

ターゲットおよびノンターゲットデータ解析 ワークフローにおける包括的な精密質量 メタボロミクスライブラリとその評価

著者

Luis Valdiviez,
Shunyang Wang,
Wasim Sandhu, Honglian Ye,
and Oliver Fiehn
West Coast Metabolomics
Center, University of
California, Davis, CA.
Sofia Nieto
Agilent Technologies, Inc.

概要

代謝物の信頼性の高いアノテーションと同定は、メタボロミクス研究において生物学的背景を提供するのに不可欠です。また、疾病状態と候補薬品により影響を受ける生化学的経路を把握し、基礎的な生体研究を発展させるのに役に立ちます。包括的なスペクトルライブラリは、生物学的パスウェイに關与している代謝物を同定し、生物学的解釈を支援するという重要な課題に対処するのに役に立ちます。このアプリケーションノートでは、新しい Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクスパーソナル化合物データベースライブラリ (PCDL)、および血漿サンプルを用いたターゲットおよびノンターゲットスクリーニングワークフローにおけるライブラリの特異性解析と評価について説明します。メタボロミクスアプリケーションでこの精密質量 GC/MS ライブラリを利用することにより、複雑な生体マトリックス中の代謝物同定の範囲を拡張し、感度と信頼性を向上できます。

はじめに

GC/MS は、ターゲットおよびノンターゲット代謝物プロファイリングに有効なツールとして以前から確立されています。また、その堅牢性とシャープなピーク形状、さらに代謝物同定で利用できる再現性の高い電子イオン化 (EI) スペクトルの生成でよく知られています。最近では、高分解能精密質量飛行時間型 (TOF) 機器の出現により、多数の生体関連分子を高い信頼性で同定するためのさらに強力なリソースを手に入れることができます。

GC/MS 質量スペクトルライブラリは、最小限の作業で即座に化合物を同定するのに不可欠なツールであることが実証されています。¹⁻⁴ リテンションタイム/インデックスと正確な質量情報により、同定した化合物の承認または却下、および偽陽性率の効果的な低減に役に立つ多数の証拠を提供します。^{5, 6} 精密質量 GC/MS ライブラリは、分析困難なマトリックスを含有しているか、または対象の化合物の分子式が複雑であるようなアプリケーション (その 1 つがメタボロミクス) に対して特に有用です。メタボロミクスアプリケーションの信頼性とスループットを向上させるのに役に立つように、生体マトリックス中に一般的に存在する化合物の精密質量リテンションタイムロック (RTL) EI ライブラリが作成されています。このライブラリには 900 を超える化合物が登録されており、幅広い化合物種が含まれています。

精密質量メタボロミクス PCDL は、ターゲットおよびノンターゲットスクリーニングワークフローで血漿サンプルを用いて試験されています。また、精密質量メタボロミクス PCDL を使用して、さまざまな組織サンプル中でオーバーラップしている独自の代謝物を同定することも実証されています。

実験方法

サンプル前処理

代謝物の誘導体化は、極性代謝物の揮発性を高めて GC/MS で分析可能にするための一般的なアプローチです。ここでは、他の文献で説明されているように、代謝物標準、血漿および組織抽出物をメトキシ化により誘導体化した後、MSTFA + 1 % TMCS でシリル化しました。⁷ 誘導体化の前に、内部標準として D27 ミリスチン酸をすべてのサンプルに添加しました。アセトニトリル:イソプロパノール:水 (3:3:2) を用いて、血漿と組織から代謝物を抽出しました。前の説明に従ってこの抽出物を乾燥させて誘導体化し、これを使用して精密質量ライブラリスクリーニングワークフローを評価しました。

データ取り込みとデータ処理

クロマトグラフィーで良好に分離されることが知られている個々の標準物質または代謝物の混合物の EI スペクトルが、精密質量高分解能 Agilent 7250 GC/Q-TOF システムを用いて取得されました。標準と抽出物を含むすべてのデータを、70 eV の EI モードで取り込みました。データ取り込みパラメータを表 1 に示します。脂肪酸メチルエステル (FAME) とアルカンを基にして、精密質量メタボロミクス PCDL 内の各化合物のリテンションインデックス (RI) を計算しました。Agilent MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアバージョン 10 を用いて、精密質量 EI フラグメントを理論上の m/z に変換しました。次に、Agilent PCDL Manager ソフトウェアバージョン 8.0 を用いて、スペクトルを精密質量メタボロミクス PCDL にインポートしました。新しいライブラリ管理ソフトウェアである Agilent ChemVista 1.0 を用いて、追加のメタデータと化学構造情報により PCDL をさらに修正しました。Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェア (Unknowns Analysis ソフトウェアツールを含む) バージョン 10.2 と 11.1 を用いて、データを処理しました。

表1. データ取り込みパラメータ

パラメータ	設定値
MS	Agilent 7250 GC/Q-TOF
GC	Agilent 7890B GC
カラム	Agilent J&W DB-5ms ウルトライナート 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm、デュラガード、10 m
注入口	スプリット/スプリットレス注入口、4 mm Agilent ウルトライナート注入口ライナ、シングルテーパ
注入量	1 μL
注入モード	スプリットレス
注入口温度	280 °C
オープン温度プログラム	50 °C で 0.5 分間、10 °C /min で 325 °C まで昇温、 10 分間保持
キャリアガス	ヘリウム
カラム流量	1 mL/min 定流量モード
トランスファライン温度	280 °C
四重極温度	150 °C
イオン源温度	200 °C
イオン化エネルギー	70 eV
イオン化電流	5 μA
スペクトル採取レート	5 Hz
質量範囲	m/z 50 ~ 1,200

結果と考察

精密質量メタボロミクス PCDL の作成

精密質量メタボロミクス PCDL 登録化合物は、一次代謝パスウェイに関連して GC/MS で分析可能な代謝物のほとんどが含まれるように選択しました。さらに、ライブラリの範囲と有用性を拡張するために、生体マトリックス中に一般的に存在する 250 を超える二次代謝物と生体異物も追加しました。

取り込んだスペクトルの各フラグメントイオンの m/z を理論上の m/z に変換するために、MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアで、フラグメント組成式の自動アノテーションを実行しました。スペクトルを PCDL にエクスポートする前に、必要に応じて自動アノテーション結果を手動で確認して修正しました (図 1)。化学構造、構造識別名 (InChI String、InChIKey、SMILES)、さまざまなデータベース識別名 (CAS、PubChem IDs など) などの残りのメタデータを、ChemVista Library Manager ソフトウェア内で追加しました。GC/Q-TOF の精密質量メタボロミクス PCDL には、RT、Kovats RI、および FAME ベースの RI が含まれています。現行バージョンのライブラリには、900 を超える精密質量 EI スペクトルと 670 を超える独自の化合物が含まれています。

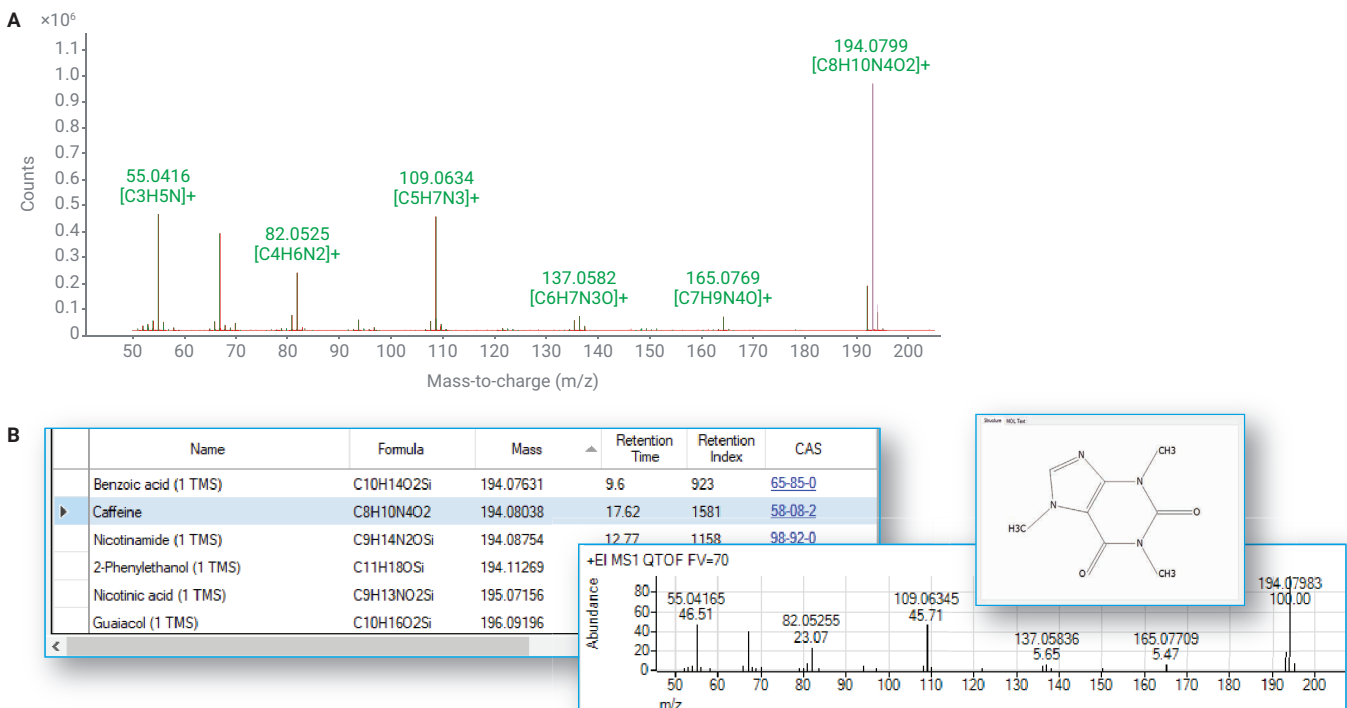


図 1. PCDL の作成。(A) スペクトル全体の m/z を理論上の m/z に変換するための自動フラグメント組成式アノテーション。(B) Agilent PCDL Manager ソフトウェアに表示されている Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL。メタデータを編集できます。

精密質量メタボロミクス PCDL とユニットマス GC/MS メタボロミクスライブラリの比較

新しい精密質量メタボロミクス PCDL と既存のユニットマス Agilent Fiehn GC/MS メタボロミクスライブラリ (Fiehn.L) を重ねて表示したものを図 2 に示します。この比較では、複数の誘導体化状態を形成できる代謝物は、1 つの化合物エンティティと見なしています。2 つのライブラリの共通部分にはほぼ 500 のエンティティが存在しており、200 に近い化合物が精密質量 PCDL 特有です。したがって、両方のライブラリは、化合物の対象範囲に関して相補的なものです。メタボロミクス PCDL には精密質量および Kovats RI というその他の利点がありますが、FAME RI ベースのユニットマスメタボロミクスライブラリも、GC/Q-TOF データを検索するのに使用できます。

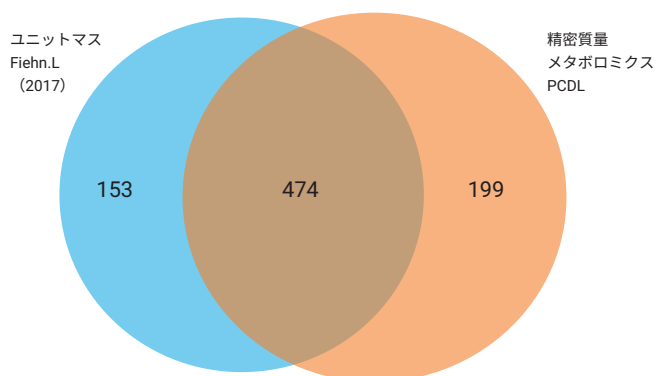


図 2. 精密質量メタボロミクス PCDL およびユニットマス Fiehn GC/MS メタボロミクスライブラリにおける独自の化合物エンティティ数の比較

ユニットマス GC/MS メタボロミクスライブラリとは異なり、精密質量メタボロミクス PCDL には、広い質量範囲 (最大 m/z 1,200) を網羅するスペクトルが含まれています。ユニットマス Fiehn GC/MS メタボロミクスライブラリはシングル四重極データをベースにしており、四重極機器のイオン透過効率率は比較的低いため、取り込むデータは m/z 600 までに制限されます。TOF 機器は、四重極システムと比較して高い m/z におけるイオン透過がより効率的になるため、誘導体化された代謝物のデータを取り込む際に有利になります。これは、そのスペクトルの多くに m/z 600 を超えるイオン、場合によっては最大 m/z 1,000 以上のイオンが含まれているためです。化合物を識別するのに有利な高質量イオンを検出できることは、精密質量 GC/Q-TOF にはスペクトル マッチングのための情報が追加されることを意味します。図 3 は、精密質量メタボロミクス PCDL とユニットマスメタボロミクスライブラリ両者の化合物スペクトルの例を示しており、GC/Q-TOF の質量範囲が拡張された点が強調されています。上の例に示されているように、メタボロミクスアプリケーションとライブラリのデータ取り込み質量範囲が広がると、化合物同定の信頼性が高くなります。

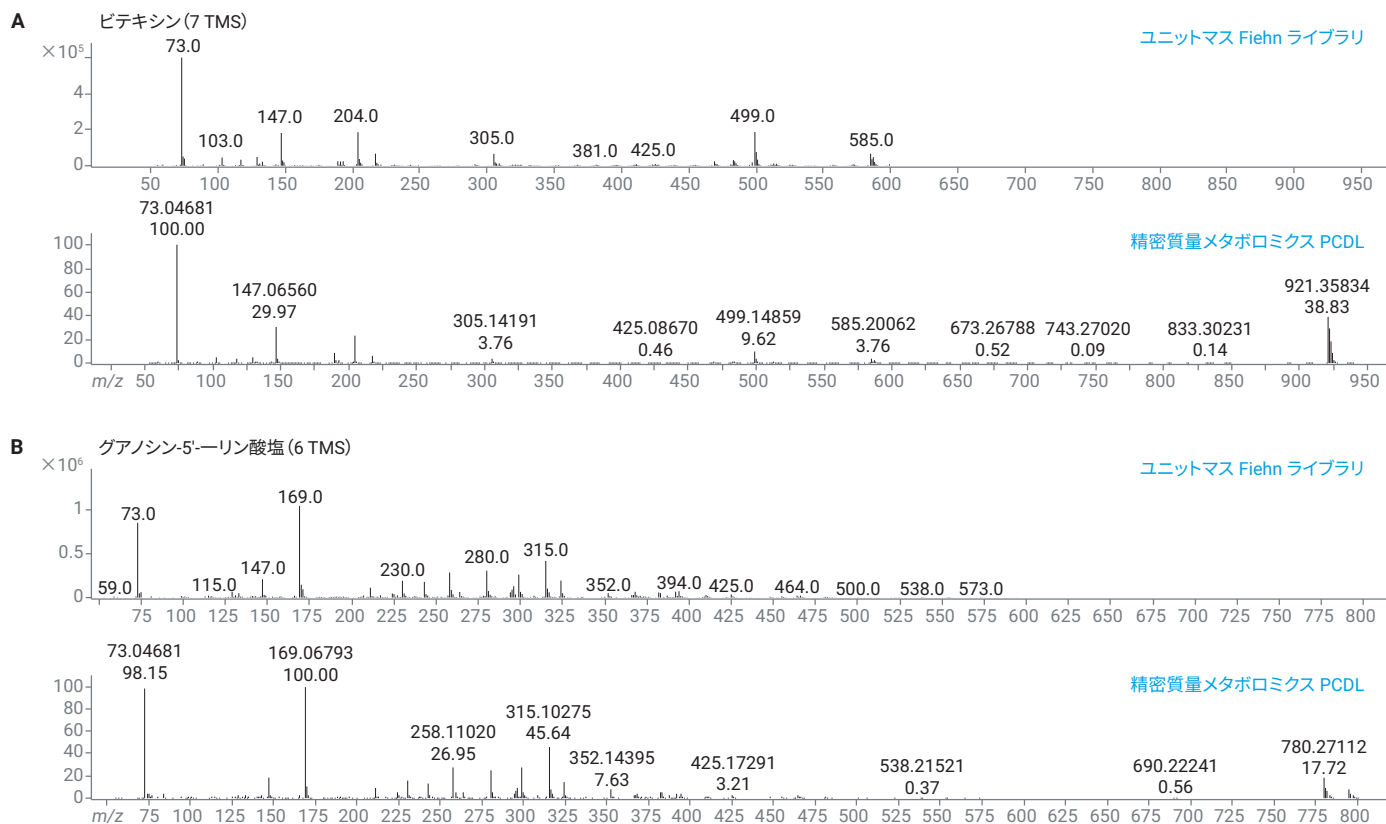


図 3. 高分子量でフラグメント m/z が大きい化合物のライブラリスpekトルの例

精密質量メタボロミクス PCDL の化合物種範囲とさまざまな組織抽出物を用いたその特性解析

現行バージョンの精密質量メタボロミクス PCDL には、GC で分析可能な多数の化合物種が含まれており、それらは図 4 のように分布しています。最も主要な化合物群として、カルボン酸、アミノ酸、炭水化物がありますが、これらは基本的な生体構成要素およびエネルギー代謝を理解するために重要になります。

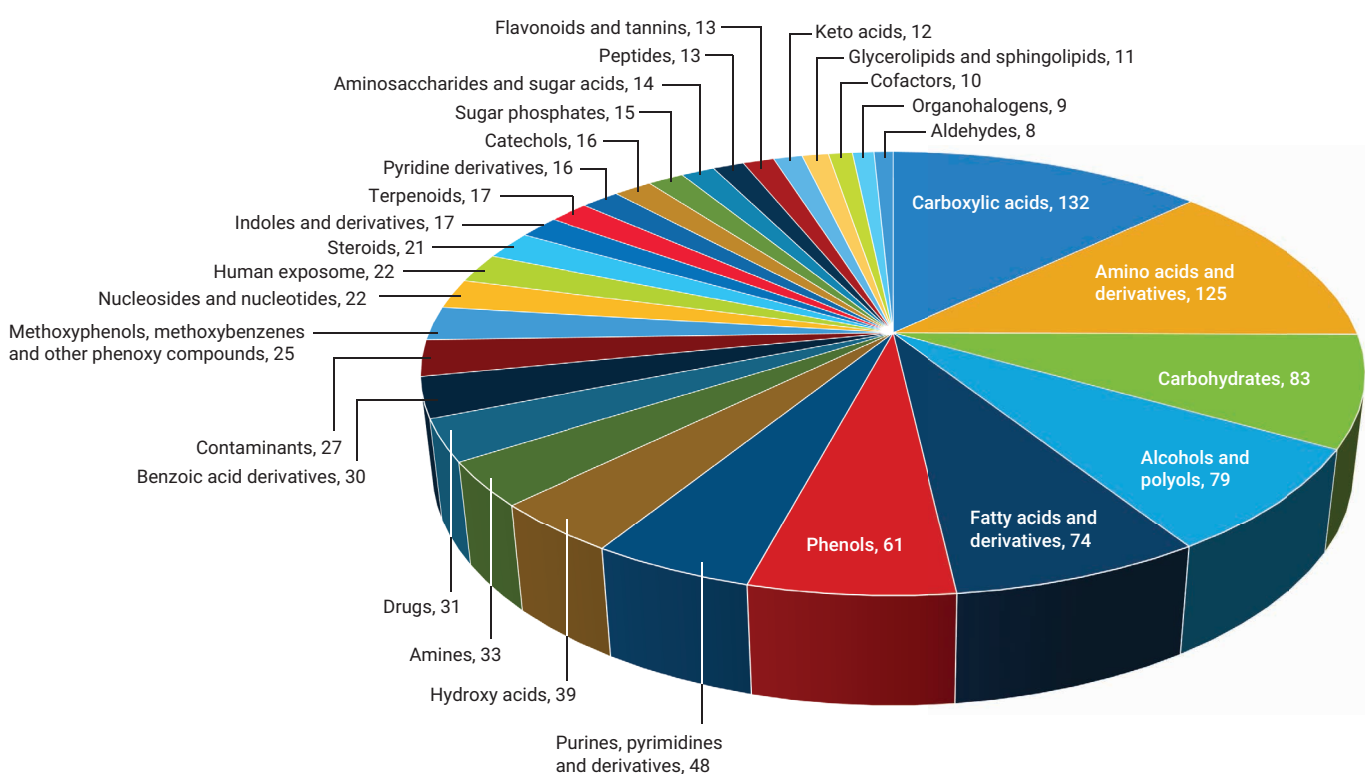


図4. Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL に含まれている化合物種

精密質量メタボロミクス PCDL と Unknowns Analysis ツールを用いて、脳、肝臓、腎臓、血漿、血清という 5 種類のマウス組織中で 200 を超える化合物を同定しました。ベン図 (図 5) に示すように、分析したすべての組織において 86 の代謝物が共通していました。ただし、各組織において数種類以上の化合物が特異的に同定されました (表 2)。予想どおり、血漿と血清では、主に有機酸で構成される最大のペアワイズオーバーラップが認められました (表 3)。肝臓と腎臓の間で、異なる組織間の別の主要なペアワイズオーバーラップが観察されましたが、これらは主にオリゴ糖とリン代謝物でした (表 3)。

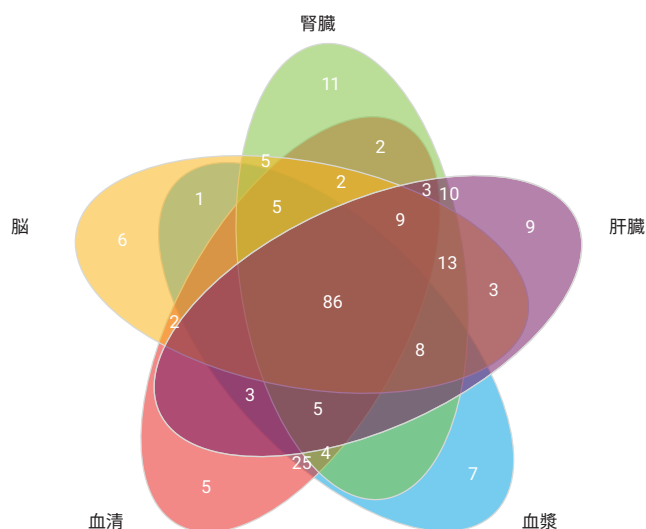


図 5. Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL で同定された、さまざまなマウス組織中の代謝物の重ね表示

表 3. 以下のマウス組織ペアの中で特異的に同定された、Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL のライブラリヒットのリスト

血漿-血清	腎臓-肝臓
2-ケトイソ吉草酸	グリセルアルデヒド
1,3-プロパンジオール	ピロリン酸塩
2-フロ酸	ジヒドロキシアセトンリン酸
2-ヒドロキシ酪酸	D-グルコース-6-リン酸
2-ヒドロキシ-3-メチル酪酸	キサントシン
2-アミノ酪酸	セロピオース 1
2-ケト-3-メチル吉草酸 1	セロピオース 2
2-ケト-3-メチル吉草酸 2	ラフィノース
2-ケトイソカプロン酸	マルトリオース 1
安息香酸	マルトリオース 2
ニコチン酸	
D-トレイトール	
4-ヒドロキシフェニル酢酸	
ラウリン酸	
フタル酸	
D-ソルビトール	
3-インドール酢酸	
3-インドールプロピオン酸	
フタル酸モノ-2-エチルヘキシル	
ステアリン酸	
ベヘン酸	
D-トレハロース	
2-ステアロイルグリセロール	
β-トコフェロール	
α-トコフェロール	

表 2. さまざまなマウス組織中で特異的に同定された、Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL のライブラリヒットのリスト

脳	腎臓	肝臓	血漿	血清
2'-デオキシシチジン	N-アセチル-L-アラニン	シトシン	N-メチル-L-プロリン	2,3-ブタンジオール
3-アミノピリジン-2(1H)-オン	β-シアノ-L-アラニン	ホモゲンチジン酸	N-アセチルグリシン	ピルビン酸
チミン	L-メチオニンスルホキシド	ヘプタデセン酸	1,2,4-ベンゼントリオール	インドール-3-乳酸
N-アセチル-L-アスパラギン酸	D-ガラクトース	5-メチルウリジン	β-グリセロリン酸エステル	セロトニン
L-アスコルビン酸	ガラクトツロン酸	ソホロース 1	ソルボース 1	フタル酸ジオクチル
5'-デオキシ-5'-(メチルチオ)アデノシン	グルクロン酸	ソホロース 2	アラキジン酸	
	H-Pro-Hyp-OH	メリピオース 1	フタル酸ビス (2-エチルヘキシル)	
	L-シスチン 1	メリピオース 2		
	L-シスチン 2	β-システロール		
	マンノース-6-ホスフェート			
	フルクトース-6-ホスフェート			

血漿サンプルを用いたターゲットおよびノンターゲットスクリーニングワークフローにおける精密質量メタボロミクスPCDLの評価

メタボロミクスでは、ターゲットおよびノンターゲット両方のアプローチが頻繁に使用されます。そこで、誘導体化された血漿抽出物を用いて、両方のワークフローで新しい精密質量メタボロミクスPCDLを評価しました。ノンターゲットワークフローはUnknowns Analysisソフトウェアで実行しましたが、ここでは偽陽性を効率的に除去するのに内蔵のExactMassツール(図6)が役に立ちました。ノンターゲットアプローチにおける精密質量メタボロミクスPCDLの潜在的な利点をより正確に理解するために、精密質量メタボロミクスPCDLのほかに、包括的なユニットマスNIST17ライブラリも試験しました。ターゲットスクリーニングワークフローはMassHunter Quantitative Analysisソフトウェアに組

み込まれており、ベースとしているのは精密質量ライブラリのみです。したがって、今回のケースでは精密質量メタボロミクスPCDLを使用しました。ターゲットスクリーニングの結果を視覚化したものを図7に示します。MassHunter Quantitative Analysisソフトウェアに実装されているターゲットスクリーニングアプローチの利点は、すべてのメソッドパラメータが化合物ごとに個別に設定できるため、柔軟性が大幅に高くなるということです。Screenerのサマリビューを使用すると、偽陽性と偽陰性を最小限に抑えるための詳細なメソッド最適化の結果を即座に確認できます。

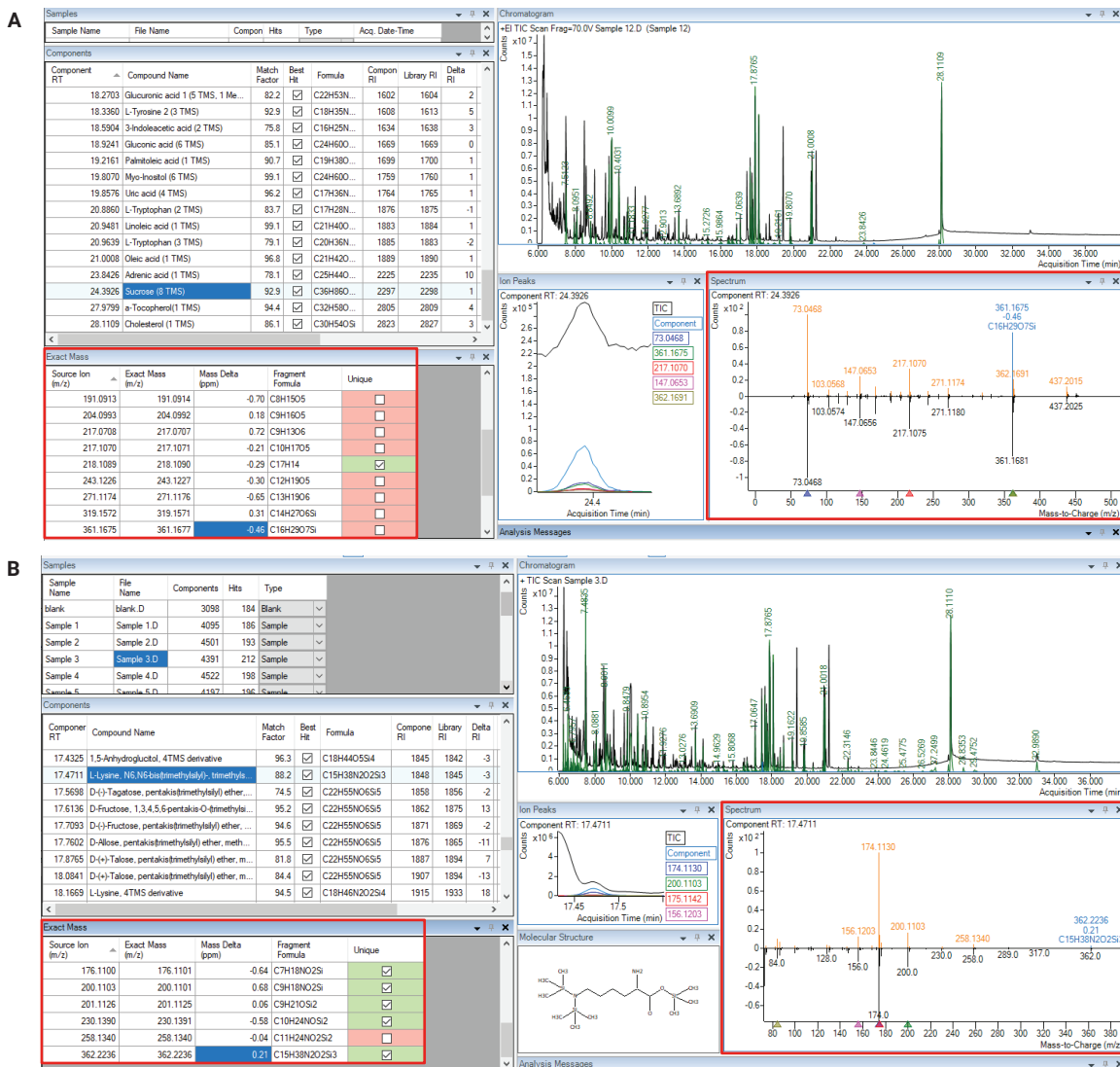


図6. (A) Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクスPCDLおよび(B) ユニットマスNIST17ライブラリを使用してAgilent Unknowns Analysisソフトウェアで実行されたノンターゲット分析の結果。赤線で囲まれた表とミラープロットに、ExactMassの結果が表示されています。ライブラリヒットした分子の組成と矛盾しない化合物スペクトルのフラグメントイオンが、オレンジと青で強調表示されています。

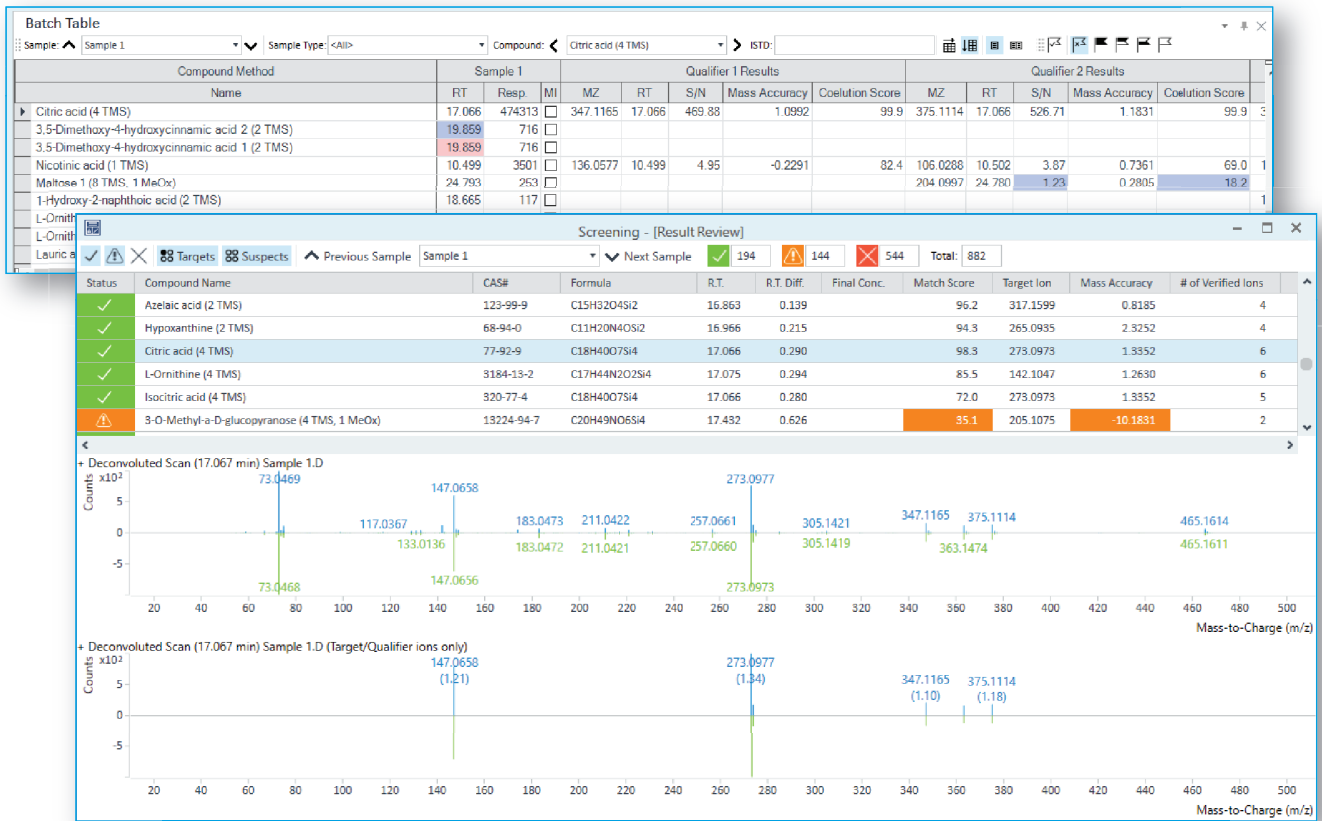


図 7. ターゲットスクリーニング結果を視覚化したもの。各化合物の詳細な情報が含まれる Quantitative Analysis の表が上部に表示されます。最も有意な結果を即座に確認できる Screener サマリウィンドウが下部に表示されます。

NIST ライブラリを用いて得られた結果を、ExactMass ツールを使用して正確な質量情報に基づいてフィルタリングすることにより、偽陽性を除去しました。いくつかの例を図 8 に示します。正確な質量情報に基づいて、サンプルあたり約 36 ~ 48 のライブラリヒットが偽陽性であると認められました。これは、ヒット数全体の約 30 % でした。精密質量メタボロミクス PCDL を使用することにより（ターゲットおよびノンターゲットアプ

ローチの両方において）、精密質量の不一致が原因の偽陽性を自動的に除去できました。これは、Screener とライブラリ検索ツールに検出機能が内蔵されているためです。

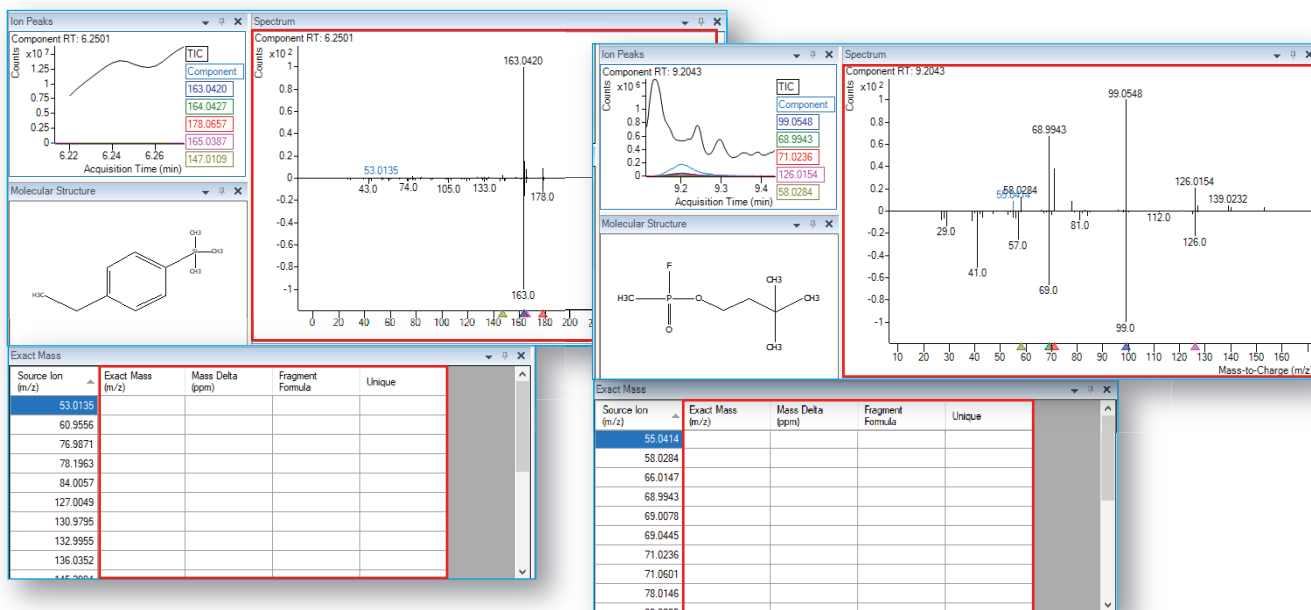


図 8. ExactMass ツールを使用して簡単に判別できる偽陽性の例。ExactMass の表が空であるため、ミラープロットには強調表示されたイオンは存在しません。NIST17 ライブラリを使用して、ライブラリ検索を実行しました。

精密質量メタボロミクス PCDL を用いたターゲットスクリーニングアプローチ、および NIST17 と精密質量メタボロミクス PCDL の両方を用いたノンターゲット分析において血漿サンプルで同定された化合物の数を比較しました（表 4）。ほとんどの場合、NIST を使用した場合と比較して、精密質量メタボロミクス PCDL を使用した場合の方がより多数の化合物が同定されました。ただし、興味深いことに、ターゲットおよびノンターゲットアプローチは、それぞれのメソッドで同定された特定の化合物に関して相補的でした。

メタボロミクス PCDL を用いて、血漿中の一次および脂質代謝に関係するさまざまな極性および非極性代謝物を高い信頼性で同定しました。これらを表 5 に示します。スペースの関係上、両方のワークフローでライブラリー一致スコアが > 80 と高いライブラリヒットのみを表示しています。

表 4. ユニットマスおよび精密質量ライブラリ（それぞれ、NIST17 および Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL）を用いた別のスクリーニングアプローチで同定された化合物の数

サンプル名	同定された化合物の数		
	Screener	UA PCDL	UA NIST
サンプル A	153	151	140
サンプル B	149	146	144
サンプル C	151	146	138
サンプル D	152	146	143
サンプル E	145	138	145
サンプル F	141	141	139
サンプル G	139	148	146
サンプル H	164	144	147
サンプル I	146	139	131
サンプル J	152	148	136
サンプル K	151	146	132
サンプル M	168	151	140
サンプル N	167	152	157

表 5. Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL を用いたターゲット (Screener) およびノントarget (UA) アプローチで同定された血漿中の化合物。
表には、両方のアプローチでライブラリー一致スコアが > 80 で同定された化合物のみが表示されています。

RT	化合物名	誘導体化後の組成式	UA ライブラリー一致 スコア	Screener ライブラリー スコア
6.48	ホウ酸	C ₉ H ₂₇ BO ₃ Si ₃	93.2	82.1
7.33	L-乳酸	C ₉ H ₂₂ O ₃ Si ₂	95.4	83.8
8.39	2-ヒドロキシブタン酸	C ₁₀ H ₂₄ O ₃ Si ₂	96.7	99.6
8.78	p-クレゾール	C ₁₀ H ₁₆ O ₂ Si	85.3	99.6
8.85	L-ロイシン	C ₉ H ₂₁ NO ₂ Si	81.3	98.5
8.85	3-ヒドロキシ酪酸	C ₁₀ H ₂₄ O ₃ Si ₂	95.6	81.9
8.90	2-ヒドロキシ-3-メチル酪酸	C ₁₁ H ₂₆ O ₃ Si ₂	92.2	92.6
9.58	2-ケトイソカプロン酸 2	C ₁₀ H ₂₁ NO ₃ Si	94.2	97.4
9.85	エタノールアミン	C ₁₁ H ₂₁ NO ₂ Si ₃	97.6	98.9
10.14	安息香酸	C ₁₀ H ₁₄ O ₂ Si	96.8	99.6
10.21	L-セリン	C ₉ H ₂₂ NO ₃ Si ₂	98.0	98.8
10.40	リン酸	C ₉ H ₂₇ O ₄ PSi ₃	89.3	98
10.78	L-プロリン	C ₁₁ H ₂₅ NO ₂ Si ₂	93.8	99.7
10.89	グリシン	C ₁₁ H ₂₉ NO ₂ Si ₃	97.8	99.6
11.59	L-セリン	C ₁₂ H ₃₁ NO ₃ Si ₃	96.0	99.2
11.64	ノナン酸	C ₁₂ H ₂₆ O ₂ Si	98.2	99.5
12.50	β-アラニン	C ₁₂ H ₃₁ NO ₂ Si ₃	94.3	99.3
12.90	カプリン酸	C ₁₃ H ₂₈ O ₂ Si	93.9	99.4
13.55	O-アセチルサリチル酸	C ₁₃ H ₂₂ O ₅ Si ₂	87.9	99.5
13.69	L-グルタミン酸 (無水)	C ₁₁ H ₂₃ NO ₃ Si ₂	99.1	98.9
13.81	L-グルタミン酸	C ₁₁ H ₂₅ NO ₄ Si ₂	87.3	99.1
14.05	L-フェニルアラニン	C ₁₂ H ₁₉ NO ₂ Si	95.6	98.3
14.10	クレアチニン	C ₁₃ H ₃₁ N ₃ O ₃ Si ₃	86.3	99.3
14.32	α-ヒドロキシグルタル酸	C ₁₄ H ₃₂ O ₅ Si ₃	94.9	80
14.64	ピロガロール	C ₁₃ H ₃₀ O ₃ Si ₃	83.3	82.7
14.86	L-グルタミン酸	C ₁₄ H ₃₃ NO ₄ Si ₃	90.2	99.7
14.96	L-フェニルアラニン	C ₁₅ H ₂₇ NO ₂ Si ₂	98.1	99.1
14.98	4-ヒドロキシ安息香酸	C ₁₃ H ₂₂ O ₃ Si ₂	82.9	95.2
15.27	ラウリン酸	C ₁₅ H ₃₂ O ₂ Si	96.3	99.5
15.49	アラビノース	C ₁₈ H ₄₅ NO ₅ Si ₄	96.8	85
15.90	3-インドキシル硫酸	C ₁₄ H ₂₃ NO ₄ SSi ₂	91.5	86
16.13	3-(3-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸	C ₁₅ H ₂₆ O ₃ Si ₂	80.9	99.6
16.38	L-オルニチン	C ₁₄ H ₃₆ N ₂ O ₂ Si ₃	96.0	98.1
16.48	リボン酸	C ₂₀ H ₅₀ O ₆ Si ₅	93.5	93.1
16.51	4-ヒドロキシ-3-メトキシ安息香酸	C ₁₄ H ₂₄ O ₄ Si ₂	92.7	99.8
16.86	アゼライン酸	C ₁₅ H ₃₂ O ₄ Si ₂	97.8	94.5

RT	化合物名	誘導体化後の組成式	UA ライブラリー一致 スコア	Screener ライブラリー スコア
16.96	ヒポキサンチン	C ₁₁ H ₂₀ N ₄ O ₂ Si ₂	91.1	93.8
17.06	クエン酸	C ₁₈ H ₄₀ O ₇ Si ₄	99.3	98.2
17.07	L-オルニチン	C ₁₇ H ₄₄ N ₂ O ₂ Si ₄	95.7	87.1
17.51	カフェイン	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	88.2	99.6
17.57	D-タガトース 2	C ₂₂ H ₅₅ NO ₆ Si ₅	94.4	90.4
17.76	マンノース 1	C ₂₂ H ₅₅ NO ₆ Si ₅	98.8	99.8
17.83	L-チロシン 1	C ₁₅ H ₂₇ NO ₃ Si ₂	84.7	84.8
17.87	D-グルコース 1	C ₂₂ H ₅₅ NO ₆ Si ₅	83.6	99.8
18.23	D-マンニトール	C ₂₄ H ₄₂ O ₆ Si ₆	98.6	80.8
18.26	グルクロン酸 1	C ₂₁ H ₅₀ O ₇ Si ₅	92.7	82.1
18.34	L-チロシン 2	C ₁₈ H ₃₅ NO ₃ Si ₃	95.0	99.5
18.48	シニグリン	C ₂₂ H ₄₄ NO ₉ S ₂ Si ₄	87.2	85.1
18.48	ミオイノシトール	C ₂₄ H ₆₀ O ₆ Si ₅	88.0	82.5
18.59	インドール-3-酢酸	C ₁₈ H ₂₅ NO ₂ Si ₂	88.5	82.9
18.93	グルコン酸	C ₂₄ H ₆₀ O ₇ Si ₆	90.9	97.6
19.21	バルミトレイン酸	C ₁₉ H ₃₈ O ₂ Si	96.0	99.7
19.41	バルミチン酸	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si	97.2	99.9
19.41	シクロヘキサカルボン酸	C ₁₀ H ₂₀ O ₂ Si	98.1	85.8
19.76	インドール-3-プロピオン酸	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂ Si ₂	83.4	84.6
19.80	コンズリトール-β-エポキシド 2	C ₁₈ H ₃₈ O ₅ Si ₄	93.7	86.8
19.85	尿酸	C ₁₇ H ₃₆ N ₄ O ₅ Si ₄	96.4	99.7
20.58	インドール-3-乳酸	C ₂₀ H ₃₅ NO ₃ Si ₃	89.0	93.5
20.89	L-トリプトファン	C ₁₉ H ₃₀ N ₂ O ₃ Si ₂	80.3	83.9
20.96	N-アセチル-L-トリプトファン	C ₂₀ H ₃₆ N ₂ O ₅ Si ₃	83.4	81.9
21.00	オレイン酸	C ₂₁ H ₄₂ O ₂ Si	97.9	99.9
21.22	ステアリン酸	C ₂₁ H ₄₄ O ₂ Si	97.2	99.2
22.31	アドレン酸	C ₂₅ H ₄₄ O ₂ Si	85.3	92
24.03	1-モノパルミチン	C ₂₅ H ₅₄ O ₄ Si ₂	83.7	94.5
24.39	スクロース	C ₃₆ H ₈₆ O ₁₁ Si ₈	94.5	96
24.46	ベヘン酸	C ₂₅ H ₅₂ O ₂ Si	82.4	95.7
25.15	マルトース 1	C ₃₇ H ₈₉ NO ₁₁ Si ₈	91.4	98.7
25.31	1-モノオレイン	C ₂₇ H ₅₆ O ₄ Si ₂	87.3	96
25.47	モノステアリン酸グリセリン	C ₂₇ H ₅₈ O ₄ Si ₂	84.9	97.4
25.79	スクアレン	C ₃₀ H ₅₀	90.1	98.9
27.03	β-トコフェロール	C ₃₁ H ₅₆ O ₂ Si	90.6	99.7
27.98	α-トコフェロール	C ₃₂ H ₅₈ O ₂ Si	95.2	94.7
28.09	コレステロール	C ₃₀ H ₅₄ O ₂ Si	88.0	99.8
29.48	β-シトステロール	C ₃₂ H ₅₈ O ₂ Si	92.2	98.6

結論

GC/Q-TOF で使用する Agilent Fiehn 精密質量メタボロミクス PCDL を作成することにより、メタボロミクスデータから生体関連分子のスペクトルをより高い信頼性で同定できます。このアプリケーションノートでは、包括的な精密質量メタボロミクス PCDL の作成と特性解析について説明しました。このライブラリは、代謝パスウェイに関係するさまざまな極性および非極性代謝物、および生体マトリクス中に一般的に存在する多数の生体異物を網羅しています。PCDL 作成プロセスでは Agilent ChemVista を使用しましたが、PCDL は詳細な管理とスペクトル統合用に ChemVista で簡単に使用できます。ターゲットおよびノンターゲットワークフローの両方において、一般的に分析されている血漿マトリクスを用い、精密質量メタボロミクス PCDL を使用する優位性について実証しました。ユニットマスライブラリと比較して、精密質量メタボロミクス PCDL では、精密質量フラグメントスペクトルと拡張された質量範囲によって精密質量ベースのサスペクト化合物スクリーニングワークフローを実行できるようにすることにより、マトリクス中の代謝物をより特異的かつ高感度で確実に検出できました。ワークフローに精密質量メタボロミクス PCDL を組み込み、信頼性の高い代謝物同定を利用することにより、実験からさらに有意な生物学的結論を引き出すことができるようになります。

参考文献

1. Schauer, N. *et al.* GC-MS Libraries for the Rapid Identification of Metabolites in Complex Biological Samples. *FEBS Letters*. **2005**, 579(6), 1332–1337. DOI: 10.1016/j.febslet.2005.01.029
2. Stein, S. Mass Spectral Reference Libraries: an Ever-Expanding Resource for Chemical Identification. *Anal. Chem.* **2012**, 84(17), 7274–7282. DOI: 10.1021/ac301205z
3. Beale, D. J. *et al.* Review of Recent Developments in GC-MS Approaches to Metabolomics-Based Research. *Metabolomics*. **2018**, 14(11), 152. DOI: 10.1007/s11306-018-1449-2
4. Grapp, M.; Maurer, H. H.; Desel, H. Systematic Forensic Toxicological Analysis by GC-MS in Serum Using Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System. *Drug Test Anal.* **2016**, 8(8), 816–25. DOI: 10.1002/dta.1848
5. Mihaleva, V. V.; *et al.* Automated Procedure for Candidate Compound Selection in GC-MS Metabolomics Based on Prediction of Kovats Retention Index. *Bioinformatics*. **2009**, 25(6), 787–794. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp056
6. Nieto, S. *et al.* 高分解能 GC/Q-TOF と農業および環境汚染物質の精密質量ライブラリによる汚染物質のスクリーニング *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-1346JAJP
7. Fiehn, O. Metabolomics by Gas Chromatography-Mass Spectrometry: the Combination of Targeted and Untargeted Profiling. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* **2016**, 114: 30.4.1–30.4.32. DOI: 10.1002/0471142727.mb3004s114

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。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。

RA44995.6218171296

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, March 29, 2023

5994-5832JAJP