



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111246942 A

(43)申请公布日 2020.06.05

(21)申请号 201880065418.7

(22)申请日 2018.10.04

(30)优先权数据

62/570,308 2017.10.10 US

62/596,242 2017.12.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2020.04.08

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2018/054363 2018.10.04

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/074757 EN 2019.04.18

(71)申请人 梅塔博隆股份有限公司

地址 美国北卡罗来纳

(72)发明人 A·肯尼迪

(74)专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 张小勇

(51)Int.Cl.

B01L 3/00(2006.01)

G01N 33/487(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G16B 25/10(2019.01)

G16B 40/00(2019.01)

权利要求书4页 说明书27页

(54)发明名称

使用非靶向质谱平台检测的生化物质的分析验证的简化方法

(57)摘要

本发明描述了一种评估使用多分析物测定法测量的生化物质的分析性能的方法。该方法包括分析验证样品中第一生化物质的水平的测量值,其中第一生化物质先前已针对三个或更多个分析验证条件进行了分析验证;测量样品中第二生化物质的水平,其中第二生化物质与第一生化物质在结构或生化上相关;和比较第一生化物质的验证参数和第二生化物质的验证参数,以基于比较结果确定第二生化物质的性能是否是可接受的。

1. 一种评估使用多分析物测定法测量的生化物质的分析性能的方法,所述方法包括:
 - a) 对样品中第一生化物质的水平的测量值进行分析验证,其中已针对选自以下各项的三个或更多个分析验证条件对第一生化物质进行了分析验证:日内精度、日间精度、线性、检测限、基体效应、外源干扰、携流效应或与标准临床测定法的相关性;
 - b) 测量样品中第二生化物质的水平,其中第二生化物质与第一生化物质在结构或生化上相关;
 - c) 选择一个或多个分析验证条件;
 - d) 基于所测量的第一生化物质的水平,针对第一生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算一个或多个性能值;
 - e) 基于所测量的第二生化物质的水平,针对第二生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算一个或多个性能值;
 - f) 将针对第一生化物质的分析验证条件计算的一个或多个性能值与针对第二生化物质的分析验证条件计算的一个或多个性能值进行比较;
 - g) 如果针对第二生化物质计算的一个或多个性能值在针对第一生化物质计算的一个或多个性能值的50%之内,则确定第二生化物质的性能可接受;和
 - h) 如果针对第二生化物质计算的一个或多个性能值不在针对第一生化物质计算的一个或多个性能值的50%之内,则确定第二生化物质的性能不可接受。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中至少50种生化物质的性能在单个测定法中评估。
3. 根据权利要求1所述的方法,其中至少100种生化物质的性能在单个测定法中评估。
4. 根据权利要求1所述的方法,其中至少150种生化物质的性能在单个测定法中评估。
5. 根据权利要求1所述的方法,其中至少200种生化物质的性能在单个测定法中评估。
6. 根据权利要求1所述的方法,其中至少500种生化物质的性能在单个测定法中评估。
7. 根据权利要求1所述的方法,其中至少1000种生化物质的性能在单个测定法中评估。
8. 根据权利要求1所述的方法,其中针对一个或多个分析验证条件的一个或多个性能值包括填充百分比和/或CV百分比。
9. 根据权利要求1所述的方法,其中针对第二生化物质选择两个分析验证条件。
10. 根据权利要求9所述的方法,其中所述两个分析验证条件是日内(单日)精度和日间(多日)精度。
11. 根据权利要求1所述的方法,其中测定法包括质谱法。
12. 根据权利要求1所述的方法,其中测定法包括液相色谱法和质谱法。
13. 根据权利要求1所述的方法,其中样品包括血浆、血清、尿液或CSF样品。
14. 一种评估使用测定法测量的生化物质的性能的方法,所述方法包括:
 - a) 测量样品中生化物质的水平,其中所述生化物质与表1或表2所列的一种或多种生化物质在结构或生化上相关;
 - b) 从单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限(LOD)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性中选择一个或多个分析验证条件;
 - c) 基于所测量的样品中生化物质的水平,针对生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算一个或多个性能值;

d) 将针对生化物质的一个或多个分析验证条件计算的一个或多个性能值与针对一个或多个分析验证条件的一个或多个接受标准进行比较;

e) 如果针对一个或多个分析验证条件计算的生化物质的一个或多个性能值在一个或多个接受标准的70%之内,则确定生化物质的性能可接受;和

f) 如果针对一个或多个分析验证条件计算的生化物质的一个或多个性能值不在一个或多个接受标准的70%之内,则确定生化物质的性能不可接受。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中选择两个分析验证条件。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中所述两个分析验证条件是日内(单日)精度和日间(多日)精度。

17. 根据权利要求14所述的方法,其中分析验证条件是日内精度,并且将生化物质的30%的CV或更小的计算的性能值确定为可接受的性能。

18. 根据权利要求14所述的方法,其中分析验证条件是日内精度,并且将生化物质的20%的CV或更小的计算的性能值确定为可接受的性能。

19. 根据权利要求14所述的方法,其中分析验证条件是日间精度,并且将生化物质的30%的CV或更小的计算的性能值确定为可接受的性能。

20. 根据权利要求14所述的方法,其中分析验证条件是日间精度,并且将生化物质的20%的CV或更小的计算的性能值确定为可接受的性能。

21. 一种评估使用测定法测量的生化物质的性能的方法,所述方法包括:

a) 测量样品中生化物质的水平,其中所述生化物质与已进行完全分析验证的一种或多种生化物质在结构或生化上相关;

b) 从单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限(LOD)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性中选择一个或多个分析验证条件;

c) 基于所测量的样品中生化物质的水平,针对生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算一个或多个性能值;

d) 将针对生化物质的一个或多个分析验证条件计算的一个或多个性能值与针对一个或多个分析验证条件的一个或多个接受标准进行比较;

e) 如果针对一个或多个分析验证条件计算的生化物质的一个或多个性能值在接受标准的70%之内,则确定生化物质的性能可接受;和

f) 如果针对一个或多个分析验证条件计算的生化物质的一个或多个性能值不在接受标准的70%之内,则确定生化物质的性能不可接受。

22. 一种评估使用多分析物测定法测量的生化物质的分析性能的方法,所述方法包括:

a) 对样品中第一生化物质的水平的测量值进行分析验证,其中针对选自以下各项的三个或更多个分析验证条件对第一生化物质进行分析验证:日内精度、日间精度、线性、检测限/定量限、基体效应、外源干扰、携流效应、回收率、稳定性或与标准临床测定法的相关性;

b) 测量样品中第二生化物质的水平,其中第二生化物质与第一生化物质在结构或生化上相关;

c) 选择第二生化物质的一个或多个分析验证条件;

d) 基于所测量的第二生化物质的水平,针对第二生化物质的所选一个或多个分析验证

条件计算一个或多个性能值；

e) 将针对第二生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算的一个或多个性能值与针对第一生化物质的三个或更多个分析验证条件的接受标准进行比较；和

f) 如果第二生化物质的计算的一个或多个性能值满足第一生化物质的三个或更多个分析验证条件的可接受标准，则确定第二生化物质的分析性能可接受；和

g) 如果第二生化物质的计算的一个或多个性能值不满足第一生化物质的三个或更多个分析验证条件的可接受标准，则确定第二生化物质的分析性能不可接受。

23. 一种评估使用多分析物测定法测量的生化物质的分析性能的方法，所述方法包括：

a) 测量样品中生化物质的水平，其中所述生化物质与已进行完全分析验证的一种或多种生化物质在结构或生化上相关；

b) 从单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限/定量限(LOD/LOQ)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性中选择一个或多个分析验证条件；

c) 基于所测量的样品中生化物质的水平，针对生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算一个或多个性能值；

d) 将针对生化物质的一个或多个分析验证条件计算的一个或多个性能值与针对先前经过验证的一种或多种生化物质的一個或多个分析验证条件的接受标准进行比较；和

e) 对于相应的分析验证条件，如果满足接受标准，确定生化物质的分析性能是可接受的，或如果不满足接受标准，确定生化物质的分析性能是不可接受的。

24. 一种评估使用多分析物测定法测量的生化物质的分析性能的方法，所述方法包括：

a) 测量样品中生化物质的水平，其中所述生化物质与表1或表2所列的一种或多种生化物质在结构或生化上相关；

b) 从单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限/定量限(LOD/LOQ)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性中选择一个或多个分析验证条件；

c) 基于所测量的样品中生化物质的水平，针对生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算一个或多个性能值；

d) 将针对生化物质的一个或多个分析验证条件计算的一个或多个性能值与表1或表2中所列的一种或多种生化物质的一個或多个分析验证条件的接受标准进行比较；和

e) 对于相应的一个或多个分析验证条件，如果满足接受标准，确定生化物质的分析性能是可接受的，或如果不满足接受标准，确定生化物质的分析性能是不可接受的。

25. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法，其中评估至少50种生化物质的分析性能。

26. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法，其中评估至少100种生化物质的分析性能。

27. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法，其中评估至少150种生化物质的分析性能。

28. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法，其中评估至少200种生化物质的分析性能。

29. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中评估至少500种生化物质的分析性能。

30. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中评估至少1000种生化物质的分析性能。

31. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法包括质谱法。

32. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法包括液相色谱法和质谱法。

33. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中样品包括血浆、血清、尿液或CSF样品。

34. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中使用相关性分析(R^2)、填充百分比、系统误差(SE)百分比、偏差百分比、差异百分比或变异系数(CV)百分比计算针对一个或多个分析验证条件的一个或多个性能值。

35. 根据权利要求34所述的方法,其中一个或多个分析验证条件之一是日内精度,并且30%的CV或更小的性能值满足接受标准。

36. 根据权利要求34所述的方法,其中一个或多个分析验证条件之一是日内精度,并且25%的CV或更小的性能值满足接受标准。

37. 根据权利要求34所述的方法,其中一个或多个分析验证条件之一是日间精度,并且30%的CV或更小的性能值满足接受标准。

38. 根据权利要求34所述的方法,其中一个或多个分析验证条件之一是日间精度,并且25%的CV或更小的性能值满足接受标准。

39. 根据权利要求34所述的方法,其中至少80%填充的性能值满足接受标准。

40. 根据权利要求22所述的方法,其中针对第二生化物质选择两个分析验证条件。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中所述两个分析验证条件是日内(单日)精度和日间(多日)精度。

42. 根据权利要求23或权利要求24所述的方法,其中选择两个分析验证条件。

43. 根据权利要求42所述的方法,其中所述两个分析验证条件是日内(单日)精度和日间(多日)精度。

44. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法由至少50种生化物质组成。

45. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法由至少100种生化物质组成。

46. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法由至少150种生化物质组成。

47. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法由至少200种生化物质组成。

48. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法由至少500种生化物质组成。

49. 根据权利要求22-24中任一项所述的方法,其中多分析物测定法由至少1000种生化物质组成。

使用非靶向质谱平台检测的生化物质的分析验证的简化方法

[0001] 背景

[0002] 代谢组学分析(全局生化分析)是一种大规模的半定量方法,其检查与生化异常相关的干扰,例如在氨基酸、碳水化合物、有机酸、脂质和核苷酸代谢方面的干扰。该测试使用色谱和质谱(例如GC-MS和LC-MS/MS)技术的组合同时分析数千种化合物。代谢组学分析可用作具有例如未分化表型的个体的筛查工具,或用作在与代谢过程相关的基因中具有可疑的突变的个体中的支持证据。

[0003] 例如,对先天性代谢错误(IEM)领域的生化筛选研究已显示了代谢组学分析方法的临床意义和实用性(Miller,MJ等人,J Inherit Metab Dis.2015Nov;38(6):1029-39)。与临床诊断试剂盒提供的有限的生化分析相比,对例如血浆、血清、尿液和脑脊液的样品类型中的人代谢组的筛选已经显示出提供有益信息的和新型的代谢特征。使用代谢组学分析方法生成生化表型的能力提供了额外的分析工具来检测代谢物产生的异常水平,其能够与靶向定量生化测定法结合使用。重要的是,全局生化分析鉴定和测量临床诊断试剂盒中当前未监测的生化物质的水平,这已经强调了全局代谢组学分析作为监测各种临床相关生化物质的工具的实用性。

[0004] 在将测试或测定法能够用于临床环境之前,必须满足某些监管要求。除了临床验证和临床实用性之外,还必须证明分析验证。用于验证临床应用的生化物质的传统方法需要通过评估多种条件来对每种生化物质进行完全分析验证,这些条件包括例如单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限(LOD)、线性、稳定性、携流效应、基体效应/生化回收、干扰以及通过相关性分析与当前使用的标准临床检测进行比较。

[0005] 实验已经证明,全局代谢组学分析是评估健康和诊断疾病的有用方法。然而,针对生化分析物的分析验证的所有验证条件在代谢组学分析中对所有生化物质进行分析验证的过程非常耗时且耗费资源,由于必须评估并满足充分的分析参数以满足分析验证的监管要求,这限制了在临床环境中代谢组学分析方法的使用。已经提出了允许测量一种化合物的水平的定量方法,其基于具有与第一种化合物相似的化学特性的化合物的内标的水平来进行测量(CLSI.Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory:General Principles and Guidance;Approved Guideline.CLSI document C50-A.Wayne,PA:Clinical and Laboratory Standards Institute;2007)。但是,该方法需要校准标准品和内标才能准确地定量化合物。因此,其在全局代谢组学分析的分析验证中的应用受到能够与使用代谢组学技术测量的大量化合物同时分析的内标的数量的限制。

[0006] 概述

[0007] 为了完全满足定义的验证条件,生化测定法的分析验证常规地对单个分析物或由有限数量的分析物组成的多分析物组的定量测定法进行。通常,多分析物组由少于50种分析物组成。但是,这种完全分析验证方法对于包含数十到数百或数千种分析物的半定量多分析物组不可行。为了使半定量全局代谢组学测定法能够用于评估人健康,需要一种简化方法来分析验证在这些测定法中测量的大量分析物,而无需对每种分析物进行完全分析验证。

[0008] 在所述方法中,使用简化的一组分析验证条件来评估和验证生化物质在测定法中的分析性能。在一些实施方案中,生化物质与已经被完全分析验证的另一种代谢物在结构上相关。在一些实施方案中,生化物质与已经被完全分析验证的另一种代谢物在生化上相关。

[0009] 在本发明的一个方面,评估使用多分析物测定法测量的生化物质的分析性能的方法包括:对样品中第一生化物质水平的测量值进行分析验证,其中已针对选自以下各项的多个分析验证条件对第一生化物质进行了分析验证(也就是说,满足或超过针对接受标准建立的值(“参考值”)):日内精度、日间精度、线性、检测限(或定量限)、基体效应、外源干扰、回收率、稳定性、携流效应和与使用标准临床测定法获得的测量值进行比较(即与其的相关性);测量样品中第二生化物质的水平,其中所述第二生化物质与所述第一生化物质在结构或生化上相关;选择一个或多个分析验证条件;基于所测量的第二生化物质的水平,确定或计算针对第二生化物质的所选一个或多个分析验证条件的性能值;将针对第一生化物质的分析验证条件确定或计算的绩效值与针对第二生化物质的分析验证条件确定或计算的绩效值进行比较;如果针对第二生化物质的计算的绩效值满足分析验证条件的接受标准,则确定第二生化物质的性能可接受;如果针对第二生化物质的计算的绩效值不满足分析验证条件的接受标准,则确定第二生化物质的分析性能不可接受。

[0010] 在第一方面的一个实施方案中,如果计算的第二生化物质的绩效值在第一生化物质的值的50%之内,则确定第二生化物质的分析性能是可接受的;并且如果计算的第二生化物质的绩效值不在第一生化物质的50%之内,则确定第二生化物质的分析性能不可接受。在另一个实施方案中,如果计算的第二生化物质的绩效值在第一生化物质的值的70%之内,则确定第二生化物质的分析性能是可接受的;并且如果计算的第二生化物质的绩效值不在第一生化物质的值的70%之内,则确定第二生化物质的分析性能不可接受。

[0011] 在一些实施方案中,针对两个或更多个分析验证条件对第一生化物质进行分析验证。在其他实施方案中,针对三个或更多个、四个或更多个、五个或更多个、六个或更多个、七个或更多个、八个或更多个、九个或更多个、或十个或更多个、或所有分析验证条件对第一生化物质进行分析验证。

[0012] 在又一个实施方案中,针对第二生化物质选择两个分析验证条件。在该实施方案的特征中,两个条件可以是日内(单日)精度和日间(多日)精度。在该实施方案的另一方面,针对性能接受标准计算的绩效值包括填充百分比和CV百分比。

[0013] 在本发明的第二方面,提供了一种评估使用多分析物测定法测量的生化物质的性能的方法。该方法包括:测量样品中生化物质的水平,其中该生化物质与已经被完全分析验证(即,满足所有分析验证条件的接受标准)的一种或多种生化物质在结构或生化上相关;从单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限或定量限(LOD、LOQ)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性中选择一个或多个分析验证条件;基于所测量的样品中生化物质的水平,针对生化物质的所选一个或多个分析验证条件计算一个或多个性能值;将针对生化物质的一个或多个分析验证条件计算的一个或多个性能值与针对一个或多个分析验证条件的一个或多个接受标准进行比较;和对于相应的分析验证条件,如果满足接受标准,确定生化物质的分析性能是可接受的,或如果不满足接受标准,确定生化物质的分析性能是不可接受的。

[0014] 在本发明的第三方面,一种评估使用测定法测量的生化物质的性能的方法包括:测量样品中生化物质的水平,其中所述生化物质与表1或表2所列的一种或多种生化物质在结构或生化上相关;从单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限或定量限(LOD、LOQ)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的比较(与其的相关性)中选择一个或多个分析验证条件,基于所测量的样品中生化物质的水平,确定或计算生化物质的所选一个或多个分析验证条件的性能值,将针对生化物质的一个或多个分析验证条件计算的一个或多个性能值与针对一个或多个分析验证条件的接受标准的性能值进行比较,对于相应的分析验证条件,如果满足或超过接受标准,确定生化物质的分析性能是可接受的,或如果不满足接受标准,确定生化物质的分析性能是不可接受的。

[0015] 在该方面的一个实施方案中,在单个多分析物测定法中评估至少50种生化物质的分析性能。在另一个实施方案中,在单个多分析物测定法中评估至少100种生化物质的分析性能。在又一个实施方案中,在单个多分析物测定法中评估至少150种生化物质的分析性能。在另一个实施方案中,在单个多分析物测定法中评估至少200种生化物质的分析性能。在另一个实施方案中,在单个多分析物测定法中评估至少500种生化物质的分析性能。在又一个实施方案中,在单个多分析物测定法中评估至少1000种生化物质的分析性能。

[0016] 在这些方面的一个实施方案中,多分析物测定法由至少50种生化物质组成。在另一个实施方案中,多分析物测定法由至少100种生化物质组成。在又一个实施方案中,多分析物测定法由至少150种生化物质组成。在另一个实施方案中,多分析物测定法由至少200种生化物质组成。在另一个实施方案中,多分析物测定法由至少500种生化物质组成。在又一个实施方案中,多分析物测定法由至少1000种生化物质组成。

[0017] 在另一个实施方案中,针对分析验证条件的性能接受标准选自包含以下各项的组:相关性分析(R^2)、填充百分比、系统误差(SE)百分比、偏差百分比、差异百分比和变异系数(CV)百分比。在该实施方案的特征中,当分析验证条件为填充百分比时,至少80%的性能值满足接受标准。

[0018] 在这些方面的一个特征中,一个或多个选择的分析验证条件之一是日内精度。在这些方面的另一个特征中,一个或多个选择的分析验证条件之一是日间精度。在这些特征中,30%的CV或更小的性能值满足接受标准。此外,在这些特征中,25%的CV或更小的性能值满足接受标准。

[0019] 在第二和第三方面的实施方案中,选择两个分析验证条件。在该实施方案的特征中,两个分析验证条件是日内(单日)精度和日间(多日)精度。在该实施方案的另一个特征中,分析验证条件是日内精度,生化物质的30%的CV或更小的计算的值被确定为可接受的性能。在另一个特征中,分析验证条件是日内精度,并且生化物质的25%的CV或更小的计算的值被确定为可接受的性能。在又一个特征中,分析验证条件是日间精度,生化物质的30%的CV或更小的计算的值被确定为可接受的性能。在又一个特征中,分析验证条件是日间精度,生化物质的25%的CV或更小的计算的值被确定为可接受的性能。

[0020] 在这些方面的一个特征中,测定法包括质谱法。在另一个特征中,测定法包括液相色谱法和质谱法。在又一个特征中,样品包括血浆、血清、尿液或CSF样品。

[0021] 定义

[0022] 如本文所用,“生化物质”、“化合物”、“小分子”、“代谢物”、“分析物”是指细胞中存

在的有机和无机分子。该术语不包括大分子,例如大蛋白(例如,分子量超过2,000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000或10,000的蛋白质)、大核酸(例如分子量超过2,000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000或10,000的核酸)或大多糖(例如分子量超过2,000、3,000、4,000、5,000、6,000、7,000、8,000、9,000或10,000的多糖)。细胞中的小分子一般在细胞质或其他细胞器(例如线粒体)的溶液中游离存在,在那里它们形成一个中间体库,这些中间体能够被进一步代谢或用于生成较大的分子,称为大分子。术语“小分子”包括信号传导分子和化学反应中的中间体,该化学反应将源自食物的能量转化为可用形式。小分子的非限制性实例包括糖、脂肪酸、氨基酸、核苷酸、在细胞过程中形成的中间体以及在细胞内发现的其他小分子。

[0023] “途径”是通常用于定义彼此关联的一系列步骤或反应的术语。例如,对于生化途径,其中一个反应的产物是后续反应的底物。生化反应不一定是线性的。相反,术语生化途径应理解为包括与代谢相关的相互关联的生化反应的网络,包括生物合成反应和分解代谢反应。没有修饰符的“途径”可以指“超途径”和/或“子途径”。“超途径”是指广泛的代谢类别。“子途径”是指更广泛途径的任何子集。例如,谷氨酸代谢是氨基酸代谢生化超途径的子途径。同一生化途径中的代谢物称为“在生化上相关”。

[0024] “全局代谢组学分析”或“全局生化分析”是指测定样品中生化物质的水平的方法。该方法测量样品中数百种生化物质的水平,从而提供生化筛选。该方法通常也可以称为“测定法”。

[0025] “测试样品”是指待分析的样品。

[0026] “参考样品”是指用于确定小分子的水平标准范围的样品。“参考样品”可以指个体样品。样品可以来自个体参考受试者(例如,正常(健康)参考受试者或疾病参考受试者),其可以被选择为在年龄和性别上与测试受试者非常相似。“参考样品”还可以指包括来自个体参考受试者的参考样品的合并等分试样的样品。

[0027] “准确度”是指测量值与实际生化鉴定和被测量的量的相对水平相匹配的能力。

[0028] “精度”是指测量值被一致地再现的能力。

[0029] “分析验证”是指分析程序或测定法所经历的评估过程,以通过满足或超过性能特征(例如,单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限或定量限(LOD、LOQ)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性)的接受标准来证明其是否适合于其预期的目的。性能特征在本文中也称为性能条件。接受标准与目标值和目标值附近的接受极限相关联。接受标准的参考值是由在接受目标值附近的接受极限确定的范围。例如,目标值可以是12,标准偏差(SD)为0.5,接受极限为 ± 1.5 。在此示例中,参考值的范围为10.5至13.5,并且该范围内的值将满足接受标准。

[0030] “变异系数”或“CV”是指在多个样品中测量的生化物质的标准偏差与在该多个样品中生化物质的平均值的比率。该比率通常以百分比(CV%)表示。

[0031] “偏差”是指测试结果的期望值与所接受的参考值之间的差异(注意,在进行干扰测试的情况下,“接受值”将是在没有干扰的情况下来自相同测量程序的结果)。

[0032] 如本文所用,“检测限”或“LOD”或“定量限”或“LOQ”是指能够以规定的概率检测到的样品中分析物的最低量,但是不一定定量为准确值。这也称为“最小可检测浓度”,并且有时用于表示测试的功能灵敏度。这些术语在本文中可以互换使用。

[0033] “回收率”是指分析系统能够检测到的样品中存在的物质的量。通常,这称为回收率百分比。具有100%的回收率的系统是完全准确的。

[0034] 详述

[0035] 本文描述了用于进行多种生物物质的简化分析验证的方法。该方法包括使用多分析物测定法(例如,全局代谢组学测定)评估生物物质的性能。在这种全局代谢组学方法中,针对符合监管机构(例如美国食品药品监督管理局或欧洲药品管理局(EMA))所要求的分析验证条件对代表多种生化途径的所选的生物物质亚组进行分析验证(即完全分析验证)。使用一组简化的分析验证条件,能够评估和分析验证未在完全分析验证方案中直接测试的其他生化相关或结构相关的生物物质的性能。通常,使用简化的性能条件评估的生物物质与经过完全分析验证的一种或多种生物物质在结构或生化上相关。

[0036] 本文所述的全局代谢组学分析测定方法鉴定分子量在约50道尔顿(Da)至约1,500Da之间的小分子。通过将小分子与生物物质文库进行比较来确定其身份。对于使用LC-MS/MS方法分析的每种化合物,使用纯化的真实化学标准品建立文库(当前包含4,000多种生物物质)。文库包含每个分子的化合物特有的特征,其用于鉴定未来样品中的化合物。该文库包含每个分子的分子量/质量和分析特征(性质),包括但不限于,例如,关于加合物的信息、源内破碎、聚合、色谱保留时间和质谱破碎模式。

[0037] 可以将生物物质归类到超途径,包括例如氨基酸;肽;碳水化合物;能源;脂质;复合脂质;核苷酸;辅因子和维生素;和异源性物质。还可以将生物物质归类到一个或多个生化子途径,包括例如:甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢;丙氨酸和天冬氨酸代谢;谷氨酸代谢;组氨酸代谢;赖氨酸代谢;苯丙氨酸和酪氨酸代谢;色氨酸代谢;亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢;甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM和牛磺酸代谢;尿素循环;精氨酸和脯氨酸代谢;肌酸代谢;多胺代谢;胍基和乙酰胺代谢;谷胱甘肽代谢;猫尿氨酸代谢; γ -谷氨酰氨基酸;二肽衍生物;二肽;多肽;纤维蛋白原切割肽;糖酵解、糖异生和丙酮酸代谢;糖酵解、糖异生和丙酮酸代谢;戊糖磷酸途径;戊糖代谢;糖原代谢;二糖和寡糖;果糖、甘露糖和半乳糖代谢;核苷酸糖;氨基糖代谢;晚期糖化终产物;TCA循环;氧化磷酸化;短链脂肪酸;中链脂肪酸;长链脂肪酸;多不饱和脂肪酸(n3和n6);定量游离脂肪酸;脂肪酸,支链;脂肪酸,二羧酸;脂肪酸,甲基酯;脂肪酸,酯;脂肪酸,酰胺;脂肪酸,酮;脂肪醇,长链;脂肪酸合成;脂肪酸代谢;脂肪酸代谢(也称为BCAA代谢);脂肪酸代谢(酰基甘氨酸);脂肪酸代谢(酰基肉碱);肉碱代谢;酮体;神经递质;脂肪酸,单羟基;脂肪酸,二羟基;脂肪酸,氧化;类花生酸;内源性大麻素;肌醇代谢;磷脂代谢;溶脂(Lysolipid);甘油酯代谢;单酰基甘油;二酰基甘油;鞘脂代谢;甲羟戊酸代谢;甾醇;类固醇;初级胆汁酸代谢;次级胆汁酸代谢;二酰基甘油;三酰基甘油;溶血磷脂酰胆碱;磷脂酰胆碱;磷脂酰乙醇胺;磷脂酰丝氨酸;鞘磷脂;鞘脂代谢;心磷脂;胆固醇酯;磷脂;嘌呤代谢,含(低)黄嘌呤/肌苷;嘌呤代谢,含腺嘌呤;嘌呤代谢,含鸟嘌呤;嘧啶代谢,含乳清酸;嘧啶代谢,含尿嘧啶;嘧啶代谢,含胞苷;嘧啶代谢,含胸腺嘧啶;嘌呤和嘧啶代谢;烟酸盐和烟酰胺代谢;核黄素代谢;泛酸和CoA代谢;抗坏血酸和醛酸酯代谢;生育酚代谢;生物素代谢;叶酸代谢;四氢生物蝶呤代谢;蝶呤代谢;血红蛋白和卟啉代谢;脂酸代谢;硫胺素代谢;维生素K代谢;维生素A代谢;维生素B12代谢;维生素B6代谢;苯甲酸酯代谢;黄嘌呤代谢;烟草代谢物;食品成分/植物;细菌;药物;邻苯二甲酸盐;和化学品。

[0038] 在该方法的示例性实施方案中,使用例如LC-MS/MS测定方法在质谱仪系统(本文

称为平台)上分析(本文称为“运行”)样品。通过与真实标准品的生化文库进行比较来鉴定样品中的生化物质。基于性质进行鉴定,这样的性质包括例如保留时间、保留指数、准确的质量和生化破碎模式。可以将测试样品中每种鉴定的生化物质的选择的离子片段(定量离子)的信号强度,与例如从其他测试样品或一个或多个参考样品获得的信号强度进行比较。此方法实现一个样品或一组样品中每种生化物质的相对定量。样品可以是测试样品或参考样品。基于生化物质的水平和/或生化途径中生化物质的水平,可以使用相对生化定量比较单个样品或一组样品。相对生化定量可用于比较样品之间的相同分子。

[0039] 在旨在用于临床应用的测定(例如,作为实验室开发的测试,LDT)中测量的生化物质必须经过分析验证以满足监管要求。

[0040] 使用许多分析验证条件能够评估生化物质的分析验证的性能,分析验证条件包括但不限于单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)、检测限(LOD)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰和/或与标准临床测定法的比较/相关性。如果一个或多个分析验证条件的性能值满足或超过针对该条件设置的接受标准(即性能值在参考值范围内),则确定生化物质为经分析验证的。性能接受标准的非限制性示例性可接受的性能值可包括:填充百分比 $>80\%$; $CV\% < 35\%$; $R^2 > 0.8$ 。此外,可以在多仪器系统(即平台)上评估条件,以评估平台间的精度,以证明验证分析的一致性和稳健性。

[0041] 在代谢组学分析测定法中,测量数百种生化物质。由于资源需求和时间密集,完全分析验证所有这些生化物质是不切实际的。本文描述了使用多个验证条件来完全分析验证生化物质的子集的方法。分析验证所必需的分析验证条件和接受标准将取决于如何使用测定法。本领域普通技术人员将知道并理解基于测定法最终用途所需的条件和接受标准。满足针对满足监管要求所必需的评估的分析验证条件的分析验证标准的生化物质被确定为并被称为“完全分析验证”,并因此能够用于通过使用简化的分析验证方法来分析验证在结构或生化上相关的生化物质。

[0042] 在一个实施方案中,生化物质的日内精度和日间精度的接受标准可以基于在其中检测到生化物质的样品的数量(“填充%”)。在一个实例中,如果在至少80%的样品中检测到生化物质,则认为该生化物质满足日内精度或日间精度的接受标准。在另一个实例中,如果在100%的样品中检测到生化物质,则认为该生化物质满足日内精度或日间精度的接受性。

[0043] 在另一个实施方案中,生化物质的日内精度、日间精度和平台间精度的接受标准可以基于变异系数(CV)。例如,如果生化物质的CV小于40%,则认为该生化物质满足日内精度、日间精度或平台间精度的接受标准。在其他实例中,如果生化物质的CV小于35%、小于30%、小于25%或少于20%,则认为该生化物质满足日内精度、日间精度或平台间精度的接受标准。

实施例

[0044] I. 一般方法。

[0045] 样品小分子特征谱的产生需要分析其组成性生化小分子。该分析可以包括从样品中提取多个小分子中的至少一些。可以使用本领域已知的一种或多种不同的分析技术进行分析,例如,液相色谱法(LC)、高效液相色谱法(HPLC)(参见Kristal等人,

Anal. Biochem. 263:18-25 (1998))、气相色谱法 (GC)、薄层色谱法 (TLC)、电化学分离技术 (参见 WO 99/27361、WO 92/13273、U.S. 5,290,420、U.S. 5,284,567、U.S. 5,104,639、U.S. 4,863,873 和 US RE32,920)、折射率光谱 (RI)、紫外光谱 (UV)、荧光分析、放射化学分析、近红外光谱 (Near-IR)、核磁共振光谱 (NMR)、光散射分析 (LS)、质谱法 (MS)、串联质谱法 (MS/MS2), 以及组合方法, 例如气相色谱法/质谱法 (GC-MS)、液相色谱法/质谱法 (LC-MS)、超高效液相色谱法/串联质谱法 (UHPLC/MS/MS2) 或气相色谱法/串联质谱法 (GC/MS/MS2)。

[0046] 全局生化分析方法可以由一个或多个测定法组成, 包括例如液相色谱法 (LC)、气相色谱法 (GC)、质谱法 (MS) 或其组合。测定法可包括例如: LC 正离子极性 UHPLC-RP (反相) / MS/MS_n; 和 LC 正离子脂质 UHPLC-RP/MS/MS_n; LC 负离子 UHPLC-RP/MS/MS_n; LC 负离子 UHPLC-HILIC (亲水相互作用液相色谱法) / MS/MS_n、GC-MS 或它们的组合。

[0047] 可以将生物物质归类到生化途径 (超途径和子途径)。同一途径中的生物物质通常具有相似的化学结构, 并被认为在结构上相关。具有相似化学结构的生物物质通常在测定法中具有相似的性能。使用以下各种条件评估选择的生物物质的性能 (表 1 和 2): 单日精度 (日内精度)、多日精度 (日间精度)、检测限 (LOD)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性。使用了一组简化的条件来评估其他生物物质的性能, 从而使得能够评估 4,000 多种生物物质的性能, 而消耗的时间和费用仅为完全评估的一小部分。

[0048] A. 全局生化分析。

[0049] 在本文所述的示例性实施方案中, 全局生化分析方法包括四种单独的液相色谱 (LC) 质谱 (MS) 方法: LC 正离子极性 UHPLC-RP (反相) / MS/MSⁿ、LC 正离子脂质 UHPLC-RP/MS/MSⁿ、LC 负离子 UHPLC-RP/MS/MSⁿ 和 LC 负离子 UHPLC-HILIC (亲水相互作用液相色谱法) / MS/MSⁿ。

[0050] B. UPLC 方法。

[0051] 提取样品并在含有内标的溶剂中重构。使用 Waters Acquity UPLC (Waters Corp., Milford, MA) 分离通过 LC-MS 分析的所有重构的等分试样。在 0.1% 甲酸中重构的等分试样使用的流动相溶剂由水中 0.1% 的甲酸 (A) 和甲醇中 0.1% 的甲酸 (B) 组成。在 6.5mM 碳酸氢铵中重构的等分试样使用的流动相溶剂由水中 6.5mM 碳酸氢铵, pH 8 (A) 和甲醇和水中 6.5mM 碳酸氢铵组成。用于甲酸重构的提取物和碳酸氢铵重构的提取物的梯度曲线是在 0.5% B 和 350 μL/min 流速的初始条件下进行的。总运行时间少于 6 分钟。流量是。样品进样体积为 5 μL, 和使用 2x 针环过量填充。液相色谱法分离是在 40 °C 下在分开的酸或碱专用的 2.1mm x 100mm Waters BEH C18 1.7 μm 粒径柱上进行的。

[0052] C. UPLC-MS 方法。

[0053] 使用了 Orbitrap Elite (OrbiElite Thermo Scientific, Waltham, MA) 质谱仪。OrbiElite 质谱仪使用 HESI-II 源, 其中正模式的鞘气设置为 80, 辅助气设置为 12, 和电压设置为 4.2kV。负模式的设置为鞘气为 75, 辅助气为 15, 和电压为 2.75kV。两种模式的源加热器温度均为 430 °C, 并且毛细管温度为 350 °C。质量范围为 99-1000 m/z, 其中扫描速度为每秒 4.6 次总扫描, 同时交替进行一次完全扫描和一次 MS/MS 扫描, 并且分辨率设置为 30,000。傅里叶变换质谱法 (FTMS) 完全扫描自动增益控制 (AGC) 目标设置为 5×10^5 , 截止时间为 500ms。离子阱 MS/MS 的 AGC 目标为 3×10^3 , 最大填充时间为 100ms。正模式的标准化碰撞能量

设置为32个任意单位,并且负模式设置为30。激活Q为0.35,并且激活时间为30ms,同样使用3m/z的隔离质量窗口。启用了3.5秒持续时间的动态排除设置。每周使用输注的Pierce™ LTQ Velos电喷雾电离(ESI)正离子校准溶液或Pierce™ ESI负离子校准溶液进行校准。

[0054] D. 数据处理和分析。

[0055] 对于每个仪器上的每个生物基质数据集,计算每个内标的峰面积的相对标准偏差(RSD),以确认提取效率、仪器性能、柱完整性、色谱和质量校准。这些内标中的几种用作保留指数(RI)标记,并对其针对保留时间和比对进行检查。内标用于QC目的,而不用于测定中生化物质的定量。UPLC-MS系统随附的修改版本的软件用于峰检测和积分。该处理的输出生成了m/z比、保留时间和曲线下面积值的列表。软件指定的峰检测标准包括信噪比、高度和宽度的阈值。

[0056] 基于保留指数对生物数据集(包括QC样品)进行色谱比对,该保留指数利用分配有固定RI值的内标。通过假设数值不变的侧翼RI标记之间的线性拟合来确定实验峰的RI。RI的好处在于,它校正由于系统误差(例如样品pH和柱寿命)引起的保留时间漂移。每个生化物质的RI是基于与其两个侧向保留标记的洗脱关系指定的。将积分的、比对的峰针对真实标准品的化学文库匹配,并常规检测未知的生化物质,这对于所采用的数据收集方法是特定的。匹配基于保留指数值,并且实验前体质量与文库真实标准品匹配。将实验MS/MS与库谱针对真实标准品和分配的正向和反向得分进行比较。完美的正向得分表明在真实标准品的文库中以正确的比率发现实验光谱中的所有离子,而完美的反向得分表明所有真实标准品文库离子以正确的比率存在于实验谱中。比较了正向和反向得分,并为针对提出的匹配给出了MS/MS碎片谱得分。

[0057] 关于化学文库、用于匹配积分的比对的峰以鉴定命名的化合物和常规检测的未知化合物的方法以及用于鉴定样品中小分子的计算机可读代码的详细信息可以在美国专利号7,561,975中找到,该专利通过引用并入本文。

[0058] 实施例1:代表性代谢物的完全分析验证

[0059] 使用当前接受或需要的常规分析验证技术对一组代表性代谢物的分析性能进行了评估和完全验证。评估了十(10)个分析验证条件:单日精度(日内精度)、多日精度(日间精度)和检测/定量限(LOD/LOQ)、线性、稳定性、携流效应、基体效应、生化回收、干扰以及与标准临床测定法的相关性。针对所评估的每种生化物质的每种分析验证条件计算性能值。使用四个独立的LC-MS/MS仪器系统对血浆、血清、尿液和CSF样品进行了分析验证和性能评估,其中每个系统在本文称为平台(即平台Q、R、S和T)。如下文所述,根据目前接受的实践和标准,对血浆和血清样品中276种代谢物以及尿液和CSF样品中176种代谢物的分析性能进行了评估和完全分析验证。

[0060] 日内精度:使用两个独立的测试样品(即测试样品1和测试样品2)来评估日内精度。通过合并来自健康成人志愿者的六(6)个不同的EDTA血浆样品来产生每个测试样品(即,合并六个健康成人血浆样品以产生测试样品1,合并不同于用于产生测试样品1的六个健康成人血浆样品以产生测试样品2)。某些代谢物仅在患病的患者样品中可见,而在健康个体的样品中不可见;这些生化物质称为稀有代谢物。由于测试样品1和测试样品2中不存在这些稀有代谢物,因此将这些代谢物加标到合并的测试样品中。在4个LC-MS/MS平台(Q、R、S和T)的每一个平台上,在5天之内针对每个测试样品以5次技术重复对测试样品进行分

析,以确定基于CV%的日内精度。针对所有4个平台上每个技术重复样品中的表1和表2中列出的每种代谢物确定原始计数的CV%。最佳日内精度为 $CV \leq 25\%$,并且 $CV \leq 25\%$ 的代谢物满足CV%接受标准;但是,具有25-30%的CV的代谢物满足CV%的接受标准,条件是不超过3个样品具有在此范围内的CV;具有30-40%的CV代谢物满足CV%的接受标准,条件是不超过1个样品具有在此范围内的CV%;具有 $>40\%$ 的CV的日内精度分析的代谢物不精确并不符合接受标准。

[0061] 日间精度:在5天之内针对每个测试样品以5次技术重复对两个独特的测试样品进行分析,以确定日内精度。包括合并的参考样品,用于在几天(第1-5天)中进行标准化。与每个样品批次以及重复测试样品一起分析九个参考样品库。使用CV%计算日间精度的性能值。表1和表2中每种生化物质的CV%是使用每个样品的平均原始计数确定的,然后将其针对9个合并参考样品的平均原始计数进行标准化(即除以)。最佳日间精度为 $\leq 25\%$ 的CV,并且 $CV \leq 25\%$ 的代谢物满足CV%接受标准;但是,对于一个重复试验具有25-35%的CV的代谢物满足CV%的接受标准,前提是所有其他重复试验为 $<25\%$ 的CV。

[0062] 线性:为了评估线性,将表1和表2中列出的生化物质以覆盖6个数量级的量加标到溶剂中,然后进行提取。样品在4个LC-MS/MS分析平台中的每一个上一式三份运行。每种生化物质按以下浓度的六步系列稀释系列进行分析:0.0404ng/mL、0.482ng/mL、5.79ng/mL、69.4ng/mL、833ng/mL和10,000ng/mL。将一式三份样品分析中每种生化物质在每种稀释度下的平均信号强度针对生化物质的已知浓度进行作图。在线性计算中仅包含等于或高于检测限的数据点。稀释系列包括六个步骤的12倍稀释。实验是在四个分析平台的每个平台上进行的。对于每个平台,针对表1和2中的每种生化物质计算完全标准曲线,包括线性范围的最小和最大浓度,并生成了线性图。使用 R^2 和系统误差(SE%)计算线性的性能值。然后将计算的绩效值与线性接受标准进行比较,以确定生化物质是否满足或超过线性的接受标准。线性分析验证的接受标准如下:生化物质的 R^2 值必须 >0.95 ,并且在最低浓度点的系统误差(SE)%应在20%之内,或在其他浓度下在15%之内,以使得数据点满足用于线性曲线的接受标准。

[0063] 检测限:代谢物的检测限(LOD)定义为:1)观察到稀释水平和所有后续水平的所有重复(即100%填充),和2)稀释水平和所有后续稀释水平的平均原始离子强度是任何先前水平的平均强度的至少2倍。将表1和表2中的每种生化物质加标到替代基质中,然后进行提取。将代谢物以覆盖6个数量级的系列稀释度加标。在四个仪器平台的每一个上一式三份地准备样品。每个代谢物(除己酸酯和苯丙酰甘氨酸外-如下所述)按以下浓度的6步系列稀释系列进行分析:0.0404ng/mL、0.482ng/mL、5.79ng/mL、69.4ng/mL、833ng/mL和10,000ng/mL。己酸酯按以下浓度的6步系列稀释系列进行分析:2.01ng/mL、24.1ng/mL、289ng/mL、3,470ng/mL、41,700ng/mL、500,000ng/mL。苯丙酰甘氨酸按以下浓度的6步系列稀释系列进行分析:2.01ng/mL、24.1ng/mL、289ng/mL、3,470ng/mL、41,700ng/mL、500,000ng/mL。LOD被确定为在所有四个仪器平台上观察到的最低值。为了满足LOD/LOQ的接受标准,代谢物的测量水平必须高于LOD/LOQ。

[0064] 基体效应/回收率:为了评估基体效应/回收率,将表1和表2中列出的每种生化物质加标到替代基质中,然后进行提取。将生化物质以1)低和2)高浓度加标到以下溶液中:(A)纯溶液;(B)提取后加标的MTRX QC;(C)提取前加标的MTRX QC;(D)未加标的MTRX QC。在

平台R上分析样品,并将原始离子强度用于计算基体效应(ME)、回收百分比(REC)和总工艺效率(OPE),如下所示:

$$[0065] \quad ME\% = \frac{(B-D)}{A} \times 100$$

$$[0066] \quad REC\% = \frac{C}{B} \times 100$$

[0067] 总工艺效率:

$$[0068] \quad PE\% = \frac{ME \times RE}{100}$$

[0069] 基体效应/回收率的接受标准基于ME%、REC%或OPE%的性能值。基体效应/回收率的接受标准如下:具有接近100%的ME%、REC%和OPE%的生化物质和达到这些值满足并超过最低接受标准的生化物质为最佳性能。为了满足回收率的接受标准,计算的平均浓度应在QC对照中的浓度的±15%之内。为了满足基体效应的接受标准,对定量的影响不应超过±15%

[0070] 外源性干扰:使用全局代谢组学分析所捕获的历史数据表明,外源性干扰能够独立于其他生化特征进行测量。也就是说,来自历史研究的数据表明,来自外源性干扰物(如粘合剂和尿布材料)的分子不干扰该平台上生化物质的色谱分离和鉴定。此外,已确定对药物/分子(例如他汀类药物、非甾体类抗炎药、止痛药、抗生素、抗组胺药和糖尿病药物)进行的生化鉴定不干扰该平台上的其他小分子的色谱分离和生化鉴定。为了满足来自外源性干扰物或药物的外源性干扰的接受标准,在存在干扰物的情况下测得的水平之间的百分比差异应在不存在干扰物的情况下测得的水平的±15%之内。

[0071] 携流效应:在四个平台的每一个上对表1中列出的每种生化物质的携流效应进行评估,并将其作为生化标准品的线性和检测限分析的一部分进行分析。具体而言,对于每个分析运行,在线性系列稀释中,在最高标准曲线样品之后包括两个过程空白。第一个空白用作注射器携流效应样品,第二个空白用作柱携流效应样品。确定了LOD/线性稀释系列、注射器空白和携流效应空白中具有最高浓度(即10,000ng/mL)的加标生化物质的样品的原始离子强度。使用总携流效应百分比计算携流效应的性能值。通过将两个空白的离子强度相加并计算稀释系列中最高浓度的携流效应百分比来定义总携流效应百分比。在此实施例中,使用以下公式计算携流效应百分比:(过程空白中的分析物面积)/(稀释系列中最终复制样品中的分析物面积)×100。如果在携流效应样品中未检测到生化物质,则报告为0,其表示没有携流效应。

[0072] 由于仪器的双柱配置,第一个携流效应空白(即INJ_CO)报告注射器携流效应,第二个携流效应空白(即COLUMN_CO)报告柱携流效应。总携流效应是两者的总和。

[0073] 然后将针对携流效应获得的计算的绩效值与接受标准进行比较,以确定生化物质的携流效应的接受性。携流效应的接受标准(描述为化合物携流效应限)如下:根据临床可接受的准则设置化合物携流效应限(即Cmpd携流效应限),该准则陈述具有200倍动态范围的化合物的LOD浓度不能受到>20%的影响(即具有>20%的总携流效应百分比)。基于该准

则,并基于每种化合物的动态范围(由多个患者分批测试确定),建立了Cmpd携流效应限。

[0074] 与标准临床测定法的比较(准确度):如果可用,将生化物质的测定值与用于在临床/诊断实验室中测量分析物的标准CAP/CLIA认证的试剂盒进行比较。该标准试剂盒产生分析物的定量测量。这些值与使用全局代谢组学分析获得的半定量值相关。使用相关性分析计算出与标准临床测定法相比的性能值。在来自全局代谢组学分析与标准试剂盒测定的测量值之间进行相关性分析。计算并报告每种生化物质的相关性。然后将计算的性能值与接受标准进行比较,以确定生化物质的接受性,以便与标准临床测定法进行比较(准确度)。与标准临床测定法的比较(准确度)的接受标准为0.8或更高的相关性;满足或超过该性能值的生化物质被认为是可以接受的。

[0075] 根据上述传统的、目前接受的实践评估和验证了血浆和血清样品中276种化合物的性能。表1示出了在血浆和血清中经过评估和完全分析验证的276种化合物的列表。表1还包括与每种化合物相关的生化途径或亚家族。

[0076] 表1:在血浆和血清及相关生化途径中经过完全分析验证的生化物质

[0077]

生化物质名称	生化物质亚家族
1,5-脱水葡萄糖醇(1,5-AG)	糖酵解、糖异生和丙酮酸代谢
12-HETE	类二十烷酸
13-HODE + 9-HODE	脂肪酸,单羟基
16a-羟基 DHEA 3-硫酸酯	类固醇
17 α -羟基孕烯醇酮-3-硫酸酯	类固醇
1-亚油酰-GPC(18:2)	溶脂
2-氨基己二酸酯	赖氨酸代谢
2-氨基庚酸酯	脂肪酸,氨基
2'-脱氧腺苷	嘌呤代谢,含腺嘌呤
2'-脱氧鸟苷	嘌呤代谢,含鸟嘌呤
2'-脱氧肌苷	嘌呤代谢,含(低)黄嘌呤/肌苷
2'-脱氧尿苷	嘧啶代谢,含尿嘧啶
2-羟基-3-甲基戊酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
2-羟基丁酸酯/2-羟基异丁酸酯	谷胱甘肽代谢
2-羟基戊二酸酯	脂肪酸,二羧酸酯
2-羟基苯基乙酸酯	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
2-甲基丁酰肉碱(C5)	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
2-甲基柠檬酸酯	TCA 循环
2-甲基马尿酸酯	苯甲酸酯代谢
2-甲基丙二酰基肉碱	脂肪酸合成
2-吡咯烷酮	化学品
3-(4-羟基苯基)乳酸酯(HPLA)	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
3-(3-羟基苯基)丙酸酯	苯甲酸酯代谢
3,4-二羟基苯乙酸酯	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
3-羧基-4-甲基-5-丙基-2-咪喃丙酸酯(CMPF)	脂肪酸,二羧酸酯
3-羟基-2-乙基丙酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
3-羟基-2-甲基丁酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
3-羟基丁酸酯(BHBA)	酮体
3-羟基马尿酸酯	苯甲酸酯代谢
3-羟基异丁酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
3-羟基丙酸酯	脂肪酸,单羟基
3-吲哚基-硫酸酯	色氨酸代谢

[0078]

3-甲基-2-氧丁酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
3-甲基-2-氧戊酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
3-甲基己二酸酯	脂肪酸, 二羧酸
3-甲基巴豆酰甘氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
3-甲基谷氨酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
3-甲基组氨酸	组氨酸代谢
3-苯基丙酸酯(氢肉桂酸酯)	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
3-脲基丙酸酯	嘧啶代谢, 含尿嘧啶
4-乙酰氨基丁酸酯	多胺代谢
4-胍基丁酸酯	胍基和乙酰胺基代谢
4-羟基马尿酸酯	苯甲酸酯代谢
4-羟基苯乙酸酯	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
4-羟基苯基丙酮酸酯	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
4-甲基-2-氧戊酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
4-辛烯二酸酯	脂肪酸, 二羧酸
4-苯基丁酸酯	药物
4-脲基丁酸酯	嘧啶代谢, 含尿嘧啶
5,6-二氢尿嘧啶	嘧啶代谢, 含尿嘧啶
5-HETE	类二十烷酸
5-羟基己酸酯	脂肪酸, 单羟基
5-甲基硫代腺苷(MTA)	多胺代谢
5-氧脯氨酸	谷胱甘肽代谢
7-甲基鸟苷	嘌呤代谢, 含鸟嘌呤
9,10-DiHOME	脂肪酸, 二羟基
乙酰肉碱(C2)	脂肪酸代谢(酰基肉碱)
腺嘌呤	嘌呤代谢, 含腺嘌呤
腺苷	嘌呤代谢, 含腺嘌呤
腺苷 5'-一磷酸酯(AMP)	嘌呤代谢, 含腺嘌呤
腺苷-5-二磷酸核糖(ADP-核糖)	嘌呤代谢, 含腺嘌呤
己二酸	脂肪酸, 二羧酸
丙氨酸	丙氨酸和天冬氨酸代谢
尿囊素	嘌呤代谢, 含(低)黄嘌呤/肌苷
别-异亮氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
α -羟基异己酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
α -羟基异戊酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
α -酮戊二酸酯	TCA 循环
α -生育酚	生育酚代谢
雄甾醇硫酸酯	类固醇
鹅肌肽	二肽衍生物
阿拉伯糖醇/木糖醇	戊糖代谢
阿拉伯糖/木糖酸	戊糖代谢
花生四烯酸酯(20:4n6)	多不饱和脂肪酸(n3和n6)
精氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
精氨酸琥珀酸酯	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢

[0079]

抗坏血酸酯 (维生素 C)	抗坏血酸酯和藻酸酯代谢
天冬酰胺	丙氨酸和天冬氨酸代谢
天冬氨酸	丙氨酸和天冬氨酸代谢
壬二酸酯 (壬二酸酯; C9)	脂肪酸, 二羧酸
苯甲酸酯	苯甲酸酯代谢
β -羟基异戊酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
β -羟基异戊酰基肉碱	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
胆红素	血红蛋白和卟啉代谢
胆绿素	血红蛋白和卟啉代谢
生物素	生物素代谢
丁酰肉碱 (C4)	脂肪酸代谢 (也称为 BCAA 代谢)
癸酸酯(10:0)	中链脂肪酸
己酸酯(6:0)	中链脂肪酸
辛酸酯(8:0)	中链脂肪酸
肉碱	肉碱代谢
肌肽	二肽衍生物
C-糖基色氨酸	色氨酸代谢
鹅去氧胆酸酯	初级胆汁酸代谢
胆酸酯	初级胆汁酸代谢
胆固醇	固醇
胆碱	磷脂代谢
顺式-4-癸烯酰肉碱(C10:1)	脂肪酸代谢 (酰基肉碱)
柠檬酸酯	TCA 循环
瓜氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
皮质酮	类固醇
皮质醇	类固醇
可的松	类固醇
肌酸	肌酸代谢
肌酐	肌酸代谢
半胱氨酸-甘氨酸, 氧化型	谷胱甘肽代谢
半胱氨酸	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM 和牛磺酸代谢
半胱氨酸-谷胱甘肽二硫化物	谷胱甘肽代谢
半胱氨酸-s-硫酸酯	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM 和牛磺酸代谢
胱氨酸	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM 和牛磺酸代谢
胞苷	嘧啶新陈代谢, 含胞嘧啶
癸酰基肉碱(C10)	脂肪酸代谢 (酰基肉碱)
脱氢异雄甾酮硫酸酯 (DHEA-S)	类固醇
脱氧肉碱	肉碱代谢
脱氧胆酸酯	次级胆汁酸代谢
二十二碳六烯酸酯 (DHA; 22: 6n3)	多不饱和脂肪酸 (n3 和 n6)
十二碳五烯酸酯 (n6 DPA; 22: 5n6)	多不饱和脂肪酸 (n3 和 n6)
十二碳二酸酯 (C12)	脂肪酸, 二羧酸
多巴胺	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
二十碳五烯酸酯 (EPA; 20: 5n3)	多不饱和脂肪酸 (n3 和 n6)

[0080]

表雄酮硫酸酯	类固醇
赤藓糖醇	食品成分/植物
乙基丙二酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
表雄酮葡萄糖苷酸	类固醇
果糖	果糖、甘露糖和半乳糖代谢
富马酸	TCA 循环
γ -氨基丁酸酯 (GABA)	谷氨酸代谢
γ -谷氨酰亮氨酸	γ -谷氨酰氨基酸
γ -谷氨酰甲硫氨酸	γ -谷氨酰氨基酸
γ -谷氨酰苯丙氨酸	γ -谷氨酰氨基酸
γ -谷氨酰缬氨酸	γ -谷氨酰氨基酸
葡萄糖	糖酵解、糖异生和丙酮酸代谢
谷氨酸	谷氨酸代谢
谷氨酰胺	谷氨酸代谢
戊二酸酯 (戊二酸盐)	赖氨酸代谢
谷氨酰肉碱 (C5)	赖氨酸代谢
甘油酸酯	糖酵解、糖异生和丙酮酸代谢
甘油	甘油酯代谢
甘油磷酸酯胆碱 (GPC)	磷脂代谢
甘氨酸	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢
甘氨酸脱氧胆酸酯	初级胆汁酸代谢
甘氨酸胆酸酯	初级胆汁酸代谢
甘氨酸脱氧胆酸酯	次级胆汁酸代谢
甘氨酸猪胆酸酯	次级胆汁酸代谢
甘氨酸石胆酸酯	次级胆汁酸代谢
甘氨酸熊脱氧胆酸酯	次级胆汁酸代谢
胍基乙酸酯	肌酸代谢
胍基琥珀酸酯	胍基和乙酰胺基代谢
鸟苷	嘌呤代谢, 含鸟嘌呤
血红蛋白	血红蛋白和卟啉代谢
庚酸酯 (7:0)	中链脂肪酸
庚酰基甘氨酸	脂肪酸代谢 (酰基甘氨酸)
十六烷二酸酯 (C16)	脂肪酸, 二羧酸
己酰基肉碱 (C6)	脂肪酸代谢 (酰基肉碱)
己酰甘氨酸 (C6)	脂肪酸代谢 (酰基甘氨酸)
马尿酸酯	苯甲酸酯代谢
组氨酸	组氨酸代谢
高精氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
高瓜氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
次黄嘌呤	嘌呤代谢, 含 (低) 黄嘌呤/肌苷
吲哚乙酸酯	色氨酸代谢
吲哚乙酰基谷氨酰胺	色氨酸代谢
吲哚乳酸酯	色氨酸代谢
吲哚丙酸酯	色氨酸代谢

[0081]

肌苷	嘌呤代谢, 含(低)黄嘌呤/肌苷
异丁酰肉碱(C4)	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
异丁酰甘氨酸(C4)	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
异亮氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
异戊酸酯(C5)	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
异戊酰基肉碱(C5)	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
异戊酰甘氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
犬尿酸酯	色氨酸代谢
犬尿酸	色氨酸代谢
乳酸酯	糖酵解、糖异生和丙酮酸代谢
月桂基肉碱(C12)	脂肪酸代谢(酰基肉碱)
亮氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
亚油酸酯(18:2n6)	多不饱和脂肪酸(n3和n6)
亚油酸酯(18:3n3或3n6)	多不饱和脂肪酸(n3和n6)
赖氨酸	赖氨酸代谢
苹果酸酯	TCA循环
甘露糖	果糖、甘露糖和半乳糖代谢
甲硫氨酸	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM和牛磺酸代谢
甲硫氨酸砒	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM和牛磺酸代谢
甲硫氨酸亚砒	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM和牛磺酸代谢
甲基-4-羟基苯甲酸酯	苯甲酸酯代谢
甲基丙二酸酯(MMA)	脂肪酸代谢(也称为BCAA代谢)
甲基琥珀酸酯	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
肌醇	肌醇代谢
豆蔻酸酯(14:1n5)	长链脂肪酸
肉豆蔻酰肉碱(C14)	脂肪酸代谢(酰基肉碱)
N1-甲基腺苷	嘌呤代谢, 含腺嘌呤
N2,N2-二甲基鸟苷	嘌呤代谢, 含鸟嘌呤
N2-乙酰赖氨酸	赖氨酸代谢
N2-甲基鸟苷	嘌呤代谢, 含鸟嘌呤
N6-乙酰赖氨酸	赖氨酸代谢
N6,N6,N6-三甲基赖氨酸	赖氨酸代谢
N6-琥珀酰腺苷	嘌呤代谢, 含腺嘌呤
N-乙酰丙氨酸	丙氨酸和天冬氨酸代谢
N-乙酰精氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
N-乙酰甘氨酸	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢
N-乙酰亮氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
N-乙酰神经氨酸	氨基糖代谢
N-乙酰苯丙氨酸	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
N-乙酰丝氨酸	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢
N-乙酰苏氨酸	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢
N-乙酰酪氨酸	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
N-氨基甲酰天冬氨酸	嘧啶代谢, 含卵氨酸
N-甲酰基甲硫氨酸	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM和牛磺酸代谢

[0082]

烟酰胺	烟酸酯和烟酰胺代谢
N-辛酰基甘氨酸	脂肪酸代谢 (酰基甘氨酸)
十八烷二酸酯(C18)	脂肪酸, 二羧酸
辛酰基肉碱(C8)	脂肪酸代谢 (酰基肉碱)
油酸酯/疏松酸酯(18:1)	长链脂肪酸
油酰基肉碱(18:1)	脂肪酸代谢 (酰基肉碱)
鸟氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
乳清酸酯	嘧啶代谢, 含卵酸酯
棕榈油酸酯(16:1n7)	长链脂肪酸
棕榈酰肉碱	脂肪酸代谢 (酰基肉碱)
棕榈酰鞘磷脂(d18:1/16:0)	鞘脂代谢
壬酸酯(9:0)	中链脂肪酸
苯乙酸酯	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
苯乙酰谷氨酰胺	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
苯乙酰甘氨酸	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
苯丙氨酸	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
苯丙氨酰苯丙氨酸	二肽
苯乳酸酯 (PLA)	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
苯丙酰甘氨酸	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
苯丙酮酸酯	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
孕二醇-3-葡萄糖苷酸	类固醇
孕烯醇酮硫酸酯	类固醇
pro-羟-pro	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
脯氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
丙酰肉碱(C3)	脂肪酸代谢 (也称为 BCAA 代谢)
丙酰甘氨酸(C3)	脂肪酸代谢 (也称为 BCAA 代谢)
伪尿苷	嘧啶代谢, 含尿嘧啶
吡哆酸酯	维生素 B6 代谢
喹啉酸酯	烟酸酯和烟酰胺代谢
视黄醇 (维生素 A)	维生素 A 代谢
核糖	戊糖代谢
S-腺苷高半胱氨酸(SAH)	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM 和牛磺酸代谢
癸二酸酯 (癸二酸盐)	脂肪酸, 二羧酸
丝氨酸	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢
血清素	色氨酸代谢
硬脂酰肉碱 (C18)	脂肪酸代谢 (酰基肉碱)
辛二酸酯 (辛二酸盐)	脂肪酸, 二羧酸
琥珀酸酯	TCA 循环
琥珀酰亚胺	化学品
琥珀酰肉碱 (C4)	TCA 循环
牛磺酸	甲硫氨酸、半胱氨酸、SAM 和牛磺酸代谢
牛磺鹅脱氧胆酸酯	初级胆汁酸代谢
牛磺胆酸酯	初级胆汁酸代谢
牛磺脱氧胆酸酯	次级胆汁酸代谢

[0083]	牛磺石胆酸 3-硫酸酯	次级胆汁酸代谢
	十四碳二酸酯 (C14)	脂肪酸, 二羧酸
	蔗糖酸酯	抗坏血酸酯和藻酸酯代谢
	苏氨酸	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢
	胸苷	嘧啶代谢, 含胸腺嘧啶
	胸腺嘧啶	嘧啶代谢, 含胸腺嘧啶
	甲状腺素	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
	巴豆酰甘氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
	巴豆酰肉碱 (C5)	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
	反式-4-羟脯氨酸	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
	反式尿酸酯	组氨酸代谢
	三甲胺 N-氧化物	磷脂代谢
	色氨酸	色氨酸代谢
	酪胺	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
	酪氨酸	苯丙氨酸和酪氨酸代谢
	尿嘧啶	嘧啶代谢, 含尿嘧啶
	尿酸酯	嘌呤代谢, 含(低)黄嘌呤/肌苷
	尿素	尿素循环; 精氨酸和脯氨酸代谢
	尿苷	嘧啶代谢, 含尿嘧啶
	熊脱氧胆酸酯	次级胆汁酸代谢
	戊酰苯丙氨酸	二肽
	缬氨酸	亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸代谢
	黄嘌呤	嘌呤代谢, 含(低)黄嘌呤/肌苷
	黄嘌呤核苷	嘌呤代谢, 含(低)黄嘌呤/肌苷

[0084] 进行了多项研究,以评估尿液和CSF样品中总共176种化合物的性能。在这些研究中,分析物的分析性能是根据上述传统的、目前接受的实践进行评估和验证的。表2列出了在CSF和尿液中进行首次分析时经过评估和完全分析验证的132种化合物的代表性列表。表2还包括与每种化合物相关的生化途径。

[0085] 表2:经过完全分析验证的生生物质和相关的生化途径(尿液和CSF)

生物学家族	生生物质
碳水化合物, 糖酵解	1, 5-脱水葡萄糖醇(1,5-AG)
核苷酸	2'-脱氧腺苷
[0086] 核苷酸, 嘌呤代谢	2'-脱氧肌苷
核苷酸	2'-脱氧鸟苷
氨基酸, 赖氨酸代谢	2-氨基己二酸酯
脂质, 脂肪酸	2-氨基庚酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	2-羟基-3-甲基戊酸酯

[0087]

脂质, 脂肪酸二羧酸酯	2-羟基戊二酸酯
氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	2-羟基苯乙酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	2-甲基丁酰肉碱 (C5)
能量 TCA 循环	2-甲基柠檬酸酯
异源性物质, 苯甲酸酯代谢	2-甲基马尿酸酯
脂质, 脂肪酸合成	2-甲基丙二酰肉碱
氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	2-戊酰胺-3-苯基丙酸
氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	3-(3-羟基苯基)丙酸酯
氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	3-(4-羟基苯基)乳酸酯
氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	3,4-二羟基苯乙酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	3-羟基-2-甲基丁酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	3-羟基-2-甲基丙酸酯
脂质, 酮体	3-羟基丁酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	3-羟基异丁酸酯
脂质, 单羟基脂肪酸	3-羟基丙酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	3-甲基-2-氧丁酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	3-甲基-2-氧戊酸酯
脂质, 二羧酸	3-甲基己二酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	3-甲基巴豆酰甘氨酸
核苷酸, 嘧啶代谢	3-脲基丙酸酯
尿素循环, 能量代谢	3-脲基丁酸酯
氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	4-羟基苯乙酸酯
氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	4-羟基苯基丙酮酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	4-甲基-2-氧戊酸酯
脂质, 二羧酸	4-辛烯二酸酯
异源性物质, 苯甲酸酯代谢	4-苯基丁酸酯
核苷酸, 嘧啶代谢	4-脲基丁酸酯
核苷酸, 嘧啶代谢	5,6-二氢尿嘧啶
脂质, 单羟基脂肪酸	5-羟基己酸酯
氨基酸, 多胺代谢	5-甲基硫代腺苷 (MTA)
核苷酸, 嘌呤代谢	7-甲基鸟苷
脂质, 酰基肉碱	乙酰肉碱
核苷酸, 嘌呤代谢	腺嘌呤
核苷酸, 嘌呤代谢	腺苷
脂质, 二羧酸	己二酸酯
核苷酸, 嘌呤代谢	尿囊素
氨基酸, BCAA 代谢	别-异亮氨酸
氨基酸, BCAA 代谢	α -羟基异己酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	α -羟基异戊酸酯
脂质, 多不饱和脂肪酸	花生四烯酸酯 (20:4n6)
氨基酸, 尿素循环	精氨酸
氨基酸, 尿素循环	精氨酸琥珀酸酯
氨基酸, 丙氨酸和天冬氨酸代谢	天冬酰胺
氨基酸, 丙氨酸和天冬氨酸代谢	天冬氨酸

异源性物质, 药物	苯甲酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	β -羟基异戊酸酯
维生素和辅因子	生物素
脂质, 肉碱	肉碱
氨基酸, 尿素循环	瓜氨酸
尿素循环, 能量代谢	肌酸
尿素循环, 能量代谢	肌酐
谷胱甘肽代谢	半胱氨酸-S-硫酸酯
核苷酸, 嘧啶代谢	胞苷
脂质, 酰基肉碱	癸酰基肉碱(C10)
脂质, 肉碱代谢	脱氧肉碱
氨基酸, BCAA 代谢	乙基丙二酸
肽, γ -谷氨酰基氨基酸	γ -谷氨酰基苯丙氨酸
氨基酸, 谷氨酸和谷氨酰胺代谢	谷氨酰胺
氨基酸, 赖氨酸代谢	戊二酸酯(戊二酸盐)
氨基酸, 赖氨酸代谢	谷氨酰肉碱(C5)
氨基酸, 尿素循环	胍基乙酸酯
氨基酸, 胍基代谢	胍基琥珀酸酯
核苷酸, 嘌呤代谢	鸟苷
脂质, 酰基甘氨酸	庚酰基甘氨酸
苯甲酸酯代谢	马尿酸酯
尿素循环	高瓜氨酸
核苷酸, 嘌呤代谢	次黄嘌呤
核苷酸, 嘌呤代谢	肌苷
氨基酸, BCAA 代谢	异丁酰肉碱
氨基酸, BCAA 代谢	异亮氨酸
氨基酸, BCAA 代谢	异戊酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	异戊酰肉碱
氨基酸, BCAA 代谢	异戊酰甘氨酸
碳水化合物, 糖酵解	乳酸酯
脂质, 酰基肉碱代谢	月桂肉碱
氨基酸, BCAA 代谢	亮氨酸
氨基酸, 赖氨酸代谢	赖氨酸
氨基酸, 硫代谢	甲硫氨酸
异源性物质, 苯甲酸酯代谢	甲基-4-羟基苯甲酸酯
脂质, 酰基肉碱代谢	甲基丙二酸酯
氨基酸, BCAA 代谢	甲基琥珀酸酯
脂质, 酰基肉碱	肉豆蔻酰基肉碱
核苷酸	N1-甲基腺苷
核苷酸, 嘌呤代谢	N2,N2-二甲基鸟苷
氨基酸, 赖氨酸代谢	N2-乙酰基赖氨酸
核苷酸, 嘌呤代谢	N2-甲基鸟苷
氨基酸, 赖氨酸代谢	N6-乙酰赖氨酸
核苷酸, 嘌呤代谢	N6-琥珀酰腺苷

[0088]

[0089]	氨基酸, 赖氨酸代谢	N6-三甲基赖氨酸
	氨基酸, 尿素循环	N-乙酰精氨酸
	氨基酸, BCAA 代谢	N-乙酰亮氨酸
	氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	N-乙酰苯丙氨酸
	核苷酸, 嘧啶代谢	N-氨基甲酰天冬氨酸
	脂质, 酰基肉碱	N-辛酰基甘氨酸 (C8 酯)
	脂质, 酰基肉碱代谢	辛酰基肉碱(C8)
	氨基酸, 尿素循环	鸟氨酸
	核苷酸, 嘧啶代谢	乳清酸酯
	脂质, 酰基肉碱	棕榈酰肉碱
	氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	苯乙酰谷氨酰胺
	氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	苯乙酰甘氨酸
	氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	苯丙氨酸
	氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	苯乳酸酯(PLA)
	氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	苯丙酰甘氨酸
	二肽	pro-羟-pro
	氨基酸, BCAA 代谢	丙酰甘氨酸
	氨基酸, BCAA 代谢	丙酰肉碱
	氨基酸, 硫代谢	S-腺苷高半胱氨酸(SAH)
	脂质, 二羧酸	癸二酸酯(C8)
	脂质, 二羧酸	辛二酸酯 (辛二酸盐)
	能量, TCA 循环	琥珀酸酯
	异源性物质, 化学品	琥珀酰亚胺
	能量, TCA 循环	琥珀酰肉碱
	核苷酸, 嘧啶	胸腺嘧啶
	氨基酸, BCAA 代谢	巴豆酰肉碱甘氨酸
	氨基酸, BCAA 代谢	巴豆酰肉碱
	氨基酸, 脯氨酸	反式-4-羟基脯氨酸
	胆碱代谢	三甲胺 N-氧化物
	氨基酸, 芳香族氨基酸代谢	酪氨酸
	核苷酸, 嘧啶	尿嘧啶
	核苷酸, 嘌呤代谢	尿酸酯
	氨基酸, 尿素循环	尿素
	核苷酸, 嘧啶代谢	尿苷
	氨基酸, BCAA 代谢	缬氨酸
	核苷酸, 嘌呤代谢	黄嘌呤
	核苷酸, 嘌呤代谢	黄嘌呤核苷

[0090] 此外,在多个平台上执行完全验证分析以确定平台间精度和评估在多个仪器系统上的验证的可重复性。平台间精度的接受标准基于计算的CV%。平台间精度(CV%)因代谢物而异,并且范围从低的2.7%到高的297%。但是,绝大多数代谢物的平台间精度小于40%(276种中有242种),其中大多数代谢物小于20%(276种中有234种)。

[0091] 表3汇总了示例性分析验证条件、针对每种条件执行的分析、接受标准以及表1和表2中列出的分析物获得的结果(通过/失败)。分析验证分析对血液(血浆、血清)、尿液和CSF样品进行以确定基体效应。

[0092] 表3.分析验证条件、执行的分析、接受标准和结果

[0093]

分析验证条件	执行的分析	接受标准	结果
精度(日内)	确定每个样品的变异系数(CV)%	所有 CV% ≤ 25%	通过
精度(日间)	确定所有天和每天的每个样品的 CV%	所有 CV% ≤ 25%	通过
校准标准品的线性	1. 将实际浓度针对预期浓度作图, 以查看结果是否线性; 确定 R ² 值 2. 计算系统误差(SE)%: [(实际-理论)/理论 x 100]	1. R ² ≥ 0.8 2. 在最低浓度点, SE% 应在 ± 20% 之内和在其他浓度下应在 ± 15% 之内	1. 通过 2. 通过
患者标本的线性	1. 将实际浓度针对预期浓度作图, 以查看结果是否线性; 确定 R ² 值 2. 计算 SE%	1. R ² ≥ 0.8 2. 在低和高 QC 水平之间的浓度下, SE% 应在 ± 20% 之内	1. 通过 2. 通过
检测限/定量限	1. 将确定每个样品的日内和日间 CV%。 2. 确定每个结果的信噪比。	1. LLOQ 上每个样品的 CV% 不得超过 25% 2. 信噪比必须为至少 3: 1	1. 通过 2. 通过
回收率	反算过量加标的 QC 样品中的原始分析物浓度并确定偏差百分比: [(水平 X-对照)/对照] x 100	计算的平均浓度应在 QC 对照中浓度的 ± 15% 之内	通过
干扰研究	1. 计算每个水平的偏差百分比 2. 将药物的治疗水	1. 偏差百分比不应超过 ± 15% 2. 偏差百分比不	1. 溶血-所有分析物通过 脂血-通过

[0094]

	<p>平加标到低和高 QC 中, 并评估相对于对照低和高 QC 的偏差百分比</p> <p>3. 比较每种基质管类型并计算差异百分比: $[(\text{类型 1} - \text{类型 2}) / \text{平均值}] \times 100$</p> <p>4. 通过提取已存储在不同管类型中的水和低 QC 和高 QC 样品, 检查在分析物的保留时间是否存在峰</p> <p>5. 用异构体加标空白样品, 并在分析物的保留时间处检查干扰。如果在与分析物相似的保留时间处存在干扰, 则以异构体的近似生物学水平加标低和高 QC 样品, 并验证 QC 的定量不受影响</p>	<p>应超过 $\pm 15\%$</p> <p>3. 差异百分比不应超过 $\pm 15\%$</p> <p>4. 提取水时, 在分析物峰洗脱的位置不存在 MS 峰。对于基质, 定量不应被影响超过 $\pm 15\%$。</p> <p>5. 在分析物峰洗脱的位置不存在 MS 峰。如果需要 QC 加标, 则 QC 中分析物定量的准确度不应被影响超过 $\pm 15\%$。</p>	<p>2. 通过</p> <p>3. 所有分析物通过</p> <p>4. 在分析物或内标的保留时间附近未检测到大于 LLOQ 的峰。偏差百分比对于基质中的所有分析物都是可接受的。</p> <p>5. 不存在任何异构体的干扰。无需 QC 加标。</p>
<p>样品稳定性测试</p>	<p>冻融稳定性: 在先前的验证中对冻融稳定性进行了测试, 发现多次冻融对这些验证中所测试的分析物的子集的影响是显著的。不建议对这些样品进行冻融。因此, 在此验证中未测试冻融。</p> <p>4℃/冰浴稳定性: 分析了在 4℃ 下储存 1、2、4 和 24 小时的两个血浆 QC 样品的一式三份样品。</p>	<p>每种样品稳定性测试方案的计算的差异百分比:</p> <p>$[(\text{时间点 X} - \text{时间点 0}) / (\text{时间点 0})] \times 100 = \text{差异百分比}$</p>	<p>通过</p> <p>通过</p>
<p>携流效应</p>	<p>在四个平台的每一个上对表 1 中列出的每</p>	<p>确定了 LOD/线性稀释系列、注射器空白</p>	<p>通过</p>

[0095]		种生物物质的携流效应进行评估,并将其作为生化标准品的线性和检测限分析部分的一部分进行分析(参见上文)。具体而言,对于每个运行,在线性系列稀释中,在最高标准曲线样品之后包括两个过程空白。第一个空白用作注射器携流效应样品,第二个空白用作柱携流效应空白。	和携流效应空白中具有最高浓度(即10,000 ng/mL)的加标化合物的样品的原始离子强度。通过将两个空白的离子强度相加并计算稀释系列中最高浓度的携流效应百分比来定义总携流效应百分比。 (过程空白中的分析物面积)/(稀释系列中最终复制样品中的分析物面积) × 100。	
--------	--	--	---	--

[0096] 实施例2:生化性能的简化评估

[0097] 在实施例1中描述的完全分析验证之后,进行了简化的分析验证分析以评估日间精度和日内精度。经过完全分析验证的化合物(表1和表2)的性能用于评估约4,000种生物物质的性能。使用两个分析验证条件:日内精度和日间精度评估约4000种生物物质的性能。基于每种生物物质的填充百分比(填充%)和CV计算日内和日间精度的性能值。填充%的日内精确的接受标准是基于一天中运行(本文称为运行日)的全部或大部分(例如70%或更多,优选80%或更多)技术复制样品中生物物质的检测。CV的日内精度的接受标准小于或等于30%的CV。填充%的日间精度的接受标准是基于多天运行的全部或大部分(例如70%或更多,优选80%或更多)重复样品中生物物质的检测。日间CV精度的接受标准被确定为等于或小于25%的CV。

[0098] 日内精度分析。对于日内精度分析,在十个独立的运行日中,对血浆、尿液和CSF中的每一种使用合并的参考样品的4个技术重复样品。

[0099] 生物物质的日间精度分析的接受标准是基于一天中运行的技术重复样品中生物物质的检测。确定一天中运行的所有4个(100%填充)技术重复样品中检测到的生物物质为满足日内精度的%填充接受标准。CV%也用于评估性能。确定为具有30%或更低的CV的生物物质被确定为满足CV%接受标准并具有日内精度的可接受的性能。

[0100] 如一般方法部分中所述的,评估通过LC-MS分析的血浆样品(N=40)中生物物质的日内精度。在一天内在100%的技术重复样品(即100%填充)中检测到670种独特的生物物质,并将其确定为满足填充%接受标准并具有日内精度的可接受的性能。这670种生物物质的平均CV%为10.1%,中位数为7.2%。

[0101] 使用样品子集,基于CV%和填充%接受标准评估生物物质的日内精度的性能。在该样品子集中,在一天内在100%的技术重复样品中检测到580种生物物质。在这580种分析物中,有166种已经过先前分析验证(表1),而有414种未经先前验证。在未经先前分析验证的414种中,有387种具有<30%的CV%。确定这387种生物物质满足可接受标准并具有日内精度的可接受的性能(100%填充,CV%<30),表明使用日内精度的所述简化的性能评估能够以简化高效的方式扩展血清和血浆中经过分析验证的分子的数量。

[0102] 例如,异戊酸酯在最初的完全评估中未经完全分析验证。在简化的评估中,血浆样品中的异戊酸酯的填充%为100%,并且CV%为0.9%至15%,平均值为5.1%,中位数为3.1%。通过使用这些性能指标,使用简化的评估方法确定异戊酸酯的分析验证是可接受的。在相同的样品中,异戊酰肉碱(一种与异戊酸生化相关的分子并且先前已使用全套条件进行了完全分析验证)的填充%为100%,并且CV为3%至14.4%,平均值为7.5%,中位数为7.1%。

[0103] 在评估的所有或大部分样品(填充%)中检测到的其他示例性生化物质包括:1) Pipecolate具有0.9%至11.7%的CV%,平均值为6%,中位数为5.9%,2) 完全分析验证了与酪氨酸代谢相关的4种分子,并在日内精度分析中检测到在简化分析中评估的10种相关分析物,并且所有10种均显示出低的CV;3) 与尿素循环;精氨酸和脯氨酸代谢相关——在完全分析中评估和验证了8种分子,并且在简化的分析中检测到其他4种分子,并且所有4种分子均显示出低的CV;4) 与碳水化合物代谢相关——使用完全评估验证了4个亚家族中的9种分子;使用简化的分析验证了另外10种分子。

[0104] 如上文一般方法部分所述,确定通过LC-MS分析的尿液样品(N=40)中生化物质的日内精度。在一天内在100%的技术重复样品(即100%填充)中检测到的568种独特的生化物质被确定为具有日内精度的可接受的性能。这568种生化物质的平均CV%为8.1%,中位数为5.9%。

[0105] 使用样品子集,基于CV%和填充%接受标准评估生化物质的日内精度的性能。在该样品子集中,在一天内在100%的技术重复样品中检测到442种生化物质。在这442种分析物中,有138种使用实施例1中所述的完全分析方法进行了验证,而有304种生化物质未经先前验证。在未经先前分析验证的304种中,有296种具有<30%的CV%。确定这296种生化物质满足填充%和CV%的接受标准并且具有日内精度的可接受的性能,表明使用日内精度的所述简化的性能评估能够用于以简化高效的方式扩展尿液中经过分析验证的分子的数量。

[0106] 例如,在先前的完全分析验证研究中未评估二氢生物蝶呤。其在所有样品(100%填充)中检测到,并且尿液样品中二氢生物蝶呤的CV%为2.2%至20.8%,平均值为7.9%,中位数为7.1%。通过使用这些性能指标,使用简化的评估方法确定二氢生物蝶呤满足接受标准并且对于分析验证是可接受的。在相同的样品中,葡萄糖(与二氢生物蝶呤生化相关并且先前已使用全套条件进行了验证的分子)的CV范围为2.2%至14.7%,平均值为6.3%,中位数为4.7%。

[0107] 其他实例包括:1) 谷氨酸代谢亚家族:使用完全评估对谷氨酰胺和2-吡咯烷酮进行了验证。生化相关的分子N-乙酰谷氨酰胺、焦谷氨酰胺、谷氨酸、 γ -羧基谷氨酸、N-乙酰-天冬氨酰胺-谷氨酸(NAAG)、羧乙基-GABA、N-乙酰谷氨酸、N-甲基-GABA和4-羟基谷氨酸也在样品中进行测量,并且在使用简化方法评估时,全部具有<30%的CV;2) 具有扩大的生化覆盖范围的另一个超家族是脂质超家族,其包括几个亚家族,例如初级和次级胆汁酸、二羧酸和核苷酸超家族。

[0108] 如上文一般方法部分中所述,确定通过LC-MS分析的CSF样品(N=40)中生化物质的日内精度。在一天内在100%的技术重复样品中检测到的总共346种独特的生化物质被确定为满足接受标准并具有日内精度的可接受的性能。这346种生化物质的平均CV%为11.8%,中位数为8.6%。

[0109] 使用样品子集,评估了生物物质的日内精度。在该样品子集中,在一天内在100%的技术重复样品中检测到286种生物物质。在这286种分析物中,有94种经过了完全分析验证,而有192种未在完全评估中进行验证。在未完全验证的192种中,有182种具有<30%的CV%。确定这182种生物物质满足填充%和CV%的接受标准并且具有日内精度的可接受的性能,表明使用日内精度的所述简化的性能评估能够用于以简化高效的方式扩展CSF中经过分析验证的分子的数量。

[0110] 例如,在完全的分析验证研究中未评估乙酰肉碱。其在所有样品中检测到,并且CSF样品中乙酰肉碱的CV%为2.1%至25.8%,平均值为13%,中位数为10.5%。通过使用这些性能指标,使用简化的评估方法确定乙酰肉碱满足接受标准并且对于分析验证是可接受的。在相同的样品中,谷氨酰胺(与乙酰肉碱生化相关并且先前已使用全套条件进行了验证的分子)的CV范围为2%至7.8%,平均值为5.3%,中位数为5.5%。

[0111] 使用简化的验证方法评估和分析验证的代谢物的其他实例包括:1) 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢亚家族中的生物物质:甜菜碱、二甲基甘氨酸、甘氨酸、N-乙酰基甘氨酸、N-乙酰基丝氨酸、N-乙酰基苏氨酸、丝氨酸和苏氨酸;2) 酪氨酸代谢亚家族中的生物物质:3-(4-羟苯基)乳酸酯、3-甲氧基酪胺硫酸盐、3-甲氧基酪氨酸、多巴胺3-O-硫酸盐、高香草酸(HVA)、硫酸苯酚和酪氨酸。酪氨酸和3-(4-羟苯基)乳酸酯在完全分析中进行了评估并通过了完全分析验证研究。

[0112] 日间精度分析。对于日间精度分析,在两次独立的分析中分析了30个血浆样品、44个尿液样品和32个CSF样品。

[0113] 生物物质日间精度分析的接受标准是基于在十五个样品运行日中在技术重复样品中生物物质的检测。确定在所有15个样品工作日中在至少80%的技术重复样品(即80%填充)中检测到的生物物质满足填充%接受标准并具有日间精度的可接受的性能。还使用基于CV%的替代接受标准。确定为具有小于25%的CV的生物物质被确定为满足CV%接受标准并具有日间精度的可接受的性能。

[0114] 如上文一般方法部分中所述,评估通过LC-MS分析的血浆样品中生物物质的日间精度。在一个实例中,通过使用30个血浆样品,523种生物物质满足在多日内分析的至少80%的样品中被检测到的填充%接受标准。使用CV进一步评估了所有这些生物物质的日间精度的性能。在这个实例中,523种生物物质中有443种具有小于25%的CV并被确定为满足CV%接受标准,并且对于日间精度具有可接受的性能;443种中有163种代表经过完全分析验证的分子(表1)。使用所描述的简化性能评估方法,有280种未经过完全验证的生物物质被确定为满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能。

[0115] 在另一个实例中,使用一组独立的30个血浆样品,507种生物物质满足在多日内分析的至少80%的样品中被检测到的填充%标准。使用CV进一步评估了所有这些生物物质的日间精度的性能。在这个实例中,507种生物物质中有410种具有小于25%的CV,并被确定为满足CV%接受标准并具有日间精度的可接受的性能;410种中有的148种代表经过完全分析验证的分子(表1)。使用所描述的简化性能评估方法,有262种未经完全验证的生物物质被确定为满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能。

[0116] 如上文一般方法部分中所述,评估通过LC-MS分析的尿液样品中生物物质的日间精度。在一个实例中,通过使用44个尿液样品,457种生物物质满足在多日内分析的至少

80%的样品中被检测到的填充%接受标准。使用CV进一步评估了所有这些生物物质的日间精度的性能。在这个实例中,457种生物物质中有408种具有小于25%的CV,并被确定为满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能;408种中有162种代表经过完全分析验证的分子。使用所描述的简化性能评估方法,有246种未经完全验证的生物物质被确定满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能。

[0117] 在另一个实例中,使用一组独立的44个尿液样品,445种生物物质满足在多日内分析的至少80%的样品中被检测到的填充%标准。使用CV进一步评估了所有这些生物物质的日间精度的性能。在这个实例中,445种生物物质中有370种具有小于25%的CV,并被确定为满足CV%接受标准并具有日间精度的可接受的性能;370种中有147种代表经过完全分析验证的分子。使用所描述的简化性能评估方法,有223种未经完全验证的生物物质被确定满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能。

[0118] 如上文一般方法部分中所述,确定通过LC-MS分析的CSF样品中生物物质的日间精度。在一个实例中,通过使用32个CSF样品,在多日内分析的至少80%的样品中检测到的生物物质中,有212种生物物质具有小于25%的CV。确定这些生物物质满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能;86种代表经过完全分析验证的分子。使用所描述的简化性能评估方法,有126种未经完全验证的生物物质被确定满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能。

[0119] 在另一个实例中,使用一组独立的32个CSF样品,在多日内分析的至少80%的样品中检测到的生物物质中,有210种生物物质具有小于25%的CV。确定这些生物物质满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能;85种代表经过完全分析验证的分子。使用所描述的简化性能评估方法,有125种未完全验证的生物物质被确定满足接受标准并具有日间精度的可接受的性能。

[0120] 平台间精度。使用两个合并的人EDTA血浆样品(分别称为测试样品1(T1)和测试样品2(T2))来评估精度。通过合并上述六(6)个不同的EDTA血浆样品来创建每个测试样品(即,合并六个健康成人血浆样品以产生测试样品1,合并不同于用于产生测试样品1的六个健康成人血浆样品以产生测试样品2)。某些代谢物(称为稀有代谢物)仅在患病的患者样品中可见,而在健康个体的样品中不可见。由于测试样品1和2中不存在这些稀有代谢物,因此将它们加标到这些合并的样品中以在平台上评估性能。这两个测试样品在所有四个平台(Q、R、S和T)上运行,在5天内各进行了5次重复。

[0121] 为了确定平台间(仪器系统之间)的精度,包括了从健康志愿者收集的血浆样品的嵌入式库(即标准化基质),并用于在五天(第1-5天)中标准化测试样品。与每个样品批次以及测试样品重复一起运行从26名健康成人志愿者(大约一半为女性,一半为男性)的血浆样品的等分试样获取的9个样品库。通过计算所有五天(即5次重复x 5天)内和在四个独立的仪器平台上每个重复样品的标准化原始强度值(即每种化合物的原始离子强度/嵌入式库样品中化合物的平均原始离子强度)的CV%来评估每种化合物的平台间精度。

[0122] 使用标准化的基质样品来计算平台R上206(T1)/207(T2)种化合物的技术重复样品的测定间精度,以确定测试样品1(T1)和测试样品2(T2)的平均CV%分别为8.7%和11.5%。此外,在所有五天内以及所有平台上测量的173(T1)/174(T2)种化合物的精度分别显示10.2%和11.5%的平均平台间CV。基于这些结果,确定代谢物满足接受标准并具有

可接受的性能。

专利名称(译)	使用非靶向质谱平台检测的生化物质的分析验证的简化方法		
公开(公告)号	CN111246942A	公开(公告)日	2020-06-05
申请号	CN201880065418.7	申请日	2018-10-04
[标]发明人	A肯尼迪		
发明人	A·肯尼迪		
IPC分类号	B01L3/00 G01N33/487 G01N33/53 G16B25/10 G16B40/00		
CPC分类号	G16B40/10 G16C20/20		
代理人(译)	张小勇		
优先权	62/570308 2017-10-10 US 62/596242 2017-12-08 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明描述了一种评估使用多分析物测定法测量的生化物质的分析性能的方法。该方法包括分析验证样品中第一生化物质的水平的测量值，其中第一生化物质先前已针对三个或更多个分析验证条件进行了分析验证；测量样品中第二生化物质的水平，其中第二生化物质与第一生化物质在结构或生化上相关；和比较第一生化物质的验证参数和第二生化物质的验证参数，以基于比较结果确定第二生化物质的性能是否是可接受的。

$$ME\% = \frac{(B-D)}{A} \times 100$$

A