

演題 GC/MS 基盤メタボローム分析に資する固相誘導体化法の応用

佐々野僚一^{1*} 大崎秀介² 松本明弘² 馬場健史³ 山下俊幸⁴ 福崎英一郎⁴

1. (株)アイスティサイエンス 2.和歌山県工技セ 3.九大・生医研 4.阪大・工

セッション／計測技術・融合領域 口頭発表

[緒言] 一般的なGC/MS基盤メタボローム分析では、GC/MS注入に先立ち、溶媒抽出、遠心濃縮、凍結乾燥、誘導体化等の多段階の前処理が必要であり、長時間にわたる煩雑な操作を伴うため、時として除去不能の系統誤差が含まれる。また、試料によっては高濃度の糖類がアミノ酸や有機酸の分析を困難にすることがある。そこで当該問題解決のため、我々は固相カートリッジ中の充填剤に検体を濃縮・保持した状態で行う誘導体化反応を検討し、従来のメタボローム分析における煩雑な操作を必要としないGC/MS分析を開発した。本発表では固相抽出の技術を応用し、糖類を多く含む検体中のアミノ酸と有機酸の迅速な分析を目的として、糖類を固相に保持せずにアミノ酸と有機酸を固相に保持させた状態で誘導体化を試み、有用な結果を得たので報告する。

[実験] 測定装置として、大量注入口装置 (LVI-S200, (株)アイスティサイエンス製) を備えたGC-MS/MS (GC: 7890B, MS: 7000C, Agilent製) を用いた。測定試料はアミノ酸と有機酸と糖類を水-アセトニトリル混合溶液に調製した。固相カートリッジには、(株)アイスティサイエンス製の強イオン交換作用の固相抽出カートリッジ(CXi/AXi)を用いた。前処理の手順は、固相カートリッジをコンディショニングした後に、試料溶液を通液し、水-アセトニトリル混合溶媒で糖類を洗浄し、脱水のためにアセトニトリルを流した。その後、誘導体化試薬MSTFAを固相上に直接添加することで誘導体化を行い、ヘキサンで溶出し測定溶液とした。

[結果] アミノ酸を保持させる陽イオン交換樹脂 (CXi) と有機酸を保持させる陰イオン交換樹脂 (AXi) を積層にした固相カートリッジを開発した。この固相カートリッジにおいて、糖類は固相に保持せずアミノ酸と有機酸を固相に保持させるための通液時の水-アセトニトリル比率の最適化を図った。その結果、糖類を多く含む検体においてもその影響を受けずアミノ酸と有機酸のトリメチルシリル(TMS)化されたピークが再現性良く検出された。また、誘導体化に要する時間の大幅な短縮が可能となった。