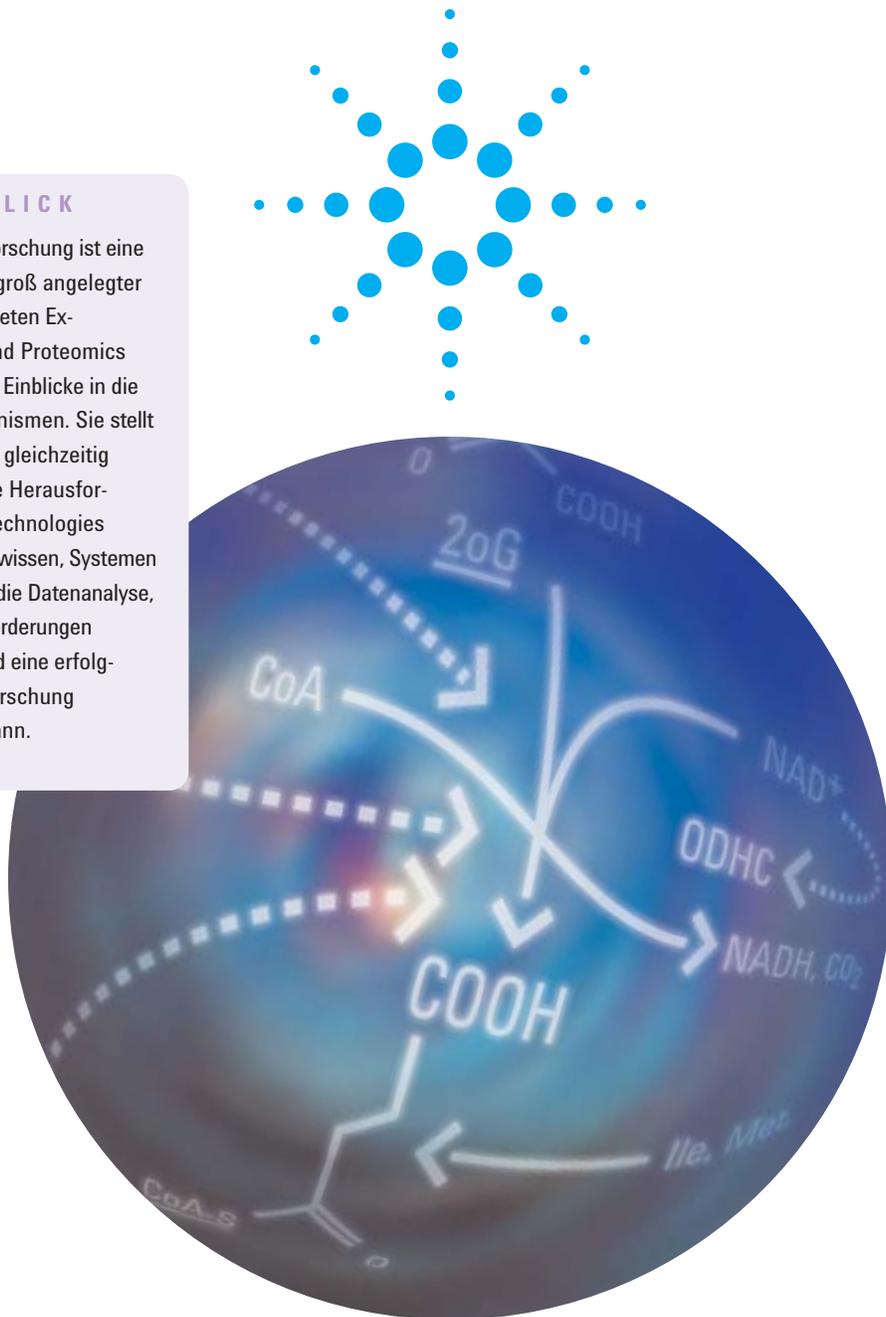


### ÜBERBLICK

Die Metabolomics-Forschung ist eine logische Ergänzung groß angelegter Studien auf den Gebieten Expressionsprofiling und Proteomics und liefert wertvolle Einblicke in die Biochemie von Organismen. Sie stellt Wissenschaftler aber gleichzeitig auch vor analytische Herausforderungen. Agilent Technologies unterstützt mit Fachwissen, Systemen und Werkzeugen für die Datenanalyse, damit diese Herausforderungen bewältigt werden und eine erfolgreiche Metabolomforschung betrieben werden kann.



**Das Agilent Metabolomics  
Labor: Alle Werkzeuge für eine  
erfolgreiche Metabolomforschung**



**Agilent Technologies**

## Ein leistungsstarker Ansatz für die Erforschung biologischer Systeme

Metaboliten spielen in biologischen Systemen eine wichtige Rolle. Mit Metabolomics, d. h. der vergleichenden Analyse von Metaboliten, die in ähnlichen biologischen Proben gefunden wurden, lassen sich potenzielle Biomarker, Auswirkungen von Medikamenten oder Krankheiten auf bekannten oder unerwarteten biologischen Pathways erkennen.

### Metaboliten als wesentliche Komponenten in biologischen Systemen

Metaboliten spielen in biologischen Systemen eine wichtige Rolle. Sie transportieren Energie, ermöglichen die zelluläre Kommunikation und Steuerung und funktionieren als Bausteine für andere Prozesse. Metabolitänderungen liefern wertvolle Einblicke in die zugrundeliegenden biochemischen Prozesse. Sie dienen als Marker für Krankheiten und weisen auf Zusammenhänge zwischen Genen und Funktionen hin.

Die Metabolomics-Forschung dient dem Verständnis biologischer Systeme. Sie kann als leistungsstarke Ergänzung der Genom- und Proteomanalyse eingesetzt werden.

### Metabolomics – eine analytische Herausforderung

Metaboliten weisen eine enorme chemische Vielfalt mit beträchtlichen

Variationen in Bezug auf Struktur, funktionale Gruppen und physikochemische Eigenschaften auf. Aus diesem Grund und wegen der großen Häufigkeitsunterschiede sind Metabolomanalysen sehr schwierig. Darüber hinaus wird die Aufgabe durch die unterschiedlichen analytischen Anforderungen erschwert, da das Ziel entweder darin besteht, Substanzen zu finden, diese zu identifizieren, zu quantifizieren oder alle diese drei Ziele zusammen.

Es gibt kein Gerät und keine Technologie mit Eignung für alle Metabolomanalysen. Die gemeinsam mit einem Gas- oder Flüssigchromatographiesystem eingesetzte Massenspektrometrie (GC/MS bzw. LC/MS) ist die am häufigsten verwendete Analysenmethode. Die Kombination aus Kapillarelektrophorese und Massenspektrometrie (CE/MS) ist eine alternative Lösung für hydrophile Substanzen. Metabolomuntersuchungen erfordern in der Regel eine große Probenanzahl und komplexe

Datenverarbeitungsvorgänge. Daher werden zudem leistungsstarke Datenanalysenfunktionen benötigt.

### Herausragende Werkzeuge für die Metabolomforschung

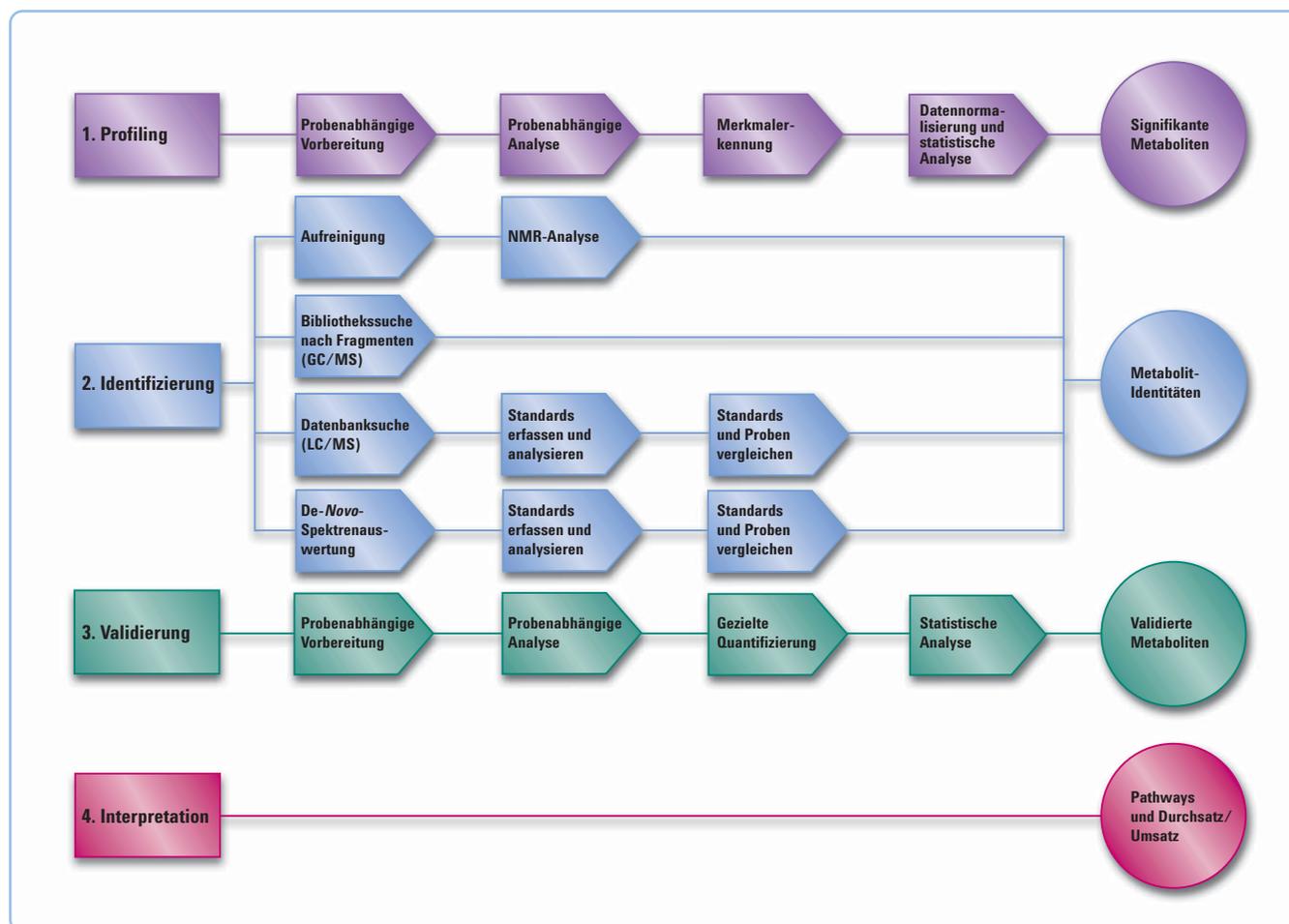
Agilent Technologies liefert ein umfassendes Angebot an Werkzeugen für die Metabolomforschung: Es beinhaltet GC-, LC-, CE-, GC/MS-, LC/MS- und CE/MS-Systeme sowie leistungsstarke Softwareapplikationen zur Identifizierung von Metaboliten, zur Quantifizierung und statistischen Analyse.

Bei Agilent erhalten Sie Hardware, Software, Verbrauchsmaterialien, Service und Support verlässlich aus einer Hand. Außerdem können Sie auf ein sachkundiges Team aus Applikationsspezialisten zurückgreifen, die verstehen, worum es bei Ihrer Arbeit geht, und die Sie unterstützen, aus allen Experimenten biologisch aussagekräftige Daten abzuleiten.



**Agilent bietet die umfassendste Palette an Geräten und Software für Metabolomics, einschließlich vollständiger GC/MS- und LC/MS-Systeme.**

## Der Metabolomics-Workflow: Von der Probe über Daten zur biologischen Bedeutung



Der Workflow für die Metabolomanalyse ist ein mehrstufiger Prozess mit unterschiedlichen analytischen Herausforderungen und Wahlmöglichkeiten bei jedem Schritt.

Der gesamte Prozess der Metabolomanalyse wird in verschiedene Schritte aufgeteilt. Je nach untersuchten Proben und Metaboliten weichen die Details voneinander ab - der Prozess ist aber immer gleich:

**1. Profiling:** Suche nach Metaboliten mit statistisch signifikanten Abweichungen in der Häufigkeit innerhalb einer kleinen Probenmenge aus experimentellen und Kontrollproben.

**2. Identifizierung:** Identifizierung der im Profiling markierten Metaboliten.

**3. Validierung:** Validierung der statistischen Signifikanz der identifizierten Metaboliten in den ursprünglichen Proben, gefolgt von der Validierung gegen größere Probenmengen, um die Auswirkungen natürlicher Abweichungen auszuschließen.

**4. Interpretation:** Auswertung der gefundenen metabolomischen Marker im Kontext des entsprechenden biologischen Systems.

### Profiling zur Suche nach statistisch signifikanten Metaboliten

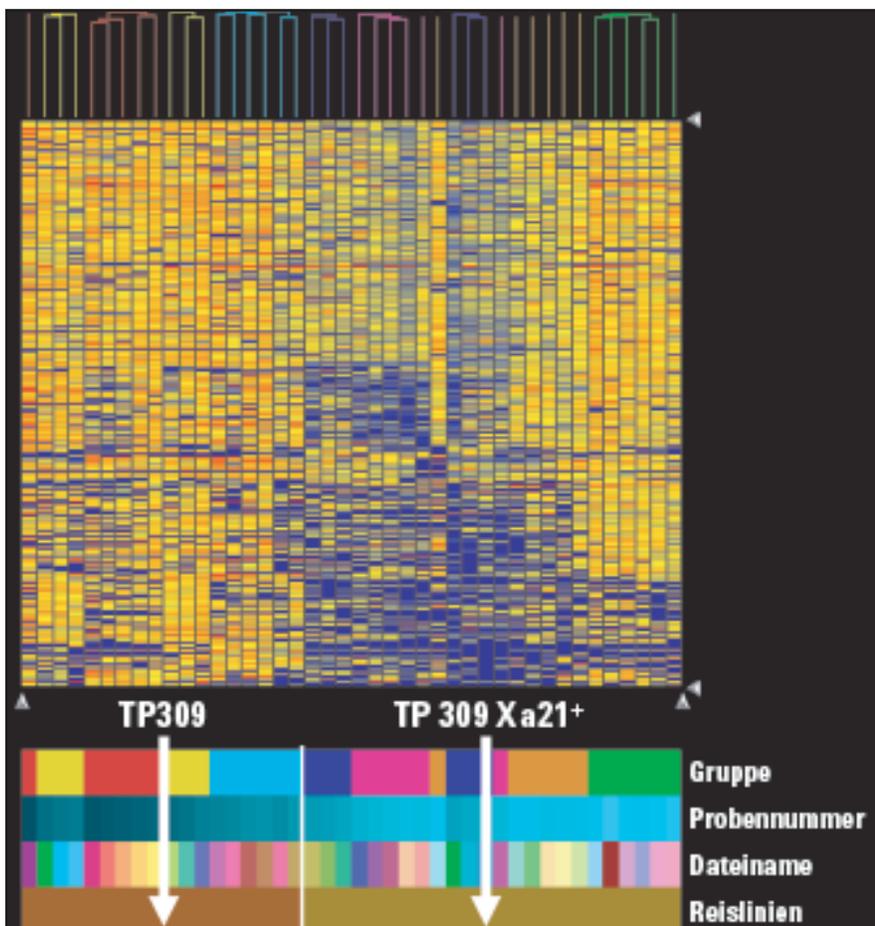
Beim Profiling wird nach Metaboliten mit statistisch signifikanten Abweichungen in der Häufigkeit zwischen der experimentellen und der Kontrollgruppe gesucht. Das Profiling kann sehr umfangreich ausfallen, wenn Sie klare Ziele, aber nur ein begrenztes Wissen über das untersuchte System haben. Wenn Sie jedoch mit einem gut untersuchten System arbeiten, kann das Profiling sehr zielgerichtet durchgeführt werden. Häufig ist die beste Vorgehensweise, beide Ansätze zu verfolgen, d. h. ein gezieltes Profiling bekannter Metaboliten und eine umfangreiche Merkmalerkennung zur Suche nach unerwarteten Metaboliten.

Das Profiling setzt sich üblicherweise aus folgenden Schritte zusammen:

- **Methode auswählen:** Auswertung der Kenntnisse über das System und Ziele, gefolgt von der Auswahl der besten Methode für das Profiling
- **Probenvorbereitung:** Probenabhängige Extraktion, Proteinpräzipitation und Vorfraktionierung
- **Analyse:** Trennung und Nachweis von Metaboliten, i. d. R. durch GC/MS oder LC/MS
- **Merkmalerkennung:** Suche nach und Quantifizierung aller Metaboliten in der Probe
- **Datennormalisierung:** Korrektur der durch Retentionszeiten oder Response verursachten Drift

- **Statistische Analyse:** Erkennung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen Probenmengen

Die analytische Reproduzierbarkeit ist für das Expression Profiling von immenser Bedeutung. Die Kombination aus normalen Probenabweichungen und analytischen Abweichungen bestimmt die Anzahl an notwendigen Wiederholversuchen, um festzustellen, ob die Unterschiede zwischen Proben oder Probenmengen statistisch signifikant sind. Je kleiner die analytischen Abweichungen, desto weniger Wiederholversuche sind erforderlich.



Durch hierarchische Clusterbildung werden Proben basierend auf der Ähnlichkeit ihrer Massenhäufigkeitsprofile gruppiert. Diese Vorgehensweise eignet sich zur Bewertung der Datenqualität. Replizierte Proben aus derselben experimentellen Gruppe sollten enger beieinander liegen als Proben aus unterschiedlichen Gruppen. In diesem Beispiel erlaubt es die hierarchische Clusterbildung bei Reisdaten sofort zwischen der Wildreislinie (TP309) und einer transgenen Linie (TP309 Xa21+) zu unterscheiden.

## Identifizierung signifikanter Metaboliten

Nach dem Profiling müssen die statistisch signifikanten Metaboliten identifiziert werden. Es gibt vier übliche Vorgehensweisen:

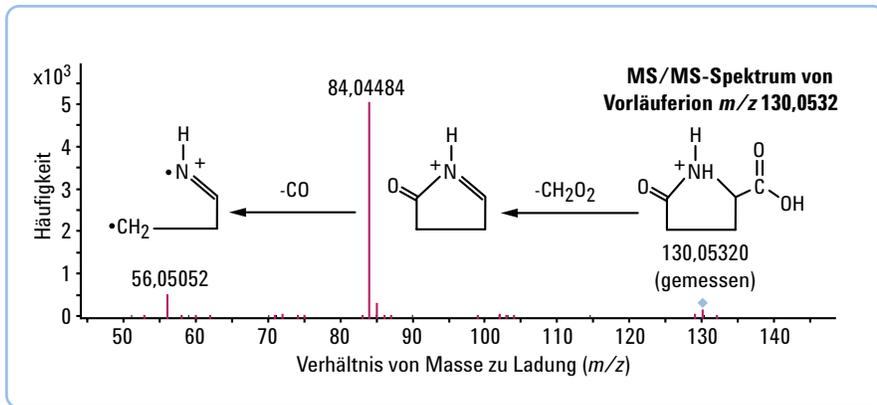
- **Suche in Spektrenbibliotheken:**

Kann eine erneute Analyse überflüssig machen und liefert eine positive Identifizierung. Diese Methode wird am häufigsten mit reproduzierbaren EI-Spektren aus GC/MS-Analysen verwendet.

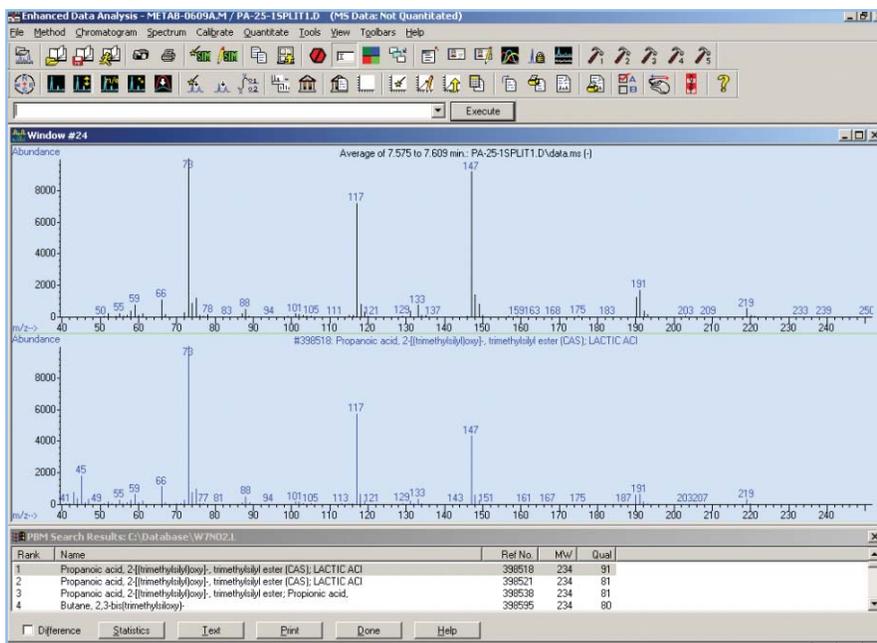
- **Datenbanksuche:** Wird häufig mit LC/MS-Daten verwendet, um nach wahrscheinlichen Identitäten zu suchen. Mit einer guten Datenbank ist die Suche relativ einfach. Zur positiven Identifizierung müssen jedoch Standards erfasst und analysiert werden.

- **De-novo-Spektrenauswertung:** Ist vor allem bei der Erforschung gut untersuchter Systeme möglich, erfordert aber hervorragende Fachkenntnisse. Für eine positive Identifizierung müssen Standards erfasst und analysiert werden.

- **Aufreinigung und NMR-Analyse:** Hoher Zuverlässigkeitsgrad, kann aber schwierig, zeitaufwändig und kostenintensiv sein.



Eine Suche in der METLIN Metabolite Database mit TOF-Daten bekannter Masse ergab für ein Metabolit mit einer Masse von 130,0494 (Molekularion) sechs mögliche Identitäten. Durch das in der nachfolgenden Q-TOF-Analyse erzeugte MS/MS-Spektrum ließ sich die Identität auf eines von zwei Enantiomeren reduzieren: Pyroglutaminsäure oder Pyrrolidoncarbonsäure.



Eine Suche in GC/MS-Spektrenbibliotheken kann häufig zu einer schnellen positiven Identifizierung führen. In diesem Beispiel wurde die Substanz positiv als eine bestimmte Propionsäure identifiziert.

### Validierung bestätigt Signifikanz

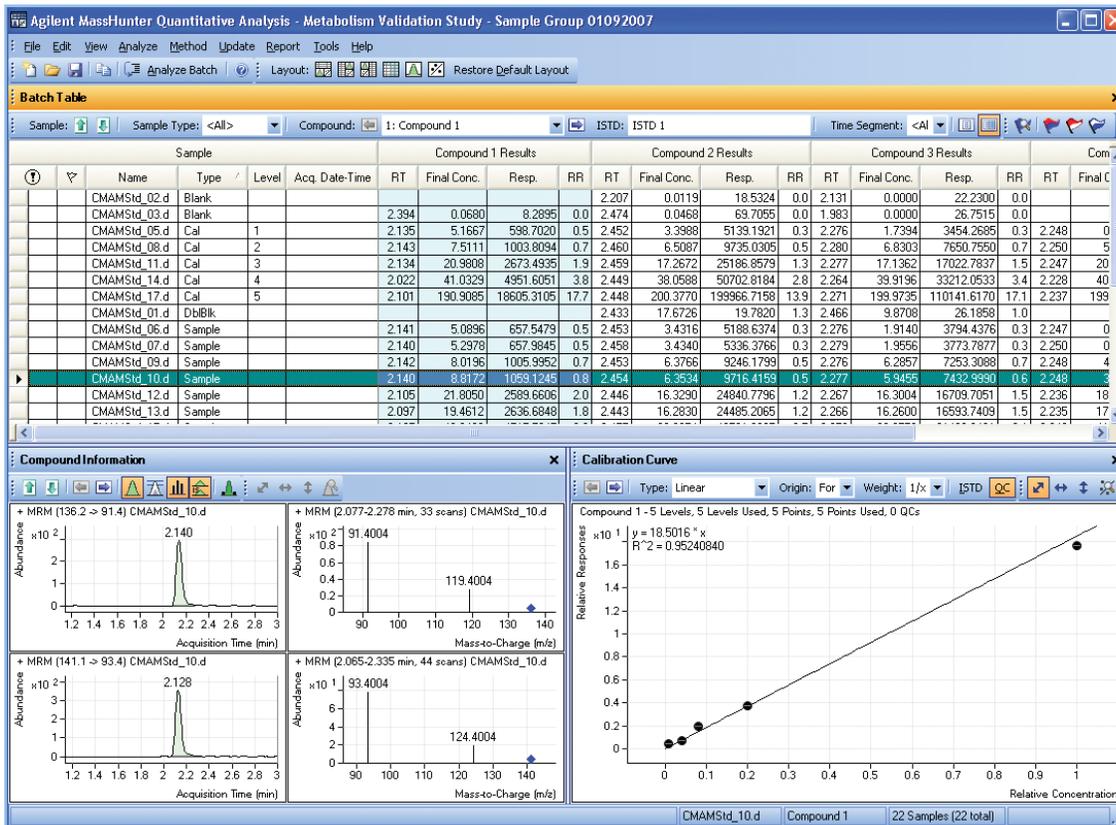
Um natürliche Abweichungen zwischen einzelnen Organismen und exogenes chemisches Rauschen zu berücksichtigen, müssen die Schlussfolgerungen aus den vorherigen Schritten validiert werden. In der Regel handelt es sich dabei um einen zweistufigen Prozess:

- Gezielte quantitative Neuanalyse der ursprünglichen Proben zur Überprüfung der statistischen Signifikanz der während des Profiling markierten Metaboliten
- Quantitative Analyse viel größerer Probenmengen zur Validierung des

ursprünglichen Profiling und Eliminierung natürlicher Abweichungen. Auch wenn bei der Validierungsanalyse mehr Routinearbeiten anfallen als beim Profiling, gilt es dennoch, hunderte oder tausende Proben zu verarbeiten. Zur Reduzierung der Analysenkosten müssen die Protokolle optimiert werden. Im Allgemeinen erfolgen diese quantitativen Analysen per Selected Ion Monitoring (SIM) mit einem GC/MS-System oder durch ein gezieltes MS/MS-Verfahren (MRM) mit einem Triple-Quadrupol-LC/MS-System. Zur Gewährleistung einer genauen Quantifizierung werden in der Regel interne Standards verwendet.

### Interpretation im biologischen Kontext

Nach der Suche, Identifizierung und Verifizierung signifikanter Metaboliten müssen diese noch im untersuchten biologischen Kontext ausgewertet werden. Dies umfasst ggf. eine Pathway-Analyse, Auswertung des Umsatzes oder die Korrelation zwischen Genen und dem funktionalen Phänotyp des Organismus. Möglicherweise müssen Metabolomdaten mit Genom- oder Proteomdaten integriert werden.



Die quantitative Validierung kann Konzentrationsvergleiche (Kalibrierkurven) umfassen, wenn Standards der Zielsubstanz verfügbar sind, oder Flächenvergleiche, wenn keine Probenstandards verfügbar sind.

## Erforderliche Werkzeuge

Metabolome weisen bereits in normalen Organismen signifikante natürliche Abweichungen auf. Wirkliche Unterschiede lassen sich nur durch die Analyse großer Probenmengen nachweisen. Daher werden Analyseninstrumente mit geringen Fehlerraten und hohem Durchsatz bevorzugt. Die leicht zu bedienenden Agilent GC/MS- und LC/MS-Systeme sind zuverlässig und bieten eine hervorragende Analysenleistung. Damit sind sie bestens für Metabolomanalysen mit hohem Durchsatz geeignet.

### Die GC/MS-Systeme ermöglichen empfindliche und wirtschaftliche Profiling- und Identifizierungsverfahren.

GC/MS-Geräte bieten eine hohe Trennleistung und sind empfindlich genug für flüchtige Substanzen und Substanzen, die in flüchtige Derivate verwandelt werden können. Sie ermöglichen die Probenidentifizierung mit Hilfe einer Suche in EI-Spektrenbibliotheken. Außerdem sind sie bei weitem die wirtschaftlichsten Geräte für Metabolomanalysen.

Agilent ist der weltweit führende Anbieter von GC/MS-Systemen und

verfügt über das entsprechende Fachwissen. Die Kombination aus dem Verkaufsschlager Agilent 6890N Gaschromatograph und dem innovativen Quadrupol-Massenspektrometer der Agilent Serie 5975B ist in Bezug auf Leistung und Zuverlässigkeit unschlagbar:

- Branchenweit höchste Empfindlichkeit
- Reproduzierbare und in Bibliotheken durchsuchbare EI-Spektren
- Automatisierung, mit der die optionale chemische Ionisierung genauso einfach wie die Elektronenionisierung ist
- Bis zu 6 Ordnungen dynamischer Bereiche zur Analyse von Metaboliten mit stark variierender Häufigkeit

- Schnelles Scannen (10.000 U/s), das mit der schnellen Chromatographie für einen hohen Durchsatz mithalten kann
- Hervorragende Stabilität der Massenachse verringert Anzahl der Gerätefehler
- Chemisch inerte Ionenquelle verhindert den Zerfall der Metaboliten

Die technisch ausgereiften GC-Säulen der Agilent Marke J&W Scientific bieten auch bei den schwierigsten Proben typen eine herausragende und reproduzierbare Leistung. Diese Säulen weisen die geringsten Ausblutungswerte, die beste Inertheit für Säuren/Basen/gemischt-funktionale Substanzen und die höchste verfügbare Reproduzierbarkeit bei anderen Säulen des gleichen Typs auf.



**Agilent GC/MS-Systeme weisen eine hohe Trennleistung und Empfindlichkeit für Metabolomanalysen auf. Als Bibliothek durchsuchbare EI-Spektren vereinfachen die Identifizierung.**

## LC/MS-Systeme als Lösung vieler Probleme der Metabolomanalyse

Mit der Flüssigchromatographie/Massenspektrometrie (LC/MS) lässt sich eine große Menge an Metaboliten analysieren. Sie eignet sich vor allem für Metabolitklassen, die nicht flüchtig sind und nicht derivatisiert werden können. Die LC/MS bietet eine hervorragende Selektivität und Empfindlichkeit. Außerdem erzeugt sie Molekularionen- und Strukturdaten.

Agilent hat eine große Anzahl zuverlässiger HPLC/MS-Systeme im Angebot. Jedes System eignet sich für eine andere Phase des Metabolomics-Workflows und ist eine Kombination aus hervorragender Leistung mit der für Agilent charakteristischen Zuverlässigkeit und Benutzerfreundlichkeit.

In einem Metabolomics-Labor mit mehreren Geräten ist eine gleichbleibende, plattformübergreifende Leistung erforderlich, um den Durchsatz zu maximieren und analytische Abweichungen möglichst gering zu halten. Der Einsatz gleicher Technologien, z. B. der Kollisionszelle im Q-TOF und der Triple-Quadrupol-Geräte sowie der TOF-Komponenten in den TOF- und Q-TOF-Geräten, erleichtert den Gerätewechsel bei Experimenten und sorgt für gleichbleibende Ergebnisse. Auswechselbare LC/MS-Ionenquellen stellen bei allen Workflow-Schritten

eine gleichbleibende Ionisierung sicher, wodurch sich eine Quelle erheblicher analytischer Abweichungen entfernen lässt.

### **Schnelle, reproduzierbare Trennungen mit dem Rapid Resolution LC-System der Serie 1200**

Eine gute Proben-trennung ist bei der Metabolomanalyse unverzichtbar. Das Rapid Resolution LC-System der Agilent Serie 1200 eignet sich besonders gut für die Metabolomanalyse. Der hohe maximale Betriebsdruck ermöglicht den Einsatz längerer Säulen mit kleineren Partikeln für eine optimale chromatographische Trennung.

Durch den hohen Druck lässt sich außerdem in der mobilen Phase Methanol anstelle von Acetonitril verwenden. Acetonitril führt zu Problemen mit der APCI, während Methanol diese erleichtert. Die APCI, entweder mit einer Singlemode- oder Multimode-Quelle, kann entscheidend für die Erzielung eines hohen Metabolitumfangs sein. Eigenschaften der Serie 1200:

- Umfassende Systeme für Analyse- und Vorbereitungsaufgaben
- Automatische Probenflaschen- und Wellplate-Probengeber

- Temperaturgesteuerte Säulenöfen und automatische Probengeber
- Fraktionssammler

### **ZORBAX RRHT-Säulen für eine optimale Substanztrennung**

Agilent ZORBAX Rapid Resolution High Throughput (RRHT) Säulen wurden speziell für das Rapid Resolution LC-System der Serie 1200 entwickelt, um ultraschnelle HPLC-Trennungen mit einer hohen Auflösung durchführen zu können. ZORBAX RRHT-Säulen verwenden 1,8-µm-Partikel zur Optimierung der Auflösung. Kurze Säulen (15-50 mm) werden für Hochgeschwindigkeitsanalysen und lange Säulen (100 oder 150 mm) für eine maximale Auflösung eingesetzt.

**Die schnellen, hochauflösenden Trennungen mit dem Rapid Resolution LC-System der Serie 1200 verbessern den Durchsatz und die Anzahl gefundener Metaboliten.**



**6210 Time-of-Flight-LC/MS-Systeme für schnelles und genaues Profiling**

Das Agilent 6210 TOF-LC/MS-System ist ein benutzerfreundliches und sehr stabiles System, das ideal für das Metabolom-Profiling ist. Die fortlaufende Zuführung einer Referenzmasse optimiert die Massengenauigkeit und gewährleistet die Reproduzierbarkeit. Gleichzeitig werden weniger Proben benötigt, um statistisch zuverlässige Ergebnisse zu erzielen. Eigenschaften des 6210:

- Massengenauigkeit von 2 ppm für den genauen Vergleich von Metaboliten aus unterschiedlichen Proben
- TOF-Tischgerät mit unübertroffener Empfindlichkeit
- Auflösung größer als 13.000 zur Unterscheidung von Metaboliten mit ähnlicher Masse

- Schnelle Spektrenerfassung für genaue Peakflächenbestimmungen und eine sehr genaue Quantifizierung
- Herausragende Stabilität und Reproduzierbarkeit

Das 6210 TOF kann mit den unterschiedlichsten Ionisierungsquellen ausgestattet werden, z. B. der extrem vielseitigen Multimode-Quelle.

**6510 Q-TOF-LC/MS-Systeme für die zuverlässige Identifizierung von Metaboliten**

Das Agilent 6510 Quadrupol-Time-of-Flight-LC/MS-System ist ein extrem vielseitiges Gerät, das perfekt auf das Metaboliten-Profiling und die Identifizierung abgestimmt ist. Es kombiniert die ergiebigen Strukturdaten der MS/MS-Analyse mit sehr genauen

Massenbestimmungen für eine hochzuverlässige Identifizierung der Metaboliten. Eigenschaften des 6510:

- Schnelle Spektrenerfassung: 1 MS-Spektrum und 5 MS/MS-Spektren pro Sekunde - dadurch stehen mehr Daten für die Identifizierung zur Verfügung
- Fortschrittliche Kollisionszelltechnologie eliminiert chemische Crosstalk-Effekte
- Routinemäßige Massengenauigkeit von 2 ppm (MS) bzw. 5 ppm (MS/MS) für eine zuverlässige Identifizierung der Metaboliten
- Auflösung größer als 13.000 zur Unterscheidung von Metaboliten mit ähnlicher Masse
- Automatisches Tuning und automatische Massenkalibrierung für optimale Leistung bei geringstmöglichem Aufwand

**Aufgrund der hervorragenden Reproduzierbarkeit und Massengenauigkeit ist das 6210 TOF bestens für das Profiling geeignet.**



**Das 6510 Q-TOF vereint eine genaue Massenbestimmung mit MS/MS-Spektren und ermöglicht so eine zuverlässige Identifizierung der Metaboliten.**



**6410 Triple Quadrupole LC/MS-System für eine durchsatzstarke Validierung**

In Validierungsstudien werden hunderte oder tausende Proben untersucht, sodass eine genaue, durchsatzstarke Quantifizierung unerlässlich ist. Triple-Quadrupol-MRM ist der Standard für die gezielte Quantifizierung. Das Agilent 6410 Triple Quadrupole LC/MS-System bietet Ihnen Detektionsstufen im Femtogramm-Bereich und auch im Dauereinsatz eine hohe Zuverlässigkeit. Die Quantifizierungssoftware ist durch Funktionen wie die substanz- oder probenbasierte Navigation und die parameterlose Integration sehr einfach zu bedienen.

- Empfindlichkeit bis in den Femtogramm-Bereich
- Durch schnelle MRM-Wechsel können in einem einzelnen Analysenlauf mehr Proben analysiert werden.
- Verringerung chemischer Crosstalk-Effekte durch fortschrittliche Kollisionszellentechnologie zur Verbesserung von Empfindlichkeit und Linearität
- Zeitersparnis durch einfaches Einrichten von Methoden und parameterlose Integration
- Automatisches Tuning für optimale Leistung bei geringstmöglichem Aufwand

**Das 6410 Triple Quad System liefert zuverlässige MRM-Quantifizierungsdaten für die Validierung großer Probenmengen.**



**Maximale Flexibilität und Beständigkeit durch auswechselbare LC/MS-Ionenquellen**

Die hohe chemische Vielfalt der Metaboliten ist der Grund dafür, dass es keinen Ionisierungsmodus gibt, der für alle Analysen geeignet wäre. Agilent bietet in der Branche die größte Auswahl an auswechselbaren Ionenquellen. Der Ionisierungsmodus kann nach Bedarf an das Gerät angepasst werden. Mögliche Ionisierungsverfahren:

- Electrospray (ESI) mit Standard-Flussraten (Mikroliter und Nanoliter)
- Chemische Ionisierung unter Atmosphärendruck (APCI)
- Multimode-ESI/APCI
- Photoionisierung unter Atmosphärendruck (APPI)

Agilent LC/MS-Ionenquellen arbeiten mit orthogonaler Spraytechnik und hohen Temperaturen, Gegenstrom-Trocknungsgas zur Maximierung von Leistung und Reproduzierbarkeit sowie zur Minimierung des chemischen Rauschens.

Besonders zu beachten ist die Multimode-Quelle, die Ionen gleichzeitig per Electrospray und APCI erzeugen kann, ohne signifikante Empfindlichkeitsverluste gegenüber Singlemode-Quellen hinnehmen zu müssen. Auf diese Weise lässt sich der Probendurchsatz in Profiling- und Validierungsstudien verdoppeln.



**Auswechselbare LC/MS-Ionenquellen ermöglichen es Ihnen, den Ionisierungsmodus an die erwarteten Metaboliten anzupassen, und gewährleisten eine gleichmäßige Ionisierung über den gesamten Metabolomics-Workflow hinweg.**

### CE/MS - hervorragende Trenneigenschaften in Kombination mit einer hohen Analysengeschwindigkeit

Die Kapillarelektrophorese (CE) bildet eine Alternative mit Flüssigphase zur Flüssigchromatographie. Sie bietet eine wechselnde Selektivität und hervorragende Trennleistung. Die Kombination aus Kapillarelektrophorese und Massenspektrometrie (CE/MS) wird für Metabolomanalysen weniger häufig eingesetzt als GC/MS- und LC/MS-Systeme, kann sich aber vor allem bei der Analyse hydrophiler Metaboliten als wertvoll erweisen. CE/MS kombiniert die kurze Analysendauer und die exzellente Trennleistung der Kapillarelektrophorese mit dem Molekulargewicht und den Strukturdaten der Massenspektrometrie.

Das Agilent CE-System kann als Branchenführer mit verschiedenen Massenspektrometern kombiniert werden. Der gemeinsame Einsatz der Kapillarelektrophorese und des Agilent 6210 Time-of-Flight-LC/MS-Systems verbindet eine hervorragende Trennleistung mit einer exzellenten Massengenauigkeit und Massenauflösung und garantiert so herausragende Lösungen für das Profiling von Metaboliten.

Durch die in Agilent Ionenquellen eingesetzten, geerdeten Zerstäuber sind die elektrischen CE-Einstellungen von den Einstellungen der MS-Ionenquelle unabhängig. Damit wurde ein großer Nachteil vieler anderer CE/MS-Systeme behoben.

**Das Agilent CE-System bietet eine hervorragende Trennleistung und eine einfache Verbindung mit einem Massenspektrometer. Vor allem bei der Analyse hydrophiler Metaboliten kann die CE/MS eine wertvolle Alternative zu GC/MS- und LC/MS-Systemen sein.**



## Software, die Daten in Informationen verwandelt

Das Ziel der Metabolomforschung ist ein besseres Verständnis der komplexen Funktionsweise biologischer Systeme. Zur Umwandlung qualitativ extrem hochwertiger Daten in biologisch aussagekräftige Informationen werden entsprechende Software-Tools benötigt. Genau dies gewährleistet die Agilent Software für Metabolomics-Applikationen.

### Methodenspezifische Dekonvolution zur Auffindung aller Metaboliten

Ein nicht erkanntes Metabolit stellt eine ungenutzte Gelegenheit dar. Daher ist es wichtig, in einer Probe so viele Metaboliten wie möglich zu finden. Es reicht daher nicht aus, einfach nur nach chromatographischen Peaks zu suchen, da sich ein Peak auch nach der besten Trennung noch aus mehreren Substanzen zusammensetzen kann. Die Lösung für die Suche nach koeluerierenden Metaboliten wird als Dekonvolution bezeichnet. Mit der Dekonvolution lassen sich Ionen finden, deren individuelle Häufigkeiten über die Zeit betrachtet gemeinsam ansteigen und fallen, was darauf hindeutet, dass sie zur selben Substanz gehören. Bei der Dekonvolution werden diese Ionen für

jedes Metabolit zu einem Einzelsubstanzspektrum rekonstruiert.

Die Ionisierungsprozesse und Massenanalysen von GC/MS- und LC/MS-Spektren weisen einzigartige chemische und physikalische Eigenschaften auf. Aus diesem Grund ist ein einzelnes Dekonvolutionsprogramm nicht für alle Applikationen optimal. Agilent bietet verschiedene Dekonvolutionsprogramme, die diese einzigartigen Eigenschaften von GC/MS- und LC/MS-Daten berücksichtigen.

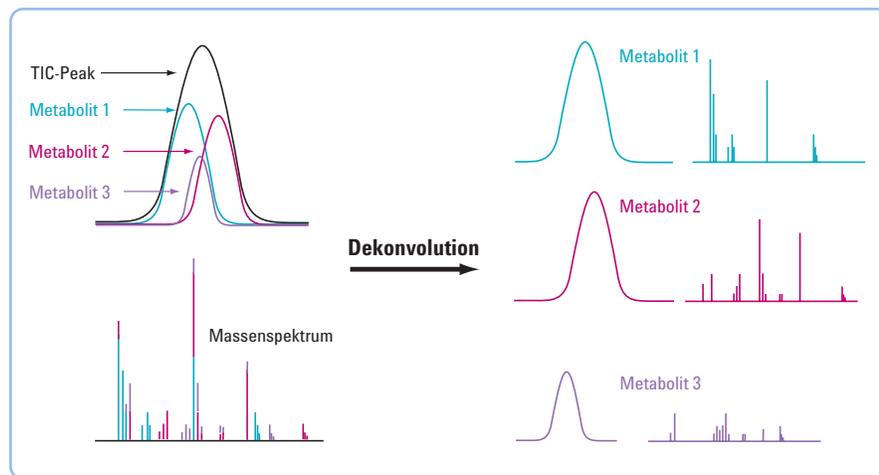
#### AMDIS für eine nützliche GC/MS-Dekonvolution

Als Teil des NIST-Bibliothekensuchpakets bietet Agilent zur Dekonvolution von GC/MS-Spektren die Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification Software (AMDIS) an. AMDIS extrahiert

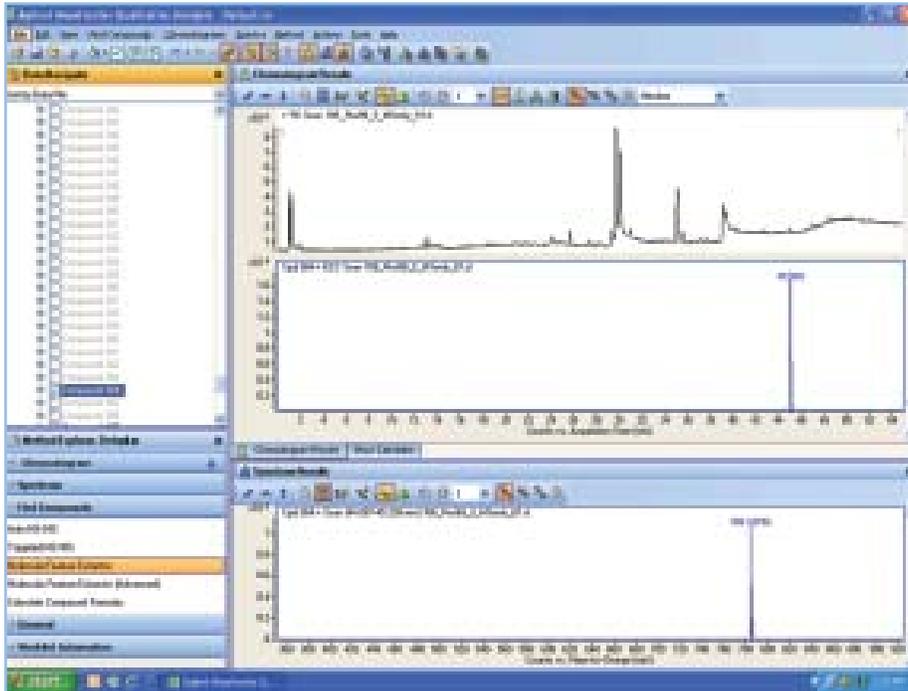
reine Substanzspektren aus komplexen GC/MS-Daten und hilft Ihnen bei der Bestimmung von Ionen/Peak-Verknüpfungen. AMDIS erzeugt als Bibliothek durchsuchbare Spektren und exportiert automatisch eine Merkmalsliste.

#### MassHunter Workstation für eine bessere LC/MS-Dekonvolution

Die Agilent MassHunter Workstation-Software für LC/MS enthält einen proprietären Algorithmus zur Merkmalerkennung und -korrelation. Der Algorithmus ist für Time-of-Flight-LC/MS-Daten optimiert und erkennt kovariante Ionen, die mit einer einzelnen Substanz verknüpft sind. Das Erkennen und Gruppieren derartiger Ionen verbessert die Genauigkeit der daraus bestimmten empirischen Formel und der nachfolgenden Suche in einer Metabolit-Datenbank.

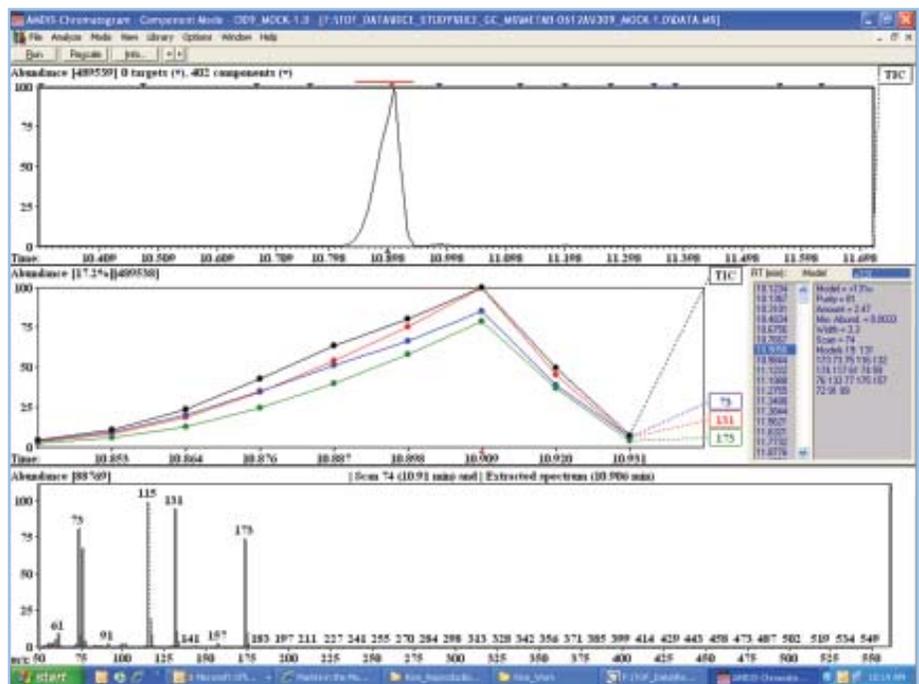


Bei der Dekonvolution werden Metaboliten gefunden, die sich chromatographisch gar nicht oder nur schlecht bestimmen lassen. Für jeden Metaboliten werden ein extrahiertes Ionenchromatogramm und ein rekonstruiertes Einzelsubstanzspektrum erzeugt.



Der Algorithmus für die molekulare Merkmalerkennung und -korrelation der MassHunter-Software findet nicht nur alle chromatographischen Peaks, sondern alle Komponenten in einem Chromatogramm. In diesem Beispiel findet er eine reale Komponente in einem Segment des Totalionen-Chromatogramms (oben), das hauptsächlich aus Rauschen und einem Anstieg der Basislinie zu bestehen scheint.

Die Auswertung eines einzelnen Peaks aus einem Totalionen-Chromatogramm (oben) durch die AMDIS-Dekonvolutionssoftware ergibt kovariante Ionen (Mitte), die zu einer einzelnen Substanz gehören. Der untere Bereich zeigt das rekonstruierte Massenspektrum des Peaks.



### Vereinfachte Identifizierung mit der METLIN Metabolite Database

Es gibt mehrere Vorgehensweisen zur Identifizierung von Metaboliten. EI-Spektren aus der GC/MS-Analyse eignen sich für die Suche in Spektrenbibliotheken. In der LC/MS kann die Suche in einer Datenbank mit Metabolitdaten dabei helfen, die Liste möglicher Kandidaten einzuschränken. Durch genaue Massendaten wird die Suche in der Datenbank effektiver, da das zu durchsuchende Spektrum der Massewerte kleiner ist, wodurch sich die Anzahl möglicher Identitäten verringert.

Die METLIN Metabolite Database wurde vom Center for Mass Spectrometry am The Scripps Research Institute

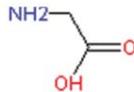
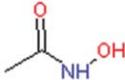
entwickelt und ist derzeit vermutlich die bekannteste und umfassendste Metabolitdatenbank weltweit. Sie enthält mit Anmerkungen versehene Listen von mehr als 15.000 endogenen und exogenen Metaboliten sowie Di- und Tripeptiden. Die Einträge umfassen folgende Informationen:

- Masse
- Chemische Formel
- Struktur

Die METLIN-Datenbank ist öffentlich zugänglich. Über das Internet kann jeweils nach einer einzelnen Substanz gesucht werden. Es ist jetzt jedoch auch möglich, eine eigene Kopie der METLIN-Datenbank lokal zu speichern. Vorteile einer lokalen Kopie:

- Private Suche
- Möglichkeit, eigene Substanzen zur Datenbank hinzuzufügen
- Automatisierte Suche anhand einer Massenliste

Agilent Technologies ist der einzige Zulieferer der METLIN Personal Metabolite Database. Die Agilent MassHunter Workstation-Software und die GeneSpring MS-Software enthalten Links zur METLIN Personal-Datenbank, um den Durchsatz zu steigern und die Benutzerfreundlichkeit zu erhöhen.

METLIN Metabolite Database						
Home   About   Metabolites   MS/MS						
Metabolites						
(Metabolites 1-2 of 2)						Change Query
MID	Mass	Name	Formula	CAS	KEGG	Structure
<a href="#">20</a>	75.0320	Glycine	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>	56-40-6	<a href="#">C00037</a>	
<a href="#">3920</a>	75.0320	acetohydroxamic acid	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>	546-88-3		

Mit den Angaben zu Massen, chemischen Formeln und Strukturdaten für mehr als 15.000 endogene und exogene Metaboliten sowie Di- und Tripeptiden ist die METLIN-Datenbank ein leistungsstarkes Werkzeug für die Identifizierung von Metaboliten.

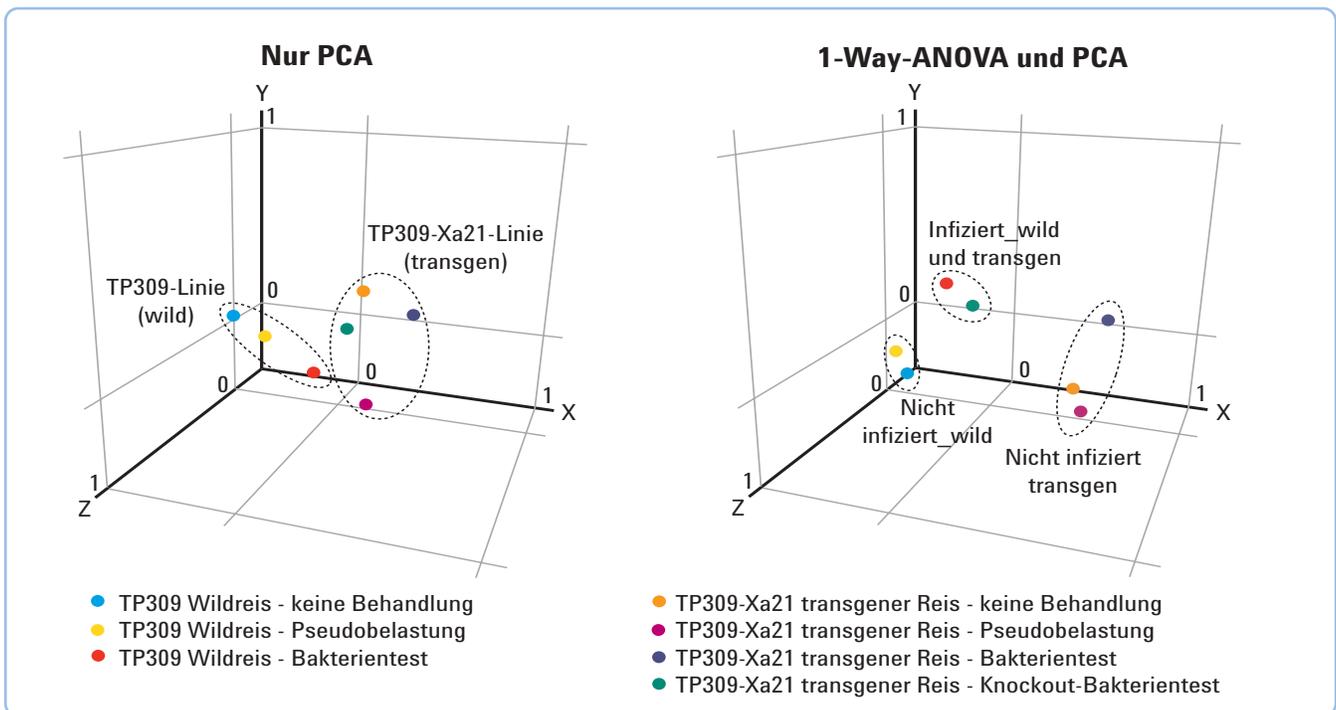
### GeneSpring MS – eine übergreifende Plattform für die Normalisierung und das Vergleichen der Daten von Massenspektren

Die Agilent GeneSpring MS-Informatik-Software ist eine leistungsstarke Lösung für das Erkennen von Metabolit-Biomarkern mit Hilfe der Analyse von Massenspektrometerdaten. Daten von Massenspektren aus großen Probenmengen und komplexen Versuchsanordnungen lassen sich einfach importieren, normalisieren, vergleichen und anzeigen. Dazu gehören GC/MS- und LC/MS- oder CE/MS-Daten von Agilent TOF-, Q-TOF- und Triple-Quadrupol-Geräten.

Die GeneSpring MS-Software bietet umfassende Werkzeuge für statistische Analysen, Data-Mining und Visualisierungen:

- Varianzanalyse (ANOVA)
- Hauptkomponentenanalyse (PCA)
- t-Tests
- Vulkan-Diagramme
- Hierarchische Bäume (Dendrogramme)
- Selbstorganisierende Karten (SOMs)
- QT-Clusterbildung (Quality Threshold)
- Support-Vector-Machines (SVMs)

Die GeneSpring MS-Informatik-Software lässt sich gut mit anderen Statistik-Software-Paketen integrieren. Wenn Sie ein bestimmtes, spezialisiertes Analysenpaket bevorzugen, ist es recht wahrscheinlich, dass die GeneSpring MS-Software mit diesem kombiniert werden kann.



**Aufgrund der Komplexität und Vielfalt von Metabolomanalysen ist es sehr wichtig, viele Optionen für die statistische Analyse und die Visualisierung zu haben. In diesem komplexen Experiment mit mehreren Bedingungen zeigt nur die PCA Genotypunterschiede auf. Wenn die PCA andererseits nach der ANOVA durchgeführt wird, lassen sich sowohl der Infektionsstatus als auch die Genotypen nicht infizierter Proben unterscheiden.**

### Konzentration auf das Wesentliche dank Agilent Dienstleistungen

Die Agilent Dienstleistungsorganisation genießt branchenweit eine hohe Anerkennung. Agilent bietet für Ihre Metabolomics-Systeme relevante Dienstleistungen. Damit können Ihre Systeme in einwandfreiem Zustand gehalten und somit zuverlässig und mit maximalem Durchsatz betrieben werden. Vielfältige Agilent Dienstleistungen sind:

- Software-Updates zu einem festgelegten jährlichen Preis
- Vorbeugende Wartung vor Ort zur Gewährleistung des zuverlässigen Betriebs und zur Minimierung von Ausfallzeiten
- Telefonunterstützung zur Diagnose und Lösung von Software- und Hardwareproblemen
- Remote-Updates, Diagnose und Reparatur über sichere Internetverbindungen
- Reparaturarbeiten vor Ort

Agilent Dienstleistungen können bei Bedarf erworben werden oder sind gebündelt in kostengünstigen Dienstleistungsverträgen zu einem Festpreis erhältlich. Sie bieten Schutz vor unerwarteten Reparaturkosten.

### Agilent Dienstleistungsgarantie

Das Vertrauen in die Qualität der Dienstleistungen und die Zuverlässigkeit der Geräte ist so hoch, dass Agilent eine eigene Dienstleistungsgarantie anbietet.

Wenn Sie eine Agilent Dienstleistungsvereinbarung abgeschlossen haben und Unterstützung für Ihre Agilent Geräte benötigen, sind die Reparatur oder der kostenlosen Ersatz des Geräts durch die Garantie abgedeckt.

Agilent bietet ein hohes Maß an Unterstützung, damit der Betrieb Ihres Labors mit maximaler Produktivität aufrecht erhalten wird.

### Agilent Technologies

Agilent Technologies ist führender Anbieter von Forschungssystemen für Life Sciences, mit deren Hilfe Wissenschaftler Einblicke in komplexe biologische Prozesse gewinnen, Krankheitsmechanismen verstehen lernen und die Medikamentenentwicklung beschleunigen. Die auf Empfindlichkeit, Reproduzierbarkeit und Workflow-Produktivität ausgerichteten Agilent Life Sciences-Lösungen umfassen Geräte, Mikrofluide, Software, Microarrays, Verbrauchsmaterialien und Dienstleistungen für die Genomics-, Proteomics- und Metabolomics-Forschung.

#### Online-Shop:

[www.agilent.com/chem/store](http://www.agilent.com/chem/store)

#### Agilent Kundendienstzentrum in Ihrer Nähe:

[www.agilent.com/chem/contactus](http://www.agilent.com/chem/contactus)

#### Europa

[info\\_agilent@agilent.com](mailto:info_agilent@agilent.com)

Nur für Forschungszwecke. Nicht zur Diagnose einsetzen. Änderungen vorbehalten.

Alle Rechte vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2007  
Gedruckt in den Niederlanden, 31. Januar 2007  
5989-5472DEE

