

혈장 지질체 커버리지 향상을 위한 Lipid Annotator 소프트웨어의 Iterative MS/MS 데이터 수집 및 6546 LC/Q-TOF의 활용

저자

Jeremy Koelmel
Department of Chemistry,
University of Florida,
Gainesville, FL, USA

Mark Sartain, Juli Salcedo,
Adithya Murali, Xiangdong Li,
Sarah Stow
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA, USA

서론

질량 분석 기반 지질체학(lipidomics)에서의 주요 과제는 생물학적 시료 내의 넓은 농도 범위로 존재하는 다양한 지질 종의 특성을 포괄적으로 규명하는 것입니다. 샷건 지질체학(shotgun lipidomics)은 지질 분석 분야를 발전시켰으나, 생물학적 중요성이 있을 수 있는 동중원소 종을 구분하지 못하고, 이온화 억제로 인해 측정 범위(dynamic range)가 축소되는 등의 한계로 어려움을 겪고 있습니다. 이로 인해 고분해능 질량 분석(MS)과 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 결합하여 사용하는 크로마토그래피 기반의 지질 프로파일링 접근법을 사용하게 되었습니다.

가상 환경에서(In silico) 생성된 데이터베이스에 생성 이온 스펙트럼을 매칭하기 위해, 신뢰성 있는 지질 어노테이션(lipid annotation)에는 MS/MS 수준의 데이터 수집이 필요합니다. LC 분리가 지질 중 이성질체의 구조를 밝히고 복잡성을 감소시키는 데 도움이 되지만, 데이터 의존적 고분해능 MS/MS 데이터의 경우는 크로마토그래피 용리 과정 중 조각화를 위해 선택할 수 있는 전구체의 수에 의해 제약을 받습니다. 따라서 복잡한 시료에 대한 단일 분석에서 목적인 전체 MS/MS 스펙트럼을 수집할 수는 없습니다. 또한 이 전략은 농도 편차로 인해 존재비가 낮은 중요 지질 종을 놓치는 경우가 종종 발생합니다.

본 응용 자료는 이러한 문제점에 대한 해결책을 제시합니다. 이 자료에서는 다양한 지질 이성질체를 분리하는 데 적합하며 혈장¹, 조직² 및 세포 지질을 종합적으로 프로파일링하는 데 일반적으로 선택되는 역상(RP) 크로마토그래피를 사용하였습니다. 이 LC 분리법을, 수집 속도와 관계없이 향상된 분해능과 넓은 측정 범위를 동시에 지원하기 위해 고안된 질량 분석기인 Agilent 6546 LC/Q-TOF와 결합하여 사용하였습니다. 또한 시료를 여러 번 주입하고, MS/MS 조각화를 위해 사전에 선택한 전구체를 rolling basis로 배제하는 완전 자동화된 Q-TOF Iterative MS/MS 수집 모드를 평가하였습니다. 이들 결과는 Iterative MS/MS 사용 시 혈장 지질체 커버리지를 대폭 향상시킬 수 있음을 입증합니다. Iterative MS/MS 데이터는 종합 지질체학 워크플로의 일부인 Agilent Lipid Annotator 소프트웨어에서 사용할 수 있습니다.

실험

시약 및 화학물질

모든 시약과 용매는 HPLC 또는 LC/MS 등급을 사용하였습니다. Acetonitrile, methanol 및 isopropanol은 Honeywell (Morristown, NJ, USA)에서 구입하였습니다. 초순수는 LC-Pak Polisher와 0.22µm point-of-use membrane filter cartridge가 장착된 Milli-Q Integral 시스템(EMD Millipore, Billerica, MA, USA)에서 얻었습니다. Ammonium fluoride 및 LC/MS 등급 ammonium acetate는 Millipore Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였습니다. NIST SRM 1950 인간 혈장 또한 Millipore Sigma에서 구입하였습니다.

시료 전처리

NIST SRM 1950 혈장을 얼음 위에서 해동하고 변형 Folch 추출법으로 혈장 지질을 추출하였습니다. 2mL의 Eppendorf 튜브에서 메탄올(400µL)을 50µL 해동 혈장의 분주(aliquot)에 첨가하고, 간단히 vortex한 후 5분간 초음파 수조에 처리하였습니다. Chloroform(800µL)을 첨가하고 1분간 vortex하였습니다. 상 분배(phase partitioning)를 유도하기 위해 물 240µL를 추가하였습니다. 다음으로 혼합물을 1분간 vortex하고 4°C에서 2분간 16,000×g로 원심분리하였습니다. 가스-타이트 시린지로 조심스럽게 하층액을 취해, 2mL Agilent A-Line 갈색 유리 바이알로 옮겼습니다. 남은 상 경계 및 상층 상을 다시 추출하기 위해, 900µL의 chloroform/methanol/water(86:14:1)를 첨가하고, 혼합물을 1분간 vortex한 후에 다시 원심분리하였습니다. 두 개의 50µL 추출물에서 하층액을 혼합하여 진공 농축기로 건조시켰습니다. 건조한 지질 추출물을 100µL의 methanol/chloroform 혼합물(9:1, v/v)로 재용해시키고 1분간 vortex한 후, LC/MS 분석하기 전 비활성화된 250µL 자동 시료 주입기 유리 인서트에 옮겼습니다. 양이온 모드 분석에서는 합성 고무 셉타(Black Viton, p/n 5181-1212)를 사용하였고 주입량은 2µL이었습니다. 음이온 모드 분석에서는 PTFE/실리콘/PTFE 셉타(p/n 5185-5861)를 사용하였고 주입량은 5µL이었습니다.

기기

LC 시스템

Agilent 1290 Infinity II LC 구성:

- Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Vialsampler(G7129B), 온도 조절 장치 장착
- Agilent 1290 Infinity II 다중 컬럼 온도 조절 장치(G7116B)

MS 시스템

Agilent 6546 LC/Q-TOF, Agilent Jet Stream Technology 이온화원 탑재

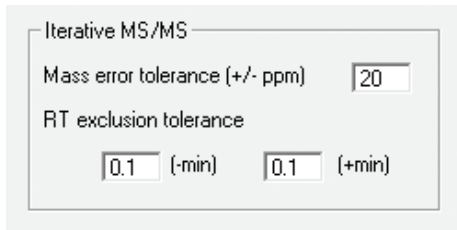
분석법

나타낸 바와 같이, 일반적인 AutoMS/MS 분석법 또는 Iterative MS/MS 분석법을 이용하여 데이터를 수집하였습니다. 표 1과 표 2는 크로마토그래피 및 6546 Q-TOF의 조건과 파라미터를 보여줍니다.

표 1. 크로마토그래피 조건

파라미터	Agilent 1290 Infinity II LC																		
분석 컬럼	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0x100mm, 2.7µm(p/n 695975-302)																		
가드 컬럼	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0x5mm, 2.7µm(p/n 823750-911)																		
컬럼 온도	50°C																		
주입 용량	2µL(양이온), 5µL(음이온)																		
자동 시료 주입기 온도	50°C																		
니들 세척	세척 포트에서 15초(50:50 methanol/isopropanol)																		
이동상	A) 9:1 water/methanol에 10mM ammonium acetate, 0.2mM ammonium fluoride B) 2:3:5 acetonitrile/methanol/isopropanol에 10mM ammonium acetate, 0.2mM ammonium fluoride																		
유속	0.6mL/분																		
그라디언트 프로그램	<table border="1"> <thead> <tr> <th>시간(분)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.00</td><td>70</td></tr> <tr><td>1.00</td><td>70</td></tr> <tr><td>3.50</td><td>86</td></tr> <tr><td>10.00</td><td>86</td></tr> <tr><td>11.00</td><td>100</td></tr> <tr><td>17.00</td><td>100</td></tr> <tr><td>17.10</td><td>70</td></tr> <tr><td>19.00</td><td>70</td></tr> </tbody> </table>	시간(분)	%B	0.00	70	1.00	70	3.50	86	10.00	86	11.00	100	17.00	100	17.10	70	19.00	70
시간(분)	%B																		
0.00	70																		
1.00	70																		
3.50	86																		
10.00	86																		
11.00	100																		
17.00	100																		
17.10	70																		
19.00	70																		
정지 시간	19분																		
사후 시간	없음																		
관찰된 컬럼 압력	170~330bar																		

수집 분석법 편집기에서 Iterative MS/MS 파라미터를 다음과 같이 설정하였습니다.



Iterative MS/MS를 작동시키기 위해 수집 워크리스트를 다음과 같이 설정하였습니다.

- 마우스 오른쪽 버튼을 클릭하고 **Add Columns**를 선택합니다.
- **MS Parameter** Column Type 아래의 선택 가능한 열에서 **Iterative**를 선택합니다(그림 1).
- Iterative 열에 **Start** 또는 **Reset**을 입력하여(그림 2) 반복(iteration) 세트 시작을 지시합니다. 이로써 이전의 rolling 배제 목록을 모두 리셋하고 새로운 배제 목록을 시작하게 됩니다.
- **Iterative** 또는 다른 단어를 입력하여 배제 목록에 사용 및 추가하는 후속 반복 주입을 지정합니다.
- 빈 셀은 작업 목록을 리셋하지 않고 배제 목록을 사용하거나 추가하지 않는 주입을 표시합니다. 그러나 전체 또는 부분적인(타임 세그먼트) 표적 MS/MS 또는 스캔(MS only) 수집 분석법은 rolling 배제 목록을 리셋 할 수 있다는 점을 주의하십시오.

Inj Vol (µl)	Iterative	Comment
As Method	start	
As Method	iterative	
As Method	iterative	
As Method	iterative	
As Method	iterative	
As Method		

그림 2. Iterative MS/MS의 워크리스트 설정

표 2. 6546 Q-TOF AutoMS/MS 파라미터

파라미터	6546 LC/Q-TOF
가스 온도	200°C
가스 유속	10L/분
Nebulizer(psig)	50
Sheath 가스 온도	300°C
Sheath 가스 유속	12L/분
VCap	3,500V(+), 3,000V(-)
노즐 전압	0V
Fragmentor	150V
Skimmer	65V
Octopole RF Vpp	750V
기준 질량	m/z 121.050873, m/z 1221.990637(+) m/z 119.03632, m/z 980.016375(-)
MS 및 MS/MS 범위	m/z 40~1700(+)
최소 MS 및 MS/MS 수집 속도	3스펙트럼/초
분리 폭	좁음(약 1.3m/z)
충돌 에너지	20eV(+), 25eV(-)
주기당 최대 전구체 수	3
전구체 존재비 기반 스캔 속도	예, 표적 25,000카운트/스펙트럼
MS/MS 누적 시간 제한 사용	예
표적 TIC에 도달할 수 없는 전구체 거부	아니오
MS/MS 임계값	5,000카운트 및 0.001%
능동 배제 활성화	예, 1회 반복 후 0.05분 동안 배제
순도	엄격도 70%, cutoff 0%
동위원소 모델	일반 유기 분자
전구체 정렬	1, 2, unknown
정적 배제 범위	m/z 40~151(+) m/z 40~210(-)

Add Columns

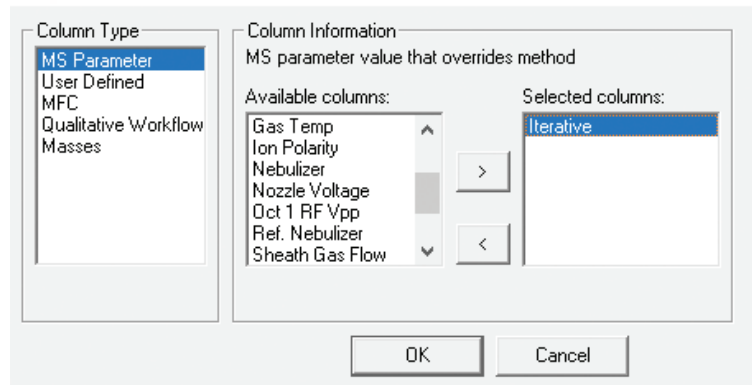


그림 1. Add Columns 대화 상자

소프트웨어

Agilent MassHunter Q-TOF Data Acquisition 버전 10을 사용하여 6546 LC/Q-TOF 시스템을 작동하였습니다. 다른 모든 데이터 분석에는 Agilent MassHunter Lipid Annotator 버전 1.0을 사용하였습니다. 기본 분석법 파라미터를 사용하였으나, 양이온 모드 분석에 대해서는 $[M+H]^+$ 및 $[M+NH_4]^+$ 전구체만 고려하였으며, 음이온 모드 분석에 대해서는 $[M-H]^-$ 및 $[M+HAc-H]^-$ 전구체만을 고려하였습니다. Agilent MassHunter PCDL Manager 버전 B.08 SP1을 사용하여 내보내기 한 어노테이션을 관리 및 편집하였습니다.

결과 및 토의

Lipid Annotator 소프트웨어를 이용한 열장의 Iterative MS/MS 데이터 분석

신뢰성 있는 지질 어노테이션에서는 *In silico* 로 생성한 데이터베이스의 생성 이온 스펙트럼을 매칭하기 위해, MS/MS 수준의 데이터 수집이 필요합니다. 본 연구에서는 새로운 소프트웨어 도구(Lipid Annotator)를 확률 밀도 알고리즘인 Bayesian 평점과 비음(non-negative) 최소 제곱법을 결합 사용하여, MS/MS 스펙트럼의 어노테이션을 위해 Kind *et al.*³⁴이 개발한 이론 지질 라이브러리(수정된 LipidBlast)를 검색하였습니다. Lipid Annotator에는 MS/MS 스펙트럼에서 확실히 밝혀진 구조 정보 수준만을 제공하여, 지질 개체를 오버 어노테이션(over-annotate)하지 않도록 각별히 유의해야 합니다.

이전의 연구에 따르면, Q-TOF Iterative MS/MS 수집 모드는 단일 클론 항체⁵의 심층적 펩타이드 맵핑에 효과적인 것으로 밝혀졌습니다. 이 모드를 6546 LC/Q-TOF 의 Iterative 수집 모드에서 복잡한 지질 시료에 적용하였습니다. 그림 3은 Iterative MS/MS 전략을 보여줍니다. 첫 번째 주입은 능동 배제 목록을 고려하여 조각화를

위해 존재비가 가장 높은 N개의 전구체를 선택하는 전통적인 데이터 의존적 (일반적인) Auto MS/MS 분석으로 수행합니다. 후속 주입에서는 사용자 정의 가능한 질량 허용 오차 및 머무름 시간 배제 허용 범위를 이용하여, 이전의 주입에서 MS/MS 조각화를 위해 선택한 전구체를 rolling basis로 배제합니다.

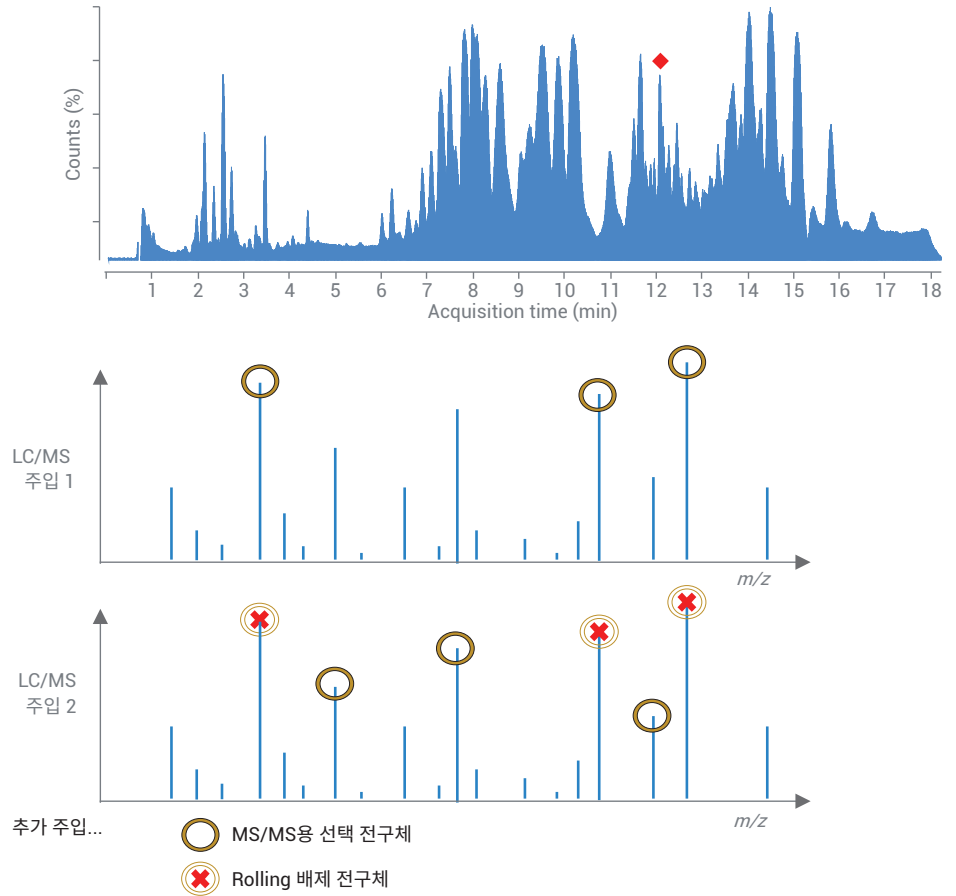
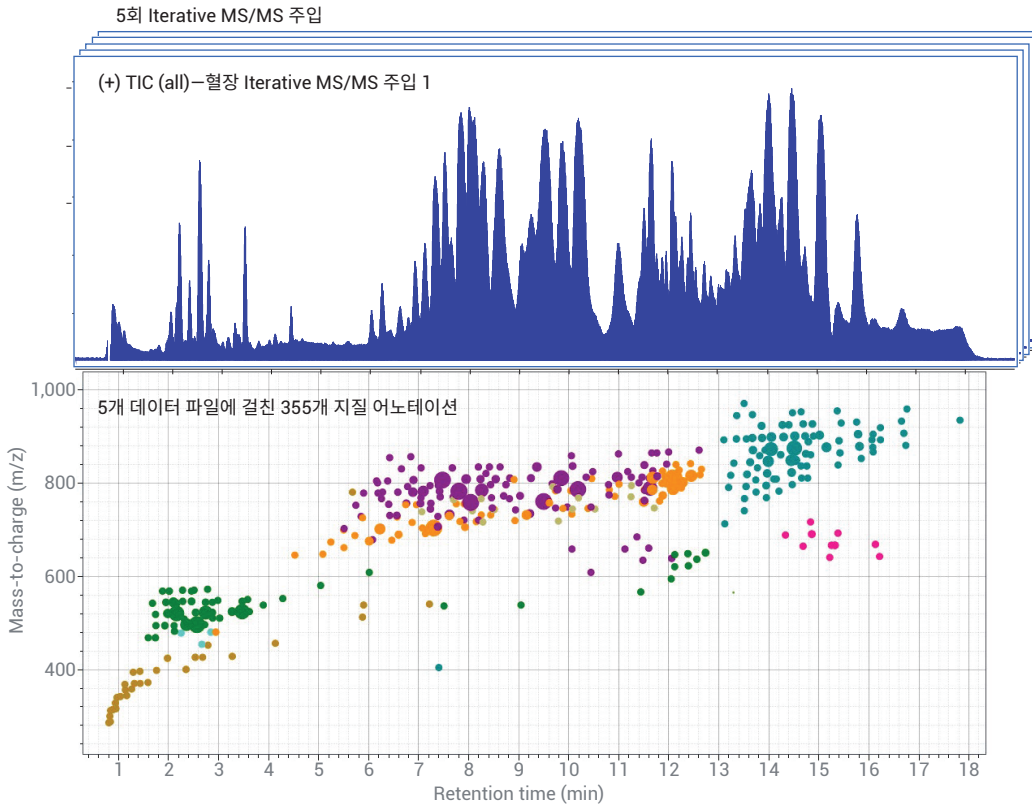


그림 3. Iterative MS/MS의 원리

Lipid Annotator는 동일한 시료에서 수집한 여러개의 MS/MS 데이터 파일을 한 배치로 일괄 분석하는 기능을 제공합니다. 그림 4는 5개 혈장 Iterative MS/MS 데이터 파일에

대한 분석 결과를 나타냅니다. 355가지 특정 지질(RT가 서로 다른 이성질체 포함)은 5개의 양이온 모드 데이터 파일에 어노테이션된 14가지 종류를 대표합니다.

별도로, 한 배치의 5개 음이온 모드 Iterative MS/MS 데이터 파일을 분석하여, 20개 지질 종류를 대표하는 326가지 특정 지질을 획득하였습니다(표시하지 않음).



지질 종류
종류별 지질 수

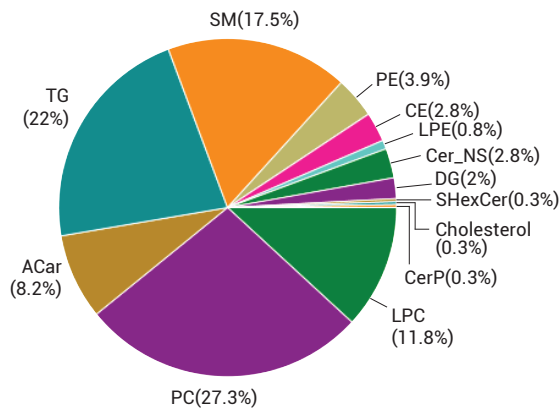


그림 4. 양이온 모드에서의 혈장에 대한 일반적인 총 이온 크로마토그램(TIC), Lipid Annotator 소프트웨어 보기 화면 정렬. 제시된 결과는 5개 Iterative MS/MS 데이터 파일에 대한 결합 분석임. 어노테이션된 지질 특징을 m/z 대 머무름 시간으로 도표를 작성하고, 파이 차트에 해당하는 지질 종류를 컬러로 표시하며, 파이 차트에는 어노테이션된 지질 수를 백분율로 표시함

지질 어노테이션을 증가시키는 Iterative MS/MS

일반적인 AutoMS/MS 파일 대비, 다중 Iterative MS/MS 데이터 수집 파일에 걸친 혈장 내의 누적 지질 어노테이션 수가 증가하였습니다(그림 5). 이러한 결과는 본 연구에서 이용한 분석법 파라미터를 사용한 3~5회의 Iterative MS/MS 주입으로 혈장의 종합적인 지질 어노테이션을 충분히 실현할 수 있음을 시사합니다. 혈장은 일반적이고 복잡한 생물 시료를 대표하지만, 최적의 주입 횟수는 시료 복잡성 및 LC/MS 수집 분석법 파라미터에 따라 달라질 수 있다는 점을 주의해야 합니다. 양이온 모드에서의 혈장 추출물에서, 5회 연속 주입에 Iterative MS/MS를 적용한 결과, 어노테이션된 고유 지질 커버리지가 5회 연속 주입에 걸친 일반적인 AutoMS/MS 수집(n = 223) 대비 69%(n = 355) 증가하였습니다(그림 5A). 이와 비슷하게, 혈장의 음이온 모드 분석에서도, 일반적인 MS/MS(n = 243) 대비, 5회 주입의 Iterative MS/MS(n = 326)에서 34% 증가한 지질 어노테이션을 얻었습니다(그림 5B). 이들 결과를 종합했을 때, 크로마토그래피 분석에서 수많은 지질 전구체의 스펙트럼 밀도로 인해(특히 양이온 모드에서), LC/MS/MS 기반의 지질체학 데이터 수집에서 Iterative MS/MS를 사용하면 분명한 이점을 획득할 수 있음을 보여줍니다.

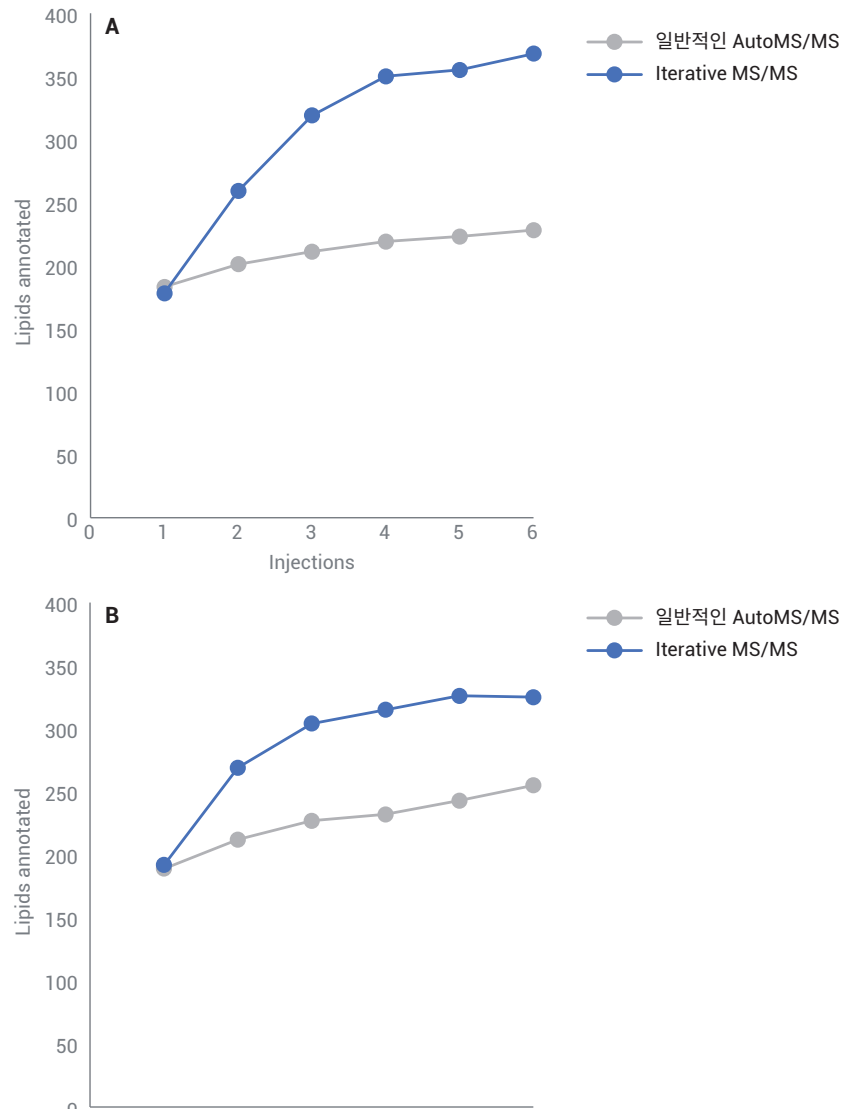


그림 5. 양이온(A) 및 음이온(B) 모드에서 여러 데이터 수집 파일에 걸쳐 Lipid Annotator 소프트웨어를 통해 수집한 어노테이션된 특정 지질 특징 누적 그래프

존재비가 낮은 지질 이온과 특정 지질 종류를 농축하는 Iterative MS/MS

Iterative MS/MS 모드에서 존재비가 높은 지질 전구체의 연속 배제와 마찬가지로, 양이온(그림 6A) 및 음이온(그림 6B) 극성 데이터세트에서 트리거된 지질 전구체의 평균 피크 존재비가 첫 3회 혈장 주입에 걸쳐 감소하였음을 관찰하였습니다. 또한 두 번째 주입에서 어노테이션 지질의 피크 존재비가 양이온 및 음이온 극성 데이터세트 모두에서 초기 주입 대비 대폭 감소하였습니다(t-test p-value <0.001).

존재비가 높은 전구체의 반복 배제로 인해, Iterative MS/MS를 통해 존재비가 낮은 지질 종류(예: diacylglycerol), 이온화 효율이 낮은 지질 종류(예: 유리 cholesterol) 또는 크로마토그램에서 스펙트럼이 밀집한 구역에 위치하는 지질 종류(예: triacylglycerol)를 농축하였음을 관찰할 수 있었습니다. 표 3은 일반적인 AutoMS/MS 대비, Iterative MS/MS의 연속 주입으로 인해 고도로 농축된 지질 종류에 관한 예를 보여줍니다.

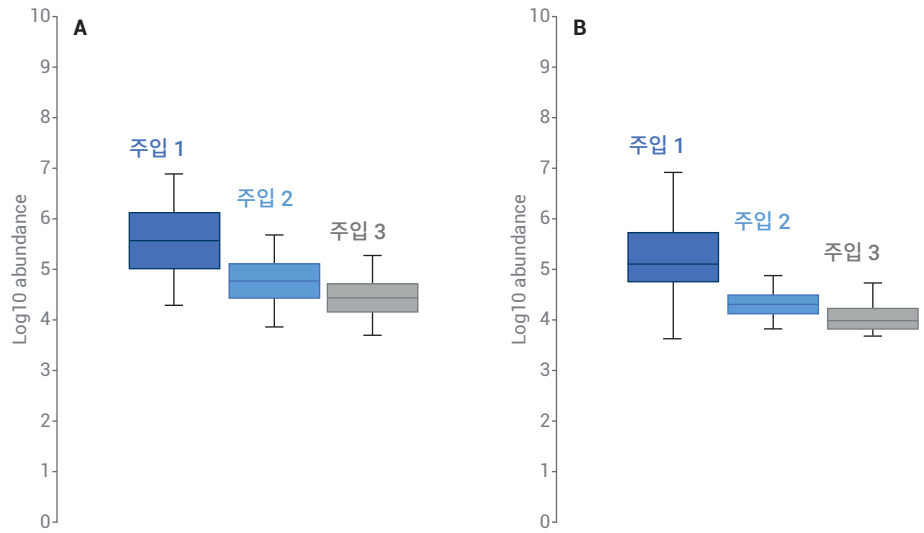


그림 6. 양이온(A) 및 음이온(B) 모드에서 3회 Iterative MS/MS 연속 주입을 통해 수집한 어노테이션된 지질에 해당하는 특정 존재비의 상자 도표

표 3. Iterative MS/MS를 통해 고도로 농축된 지질 종류. Iterative MS/MS 데이터 수집 대비, 기존의 AutoMS/MS로 얻은 5회 연속 주입에서 어노테이션된 지질의 누적 개수

지질 종류(극성)	어노테이션 수 AutoMS/MS	어노테이션 수 Iterative MS/MS
Ceramide Nonhydroxy Fatty Acid-Sphingosines (+)	2	10
Cholesterol Esters (+)	4	10
Free Cholesterol (+)	0	1
Diacylglycerols (+)	1	7
Phosphatidylethanolamines (+)	2	14
Triacylglycerols (+)	46	78
Ether-linked phosphatidylcholines (-)	17	28
Lysophosphatidylinositols (-)	5	9
Phosphatidylethanolamines (-)	9	20

그림 7은 지질 종류 농축에 관한 구체적인 예시를 추가로 보여주며, 여기에서는 존재비가 낮은 cholesterol ester에 해당하는 전구체를 연속 주입의 MS/MS 조각화를 위해 선택하였습니다.

지질 이성질체를 고려한 MS/MS 수집 파라미터 최적화

최적의 혈장 지질 커버리지를 보장하기 위해서는, MS/MS 수집 분석법 파라미터가 매우 중요한 것으로 밝혀졌습니다. 첫 번째 단계로서 Lipid Annotator는 AutoMS/MS 또는 Iterative MS/MS 데이터 파일에 대한 특징 추출 알고리즘을 사용합니다. MS1 레벨에서 특징 추출을 수행하고, MS/MS 스펙트럼과 각 특징을 후속 단계에서 연관시킵니다. 관련 MS/MS 스펙트럼을 갖는 특징만 특징 결과 표에 포함됩니다. Lipid Annotator를 이용하여 특징을 발견하는 과정에서는 크로마토그래피 피크에 걸친 최소 4개의 MS1 데이터 포인트를 권장합니다. 때문에 주기 시간이

이 최소 요구사항을 충족할 수 있도록 MS/MS 수집 파라미터(수집 속도 및 주기당 전구체 수)를 최적화해야 합니다. 본 연구에서 사용한 크로마토그래피 분석법과 혈장 시료에 대해, 지질 크로마토그래피 피크 폭(base)은 약 6 ~ 14초이고, 평균 피크 폭은 약 8초였음을 관찰하였습니다. 따라서, 관찰된 최소 피크 폭이 6초임을 고려하여, MS/MS 파라미터를 조정해 주기 시간을 1.43초로 설정하였습니다. 이로써 가장 좁은 크로마토그래피 피크에서도 최소 4개의 포인트를 확보할 수 있었습니다.

특히 지질 이성질체의 경우, Iterative MS/MS 수집 파라미터가 지질체 어노테이션 커버리지에 매우 중요한 것을 발견하였습니다. 이러한 맥락에서 본 자료는 지질 이성질체를, 다중 어노테이션된 지질 특징이 같은 총 구성(및 같은 전구체 m/z)을 갖지만 머무름 시간은 서로 다른 경우로 정의합니다. 그러나 일부의 경우에서, MS/MS 스펙트럼이 성분

수준에서 이성질체의 추가적인 구별 정보를 제공하였습니다. MS/MS 스펙트럼이 에스테르화된 지방산 그룹에 관한 정보(예: PC 18:2_18:2 vs PC 16:0_20:4)를 제공한 것을 하나의 예로 들 수 있습니다. 혈장 분석 결과 상당한 수의 지질 이성질체를 발견하였는데, 어노테이션된 지질 355가지 중 164가지(양이온 모드)와 어노테이션된 지질 326가지 중 143가지(음이온 모드)가 지질 이성질체를 나타냈습니다. 이 워크플로에서 지질 이성질체를 누락되지 않도록 하기 위해, 동일 질량 전구체의 근접 용리되는 이성질체가 MS/MS에 트리거링될 수 있도록, 능동 배제 구간과 iterative RT 배제 허용 치를 충분히 낮게 설정해야 합니다. 그림 8은 피크 폭이 좁고 근접하게 용리되는 한 쌍의 lysophosphatidylcholine(LPC) 이성질체에 대한 일반적인 시나리오를 보여줍니다.

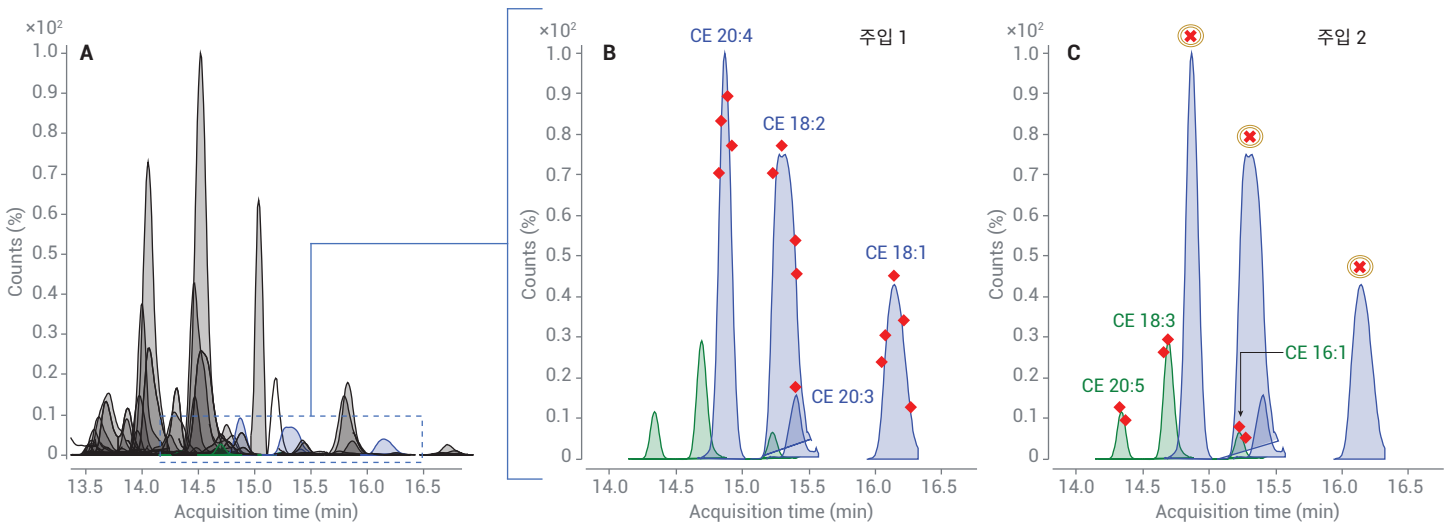


그림 7. 혈장 지질 추출물의 Iterative MS/MS 이용으로 증가된 cholesterol ester(CE) 전구체 선택. A) 어노테이션된 triacylglycerol(TG) 지질(검은색 부분)이 밀집된 머무름 시간 구역의 추출 MS/MS 크로마토그램 오버레이. B) 첫 주입에서 조각화를 위해 선택한 4가지 특정 CE 지질 전구체(파란색 부분). C) 존재비가 비교적 높은 CE(기호 x) 및 TG(표시하지 않음)를 배제한 후, 후속 주입에서 보다 특이적이고 존재비가 낮은 3가지 CE 전구체를 선택. 빨간색 마름모는 MS/MS 분석에 CE [M+NH₄]⁺ 전구체를 선택한 크로마토그램에서의 MS1 스캔을 표시

결론

본 응용 자료는 LC/Q-TOF 데이터 수집의 Iterative MS/MS 모드가 복잡한 시료의 지질 어노테이션을 개선하는 데에 상당한 이점을 제공할 수 있다는 점을 제시합니다. 혈장 지질 추출물에 적용한 결과, 어노테이션된 지질의 총 수가 대폭 증가하였으며, 존재비가 낮은 지질 종류는 Iterative MS/MS를 통해 농축되었습니다.

Lipid Annotator 소프트웨어는 Iterative MS/MS 데이터를 이용하여 넓은 어노테이션 커버리지를 갖춘 맞춤형 PCDL 라이브러리를 빠르게 자동 생성하는 기능을 제공합니다. RT 정보를 포함하는 이 라이브러리는 지질 어노테이션에서부터 차이 분석에 이르기까지의 표적 및 비표적 지질 프로파일링을 다루는 애질런트 지질체학 소프트웨어 워크플로의 핵심 구성 요소입니다.

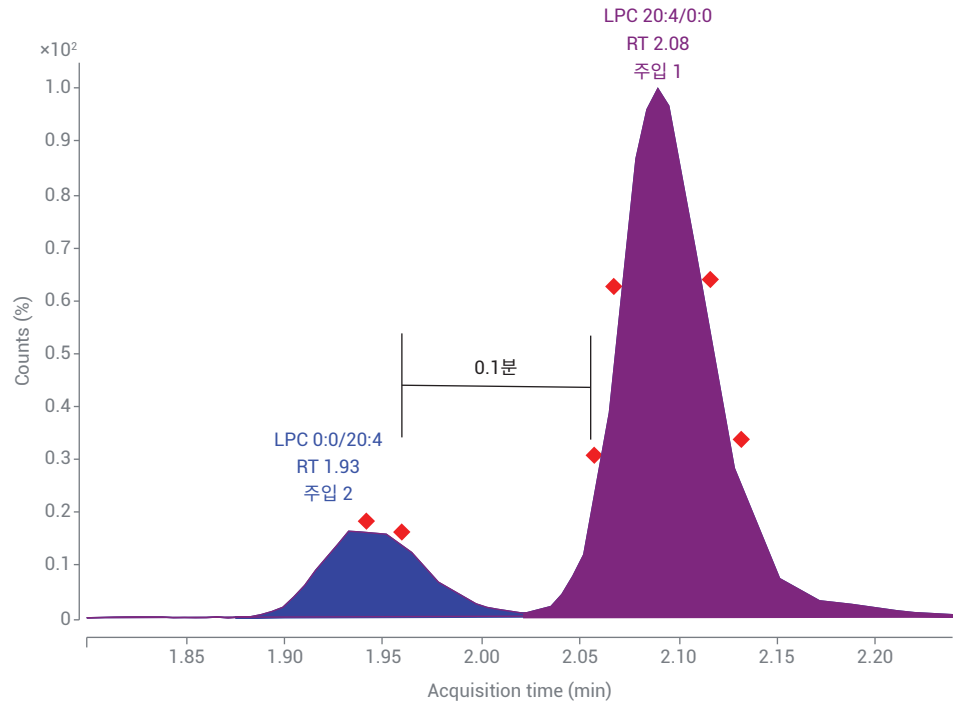


그림 8. 지질 이성질체에 최적화된 Iterative MS/MS 파라미터. Lipid Annotator 소프트웨어를 통해 어노테이션된 2가지 lysophosphatidylcholine(LPC) 20:4 이성질체에 대한 추출 이온 크로마토그램(EIC) 표시. 빨간색 마름모는 LPC 20:4 [M+H]⁺ 전구체인 m/z 544.3398가 MS/MS를 위해 트리거링된 가상의 MS1 스캔을 나타냄. Iterative RT 배제 허용 오차를 ± 0.1 분으로 설정하면 후속 주입의 MS/MS에서 근접한 LPC 이성질체의 동일한 전구체 m/z (± 20 ppm)가 선택됨

참고문헌

1. Cajka, T.; Fiehn, O. LC/MS Method for Comprehensive Analysis of Plasma Lipids. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-9280, **2018**.
2. Sartain, M.; Sana, T. Impact of Chromatography on Lipid Profiling of Liver Tissue Extracts. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5494, **2015**.
3. Kind, T.; *et al.* LipidBlast *in silico* tandem mass spectrometry database for lipid identification. *Nature Methods* **2013**, *10*(8), 755–758
4. Tsugawa, H.; *et al.* MS-DIAL: data-dependent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nature Methods* **2015**, *12*(6), 523–526.
5. Wu, L.; Wong, D. L. An Integrated Workflow for Peptide Mapping of Monoclonal Antibodies. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-8633, **2017**.

www.agilent.com/chem

연구용으로만 사용하십시오. 진단 용도로는
사용하실 수 없습니다.

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
2019년 3월 26일, 한국에서 인쇄
5994-0775KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr