

オンライン前処理装置を用いた固相誘導体化法による血漿メタボロミクス分析

○新川翔也, 浅井智紀, 佐々野僚一
株式会社アイスティサイエンス

Plasma metabolomics analysis by solid phase analytical derivatization using online pretreatment system

○Shoya Arakawa, Tomonori Asai, Ryoichi Sasano
AiSTI Science, Co., Ltd.

【目的】生体内代謝物の網羅的分析手法を指すメタボロミクスは、医学・食品分野における表現型解析手法の一つとして頻用されている。ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) はメタボロミクスに用いる分析機器の第一選択として挙げられるが、生体内代謝物の多くは難揮発性の化合物でありガスクロマトグラフィーには適さない。そのためトリメチルシリル誘導体化 (TMS 化) によって揮発性を向上させた状態で分析に供する手法がとられている。しかしながら、TMS 化処理を行うには水分の除去 (脱水) が必須であり、そのための凍結乾燥処理に 10 時間以上を要する。本報告では前処理時間の短縮を目的として、脱水操作に固相カートリッジを用いる手法および固相上での誘導体化処理 (固相誘導体化法) を提案する。

【方法】分析試料として異なる抗凝固剤 (クエン酸、EDTA-2K、ヘパリン) を用いた市販血漿を用いた。市販血漿 50 μ L に対し内部標準物質を含む水 150 μ L を加え、さらにアセトニトリル 800 μ L を加え除タンパク処理を行い、遠心分離によって得られた上清を試料液とした。試料液は 2 層のイオン交換固相カートリッジに負荷され、代謝物は固相に保持される。そこにアセトニトリルを通液することで固相中の水分を取り除き、窒素ガスで乾燥する。続いて誘導体化試薬を含浸させ、TMS 化処理を行う。TMS 化された代謝物は疎水性溶媒にて溶出されその全量が GC 注入口に導入される。GC/MS データは解析ソフトウェア MS-DIAL およびインハウスライブラリを用いてデータ解析を行い、各ピークに対する代謝物同定とピーク面積値のデータ行列を作成した。最後に、データ構造を把握するために主成分分析を行った。

【結果・考察】血漿に含まれる代謝物が同定され、その同定ピークによる主成分分析のスコアプロットは抗凝固剤の種類ごとにクラスターを形成していた。本手法および本システムの利用によって抽出以後の前処理に要する労力を削減しスループットの向上や省力化が期待できる。今後は対象成分の拡大に努め、より精密な表現型解析を目指したい。