)
Aβ1-42	$Y = (0.124474)X + (0.0132908)$	0.2-20.0	0.998	94.4-108.6
Aβ1-40	$Y = (0.0970314)X + (0.00323620)$	0.1-20.0	0.999	96.3-103.9

### 2.3 仪器精密度

0.2 ng/mL 混合标准溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如下表 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别小于 0.14% 和 8.89%，仪器精密度良好。

表 4 重复性测试 (n=6)

化合物	0.2 ng/mL	
	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
Aβ1-42	0.14	8.81
Aβ1-40	0.11	8.89

## 2.4 方法准确度及精密度

人工脑脊液中添加低、中、高三个不同浓度的标准溶液作为质控，每个浓度的质控平行处理三份，结果如表 5 所示，结果显示：质控测定结果与理论值接近，回收率在 93.1~105.0% 之间，平行处理三次的相对标准偏差在 1.0~4.8% 之间，满足临床测定需求。

表 5 质控准确度及精密度 (n=3, 浓度单位 ng/mL)

质控	项目	A $\beta$ 1-42	A $\beta$ 1-40
LQC	理论浓度	0.50	0.50
	测定浓度	0.51	0.48
	回收率 %	102.0	96.0
	RSD%	3.5	4.8
MQC	理论浓度	4.0	4.0
	测定浓度	4.2	3.8
	回收率 %	105.0	95.0
	RSD%	2.9	2.5
HQC	理论浓度	16.0	16.0
	测定浓度	14.9	15.6
	回收率 %	93.1	97.5
	RSD%	1.0	1.1

## 2.5 临床样本测定结果

取两份实际脑脊液样本，处理后上机分析，结果见图 3 和表 6。

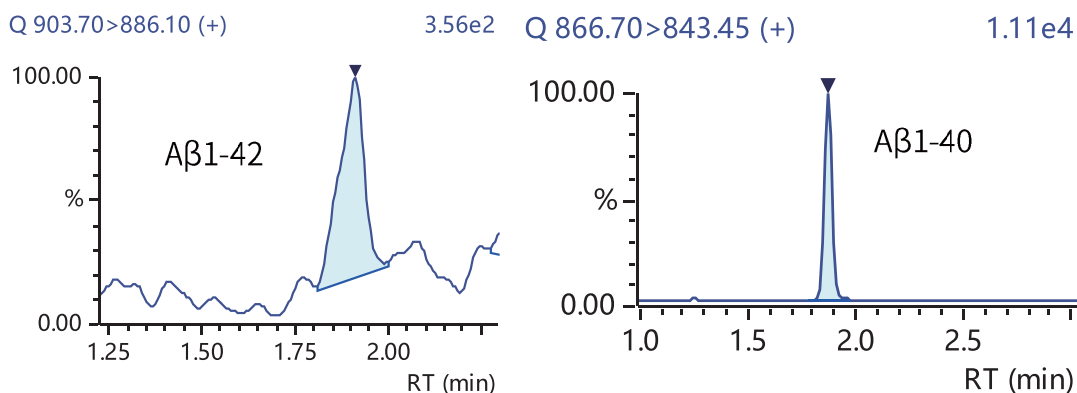


图 3 样品 1 测试色谱图

表 6 临床样本测定结果 (ng/mL)

化合物	样品 1	样品 2
A $\beta$ 1-42	0.22	N.D.
A $\beta$ 1-40	1.06	1.32

## ■ 结论

本实验建立了一种使用岛津临床用超高效液相色谱仪 LC-30A CL 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 CL 联用测定人脑脊液中淀粉样蛋白 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40 同时分析的方法。采用内标法定量，质控测定结果与理论值接近，回收率在 93.1~105.0% 之间，平行处理三次的相对标准偏差在 1.0~4.8% 之间，该方法灵敏度高、分析速度快、专属性强，可用于人脑脊液中淀粉样蛋白 A $\beta$ 1-42 和 A $\beta$ 1-40 含量测定，供相关从业人员参考。

岛津应用云

