

应用纪要

自动化甲基叔丁基醚(MTBE)样品萃取：一种使用Andrew+移液机器人的高通量、灵活且易于部署的工作流程

Adam King, Lee A. Gethings, Robert S. Plumb

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

仅供研究使用，不适用于诊断。

您想进一步了解Andrew+移液机器人吗？

申请产品演示

摘要

利用OneLab和Andrew+移液机器人实现代谢组学样品前处理自动化。

插图声明

Andrew+移液机器人简化了脂质和小分子分析中的MTBE萃取方法

简介

代谢组学研究通常涉及复杂生物基质中小分子和脂质的分析。由于这些研究中目标化合物的理化特性范围宽泛，因此需要采用多种萃取和分析方法来获得所需的分子覆盖率¹。在涉及成百上千个生物样本的大规模流行病学研究中，这些挑战更加突出，科学家不得不完成大量移液步骤，如果需要多次萃取，还需要大体积样本²。

以单一萃取方法获得广泛的化合物覆盖率对于提高实验室样品分析通量至关重要。然而，单一的液液萃取方案比代谢组学研究中常用的常规“稀释注入”萃取法更为复杂和耗时。

Matyash等人提出的单一萃取方案³概述了一种液液萃取方法，该方法在代谢组学实验室中常规用于从血浆和组织中提取脂质。使用甲基叔丁基醚(MTBE)、甲醇和水，在相分离后将脂质萃取到一层有机溶剂中，继而可以分析下层水相中的极性小分子（图1）。

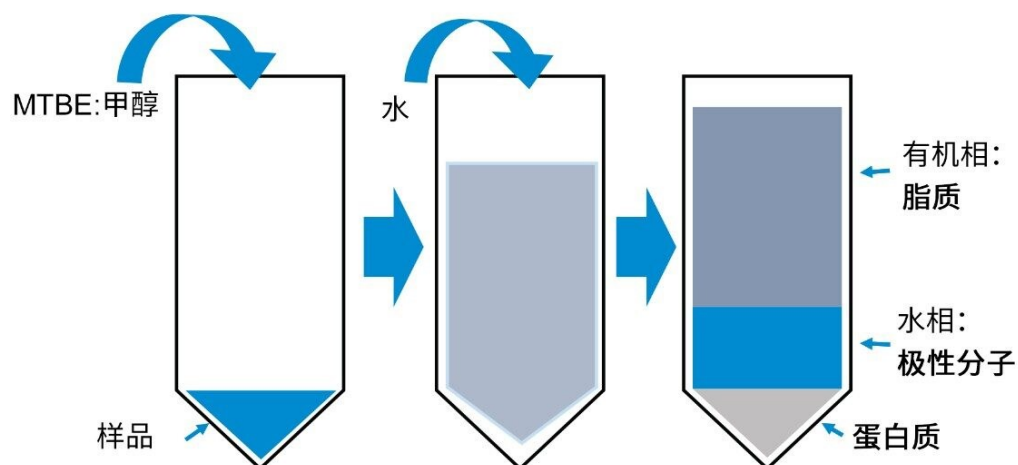


图1.从生物基质中提取脂质和极性分子的MTBE萃取程序

自20世纪90年代以来，临床实验室一直在常规分析中运用自动化液体处理装置对大量患者样品运行经验证的萃取方案，显著减少了人工干预需求^{4,5}。但是，其中许多自动化液体处理平台的体积较大，占用的实验室空间甚至大

于科学家用于样品前处理的空间。此外，编程设置样品前处理方案可能会很困难，需要针对每种平台所需的软件和单机PC进行大量的培训。

本应用简报介绍了如何使用Andrew+移液机器人、OneLab方案设计和执行软件对人痰液样本执行MTBE萃取以进行代谢表型分析。

结果与讨论

利用自动化移液机器人有助于挽回浪费在样品前处理上的大量时间。本研究采用Andrew+移液机器人对人痰液样本运行MTBE液液萃取方法。萃取程序的每个步骤均在方案设计软件OneLab中设置，利用该软件选择适合样本体积的实验室器皿并添加至设计页面（图2a）。图2b显示了萃取程序的第一步：由Andrew+机器人移取200 μ L甲醇加入各个含有100 μ L研究样本的Eppendorf管中。方案中添加甲醇后的第二步（图2c）是向每个样本中加入800 μ L MTBE。方案中纳入了手动用户操作步骤，即留一定时间让每个样本进行短暂的涡旋混合，随后在2~8 $^{\circ}$ C下温育1 h，再让其返回Andrew+机器人。返回后，移取300 μ L去离子水加入样本Eppendorf管中（图2d），再加一个用户操作步骤进行样品涡旋混合和离心（在4,500 \times g下离心10 min），以分离沉淀的蛋白质并实现相分离。OneLab方案的最后一步包括将相分离的两相提取物等分装入单独的样品瓶中（图2e）。

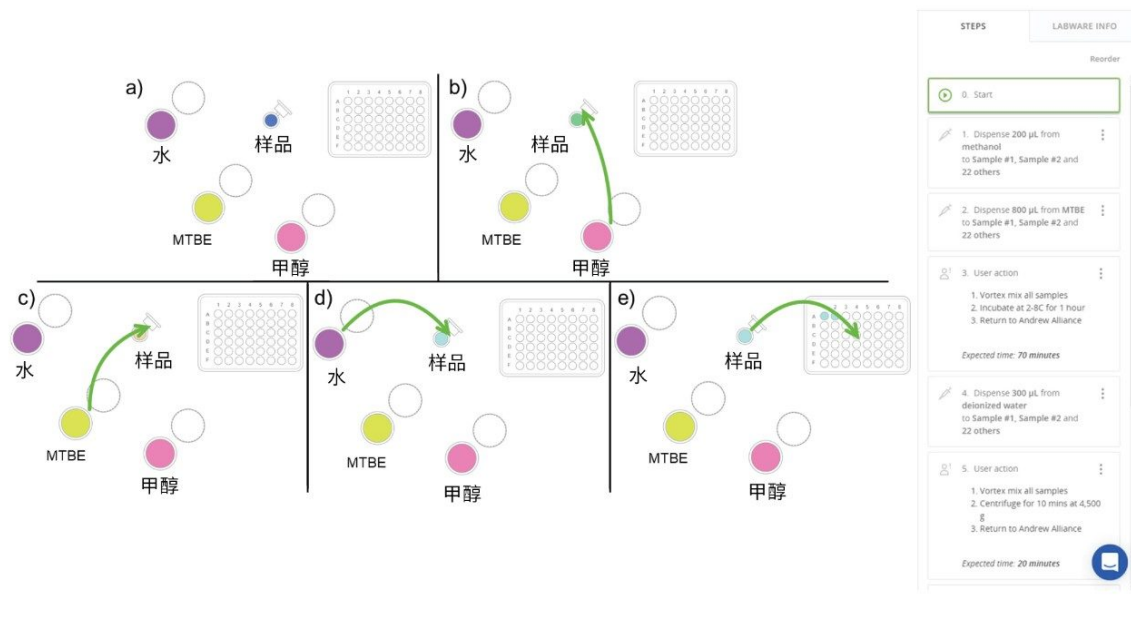


图2. OneLab方案设计，突出显示了所选实验室器皿和MTBE样品前处理步骤（a至e），可以看到各种溶剂被添加到研究样本中，最终等分装入HPLC玻璃样品瓶中进行最终干燥和分析。

按照方案设计（或从在线数据库中加载OneLab方案），选择要执行的萃取方法。图3为MTBE萃取方案所需的Andrew+机器人设置，显示了Domino位置以及每个Domino的内容，确保移液吸头数量、萃取溶剂体积和研究样本均正确。确认Domino设置后，自动萃取程序开始萃取之前等分装入1.5 mL Eppendorf管的24个人痰液样本（100 µL）。完成该方案后，将萃取液的上层有机相置于氮气环境中干燥，然后用异丙醇复溶后进行LC-MS分析。下层水相用乙腈稀释，使水相样本与乙腈的组成为1:1，进行HILIC分析。



图3. Andrew+ 机器人示意图，显示了每个Domino的定位以及所选方案所需的内容

所得相分别在SYNAPT XS上使用脂质反相色谱法（有机相）和基于HILIC的极性代谢物梯度分析法（水相）单独分析。图4显示了在正离子模式下利用两种采集方法分析人痰液样本提取物得到的代表性色谱图，证明极性代谢物（小分子和极性脂质）与非极性脂质的回收率良好。

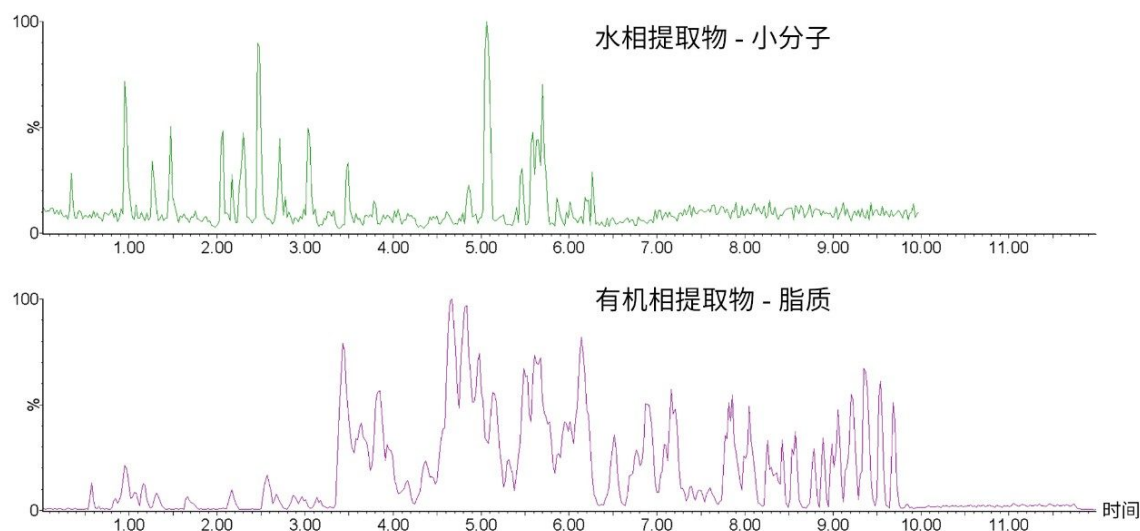


图4.人痰液样本经MTBE萃取后所得水相和有机相的代表性色谱图

结论

除在下层水相中提取极性代谢物以外，MTBE脂质萃取方法还能够从生物基质中回收各种脂质，使用单一萃取程序即可完成所有操作。OneLab软件可实现灵活且简单直接的方案设计，轻松适应各种实验室器皿和样品体积。

与完全手动的制备程序相比，Andrew+机器人具有更高的通量，可使24个生物样本的制备时间缩短约30 min。自动化制备包括全自动移液（用时超过1 h），使分析人员能够专注于其他活动（例如仪器设置）。

参考资料

1. Sarafian, M.H., *et al.*, Objective Set of Criteria for Optimization of Sample Preparation Procedures for Ultra-High Throughput Untargeted Blood Plasma Lipid Profiling by Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal Chem*, 2014.86(12): p. 5766–74.
2. Dunn, W.B., *et al.*, Procedures for Large-Scale Metabolic Profiling Of Serum and Plasma Using Gas

Chromatography and Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. *Nat Protoc*, 2011.6(7): p. 1060-83.

3. Matyash, V., *et al.*, Lipid Extraction by Methyl-Tert-Butyl Ether for High-Throughput Lipidomics. *J Lipid Res*, 2008.49(5): p. 1137-46.
4. Boyd, J.C., R.A. Felder, and J. Savory, Robotics and the Changing Face of the Clinical Laboratory. *Clinical Chemistry*, 1996.42(12): p. 1901-1910.
5. Richter, S., *et al.*, Small Molecule Screen in Embryonic Zebrafish Using Modular Variations to Target Segmentation. *Nat Commun*, 2017.8(1): p. 1901.

特色产品

在LC和LC-MS样品前处理工作流程中实现自动化液体处理 <

<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135070059>>

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

SYNAPT XS高分辨率质谱仪 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135020928>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

720007303ZH, 2021年7月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号