

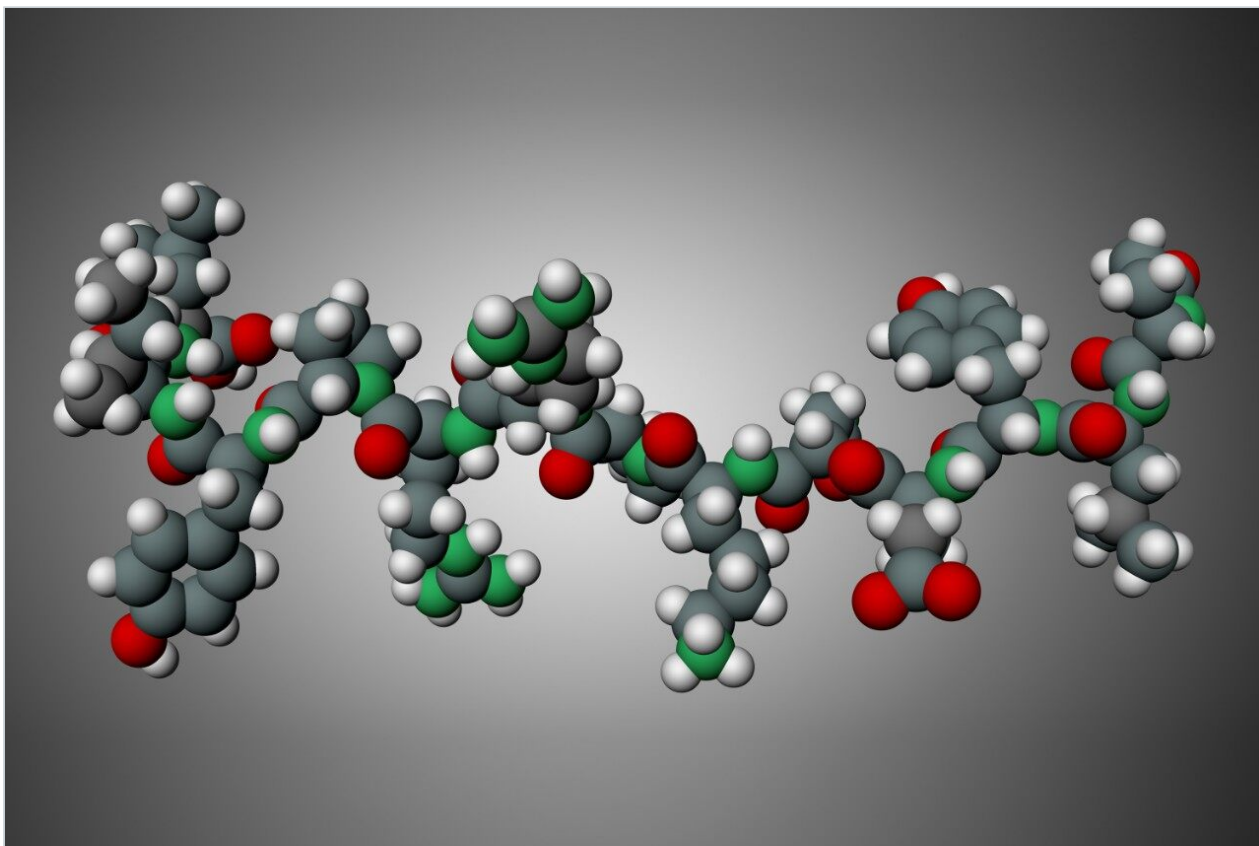
应用纪要

## Otto SPEcialist正压萃取装置有助实现快速、简便且可重现的肽分析方法开发和定量

---

Caitlin Dunning, Mark Wrona

Waters Corporation



这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

---

## 摘要

Otto SPEcialist正压萃取装置能够从纯溶液和生物基质中可重现地萃取治疗性肽和内源性肽。与只能由专家用户操作的手动正压萃取装置相比，观察到相媲美的肽萃取重现性结果。

### 优势

- 半自动化SPE能够以高重现性萃取治疗性肽和内源性肽
- 简单且可重现的方法转换

---

## 简介

从生物基质中萃取治疗性肽和内源性肽是一道公认的难题。对于新手用户来说，通过固相萃取(SPE)可重现地萃取肽尤其困难，因为需要谨慎控制上样、清洗和洗脱步骤。SPE操作可使用真空负压和正压萃取装置完成，但这些方法要求用户谨慎控制溶剂和样品的流速。缓慢且可重现的流速对于成功萃取肽至关重要，因此，不同样品制备批次以及不同用户之间的流速不一致可能导致结果无法重现。Otto SPEcialist正压萃取装置可自动对每个SPE步骤执行压力控制，并且每次都能重现相同的萃取条件。本研究展示了Otto SPEcialist从纯溶液和生物基质中以高重现性萃取治疗性肽的能力。

---

## 结果与讨论

在纯溶液中制备治疗性肽（亮丙瑞林、戈舍瑞林、比伐卢定和普兰林肽），使用Waters OASIS 肽分离技术(PST) SPE方案通过两种离子交换吸附剂（MAX和WCX）进行萃取<sup>1</sup>。这些阴离子和阳离子交换吸附剂适用于大多数治疗性肽和内源性肽的SPE纯化。将这些肽制备为浓度各50 ng/mL的混合物，并用磷酸进行酸化。为测定这些肽的回收率，在SPE之前或SPE之后对样品加标。用甲醇和水对PST方法开发 $\mu$ Elution SPE板进行活化，然后加载酸化样品(n = 8)。依次用氢氧化铵和乙腈水溶液洗涤样品，然后用乙腈、水和三氟乙酸的混合溶液进行洗脱。这些肽在MAX和WCX吸附剂上的回收率可参见图1。表1列出了使用两种不同吸附剂得到的每次萃取的回收率和重现性，突出显示了每种肽适合选用的吸附剂。这些结果与之前由经验丰富的SPE用户在正压条件下得到的实验结果一致。

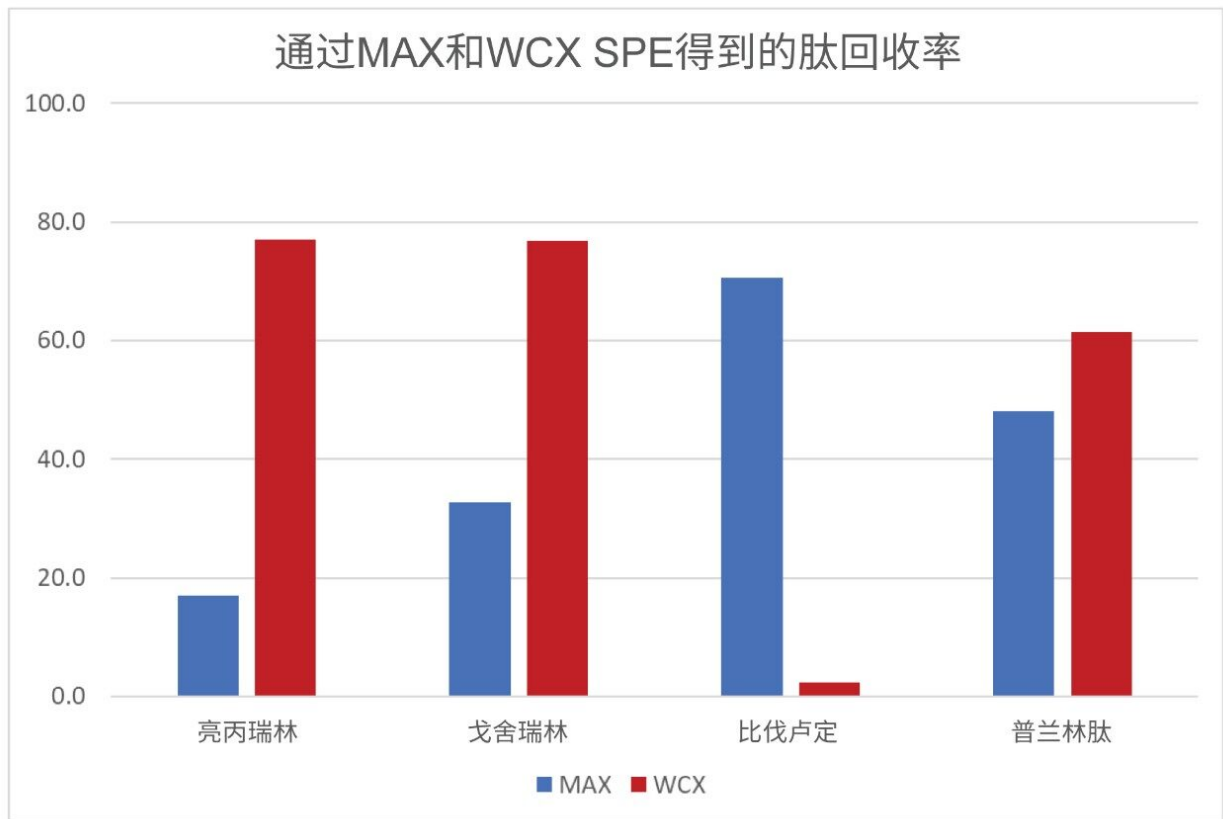


图1.使用Otto SPEcialist通过MAX和WCX SPE萃取亮丙瑞林、戈舍瑞林、比伐卢定和普兰林肽

Otto SPEcialist回收率和%RSD (n = 8)					
SPE吸附剂		亮丙瑞林	戈舍瑞林	比伐卢定	普兰林肽
MAX	%回收率	17.0	32.8	70.6	48.1
	% RSD	26.0	14.5	6.4	10.0
WCX	%回收率	77.0	76.8	2.3	61.5
	% RSD	2.7	12.3	81.9	0.8

表1.通过MAX和WCX SPE萃取亮丙瑞林、戈舍瑞林、比伐卢定和普兰林肽。每次萃取的%RSD表明，为每种肽选择合适的吸附剂获得了较高的重现性。

Otto SPEcialist还有助于可重现地萃取在生物基质中制备的肽。在大鼠血浆中制备浓度范围为50~50,000 pg/mL的普兰林肽。制备低浓度(75 pg/mL)、中浓度(2,500 pg/mL)和高浓度(40,000 pg/mL)质控(QC)样品(n = 6)，测定整个标准曲线范围内的萃取重现性。使用之前优化的方法，采用Otto SPEcialist和手动正压萃取装置通过WCX SPE萃取样品<sup>2</sup>。图2所示为QC样品萃取精密度。所有%RSD均小于15%，轻松满足生物分析测定

指南的要求。利用Otto SPEcialist获得的%RSD (< 5%)低于正压萃取装置得到的结果(< 10%)。利用Otto SPEcialist获得了与正压萃取装置相当的%RSD，有时甚至优于正压萃取装置，例如在75 pg/mL的低浓度QC样品中。

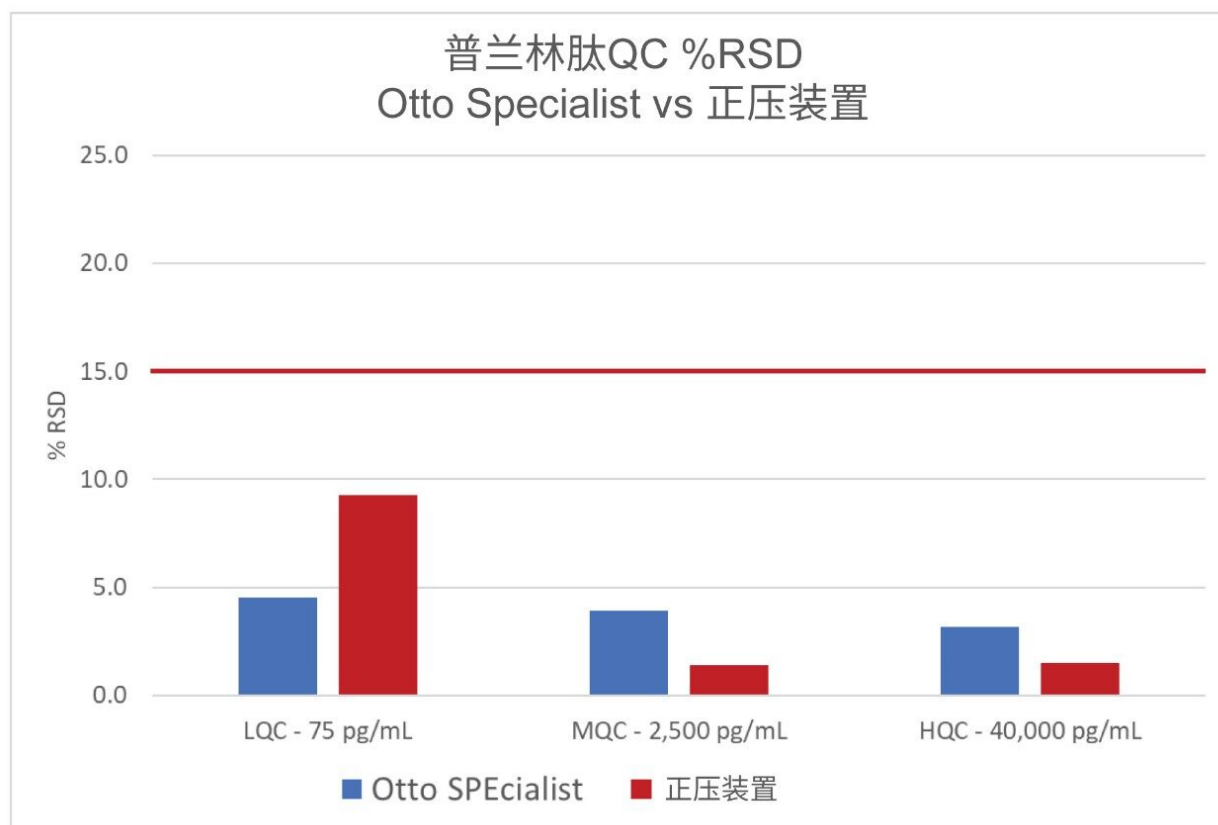


图2.采用Otto SPEcialist和手动正压萃取装置萃取大鼠血浆中低、中、高QC浓度的普兰林肽。两种萃取方法得到的每个QC水平下的%RSD相当。

## 结论

本研究证明，Otto SPEcialist正压萃取装置在治疗性肽的萃取中能够获得与手动正压萃取装置相媲美的结果。

- Otto SPEcialist在从纯溶液和生物基质中萃取治疗性肽方面获得了与手动操作相媲美的回收率和%RSD
- 该方案易于编程，可简化不同用户和不同实验室之间的方法转换

---

## 参考资料

1. Oasis肽生物分析参考卡.沃特世文献, 720006298ZH <  
<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006298en.pdf>> .
2. Dunning CM, Lame M, Wrona MD, Haynes K. 利用具有MaxPeak高性能表面的QuanRecovery样品板开发一种对血清中普兰林肽进行生物定量分析的SPE LC-MS/MS方法.沃特世应用纪要, 720006527ZH <  
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/spe-lc-ms-ms-method-quanrecovery-sample-plates-maxpeak-performance-surfaces-pramlintide-from-serum.html>> .

---

## 特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ-XS三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134889751>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

720007148ZH, 2021年2月