

生物工学若手研究者の集い
ランチョンセミナー
2026年7月11日

固相脱水誘導体化法を用いた 貯蔵ハッサク果実のメタボローム解析

株式会社アイスティサイエンス
技術開発部
新川 翔也



Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

会社概要



- 会社名：株式会社アイスティサイエンス (AiSTI SCIENCE)
Analytical i nstrument developed by Saika T echnological I nstitute
※雑賀技術研究所（和歌山市）
- 設立：2006年4月
- 事業内容：分析機器および周辺機器製造の販売
- 所在地
本社：和歌山市
装置、固相カートリッジの製造
分析法や装置の開発
東日本営業所：埼玉県朝霞市
営業、SE拠点

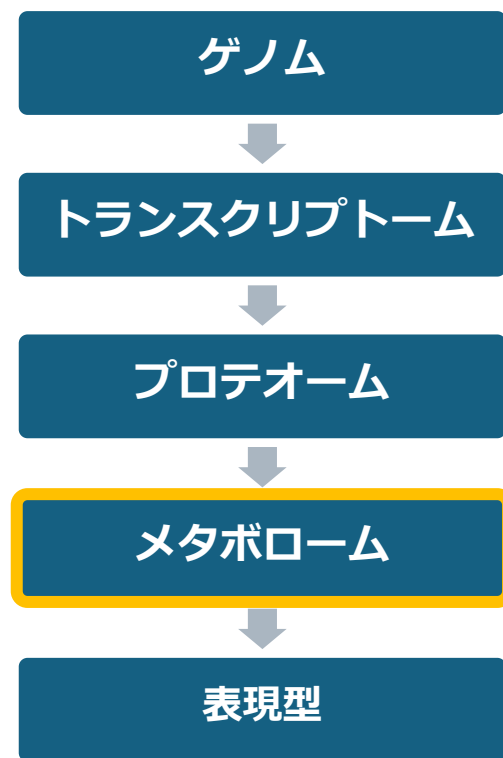


アイスティサイエンスの歩み



メタボローム解析

生体に内在する低分子代謝物の総体を網羅的に解析する技術



分子量：～1500

- ・ アミノ酸
- ・ 有機酸、脂肪酸
- ・ 糖類（単糖、二糖）
- ・ 核酸関連物質
- ・ 脂質

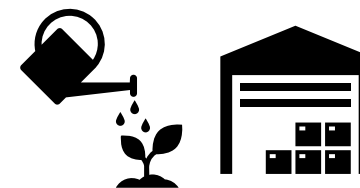
メタボロームの特徴

- ・ 表現型に近い物質である
- ・ 多種多様な化学構造
- ・ 幅広い濃度レンジで存在

応用例

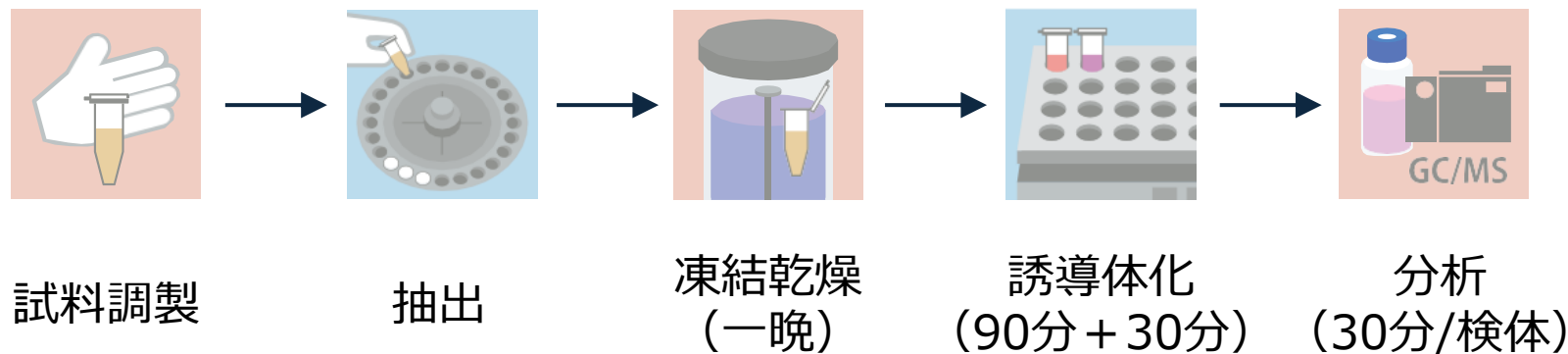


食品の品質・特性評価



栽培・保蔵条件の最適化

GC/MSによるメタボローム解析



課題①：前処理が煩雑で
時間がかかる

課題②：分析待ち中に
誘導体化物が変化する

全自動オンライン固相抽出-GC/MSシステム（オンラインSPE-GC/MSシステム）
および固相脱水誘導体化法（SPDhD法）による分析

誘導体化の目的

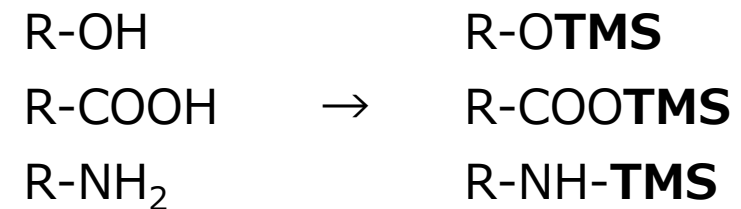
- 分析に適した構造に変化させる
 - 揮発性の向上
 - 熱安定性の向上
 - 吸着の抑制
- 検出感度の向上
 - 保持の増加
 - MS → フラグメントイオンの強度増加



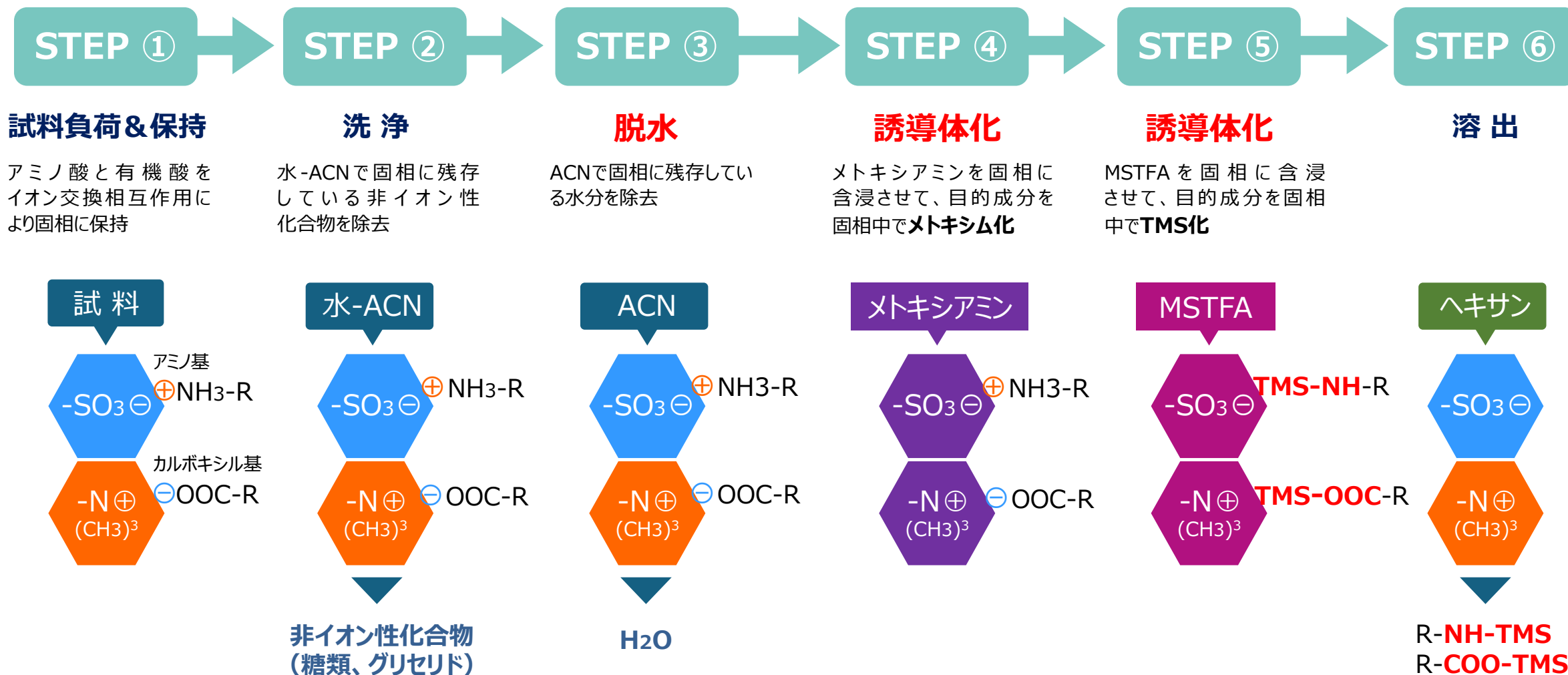
固相誘導体化法

- メトキシム化
- トリメチルシリル化 (TMS化)
- tert-ブチルジメチルシリル化 (tBDMS化)

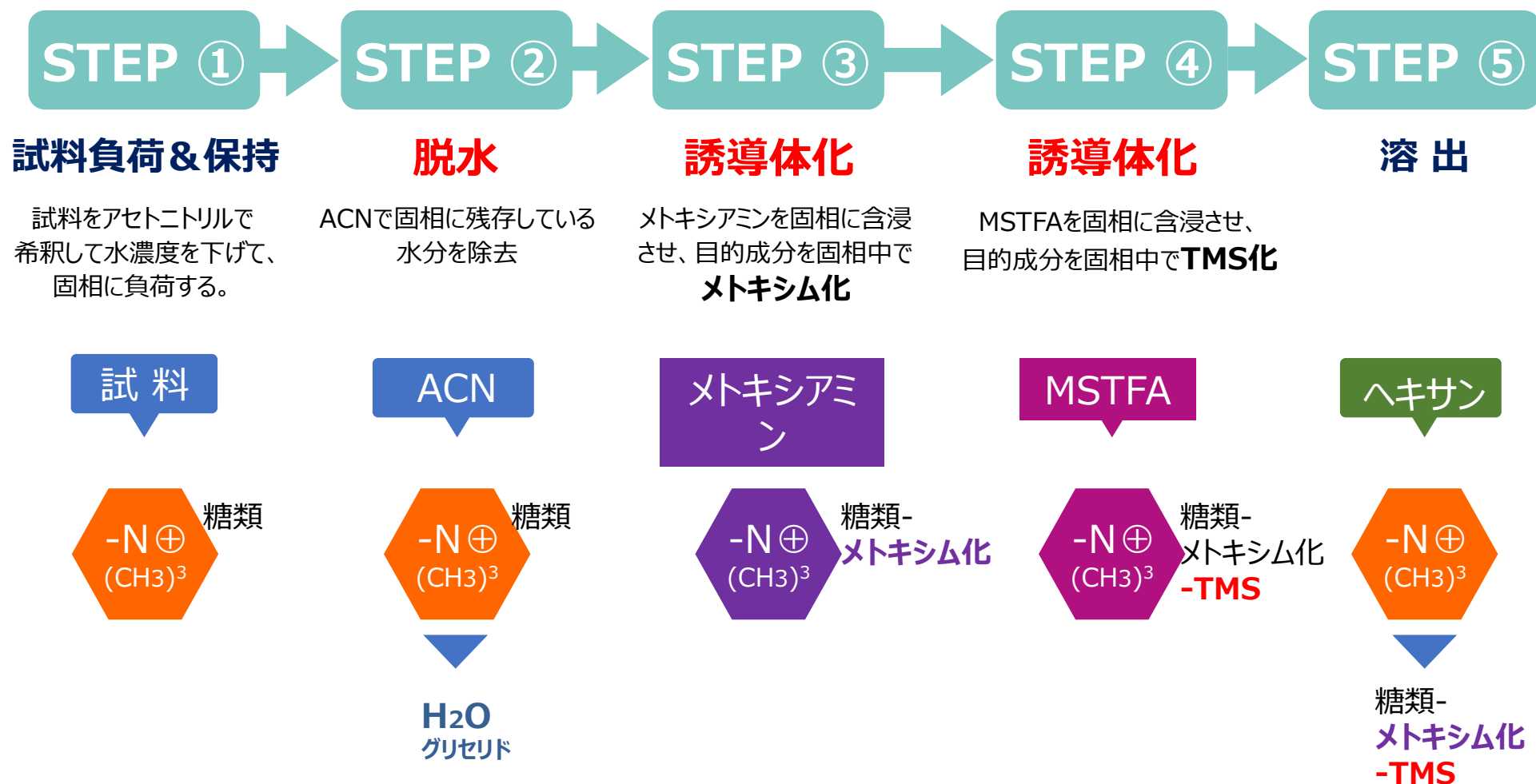
反応する官能基の例 (TMS化)



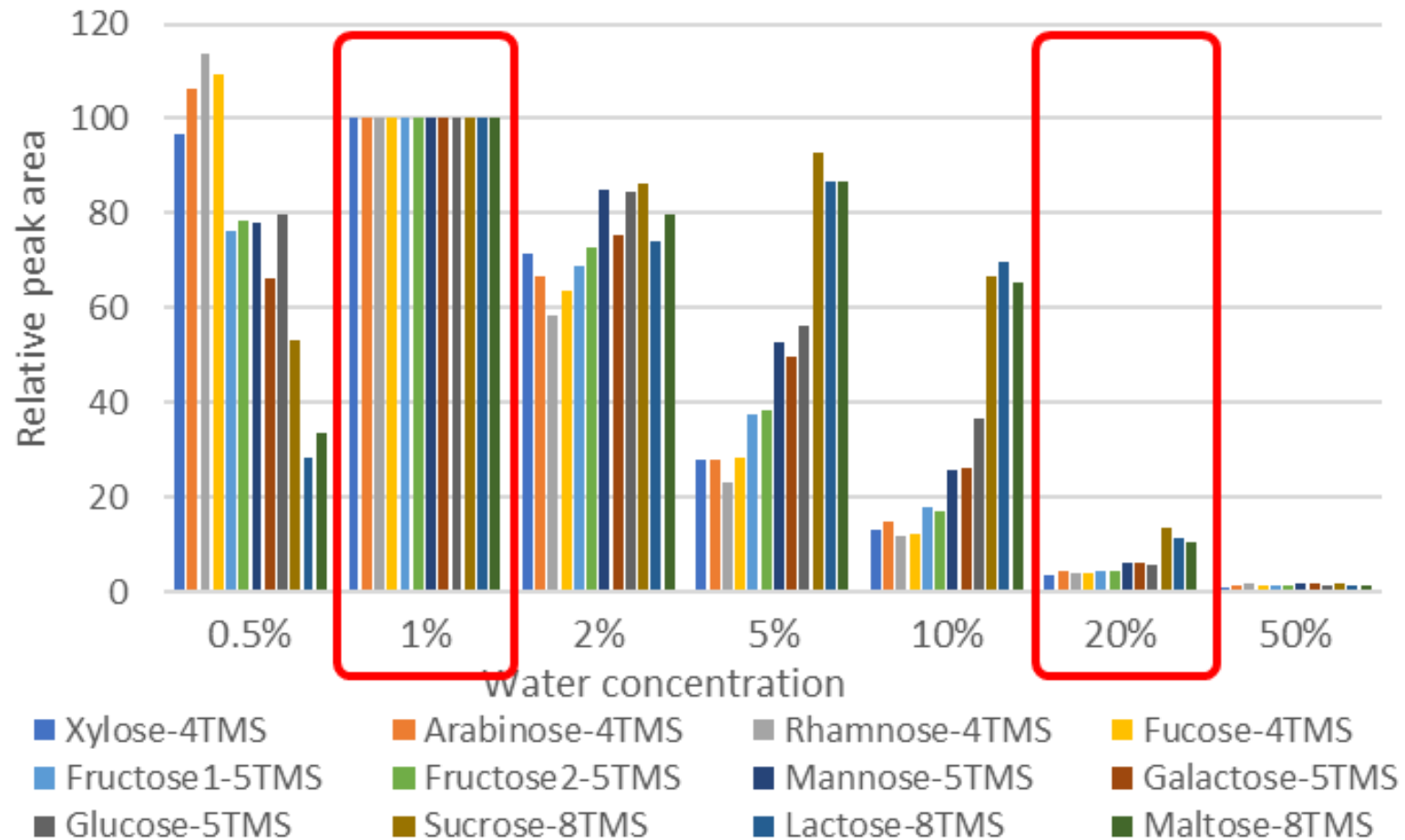
固相脱水誘導体化法：アミノ酸有機酸



固相脱水誘導体化法：糖類



試料負荷時の水濃度と糖類の保持



小括：固相脱水誘導体化法

カートリッジ内の固相樹脂に**対象成分を保持**し、固相上で**誘導体化反応**を行う手法

固相誘導体化法による対象成分：**250成分以上**

アミノ酸

フェニルアミン

ポリアミン

有機リン酸

糖リン酸

糖酸

多価カルボン酸

アミノカルボン酸

フェニルカルボン酸

ヒドロキシ酸

ケト酸

短鎖脂肪酸

長鎖脂肪酸

多価不飽和脂肪酸

単糖類

二糖類

糖アルコール

胆汁酸

ステロール

フラボノイド

疎水性ビタミン

『Go-Tech事業』(2022～23年度)
共同研究機関

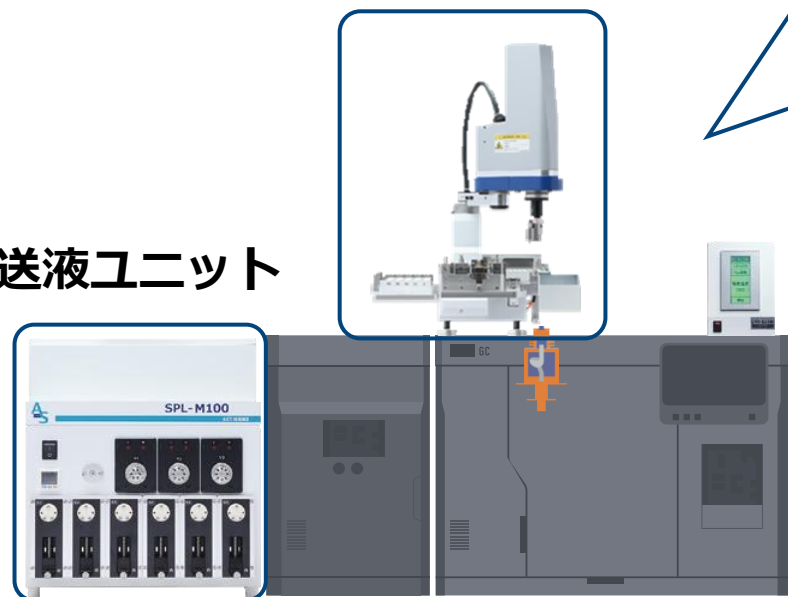
- ・アイスティサイエンス
- ・和歌山県工業技術センター
- ・大阪大学
- ・京都府立医科大学
- ・東京農工大学

オンラインSPE-GCシステムと固相脱水誘導体化法

固相抽出・固相脱水誘導体化を行い
GC注入までを自動化するシステム

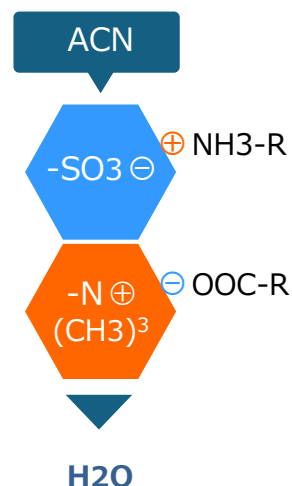
前処理ユニット

送液ユニット



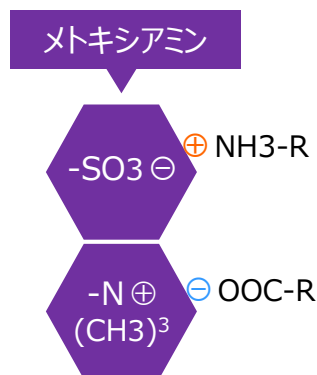
脱水 / 1分

ACNで固相に残存している水分を除去



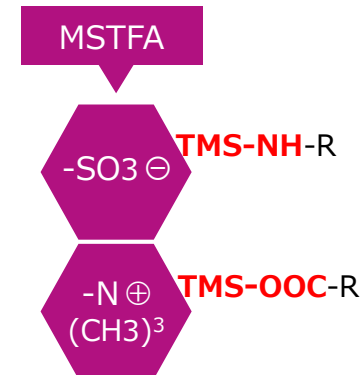
誘導体化 / 3分

メトキシアミンを固相に含浸させ、目的成分を固相中で**メトキシ化**

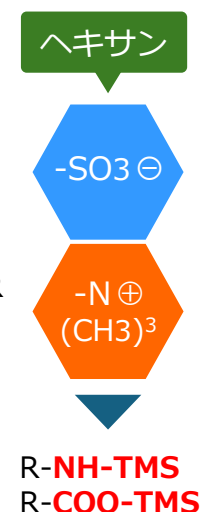


誘導体化 / 1分

MSTFAを固相に含浸させ、目的成分を固相中で**TMS化**

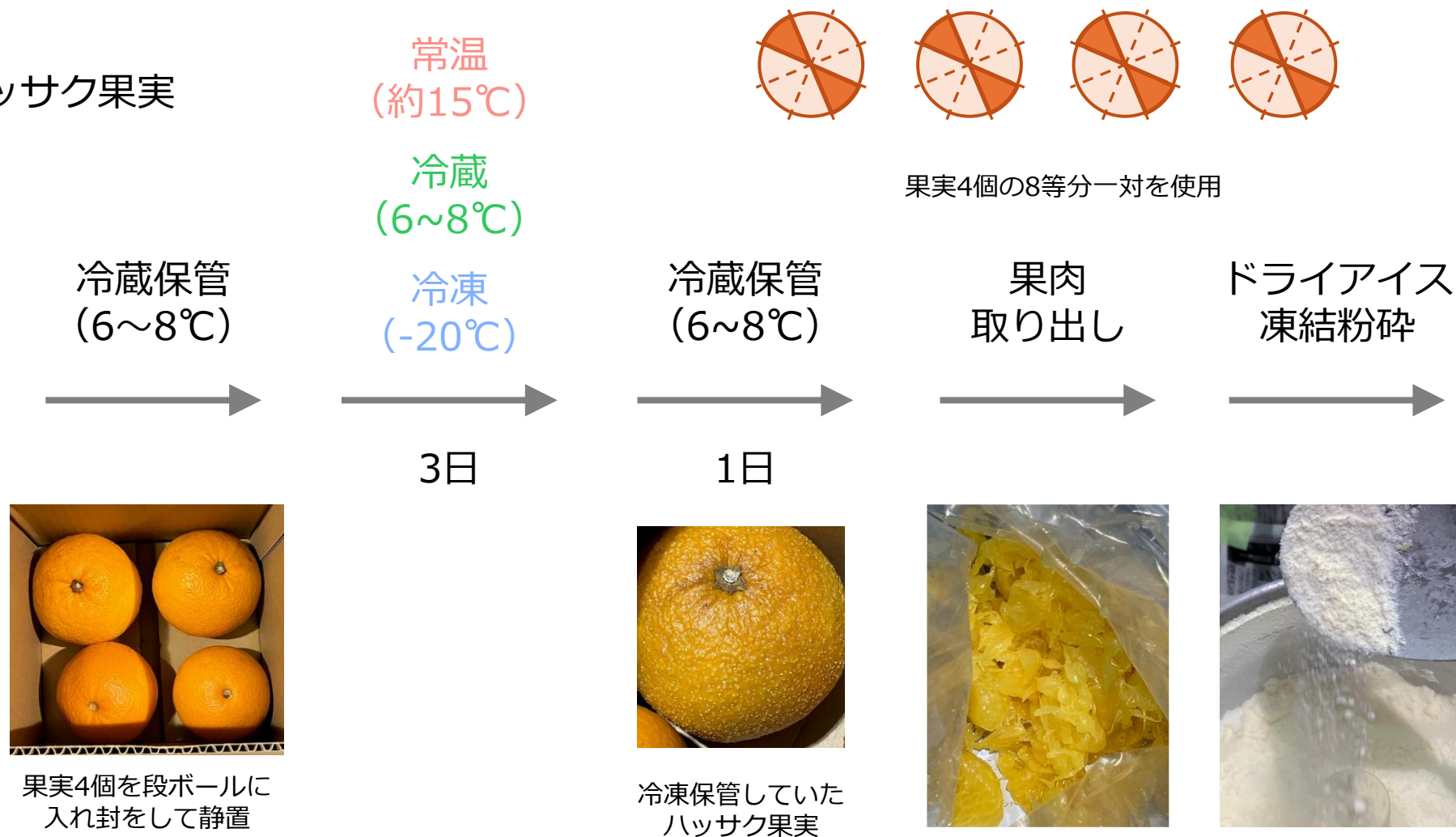


溶出



サンプル処理

試料：ハッサク果実



前処理手順（アミノ酸・有機酸・糖類）

凍結粉碎試料 0.2~0.3 g

— 添加：IS-水 試料当量

分取：50 μ L

— 添加：ACN 200 μ L

振盪（37°C, 1000 rpm, 10 min）

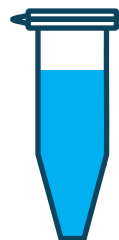
遠心分離（14000 rpm, 3 min）

試料抽出液

試料抽出液 100 μ L

— 希釈：ACN-水(4/1) 900 μ L

— pH調整：0.2M NaOH 20 μ L



希釈倍率：100倍
pH：8~9

検液 50 μ L

Presh-SPE ACXs（保持）

— 洗浄：ACN-水(1/1)

— 脱水：ACN

検液 3 μ L（ACNと固相上部で混合）

— 脱水：ACN 100 μ L

— 乾燥：窒素パージ

— 誘導体化試薬を含浸（固相誘導体化反応）
20 mg/mL メトキシアミン-ピリジン溶液 4 μ L, 15分

— 誘導体化試薬を含浸（固相誘導体化反応）
MSTFA/ヘキサン(1/1) 10 μ L, 1 min

溶出：ヘキサン（全量注入）

測定：GC/MS スプリット注入 50:1

コンディショニング
水
ACN-水(1/1)

全自動前処理

約25分/検体

GCMS分析条件

PTV Injector

Instrument	LVI-S250 (AiSTI Science)
Insert type	Spiral insert
Injector temp.	220°C (0.5 min) -100°C/min-290°C

GC

Instrument	7890B (Agilent)
Split	50:1
Flow mode	Constant flow, 1.0 mL/min
Pre-column	0.25 mm i.d. × 0.5 m
Column	InertCap-5HT, 0.25 mm i.d. × 30 m, df=0.25 µm
Oven temp.	100°C (2 min) -10°C/min-320°C (2 min) , Total 26.0 min
Transferline temp.	290°C

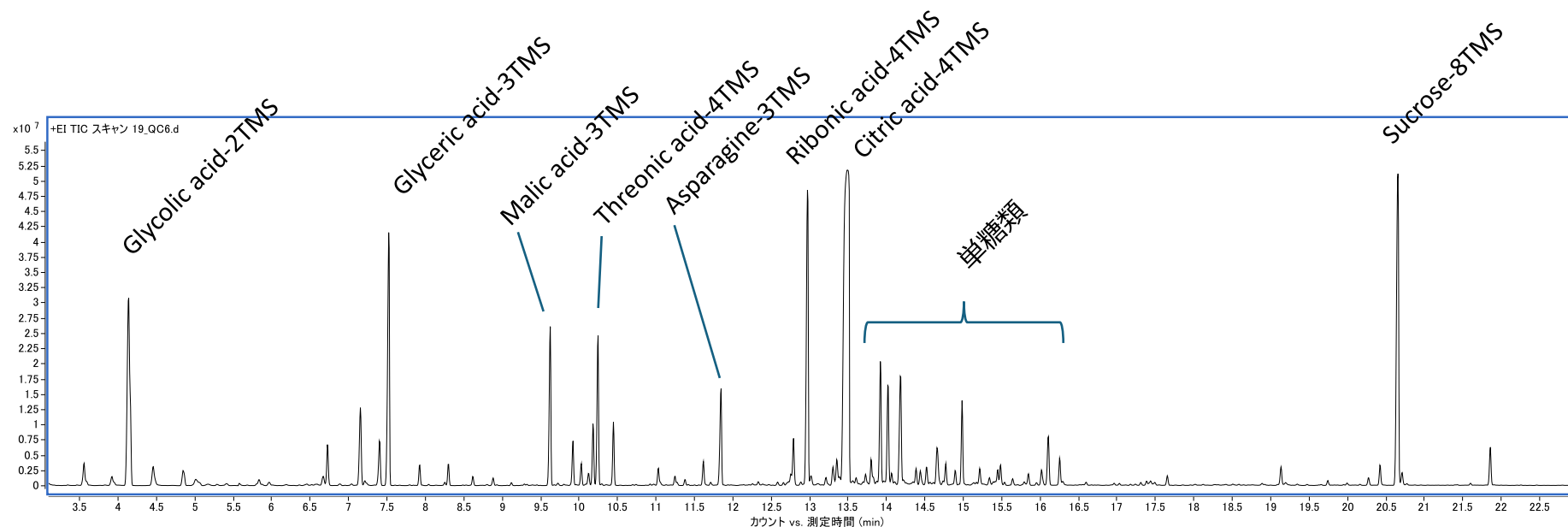
MS

Instrument	5977B (Agilent)
Ion source temp.	260°C
Acquisition mode	Scan (m/z 70-600)

トータルイオンクロマトグラム

Pooled Quality Control 試料

... すべての抽出液を混合し、分析バッチ内で一定時間ごとに測定される試料



**試料負荷を2回（50 μ L : アミノ酸・有機酸、3 μ L : 糖類）に分けることで
糖類の多い果実試料でもアミノ酸・有機酸・糖類を一斉分析可能**

検出ピークおよび同定結果

有機酸（14ピーク）

Oxalic acid_2TMS
 Malonic acid_2TMS_major
 Glyceric acid_3TMS
 Fumaric acid_2TMS
 Malonic acid_3TMS_minor
 Malic acid_3TMS
 Threonic acid_4TMS
 Oxoglutaric acid_1MO_2TMS_major
 Glutamic acid_3TMS
 cis-Aconitic acid_3TMS
 Citric acid_4TMS
 Gluconic acid_6TMS
 Glucaric acid_6TMS_major
 Linoleic acid(C18:2 n-6)_1TMS

アミノ酸（14ピーク）

N-Methylalanine_2TMS
 Valine_2TMS
 Isoleucine_2TMS
 Proline_2TMS
 Glycine_3TMS
 Serine_3TMS
 Threonine_3TMS
 Aspartic acid_3TMS
 Pyroglutamic acid_2TMS
 γ-Aminobutyric acid_3TMS
 Asparagine_4TMS_minor
 Phenylalanine_2TMS
 Asparagine_3TMS_major
 Tyrosine_3TMS

糖類（11ピーク）

Fructose_1MO_5TMS_1
 Fructose_1MO_5TMS_2
 Mannose_1MO_5TMS_major
 Glucose_1MO_5TMS_major
 Galactose_1MO_5TMS_minor
 Glucopyranose_5TMS_minor
 myo-Inositol_6TMS
 Fructose-6-phosphate_1MO_6TMS
 Glucose-6-phosphate_1MO_6TMS_minor
 Sucrose_8TMS
 Trehalose_8TMS

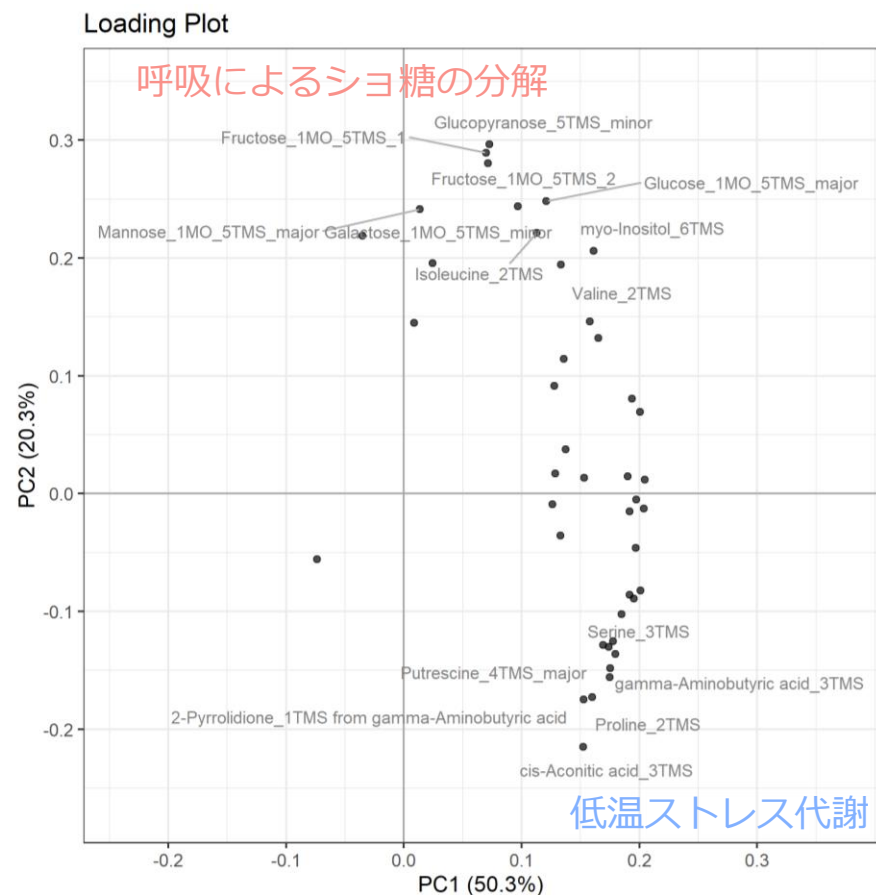
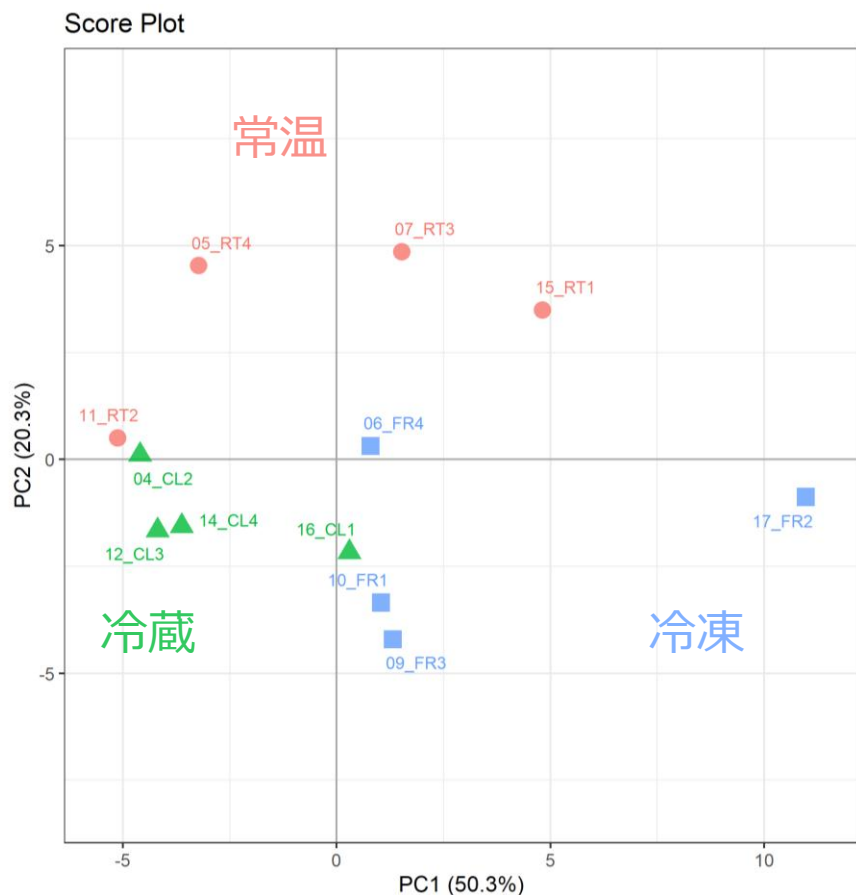
その他（4ピーク）

2-Pyrrolidione_1TMS
 Ethanolamine_3TMS
 Phosphoric acid_3TMS
 Putrescine_4TMS_major

合計 43 ピーク

※ インハウスライブラリによる類似検索結果
（EIマススペクトルおよび保持指標）

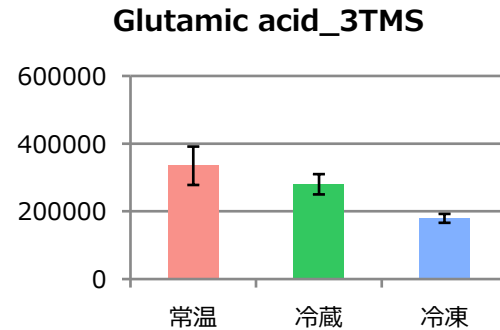
主成分分析結果



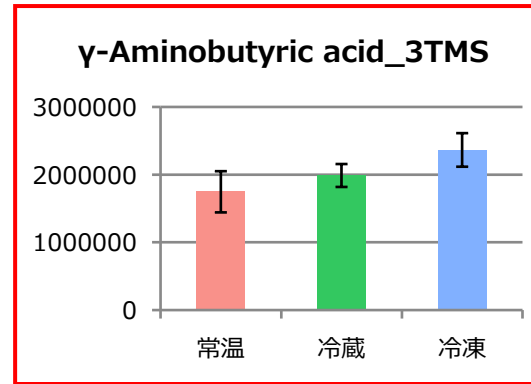
Transform: None | Scaling: Auto scaling | Filter: Unknown Excluded = TRUE

保蔵温度に応じたクラスターが確認 → 異なる代謝反応が観察された

保蔵温度依存的変化が見られた成分

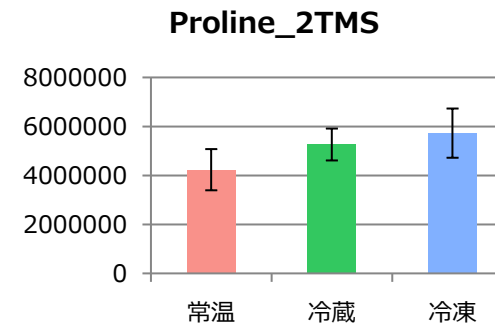
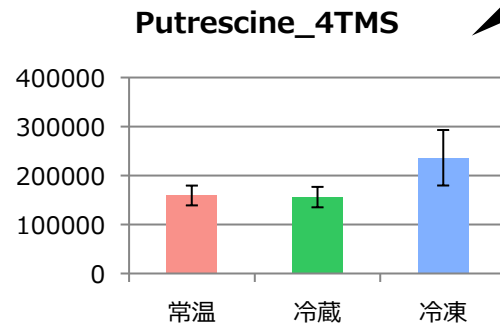


H⁺の消費による
酸性化抑制



低温ストレス耐性
(浸透圧調整、活性酸素の除去)

Δ1-Pyrroline

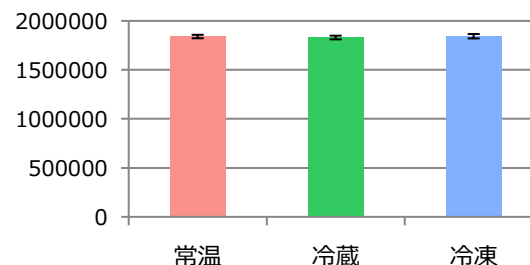


Xu M *et al.*, Front Plant Sci. (2022) doi: 10.3389/fpls.2022.1035414

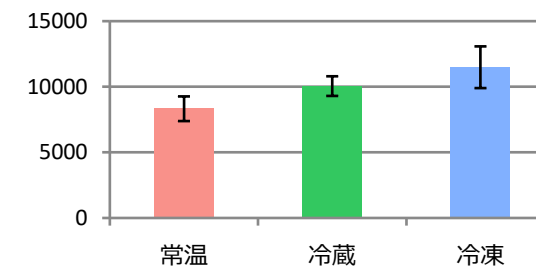
TCA回路

Oxaloacetic acid

Citric acid_4TMS

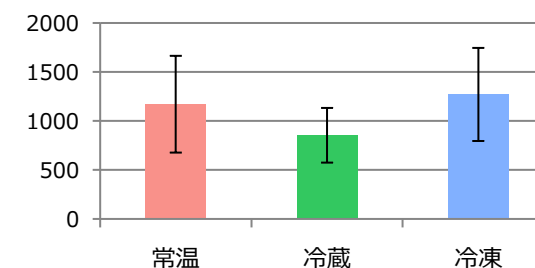


cis-Aconitic acid_3TMS



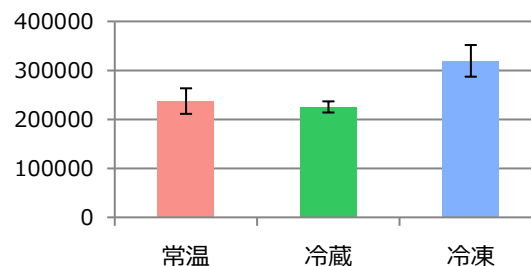
α-Isocitric acid

Oxoglutaric acid_1MO_2TMS



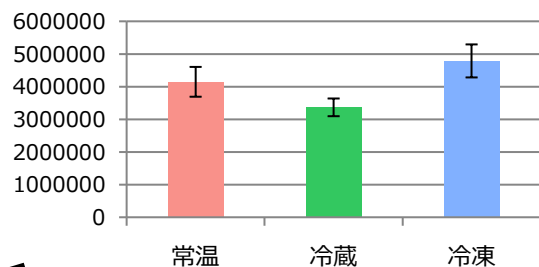
Succinyl-CoA

Succinic acid_2TMS

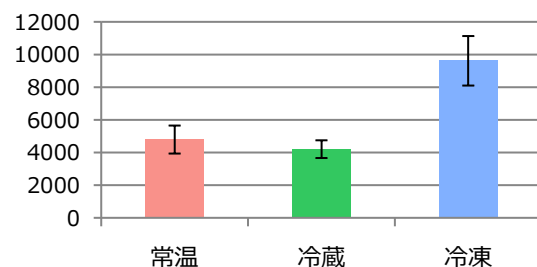


AiSTI SCIENCE

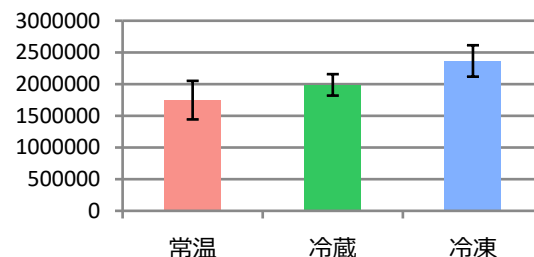
Malic acid_3TMS



Fumaric acid_2TMS



γ-Aminobutyric acid_3TMS



まとめ

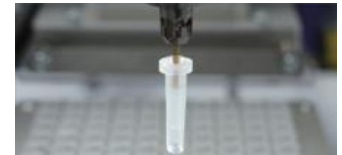
固相誘導体化法の特徴

- **脱水や誘導体化反応が数分で完了**し、測定までのスループットが向上
- 糖類などの**非イオン性成分を除去**することが可能



貯蔵ハッサク果実への適用

- 炭水化物比率の高い果実でも**アミノ酸・有機酸を網羅的に検出**
- 低温ストレスに関連する**GABAやプロリン**などの変動を確認



ご清聴ありがとうございました

ホームページにて製品情報・技術情報を多数公開中！！
詳細はHPの下記フォームよりお問い合わせください



株式会社
アイスティサイエンス

Tel. **073-475-0033** E-mail. **as@aisti.co.jp**

English

お問い合わせ



Metabolomics PFAS ソリューション ▾ 製品情報 分析方法 技術資料 テクニカルサポート お知らせ 会社概要