

利用UPLC和Xevo TQ-S对血浆中的治疗性多肽进行高灵敏度定量分析

Robert S. Plumb, Gareth Booth, 和 Paul D. Rainville
美国米尔福德马萨诸塞州沃特世公司

应用优势

Xevo TQ-S是一款新型的串联四极杆质谱系统, 可提供最高灵敏度的多肽生物分析。它具有快速的数据捕获率和双扫描多反应监测能力, 可对UPLC®产生的狭窄色谱峰进行准确定量并可准确确认色谱峰的特性。

简介

多肽因其高耐受性、靶受体选择性和高效能的特性而逐渐被作为治疗药物使用。要对生物体液中的这些治疗性多肽进行准确定量, 就必须具备选择性分离技术、高分辨力色谱系统及高灵敏度检测器。高分辨力的色谱系统可从血浆和血液中的内源性多肽中分离出目标分析物, 其中部分可能是相同质量数的离子或形成相同质量数的碎片离子。由于这些治疗性多肽可模仿或取代内源性多肽的活性, 检测过程中必须对这些内源性和外源性多肽进行区分。

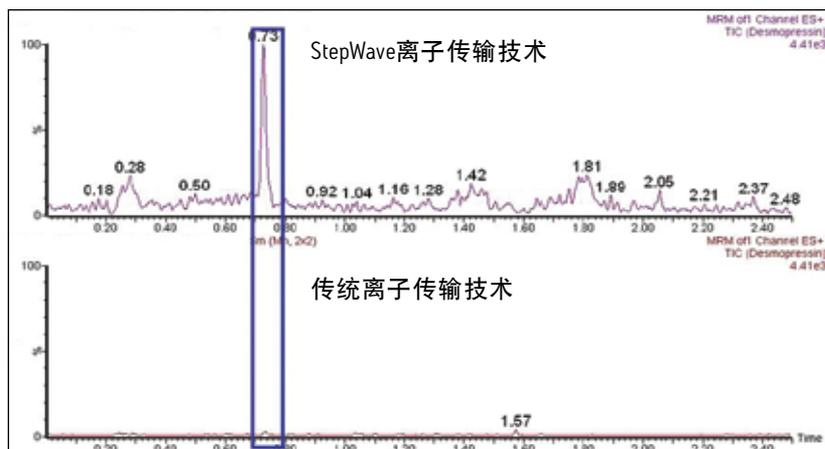


图 1. 采用MRM模式对大鼠血浆提取物中的去氨加压素进行UPLC/MS/MS定量分析。上面的色谱图表示采用Xevo TQ-S的新型StepWave离子传输技术的峰值响应; 下面的色谱图表示采用传统离子传输技术时的峰值响应。

沃特世解决方案

Xevo™ TQ-S

ACQUITY UPLC®

ACQUITY UPLC BEH色谱柱化学品

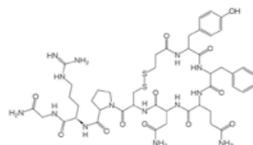
MassLynx™与TargetLynx™的

联合使用

关键词

StepWave™, T-Wave™ 多肽生物分析、去氨加压素

去氨加压素的化学结构。



尽管我们观测到的是多电荷化合物, 且多肽高分子质量为1000~4000 amu, 但对于这些多肽的检测, 要求质谱仪的质量检测上限为2000 m/z才可成功对其进行分析。在本应用纪要中, 针对高灵敏度多肽生物分析, 我们介绍了ACQUITY UPLC系统和新型的高灵敏度串联四极杆质谱系统Xevo TQ-S的使用情况。

实验条件

色谱

液相色谱(LC)系统: ACQUITY UPLC(二元溶剂管理系统、样品管理器、HT色谱柱恒温箱)

柱条件: ACQUITY UPLC BEH C₁₈柱, 1.7微米, 2.1x50毫米

柱温: 40 °C

梯度: 乙腈(含0.1%甲酸), 从5% ~ 45%洗脱1.5分钟以上

流速: 450 微升/分钟

进样量: 10 微升

质谱条件

质谱系统: Xevo TQ-S和Xevo TQ于电喷雾正离子模式下操作

MRM数据采集535 => 328

电压: 对质谱仪的锥孔气流及毛细管电压、锥孔电压和碰撞电压都进行了最佳优化

源温度: 140 °C

脱溶剂温度: 625 °C

喷雾气体流量: 1200 升/小时

数据管理

MassLynx 4.1

TargetLynx应用管理系统

结果和讨论

多肽治疗药物具有极好的疗效,但同时也通过新陈代谢或以原型药物迅速排出体外。为准确测定这些药物的药代动力学参数(PK),就必须拥有高灵敏度的LC/MS/MS系统来确定后期时间点,从而确定PK曲线的消除相。Xevo TQ-S是一种具备创新源设计的新型串联四极杆质谱仪。这种新的设计允许更多的分析物离子迁移至分析器,从而大大提高了离子抽样过程的效率。它是通过使用更大的抽样孔和差分抽气区以及离轴多层环离子传输技术,以阻止中性化合物进入仪器的分析区。

为评估在生物体液中进行多肽分析时的灵敏度增加情况,将去氨加压素注入血浆并通过乙腈沉淀蛋白质(2:1)萃取。采用传统光学技术和新的StepWave光学技术所获取的数据如图-1所示。在这里我们可以看到:在采用传统离子传输技术的仪器中几乎看不到去氨加压素的色谱峰,而在Xevo TQ-S质谱仪中则可看到明显的色谱峰。将传统源的基线扩展,比较图-2中的数据,我们可以清楚地看到传统仪器色谱中在0.73分钟时有一个去氨加压素的色谱峰。以此测得灵敏度增加到原来的25倍。

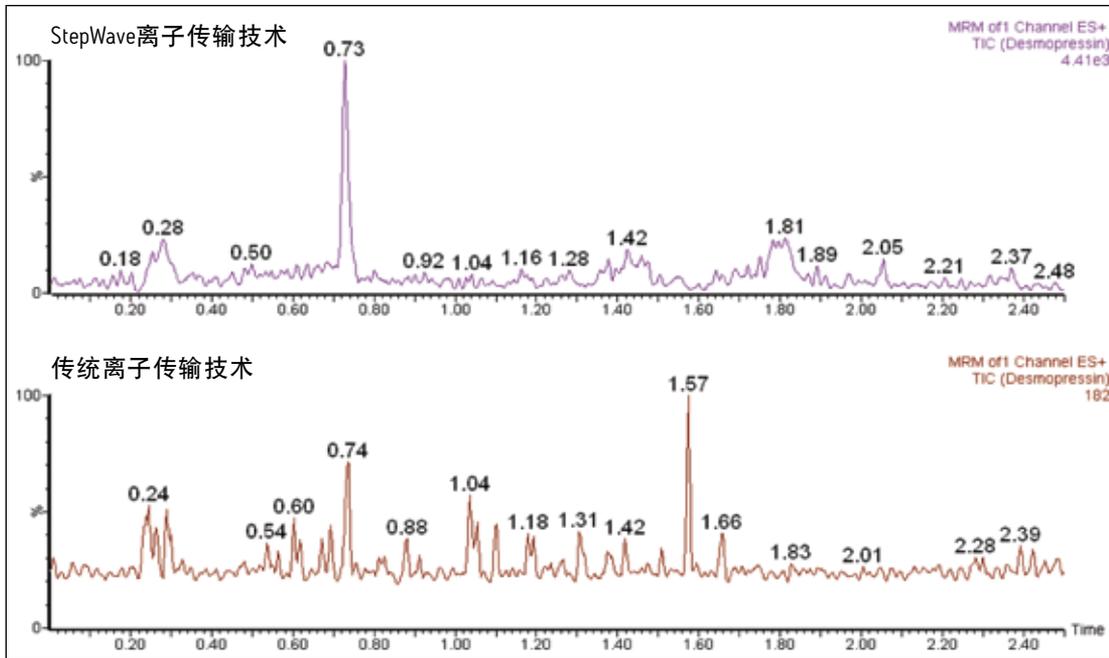


图2. 采用MRM模式对大鼠血浆提取物中的去氨加压素进行UPLC/MS/MS定量分析。上面的色谱图表示采用Xevo TQ-S的新型StepWave离子传输技术的峰值响应；下面的色谱图表示采用传统离子传输技术时的峰值响应。

结论

多肽治疗药物可用于治疗新的疾病，且副作用、药物与药物之间的相互作用及毒性均较小。Xevo TQ-S与ACQUITY UPLC的联合使用，为分析生物体液中的多肽提供了理想的平台。二者的联用可提供：

- 最高的灵敏度
- 快速的分析
- 内源性多肽分辨率
- 分析器中充足的质量范围，以对大分子多肽进行定量分析



Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters, ACQUITY UPLC, 和 UPLC 是沃特世公司的注册标。Xevo, MassLynx, TargetLynx, StepWave, T-Wave 和 The Science of What's Possible 是沃特世公司的商标。所有其他商标属于各自的所有者。

©2010 沃特世公司 中国印刷
2010年6月 720003415EN LB-CP

沃特世科技(上海)有限公司
沃特斯中国有限公司

上海: 021 - 6879 5888
北京: 010 - 5293 6688
广州: 020 - 8626 6678
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com