

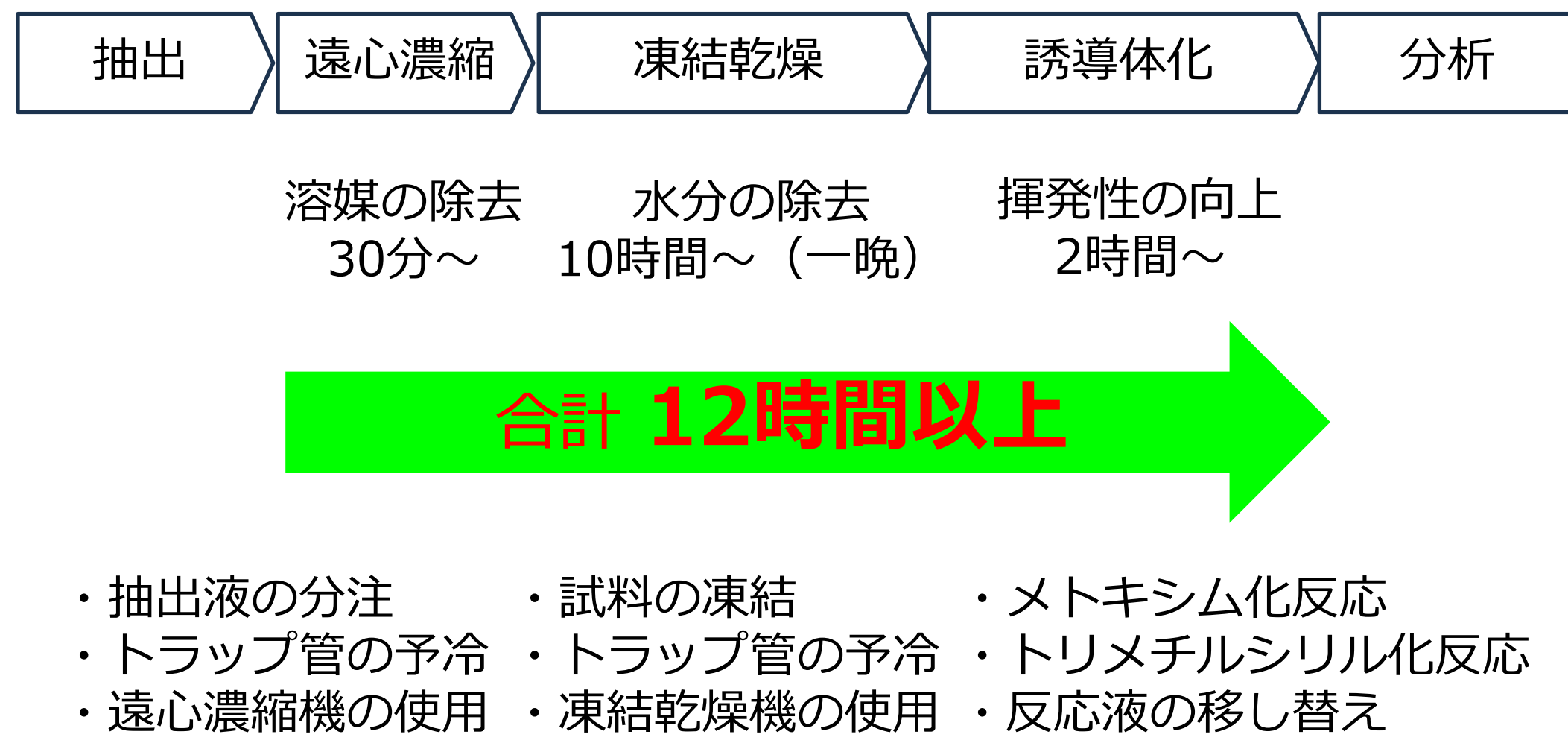
Plasma metabolomics analysis by solid phase analytical derivatization using online pretreatment system オンライン前処理装置を用いた固相誘導体化法による血漿メタボロミクス分析

○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

本演題に関連して、筆頭著者に開示すべきCOIはありません。

1. GCMSメタボロミクスにおける課題と固相誘導体化法による問題解決

一般的な前処理工程



前処理時間の長さ・工程の煩雑さが
作業効率を低下させている

固相誘導体化

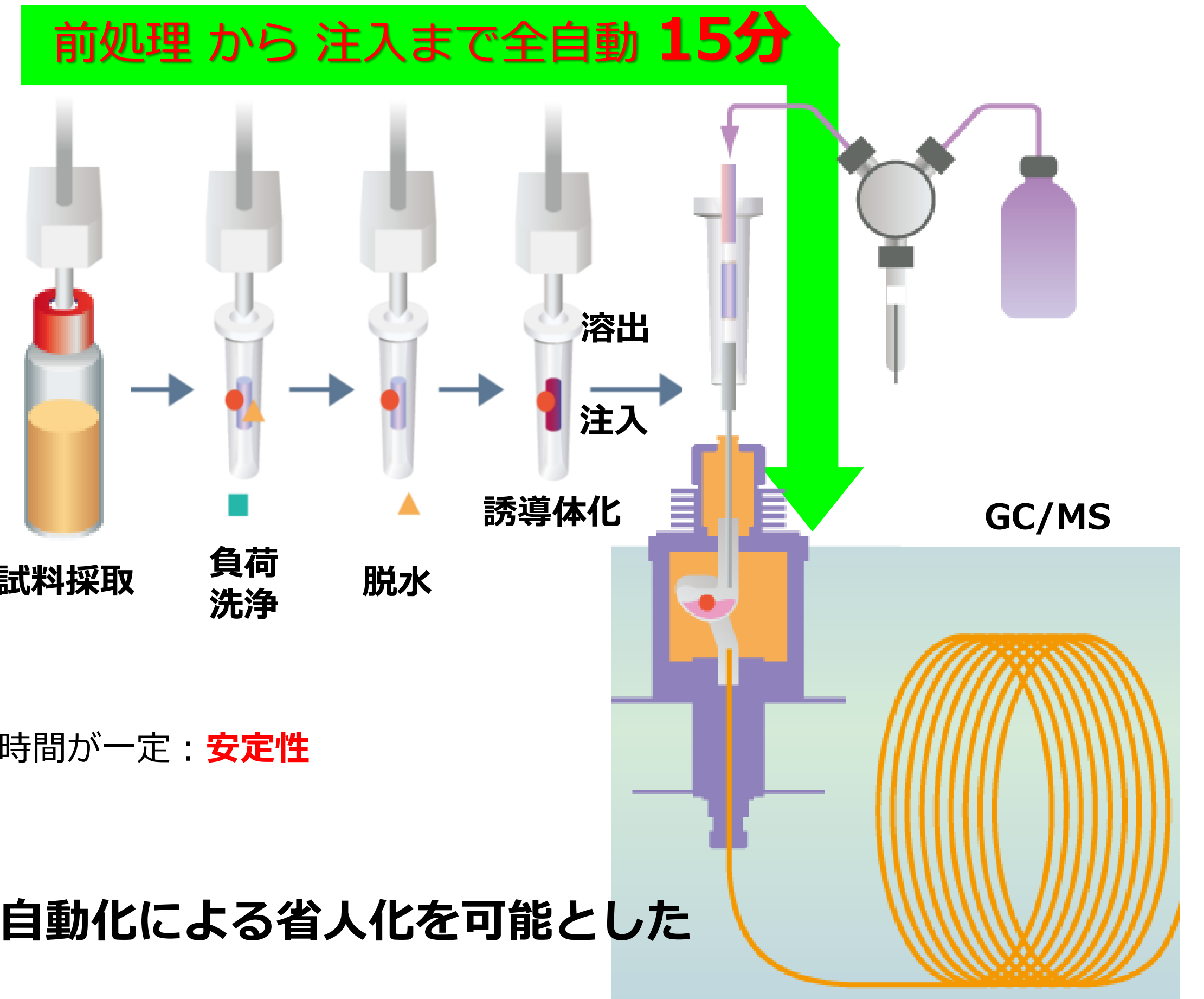
固相樹脂に成分を吸着させ、
固相上で誘導体化を行う反応

前処理のオンライン化が可能!

オンライン固相誘導体化の利点

1. 自動化による**分析精度の向上**
2. 固相による**精製効果**
3. 溶出液の全量注入による**高感度化**
4. 誘導体化してから注入するまでの時間が一定：**安定性**
5. 多検体の**ハイスループット**

前処理時間の短縮・簡便化と自動化による省人化を可能とした



2. 実験方法

サンプル

- ・市販血漿 (ヘパリン処理)
- ・市販血漿 (クエン酸処理)
- ・市販血漿 (EDTA処理)

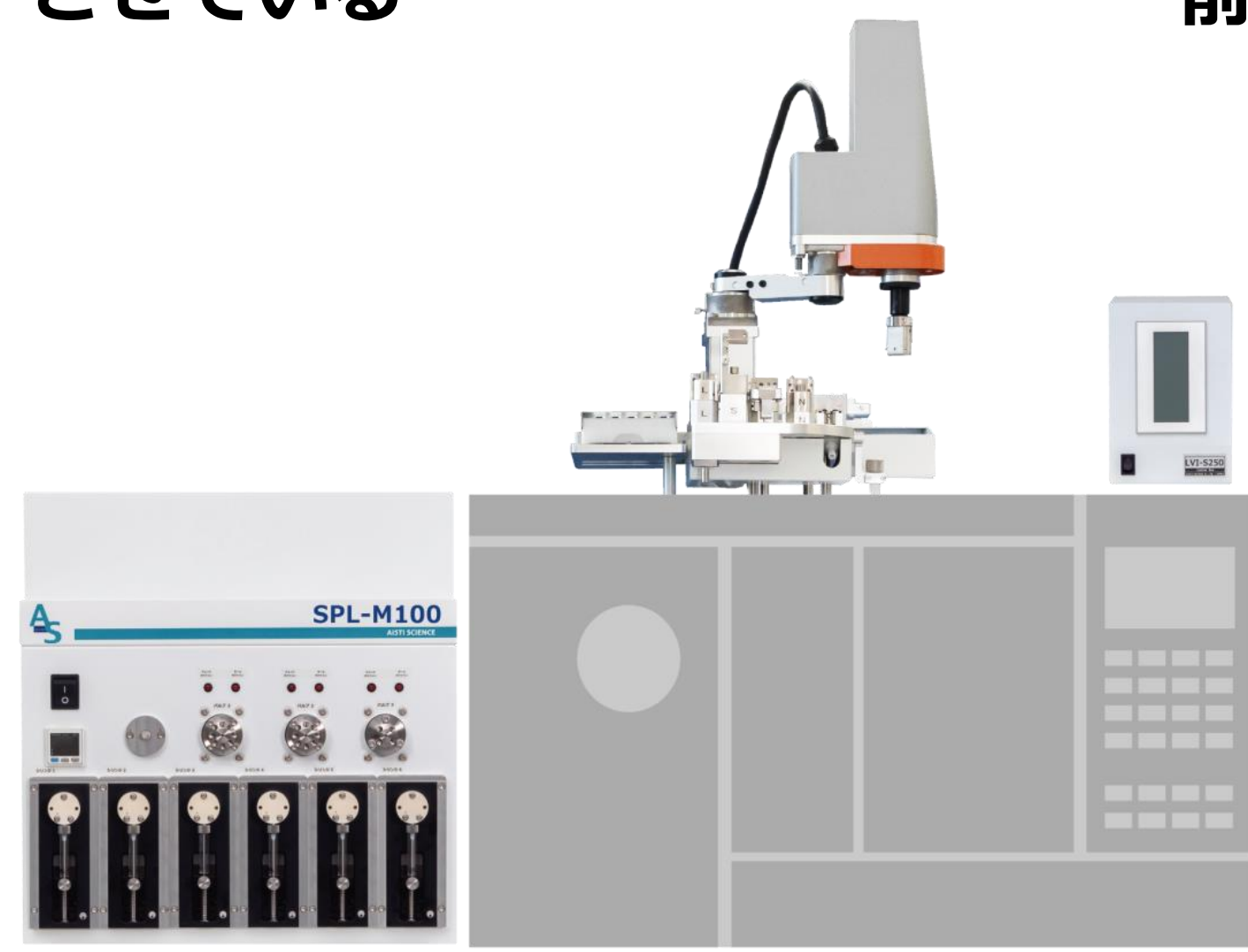
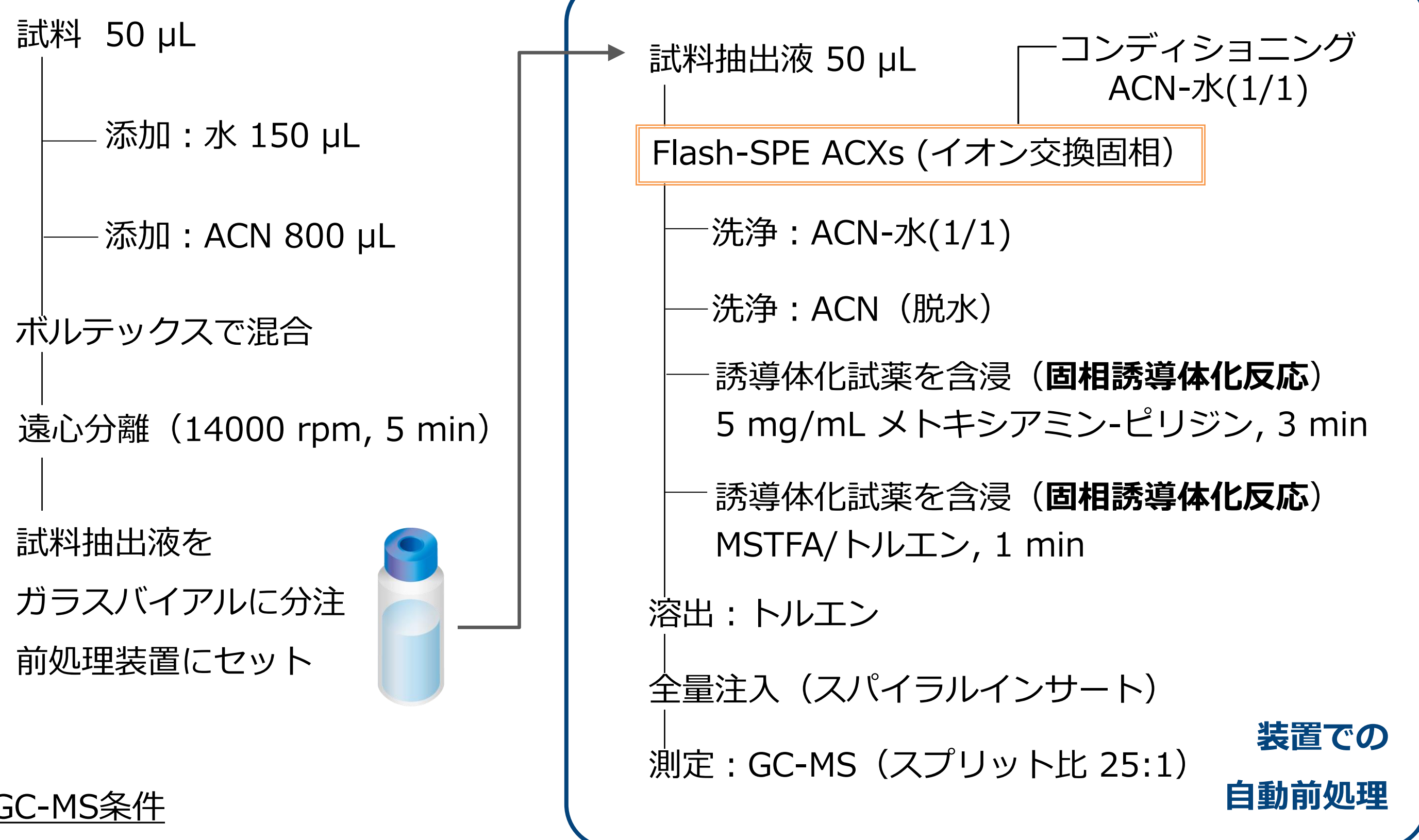


Fig 1. Installation image of SPL-M100 on-line pretreatment system

前処理フロー



GC-MS条件

注入口条件	
注入口	LVI-S250 (AiSTI Science)
注入口温度	220°C(0.5 min)-50°C/min-290°C(19 min)
セブタムパーズ流量	3 mL/min
スプリット比	25:1
GC条件	
カラム	VF-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25μm
制御モード	コンスタントフロー
カラム流量	1 mL/min
オープン温度	100°C(2 min)-10°C/min-310°C(3 min), Total 26 min
MS条件	
トランスファーライン温度	290°C
イオン源温度	260°C
取得モード	Scan (m/z 70-550)

4. まとめ

GCMSメタボロミクスの前処理における諸問題を解決するため、固相誘導体化法による前処理時間の短縮・簡便化およびオンライン前処理装置による省人化を行った。

本手法を用いて各種血漿を分析した結果、主成分分析によって各サンプル群で検出強度の高い代謝物を見出すことが可能であったことから、十分な代謝物カバレッジを持つことが示唆された。

引き続き、ヘパリン処理血漿の固相負荷量の検討や、同一血液から調製した各種血漿の差異を評価していきたい。

5. 謝辞

本研究は成長型中小企業等研究開発支援事業「オンライン固相誘導体化SPE-GC/MSシステムを用いた生体試料中代謝物の分析法の開発」の助成を受けたものです。

3. 結果と考察

各サンプルのTICクロマトグラム

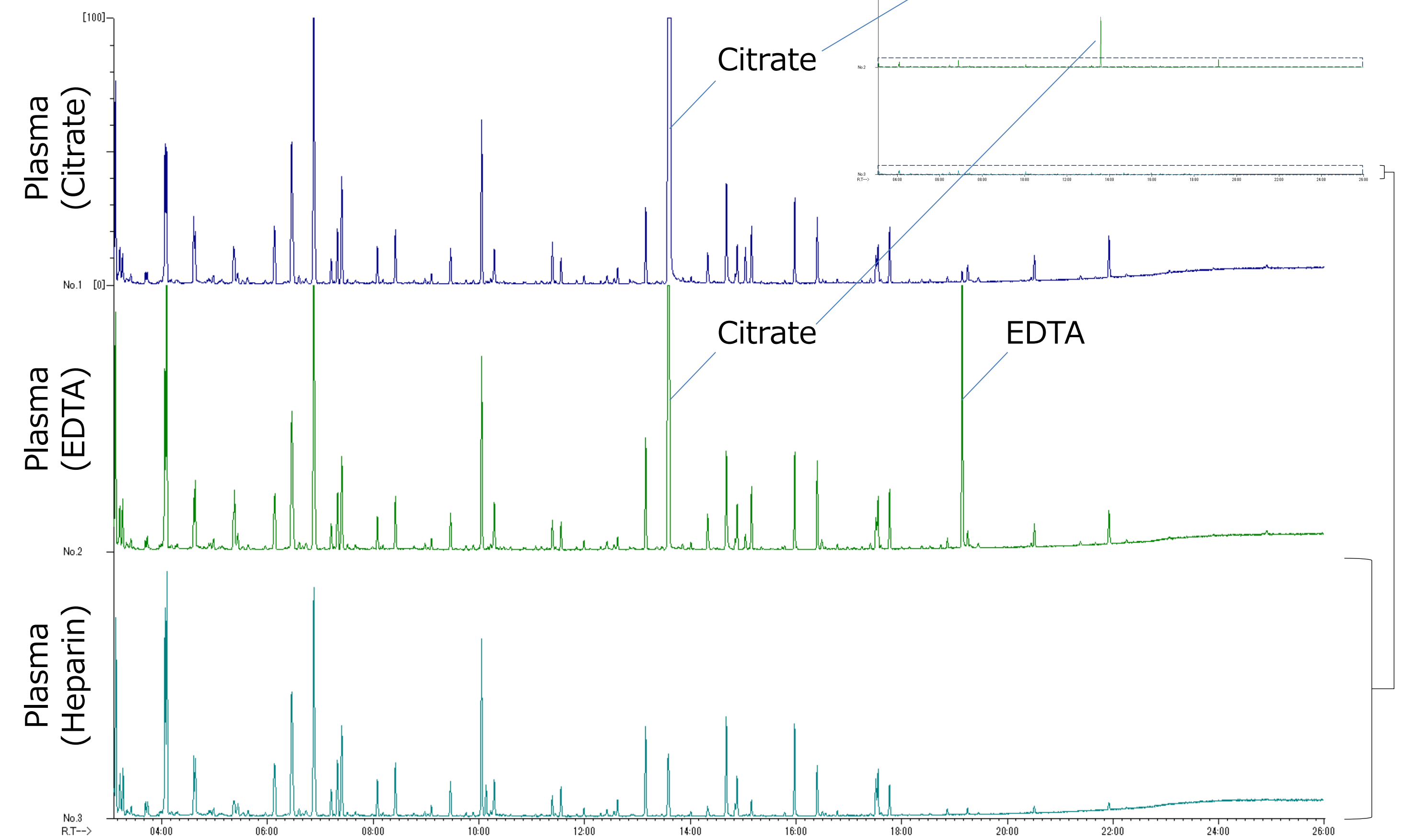


Fig 2. TIC chromatograms obtained from plasma samples of each anticoagulant

クエン酸処理血漿やEDTA処理血漿では、抗凝固剤そのものの非常に大きなピークが検出された。ヘパリン処理血漿 (下段) では抗凝固剤に由来するピークは確認できなかった。
→ クエン酸やEDTAが固相樹脂に優先して吸着し、その他有機酸の保持を弱める可能性がある。
→ ヘパリンは他と比較して大きなポリマーであり抽出工程で除去される、もしくは硫酸基が固相樹脂と強く結合して溶出していないと考えられた。後者の場合は同様に有機酸の保持を弱める可能性がある。

主成分分析

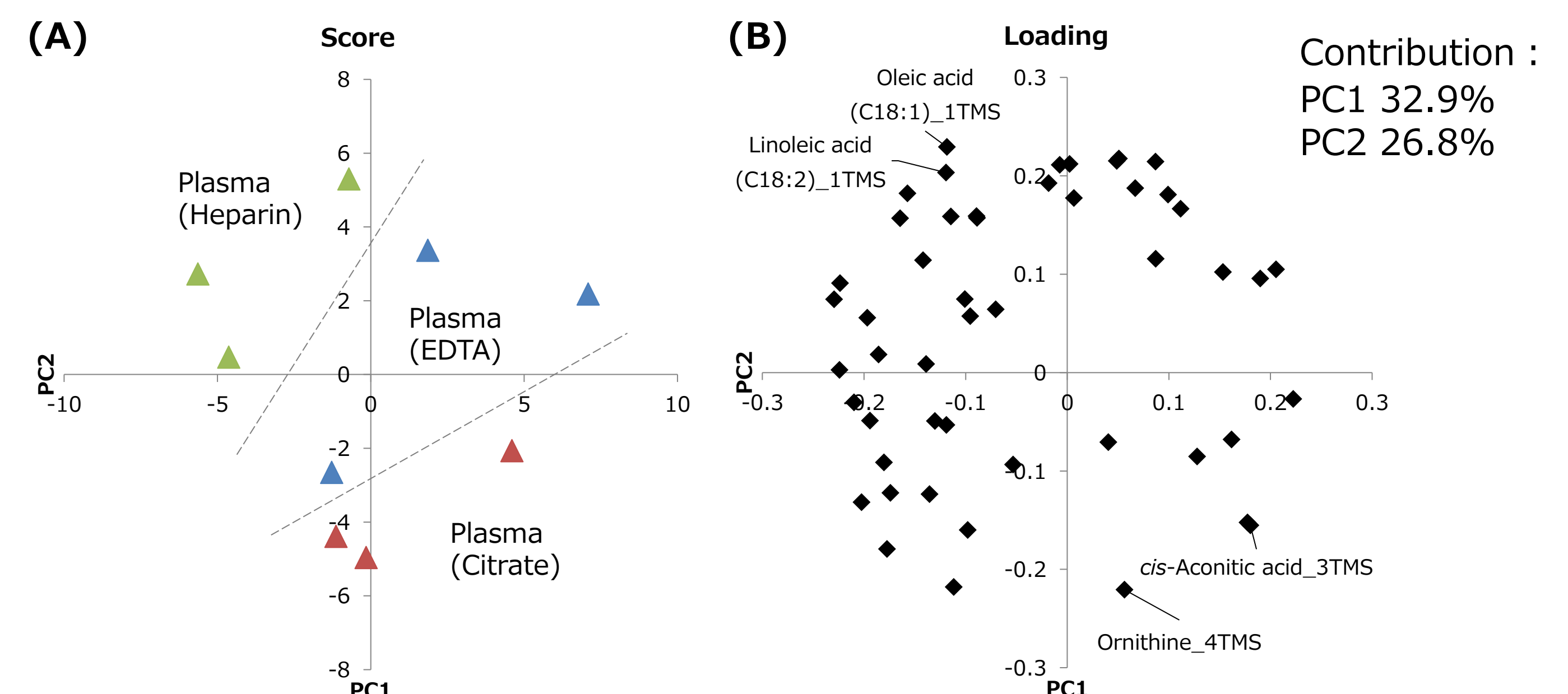


Fig 3. Result of principal component analysis. (A) Score plot (B) Loading plot Peaks of citrate and EDTA were eliminated from this data matrix.

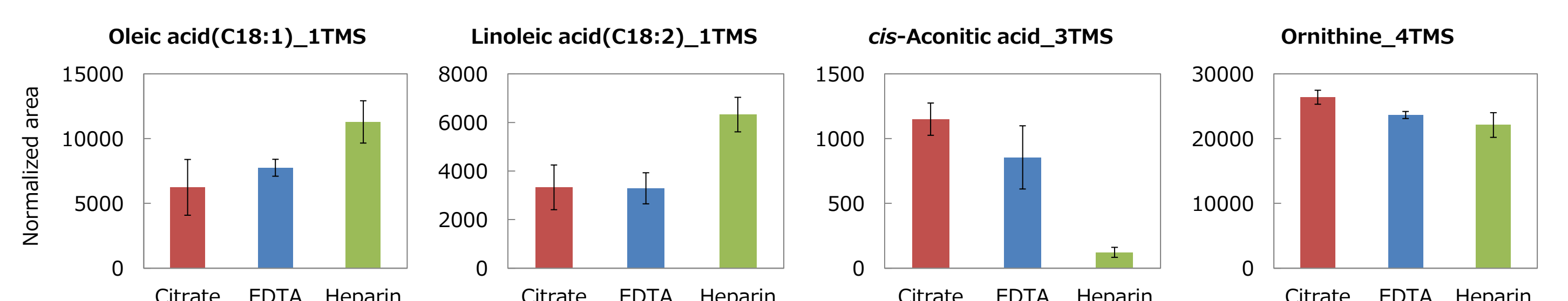


Fig 4. Intensities of the peaks that were characterized each plasma sample

主成分分析によって各サンプル群で検出強度の高い代謝物を見出すことができた。ただし、市販血漿が同一血液由来の血漿ではないことを考慮しなければならない。