

血液中主要脂质轮廓分析的 LC/MS/MS 方法

山田真希、久保明美

对用户的好处

- ◆ 可进行血液中主要脂质的轮廓分析。
- ◆ LCMS-8060 同时分析正 / 负离子时仍可获得高质量数据 (极性切换时间: 5 msec)。
- ◆ 仅使用少量人血液即可解析主要脂质的脂肪酸组成。

前言

磷脂质 (PL)、甘油三酯 (TG)、胆固醇酯 (CE) 为血液中的主要脂质 (图 1)。这些主要脂质的细微结构在与各种疾病的关联性和病理学研究中备受关注。

本文使用 LCMS-8060 结合多反应监测 (MRM) 模式, 开发了一种脂质轮廓分析方法 (应用报告 No.C137)。

本方法将监测目标扩展至血液中的多种主要脂质, 不仅涵盖磷脂, 还包括 CE、TG、游离脂肪酸、胆固醇。方法可同时对约 360 个脂质 MRM 分析通道 (离子对) 进行监测, 对人血液里约 100 种脂质进行鉴别: 包括 51 种 PL、26 种 TG、11 种 CE、以及 CE 过氧化物、游离脂肪酸、游离胆固醇。

本方法还阐明了各种脂质的脂肪酸组成, 也同样适用于血浆和血清分析。

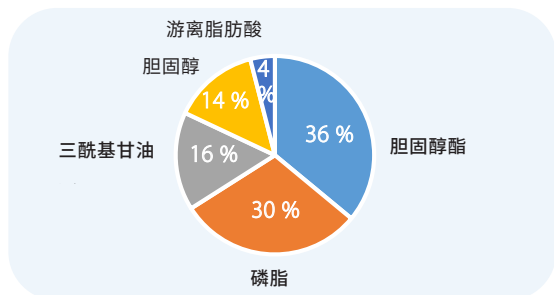


图 1 血浆中的主要脂质

分析条件

采用 Nexera UHPLC 和 LCMS-8060 系统。LCMS-8060 为正 / 负离子极性切换时间 5 msec 的超高速三重四极杆质谱仪 (图 2)。UHPLC 及 MS 的分析条件如表 1 所示。

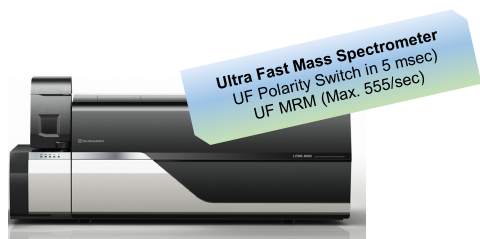


图 2 LCMS-8060 外观

表 1 分析条件

[HPLC 条件] (Nexera™)	
色谱柱	: Phenomenex Kinetex® C8 (150 mm × 2.1 mm I.D., 2.6 μm)
柱温	: 50 °C
流动相 A	: 20 mM 甲酸铵 - 水
流动相 B	: 乙腈 / 异丙醇 (50/50, v/v)
流速	: 0.4 mL/min
进样量	: 1 μL
[MS 条件] (LCMS-8060)	
离子源	: ESI, 正 / 负离子模式
监控模式	: MRM
雾化气流速	: 3.0 L/min
干燥气流速	: 10.0 L/min
加热气流速	: 10.0 L/min
DL 管温度	: 250 °C
加热模块温度	: 400 °C
接口温度	: 150 °C
碰撞气 CID 压力	: 270 kPa
延迟时间 / 驻留时间	: 3 msec / 1 msec

试样预处理

人血液购于 BioIVT (US)。在 5 μL 血液中加入含有 0.1% 甲酸的甲醇 500 μL, 充分混匀; 离心后取 1 μL 上清液于 LC/MS/MS 进行分析 (图 3)。LPL (溶血磷脂质)、PL、CE、TG 的 MRM 色谱图如图 4 所示。

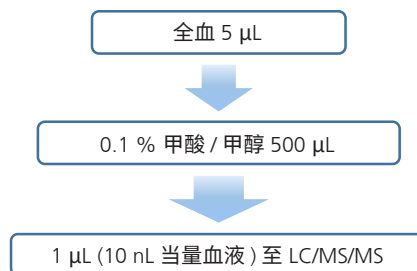


图 3 试样预处理

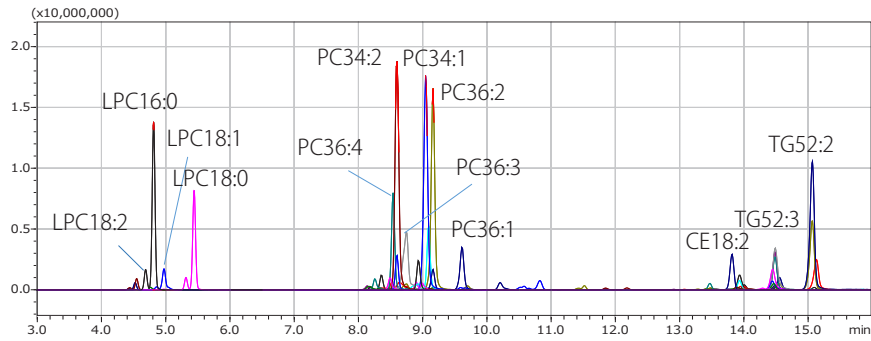


图4 LPL、PL、CE、TG的MRM色谱图

结果

脂质轮廓分析方法包含靶向磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰丝氨酸 (PS)、磷脂酰甘油 (PG)、磷脂酰肌醇 (PI) 及鞘磷脂 (SM) 的磷脂质及溶血磷脂质的约 2000 个 MRM 监测通道。正离子模式下可检出 PC、SM、PE 及 PS 脱离极性基团而产生的产物离子；负离子模式下可检出源于 PI 的极性基团和源于脂肪酸的产物离子。如前文所述，实现多通道正负离子同时监测，源于 LCMS-8060 超快速的正 / 负离子极性切换时间 (5 msec)。

除 CE 和 TG 外，本方法缩小了人血液中磷脂和溶血磷脂的 MRM 监测通道范围，约 360 个 MRM 通道可在 20 分钟内完成监测。使用 1 μ L (相当于 10nL 血液) 人血液提取物进行分析，可鉴定超过 100 种脂质；其中，可以解析 51 种 PL 与 26 种 TG 的脂肪酸组合。

< 磷脂质 ; PL >

从微量人血液中可检出 51 种磷脂质。PE 的 MRM 色谱图及归属结果如图 5 所示。

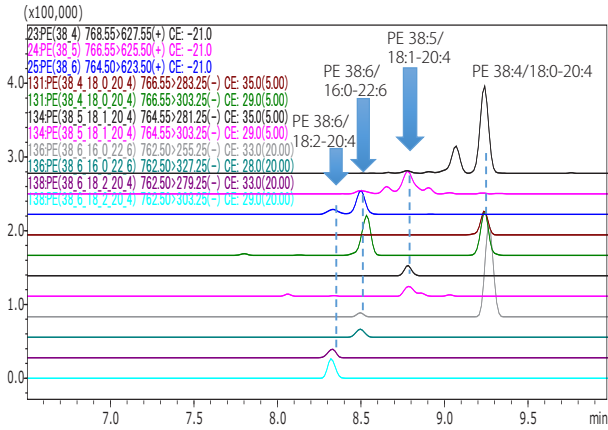


图4 PE38:4、PE38:5、PE38:6的MRM色谱图

< 胆固醇酯 ; CE >

在正离子模式下，将 m/z 369 设定为产物离子，监控 12 个 MRM 通道，可检出 CE。CE 过氧化物亦同时监测。检测出 CE18:2 为 CE 中信号最强谱峰。CE 过氧化物 CE-OOH18:2 在血液和血清样品中被检出。

< 甘油三酯 ; TG >

监测 TG 时，使用中性丢失模式监测了 90 个 MRM 通道。TG54:6 的 MRM 色谱图及归属结果如图 6 所示。

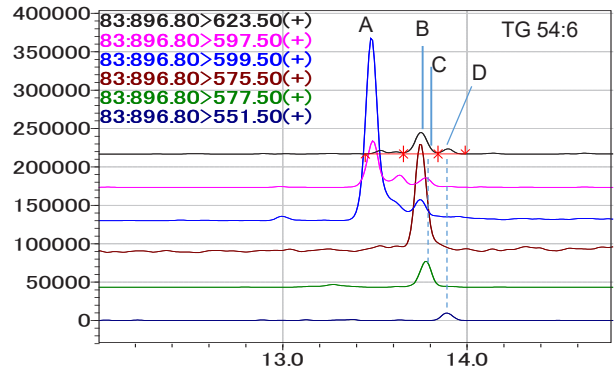


图6 TG54:6的MRM色谱图

(A)TG 18 : 2-18 : 2-18 : 2 (B)TG 16 : 0-18 : 2-20 : 4
(C)TG 16 : 0-18 : 1-20 : 5 (D)TG 16 : 0-18 : 0-22 : 6^{*1}

^{*1} 未确认 18:0 中性产物丢失的产物离子

结论

本文建立了一种基于 MRM 分析模式的人血液中主要脂质的轮廓分析方法。通过本方法，可以从微量人血液中检出 100 种以上的脂质，并阐明磷脂质及甘油三酯中的脂肪酸组合。

Nexera 及 LCMS 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。
Kinex 是 Phenomenex, Inc. 的注册商标。

岛津应用云



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: 2021 年 2 月