

표적 및 비표적 데이터 분석 워크플로에서 포괄적인 Accurate Mass 대사체학 라이브러리와 그 평가

저자

Luis Valdiviez,
Shunyang Wang,
Wasim Sandhu, Honglian Ye,
Oliver Fiehn
West Coast Metabolomics
Center, University of California,
Davis, CA.

Sofia Nieto
Agilent Technologies, Inc.

개요

대사체학 연구에서 생물학적 배경을 제공하려면 대사체에 대한 신뢰성 있는 주석과 식별이 필수적입니다. 이는 질병 상태와 의약품 후보물질의 영향을 받는 생화학 경로를 이해하고 기초 생물학적 연구를 발전시키는 데 도움이 됩니다. 포괄적인 스펙트럼 라이브러리는 생물학적 경로에 관여하는 대사체를 식별하는 중요한 과제를 해결하여 생물학적 해석을 도와줍니다. 이 응용 자료에서는 새로운 Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 개인 화합물 데이터베이스 및 라이브러리(PCDL)와 혈장 시료를 사용한 표적 및 비표적 스크리닝 워크플로에서의 특성 규명 및 평가에 대해 설명합니다. 대사체학 응용을 위한 이 accurate mass GC/MS 라이브러리의 가용성을 통해 연구자들은 복잡한 생체 매트릭스에서 대사체 식별의 범위, 감도 및 신뢰성을 확장할 수 있습니다.

서론

GC/MS는 표적 및 비표적 대사체 프로파일링을 위한 유용한 도구로 오랫동안 확립되어 왔습니다. 이는 견고하고 피크 모양이 선명하며 대사체 식별에 사용할 수 있는 재현성있는 전자 이온화(EI) 스펙트럼을 생성하는 것으로 잘 알려져 있습니다. 최근 고분해능의 accurate mass time-of-flight(TOF) 기기가 등장하면서 연구자들은 더 많은 수의 생물학적 관련 분자를 더욱 확실하게 식별할 수 있는 더욱 강력한 리소스를 갖게 되었습니다.

GC/MS 질량 스펙트럼 라이브러리는 최소한의 노력으로 신속하게 화합물을 식별할 수 있는 필수 도구로 입증되었습니다.¹⁻⁴ 머무름 시간/인덱스와 accurate mass 정보는 화합물 식별 결과를 확정하거나 부인하는 데 도움이 되는 더 많은 증거를 제공하고 위양성률을 효과적으로 감소시킵니다.^{5,6} Accurate mass GC/MS 라이브러리는 어려운 매트릭스를 포함하거나 관심 화합물의 원소식이 복잡한 응용 분야에 특히 유용하며, 대사체학은 이러한 응용 분야 중 하나입니다. 대사체학 응용의 신뢰성을 개선하고 처리량을 늘리기 위해 일반적으로 생체 매트릭스에서 발견되는 화합물의 accurate mass 머무름 시간 고정(RTL) EI 라이브러리가 만들어졌습니다. 이 라이브러리에는 900개 이상의 항목이 포함되어 있으며 광범위한 화합물 부류를 나타냅니다.

Accurate mass 대사체학 PCDL은 표적 및 비표적 스크리닝 워크플로를 모두 사용하여 혈장 시료로 테스트되었습니다. 또한 accurate mass 대사체학 PCDL을 사용하여 다양한 조직 시료에서 고유하고 중첩되는 대사체를 식별할 수 있음이 입증되었습니다.

실험

시료 전처리

대사체의 유도체화는 극성 대사체의 휘발성을 개선하고 GC/MS에 더 적합하게 만들기 위한 일반적인 접근 방식입니다. 여기서는 대사체 표준물질과 혈장 및 조직 추출물을 methoximation을 통해 유도체화한 다음 른 연구에서 설명한 바와 같이 MSTFA + 1% TMCS로 silylation 했습니다.⁷ 유도체화 전, 모든 시료에 D27 myristic acid를 내부 표준물질로 첨가했습니다. 아세토니트릴: 이소프로판올:물(3:3:2)을 사용하여 혈장 및 조직에서 대사체를 추출했습니다. 추출물을 건조하고 앞서 설명한 바와 같이 유도체화하여 accurate mass 라이브러리 스크리닝 워크플로를 평가하는 데 추가로 사용했습니다.

데이터 수집 및 데이터 처리

크로마토그래피적으로 잘 분리되는 것으로 알려진 개별 표준물질 또는 대사체 혼합물에 대한 EI 스펙트럼은 accurate mass 고분해능 Agilent 7250 GC/Q-TOF 시스템을 사용하여 획득했습니다. 표준물질과 추출물을 포함한 모든 데이터는 70eV의 EI 모드에서 수집되었습니다. 데이터 수집 파라미터는 표 1에 나와 있습니다. Accurate mass 대사체학 PCDL에서 각 화합물에 대한 머무름 지수(RI)는 알케인뿐만 아니라 지방산 메틸 에스터 (FAME)를 기초로 하여 계산되었습니다. Accurate mass EI 조각은 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 소프트웨어 버전 10을 사용하여 이론상의 m/z 로 변환되었습니다. 그런 다음, 스펙트럼을 Agilent PCDL Manager 소프트웨어 버전 8.0을 사용하여 accurate mass 대사체학 PCDL로 가져왔습니다. 새로운 라이브러리 관리 소프트웨어 응용인 Agilent ChemVista 1.0을 사용하여 추가 메타데이터 및 화학 구조 정보로 PCDL을 추가로 수정했습니다. 데이터는 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어(미지 물질 분석 소프트웨어 도구 포함) 버전 10.2 및 11.1을 사용하여 처리되었습니다.

표 1. 데이터 수집 파라미터.

파라미터	값
MS	Agilent 7250 GC/Q-TOF
GC	Agilent 7890B GC
컬럼	Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert 30m × 0.25mm × 0.25µm, DuraGuard, 10m
주입구	분할/비분할 주입구, 4mm Agilent Ultra Inert 주입구 라이너, 단일 테이퍼
주입량	1µL
주입 모드	비분할
주입구 온도	280°C
오븐 온도 프로그램	50°C에서 0.5분간 가열, 그 후 10°C/분의 속도로 325°C까지, 10분간 유지
운반 가스	헬륨
컬럼 유속	1mL/분(일정 유속)
이송 라인 온도	280°C
사중극자 온도	150°C
소스 온도	200°C
전자 에너지	70eV
방출 전류	5µA
스펙트럼 수집 속도	5Hz
질량 범위	m/z 50~1,200

결과 및 토의

Accurate mass 대사체학 PCDL 구축

Accurate mass 대사체학 PCDL을 위한 화합물은 1차 대사 경로에 관여하는 GC/MS 분석에 적합한 대부분의 대사체가 포함되도록 선택되었습니다. 또한 라이브러리의 범위와 활용도를 확장하기 위해 생체 매트릭스에서 흔히 발견되는 250개 이상의 2차 대사체와 xenobiotics도 추가했습니다.

획득한 스펙트럼에서 각 조각 이온 m/z 를 이론상의 m/z 로 변환하기 위해 MassHunter Qualitative Analysis 소프트웨어에서 조각 화학식에 대한 자동 주석이 수행되었습니다. 자동 주석을 검토하고 필요한 경우 스펙트럼을 PCDL로 내보내기 전에 수동으로 수정했습니다(그림 1). 화학적 구조, 구조 식별자(InChI String, InChIKey, SMILES) 및 다양한 데이터베이스 식별자(CAS, PubChem ID 등)와 같은 나머지 메타데이터는 ChemVista Library Manager 소프트웨어로 추가되었습니다. GC/Q-TOF용 accurate mass 대사체학 PCDL에는 RT뿐만 아니라 Kovats 및 FAMES 기반 RI가 모두 포함됩니다. 현재 버전의 라이브러리에는 900개 이상의 accurate mass EI 스펙트럼과 670개 이상의 고유 화합물이 포함되어 있습니다.

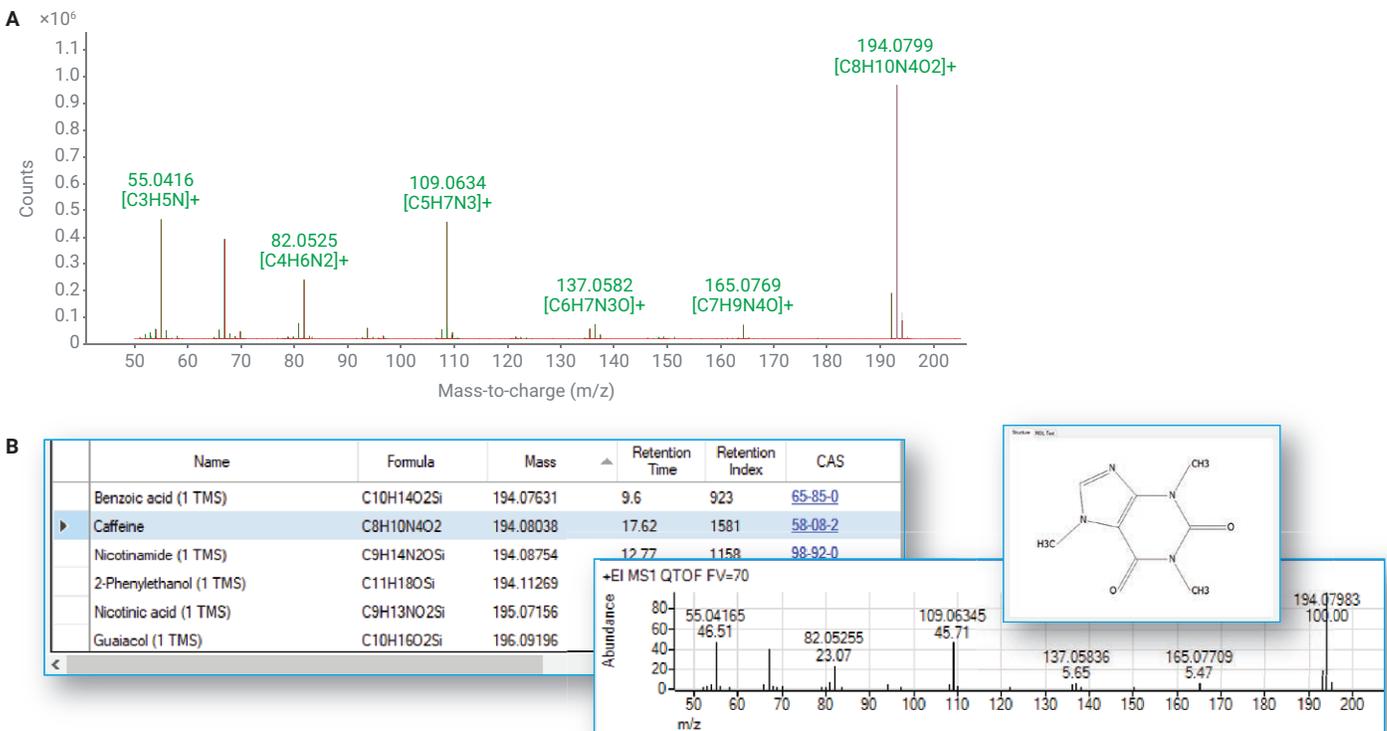


그림 1. PCDL의 생성. (A) 전체 스펙트럼의 정확한 m/z 를 이론상의 m/z 로 변환하기 위한 자동화된 조각 화학식 주석. (B) 메타데이터를 편집할 수 있는 Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL이 Agilent PCDL Manager 소프트웨어에 나타나 있습니다.

Accurate mass 대사체학 PCDL과 단위 질량 GC/MS 대사체학 라이브러리 비교

새로운 accurate mass 대사체학 PCDL과 기존 단위 질량 Agilent Fiehn GC/MS 대사체학 라이브러리(Fiehn.L) 간의 중첩은 그림 2에 나와 있습니다. 여러 유도체화 상태를 형성할 수 있는 대사체에 대한 항목은 이 비교에서 하나의 화합물로 간주됩니다. 두 라이브러리에는 거의 500개의 물질이 공통적으로 존재하지만, 거의 200개의 화합물은 accurate mass PCDL에만 고유합니다. 따라서 두 라이브러리는 화합물 커버리지와 관련하여 상호 보완됩니다. 대사체학 PCDL은 accurate mass 및 Kovats RI의 추가 이점을 제공하지만, 단위 질량 대사체학 라이브러리는 FAMES RI를 기반으로 하여 GC/Q-TOF 데이터를 검색하는 데에도 사용할 수 있습니다.

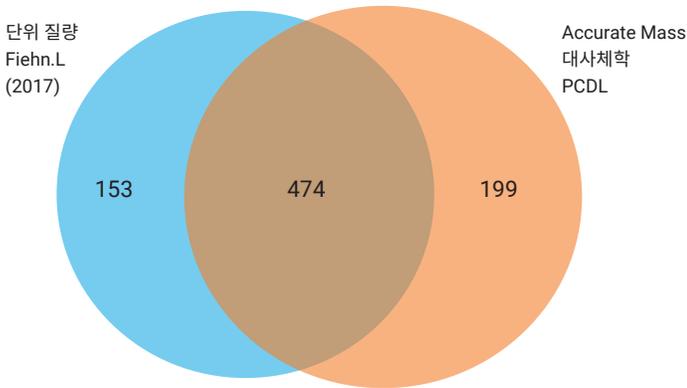


그림 2. Accurate mass 대사체학 PCDL과 단위 질량 Fiehn GC/MS 대사체학 라이브러리의 고유 화합물 수 비교.

단위 질량 GC/MS 대사체학 라이브러리와 달리 accurate mass 대사체학 PCDL에는 더 높은 질량 범위(최대 m/z 1,200)의 이온을 커버하는 전체 수집 스펙트럼이 포함되어 있습니다. 단위 질량 Fiehn GC/MS 대사체학 라이브러리는 SQ 데이터를 기반으로 하고 quadrupole 기기에 대한 이온 전송 효율이 상대적으로 낮기 때문에 수집된 데이터는 m/z 600으로 제한되어 있었습니다. TOF 기기는 quadrupole 시스템에 비해 더 높은 m/z 에서 이온 전송 효율이 높기 때문에 많은 스펙트럼에 m/z 600 이상, 때로는 최대 m/z 1,000 이상의 이온이 포함되어 있어 유도체화된 대사체에 대한 데이터를 수집할 때 이점을 제공했습니다. Accurate mass GC/Q-TOF는 일반적으로 고유 식별자인 이러한 추가적인 높은 m/z 질량을 검출함으로써 스펙트럼 매칭을 위한 추가 데이터 포인트를 제공할 수 있습니다. 그림 3은 accurate mass 대사체학 PCDL과 단위 질량 대사체학 라이브러리 모두에서 이러한 화합물 스펙트럼의 예를 보여주며, GC/Q-TOF의 향상된 질량 범위로 인해 추가된 특이성을 강조하고 있습니다. 위의 예에서 볼 수 있듯이, 대사체학 응용 및 라이브러리를 위한 넓은 데이터 수집 질량 범위는 화합물 식별에 대한 신뢰도를 높입니다.

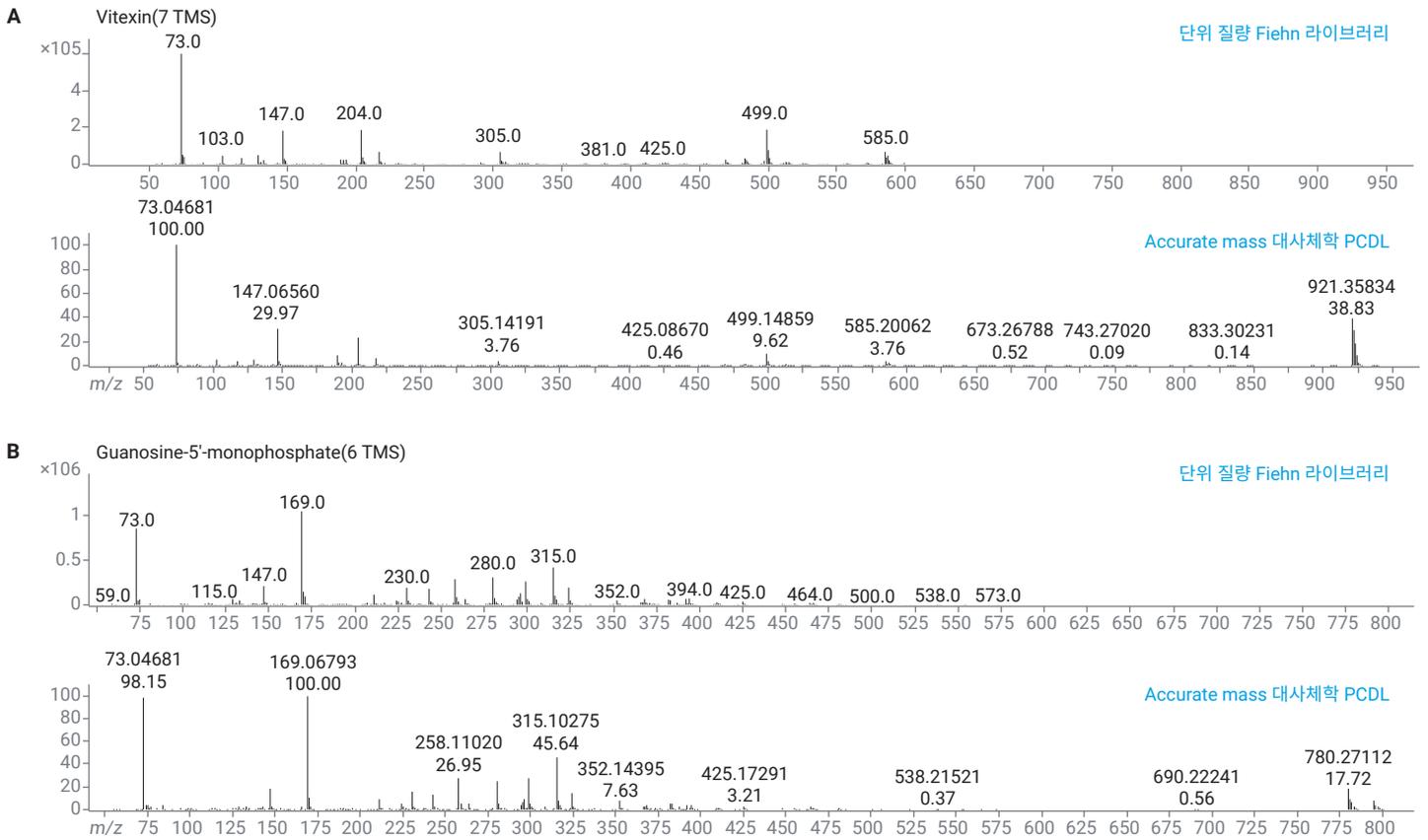


그림 3. 고분자량 및 높은 조각 m/z 를 갖는 화합물의 라이브러리 스펙트럼 예시.

Accurate mass 대사체학 PCDL의 화합물 종류 커버리지와 다양한 조직 추출물을 사용한 특성 규명

현재 버전의 accurate mass 대사체학 PCDL에는 포괄적이고 다양한 GC 분석에 적합한 화합물 종류가 포함되어 있으며, 그 분포는 그림 4에 나와 있습니다. 가장 눈에 띄는 화합물 그룹으로는 카르복실산, 아미노산, 탄수화물이 있으며, 이는 기본적인 생물학적 구성 요소와 에너지 대사를 이해하는 데 중요한 역할을 합니다.

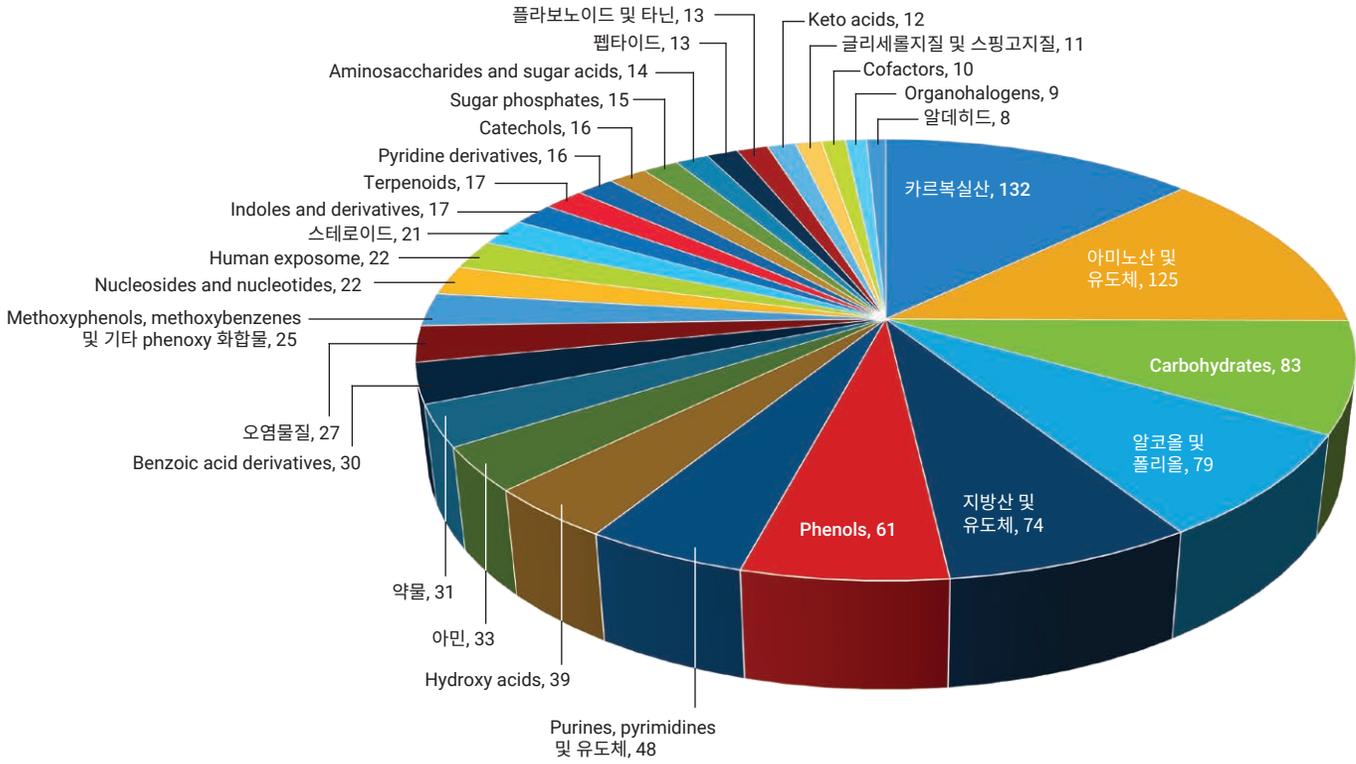


그림 4. Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL에 포함된 화합물 분류.

Accurate mass 대사체학 PCDL과 Unknowns Analysis 도구를 사용하여 뇌, 간, 신장, 혈장, 혈청을 포함한 5개의 마우스 조직에서 200개 이상의 화합물을 확인했습니다. 벤 다이어그램(그림 5)에서 볼 수 있듯이, 분석된 모든 조직에서 86개의 대사체가 공통적으로 발견되었습니다. 그리고 적어도 몇 가지 화합물이 각 조직에서 고유하게 식별되었습니다(표 2). 예상한 대로, 대부분 유기산으로 구성된 가장 큰 쌍별 중첩은 혈장과 혈청 사이에서 발견되었습니다(표 3). 서로 다른 조직 사이의 또 다른 두드러진 쌍별 중첩이 간과 신장 사이에서 관찰되었으며 올리고당과 인산-대사체가 주를 이룹니다(표 3).

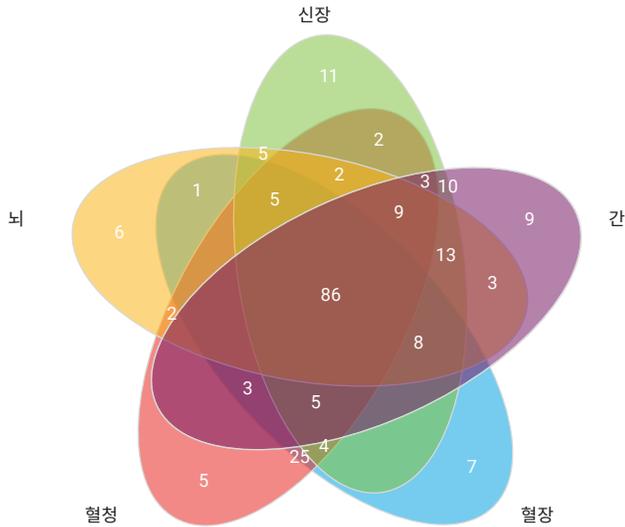


그림 5. Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL로 식별된 다양한 마우스 조직에서의 대사체 중첩.

표 3. 다음 마우스 조직 쌍에서 고유하게 식별된 Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL 라이브러리 검색 결과 목록.

혈장-혈청	신장-간
2-Ketoisovaleric acid	Glyceraldehyde
1,3-Propanediol	Pyrophosphate
2-Furoic acid	Dihydroxyacetone phosphate
2-Hydroxybutyric acid	D-Glucose-6-phosphate
2-Hydroxy-3-methylbutyric acid	Xanthosine
2-Aminobutyric acid	Cellobiose 1
2-Keto-3-methylvaleric acid 1	Cellobiose 2
2-Keto-3-methylvaleric acid 2	Raffinose
2-Ketoisocaproic acid	Maltotriose 1
Benzoic acid	Maltotriose 2
Nicotinic acid	
D-Threitol	
4-Hydroxyphenylacetic acid	
Lauric acid	
Phthalic acid	
D-Sorbitol	
3-Indoleacetic acid	
3-Indolepropionic acid	
Mono-2-ethylhexyl phthalate	
Stearic acid	
Behenic acid	
D-Trehalose	
2-Stearoylglycerol	
β-Tocopherol	
α-Tocopherol	

표 2. 다양한 마우스 조직에서 고유하게 식별된 Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL 라이브러리 검색 결과 목록.

뇌	신장	간	혈장	혈청
2'-Deoxycytidine	N-Acetyl-L-alanine	Cytosine	N-Methyl-L-proline	2,3-Butanediol
3-Aminopyridin-2(1H)-one	β-Cyano-L-alanine	Homogentisic acid	N-Acetylglycine	Pyruvic acid
Thymine	L-Methionine sulfoxide	Heptadecenoic acid	1,2,4-Benzenetriol	Indole-3-lactate
N-Acetyl-L-aspartic acid	D-Galactose	5-Methyluridine	β-Glycerophosphate	Serotonin
L-Ascorbic acid	Galacturonic acid	Sophorose 1	Sorbose 1	Diocetyl phthalate
5'-Deoxy-5'-(methylthio)adenosine	Glucuronic acid	Sophorose 2	Arachidic acid	
	H-Pro-Hyp-OH	Melibiose 1	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	
	L-Cystine 1	Melibiose 2		
	L-Cystine 2	β-Sitosterol		
	Mannose-6-phosphate			
	Fructose-6-phosphate			

혈장 시료를 사용한 비표적 및 표적 스크리닝 워크플로에서 accurate mass 대사체학 PCDL의 평가

대사체학에서는 표적 및 비표적 접근법이 모두 자주 사용됩니다. 따라서 새로운 accurate mass 대사체학 PCDL은 유도체화된 혈장 추출물을 사용하여 두 워크플로 모두에서 평가되었습니다. 비표적 워크플로는 Unknowns Analysis 소프트웨어에서 수행되었으며, 내장된 ExactMass 도구(그림 6)는 위양성을 효율적으로 제거하는데 도움이 되었습니다. 비표적 접근 방식에서 accurate mass 대사체학 PCDL의 잠재적 이점을 더 잘 이해하기 위해 accurate mass 대사체학 PCDL과 더불어 포괄적인 단위 질량 NIST17 라이브러리를 테스트했습니다. 표적 스크리닝 워크플로는

MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어에 통합되어 있으며 accurate mass 라이브러리를 기반으로 하므로, 이 케이스에서는 accurate mass 대사체학 PCDL을 사용했습니다. 그림 7은 표적 스크리닝 결과의 시각화입니다. MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어에 구현된 표적 스크리닝 접근법의 장점은 각 화합물에 대해 모든 분석법 파라미터를 개별적으로 설정할 수 있어 상당한 유연성을 제공한다는 것입니다. Screener 요약 보기를 통해 사용자는 결과를 신속하게 검토하여 추가적인 분석법 최적화를 통해 위양성과 위음성을 최소화할 수 있습니다.

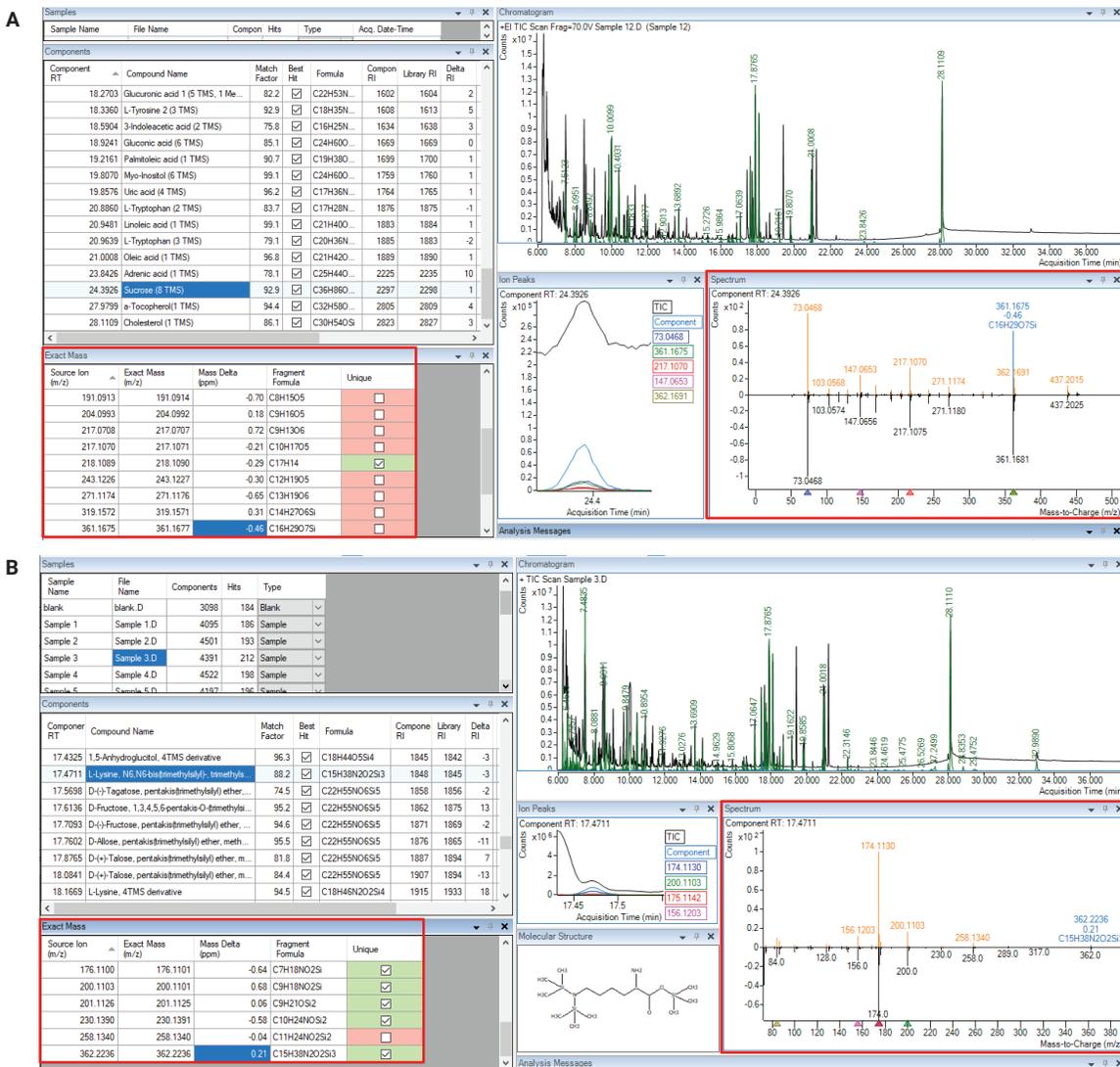


그림 6. (A) Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL 및 (B) 단위 질량 NIST17 라이브러리를 사용하여 Agilent Unknowns Analysis 소프트웨어에서 수행된 비표적 분석. ExactMass 결과는 요약된 표와 미리 플롯에 표시됩니다. 라이브러리 검색 결과 식과 일치하는 화합물 스펙트럼의 조각 이온은 주황색과 파란색으로 강조 표시됩니다.

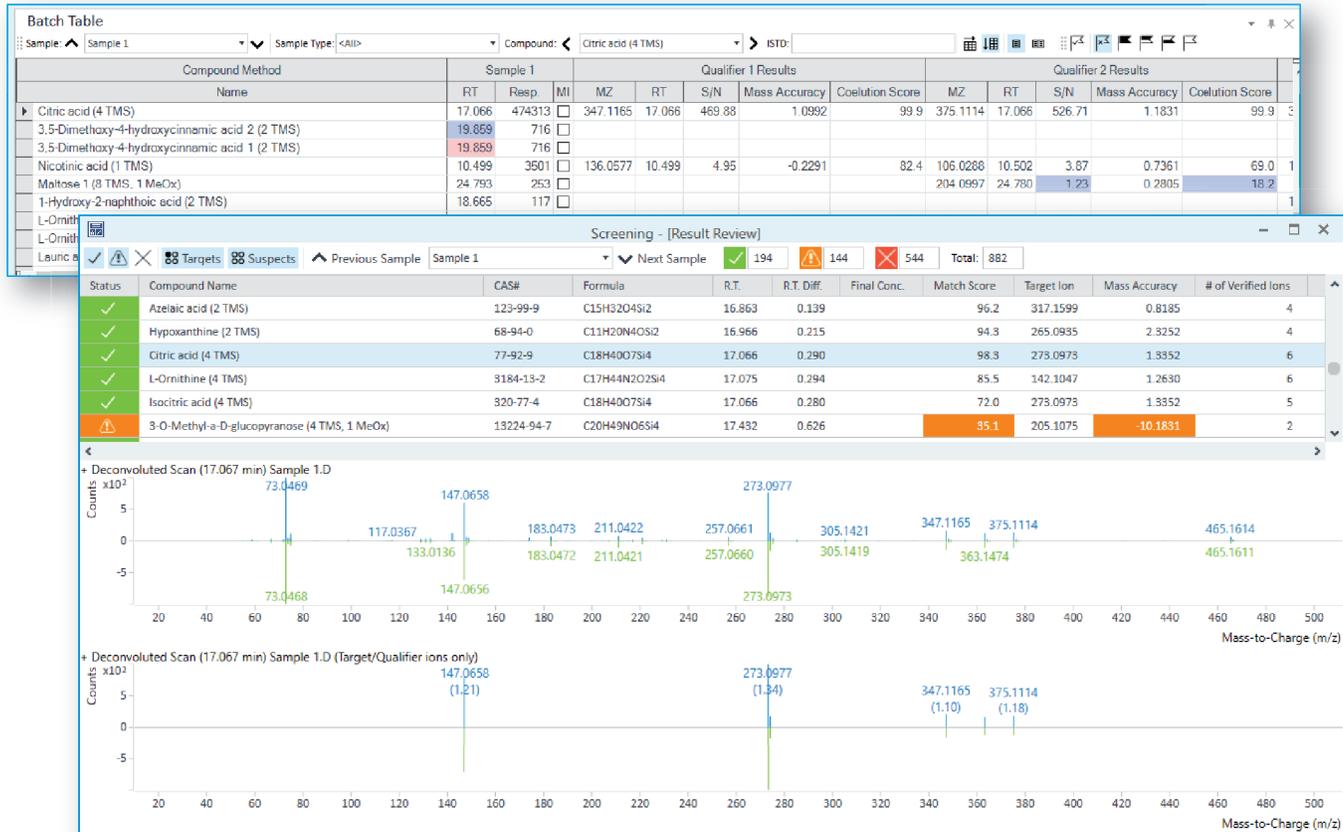


그림 7. 타겟 스크리닝 결과 시각화. 각 화합물에 대한 전체 정보가 포함된 상세한 Quantitative Analysis 표가 상단에 표시됩니다. 가장 의미 있는 결과를 빠르게 검토할 수 있는 Screener 요약 창은 하단에 표시됩니다.

NIST 라이브러리를 사용하여 얻은 결과는 ExactMass 도구를 사용하여 accurate mass 정보를 기반으로 필터링하여 위양성을 제거했습니다. 몇 가지 예가 그림 8에 나와 있습니다. Accurate mass 정보에 따라 시료당 약 36~48개의 라이브러리 결과가 위양성으로 판명되었습니다. 이는 전체 결과의 약 30%에

해당합니다. Accurate mass 대사체학 PCDL(표적 및 비표적 접근법 모두에서)을 사용하면 Screener와 라이브러리 검색 도구에 accurate mass 불일치성으로 인한 위양성을 자동으로 배제할 수 있습니다.

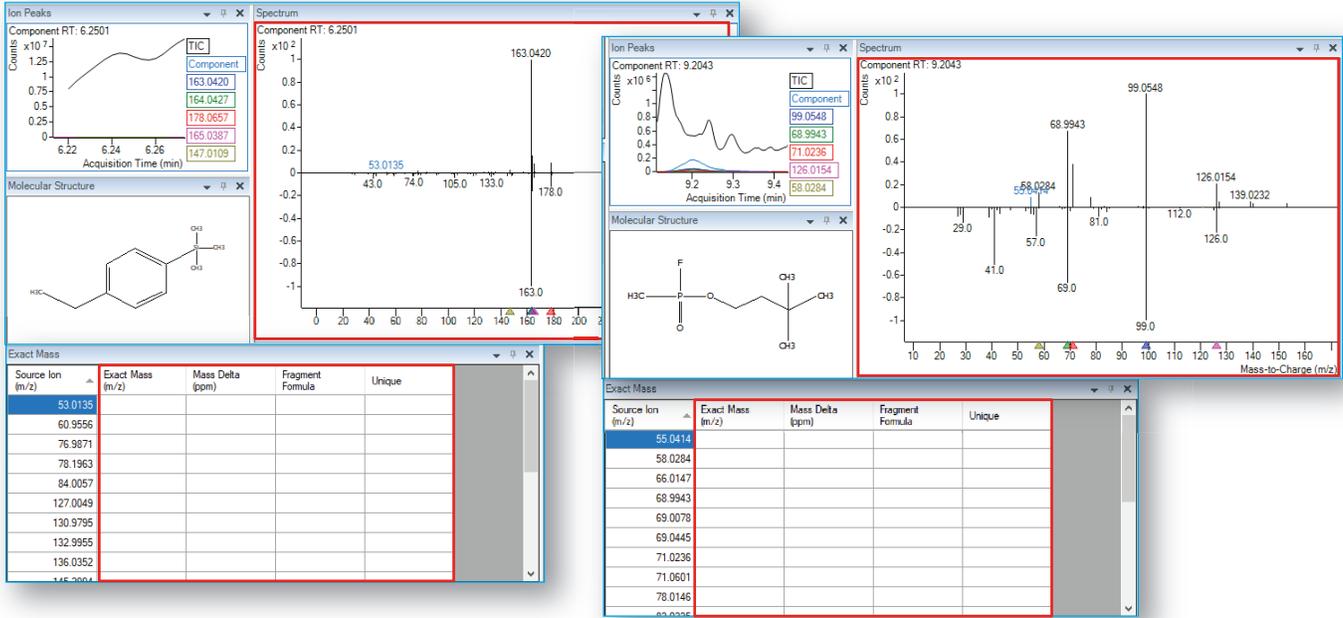


그림 8. ExactMass 도구를 사용하여 쉽게 인식할 수 있는 위양성의 예시. 미리 플롯에서 비어 있는 ExactMass 테이블과 강조 표시된 이온이 없는 것을 확인할 수 있습니다. 라이브러리 검색은 NIST17 라이브러리를 사용하여 수행되었습니다.

Accurate mass 대사체학 PCDL을 사용한 표적 스크리닝 접근법과 NIST17 및 accurate mass 대사체학 PCDL 모두를 사용한 비표적 분석에서 혈장 시료에서 식별된 화합물의 수를 비교했습니다(표 4). 대부분의 경우, NIST에 비해 accurate mass 대사체학 PCDL을 사용할 때 더 많은 수의 화합물이 식별되었습니다. 그러나 흥미롭게도 각 분석법으로 식별된 특정 화합물에 대해서는 표적 접근법과 비표적 접근법이 상호 보완적인 것으로 나타났습니다.

대사체학 PCDL을 사용하여 혈장에서 1차 및 지질 대사과 관련된 다양한 극성 및 비극성 대사체가 확실하게 식별되었으며 표 5에 나열되어 있습니다. 지면 관계상 두 워크플로 모두에서 라이브러리 매치 스코어가 80 이상인 라이브러리 결과만 표시했습니다.

표 4. 단위 및 accurate mass 라이브러리(각각 NIST17 및 Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL)와 함께 다양한 스크리닝 접근법을 사용할 때 식별된 화합물의 수.

시료명	식별된 화합물 수		
	Screener	UA PCDL	UA NIST
시료 A	153	151	140
시료 B	149	146	144
시료 C	151	146	138
시료 D	152	146	143
시료 E	145	138	145
시료 F	141	141	139
시료 G	139	148	146
시료 H	164	144	147
시료 I	146	139	131
시료 J	152	148	136
시료 K	151	146	132
시료 M	168	151	140
시료 N	167	152	157

표 5. Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL을 통해 표적(Screener) 및 비표적(UA) 접근법을 사용하여 혈장에서 식별된 화합물. 이 표에는 두 접근법 모두에서 라이브러리 매치 스코어가 80 이상인 화합물만 표시됩니다.

RT	화합물 명칭	유도체화된 식	UA 라이브러리 매치 스코어	Screener 라이브러리 스코어
6.48	Boric acid	C ₉ H ₂₇ BO ₃ Si ₃	93.2	82.1
7.33	L-Lactic acid	C ₉ H ₂₂ O ₃ Si ₂	95.4	83.8
8.39	2-Hydroxybutanoic acid	C ₁₀ H ₂₄ O ₃ Si ₂	96.7	99.6
8.78	p-Cresol	C ₁₀ H ₁₆ O _{Si}	85.3	99.6
8.85	L-Leucine	C ₉ H ₂₁ NO ₂ Si	81.3	98.5
8.85	3-Hydroxybutyric acid	C ₁₀ H ₂₄ O ₃ Si ₂	95.6	81.9
8.90	2-Hydroxy-3-methylbutyric acid	C ₁₁ H ₂₆ O ₃ Si ₂	92.2	92.6
9.58	2-Ketoisocaproic acid 2	C ₁₀ H ₂₁ NO ₃ Si	94.2	97.4
9.85	Ethanolamine	C ₁₁ H ₃₁ NO ₃ Si ₃	97.6	98.9
10.14	Benzoic acid	C ₁₀ H ₁₄ O ₂ Si	96.8	99.6
10.21	L-Serine	C ₉ H ₂₃ NO ₃ Si ₂	98.0	98.8
10.40	Phosphoric acid	C ₉ H ₂₇ O ₄ PSi ₃	89.3	98
10.78	L-Proline	C ₁₁ H ₂₅ NO ₂ Si ₂	93.8	99.7
10.89	Glycine	C ₁₁ H ₂₉ NO ₂ Si ₃	97.8	99.6
11.59	L-Serine	C ₁₂ H ₃₁ NO ₃ Si ₃	96.0	99.2
11.64	Nonanoic acid	C ₁₂ H ₂₆ O ₂ Si	98.2	99.5
12.50	β-Alanine	C ₁₂ H ₃₁ NO ₂ Si ₃	94.3	99.3
12.90	Capric acid	C ₁₃ H ₂₈ O ₂ Si	93.9	99.4
13.55	O-Acetylsalicylic acid	C ₁₃ H ₂₂ O ₃ Si ₂	87.9	99.5
13.69	L-Glutamic acid (dehydrated)	C ₁₁ H ₂₃ NO ₃ Si ₂	99.1	98.9
13.81	L-Glutamate	C ₁₁ H ₂₅ NO ₄ Si ₂	87.3	99.1
14.05	L-Phenylalanine	C ₁₂ H ₁₉ NO ₂ Si	95.6	98.3
14.10	Creatinine	C ₁₃ H ₃₁ N ₃ O ₃ Si ₃	86.3	99.3
14.32	α-Hydroxyglutaric acid	C ₁₄ H ₃₂ O ₅ Si ₃	94.9	80
14.64	Pyrogallol	C ₁₅ H ₃₀ O ₃ Si ₃	83.3	82.7
14.86	L-Glutamate	C ₁₄ H ₃₃ NO ₄ Si ₃	90.2	99.7
14.96	L-Phenylalanine	C ₁₅ H ₂₇ NO ₂ Si ₂	98.1	99.1
14.98	4-Hydroxybenzoic acid	C ₁₃ H ₂₂ O ₃ Si ₂	82.9	95.2
15.27	Lauric acid	C ₁₅ H ₃₂ O ₂ Si	96.3	99.5
15.49	Arabinose	C ₁₈ H ₄₅ NO ₅ Si ₄	96.8	85
15.90	3-Indoxylsulfate	C ₁₄ H ₂₃ NO ₄ SSi ₂	91.5	86
16.13	3-(3-Hydroxyphenyl) propionic acid	C ₁₅ H ₂₆ O ₃ Si ₂	80.9	99.6
16.38	L-Ornithine	C ₁₄ H ₃₆ N ₂ O ₂ Si ₃	96.0	98.1
16.48	Ribonic acid	C ₂₀ H ₅₀ O ₆ Si ₅	93.5	93.1
16.51	4-Hydroxy-3-methoxybenzoic acid	C ₁₄ H ₂₄ O ₄ Si ₂	92.7	99.8
16.86	Azelaic acid	C ₁₅ H ₃₂ O ₄ Si ₂	97.8	94.5

RT	화합물 명칭	유도체화된 식	UA 라이브러리 매치 스코어	Screener 라이브러리 스코어
16.96	Hypoxanthine	C ₁₁ H ₂₀ N ₄ O ₂ Si ₂	91.1	93.8
17.06	Citric acid	C ₁₈ H ₄₀ O ₇ Si ₄	99.3	98.2
17.07	L-Ornithine	C ₁₇ H ₄₄ N ₂ O ₂ Si ₄	95.7	87.1
17.51	Caffeine	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	88.2	99.6
17.57	D-Tagatose 2	C ₂₂ H ₅₅ NO ₆ Si ₅	94.4	90.4
17.76	Mannose 1	C ₂₂ H ₅₅ NO ₆ Si ₅	98.8	99.8
17.83	L-Tyrosine 1	C ₁₅ H ₂₇ NO ₃ Si ₂	84.7	84.8
17.87	D-Glucose 1	C ₂₂ H ₅₅ NO ₆ Si ₅	83.6	99.8
18.23	D-Mannitol	C ₂₄ H ₆₂ O ₆ Si ₆	98.6	80.8
18.26	Glucuronic acid 1	C ₂₁ H ₅₀ O ₇ Si ₅	92.7	82.1
18.34	L-Tyrosine 2	C ₁₈ H ₃₅ NO ₃ Si ₃	95.0	99.5
18.48	Sinigrin	C ₂₂ H ₄₄ NO ₉ Si ₄	87.2	85.1
18.48	Myo-Inositol	C ₂₄ H ₆₀ O ₆ Si ₆	88.0	82.5
18.59	Indole-3-acetic acid	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂ Si ₂	88.5	82.9
18.93	Gluconic acid	C ₂₄ H ₆₀ O ₇ Si ₆	90.9	97.6
19.21	Palmitoleic acid	C ₁₉ H ₃₈ O ₂ Si	96.0	99.7
19.41	Palmitic acid	C ₁₉ H ₄₀ O ₂ Si	97.2	99.9
19.41	Cyclohexanecarboxylic acid	C ₁₀ H ₂₀ O ₂ Si	98.1	85.8
19.76	Indole-3-propionic acid	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂ Si ₂	83.4	84.6
19.80	Conduritol-β-expoxide 2	C ₁₈ H ₃₈ O ₅ Si ₄	93.7	86.8
19.85	Uric acid	C ₁₇ H ₃₆ N ₄ O ₅ Si ₄	96.4	99.7
20.58	Indole-3-lactate	C ₂₀ H ₃₅ NO ₃ Si ₃	89.0	93.5
20.89	L-Tryptophan	C ₁₉ H ₃₀ N ₂ O ₃ Si ₂	80.3	83.9
20.96	N-Acetyl-L-tryptophan	C ₂₀ H ₃₆ N ₂ O ₂ Si ₃	83.4	81.9
21.00	Oleic acid	C ₂₁ H ₄₂ O ₂ Si	97.9	99.9
21.22	Stearic acid	C ₂₁ H ₄₄ O ₂ Si	97.2	99.2
22.31	Adrenic acid	C ₂₅ H ₄₄ O ₂ Si	85.3	92
24.03	1-Monopalmitin	C ₂₅ H ₅₄ O ₄ Si ₂	83.7	94.5
24.39	Sucrose	C ₃₆ H ₈₆ O ₁₁ Si ₈	94.5	96
24.46	Behenic acid	C ₂₅ H ₅₂ O ₂ Si	82.4	95.7
25.15	Maltose 1	C ₃₇ H ₈₉ NO ₁₁ Si ₈	91.4	98.7
25.31	1-Monoolein	C ₂₇ H ₅₆ O ₄ Si ₂	87.3	96
25.47	Glyceryl monostearate	C ₂₇ H ₅₈ O ₄ Si ₂	84.9	97.4
25.79	Squalene	C ₃₀ H ₅₀	90.1	98.9
27.03	β-Tocopherol	C ₃₁ H ₅₆ O ₂ Si	90.6	99.7
27.98	α-Tocopherol	C ₃₂ H ₅₈ O ₂ Si	95.2	94.7
28.09	Cholesterol	C ₃₀ H ₅₄ O _{Si}	88.0	99.8
29.48	β-Sitosterol	C ₃₂ H ₅₈ O _{Si}	92.2	98.6

결론

GC/Q-TOF와 함께 사용하기 위한 Agilent Fiehn accurate mass 대사체학 PCDL을 생성하면 연구자들은 대사체학 데이터에서 생물학적으로 관련된 분자의 스펙트럼을 더욱 확실하게 식별할 수 있습니다. 이 응용 자료에서는 대사 경로와 관련된 다양한 극성 및 비극성 대사체와 일반적으로 생체 매트릭스에 존재하는 여러 xenobiotics를 포함하는 포괄적인 accurate mass 대사체학 PCDL의 생성 및 특성 규명에 대해 설명합니다. PCDL 생성 과정에서 Agilent ChemVista가 사용되었으며, 추가적인 관리 및 스펙트럼 통합을 위해 ChemVista와 함께 PCDL을 쉽게 사용할 수 있습니다. 표적 및 비표적 워크플로 모두에서 일반적으로 분석되는 혈장 매트릭스를 사용하여 accurate mass 대사체학 PCDL의 사용이 입증되었습니다. 단위 질량 라이브러리와 비교했을 때, accurate mass 대사체학 PCDL은 accurate mass 조각 스펙트럼과 확장된 질량 범위를 통합하여 매트릭스에서 대사체를 보다 구체적이고 민감하게 검출할 수 있을 뿐만 아니라 accurate mass 기반 추정물질 스크리닝 워크플로를 구현할 수 있도록 했습니다. 이제 연구자들은 accurate mass 대사체학 PCDL을 워크플로에 통합함으로써 대사체 식별에 대한 신뢰도를 높이고 실험에서 의미 있는 생물학적 결론을 도출하는 능력을 더욱 가속화할 수 있게 되었습니다.

참고 문헌

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.* 고분해능 GC/Q-TOF와 확장된 농약 및 환경 오염물질 Accurate Mass 라이브러리를 이용한 오염물질 스크리닝 Agilent Technologies 응용 자료, 발행 번호 5994-1346KO
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

www.agilent.com

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하지 않습니다.

RA44995.6218171296

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2023
2023년 3월 29일 한국에서 발행
5994-5832KO

한국에질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com