CMASS®
Science / Technology
用质谱发现医学之美

LC-MSMS液质联用法进行新生儿筛查的检测

上海谱芬生物科技有限公司

LC-MS/MS 液质联用法进行新生儿筛查的检测

一、新生儿筛查素临床意义

新生儿筛查是在新生儿出生后3天内，通过血液检查对几种危害性严重的先天性代谢及内分泌疾病进行筛查。通过血的生化、激素水平的改变，早期发现这些疾病，并进行早期治疗，使患有这种病的孩子能像正常儿童一样健康成长。

二、化合物基本信息

表 1 化合物基本信息

	分析物名称	名称缩写	同位素内标
13 种	丙氨酸	Ala	D_4-Ala
	精氨酸	Arg	D_4, ^{13}C-Arg:HCL
	瓜氨酸	Cit	D_2-Cit
	甘氨酸	Gly	2-^{13}C, ^{15}N-Gly
	亮氨酸/异亮氨酸/羟脯氨酸	Leu/Ile/ProOH	D_3-Leu
	蛋氨酸	Met	D_3-Met
	鸟氨酸	Orn	D_6-Orn:HCL
	苯丙氨酸	Phe	$^{13}C_6$-Phe
	脯氨酸	Pro	$^{13}C_5$-Pro
	酪氨酸	Tyr	$^{13}C_6$-Tyr
	缬氨酸	Val	D_8-Val
34 种	游离肉碱	C0	D_9-C0
	乙酰基肉碱	C2	D_3-C2
	丙酰基肉碱	C3	D_3-C3
	丙二酰基肉碱/3-羟基丁酰基肉碱	C3DC/C4OH	
	丁酰基肉碱	C4	D_3-C4
	甲基丙二酰基肉碱/3-羟基异戊酰基肉碱	C4DC/C5OH	D_3-C6
	异戊酰基肉碱	C5	D_9-C5
	异戊烯酰基肉碱	C5:1	
	戊二酰基肉碱/3-羟基乙酰基肉碱	C5DC/C6OH	D_3-C5DC
	乙酰基肉碱	C6	D_3-C6
	乙二酰基肉碱	C6DC (HMGA)	D_3-C8

	辛酰基肉碱	C8	
	辛烯酰基肉碱	C8:1	
	癸酰基肉碱	C10	
	癸烯酰基肉碱	C10:1	
	癸二烯酰基肉碱	C10:2	D_3-C10
	十二烷酰基肉碱	C12	
	十二烯酰基肉碱	C12:1	D_3-C12
	十四烷酰基肉碱	C14	
	十四烯酰基肉碱	C14:1	
	十四二烯酰基肉碱	C14:2	
	3-羟基十四烷酰基肉碱	C140H	D_9-C14
	十六烷酰基肉碱	C16	
	十六烯酰基肉碱	C16:1	
	3-羟基十六烷酰基肉碱	C160H	
	3-羟基十六烯酰基肉碱	C16:10H	D_3-C16
	十八烷酰基肉碱	C18	
	十八烯酰基肉碱	C18:1	
	十八二烯酰基肉碱	C18:2	
	3-羟基十八烷酰基肉碱	C180H	
	3-羟基十八烯酰基肉碱	C18:10H	D_3-C18

三、LC-MS/MS 液质联用检测方法

1、仪器设备及试剂耗材

仪器设备：SCIEX 3200MD 等（灵敏度相当或更高的串联四极杆质谱仪均可适用）。

色谱柱：在线过滤器；

试剂：甲醇、乙腈、水、甲酸（所有试剂均为色谱纯以上）； 质控品（可在方法开发完成并通过性能验证后再选择配备）；

标品及内标：相应内标。

2、溶液配制

表 2 溶液配制

序号	名称	配制方法
1	流动相	乙腈：水 = 80：20，含 0.02%甲酸
2	洗针液	乙腈：水 = 80：20，含 0.02%甲酸
3	提取液	甲醇
4	复溶液	乙腈：水 = 80：20，含 0.02%甲酸

3、切取样本

3.1. 切取质量控制样品（简称质控样或QC 样品）血点用⅛英寸或3mm 直径打孔器切取QC样品Level1和Level2（CHROMSYSTEMS P/N55010）纸片上的血点，分别至于96 孔微滤板上层样品盘的孔中。

3.2. 同上方法切取病患样本卡片上的相应血点，分别至于96孔微滤板上层样品盘的孔中。可切取卡片上未点样的部分，同下操作作为溶剂空白对照样品。

4、标准样及血浆样品前处理

样本提取后转移进样。

5、仪器参数条件

1） **色谱条件**

色谱柱：在线过滤器

A 相：乙腈/水——80/20（含 0.02%甲酸，v/v）

柱温：40 摄氏度

进样量：20ul

表 3 液相洗脱梯度条件

2） **质谱条件**

仪器：AB SCIEX API 3200™或 3200 QTRAPR（响应相当或更高级仪器）

5.2.1. 离子源条件

TurboIonSprayR 正离子模式

表4 Source/Gas参数

CUR	20psi
IS	5000V
GS1	30psi
GS2	30psi
Ihe	On
CAD	6（或 Medium）

表 5 MRM 参数

Analyte	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Dwell Time (msec)	DP (volts)	CE (volts)
Alanine	90.1	44.1	50	20	6.0
Alanine-d4	94.1	48.1	50	20	6.0
Aspartic acid	134.1	116.1	50	24	6.0
Aspartic acid-d3	137.1	119.1	50	24	6.0
Glutamic acid	148.1	130.1	50	24	6.0
Glutamic acid-d5	153.2	135.1	50	24	6.0
Leucine	132.1	86.1	50	22	6.0
Leucine-d3	135.1	89.1	50	22	6.0
Methionine	150.2	133.1	50	23	6.0
Methionine-d3	153.2	136.1	50	23	6.0
Phenylalanine	166.2	120.1	50	24	9.0
Phenylalanine-d5	171.2	125.1	50	24	9.0
Tyrosine	182.2	136.1	50	23	8.0
Tyrosine-d4	186.2	140.1	50	23	8.0
Valine	118.1	72.1	50	21	7.0
Valine-d8	126.1	80.1	50	21	7.0
Arginine	175.2	70.1	50	32	9.0
Arginine-d7	182.2	77.1	50	32	9.0
Citrulline	176.2	113.1	50	21	7.0
Citrulline-d2	178.2	115.1	50	21	7.0
Glycine	76.1	30.1	50	15	5.0
Glycine-13C2-15N	79.1	32.1	50	15	5.0
Ornithine	133.1	70.1	50	20	6.0

Analyte	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Dwell Time (msec)	DP (volts)	CE (volts)
Ornithine-d6	139.1	76.1	50	20	6.0
Carnitine	162.2	85.1	50	40	7.0
Carnitine-d9	171.2	85.1	50	40	7.0
C2-Carnitine	204.2	85.1	50	34	10.0
C2-Carnitine-d3	207.2	85.1	50	34	10.0
C3-Carnitine	218.2	85.1	50	34	10.0
C3-Carnitine-d3	221.2	85.1	50	34	10.0
C4-Carnitine	232.2	85.1	50	33	10.0
C4-Carnitine-d3	235.2	85.1	50	33	10.0
C5-Carnitine	246.2	85.1	50	39	12.0
C5-Carnitine-d9	255.2	85.1	50	39	12.0
C5DC-Carnitine	276.2	85.1	50	46	11.0
C5DC-Carnitine-d6	282.2	85.1	50	46	11.0
C6-Carnitine	260.2	85.1	50	35	14.0
C6-Carnitine-d3	263.2	85.1	50	35	14.0
C8-Carnitine	288.2	85.1	50	40	15.0
C8-Carnitine-d3	291.2	85.1	50	40	15.0
C10-Carnitine	316.2	85.1	50	44	17.0
C10-Carnitine-d3	319.2	85.1	50	44	17.0
C12-Carnitine	344.2	85.1	50	46	15.0
C12-Carnitine-d3	347.2	85.1	50	46	15.0
C14-Carnitine	372.2	85.1	50	50	16.0
C14-Carnitine-d3	375.2	85.1	50	50	16.0
C16-Carnitine	400.2	85.1	50	60	18.0
C16-Carnitine-d3	403.2	85.1	50	60	18.0
C18-Carnitine	428.2	85.1	50	55	18.0
C18-Carntine-d3	431.2	85.1	50	55	18.0

6、特别声明

本试验是在特定的实验环境下进行的，由于不同实验室条件和环境差异大，且实验效果受仪器厂家、仪器型号、仪器状态、试剂、实验操作人员操作手法等多种因素影响。因此，不同实验室实验结果有差异性也属正常现象，以上检测方法仅供分析实验室人员参考，不能保证方法重现。实验室操作人员可根据自身情况进行方法优化调整，以期达到较理想的分析效果。同时有条件的实验室亦可引入商品化质控来验证自己的实验方案。

注：以上内容仅供科研参考使用，不可用于临床诊断依据。

96 孔样品收集板 96 孔板封膜

相关前处理设备和试剂耗材信息

名称	规格	货号
96 孔样品收集板	1.0ml　24 块/盒	CMS-D-96WP-RU-V1.0
96 孔板封膜	100/张	CMS-D-96WC-ALF
在线过滤器	2um	A430
滤芯一套	2um，10-32 锥型，　10pk	A429X
内标	1 VIAL，1 VIAL	CMS-NSK-A-1，CMS-NSK-B-1
质控品	2 x 3 spots，1 x 3 spots，1 x 3 spots	CMS-CH0191，CMS-CH0192，CMS-CH0193
甲酸	50ml（LCMS）	A11750