

성공으로 향하는 길

애질런트 대사체학 솔루션



대사체학(Metabolomics)의 이해

애질런트는 다양한 최첨단 기기와 혁신적인 정보학 솔루션을 제공하여 세계를 선도하는 대사 측정 솔루션을 제시합니다.

대사체학이란?

대사체학이란 대사체군이라는 내인성 대사산물에 관한 학문으로, 대사체군은 광범위한 물리화학적 특성을 지니고 있는 저분자량 (50~1,500 Da) 화합물입니다. 대사체 측정은 생물학적 시스템의 기능적 상태에 대한 중요한 정보를 제공합니다. 또한 유기체 표현형에 근접하기 때문에 유전체학(genomics) 및 단백질체학(proteomics)에 상호 보완적인 정보를 제공해줍니다.

정성 flux 분석이란?

대사체학은 대사체 존재비 측정을 통해 생물학적 시스템을 이해하는 데 매우 효과적인 기법이나, 동적 정보의 부족으로 인해 종종 해석이 복잡해집니다. 경로를 통한 흐름(flux) 상의 유의미한 변화가 대사 중간체의 존재비 변화로 이어지지 않을 수도 있습니다. 흐름(flux) 상의 변화는 존재하는 효소 양의 차이(예를 들어, 전사 단계) 또는 효소의 활성(예를 들어, 억제제 또는 돌연변이)에 의해 발생합니다. 정성 flux 분석은 안정동위원소(일반적으로 ^{13}C , ^{15}N , 또는 ^2H 포함) 추적을 사용하여 상대적 반응 속도를 강조하고 다운스트림 대사체의 천연 동위원소 패턴 변화를 나타냅니다.

애질런트 대사체학 솔루션

애질런트의 혁신적인 대사체학 솔루션은 효과적인 기기 및 정보학 도구 포트폴리오를 제공합니다. 공통 소프트웨어 플랫폼은 다양한 분석 기법으로 얻어진 결과를 종합하여 어려운 생물학적 의문을 보다 빨리 해결할 수 있게 해줍니다. 애질런트는 연구를 가속화하기 위한 차세대 솔루션 및 워크플로 개발을 위해 일류 대사체학 과학자들과 협력하고 있습니다.

다양한 연구 적용을 위한 대사체학 도구

생물학 연구를 위한 강력한 수단

기초 및 임상 연구

대사체 바이오마커의 동정 및 규명은 생물학에 대한 기본적인 이해를 제공할 뿐 아니라 질환 상태와의 연관성을 보여줍니다.

농업

농작물 개발, 생산량 향상 및 농약 및 제초제 내성을 최적화하기 위해 대사 경로를 확인하고 이해합니다.

식품 및 영양

식품 품질, 신뢰성, 맛, 영양가와 같은 주요 특성과 관계가 있는 대사체의 존재 여부를 확인하고 기능성식품 개발에 기여합니다.

제약산업

의약품 발견 및 개발을 위해 대사체와 독성 마커를 동정합니다.

환경

생물학적 시스템 상의 환경에서 화학 물질이나 기타 스트레스 요인이 미치는 영향과 관련이 있는 대사체를 동정합니다.

바이오 연료 및 합성 생물학

대사체 프로파일을 식별하여 발효 공정과 바이오연료 생산을 최적화합니다.

시스템 독성학

약물 및 환경 오염물질에 대한 노출 수준 평가에서 대용물(surrogate)로 작용할 수 있는 독성 예측 표지(predictive signatures)를 혈장과 소변에서 확인합니다.

"애질런트의 질량 분석 시스템은 다양한 세포 대사체를 동정하고 정량하는 데 필요한 높은 수집 속도와 넓은 측정 범위(dynamic range)를 갖추고 있습니다. 건조 더미에서 바늘을 찾는 동시에 건조 더미를 측정할 수 있는 거죠."

– Amy A. Caudy 박사,
The Donnelly Centre for Cellular
and Biomolecular Research
University of Toronto



발굴 대사체학(Discovery Metabolomics)

발굴 대사체학은 일반적으로 외부에서 도입한 MS 기술을 이용한 포괄적인 대사체 프로파일링을 포함합니다. 화합물 분리 및 검출 후에 전체 데이터 파일에서 특징이 발견됩니다. 이 결과를 통계적으로 분석하여 차별적 특징을 식별합니다. 해석에 도움이 되도록, 확인된 대사체를 생물학적 경로 상에 시각화합니다.



발굴 대사체학을 위한 애질런트 워크플로

애질런트는 GC/MS, LC/MS, CE/MS와 SFC/MS를 이용한 포괄적인 대사체 프로파일링 수행을 위하여 견고한 워크플로를 개발하였습니다. 데이터는 일반적으로 두 이온 극성 모드에서 수집되며 다양한 종류의 이온화원을 이용 할 수 있습니다. 발굴 대사체학에서는 일반적으로 애질런트 GC/MSD, GC/Q-TOF, LC/TOF 또는 LC/Q-TOF 시스템을 사용합니다.

특징 발견(Feature finding)으로 질량 분석 및 크로마토그래피 특성에 근거하여 데이터를 추출해 분자량과 머무름 시간, m/z , 존재비를 포함하는 완전한 화합물 목록을 생성합니다. MassHunter Profinder는 배치 데이터를 처리할 수 있도록 특별하게 설계되었으며 누락된 특징을 다루기 위한 회귀(recursive) 모드를 갖추고 있습니다. Profinder 처리 결과는 Mass Profiler Professional (MPP) 용으로 설계된 파일 형식으로 전송되는데, MPP는 질량 분석 데이터의 통계 분석을 위해 개발된 소프트웨어입니다.

복잡한 MS 데이터 세트를 분석하기 위하여 MPP는 향상된 데이터 처리 기능과 강력한 통계적 및 수학적 모델을 결합하여 사용합니다. MPP 내에서 Agilent METLIN PCDL 혹은 Agilent Fiehn 라이브러리를 이용하여 특징에 주석을 표기할 수 있습니다. Pathway Architect는 큐레이트된 경로 상에 결과(대사체, 단백질, 유전자)를 맵핑하는 MPP 내의 시각화 도구입니다.

표적 대사체학(Targeted Metabolomics)

표적 대사체학 실험은 특정 대사체 측정에 중점을 두고 수행합니다. QQQ 질량 분석기는 성분 확인을 위한 넓은 측정 범위(dynamic range)와 최고 감도 및 선택성을 제공하기에 이 작업에 매우 적합합니다.



표적 대사체학 연구를 위한 애질런트 워크플로

애질런트의 QQQ LC/MS 및 GC/MS 시스템은 광범위한 측정 범위에 걸친 민감한 검출 능력과 대량 시료 세트를 처리하는 데 필요한 재현성 및 견고성을 제공합니다.

표적 대사체학 분석을 간편하게

Agilent Metabolomics dMRM 데이터베이스 및 분석법은 유기산, 당, 당인산 및 뉴클레오티드를 포함하는 주요 탄소 대사체 219종에 대하여 최적화된 LC/MS/MS 분석을 간단히 실행할 수 있게 도와줍니다. 고품질의 결과를 내는 견고한 방법론을 만들기 위해 토론토 대학교의 Adam Rosebrock 박사와 함께 이 분석법을 개발하게 되었습니다. 솔루션에는 머무름 시간, 최적화된 MS/MS 수집 파라미터, 데이터 수집 및 분석법을 포함하는 큐레이트된 데이터베이스가 포함되어 있습니다.

dMRM 데이터베이스 및 분석법은 애질런트의 종합적 대사체학 워크플로에 속하며 처리 결과는 선도적인 애질런트 소프트웨어 워크플로에서 지원됩니다. 다변량 시료 비교 및 경로 분석을 위해 Mass Profiler Professional 및 Pathway Architect로 용이하게 전송될 수 있도록, 내보내는 결과에는 대사체 명칭, 통합 피크 존재비, CAS 번호가 포함됩니다.

애질런트 대사체학 솔루션

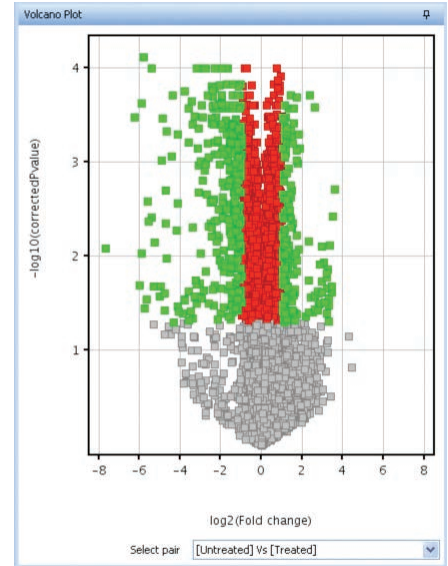
대사체학 연구 필요성에 맞춰 개발된 소프트웨어

대사체학 연구자들은 더욱 확대되고 복잡해지는 데이터 세트를 분석해야 하는 중대한 과제를 마주하고 있습니다. 다변량 통계는 보통 시료 그룹 간의 차이를 알아내기 위해 사용됩니다. 하지만 차이가 존재하는 대사 산물을 확인하는 것으로는 충분하지 않으며, 생물학적 맥락을 이해해야 합니다. 처리한 데이터 세트를 기존의 지식을 활용하여 대사 경로에 제시하고 시각화하면 생물학적 이해가 용이해집니다. 애질런트는 복잡한 대사체학 데이터를 처리하고 해석할 수 있는 고급 분석 소프트웨어를 제공합니다.

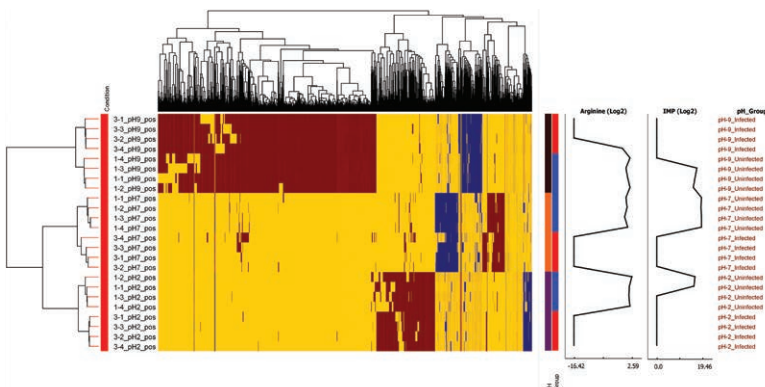
발굴 대사체학에서 소프트웨어 워크플로의 첫 번째 단계는 비표적 또는 표적 데이터 마이닝입니다. MassHunter Profinder는 질량 분석 데이터를 위한 표적 및 비표적 배치(batch) 특징 추출을 제공합니다. 이는 nominal mass GC/MS 시스템과 TOF 기반 기기를 포함하는 애질런트의 광범위한 질량 분석기 포트폴리오에서 얻어진 MS 단독 데이터를 지원합니다. Profinder로 반복 데이터 파일 분류, 비닝(binning) 및 정렬, 크로마토그램 오버레이, 화합물의 수동 재적분(re-integration), 차후 통계 분석을 위한 쉬운 결과 내보내기가 가능합니다.

Agilent Mass Profiler Professional (MPP) 소프트웨어는 발굴 및 표적 대사체학을 위한 다변량 분석 도구를 제공합니다. 여기에는 주성분 분석(Principal Component Analysis, PCA), ANOVA, 클러스터링 알고리즘, 상관관계 분석과 등급 예측(class prediction) 모델이 포함되어 있어 광범위한 시료 세트를 효율적으로 유의미한 정보로 전환할 수 있습니다. 복잡한 시료 데이터에서 관련성을 파악하는 데 도움이 되도록 분석 시에 메타데이터를 추가할 수 있습니다.

MPP 내에 내장된 ID Browser 기능을 이용하여 특징에 주석을 표기할 수 있습니다. ID Browser는 특징을 머무름 시간 및 스펙트럼에 근거해 고도로 큐레이트된 Agilent METLIN LC/MS 데이터베이스 혹은 Agilent Fiehn GC/MS 라이브러리와 비교하여 매칭시킵니다. 이러한 대사체학 데이터베이스에는 이후 경로에 맵핑(mapping)할 수 있도록 화합물 ID가 포함되어 있습니다.



Mass Profiler Professional 소프트웨어에 포함된 volcano plot 기능을 사용하면 각 질량 성분(mass entity)의 존재비와 p-value 유의성에 대한 배율 변화(fold-change)를 동시에 계산할 수 있습니다. 이러한 설정은 상호대화식으로 변경 가능하며 처리 결과는 도표와 표 형식으로 확인할 수 있습니다.



Mass Profiler Professional 소프트웨어에는 어떤 두 가지 변수 사이의 쌍별 상관성 강도 및 방향성을 측정할 수 있는 상관관계 분석 도구가 포함되어 있습니다. 이 히트 맵(heat map)은 계층적 군집 분석 후 얻은 질량 분석 존재비 데이터를 보여주고 있으며, 오른쪽에는 상관성을 보이는 대사체(Arg 및 IMP)가 표시되어 있습니다.

"화합물 식별은 대사체학에서 커다란 장애물입니다. 이 문제를 해결할 수 있도록 애질런트와 협력하여 MS/MS 스펙트럼 라이브러리와 METLIN 개인 화합물 데이터베이스를 개발하게 되어 기쁘게 생각합니다."

- Gary Siuzdak 박사,
Senior Director, Scripps Center for
Mass Spectrometry

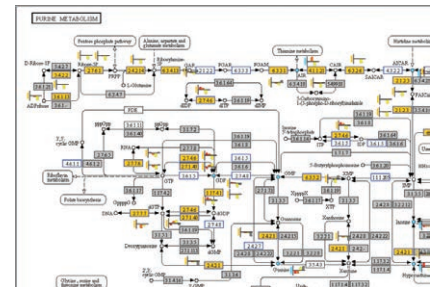
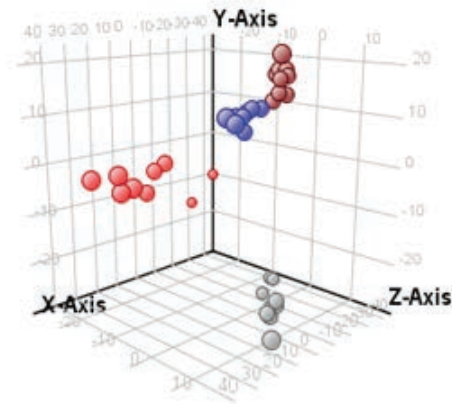
더 깊은 생물학적 식견의 확보

경로 중심 워크플로를 오믹스(omics) 실험에 결합하여 과학자들은 분석에 집중하는 동시에 잠재적으로 생물학적 식견을 발견하는 과정을 가속화할 수 있습니다. MPP의 Pathway Architect 모듈은 KEGG, BioCyc 또는 Wikipathways와 같이 공개적으로 사용 가능한 경로 데이터베이스를 이용하여 생물학적 경로 상에 데이터를 상호적으로 필터링, 맵핑, 시각화합니다. 소프트웨어는 큐레이트된 경로에 대사체, 단백질 및 유전자를 맵핑하고, 대화형 분석을 위해 데이터를 경로 상에 도표로 제시합니다.

MPP 실험 결과가 경로 상에 제시되고, 여기서 데이터를 필터링하거나 확대 또는 선택할 수 있습니다. 또한 특정 경로를 선택할 수 있으며 대사체, 단백질, 전사물 및 유전자 목록을 내보내고 다른 프로그램에서 새로운 "Pathway Directed Experiments"를 만드는 데 사용할 수도 있습니다. 예를 들어, 표적 펩타이드 분석법을 개발하기 위해 특정한 경로의 단백질 ID를 내보낼 수 있습니다. 이 경로 중심 워크플로는 발굴에서 식견에 이르는 과정의 속도를 높이고 후속 실험을 효율적으로 계획하고 실행할 수 있게 해줍니다.

오믹스(omics)와 대사체학의 통합

유전체학, 전사체학, 단백질체학 및 대사체학은 관련 산업계와 학계에서 널리 사용되고 있습니다. 그러나 오믹스(omics) 실험에서 일반적으로 노이즈가 많이 발생한다는 점을 감안하면 오믹스(omics) 별로 독립적으로 수행되는 실험만으로 유의미한 상관관계를 밝혀내기는 어렵습니다. 다중오믹스(omics) 데이터를 통합하여 분석에서 신호 대 잡음비를 크게 향상시킬 수 있도록 충분한 제약을 줄 수 있습니다. Mass Profiler Professional의 Pathway Architect 모듈을 사용하면 단일 오믹스(omics) 분석과 다중 오믹스(omics) 동시 분석이 모두 가능하므로, 공통적으로 영향을 받는 경로를 찾아 보다 신속하게 신뢰성 높은 결과를 얻을 수 있습니다.



KEGG의 purine 대사 경로에 대사체를 나타내는 결절점(node, 청록색)이 표시되어 있고, 결절점에 인접한 heat strip은 다양한 조건에서의 차이 존재비 평균값(average differential abundance values)을 간추려 나타내고 있습니다. Heat strip의 청록색 막대는 대사체를, 노란색 막대는 유전자 발현 결과를 뜻합니다.

정성 flux 분석을 이용한 대사체학의 확장

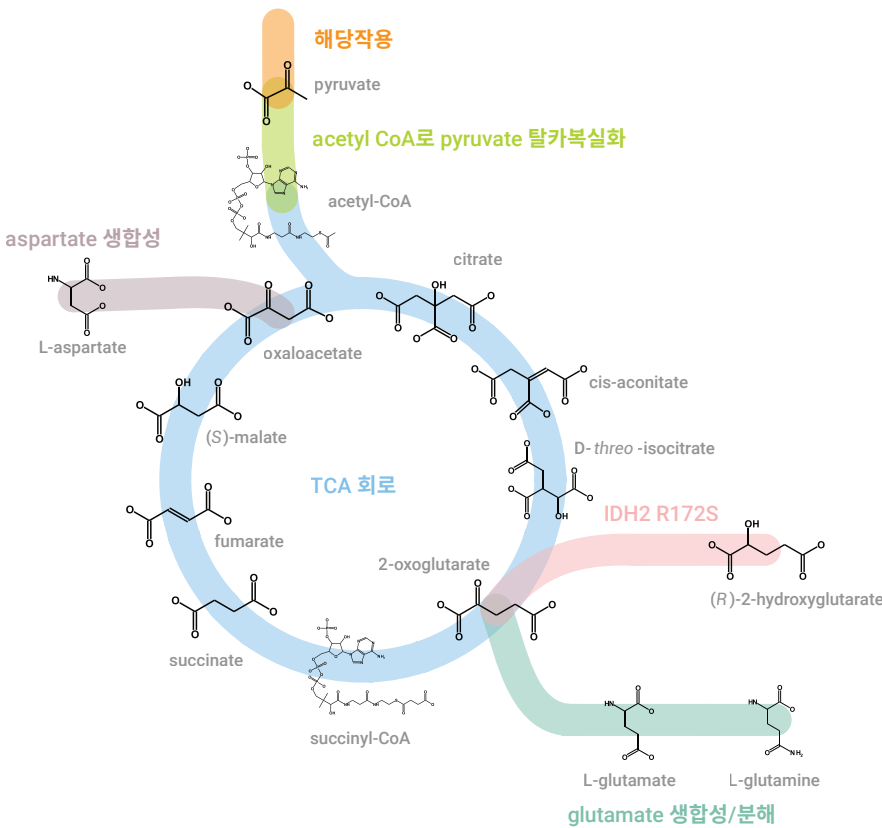
애질런트 VistaFlux는 질량 분석과 함께 안정동위원소 표지(label) 추적을 이용하여 선택 경로 및 흐름(fluxes)에 대한 정보를 빠르게 획득할 수 있도록 합니다. 정성 flux 분석에는 표적 대사체 마이닝, 동위원소체 확인, 천연 동위원소 보정, 생물학적 맥락에서의 결과 시각화와 같은 여러 분석적 어려움이 있습니다. MassHunter VistaFlux는 이와 같은 문제를 해결할 수 있도록 설계되었으며 애질런트 TOF 기반 고분해능 LC/MS 시스템의 MS 단독 데이터를 위한 솔루션을 제공합니다.

정성 flux 분석에서는 생물학적 시스템에 안정동위원소 표지 추적자(^{13}C , ^{15}N , ^2H)를 도입하여 다운스트림 대사체의 천연 동위원소 패턴 변화를 야기합니다. LC/MS 분석 후에, 기존에 알려진 대사 경로에서 파생된 표적 성분 목록을 이용하여 Profinder에서 데이터 마이닝을 실행합니다. 각 표적 화합물에 대해 동위원소 조성(동위원소체)에서만 차이를 보이는 대사체를 측정하여 대사 흐름을 추적하는 데 이 정보를 활용합니다.

Profinder를 사용하면 경로 시각화 및 생물학적 해석을 위해 배치 결과를 Omix Premium으로 손쉽게 내보낼 수 있습니다. 정적 및 애니메이션 경로 시각화를 통해, 실험 결과를 편리하게 전달하고 출판물이나 발표에서 사용하기 위한 도표를 간단히 내보낼 수 있습니다.



VistaFlux는 워크플로를 용이하게 해주는 4종류의 소프트웨어 패키지로 구성되어 있는데, 여기에는 표적 대사체 목록(PCDL, PCDL Manager의 경로) 생성 및 편집, 대사체 동위원소체 데이터 추출 (Profinder), 경로상의 결과 시각화(Omix Premium)가 있습니다.



IDH2 돌연변이 세포주 연구용으로 수정한 TCA 회로의 Omix Premium 시각화

GC/MS 분석



Agilent 5977B 고효율 소스 GC/MSD 시스템은 생성되어 분석기로 전달되는 이온의 수를 극대화하기 위해 초고효율 전자 이온화원을 통합하여 single quadrupole 성능을 혁신적으로 높여줍니다.



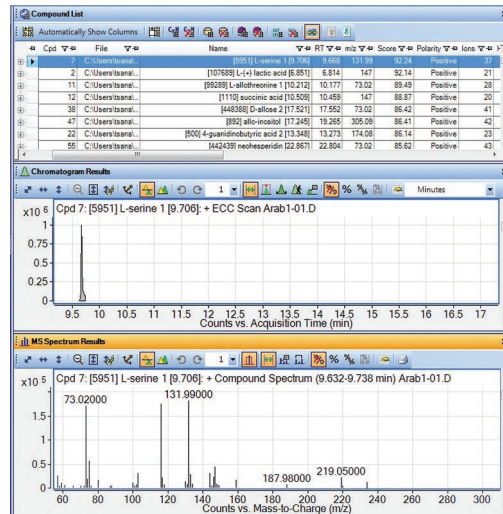
Agilent 7000 및 7010 시리즈 QQ GC/MS 시스템은 낮은 검출 한계, 견고한 성능, 분석법을 쉽게 최적화할 수 있는 소프트웨어 도구를 제공합니다.



Agilent 7200B GC/Q-TOF 시스템은 구조 확인, 미지 화합물 식별 및 우수한 비표적 스크리닝 기능을 위해 고분해능 accurate mass 데이터와 함께 높은 감도와 선택성을 제공합니다.

Agilent Fiehn GC/MS 대사체학 라이브러리

Oliver Fiehn 박사와 함께 개발한 대사체학 라이브러리는 상용화된 최대의 라이브러리로 계속 증가하고 있으며, 약 1,437종의 일반 대사체를 검색할 수 있는 GC/MS 티 스펙트럼 및 머무름 시간 지표(indices)를 갖추고 있습니다. 이 라이브러리에는 사전프로그래밍된 GC/MS 분석법과 GC/MS 대사체 분석을 위한 문서가 갖춰져 있어 연구 성과를 극대화할 수 있습니다.



MassHunter Qualitative 소프트웨어는 "Find by Chromatographic Deconvolution" 알고리즘을 이용하여 애질런트 GC/MSD 파일의 특징 추출을 지원합니다. 특징 추출 피크는 식별을 위해 Agilent Fiehn GC/MS 대사체학 라이브러리로 비교하여 매칭하였습니다.

LC/MS 분석



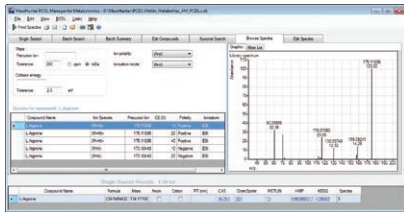
Agilent 6200 시리즈 accurate-mass TOF LC/MS 시스템은 정성 분석에서 최대값을 얻을 수 있도록 고분해능 accurate mass 분석 데이터를 이용해 저분자 화합물과 생물학적 고분자 화합물을 식별하는 기능을 갖고 있습니다.



Agilent 6500 시리즈 accurate-mass Q-TOF LC/MS는 accurate mass MS/MS를 통해 복잡한 시료의 식별, 스크리닝, 프로파일링 또는 정량에 확실한 신뢰성을 제공합니다.



Agilent 6400 시리즈 QQQ LC/MS 시스템은 우수한 감도, 뛰어난 신뢰성과 전반적인 시스템 견고성을 위한 삼중 사중극자 성능을 제공합니다.



Agilent METLIN 개인 화합물 데이터베이스 및 라이브러리에는 지질 39,000종과 대사체 11,800종을 포함해서 대략 80,000종의 화합물과 큐레이트된 MS/MS 스펙트럼이 포함되어 있습니다. TOF와 Q-TOF 데이터를 함께 사용할 때, 식별은 accurate mass 및, 또는 머무름 시간 데이터베이스 검색을 통해 이루어집니다. 스펙트럼 라이브러리에 MS/MS 데이터를 일치시키면 보다 확실한 대사체 식별이 가능합니다.



Captiva EMR-Lipid는 분석물질의 원치 않는 손실 없이 고도로 선택적이고 효율적으로 지질 및 매트릭스를 제거할 수 있습니다. 이 새로운 기술은 크기 배제 및 소수성 상호작용의 원리로 지질을 제거합니다. 효율적인 지질 제거로 표적 분석물질의 이온 억제를 최소화하여 분석법의 신뢰성과 견고성을 크게 향상합니다.



Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼은 MS 용용매를 사용하여 극성 대사체가 머무르도록 합니다. 혁신적인 컬럼의 화학적 특성은 극성 대사체가 훨씬 더 잘 머무를 수 있도록 해주며 낮은 pH와 높은 pH 모두에서 안정적입니다. 금속에 민감한 (metal-sensitive) 대사체의 경우에는 검출 및 피크 모양을 개선하기 위해 InfinityLab Deactivator Additive를 사용할 수 있습니다.

세포 대사를 보는 새로운 창문

살아있는 세포에서의 기능적 대사 측정 및 대사 표현형 확인은 대사체학 실험 설계에 매우 유효한 지침이 됩니다.

Agilent Seahorse XF 분석기는 세포 생물에너지학 측정을 위한 다운스트림 접근법을 제공하여, 다양한 조건 하에서 살아있는 세포를 대상으로 대사 기능을 신속하게 평가할 수 있도록 합니다.

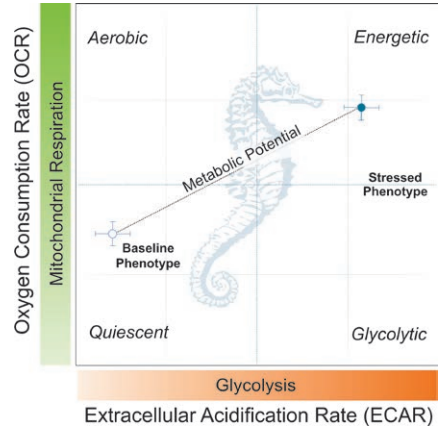
화학적 및 유전적 조작이 세포 대사 기능에 미치는 영향을 쉽고 빠르게 확인함으로써 대사체 연구에 효율성과 방향성을 더해주는 보충적인 정보를 얻을 수 있습니다.

짧은 시간에 대사를 확인 가능

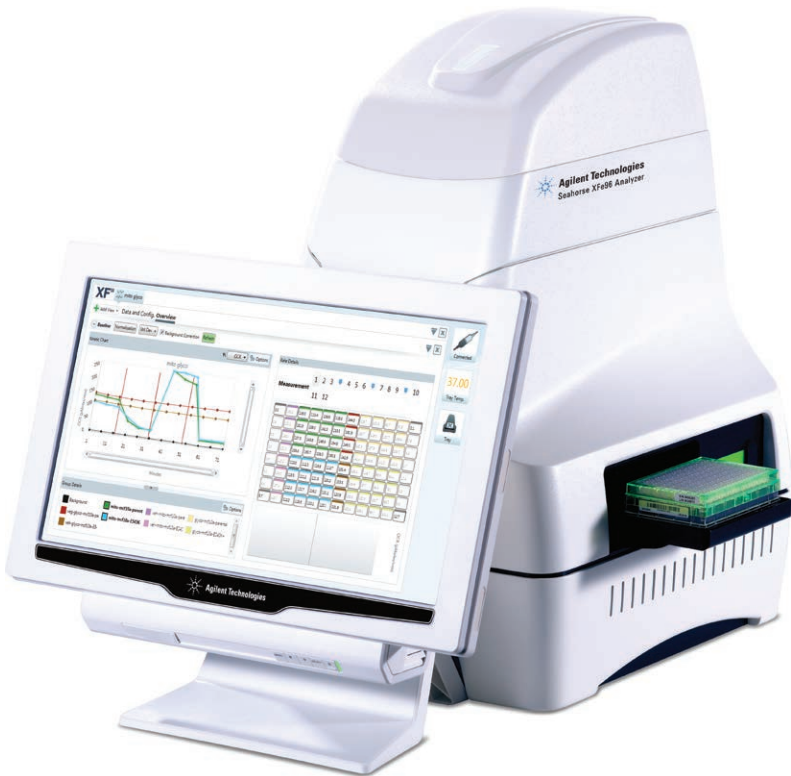
Seahorse XF 분석기는 세포의 주요 에너지 생산 경로인 미토콘드리아 호흡과 해당작용을 살아있는 세포 내에서 실시간으로 측정합니다.

Seahorse XF 분석기의 특징으로는 자동적 화합물 첨가, 일회용 microplate 카트리지의 교체형 광 센서 및 자동적으로 대사 지표를 계산하고 분석하는 소프트웨어가 있습니다.

Seahorse XF 검사 키트 및 시약은 산화적 인산화, 해당작용 및 지방산 산화와 같은 경로를 위해 특별히 개발하였으며, 당일에 결과를 확인할 수 있어 세포 기능을 보다 깊이 조사하고 분석할 수 있습니다.



Seahorse XF 세포 에너지 표현형 테스트는 대사 상태 및 경로 선호도에 관한 고수준 평가를 제공하며, 1시간 안에 결과를 확인할 수 있습니다.



Seahorse XF 분석기는 다양한 처리량과 시료 요구에 대응할 수 있도록 96, 24 및 8-well 형태로 이용 가능합니다. 이때 시료 요구로는 부착세포 및 부유세포, 배양 시료 또는 ex vivo 시료, 모델 생물, 분리된 미토콘드리아를 들 수 있습니다.

추가 정보:

www.agilent.com/chem/metabolomics

지역 애질런트 고객 센터 찾기:

www.agilent.com/chem/contact

미국 및 캐나다

1-800-227-9770

agilent_inquiries@agilent.com

유럽

info_agilent@agilent.com

아시아 태평양

inquiry_lsca@agilent.com

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하지 않습니다.
이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2018년 8월 16일, 한국에서 발행
5991-7069KO

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

