
中华人民共和国国家计量技术规范
人血清中 C 肽测量参考方法(LC-MS/MS 法)
实验数据分析报告

全国临床医学计量技术委员会征求意见稿

目 录

1. 仪器	3
1.1 液相色谱串联质谱联用系统	3
1.2 色谱柱	3
1.3 天平	3
1.4 容量瓶	3
1.5 离心机	3
1.6 移液器	3
1.7 密度计	3
2. 试剂	3
3. 实验条件	4
3.1 质谱条件	4
3.2 液相条件	4
4. 方法性能评价	4
4.1 精密度	4
4.2 正确度	5
4.3 线性范围	5
4.4 灵敏度	5

1. 仪器

1.1 液相色谱串联质谱联用系统

Waters TQ-XS 三重四极杆质谱仪

1.2 色谱柱

XSelect Peptide CSH TM C18 色谱柱，规格为 2.1 mm×100 mm，粒径 2.5 μm。

1.3 天平

赛多利斯电子天平(分度 0.01 mg)。

1.4 容量瓶

品牌：BRAND，规格 50 mL, 100 mL, 200 mL 和 500 mL，A 级合格。

1.5 离心机

Thermo Biofuge Stratos 型高速离心机。

1.6 移液器

Eppendorf 移液器，100 μL、200 μL、1 mL。

1.7 密度计

数字手持式密度计，规格 PLD-135A，精度为±0.001g/cm³。

2. 试剂

表 1. 试剂列表

试剂名称	分子式	分子量	CAS 号
C 肽纯度有证标准物质	C ₁₂₉ H ₂₁₁ N ₃₅ O ₄₈	3020.29	59112-80-0
*D ₈ -Val ₂ - C 肽	C ₁₂₉ H ₁₉₅ N ₃₅ O ₄₈ D ₁₆	3036.29	//
甲酸	CH ₂ O ₂	46.03	64-18-6
乙腈	C ₂ H ₃ N	41.05	75-05-08
盐酸	HCl	36.46	7647-01-0
硼酸盐缓冲液	//	//	//
AQC	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O ₃	269.26	148757-94-2
PBS	//	//	//
Tween20	C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆	1227.54	9005-64-5
BSA	//	约 66.5 kDa	9048-46-8
硼酸盐缓冲液	//	//	//
硫酸铵	(NH ₄) ₂ SO ₄	132.14	7783-20-2
血清 C 肽有证标准物质	//	//	//

3. 实验条件

3.1 质谱条件

离子源筛选：ESI，负离子模式

离子对选择：母离子、子离子

相关仪器参数设置为：质谱脱溶剂气温度 500℃，脱溶剂气流速 1000 L/h，锥孔气流速 150 L/h；毛细管电压 3.0 kV，锥孔电压 30 V；碰撞气（Ar）流速 0.13 mL/min，碰撞能量 4 eV。

表 2 C 肽及其内标的测量离子对

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z
C 肽	1064.0	371.1
	1064.0	171.0
D 同位素标记的 C 肽	1068.3	371.1
	1068.3	171.0

3.2 液相条件

a) 色谱柱：极性官能团嵌入或端基封尾的 C₁₈ 色谱柱，填料为十八烷基键合硅胶；

b) 柱温：室温；

c) 流速：0.2 mL/min；

d) 进样量：10 μL；

e) 水相：1‰浓度的甲酸的水溶液；有机相：1‰浓度的甲酸的乙腈溶液。

液相色谱洗脱条件：0~5min，5% B；5~20min，5-65% B；20~21min，65-98% B；21~23min，95% B；23~25min，95-5% B。

4. 方法性能评价

对项目的精密度、正确度和线性范围、方法灵敏度进行了评估，各指标均符合要求，具体结果如下：

4.1 精密度

根据参考方法检测特点，精密度验证实验为：两个浓度水平的样本，每个浓度水平样本每批抽取 3 支进行检测，批内精密度是同一批的 3 个样本每个样本连续进样 3 次，共 9 个数据。批间精密度是重复批间实验连续检测 5 天，共 45 个数据。结果显示：各项目精密度均

小于 3%，符合实验室要求。

表 3 项目精密度数据

实测浓度 (ng/mL)	日内 RSD	日间 RSD	总 RSD
0.586	0.70%	3.70%	3.70%
11.6	1.40%	3.70%	4.00%

4.2 正确度

回收实验 选一个待测样品，然后在每份中加入已知浓度的内标物，加入内标浓度保持内标与标准物质的质量比为 1:1。按照 LC/MS/MS 的进样液处理以上样品，进样检测。低浓度加标（0.469 ng/mL）平均回收率 99.4%±4.1%；高浓度加标（9.60 ng/mL）平均回收率 103%±4%；整体回收率区间 99.4%~103%。

4.3 线性范围

a.使按照表 4 在 15 mL 离心管中分别加入不同体积的标准溶液工作液（WS）和相同体积的内标工作液（ISWS），使得两者的质量比（Mass ratio）为 0.25，0.43，1.0，2.33，4.0。

表 4 校准曲线配制表

质量比	0.25	0.43	1.0	2.33	4.0
WS/mL	0.2	0.3	0.5	0.7	0.8
ISWS/mL	0.8	0.7	0.5	0.3	0.2

- b.分别加入 200 μL 空白血清，涡旋混合 5 min，在室温下平衡 30 min。
- c.分别加入 40 μL 抗体偶联磁珠，涡旋 5 min 后，在振荡器上震荡混合 10 min。
- d.13000 g 离心 10 min。
- e.用移液器取上层清液，于 45℃条件下氮气吹干。
- f.用 500 μL 甲酸/水（1:999，v/v）复溶，涡旋混匀，震荡 10 min。
- g.将复溶的样品装入进样瓶，然后放入样品盘。

表 5 校准曲线线性

项目名称	检测范围，ng/mL	线性回归方程	R
C 肽	0.19~8.49	$y = 1.3961x - 0.0333$	0.9994

4.4 灵敏度

定量限 LOQ=0.003 ng（柱上进样量，S/N=10）重复 4 次，CV≤15.0%

计量规范编写组

2026 年 6 月 8 日

全国临床医学计量技术委员会征求意见稿