

赛默飞液质联用 测定血清中维生素 D 代谢物

简介

维生素 D 是一种脂溶性维生素，它的缺乏在普通人群极为常见，而 25-OH-VD 是衡量维生素 D 营养状态的最佳指标。LC-MS/MS 由于具备准确度高、特异性强的特点被认为是评价维生素 D 营养状态“金标准”的检测方法。因此建立了基于 Thermo Fisher TSQ Endura 三重四极杆串联质谱仪检测血清中维生素 D 的方法。

临床意义

维生素 D 的主要功能是维持人体内钙的代谢平衡以及骨骼形成，这有助于身体形成和维持骨骼健康，此外，维生素 D 还可调节神经肌肉、免疫和其他细胞功能。

维生素 D 缺乏会引起骨骼方面的疾病，如佝偻病和骨软化症，但是其对于非骨骼相关疾病也日益得到重视。比如缺乏维生素 D 与人体免疫功能异常、心血管疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病、肿瘤等密切相关。

临床维生素 D 营养状况判定标准：

血清中 25OH-VD 浓度 (ng/mL)	血清中 25OH-VD 浓度 (nmol/L)	评估标准
8~10	20~25	VD 严重缺乏
10~20	25~50	VD 缺乏
20~30	50~75	VD 不足
30~100	75~250	VD 理想水平
>100	>250	VD 水平过量

样品提取



LLE
前处理方法

色谱分离



色谱柱：
Accucore aQ

数据采集



Vanquish Flex UHPLC
& TSQ Endura

数据分析



TraceFinder

ThermoFisher
SCIENTIFIC

样品前处理

取血清样品于 1.5ml 离心管中，经蛋白沉淀、液液萃取后离心取上清，上清液经氮气吹干后复溶，涡旋混匀后上机待测。

色谱条件

流动相 A: 含 0.1% 甲酸的水溶液

流动相 B: 含 0.1% 甲酸的甲醇溶液

色谱柱: Accucore aQ (50 mm*2.1 mm, 2.6 μ m)

柱温: 35 $^{\circ}$ C

进样量: 10 μ L

Time (min)	Flow Rate (mL/min)	A%	B%
0.00	0.30	80	20
0.20	0.30	80	20
1.00	0.30	10	90
1.50	0.30	2	98
3.00	0.30	2	98
3.10	0.30	80	20
4.00	0.30	80	20

质谱参数

离子源	ESI+
喷雾电压	3500V
鞘气压力	50Arb
辅助气压力	10Arb
蒸发温度	300 $^{\circ}$ C
离子传输管温度	250 $^{\circ}$ C
碰撞气压力	1.5mTorr
4.00	0.30

25OH-VD 灵敏度及线性范围结果汇总

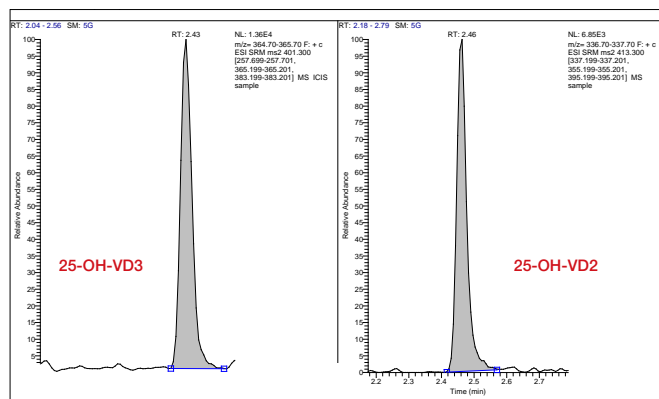
化合物	检出限 (ng/mL)	线性范围 (ng/mL)	线性相关系数 (R^2)
25-OH-VD2	0.5	0.5~100	0.9987
25-OH-VD3	0.5	0.5~100	0.9991

结论

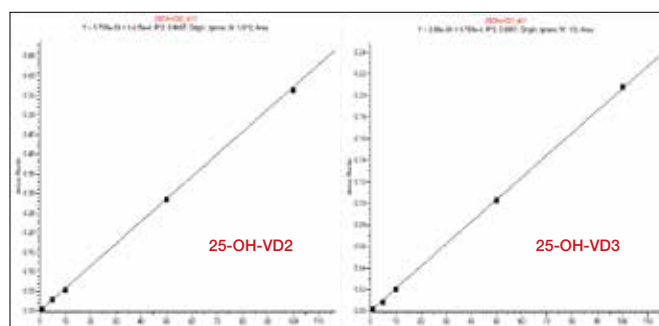
本文建立了三重四极杆液质联用仪 (TSQ Endura) 分析血清基质中 25-OH-VD2 和 25-OH-VD3 的检测方法。该方法简单快速、特异性强、灵敏度高, 适用于血清基质中维生素 D 临床样本的快速检测。

离子对信息

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 /V	RF Lens/V
25OH-VD2	413.3	337.2*	10	139
		355.2	10	
		395.2	10	
d6-25OH-VD2	419.2	401.2*	10	131
		337.2	10	
25OH-VD3	401.3	257.1	13	115
		365.2*	10	
		383.2	10	
d6-25OH-VD3	407.3	389.2*	10	122
		371.3	10	



25OH-VD 典型提取离子流图



25OH-VD 线性范围



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
与质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC