

# 成功への道

アジレントのメタボロミクス  
ソリューション



Agilent Technologies

# メタボロミクスを理解する

アジレントは代謝測定の主要なグローバルソリューションベンダーで、研究者向けに、さまざまな最先端の機器と革新的なインフォマティクスソリューションを提供しています。

## メタボロミクスとは？

メタボロミクスは、メタボロームと呼ばれる内因性代謝物の研究です。メタボロームは幅広い物理化学的性質を持つ低分子量 (50 ~ 1,500 Da) の化合物群です。メタボロームの測定により、生物系の機能状態に関する重要な情報が得られます。生物の表現型に非常に近いため、ゲノミクスおよびプロテオミクスに補完的な情報を提供します。

## 定性フラックス分析とは？

メタボロミクスは代謝物のアバンダンスの測定により生物系を理解する強力な技術です。しかし、動的情報の欠如により解釈が困難になることもしばしばです。パスウェイ全体を通してフラックスが有意に変化しても、代謝中間物のアバンダンスが変動しない場合があります。フラックスの変化は、存在する酵素の量の違い (例えば転写レベル)、または酵素活性の違い (例えば阻害剤または変異) を反映しています。定性フラックス分析は、安定同位体の追跡 (通常は  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^2\text{H}$  など) を用いて相対反応率をハイライトし、下流の代謝物の天然同位体比の変化を測定します。

## アジレントのメタボロミクスソリューション

アジレントの革新的なメタボロミクスソリューションは、機器とインフォマティクツールの強力な組み合わせをお届けします。共通のソフトウェアプラットフォームで複数の分析技法からの結果が組み合わされるため、チャレンジングな生物学的問題への解答をより早く入手しやすくなります。アジレントはメタボロミクス科学者と協力し、次世代のソリューションとワークフローを開発して研究を加速します。

# アジレントは幅広いアプリケーションで メタボロミクスを支援します

## 生物学的調査における強力な手法

### 基礎および臨床研究

疾病に関連する代謝物バイオマーカーを同定および確認するとともに、生物学の基礎的な知見を得ることを可能にします。

### 農業

代謝経路を同定および理解し、作物開発、収穫の向上、農薬/除草剤耐性などを最適化します。

### 食品/栄養

食品品質、信頼性、味、栄養価、補助物質など、機能性食品開発における主要特性に関連する代謝物の有無を調べます。

### 製薬

創薬および薬剤開発における代謝物および毒性マーカーを同定します。

### 環境

環境中の化学物質やストレス要因が生物システムに与える影響に関する代謝物を同定します。

### バイオ燃料と生物生産

代謝物プロファイルを特定し、発酵プロセスおよびバイオ燃料生産を最適化します。

### システム毒性学

薬品および環境汚染物質への曝露レベル評価の代替指標となる、血漿および尿中の毒性予測シグネチャーの検出

「アジレントの質量分析システムは、幅広い細胞代謝物の同定および定量に必要な高い取り込みスピードと広いダイナミックレンジを兼ね備えています。干し草の中の針を探すと同時に、その干し草を測定できるのです」

**AMY A. CAUDY 博士**

THE DONNELLY CENTRE FOR CELLULAR  
AND BIOMEDICAL RESEARCH  
UNIVERSITY OF TORONTO



# 探索メタボロミクス

探索メタボロミクスには通常、ハイフネートされた MS 技術による代謝物のグローバルなプロファイリングが含まれます。化合物の分離と検出に続き、すべてのデータファイルを横断してフィーチャーが検索されます。結果は統計的に解析され、差違の原因となるフィーチャーが同定されます。同定された代謝物は、生物学的パスウェイ上で視覚化されて、解釈を助けます。



アジェントは、GC/MS、LC/MS、CE/MS および SFC/MS によってグローバルな代謝物プロファイリングを実行する堅牢なワークフローを開発しました。データは通常、両方のイオン極性で取得され、多種多様なイオン源を利用できます。探索メタボロミクスでは、通常、Agilent GC/MSD、GC/Q-TOF、LC/TOF または LC/Q-TOF システムが使用されます。

フィーチャー検出では、質量スペクトル特性とクロマトグラフィー特性に基づいてデータを抽出し、分子量、リテンションタイム、 $m/z$  およびアバンダンスを含む、化合物の完全なリストを生成します。MassHunter Profinder はパッチデータに対して作業するユニークな設計で、フィーチャーの欠落に対処する再帰モードを持っています。Profinder の結果は、Mass Profiler Professional (MPP) 用に設計されたファイル形式にエクスポートされます。MPP は質量分析データの統計解析のために開発されたソフトウェアです。

高度な処理機能と強力な統計モデルと数学モデルを組み合わせ、複雑な MS データセットを分析します。MPP では、Agilent-METLIN PCDL または Agilent-Fiehn ライブライを使用してフィーチャーをアノテートすることができます。Pathway Architect は MPP の視覚化ツールで、管理されたパスウェイ上に結果 (代謝物、タンパク質、遺伝子) をマップします。

# ターゲットメタボロミクス

ターゲットメタボロミクス実験は、特定の代謝物の測定に重点を置きます。トリプル四重極質量分析計はこの作業に最適です。ダイナミックレンジが広く、感度が高く、化合物確認の選択性も高いためです。



アジレントのトリプル四重極 LC/MS および GC/MS システムは、ダイナミックレンジの広い、高感度の検出ができます。高い再現性と堅牢性を備えているため、大規模なサンプルセットの処理が可能です。

## メタボロミクス dMRM データベースおよびメソッド

アジレントのメタボロミクス dMRM データベースおよびメソッドでは、215 以上の炭素中心代謝物 (有機酸、糖、糖リン酸、ヌクレオチドなど) の最適化された LC/MS/MS 分析を簡単に実装できます。高品質の結果をもたらす堅牢な手法を生成するために、トロント大学の Adam Rosebrock 博士とともに分析メソッドを開発しました。ソリューションには、リテンションタイム、最適化された MS/MS 採取パラメータ、およびデータの取り込みおよび分析メソッドの管理されたデータベースが含まれます。

dMRM データベースおよびメソッドはアジレントの包括的なメタボロミクスワークフローの一部で、結果はアジレントの主要なソフトウェアワークフローでサポートされます。エクスポートされた結果には、代謝物名、統合ピークアバンダンス、および化学識別子 (CAS) が含まれます。このため Mass Profiler Professional および Pathway Architect に容易にインポートして、多変量サンプル比較およびパスウェイ解析を実行できます。

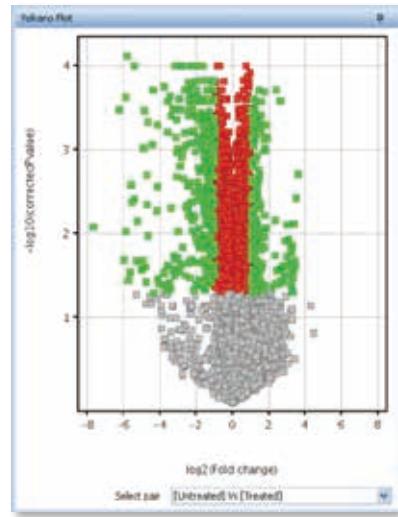
## メタボローム研究のニーズに応えるソフトウェア

メタボロミクス研究者は深刻な課題に直面しています。分析するデータセットがますます規模と複雑性を増しているためです。サンプルグループ間の差違は、一般に多変量統計を用いて検出されています。しかし、どの代謝物が差違の原因かを知るには、それでは不十分です。生物学的コンテキストの理解が重要です。処理されたデータセットを代謝経路に投写して視覚化すれば、既存の知識を利用でき、生物学的理解が容易になります。アジレントは、複雑なメタボロミクスデータの処理と解釈のために、高度な分析ソフトウェアを用意しています。

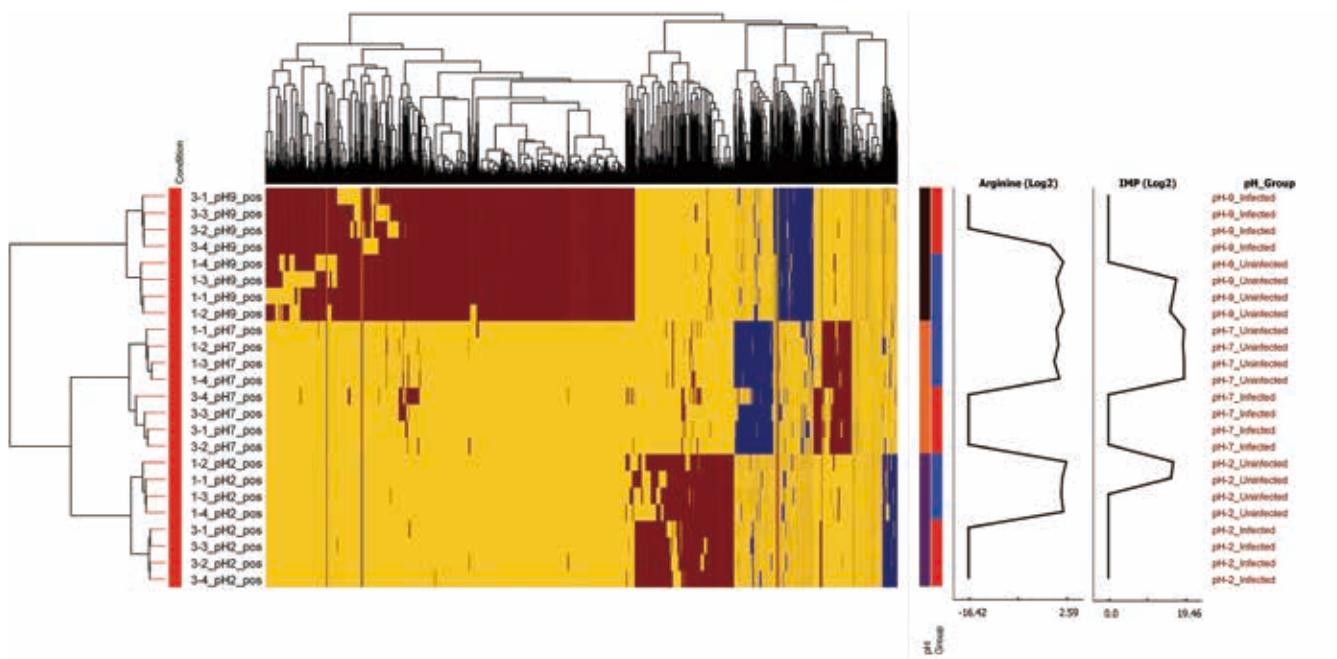
探索メタボロミクスでは、ノンターゲットまたはターゲットのデータマイニングが、ソフトウェアワークフローの最初の手順です。MassHunter Profinder は、質量分析データに対する、ターゲットおよびノンターゲットのバッチフィーチャー抽出法を提供します。サポートされるのは、アジレントの幅広い質量分析計のポートフォリオ (TOF ベースの機器、整数質量 GC/MS システムなど) からの MS のみのデータです。Profinder では、繰り返し分析データファイルのグループ化、ピニングとアライメント、クロマトグラムの重ね表示、化合物のマニュアル再積分、および以降の統計解析のための結果の簡単なエクスポートが可能です。

Agilent Mass Profiler Professional ソフトウェアには、探索メタボロミクスとターゲットメタボロミクスのための多変量解析ツールが用意されています。これには、主成分分析、ANOVA、クラスタリングアルゴリズム、相関解析、およびクラス予測が含まれます。大規模なサンプルセットを、意味のある情報に効率的に変換します。メタデータ解析により、複雑なサンプルデータにおいても関連性を見つけだすこともできます。

MPP では、ビルトイン ID Browser 機能を使用してフィーチャーにアノテートすることができます。ID Browser は、リテンションタイムとスペクトルに基づき、高度に管理された Agilent-METLIN LC/MS データベースまたは Agilent-Fiehn GC/MS ライブラリに対してフィーチャーを照合します。これらのメタボロミクスに特化したデータベースには、続いているパスウェイにマップするための化合物識別子が含まれます。



Mass Profiler Professional ソフトウェアには、質量エンティティごとのアバンダンスの倍率変化や  $p$  値有意性を同時に計算するボルケーノプロット機能があります。これらの設定はインタラクティブに変更でき、結果はグラフ形式でも表形式でも表示できます。



Mass Profiler Professional ソフトウェアには相関解析ツールが含まれます。任意の 2 つの変数間にあるペアワイズ関係の強度と方向性を測定できます。このヒートマップは、右側に、階層的クラスタリング後の質量分析アバンダンスデータと相関する代謝物 (Arg と IMP) を示します。

「化合物同定はメタボロミクスにおける大きなボトルネックです。この難問を解決するために、私達はアジレントに、METLIN パーソナル代謝物データベースと MS/MS スペクトルライブラリの開発を支援しています。アジレントとの継続的な取り組みにより、メタボロミクス分野に貢献する新ツールが開発されるのを楽しみにしています。」

**GARY SIUZDAK 博士**  
シニアディレクター、SCRIPPS CENTER FOR MASS SPECTROMETRY

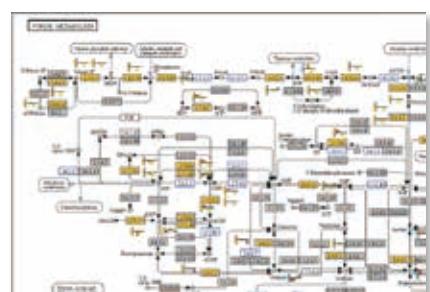
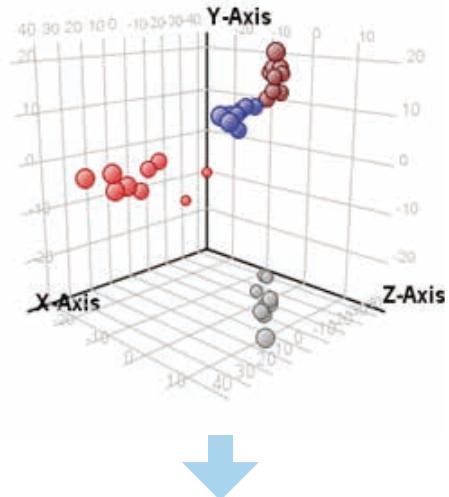
#### パスウェイ解析

パスウェイ中心のワークフローをオミクスの実験に取り込むことで、科学者は同時に分析に集中することができ、発見から生物学的知見へのプロセスを加速できる可能性があります。MPP の Pathway Architect モジュールは、KEGG、BioCyc、Wikipathways などの一般公開されているパスウェイデータベースを使用して、生物学的パスウェイに関するデータをインタラクティブにフィルタ、マップ、および視覚化します。このソフトウェアは代謝物、タンパク質、および遺伝子を管理パスウェイにマップし、インターラクティブな分析のために、データを視覚的にパスウェイに投写します。

MPP からの実験結果はパスウェイに投写されます。ユーザーはそこで、パスウェイ上のデータをフィルタ、ズーム、または選択します。パスウェイは選択でき、代謝物、タンパク質、転写物、遺伝子のリストをエクスポートし、他のプログラムで使用して新しい「パスウェイから導かれた実験」を作成することができます。例えば、ターゲットペプチド分析を作成するためには、指定されたパスウェイのタンパク質識別子をエクスポートできます。このパスウェイ中心のワークフローにより、発見から知見までを短時間で行えるようになり、次行程を効率的に計画、実行することができます。

#### メタボロミクスと他のオミクスの統合

ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、メタボロミクスは、産業界と学界のどちらでも広く用いられています。ですが、オミクスの実験では通常高レベルのノイズが発生するため、それらの実験を単独で行うだけでは有意な相関の発見には不十分です。複数のオミクスからのデータを統合することで、分析の S/N 比を大幅に改善可能です。Mass Profiler Professional の Pathway Architect モジュールでは、単一のオミクス解析か、複数のオミクスの共同解析が可能です。それにより、共通して影響を受けるパスウェイを発見したり、信頼できる答えをより短時間で発見する能力を高めることができます。



プリン代謝の KEGG パスウェイには、代謝物を表すノード(青緑)が表示されます。ノードに隣接して、条件が異なる場合の平均的な差違に関与するアバンダンス値の要約である「HeatStrips」があります。HeatStrip に沿った青緑色のバーは代謝物を示します。黄色のバーは遺伝子発現の結果を示します。

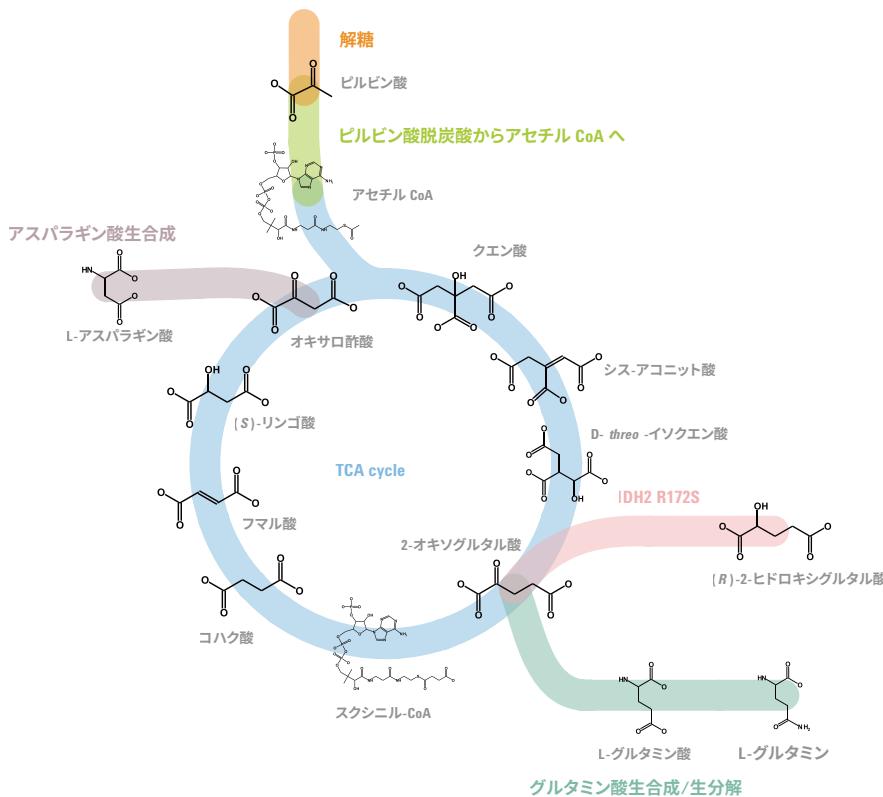
## メタボローム研究のニーズに応えるソフト

### ウェア

定性フラックス分析では、安定同位体ラベルの追跡と質量スペクトル分析を用いて、選択したパスウェイとフラックスに関する情報を短時間で取得できます。定性フラックス分析には、ターゲット代謝物のマイニング、同位体種の考慮、自然に発生する同位体の補正、および生物学的コンテキストにおける結果の視覚化といった、複数の分析上の課題があります。MassHunter VistaFlux はこれらの課題に対処するソフトウェアです。アジレントの TOF ベースの高分解能 LC/MS システムからの MS のみのデータに対する定性フラックス分析ソリューションとして設計されています。



VistaFlux は、ワークフローを簡素化する 4 つのソフトウェアパッケージで構成されています。ターゲット代謝物リストの作成と編集 (Pathways to PCDL と PCDL Manager)、代謝物同位体種データの抽出 (Profinder)、パスウェイ上の結果の視覚化 (Omix Premium) です。



IDH2 変異細胞株研究で使用するために変更された TCA 回路の Omix Premium による視覚化。

定性フラックス分析では、安定同位体ラベルトレーサー ( $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^2\text{H}$ ) を生物系に取り込ませ、下流の代謝物の天然同位体比の変化を測定します。LC/MS による分析後、既知の代謝経路から導き出されたターゲットリストを用いて Profinder 内でデータが検索されます。同位体組成 (同位体種) のみが異なっている代謝物が、各ターゲット化合物に対して測定されます。この情報が、代謝フラックスを追跡するために使用されます。

Profinder では、パスウェイの視覚化と生物学的解釈のために、バッチ結果 (.pfa 形式) を簡単に Omix Premium にエクスポートできます。静的なパスウェイ視覚化と、アニメーションを使用したパスウェイ視覚化の両方を用いると、実験の結果を伝えやすく、出版物やプレゼンテーションで使用する図を簡単にエクスポートできます。

## 生物学的調査における強力な手法

### 代謝に対する革新的な手法

生細胞中の機能的代謝の測定と代謝表現型の決定は、メタボロミクス実験計画の強力なガイドとなります。

Agilent Seahorse XF Analyzers は細胞生体エネルギーの測定へのダウンストリームアプローチを提供します。複数の条件下での生細胞中の代謝機能の迅速な評価が可能です。

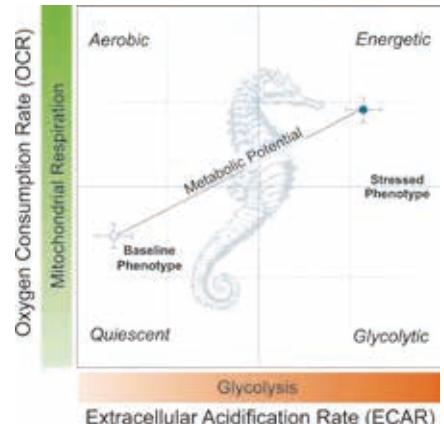
細胞代謝物の機能に関する化学的操作や遺伝子操作の効果を同定すると、メタボロミクス研究に効率と方向性を加える補完的なデータが、短時間で容易にもたらされます。

### 数分単位での代謝率

Seahorse XF Analyzers は、細胞の 2 つの主要なエネルギー産生パスウェイ (ミトコンドリア呼吸と解糖) の活性を、生細胞中でリアルタイムに測定します。

Seahorse XF Analyzers の主要な特長には、自動での化合物の追加、使い捨てのマイクロプレートカートリッジの固体蛍光センサー、および代謝パラメータを自動的に計算して分析するソフトウェアがあります。

Seahorse XF アッセイキットおよび試薬は、酸化的リン酸化、解糖、脂肪酸の酸化などのパスウェイのために特に開発されました。これにより研究者は細胞の機能をより深く追求して分析し、同日中に結果を知ることができます。



Seahorse XF Cell Energy Phenotype Test は代謝状態およびパスウェイ選好の高レベル評価を実行し、1 時間以内に結果を返します。



Seahorse XF Analyzers は、さまざまなスループットおよびサンプル (接着細胞と浮遊細胞、培養サンプルまたは生体外サンプル、モデル生物、および単離されたミトコンドリア) のニーズに対応するために、96、24 および 8 ウエル形式で利用できます。

# アジレントのメタボロミクスソリューション

## GC/MS 機器およびデータベース



Agilent 5977B High Efficiency Source GC/MSD システムは、生成されてアナライザに送られるイオン数を最大にする超高効率 EI イオン源を組み込んでおり、シングル四重極の性能を革命的に向上させます。



Agilent 7000 および 7010 シリーズトリプル四重極 GC/MS システムは、低い検出限界、堅牢な性能、メソッドの最適化を簡単にするソフトウェアツールを兼ね備えています。

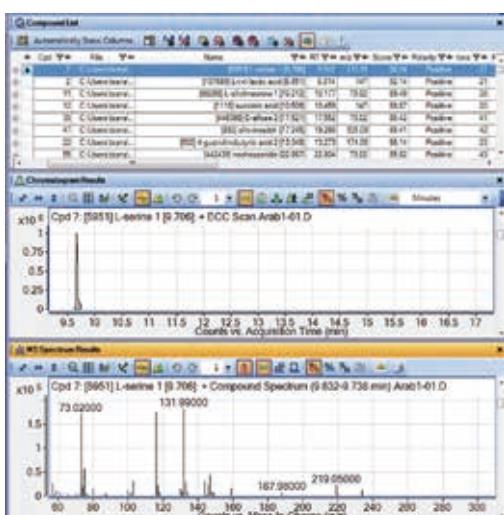


Agilent 7200B GC/Q-TOF システムは、高い感度と選択性に加えて、構造確認、未知化合物の同定、および卓越したノンターゲットスクリーニング機能のための精密質量と高分解能データを提供します。

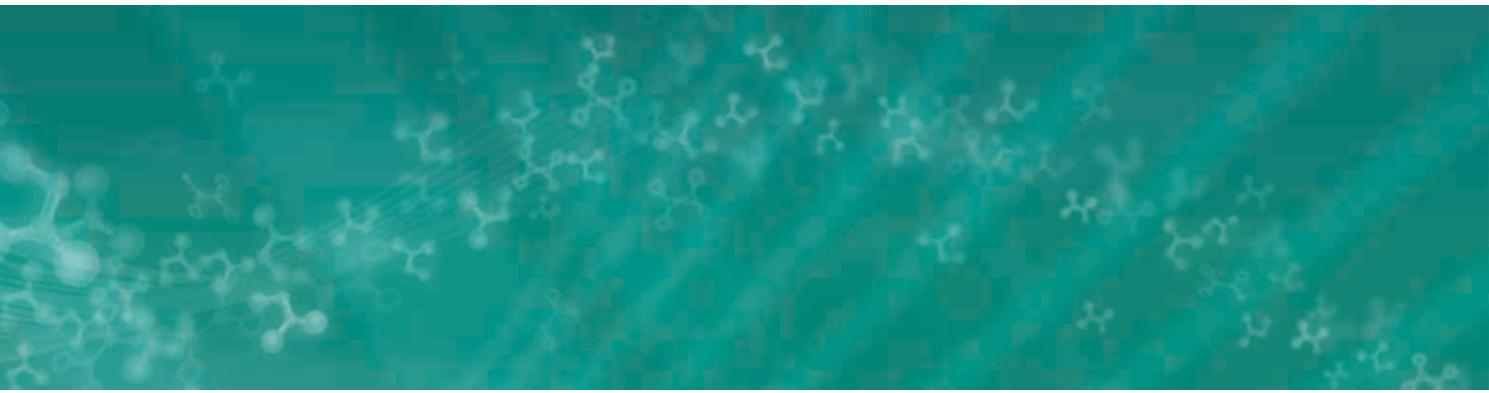
## Agilent-Fiehn GC/MS

### メタボロミクスライブラリ

Oliver Fiehn 博士とともに開発した、市販され、拡張が続いている最大のメタボロミクス特化ライブラリです。およそ 1437 の一般的代謝物から作成され、検索可能な GC/MS EI スペクトルとリテンションタイム指數を含みます。ライブラリには、完全かつ事前にプログラムされた GC/MS メソッド一式と、GC/MS メタボロミクス分析のドキュメントが含まれています。



MassHunter Qual は「クロマトグラフィー-デコンポリューションによる検索」アルゴリズムを用いた Agilent GC/MSD ファイルのフィーチャー抽出をサポートしています。フィーチャーが抽出されたピークは、同定のために Agilent Fiehn GC/MS メタボロミクスライブラリと照合されます。



## LC/MS 機器およびデータベース



Agilent 6200 シリーズ Accurate-Mass TOF LC/MS システムでは、低分子と大きな生物性化合物の両方を同定できます。高分解能の精密質量分析データにより、定性分析の大きな価値を引き出します。

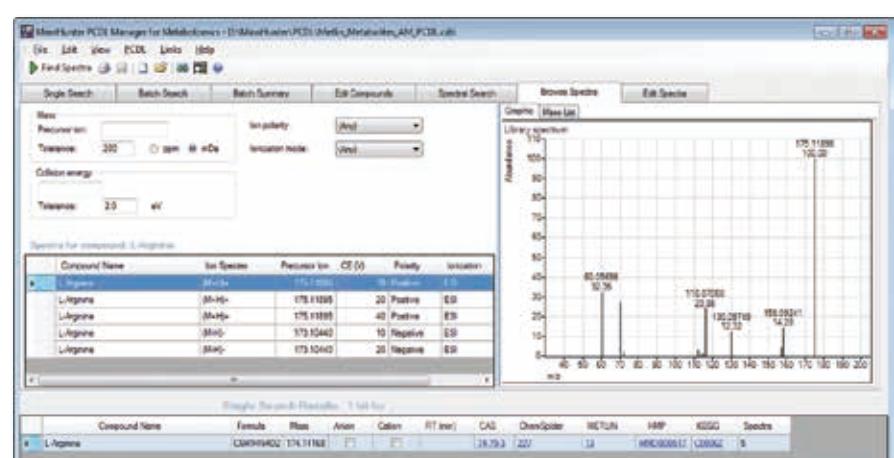
Agilent 6500 シリーズ Accurate-Mass Q-TOF LC/MS は、強力な精密質量 MS/MS により、複雑なサンプルに対する、信頼性の高い同定、スクリーニング、プロファイリングまたは定量化を実現します。

Agilent 6400 シリーズトリプル四重極 LC/MS システムは、卓越した感度、名高い信頼性、およびシステム全体の堅牢性をもたらすトリプル四重極の性能を提供します。

## METLIN パーソナル化合物

### データベースライブラリ

管理された MS/MS スペクトルを持つ 39,000 の脂質と 9500 の代謝物など、およそ 80,000 の化合物を含みます。TOF および Q-TOF データとともに用いて、精密質量やリテンションタイムのデータベース検索を使用した同定が可能です。MS/MS データをスペクトルライブラリと照合することで、代謝物同定の信頼性が向上します。



ホームページ  
[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カストマーコンタクトセンター  
**0120-477-111**  
[email\\_japan@agilent.com](mailto: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。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隨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. 2016  
Printed in Japan, August 16, 2016  
5991-7069JAJP



**Agilent Technologies**