

メタボロミクスおよびリピドミクスのための 包括的なノンターゲット LC/MS ワークフロー

著者

Sierra D. Durham,
Karen E. Yannell,
Cate Simmermaker,
Genevieve Van de Bittner,
Lee Bertram,
Daniel Cuthbertson, and
Chris Klein
Agilent Technologies, Inc.

概要

ノンターゲットメタボロミクスおよびリピドミクス LC/MS 分析は生物系の解明に携わる研究者が用いる主要な探索手法です。このアプリケーションノートでは、同一の血漿または哺乳類細胞のサンプルのメタボロミクスとリピドミクスにおけるサンプル前処理、機器による分析、ノンターゲットデータ解析ソリューションをカバーする包括的なワークフローを紹介します。Agilent Bravo Metabolomics Sample Preparation Platform と Agilent Captiva EMR-Lipid プレートを用いて自動サンプル前処理を行い、極性代謝物と脂質分画を分離しました。Agilent 1290 Infinity II Bio LC システム、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラム（メタボロミクス用）、Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 カラム（リピドミクス用）を用いてクロマトグラフィーによる分離を行いました。Agilent 1290 Infinity III Bio LC でも同等の性能が見込まれ、ここで説明しているメソッドはすべて Infinity II および Infinity III のどちらの Bio LC システムにも完全に対応しています。代謝物と脂質の検出には、分離能、同位体忠実度、質量精度が高い Agilent Revident 四重極飛行時間型 LC/MS システム（LC/Q-TOF）を用いました。Agilent MassHunter Explorer を用いてノンターゲットデータ解析を行い、Agilent MassHunter Qualitative Analysis または Agilent MassHunter Lipid Annotator と Agilent ChemVista ライブラリマネージャでカスタムライブラリの構築と精査を管理しました。残りの未知成分を効率よく同定するため、SIRIUS と CSI:FingerID で追加分析を行いました。結果は、このノンターゲットワークフローによるさまざまな化合物種の代謝物と脂質の抽出、分画、分離、検出、分析、同定において、信頼性の高い結果が得られることを実証しています。このワークフローは導入が容易であり、あらゆるラボでオミクス手法の導入に要する時間を短縮できます。

はじめに

ライフサイエンスや応用化学の検査では、生物系の分野で幅広い知見が得られるメタボロミクスおよびリポミクス手法の導入が急速に進んでいます。メタボロミクスとリポミクスの研究では、細胞代謝物の詳細、治療による生物学的パスウェイへの影響、環境毒素の影響といった情報が得られます。こうした研究で最大限の成果を得るため、研究者は導入が容易で堅牢なワークフローを必要としています。メタボロミクスおよびリポミクスの実験で最も重要な作業の1つは信頼性の高い成分の同定です。このアプリケーションノートでは、メタボロミクスおよびリポミクスで Agilent Revident 四重極飛行時間型 LC/MS システム (LC/Q-TOF) を用いてサンプル前処理、分析対象物の分離、検出、統計データ解析、未知スペクトル同定を行う包括的なワークフローを紹介します。

一般的にメタボロミクスとリポミクスの実験は、ターゲット、セミターゲット、ノンターゲットの各探索アプローチに分類されます。アジレントは、Agilent 6495 トリプル四重極 LC/MS (LC/TQ) を用いた 500 種類以上の代謝物と 650 種類以上の脂質のためのターゲットワークフローソリューションを以前に発表しています^{1, 2}。ここでは、研究者が分析範囲を広げて本格的な探索アプローチを実行できるようにするための補完的なノンターゲット Q-TOF LC/MS ワークフローを紹介します。Revident LC/Q-TOF は取り込みスピードが速く分離能が高いため、堅牢な連携、広いダイナミックレンジ、同位体忠実度によって信頼性の高い同定を行うことができます。

ノンターゲットワークフローでは、自動化可能なサンプル前処理^{3~6}や LC/TQ ワークフローと同じ堅牢な HILIC 分離⁷を用います。500 種類以上の代謝物と 650 種類以上の脂質に対応するクロマトグラフィーメソッドで測定された精密質量、MS/MS スペクトル、リテンションタイムが含まれた精査済みライブラリでプロセスを裏付けます。また、脂質ライブラリには直交実験で同定された詳細な構造アノテーションも含まれています。再現性の高い分離と組み合わせることで、より完全な脂質の情報を得ることができます^{8, 9}。

これらのツールをすべて用いることで、信頼性の高い代謝物と脂質の同定を行い、生物学的知見を迅速に得ることができます。Agilent MassHunter Explorer でノンターゲットデータを処理してフィーチャー抽出、同定、統計解析を行い、SIRIUS と CSI:FingerID で追加の化合物同定を行います¹⁰。この包括的な LC/Q-TOF ワークフローを用いることで、生物学研究者は極性代謝物および脂質のノンターゲット分析を即座に開始でき、メタボロミクスおよびリポミクスの実験の価値を高めることができます。

アジレントの包括的なオミクスソリューション

サンプル前処理



- Bravo Metabolomics Sample Prep Platform
- Captiva EMR-Lipid プレート

分離



- 1290 Infinity II/III bio LC
- InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラム
- ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 カラム

検出



- Revident LC/Q-TOF

データ解析



- MassHunter Qualitative Analysis
- MassHunter Lipid Annotator
- MassHunter Explorer
- ChemVista
- SIRIUS と CSI:FingerID

図 1. 細胞や血漿の自動サンプル前処理、Agilent 1290 Infinity II または Infinity III Bio LC システムを用いた堅牢で再現性の高い HILIC クロマトグラフィーによる極性代謝物の分離と脂質の C18 クロマトグラフィー、Agilent Revident 四重極飛行時間型 LC/MS システム (LC/Q-TOF) による信頼性の高いノンターゲット分析、Agilent MassHunter ソフトウェアによる統計解析と差分解析、SIRIUS と CSI:FingerID による MS/MS スペクトルからの構造の同定とオンラインデータベース検索を強調した、包括的なノンターゲット分析ワークフロー

実験方法

サンプル前処理

サンプル前処理には、Agilent Bravo Metabolomics Sample Prep Platform と Agilent Captiva EMR-Lipid プレートを用いました。これらのツールを組み合わせることで、同一の血漿サンプルから代謝物、脂質、タンパク質を分画する際にサンプルを節約でき、同一の分取サンプルで直接生物学的な比較を行うことができます^{3~6, 11}。この実験では、図 2 に示すように、マウス血漿から代謝物と脂質を抽出しました（バイオリジカルレプリケート、オス n = 20 およびメス n = 20、20 μ L/ウェル）。Bravo Metabolomics Sample Prep Platform による自動サンプル前処理は簡単に使用でき、回収率が高く、サンプル前処理時間を短縮できます。重要な点として、この手順の自動化によってばらつきを最大 50 % 抑えることができます。その結果、変動係数が低下し、以降の統計解析における検出力が向上します¹¹。また、先ほど説明したとおり、同様のワークフローを用いて、細胞サンプルから代謝物と脂質を一緒に分画できます⁴。

代謝物と脂質の分画はいずれも保存用に乾燥させたものです。代謝物分画は、アセトニトリル 70 %、水 20 %、メタノール 10 % の溶液（サンプルあたり 100 μ L）で再溶解し、品質評価用の内部標準として同位体標識成分を添加します。脂質分画は、メタノール 90 %、クロロホルム 10 % の溶液（サンプルあたり 100 μ L）で再溶解し、超音波処理とオービタル攪拌を組み合わせることで再溶出を促進します。



図 2. Agilent Captiva EMR-Lipid プレートを用いて、タンパク質沈殿物を除去し、充填剤上の脂質を捕捉し、極性代謝物をコレクションプレートに溶出させます。2 つ目の溶媒で脂質を別のコレクションプレートに放出することで、同一の血漿または細胞画分から極性代謝物と脂質を抽出できます。Agilent Metabolomics Bravo Sample Preparation Platform では、一体型のベンチトップアクセサリを使用して、この固相抽出を 96 ウェルプレートフォーマットで実行できます^{3, 4}。

分離

標準構成の Agilent 1290 Infinity II Bio LC による極性代謝物および脂質の確立済みのクロマトグラフィーについては以前詳しく説明しました^{1, 7}。簡単に説明すると、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラム (2.1 $\times$ 150 mm、2.7 μ m) を用いて合計分析時間 24 分のメソッドで極性代謝物を分離します。脂質の分離は Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 カラム (2.1 $\times$ 100 mm、1.8 μ m) を用いる 16 分のメソッドで実行します。いずれのクロマトグラフィーメソッドも Agilent 1290 Infinity III Bio LC に完全に対応しており、両システムで同等の結果が見られます。

自動サンプル前処理と堅牢な標準クロマトグラフィーを連携させることで、複雑なマトリックスに含まれる代謝物と脂質を検出するための信頼性の高い完全テスト済みの手法が実現します。このアプローチでは、同定の信頼性が高まるほか、リテンションタイムが予測可能で記録することができます。

検出

Revident LC/Q-TOF を用いてノンターゲット代謝物および脂質分析を行います。ノンターゲット分析は最も難易度の高い質量分析アプリケーションの 1 つであり、優れた分析を行うには高度な機器が必要です。Revident LC/Q-TOF はこの目的のために特別に設計されており、広いダイナミックレンジ、高分離能、同位体忠実度、質量精度、高い実験精度を兼ね備えています。これら重要な性能がすべて備わっているため、統計解析によって統計的に関連する特徴を明確に同定できます。

反復データ依存型取り込み：従来のデータ依存型（自動）MS/MS データ取り込みでは、クロマトグラフィー溶出時に選択できるプリカーサの数に制限がありました。そのため低濃度の成分がプリカーサの選択から外れ、フラグメンテーション情報を取得できないことがよくあります。反復 MS/MS 分析では、自動化されたワークフローで連続注入を行うことで、一度選択されたプリカーサを次の測定で除外することでこの制限を克服し、低濃度成分のフラグメンテーションを行うことができます。Revident Q-TOF LC/MS システムでは、搭載されている自動 Intelligent Reflex ワークフローを用いて、反復分析を簡単に行うことができます。また、ブランクを分析して反復排除リストに追加できるため、生体成分の同定情報をより充実させることができます。

前述のクロマトグラフィーでアジレントの以前の資料に記載された Q-TOF イオン源と取り込みパラメータ（表 1 および表 2）を用いて、プールされたサンプル抽出物の反復メタボロミクスおよびリピドミクス分析を行います^{12, 13}。脂質と代謝物をポジティブおよびネガティブ極性で 8 回ずつ収集し、それぞれ個別に反復分析を行います。この反復データを使用して代謝物と脂質のカスタムデータベースを構築します。リテンションタイムをこのサンプルに合わせて調整し、MS1 データ解析時に適用します。

MS1 分析は対応する反復分析なしでも行うことができます。ただし、ベストプラクティスとして、反復分析とカスタムデータベースの構築を追加することを推奨します。これにより、MS1 データの化合物同定の拡充がしやすくなります。

MS1：以前に発表済みのメソッドに従って、各マウスの血漿サンプルに対応する抽出物でメタボロミクスおよびリピドミクス分析を行います。Revident LC/Q-TOF の性能を最適化するため、表 1 および表 2 に示すとおり少し変更されています^{1, 2}。各サンプルで極性ごとに 1 回、合わせて 2 回の注入を行い、MS1 メタボロミクス分析を行います。この研究では、広い範囲の脂質種に対応するためにポジティブ極性 MS1 分析のみを使用していますが、追加のネガティブ極性 MS1 分析によって対象範囲を補完し、脂質を最大限に同定することを推奨します。

表 1. 不安定成分の HILIC メタボロミクス分析および C18 脂質分析のために最適化された Agilent Jet Stream (AJS) ソース条件

Agilent Jet Stream (AJS) ソースパラメータ		
	HILIC メタボロミクス	C18 リピドミクス
イオンモード	AJS、ポジティブ/ネガティブ	AJS、ポジティブ
ガス温度	225 °C	320 °C
乾燥ガス流量	9 L/min	8 L/min
ネブライザガス	30 psi	45 psi
シースガス温度	375 °C	350 °C
シースガス流量	12 L/min	11 L/min
キャピラリ電圧	3,000 V	3,500 V
ノズル電圧	500 V	1,000 V

表 2. 不安定な成分の HILIC メタボロミクス分析および C18 脂質分析のための Agilent Revident 四重極飛行時間型 LC/MS システム (LC/Q-TOF) の取り込みパラメータ

Revident LC/Q-TOF の MS 条件		
	HILIC メタボロミクス	C18 リピドミクス
チューニング	<i>m/z</i> 1,700、不安定なイオン	<i>m/z</i> 1,700、安定したイオン
取り込み範囲	MS1 : <i>m/z</i> 60 ~ 1,000 MS2 : <i>m/z</i> 20 ~ 1,000	MS1 : <i>m/z</i> 50 ~ 1,700 MS2 : <i>m/z</i> 20 ~ 1,700
取り込みレート	MS1 : 4 Hz MS2 : 6 Hz	MS1 : 3 Hz MS2 : 3 Hz
フラグメンタ電圧	100 V	175 V
スキマー電圧	45 V	45 V
オクタポール 1 RF Vpp	750 V	400 V
参照イオン	プリンおよび HP-921	プリンおよび HP-921

データ解析

探索メタボロミクスおよびリピドミクスワークフローにおけるデータ非依存型取り込みには明確な利点があります。ただし、この手法ではデータファイルが複雑になります。図 3 で示すように、ソフトウェアソリューションを使用してこれらの複雑なファイルを簡素化し、信頼性の高い成分の同定を行うことができます。

Agilent ChemVista による MS ライブラリの管理：Agilent ChemVista ライブラリ管理ソフトウェアを使用して、ターゲット分析用のパーソナライズ化合物データベースライブラリ (PCDL) を構築します。ChemVista は同定用の MS/MS スペクトルを含む広範な化合物ライブラリをサポートします。ケモインフォマティクスを基盤とする化合物中心のデータモデルを活用し、登録化合物の重複がないように効率よく複数のライブラリを統合できます。メタボロミクス分析では、500 種類以上の代謝物とリテンションタイムが含まれた Agilent HILIC メタボロミクス PCDL と METLIN 代謝物および化学物質ライブラリを使用します。リピドミクス分析では、650 種類以上の脂質とリテンションタイムが含まれた Agilent Lipidomics PCDL を使用します。また、ChemVista では、Mass Bank of North America (MoNA)¹⁵、Mass Bank of Europe¹⁶、EPA などの第三者が提供するライブラリからスペクトルをインポートして化合物リストを作成し、定性に活用できます。

このアプリケーションノートでは、MS1 およびリテンションタイムに基づくデータベースを用いて同定を行います。ライブラリにはスペクトルの照合に適用される MS/MS データが含まれています。他の同定ワークフローで同定プロセス中に参照する情報の種類によっては、MS/MS スペクトルが収録された PCDL をライブラリとしてもデータベースとしても使用できます。

MassHunter Qualitative Analysis および MassHunter Lipid Annotator によるカスタムライブラリの構築：反復データの代謝物の分析では、MassHunter Qualitative Analysis ソフトウェアで METLIN 代謝物および化学物質ライブラリを使用して自動 MS/MS データの抽出とライブラリの同定を行います。ChemVista を使うことで対象分析物に応じて、METLIN ライブラリへの追加や代替として他の広範なライブラリを含めることができます。また、MassHunter Qualitative Analysis 12.0 では、同定されたフィーチャーからリテンションタイムをエクスポートし、元のスペクトルライブラリを簡単に更新できます。

反復データの脂質分析では、MassHunter Lipid Annotator ソフトウェアを用いてプロセスを効率化します。in silico ライブラリを使用してフィーチャーの抽出と同定を行います。このライブラリは Kind などが最初に開発し、Tsugawa などが改良している LipidBlast の改変版です¹⁴。抽出と同定の後、Lipid Annotator で対応するカスタム脂質データベースを容易にエクスポートできます。Lipid Annotator では、データ品質とアノテーションを考慮して脂質の同定を厳選できるため、アノテーションが過剰になりません。

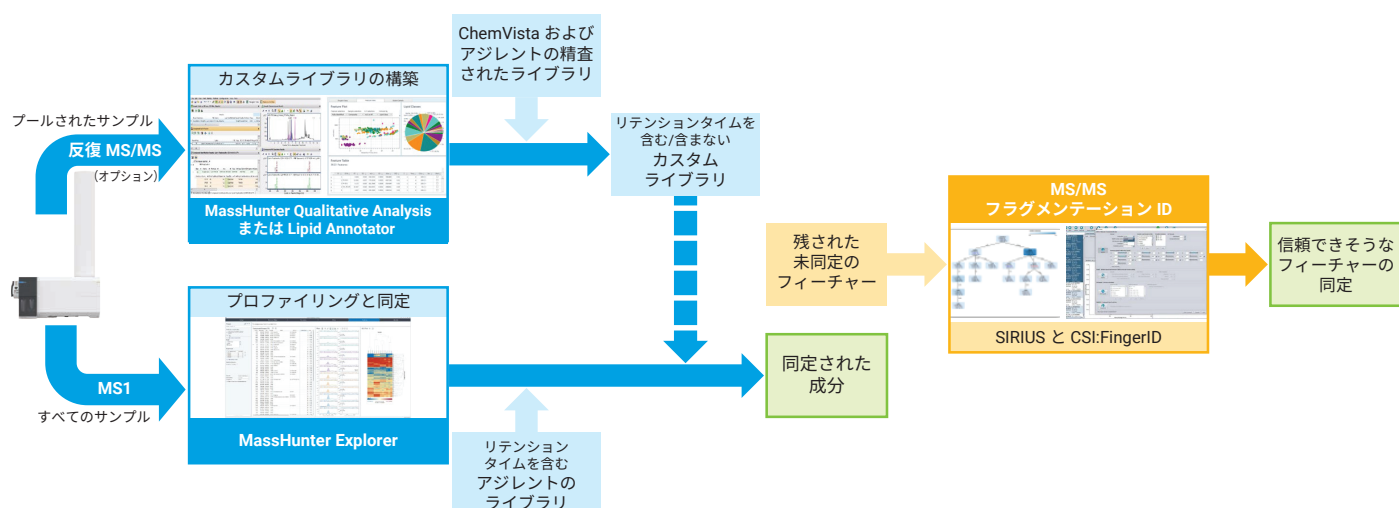


図 3. ノンターゲットメタボロミクスおよびリピドミクスの取り込みおよび分析ワークフロー。Agilent MassHunter Explorer ソフトウェアで個々のサンプルの MS1 データを収集および分析し、フィーチャー抽出や統計をすばやく簡単に行うことができます。プールされたサンプルで追加の反復 MS/MS ワークフローを実行し、実験サンプルセット専用のカスタムデータベースを作成できます。Agilent MassHunter Lipid Annotator で反復脂質データを分析します。Agilent MassHunter Qualitative Analysis 12.0 で反復代謝物データを分析し、Auto MS/MS スペクトルの抽出と Agilent ChemVista スペクトルデータベースから入力したライブラリによって同定します。SIRIUS と CSI:FingerID を使用して残された未同定のフィーチャーのスペクトル分析を行い、信頼できそうなフィーチャーの追加同定を行うことができます。

プールされた代謝物と脂質のサンプルの反復データ解析の結果を用いて、このサンプルセットに特化したリテンションタイムを含むカスタムデータベースを構築します。ノンターゲット MS1 データ解析時にこれらのデータベースを適用し、有意なフィーチャーの同定を行います。化合物を最大限に同定するため、反復分析とカスタムデータベースの精査手順を含めることを推奨します。ただし、ワークフローの反復部分を行わなくても、既存の化合物の同定ライブラリを用いて MS1 分析を行うことができます。

MassHunter Explorer によるプロファイリングと同定：MassHunter Explorer を使用して、ノンターゲット MS1 データのフィーチャー抽出と同定を行います。このソフトウェアでは直感的なステップごとの設定画面を使用して、フィーチャー抽出、統計解析、同定を 1 つのアプリケーションでまとめて実行できます。MassHunter Acquisition 12.0 によるデータ採取後にフィーチャー抽出を実行する設定をしておくと、MassHunter Explorer によるフィーチャー抽出を即座に開始できます。MassHunter Explorer は同定用のデータベースを複数設定できるため、化合物の検索対象範囲を容易に広げることができます。

SIRIUS と CSI:FingerID による未知成分の分析：SIRIUS と CSI:FingerID は、ノンターゲット分析ワークフローの補完となります。フィーチャー抽出で検出されたもののスペクトルライブラリ検索では同定できない未知のフィーチャーの、候補構造式を提示します。MS/MS 測定で取得したスペクトルを SIRIUS ソフトウェア画面にドラッグ&ドロップすると、構造予測アルゴリズムで信頼できそうな同定が得られ、その後オンラインデータベース検索を行うことができます¹⁰。

結果と考察

Revident LC/Q-TOF による信頼性の高い検出

Revident LC/Q-TOF は、複雑なマトリックスサンプルのノンターゲット分析で信頼性の高い同定を行うのに欠かせない優れた同位体忠実度、質量精度、ダイナミックレンジを兼ね備えています。同位体忠実度が高いため、 m/z が近い干渉があるときでも高い信頼性で成分を同定できます (図 4)。図 5 で示すように、質量精度の維持は複数日にわたる分析で信頼性の高い成分同定を行ううえで重要です。スペクトル内ダイナミックレンジが広いと、共溶出する高濃度の分子がある場合でも、重要な低濃度成分を容易に検出できます (図 6)。

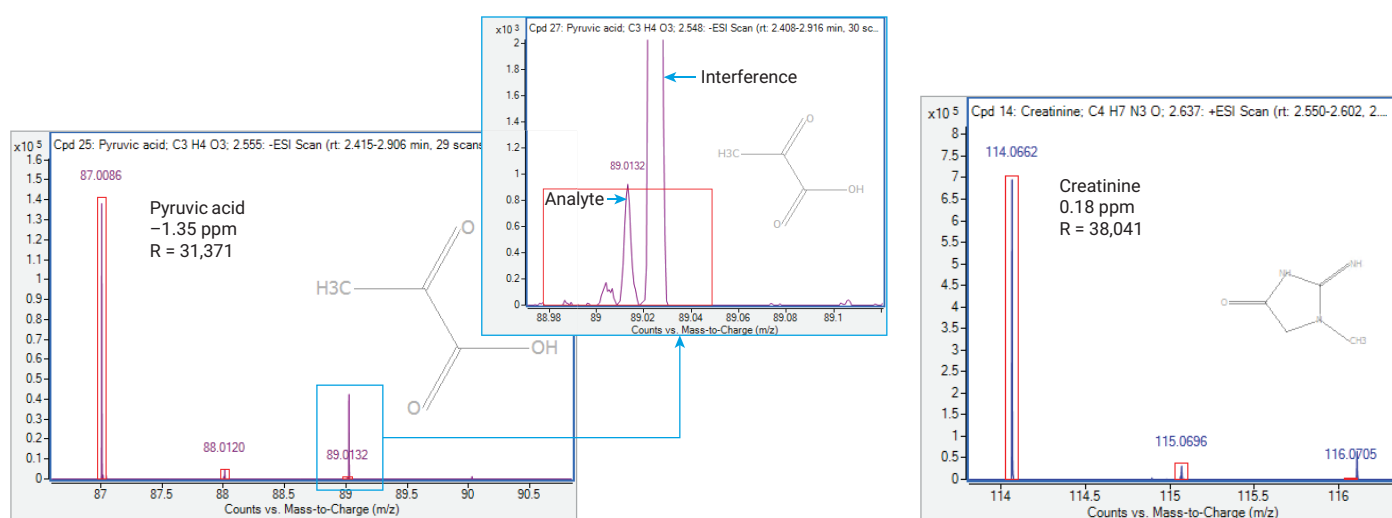


図 4. Agilent Revident 四重極飛行時間型 LC/MS システム (LC/Q-TOF) を用いた信頼性の高い複雑なマトリックスから代謝物を同定する 2 件の例。優れた精密質量測定に加えて、目的成分の信号と理論的同位体パターン (赤色) が重なっていることから、成分の同位体忠実度が優れていることがわかります。高分解能の質量精度はピルビン酸に対して特に有効で、近似質量干渉で同位体を確実に分離できます (挿入図)。

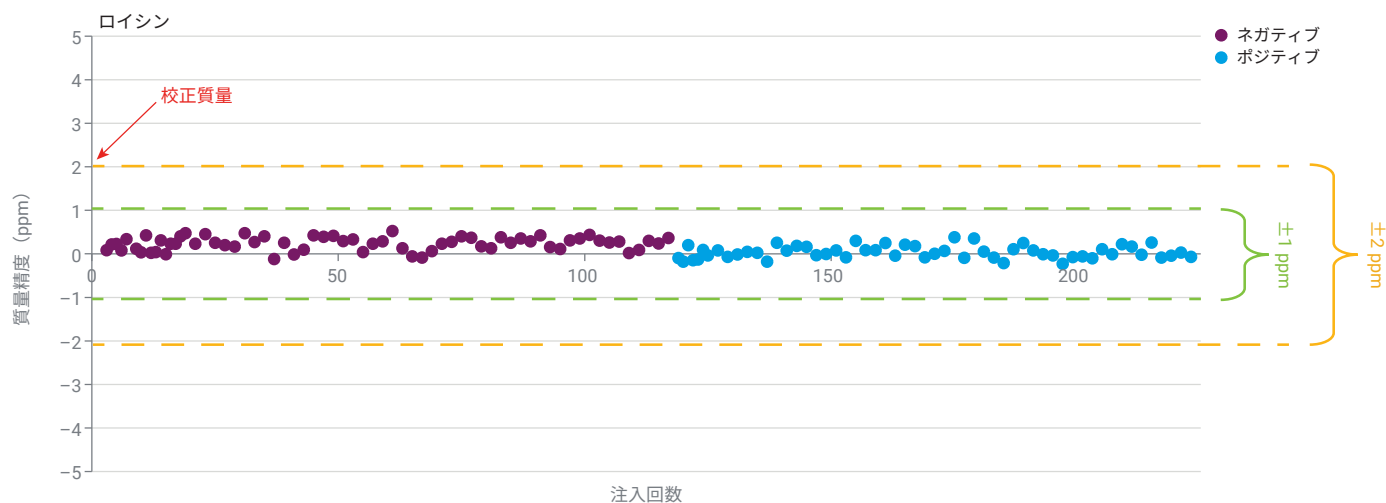


図 5. 質量精度はスペクトルの品質において重要なパラメータであり、化合物の同定に直接影響します。ロイシンを使用して 7 日間かけて 225 回の注入を連続で行い、質量精度 ($< \pm 1$ ppm) をモニタリングしました。

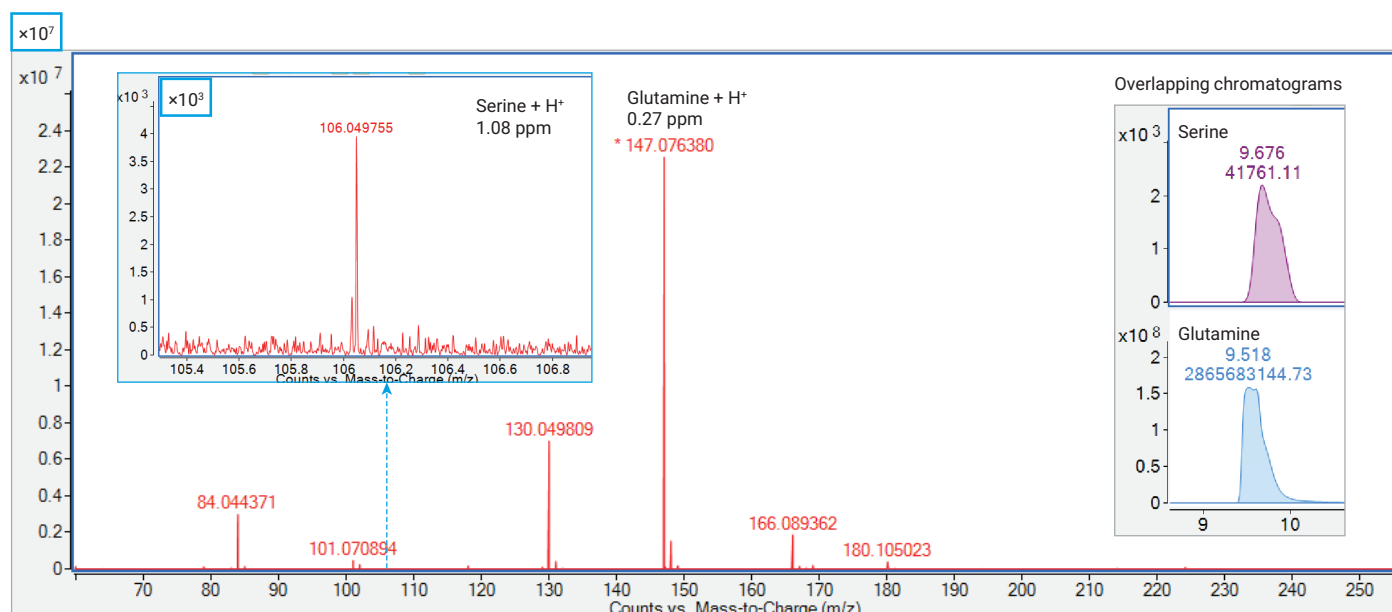


図 6. Agilent Revident 四重極飛行時間型 LC/MS システム (LC/Q-TOF) は、スペクトル全体で 5 桁のダイナミックレンジを実現します。この図ではグルタミン + H^+ とセリン + H^+ を用いており、4 桁におよぶことが示されています。特に、グルタミン + H^+ は飽和が高く、アバundanceが 2,000 万カウントを超えるにもかかわらず、高い質量精度が保たれています。この結果は、さまざまなアバundanceレベルでのピーク対称性が向上し一貫した質量精度が得られる、新しい Revident 検出器によって得られたものです。挿入図のクロマトグラムでは、この検出器の品質によって、重なり合うピークがいずれも適切に積分されていることがわかります。

未知成分の同定ワークフロー

ライブラリの構築：MassHunter Qualitative Analysis と METLIN ライブラリを使用して、プールされた代謝物サンプルの反復 MS/MS データ分析を行い、このサンプルセットのカスタム代謝物データベースを作成します。693 種類のポジティブイオン代謝物と 773 種類のネガティブイオン代謝物が同定に含まれます。

MassHunter Lipid Annotator を使用して、プールされた脂質サンプルの反復 MS/MS データの並行分析を行います。LipidBlast の改変版である in-silico ライブラリ¹⁴を使用して、269 種類のポジティブイオン脂質と 81 種類のネガティブイオン脂質を同定し、このサンプルセットのカスタム脂質データベースに追加します。

フィーチャー抽出、プロファイリング、統計、同定：MassHunter Explorer は、フィーチャー抽出、データ正規化、統計解析をすばやく容易に行うことができ、カスタム編集し用意したデータベースを用いて成分同定を行うことができます（図 7）。各実験で合計 40 のマウス血漿サンプルのデータを約 1 時間処理し、各代謝物および脂質データセットで 10,000 以上のフィーチャーが検出されました。



図 7. Agilent MassHunter Explorer を用いた差分析またはバイオマーカー解析の検出ワークフロー。未知成分がまだ存在する場合、その成分の MS/MS データを SIRIUS と CSI:FingerID で分析できます。MS/MS データの分子フィンガープリントを生成し、オンライン化学構造データベースから計算される分子フィンガープリントを検索します。

MassHunter Explorer で有意なフィーチャーの評価を行い、オスおよびメスのマウス血漿サンプルで大きな違い ($\alpha = 0.05$) が認められる、1,094 のポジティブイオンと 582 のネガティブイオンの代謝物フィーチャーが得られました (図 8A)。これらの有意なフィーチャーのうち、414 種類のポジティブイオン代謝物と 336 種類のネガティブイオン代謝物を、Agilent HILIC メタボロミクス PCDL のリテンションタイムと MassHunter Qualitative Analysis による反復データ分析で作成したカスタムデータベースを用いて同定しました。

同様に、MassHunter Explorer を使用して脂質データセットで 10,470 種類の化合物グループを検出し、612 のフィーチャーで 2 つのマウス集団に有意な違いがあることを見つけました (図 8B)。アジレントのリピドミクスライブラリのリテンションタイムと MassHunter Lipid Annotator を使用した反復 MS/MS データ分析で作成したカスタムデータベースによる同定で、55 種類の有意な脂質を同定しました。

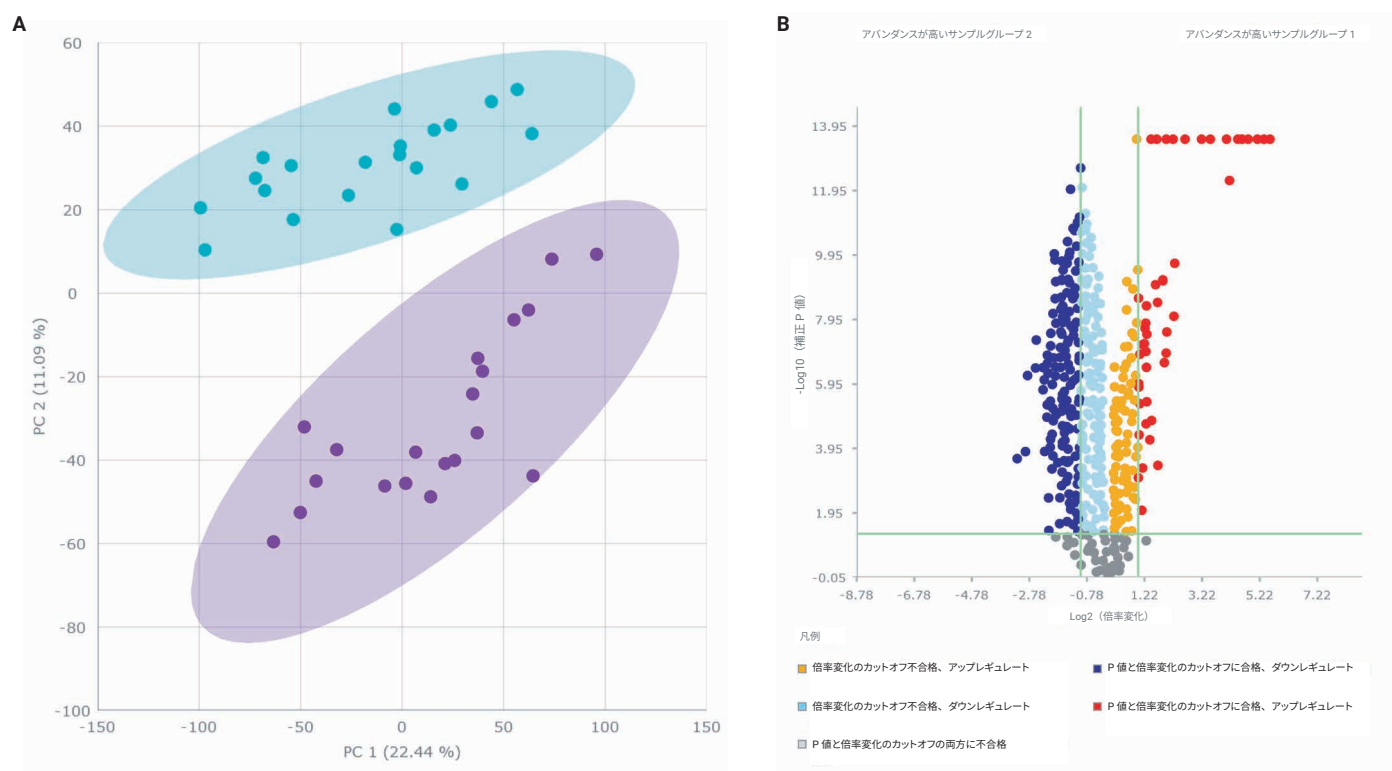


図 8. Agilent MassHunter Explorer でデータ解析からわかりやすい公開可能なプロットを生成します。代謝物の PCA プロット (A) はオスとメスの集団の固有の違いを示しています。脂質のボルケーノプロット (B) は、倍率変化 2 および有意水準 (p 値) 0.05 を考慮し、脂質のアップレギュレートとダウンレギュレートを示しています。

未知成分の構造の同定とデータベース検索：SIRIUS の CSI:FingerID により、簡単に分子式推定結果と構造式推定結果が得られます。これを使用して MassHunter Explorer のノンターゲットデータ分析ワークフローの最後に未同定で残った有意なフィーチャーの同定結果を広げることができます。SIRIUS は実験スペクトルと同位体パターンおよびフラグメンテーションツリーを比較して、de novo 分子式のマッチングを行います。

CSI:FingerID は実験の質量スペクトルに基づいて予測される分子フィンガープリントと PubChem、HMDB、KEGG などの大規模かつ一般公開されている構造データベースから得られる分子式フィンガープリントを比較して、構造のマッチングを行います。SIRIUS と CSI:FingerID を組み合わせることで、化合物の分子式と構造のマッチングを効率よく行い、化合物の同定の確認や未知成分の信頼できそうな分子式と構造の同定を行うことができます（図 9）。

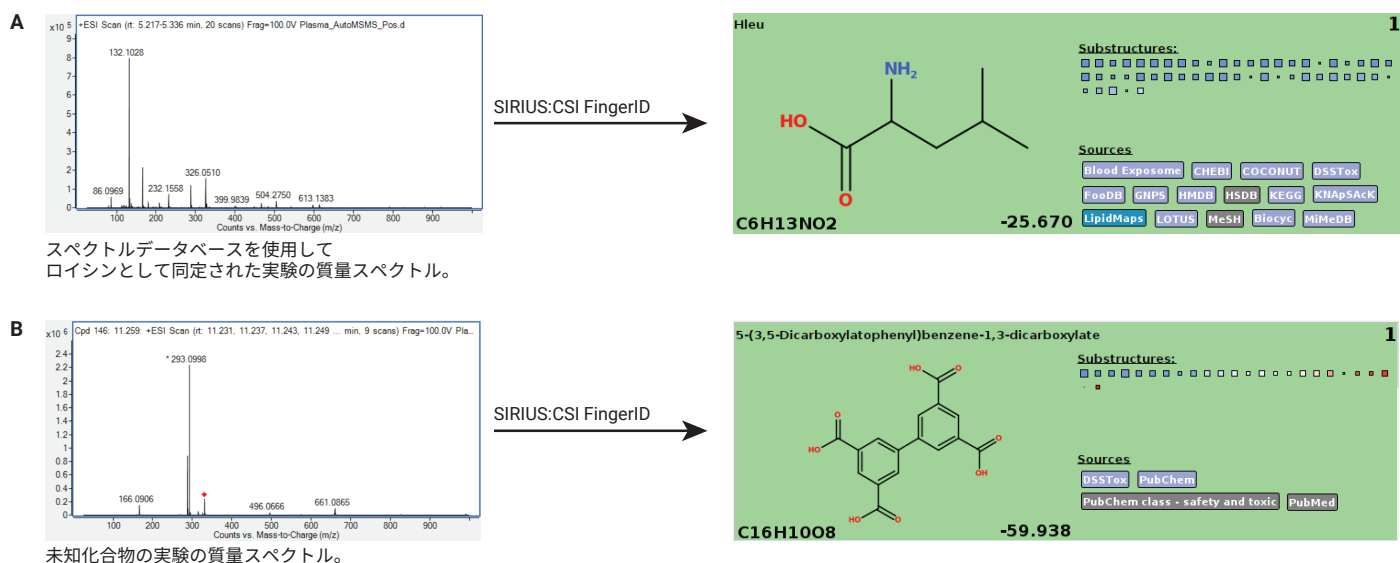


図 9. SIRIUS と CSI:FingerID で実験の MS/MS スペクトルを使用して分子式と構造のマッチングを生成します。これらを使用して、スペクトルデータベースで特定した化合物の品質管理 (A) と未知成分の同定 (B) を行います。

結論

アジレントのソリューションは LC/MS のための包括的なノンターゲットメタボロミクスおよびリピドミクスワークフローを提供しているため、研究者は信頼性の高い生物学的知見を容易に得ることができます。Agilent Bravo Metabolomics Sample Prep Platform と Agilent Captiva EMR-Lipid プレートを組み合わせることで、同一の血漿サンプルや細胞サンプルから極性代謝物および脂質を効率的に抽出できます。Agilent 1290 Infinity II Bio LC システムによる確実な分離と Agilent Revident LC/Q-TOF の高い質量精度、同位体忠実度、分離能を組み合わせることで、再現性の高い分析を行い、信頼性の高い成分同定を行うことができます。Agilent 1290 Infinity III Bio LC でこれらのメソッドを使用した場合も同様の性能が見込まれます。MassHunter Qualitative Analysis や MassHunter Lipid Annotator で構築したデータベースと、MassHunter Explorer でのフィーチャー抽出、データフィルタリング、統計解析、化合物同定を組み合わせることで、ノンターゲットデータ分析を容易に行い、SIRIUS と CSI:FingerID を使用して残された未知成分の追加同定を行うことができます。これらのワークフローはユーザーが柔軟にカスタマイズすることができ、実装しやすいメソッドで幅広い研究上の疑問の答えを見つけ、発見を加速できます。

詳細については、[Agilent Revident LC/Q-TOF の機能](#)やその他のメタボロミクスソリューションおよびリピドミクスソリューションのページをご覧ください。

参考文献

1. Huynh, K.; et al. A Comprehensive, Curated, High-Throughput Method for the Detailed Analysis of the Plasma Lipidome. Agilent Technologies application note, publication number 5994-3747EN, **2021**.
2. Yannell, K. E.; et al. 包括的なターゲットメタボロミクスワークフロー. Agilent Technologies application note, publication number 5994-5628JAJ, **2023**.
3. Van de Bittner, G. C.; et al. Automated Fractionation of Low-Volume Plasma Samples for LC/MS Multi-Omics. Agilent Technologies technical overview, publication number 5994-7357EN, **2024**.
4. Van de Bittner, G. C.; et al. 哺乳類細胞サンプル用の代謝物 + 脂質のデュアル自動化サンプル前処理ワークフロー. Agilent Technologies technical overview, publication number 5994-5065JAJ, **2022**.
5. Sartain, M.; et al. LC/MS オミクスによる生体エネルギー測定 of 組み合わせを用いた、薬剤処理に対する細胞と分子の反応の解明. Agilent Technologies application note, publication number 5994-7449JAJ, **2024**.
6. Agilent Captiva EMR-Lipid Manual Fractionation of Low-Volume Plasma Samples for LC/MS Multi-Omics. Agilent Technologies method guide, publication number 5994-7482EN, **2024**.
7. Yannell, K. E.; et al. Mastering HILIC-Z Separation for Polar Analytes. Agilent Technologies application note, publication number 5994-5949EN, **2023**.
8. Sartain, M.; et al. An Interlaboratory Evaluation of a Targeted Lipidomics Method in Plasma. Agilent Technologies application note, publication number 5994-6830EN, **2024**.
9. Huynh, K.; et al. High-Throughput Plasma Lipidomics: Detailed Mapping of the Associations with Cardiometabolic Risk Factors. Cell Chem. Biol. **2019**, 26(1), 71–84.e4.
10. Duhrkop, K.; et al. Searching Molecular Structure Databases with Tandem Mass Spectra Using CSI:FingerID. PNAS **2015**, 112(41), 12580–12585.
11. Sartain, M.; et al. Enabling Automated, Low-Volume Plasma Metabolite Extraction with the Agilent Bravo Platform. Agilent Technologies application note, publication number 5994-2156EN, **2020**.
12. Mohsin, S. B.; et al. ノンターゲット高分解能リピドミクスデータのターゲットデータマイニングとアノテーション：包括的で信頼性の高いリピドミクスワークフロー Agilent Technologies application note, publication number 5994-7588JAJ, **2024**.
13. Yannell, K. E.; et al. A Comprehensive Untargeted Metabolomics LC/Q-TOF Workflow with and Unknowns Identification Strategy to Identify Plasma Metabolite Shifts in a Mouse Model. ASMS Poster, **2022**.
14. Lipidomics Analysis with Lipid Annotator and Mass Profiler Professional. Agilent Technologies technical overview, publication number 5994-1111EN, **2020**.
15. MassBank of North America, <https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/>.
16. MassBank of Europe, <https://massbank.eu/MassBank/>.

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

DE-007519

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, June 16, 2025

5994-8371JAJ

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。