



การพัฒนาวิธีการที่ง่ายและรวดเร็วสำหรับตรวจวัดปริมาณสารกลุ่มฮอร์โมนสเตียรอยด์ ในเซรัมด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS)

ผู้จัดทำ: ไพบุลย์ พรหมณี, จิรภิญญา เสี่ยมไครตวัน, สิริรัตน์ สิทธิรัตนตรีกุล, จิตนภา วรรณดิกุล, นิรมล จิตต์สมหมาย

บทนำ

ฮอร์โมนสเตียรอยด์ เป็นสารประกอบเชิงชีวโมเลกุลที่มีคุณสมบัติเป็นลิพิด และมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นวงแหวนคาร์บอนสี่วงเชื่อมต่อกัน ทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการทางสรีรวิทยาหลากหลาย แม้แต่ละชนิดจะมีบทบาทเฉพาะตัวแตกต่างกัน แต่ทั้งหมดมีต้นกำเนิดจากสารตั้งต้นเดียวกันคือคอเลสเตอรอล ผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมฮอร์โมนสเตียรอยด์พบได้ทั้งในธรรมชาติ จากวัสดุชีวภาพ และจากการสังเคราะห์ ตัวอย่างที่มีบทบาทสำคัญในระบบสืบพันธุ์ได้แก่ เอสโตรเจน แอนโดรเจน และโปรเจสเตอโรน ซึ่งสร้างหลักจากอันทะและรังไข่ ฮอร์โมนเพศสเตียรอยด์ที่พบได้บ่อยและเป็นที่รู้จักทั่วไปได้แก่ เอสตราไดออล เทสโทสเตอโรน และโปรเจสเตอโรน

โครมาโทกราฟีของเหลวควบคู่แมสสเปกโตรเมตรีแบบ tandem (LC-MS/MS) กำลังได้รับความนิยมมากขึ้นในการวิเคราะห์ฮอร์โมนสเตียรอยด์ เนื่องจากใช้ปริมาณตัวอย่างน้อย ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น มีความจำเพาะสูงกว่าการตรวจแบบอิมมูโนแอสเสย์ และสามารถตรวจวัดสารหลายชนิดได้พร้อมกัน

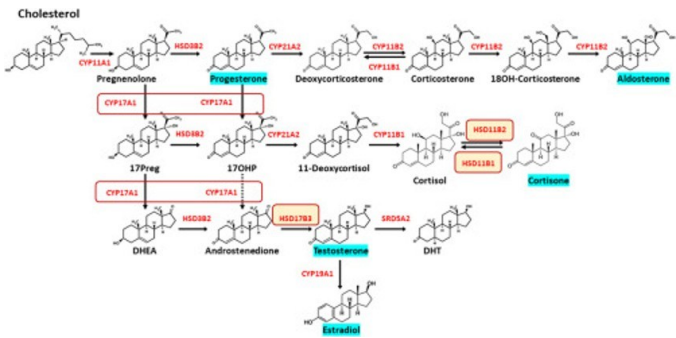
ปัจจุบันความก้าวหน้าด้านเทคโนโลยีทำให้สามารถวิเคราะห์ฮอร์โมนสเตียรอยด์ได้หลากหลายชนิดในช่วงความเข้มข้นที่กว้างพร้อมยกระดับมาตรฐานการวิเคราะห์อย่างมีนัยสำคัญ เทคนิคนี้เริ่มถูกนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการคลินิกทั่วไปรวมถึงงานด้านต่อมไร้ท่อและเปิดโอกาสให้ประยุกต์ใช้ทั้งในระดับฮอร์โมนเดี่ยวและชุดฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับภาวะทางคลินิกหลากหลาย

Desorption, Clean-up and LC Conditions

Analytical Column	Accucore™ C18 (2.1x100mm) 2.6µm
Column temperature	40 °C
Mobile phase	A: 0.1% Formic acid in H2O B: 0.1% Formic acid in Methanol
Data acquisition mode	Selected ion monitoring (SRM)

MS Conditions

Ion source type	APCI
vaporizer temperature	350°C
Ion Transfer tube Temp	325°C
Spray voltage	4800 V
Sheath gas and auxiliary	60 and 10(arbitrary units),
Collision gas (argon) pressure	1.5 mTorr.



ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างฮอร์โมนสเตียรอยด์

SRM transition and Collision Energy

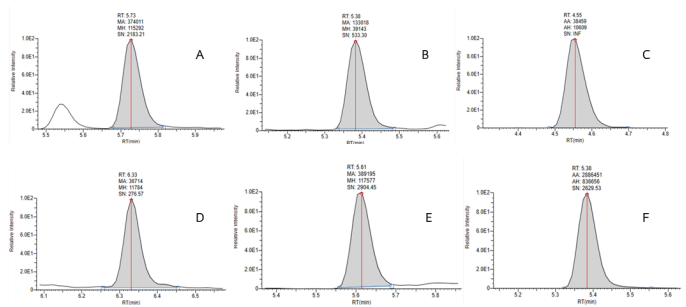
Compound	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Collision Energy (v)
11-Deoxycorticosterone	331.0	97.0	18.3
Androstenedione	287.1	97.1	15.2
Cortisol	363.1	115.0	13.6
Progesterone	315.0	97.0	17.4
Testosterone	289.1	97.0	19.0
Corticosterone (IS)	290.0	100.0	19.5

การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างโดยการตกตะกอนโปรตีน โดยใช้ตัวอย่างเป็นเซรัมปริมาณ 100 μ L และ ISTD ปริมาณ 5 μ L เติมสารสำหรับตกตะกอนโปรตีนปริมาณ 40 μ L ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 4,000 g เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นดูดเอาส่วนใสปริมาณ 100 μ L สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค LC-MS ต่อไป



ภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างโครมาโตแกรม



A: โครมาโตแกรมของ 11-Deoxycorticosterone

B: โครมาโตแกรมของ Androstenedione

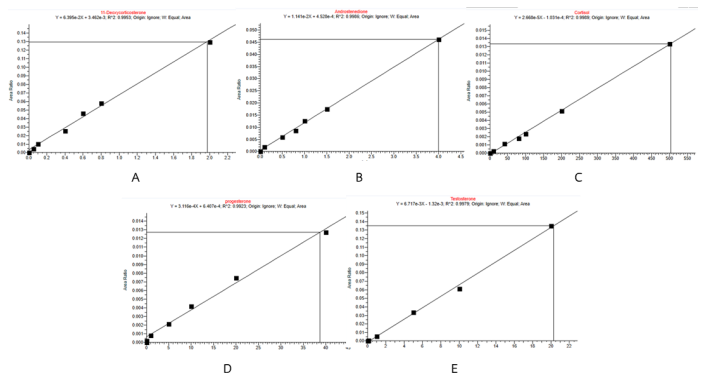
C: โครมาโตแกรมของ Cortisol

D: โครมาโตแกรมของ Progesterone,

E: โครมาโตแกรมของ Testosterone

F: โครมาโตแกรมของ ISTD (Corticosterone)

ภาพที่ 3 แสดงตัวอย่างเส้นกราฟมาตรฐาน



A: เส้นกราฟมาตรฐานของ 11-Deoxycorticosterone ค่า $R^2 = 0.9953$

B: เส้นกราฟมาตรฐานของ Androstenedione ค่า $R^2 = 0.9986$

C: เส้นกราฟมาตรฐานของ Cortisol ค่า $R^2 = 0.9989$

D: เส้นกราฟมาตรฐานของ Progesterone ค่า $R^2 = 0.9923$

E: เส้นกราฟมาตรฐานของ Testosterone ค่า $R^2 = 0.9979$

สรุปผลการทดลอง

เทคนิคการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนสเตียรอยด์ในเซรัมด้วย ลิควิดโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรมิเตอร์ (LC-MS) ที่พัฒนาขึ้นนี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่โดดเด่นทั้งในด้านความแม่นยำและความคุ้มค่าผลการวิเคราะห์ยืนยันว่าวิธีนี้สามารถ แยกสารแต่ละชนิดได้อย่างชัดเจน และมีความน่าเชื่อถือสูงดังที่แสดงจากค่า R^2 ที่ใกล้เคียง 1 ของทุกสารนอกจากนี้ยังช่วยลดต้นทุนการทดสอบได้อย่างมาก อีกทั้งยังใช้ตัวอย่างเพียงเล็กน้อย (100 μ L) และมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่ง่ายและรวดเร็วด้วยคุณสมบัติเหล่านี้วิธีการที่พัฒนาขึ้นจึงช่วยให้การตรวจวัดฮอร์โมนสเตียรอยด์เป็นไปอย่าง สะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพโดยใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 10 นาที ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวินิจฉัยทางการแพทย์และการวางแผนการรักษาที่แม่นยำและทันท่วงทีส่งผลดีต่อผู้ป่วยโดยตรง

ขอขอบคุณ

Scientific and Technological Research Equipment
Centre Chulalongkorn University (STREC)

เอกสารอ้างอิง

<https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/steroid-hormone>

ติดตามแอปพลิเคชันอื่น ๆ ได้ที่ <https://www.scispec.co.th>



บริษัท ชายน์ สเปค จำกัด
10 กาญจนภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02 454 8533



scispec



@scispec

ThermoFisher
SCIENTIFIC