

オンライン固相誘導体化SPE-GC SGI-M100

メタボロミクス革命！

特許技術「固相誘導体化」で前処理15分の全自動分析を実現



2021年2月25日
株式会社アイステサイエンス

Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

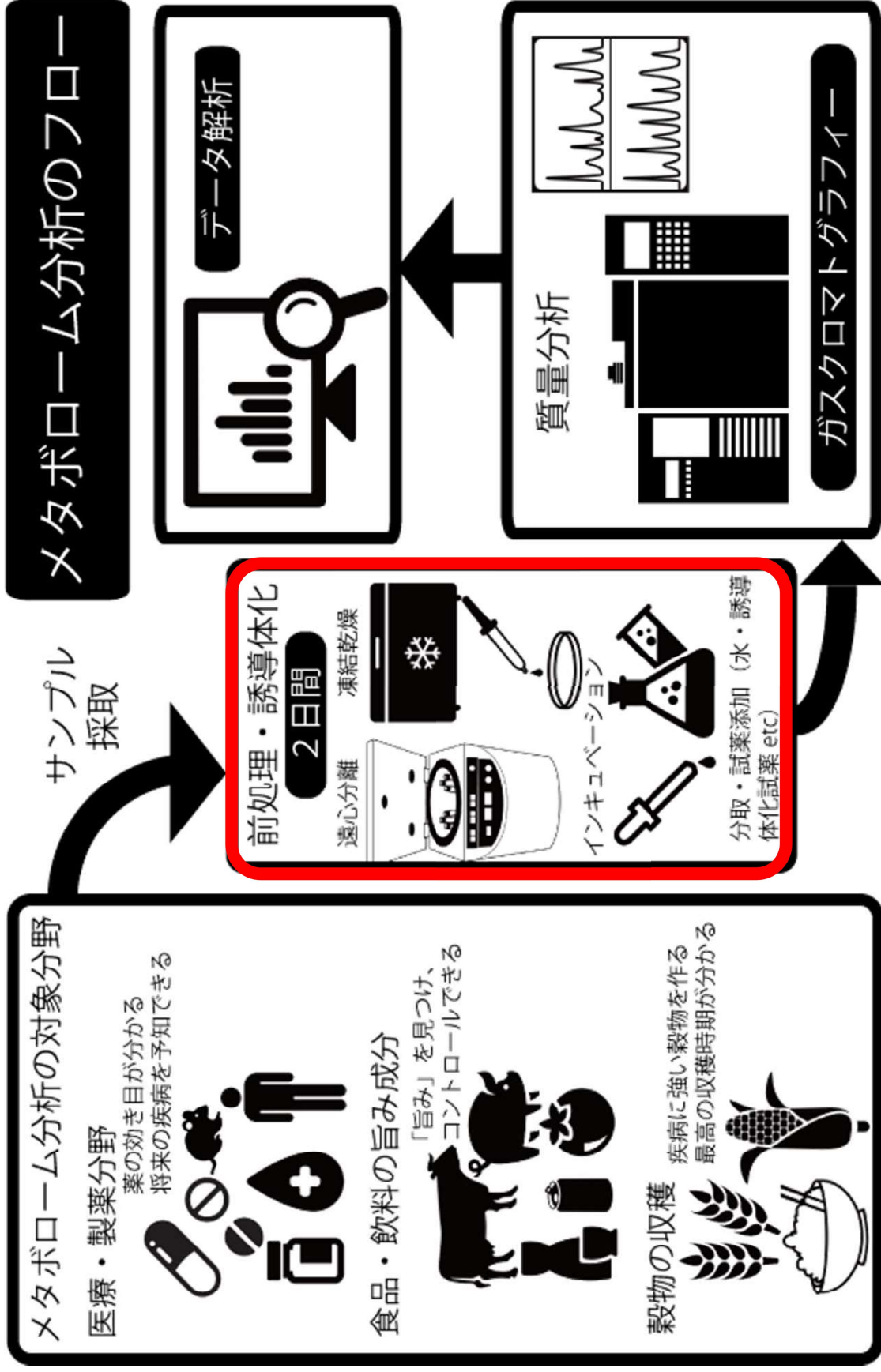
用語解説

○メタボロミクス：生物が生命維持のために活動する際に産出する様々な代謝物を包括的に検出し，その結果を分析するために使用される一連の技術を指します。

⇒メタボローム分析と同義語

○固相抽出：英語でSolid Phase Extraction (SPE) と言う。溶液や懸濁液に含まれる分析対象物とそれ以外の不純物とを分離する方法。分離する方法としては、固相担体を充填したカトリッジに溶液や懸濁液を通すことで目的物と不純物を分離します。

メタボロミクスの現状



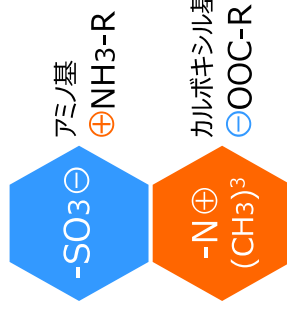
固相誘導体化法

STEP ①

試料負荷&保持

アミノ酸と有機酸をイオン交換相互作用により固相に保持

試料

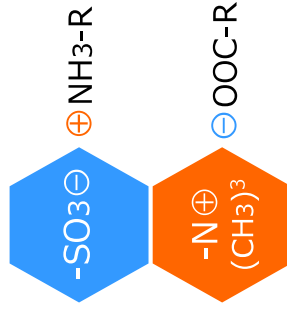


STEP ②

洗浄

水-ACNで固相に残存している非イオン性化合物を除去

水-ACN



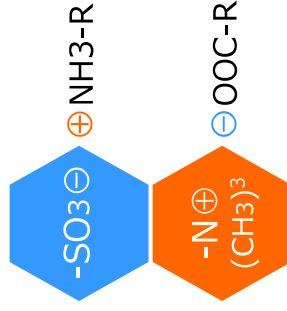
非イオン性化合物

STEP ③

脱水／1分

ACNで固相に残存している水分を除去

ACN



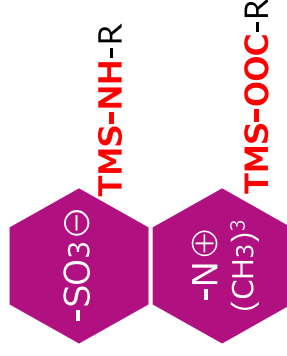
H₂O

STEP ④

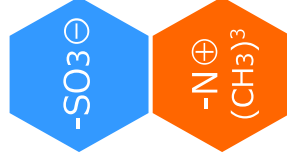
誘導体化／2分

誘導体化試薬を固相に含浸させて、目的成分を固相中で誘導体化

MSTFA



ヘキサン



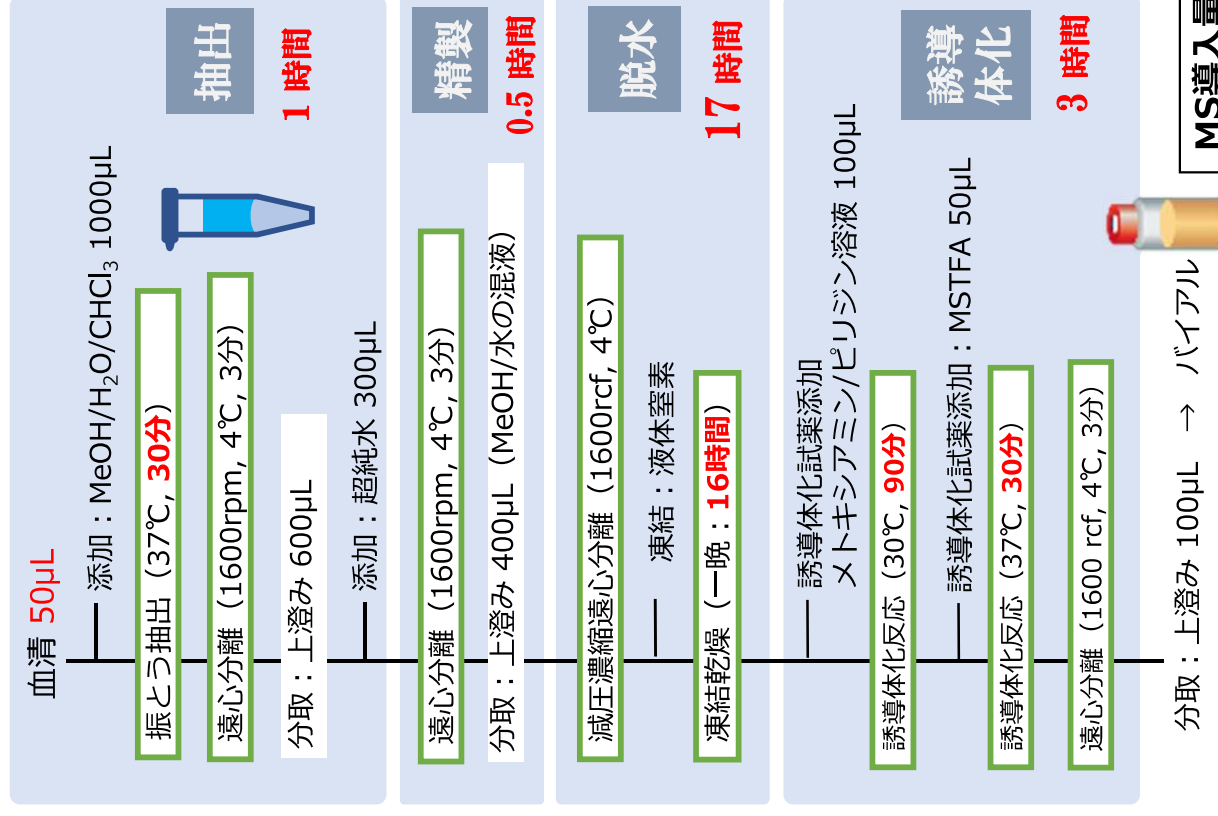
R-NH-TMS
R-COO-TMS

特許登録：(株) アイスティサイエンス

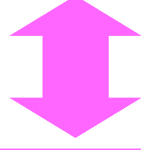
AiSTI SCIENCE

従来法と本法の前処理比較

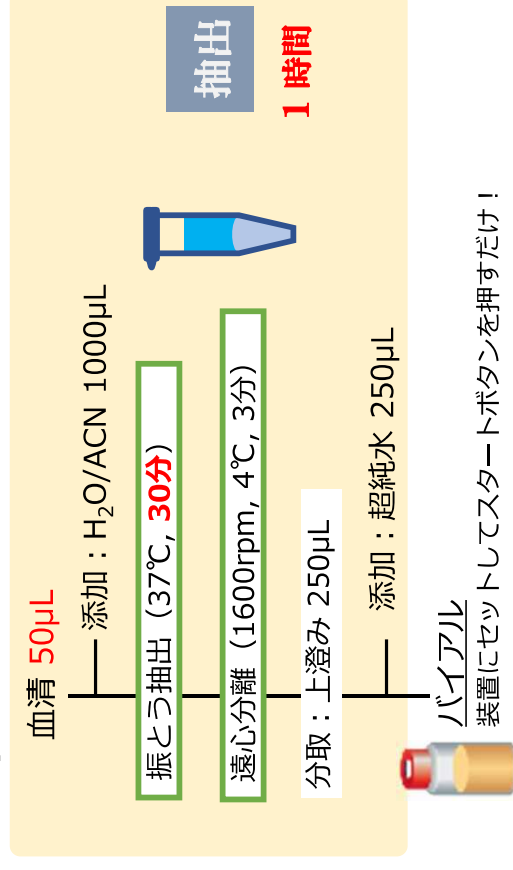
■ 従来法



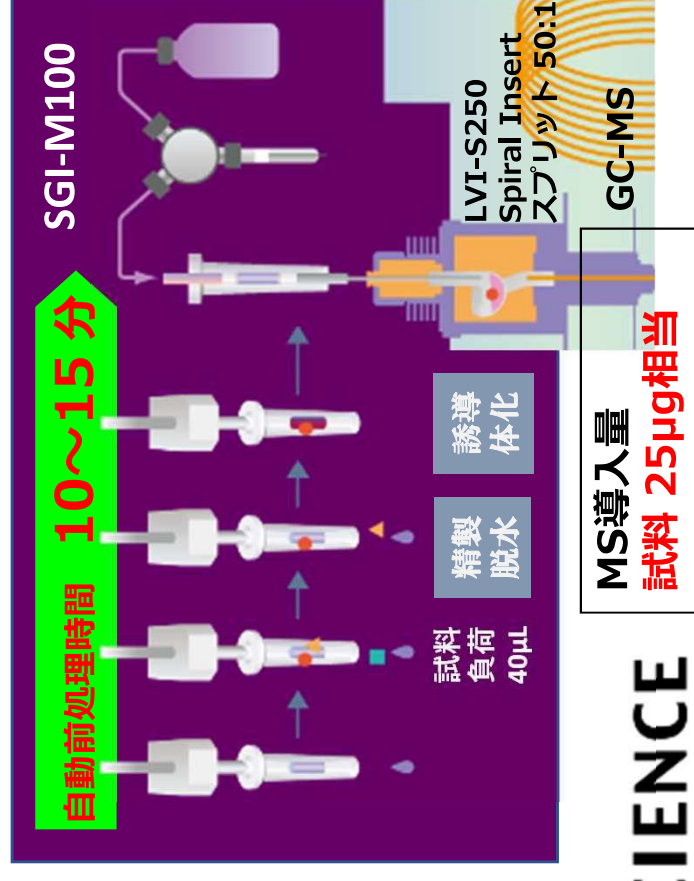
20 時間



■ 本法



オンライン固相誘導体化SPE-GC-MS

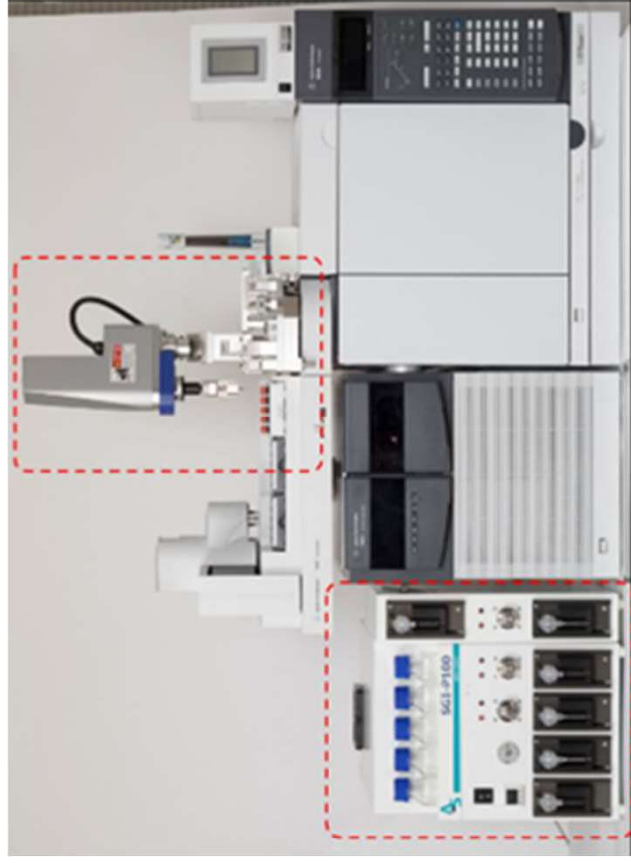


SCIENCE

オンライン固相誘導体化のメリット

- 脱水が簡単に短時間
- 誘導体化時間も短時間
- 誘導体化工程から測定まで**完全自動化**
- 誘導体化してから測定までが常に一定
- 従来法と比較して、高感度分析が可能
- トリグリセリドなどのGCMSを汚してしまうような脂質は固相抽出で精製することができる。
- 糖類を多く含む試料においては糖類を固相抽出で除去することができる。
- 固相で精製できるため、抽出工程を簡易化できる。

SPE-GC-MS system



SGI-M100とアジレント社製GCMS



SGI-M100と島津社製GCMS

前処理条件：アミノ酸・有機酸（マウス血清）

【抽出】

試料採取 50 μ L

— 添加 水 150 μ L

— 添加 アセトニトリル 800 μ L

振とう (37 $^{\circ}$ C, **30 min**)

遠心分離 14000 rpm, 3 min

分取 抽出上澄液 250 μ L

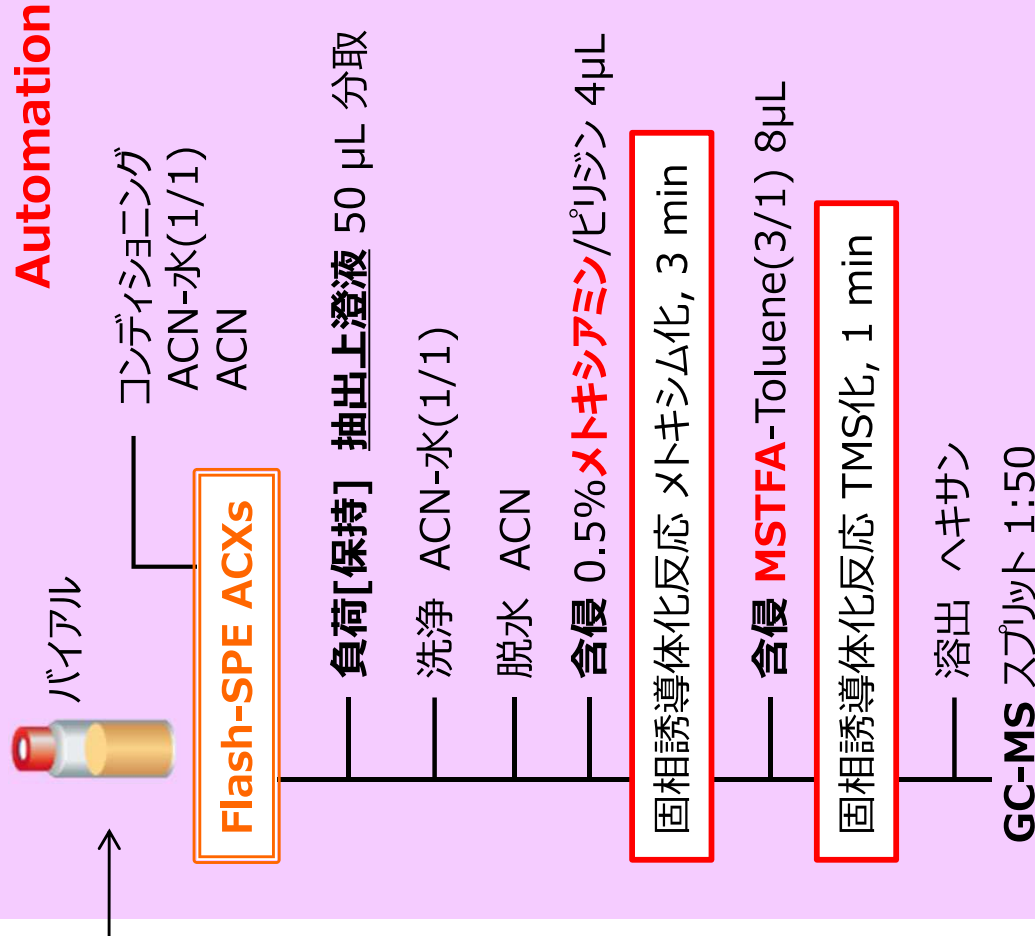
— 添加 水 250 μ L

— 添加 0.1N NaOH

抽出上澄液



【オンライン固相誘導体化法】



測定条件

SPE-GC Interface SGI-M100 (AiSTI Science)

SPE Cartridge Flash-ACX

Sampling Volume 50 μ L

PTV Injector LVI-S250 (AiSTI Science)

Insert Type Spiral Insert

Injector Temp. 220°C(0.5min)-50°C/min-290°C(16min)

GC

Inlet Mode Split 1:50

Flow Mode Constant Flow, 1 ml/min

Pre-Column 0.25mm i.d. x 1m

Column Vf-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25 μ m

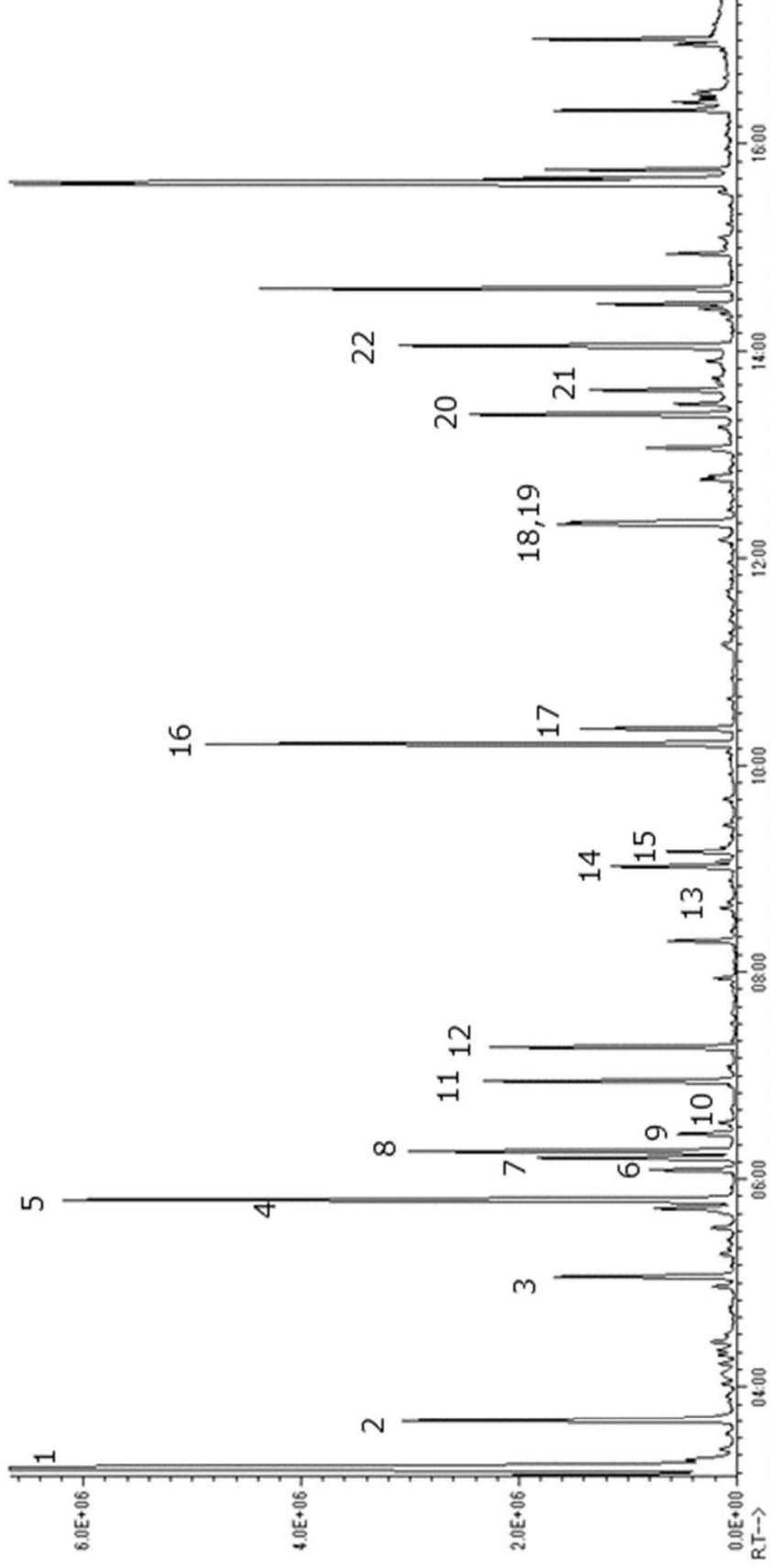
Oven Temp. 100°C(2min)-10°C/min-220°C-30°C/min-320°C(4.7min)

Trans. Line Temp. 290°C

MS

MS Method SCAN, m/z;70-470

マウス血清のSCANトータルイオンクロマトグラム



- ① Lactic acid-2TMS
- ② Alanine-2TMS
- ③ Valine-2TMS
- ④ Leucine-2TMS
- ⑤ Phosphoric acid-3TMS

- ⑥ Isoleucine-2TMS
- ⑦ Proline-2TMS
- ⑧ Glycine-3TMS
- ⑨ Succinic acid-2TMS
- ⑩ Glyceric acid-3TMS

- ⑪ Serine-3TMS
- ⑫ Threonine-3TMS
- ⑬ Malic acid-3TMS
- ⑭ Aspartic acid-3TMS
- ⑮ Pyroglutamic acid-2TMS

- ⑯ Glutamic acid-3TMS
- ⑰ Phenylalanine-2TMS
- ⑱ Ornithine-4TMS
- ⑲ Citric acid-4TMS
- ⑳ Lysine-4TMS

- ㉑ Tyrosine-3TMS
- ㉒ Gluconic acid-6TMS

本システムによるマウス血清の再現性

No.	成分名	U1	U2	U3	U4	U5	Ave.	RSD, %
1	Lactic acid-2TMS	14,649,682	15,089,600	13,841,394	15,639,698	14,808,578	14,805,790	4.4
2	Alanine-2TMS	5,118,252	4,719,988	4,790,287	5,126,762	5,101,869	4,971,432	4.0
6	Valine-2TMS	2,261,504	2,125,119	2,152,889	2,285,552	2,299,904	2,224,994	3.6
9	Leucine-2TMS	4,005,604	3,817,067	3,780,734	4,039,212	4,059,866	3,940,497	3.3
10	Isoleucine-2TMS	971,384	928,534	931,475	980,243	981,767	958,681	2.8
11	Proline-2TMS	3,078,401	2,818,958	2,910,867	3,100,657	3,131,659	3,008,108	4.5
12	Glycine-3TMS	3,243,322	2,973,200	3,083,005	3,312,366	3,351,687	3,192,716	5.0
14	Succinic acid-2TMS	609,722	610,940	585,493	627,168	603,713	607,407	2.5
15	Fumaric acid-2TMS	11,626	11,149	10,691	11,947	12,254	11,533	5.4
16	Serine-3TMS	1,466,003	1,327,848	1,366,049	1,533,536	1,562,951	1,451,277	7.1
17	Threonine-3TMS	497,778	441,900	461,299	506,740	513,163	484,176	6.4
18	Malic acid-3TMS	19,076	18,062	17,173	18,728	18,470	18,302	4.0
20	Aspartic acid-3TMS	745,837	821,214	711,854	825,260	818,549	784,543	6.7
21	Methionine-2TMS	71,255	66,983	76,059	92,889	80,950	77,627	12.9
22	4-Hydroxyproline-3TMS	54,583	47,943	51,238	58,569	61,333	54,733	9.9
23	GABA-3TMS	10,265	8,742	9,675	10,265	10,430	9,875	7.0
25	Threonic acid-4TMS	28,177	28,501	22,545	29,638	26,765	27,125	10.2
27	Glutamic acid-3TMS	3,365,311	3,486,693	3,156,198	3,603,886	3,575,843	3,437,586	5.3
28	Phenylalanine-2TMS	682,545	669,938	666,324	718,207	715,692	690,541	3.6
31	Putrescine-4TMS	9,970	9,716	9,256	8,922	9,694	9,512	4.4
33	Citric acid-4TMS	212,800	218,960	209,116	224,337	216,971	216,437	2.7
36	Lysine-4TMS	926,298	906,996	922,350	974,013	971,295	940,190	3.2
37	Histidine-3TMS	10,802	9,595	9,636	10,237	11,959	10,446	9.4
38	Tyrosine-3TMS	1,192,371	1,093,010	1,123,091	1,241,557	1,225,141	1,175,034	5.5
41	Tryptophan-3TMS	29,187	29,591	28,393	29,027	29,282	29,096	1.5
43	Cystine-4TMS	15,113	14,209	13,349	15,634	15,333	14,728	6.4