

GC/MS対象メタボローム分析のための 固相誘導体化法の開発

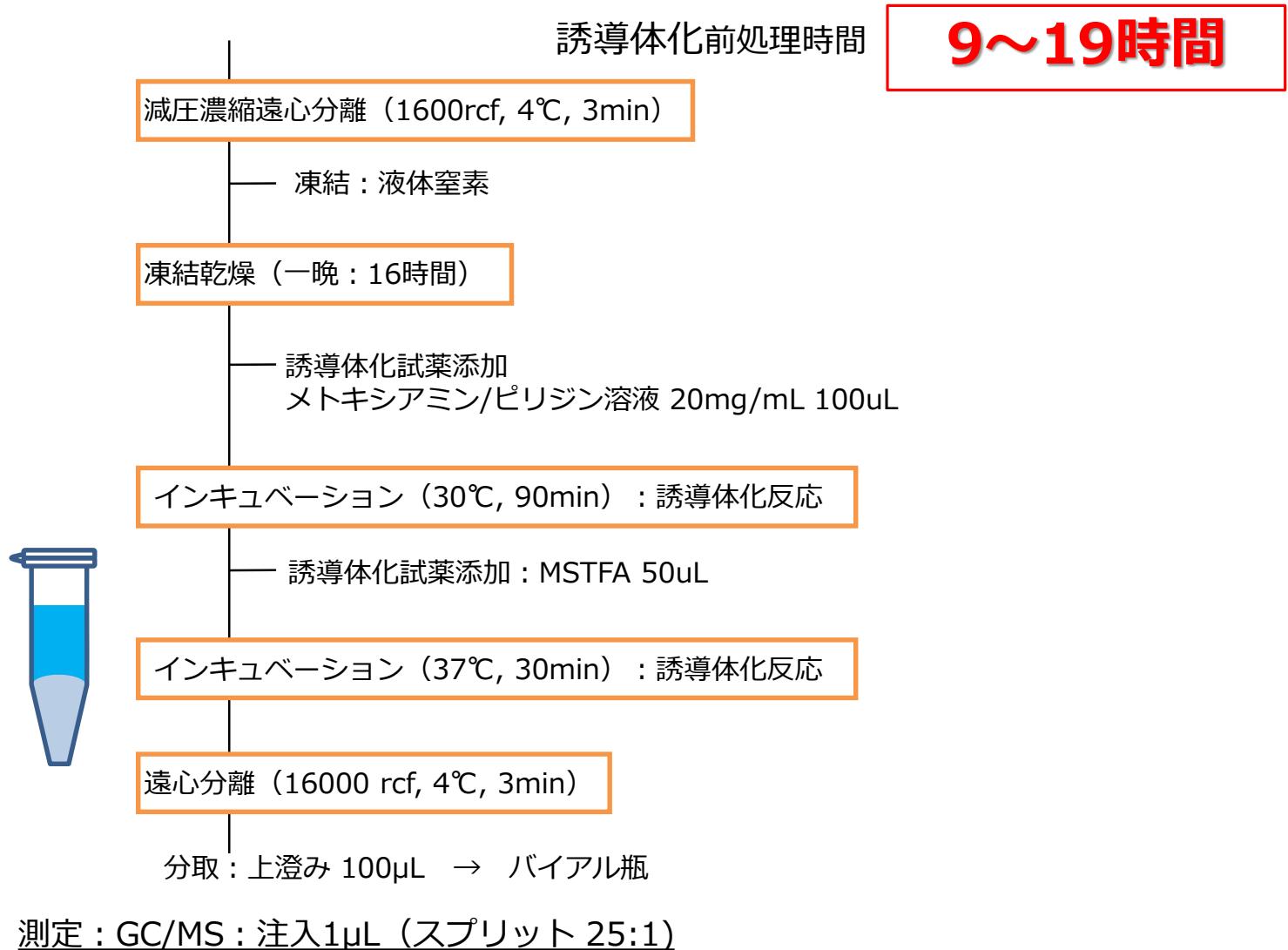


2015年7月1日
株式会社アイスティサイエンス
佐々野僚一

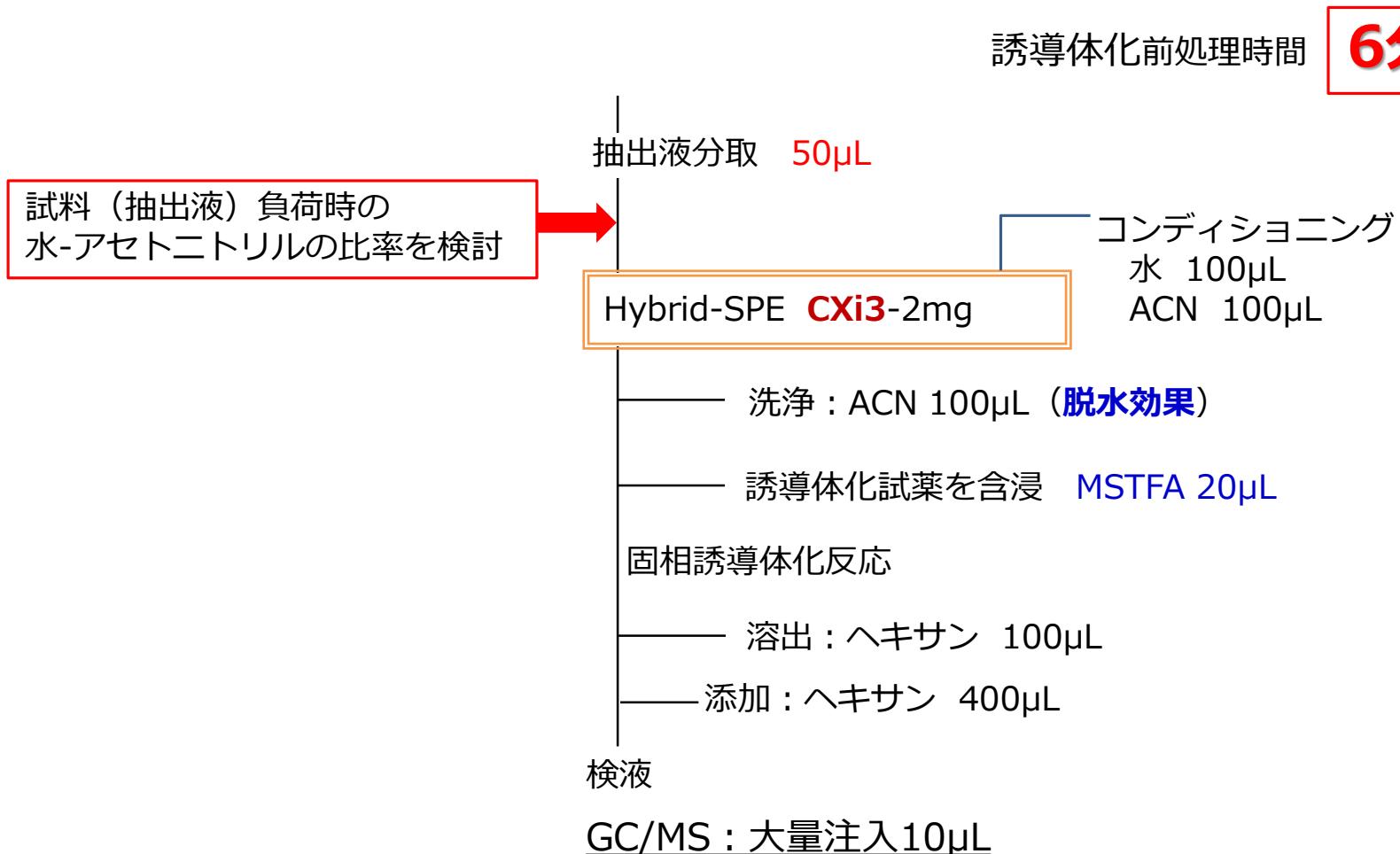
Beyond your Imagination

AISTI SCIENCE

従来の誘導体化前処理法



CX固相誘導体化前処理法（アミノ酸）

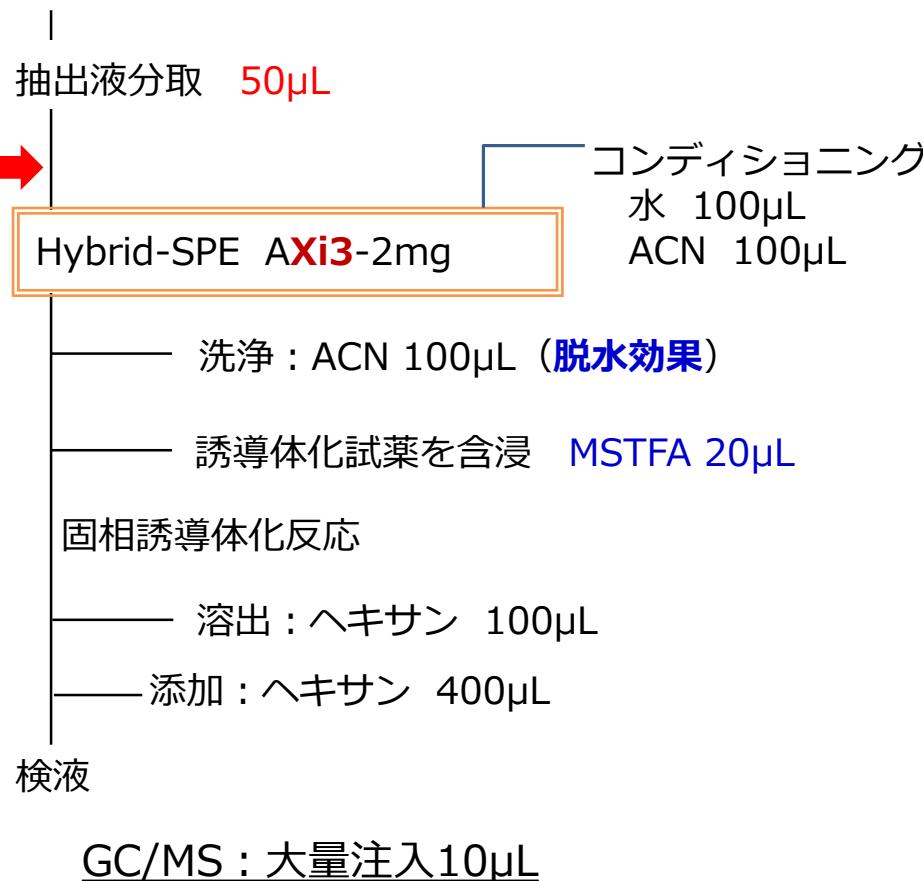


AX固相誘導体化前処理法（有機酸）

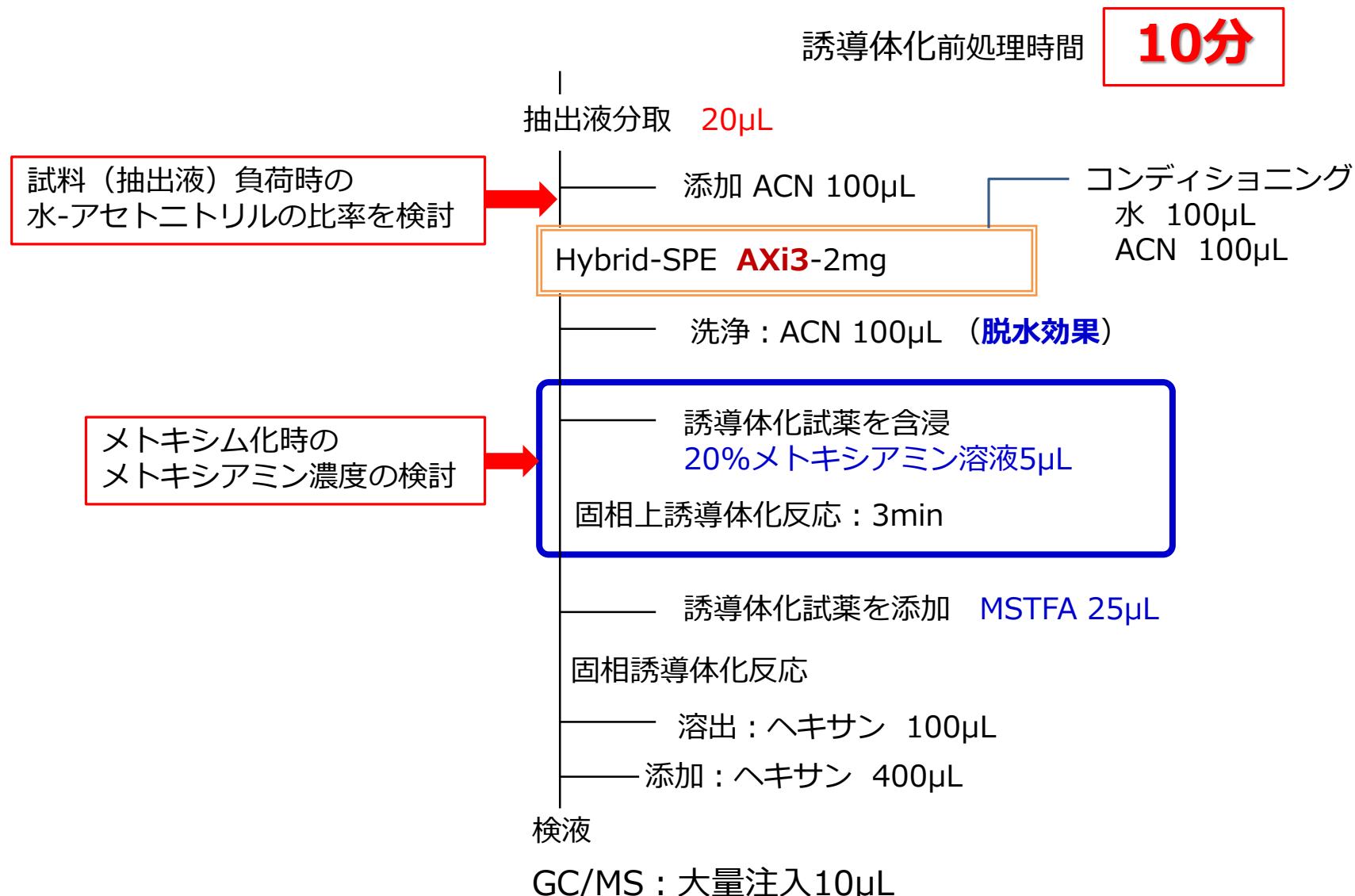
誘導体化前処理時間

6分

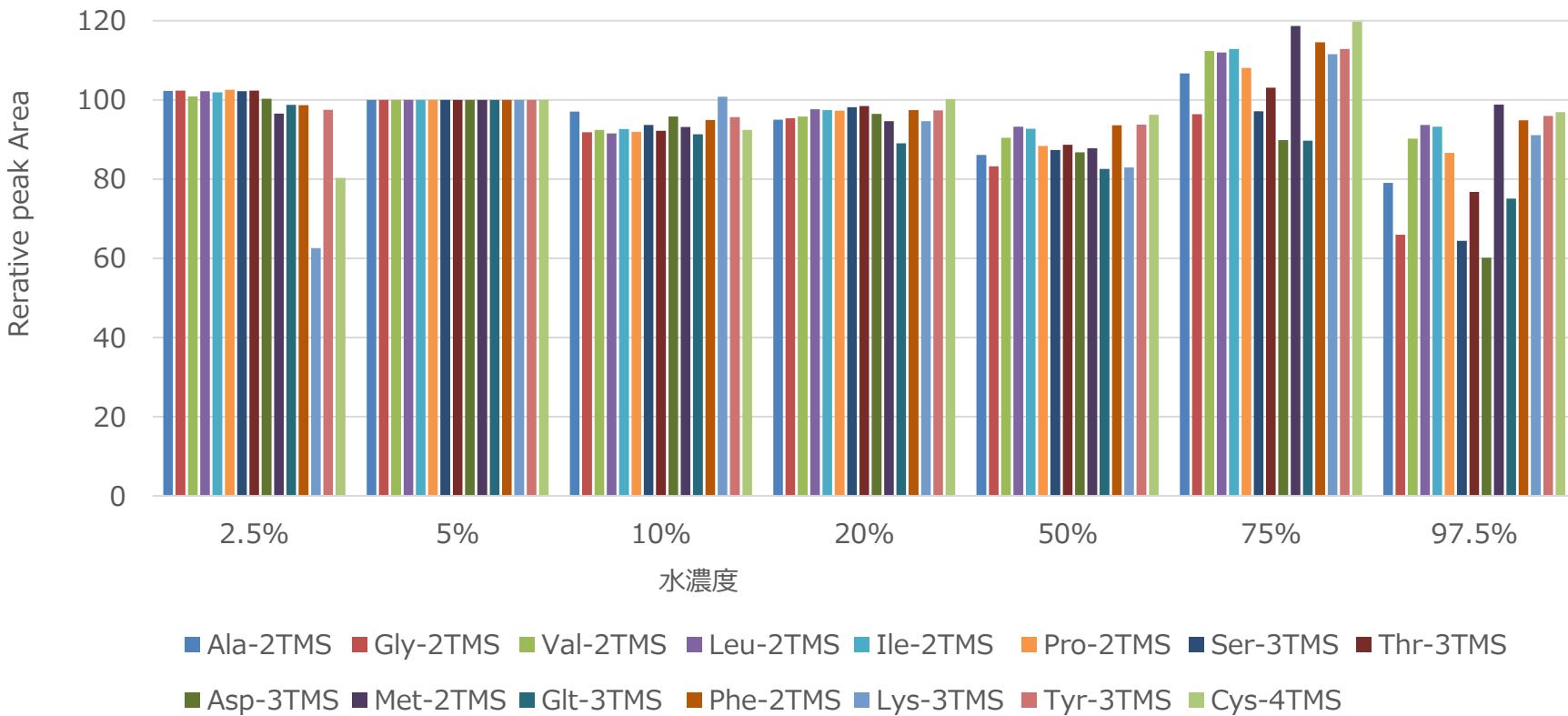
試料（抽出液）負荷時の
水-アセトニトリルの比率を検討



AX固相誘導体化前処理法（糖類）



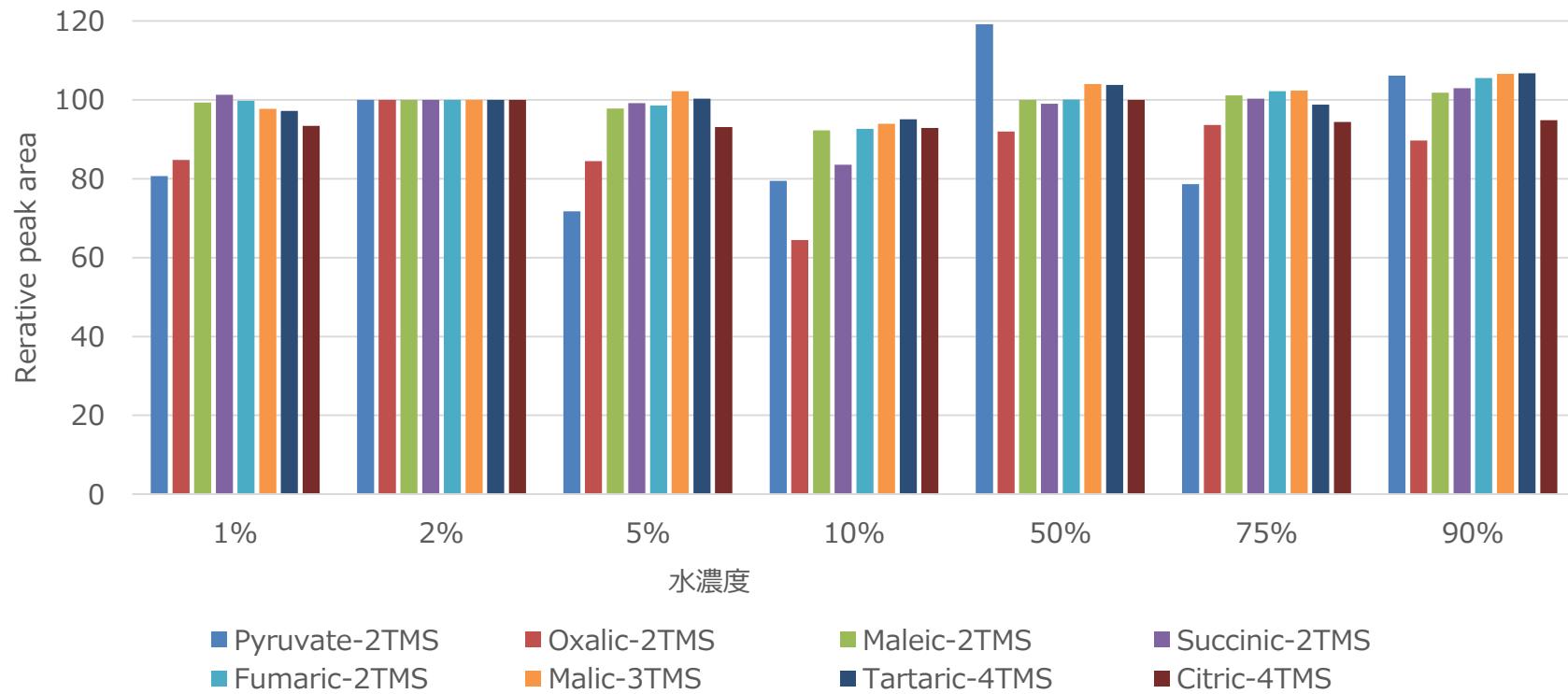
試料負荷時の水濃度とアミノ酸のCX固相への保持について



試料負荷時の水濃度と相対ピーク面積値の関係

アミノ酸とCX固相において、試料負荷時は水濃度が75%以下であれば保持できることがわかった。イオン交換相互作用により保持されていると考えられる。

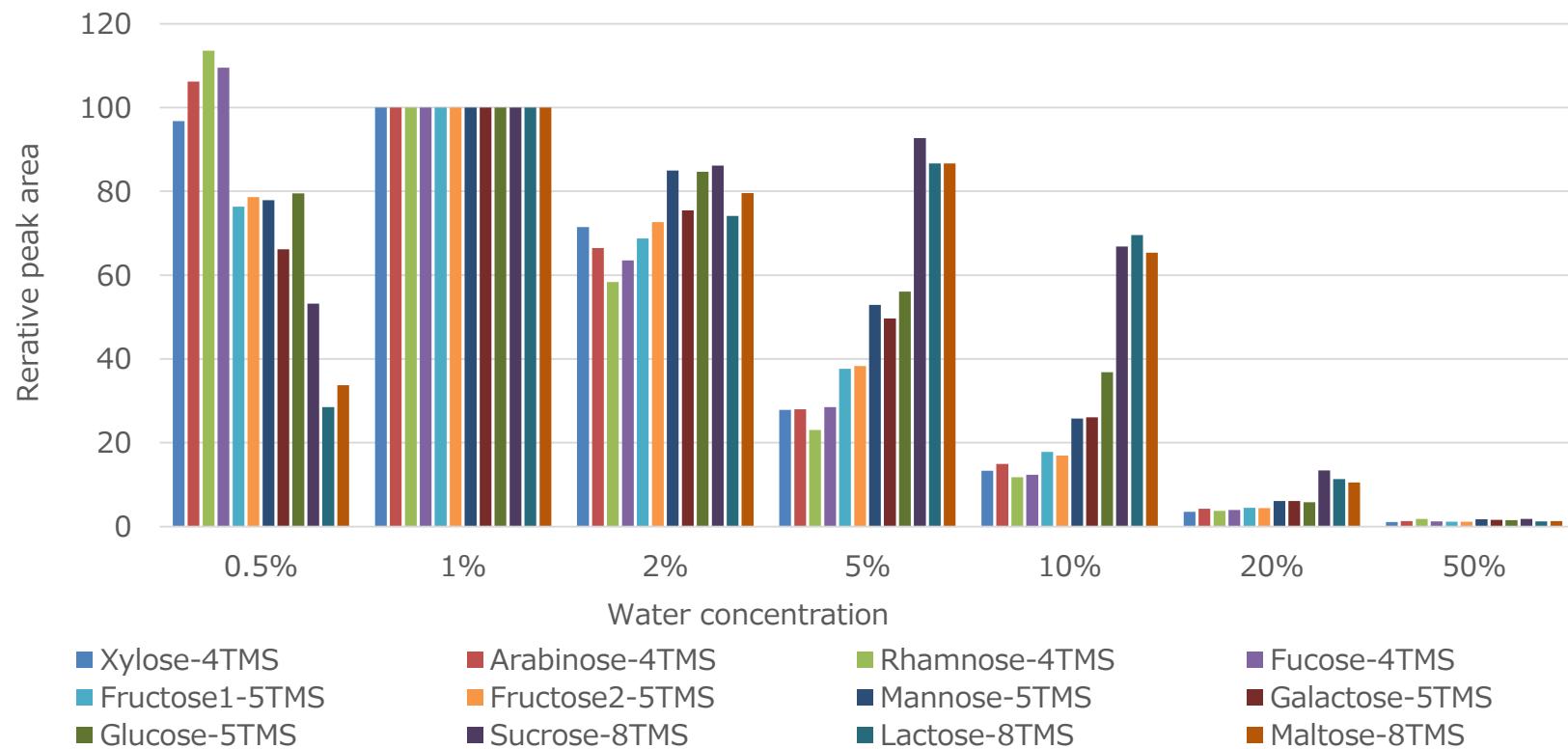
試料負荷時の水濃度と有機酸のAX固相への保持について



試料負荷時の水濃度と相対ピーク面積値の関係

有機酸とAX固相において、試料負荷時は水濃度に依存することなく保持できることがわかった。イオン交換相互作用により保持されていると考えられる。

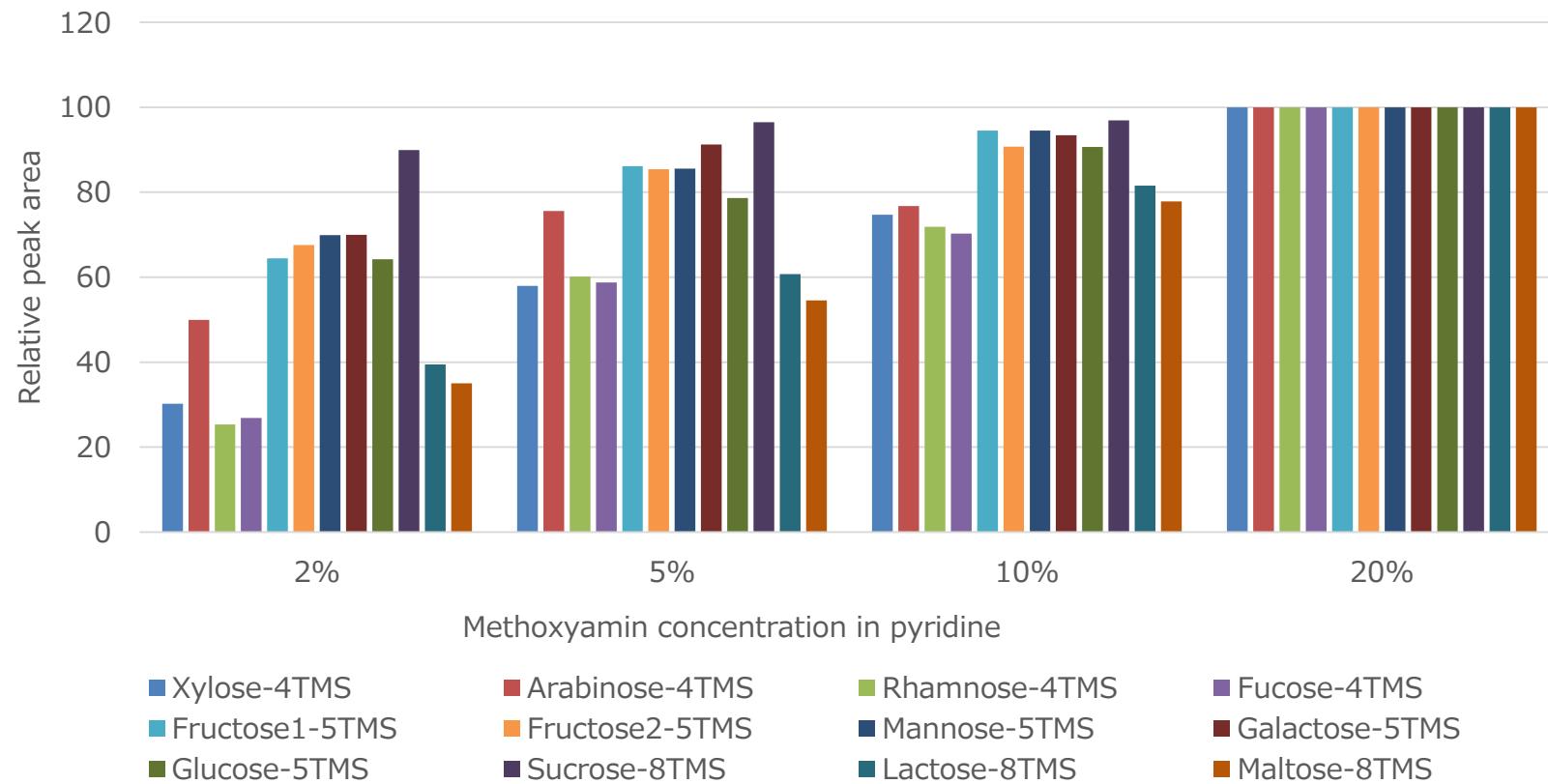
試料負荷時の水濃度と糖類のAX固相への保持について



試料負荷時の水濃度と相対ピーク面積値の関係

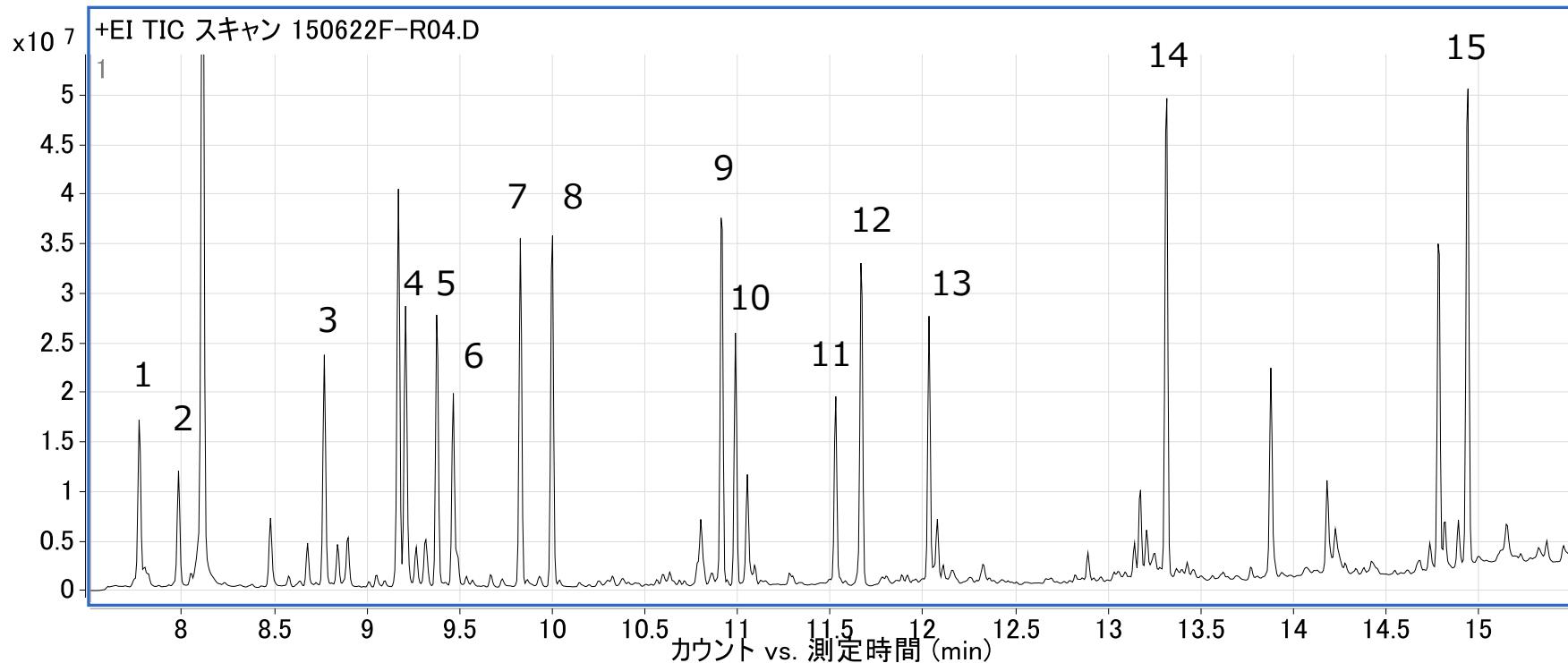
糖類とAX固相において、試料負荷時は水濃度が1%が最適な保持条件であることがわかった。極性相互作用により保持されていると考えられる。また、0.5%以下になるとSucrose,Lactose,Maltoseは溶液に溶けきれなくなり、カートリッジ壁面等に析出していることが考えられる。

メトキシアミン濃度と固相メトキシム化について



固相誘導体化時のメトキシアミン濃度と相対ピーク面積値の関係

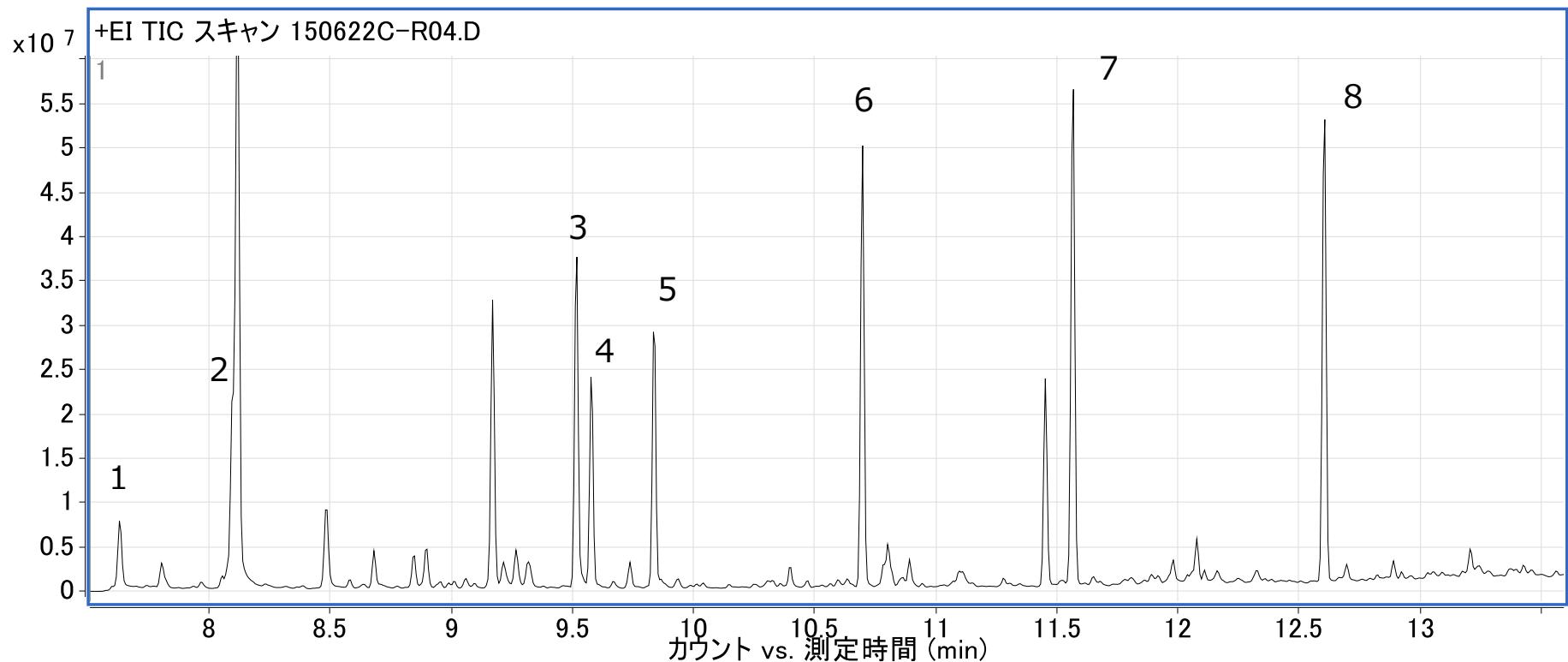
CX固相誘導体化前処理法（アミノ酸）



- | | | | |
|------------------------|---------------------|------------------------|-------------------|
| 1. Alaninse-2TMS | 2. Glycine-2TMS | 3. Valine-2TMS | 4. Leucine-2TMS |
| 5. Isoleucine-2TMS | 6. Proline-2TMS | 7. Serine-3TMS | 8. Threonine-3TMS |
| 9. Aspartic acid-3TMS | 10. Methionine-2TMS | 11. Glutamic acid-3TMS | |
| 12. Phenylalanine-2TMS | 13. Lysine-3TMS | 14. Tyrosine-3TMS | 15. Cystine-4TMS |

SCAN トータルイオンクロマトグラム

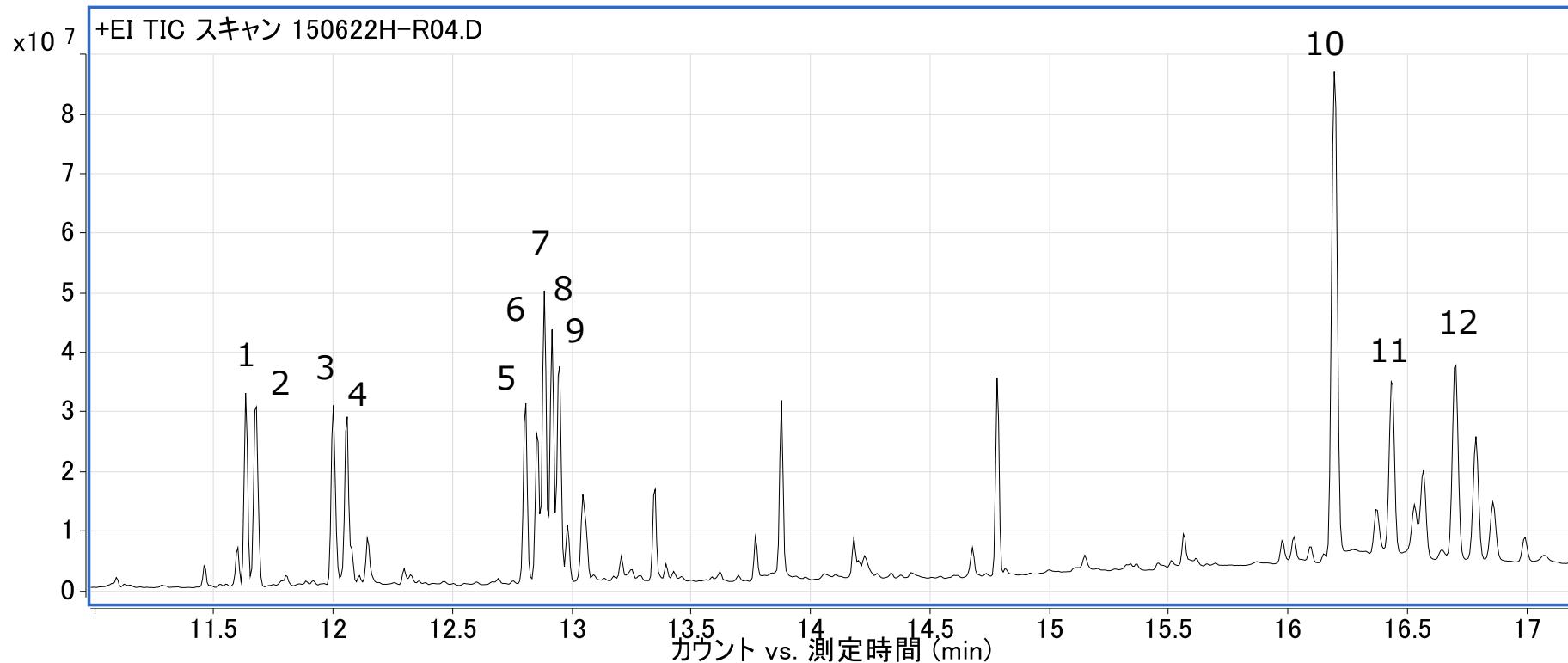
AX固相誘導体化前処理法（有機酸）



- | | | | |
|-----------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. Pyruvate acid-2TMS | 2. Oxalic acid-2TMS | 3. Maleic acid-2TMS | 4. Succinic acid-2TMS |
| 5. Fumaric acid-2TMS | 6. Malic acid-3TMS | 7. Tartaric acid-4TMS | 8. Citric acid-4TMS |

SCAN トータルイオンクロマトグラム

AX固相誘導体化前処理法（糖類）



- 1. Xylose-4TMS
- 5. Fructose1-5TMS
- 9. Glucose-5TMS

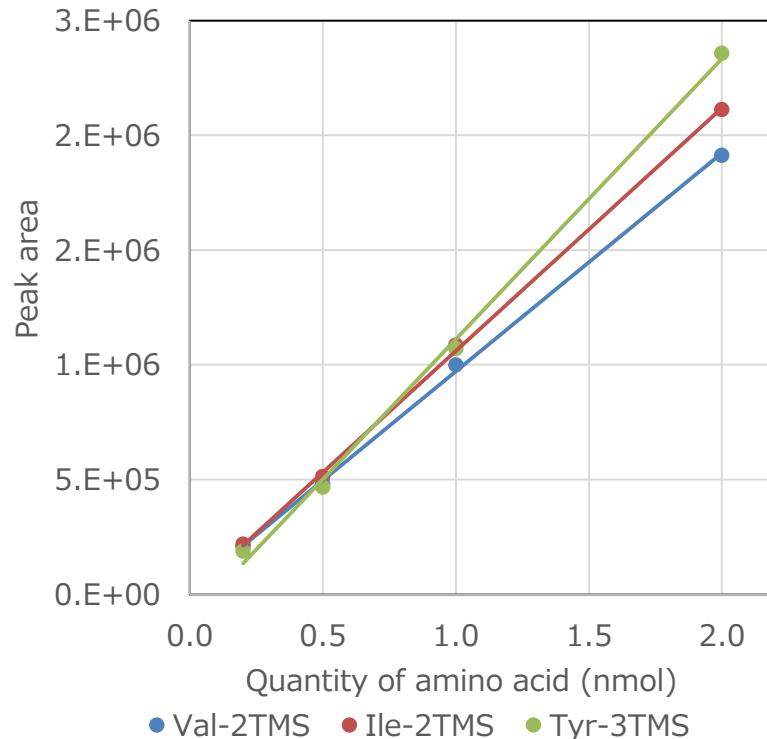
- 2. Arabinose-4TMS
- 6. Fructose2-5TMS
- 10. Sucrose-8TMS

- 3. Rhamnose-4TMS
- 7. Mannose-5TMS
- 11. Lactose-8TMS

- 4. Fucose-4TMS
- 8. Galactose-5TMS
- 12. Maltose-8TMS

SCAN トータルイオンクロマトグラム

CX固相誘導体化前処理法（アミノ酸）の評価

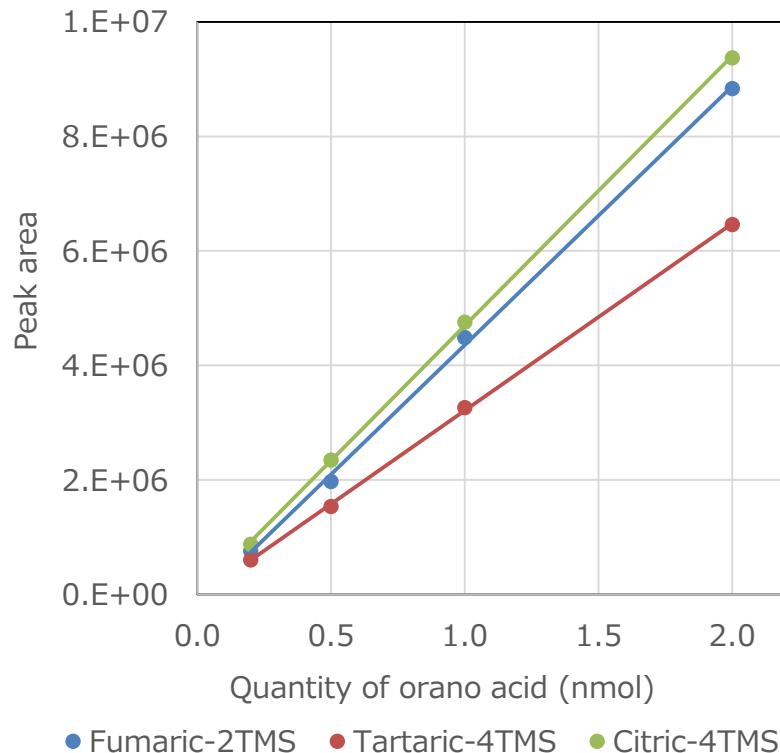


アミノ酸量とピーク面積値の関係

直線性 (R^2) と再現性 (RSD, n=6)

No.	Amino acid	R^2	RSD $\frac{n=6}{\%}$
1	Ala-2TMS	0.9996	7.4
2	Gly-2TMS	0.9958	13.1
3	Val-2TMS	0.9993	7.5
4	Leu-2TMS	0.9992	6.7
5	Ile-2TMS	0.9995	6.2
6	Pro-2TMS	0.9982	12.5
7	Ser-3TMS	0.9988	5.5
8	Thr-3TMS	0.9990	4.7
9	Asp-3TMS	0.9989	4.9
10	Met-2TMS	0.9991	7.5
11	Glt-3TMS	0.9911	8.8
12	Phe-2TMS	0.9996	5.6
13	Lys-3TMS	0.9927	32.2
14	Tyr-3TMS	0.9977	4.8
15	Cys-4TMS	0.9950	29.2

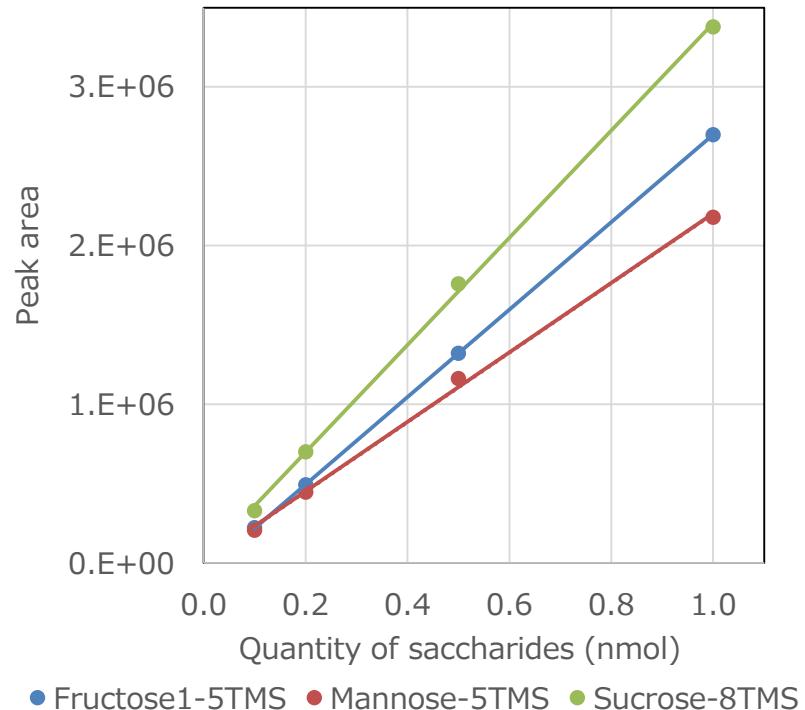
AX固相誘導体化前処理法（有機酸）の評価



直線性 (R2) と再現性 (RSD, n=6)

No.	Organic acid	R2	RSD n=6, %
1	Pyruvate-2TMS	0.9998	15.1
2	Oxalic-2TMS	0.9946	6.2
3	Maleic-2TMS	0.9991	1.8
4	Succinic-2TMS	0.9588	22.0
5	Fumaric-2TMS	0.9991	2.2
6	Malic-3TMS	0.9997	2.1
7	Tartaric-4TMS	0.9998	1.9
8	Citric-4TMS	0.9998	2.5

AX固相誘導体化前処理法（糖類）の評価



糖類量とピーク面積値の関係

直線性 (R²) と再現性 (RSD, n=6)

No.	Saccharides	R ²	RSD n=6, %
1	Xylose-4TMS	0.9998	5.4
2	Arabinose-4TMS	0.9996	7.5
3	Rhamnose-4TMS	0.9974	10.8
4	Fucose-4TMS	0.9988	9.8
5	Fructose1-5TMS	1.0000	3.3
6	Fructose2-5TMS	0.9998	3.2
7	Mannose-5TMS	0.9982	2.5
8	Galactose-5TMS	0.9995	1.8
9	Glucose-5TMS	0.9778	2.3
10	Sucrose-8TMS	0.9993	2.9
11	Lactose-8TMS	0.9997	7.2
12	Maltose-8TMS	0.9999	6.5