

METABOLOMICS GENOMICS INFORMATICS PROTEOMICS  
 ONCHNSCOHPCNSHCOPHSNCPONHSONPHSCO  
 HSNPOCHNCOSHHPNOHCPNOSCPHCNPOCNHOS

## メタボロミクスにおける GC/MS、LC/MS 選択の重要性

内因性代謝物質は広範囲に及ぶため、真に包括的にメタボローム研究を行うためには、GC/MS と LC/MS の両方の分析技術が必要です。しかし、実際には、メタボロームの実験では、代謝物質の化学的性質、サンプルマトリックス、コストなどの要因が、GC/MS と LC/MS の選択に影響を及ぼしています。このセレクションガイドでは、GC/MS と LC/MS の特性について確認し、選択する際の検討事項について紹介します。メタボロミクスワークフローのさまざまな段階で使用される GC/MS と LC/MS の選択の要素についても言及します。

### GC/MS 分析

ガスクロマトグラフ (GC) と質量分析装置 (MS) を組み合わせた GC/MS は、揮発性化合物の分析に非常に有効な装置です。ガスクロマトグラフは、キャリアガスを用いて測定する化合物 (サンプル) をコーティングされたキャピラリカラムの中を移動させます。分離は、気相とコーティングされたキャピラリカラム内面の固定相の間で起こります。GC/MS では、キャピラリカラムに導入するサンプルを気化させます。そのために、サンプルは揮発性であるか、誘導体化して揮発させる必要があります。

図 1 には、測定対象と適合する測定手法を示しました。GC/MS 分析に適したサンプルとしては、揮発性のため LC/MS 法では上手くイオン化しない植物テルペンやエッセンシャルオイルなどがあります。誘導体化を行うことにより、遊離脂肪酸も GC/MS で測定正可能です。GC は分解能が高いため、HPLC では分離が困難な構造的に似た脂肪酸の分離が可能になります。遊離脂肪酸に対して、GC/MS は LC/MS よりも高い感度を示します。GC/MS に適合する他の測定対象化合物には、ステロイド、ジグリセリド、モノ、ジ、トリ-サッカライド、糖アルコールなどがあります。

電子衝撃イオン化 (EI) は最もよく使用される GC/MS のイオン化法です。これは非常に堅牢で再現性の高い方法で、イオンサプレッションの影響を受けません。電子衝撃イオン化により、固有のマスペクトル解裂パターンが生じるため、未知化合物からの EI スペクトルを、スペクトルライブラリで検索することにより、同定を行います。

シンプルな同定メソッドでは、バックグラウンドを差し引いた EI スペクトルと、NIST ライブラリなどの汎用 EI ライブラリで検索を行います。さらに強力な同定方法には、化合物の予想リテン

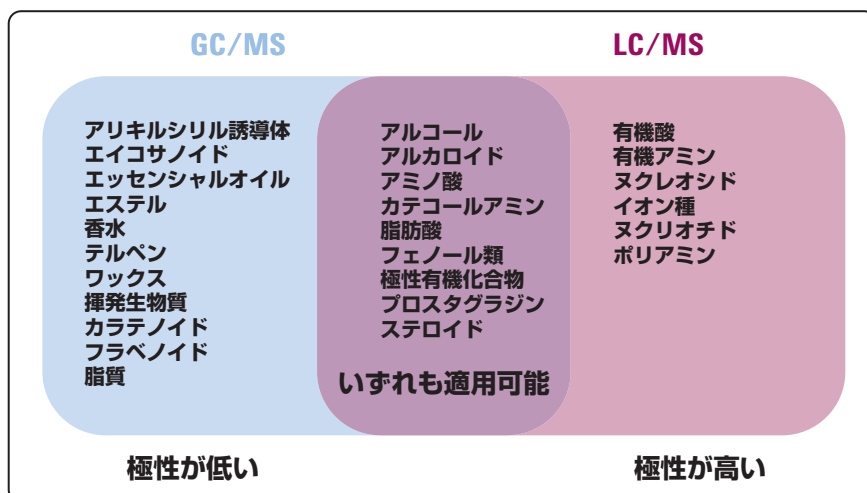


図 1. 測定対象と適合する測定方法

ションタイムと EI スペクトルを含むアプリケーション固有のライブラリに対して、測定対象化合物のリテンションタイム、マススペクトルの両方を検索することが必要となります。最近では、カリフォルニアの UC Davis との共同プロジェクトで開発された、一次代謝物を含め約 1000 の代謝物質が登録された Fiehn メタボロミクス GC/MS ライブラリも検索に使用できるようになりました。

EI では、分子イオンの消失がしばしば起こります。代謝物質スペクトルが検索中のライブラリにない場合、分子イオンの質量情報がないため、可能性のある物質の数を限定することが難しくなります。補完的に化学イオン化 (CI) を使用して分子イオンを得ることができますが、EI 解裂による構造情報を得ることはできません。そのため、GC/MS では、対象がわかっている、あるいは予測されている代謝物質の分析に適しています。

GC/MS システムのコストは、LC/MS システムに比べ、大幅に低くなります。

### LC/MS 分析

液体クロマトグラフは、不揮発性の代謝物質や誘導体化されていない代謝物質を分離できます。結果として、LC/MS では GC/MS よりも広範囲のサンプルを分析できます。

一般に LC/MS で分析されるサンプルには、アミノ酸 (20 種類のアミノ酸のうち 18 種類を誘導体化できますが、残りの 2 種類は不可) と三量体より大きな糖があります。エレクトロスプレーイオン化 (ESI) と大気圧化学イオン化 (APCI) が、LC/MS でよく使用されるイオン化法です。GC/MS の EI と異なり、ESI と APCI の両方でイオンサプレッションが起こる可能性があるため、共溶出化合物を過小評価したり、全く検出しない恐れがあります。そのため、複雑なサンプルの場合、信頼性の高い LC/MS 結果を得るために、よりよく分離する必

要があります。GC/MS と異なり、LC/MS では常にサンプルの同定に使用できる分子イオンを生成しています。

LC/MS には同定用のスペクトルライブラリはありません。しかし、LC/MS の分析では常に分子イオンが存在するため、その質量のデータを使用し、METLIN データベースなどの代謝物質のデータベースを検索できます。さらに、精密質量が測定できる飛行時間型質量分析計の開発により、分子イオンからの組成式の計算が可能になりました。未知代謝物質をより正確に同定するには、次のステップとして Q-TOF MS での MS/MS 解裂が必要になります。

LC/MS は、未知代謝物質の検索や、揮発性がなく GC/MS では分析できない化合物を測定する場合の手法として最適です。

しかし、LC/MS システムは、GC/MS システムよりもコストは若干高くなります。

### LC/MS メタボロミクスシステムの情報

メタボローム研究用の LC/MS システムは、GC/MS システムに比べ、選択肢が豊富です。ワークフローのさまざまな

段階において、最適な装置をアジレントは提供します。TOF LC/MS システムは精密質量データから簡単にプロファイリングが可能です。Q-TOF LC/MS システムはプロファイリングにも使用で

きますが、同定のために必要な MS/MS データと精密質量データの両方を得られます。トリプル四重極 LC/MS システムは、ハイスルーブットのターゲットバリデーションに最適です。

### メタボロミクスに推奨される LC/MS システム

型番	内容	LC/MS 基本 プロファイリング システム	LC/MS 詳細 プロファイリング システム	LC/MS ID システム	LC/MS バリデーション システム
<b>LC</b>					
<b>1200 シリーズラピッドレゾリューション</b>					
G1312B	バイナリ SL ポンプ	X	X	X	X <sup>1</sup>
オプション 031	溶媒切り替え	X	X	X	X
G1379B	デガッサ	X	X	X	X
G1367C	高性能オートサンブラ SL	X	X	X	X
G1330B	ウェルプレートサンブラ用冷却モジュール	X	X	X	X
G1373A	インジェクタパーシキット	X	X	X	X
G1316B	カラム恒温槽	X	X	X	X
オプション 057	ACR 用バルブ				X
オプション 060	キャピラリキット	X	X	X	X
G1315C	ダイオードアレイ検出器	X <sup>2</sup>	X <sup>2</sup>	X <sup>2</sup>	X <sup>2</sup>
オプション 10	マイクロフローセル	X	X	X	X
オプション 18	標準フローセル	X	X	X	X
担当営業にお問い合わせ 合わせください <sup>3</sup>	カラムとアクセサリ				
<b>MS</b>					
G6220AA	6220 TOF LC/MS、ESI イオン源、 TOF ChemStation ソフトウェア、 データシステム (PC) を含む	X			
G6530AA	6530 Q-TOF LC/MS、ESI イオン源、 MassHunter ワークステーションソフト ウェア、データシステム (PC) を含む		X	X	
G6460AA	6460 トリプル四重極 LC/MS ESI イオン源、 MassHunter ワークステーションソフト ウェア、データシステム (PC) を含む				X
G1978A	マルチモード ESI/APCI イオン源	X <sup>4</sup>	X <sup>4</sup>	X <sup>4</sup>	X <sup>4</sup>
<b>ソフトウェア</b>					
G3297AA	MassHunter プロファイリング ソフトウェア Agilent TOF 用	X <sup>5</sup>	X <sup>5</sup>		
G1792AA	GeneSpring MS ワークステーション 1年ライセンス	X <sup>5</sup>	X <sup>5</sup>		X
G6825AA	METLIN パーソナル代謝物データベース	X	X		

1. 高スルーブットのバリデーションには、2 番目のバイナリポンプをお勧めします。
2. オプション。
3. カラムと関連アクセサリは、分析するサンプルの種類や実施するサンプル前処理に応じて異なります。担当のアジレント代理店またはアプリケーションエンジニアにご相談ください。
4. イオンソースのアップグレードはオプション。
5. 数種類のサンプルを分析する場合の統計解析やプロファイリングには、MassHunter プロファイリングソフトウェアよりも GeneSpring MS が適しています。

**GC/MS メタボロミクスシステムの情報**

メタボロミクスワークフローのすべての段階で、GC/MS のハードウェアとソフトウェアを使用できます。化学イオン化のオプションを追加することで、フラグ

メント情報に加え分子イオンを得ることが可能になります。これは、スペクトルライブラリで同定されなかった代謝物質の同定に役立ちます。プロファイリングやバリデーションには、多変量解析ソフトウェアの GeneSpring - MS が使用できます。

**メタボロミクスに推奨される GC/MS システム**

型番	内容	GC/MS プロファ イリング システム	GC/MS ID システム	GC/MS バリデー ション システム
G3442A	7890A GC、スプリット/ スプリットレス注入口と MSD 用インタフェースを含む	X	X	X
G3243A	5975C inert XL MSD、電子 イオン化、ChemStation ソフトウェア、PC を含む	X	X	X
G1033A	NIST 05 ライブラリ、AMDIS デコンボリューションソフト ウェアを含む	X	X	X
G1792AA	GeneSpring MS ワークス テーション 1 年ライセンス	X		X
G3245A	5975C inert XL MSD、EI/CI、 ChemStation ソフトウェア、 PC を含む		X <sup>1</sup>	
G1676AA	Fiehn メタボロミクス GC/MS ライブラリ	X	X	X
販売代理店に お問い合わせ ください <sup>2</sup>	カラムとアクセサリ	X	X	X

- EI のみを搭載した G3243A は、EI/CI を搭載した G3245A で置換できます。
- カラムと関連アクセサリは、分析するサンプルの種類や実施するサンプル前処理に応じて異なります。担当のアジレント代理店またはアプリケーションエンジニアにご相談ください。

**アジレント・テクノロジーについて**

アジレント・テクノロジーは、複雑な生物学的過程の理解、病気のメカニズムの特定、および創薬の高速化を可能にするライフサイエンス検索システムを提供するサプライヤとして業界をリードしています。アジレントのライフサイエンスソリューションは、感度、再現性、およびワークフローの生産性を高めるように設計されており、装置、マイクロフルイディクス、ソフトウェア、マイクロアレイ、消耗品、さらには、ゲノミクス、プロテオミクス、およびメタボロミクスアプリケーション用のサービスを提供します。

**詳細情報:**

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

**コールセンター:**

0120-477-111

この商品は研究専用です。診断用ではありません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2008  
Printed in Japan, August 31, 2008  
5989-6328JAJP

