

## Metabolomics : 키트 기반 Targeted Metabolomics 기술

생명현상을 이해하고 질병의 원인을 규명하기 위해서는, 세포 내에서 실제로 어떤 분자적 변화가 일어나고 있는지를 정량적으로 측정하는 것이 중요하다. 이러한 목적을 달성하기 위한 핵심 도구 중 하나가 바로 대사체학(Metabolomics)이다. Metabolomics 는 알려진 또는 알려지지 않은 소분자 대사산물을 규명하는 학문으로 질병의 특성 규명과 모니터링뿐만 아니라 생리·병리적 변화 및 생화학적 특성 연구에 이상적인 분석 방법으로 여겨지고 있다.[1]

Metabolomics 는 다음과 같이 비유할 수 있다. 유전체학, 전사체학, 단백질체학은 한 그루의 나무가 사과 나무라는 사실과, 어떤 종류의 사과를 생산하는지를 알려주는 분석이라고 할 수 있다. 반면, Metabolomics 는 그 사과의 맛과 함유된 항산화제의 종류와 양, 그리고 기후와 같은 외부 환경 요인이 이 성분들에 어떤 영향을 미쳤는지까지 파악할 수 있는 분석 방법이다. 즉, Metabolomics 는 유전적 및 기능적 잠재력에 대한 정보를 제공하는 기존 오믹스 분석보다 한 단계 더 나아가, 표현형(phenotype) 정보를 제공하는 분석법이다.[2] 최근에는 이러한 개별 오믹스 분석을 넘어서, 유전체, 전사체, 단백질체, 대사체 데이터를 통합적으로 활용하려는 시도가 활발해지고 있다.[3]

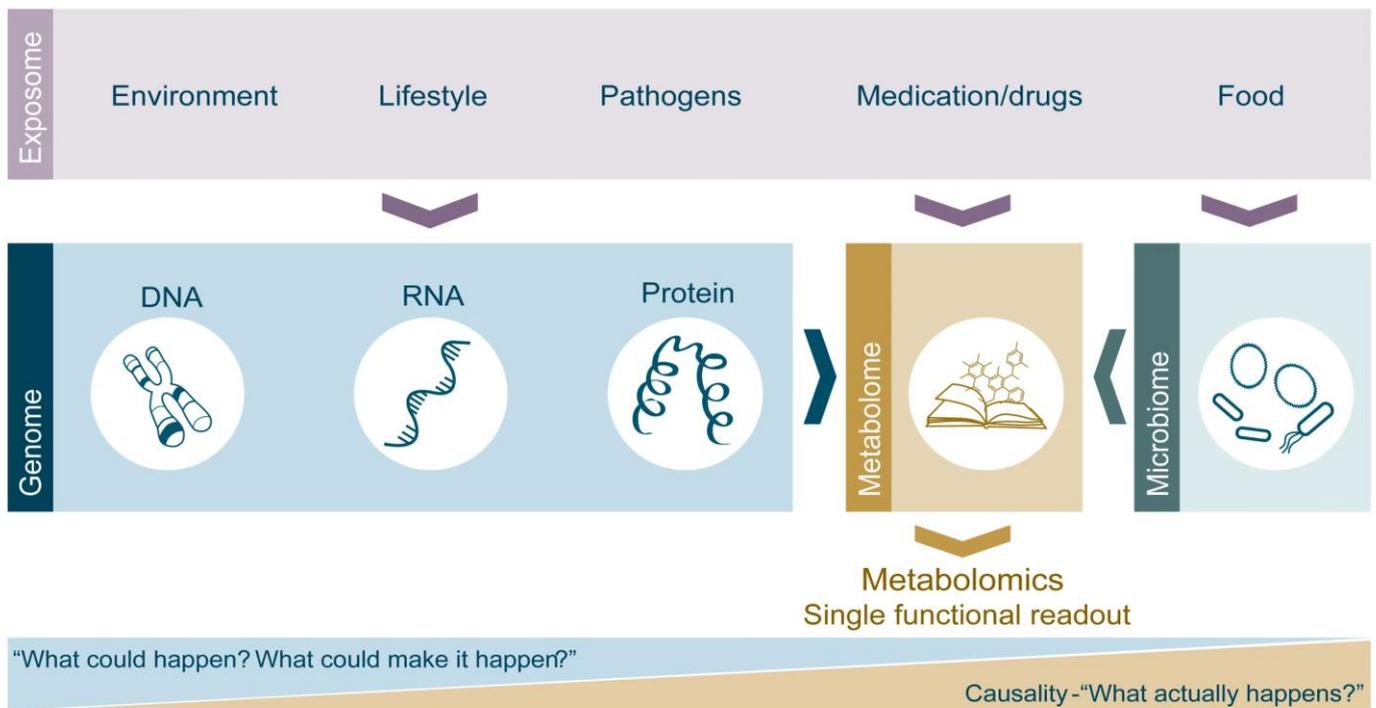


그림 1. Why study the metabolome? [4]

Metabolomics 는 세포, 조직, 혈액, 엑소솜과 같은 생물학적 샘플의 대사 상태의 정밀한 이해를 위해, 대사 산물의 동정(Identification) 및 정량(Quantification) 분석하는 것을 목표로 한다. 이를 위해 주로 질량 분석(Mass Spectrometry, MS) 기술이 활용되며, 경우에 따라 핵자기 공명(NMR) 분광법, LC, GC, CE, SFC 등 다양한 분리 기술도 함께 사용된다. 특히 LC-MS 는 다양한 샘플에 적용 가능하고, 활용 범위가 넓어 가장 보편적인 분석 방법으로 자리 잡고 있어, 정상군과 질병군, 치료 전후 등 다양한 조건에서 서로 다른 샘플의 대사 프로파일을

비교하는데 활용된다. 이를 통해 연구자들은 대사 경로의 변화, 바이오 마커 발굴, 생화학적 반응 과정에 대한 핵심 정보를 얻을 수 있다. Metabolomics 는 생물의학 연구, 약물 개발, 영양 및 정밀 의학 등 다양한 분야에서 응용되고 있으며,[5] 특히 표현형 정보를 제공한다는 점에서 대규모 코호트 연구에서의 활용도가 높아지고 있다.[3]

Metabolomics 분석은 전략에 따라 Untargeted 방식과 Targeted 방식으로 나뉜다. 본 기술 노트에서는 Targeted Metabolomics 의 주요 개념과 사례를 중심으로 Untargeted 방식과의 비교, Biocrates 키트 기반 Targeted Metabolomics 의 적용 사례, 이바이오젠이 제공 서비스까지 순차적으로 이야기하고자 한다.

### Targeted vs Untargeted Metabolomics

Metabolomics 분석은 크게 두 가지 접근 방식으로 나뉘며, 이들 간의 가장 큰 차이점은 분석 대상의 적용 범위에 있다. 먼저, Targeted Metabolomics 는 사전에 정의된 특정 대사체 집합을 대상으로 분석하며, 가설 기반 연구에 주로 사용된다. 이는 기존에 알려진 대사 경로 및 생화학적 메커니즘에 대한 사전 지식을 활용해, 정밀하고 재현성 높은 분석을 수행할 수 있다. 분석 대상이 명확하기 때문에, 일반적으로는 수십 개 내외의 대사체를 정량적으로 분석하며, 절대 정량화가 가능하다는 장점이 있다. 이러한 접근법은 정상군과 질병군간 비교에서 기준선을 설정하거나, 기존에 밝혀진 생물학적 경로를 검증하는데 효과적으로 활용된다.

반면, Untargeted Metabolomics 는 시료 내 존재하는 알려지거나 알려지지 않은 모든 대사체를 대상으로 하는 발견 기반 접근법이다. 사전 가설 없이도 분석 가능하며, 수천 개에 이르는 대사체를 정성 분석 및 상대 정량을 통해 포괄적으로 탐색할 수 있다. 이러한 접근법은 새로운 바이오 마커 발굴, 질병 기전 이해, 생리학적 변화 탐색 등 기초연구 및 임상연구 모두에 널리 활용된다.[6]



그림 2. Targeted vs Untargeted Metabolomics [7]

구분	Targeted Metabolomics	Untargeted Metabolomics
장점	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 명확한 분석 조건으로 오류 최소화</li> <li>- 절대 정량으로 정밀도 우수</li> <li>- 고농도 물질 영향 줄임</li> <li>- 대조군 실험군 간 비교 용이</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 사전 정보 없이 탐색 가능</li> <li>- 수천 개 대사체 동시 분석</li> <li>- 내부 기준물질 불필요</li> <li>- 샘플 준비 유연</li> <li>- 알려지지 않은 대사체 탐지 가능</li> </ul>

단점	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 사전 지식/표준물질 필요</li> <li>- 분석 대상 수 제한적</li> <li>- 대상 누락 가능성</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 정밀도 낮고 분석 복잡</li> <li>- 고농도 물질에 검출 편향</li> <li>- 통계 처리와 해석 부담이 큼</li> </ul>
----	---	--

표 1. Targeted Metabolomics Untargeted Metabolomics 의 장단점 [6]

이처럼 두 접근법은 각각의 장단점을 가지고 있어, 연구 목적과 분석 환경에 따라 적절한 방법을 선택하거나, 상호 보완적으로 활용하는 전략이 요구된다. 특히, 질병 예후 예측, 치료 반응 모니터링과 같이 신뢰성과 일관성이 중요한 임상 분야에서는 Targeted Metabolomics 의 활용도가 점점 더 강조되고 있다.[6][8][9]

### 키트 기반 Targeted Metabolomics

정밀의료 및 바이오마커 발굴을 위한 대규모 연구에서는, 수천에서 수십만 건에 이르는 샘플을 오랜 기간 동안 일관성 있게 분석해야 하기 때문에, 데이터의 일관성과 신뢰성이 무엇보다 중요하다. 그러나 기존의 Untargeted Metabolomics 는 분석 범위가 넓고 새로운 바이오마커 탐색에 유리하다는 장점이 있음에도 불구하고, 분석에 사용되는 장비나 조건이 실험실이나 국가에 따라 달라질 수 있기 때문에, 서로 다른 환경에서 생성된 데이터를 비교하거나 통합하는데 어려움이 있다.[3]

이러한 한계를 보완하기 위해, Biocrates 와 같은 기업에서는 샘플 준비, 장비 설정, 시스템 적합성 테스트, 데이터 분석 전반에 걸쳐 표준화된 운영 절차(SOP)를 적용한 키트 기반 Targeted Metabolomics 시스템을 개발해왔다. Biocrates 의 키트 기술은 지난 10 여 년간 정량적 대사체학 분야의 표준으로 자리 잡았으며, 이를 바탕으로 건강 및 질병 연구에 새로운 가능성을 제시하고 있다.[13] 이러한 시스템은 데이터의 탐색 가능성, 접근성, 상호운용성, 재사용성 (Findability, Accessibility, Interoperability, Reusability, FAIR 원칙)을 충족하며, 실제로 다양한 임상 연구에 폭넓게 활용되고 있다.[9] 특히, 표준화된 분석 조건과 데이터 일관성이 요구되는 대규모 연구에서는 키트 기반 Targeted Metabolomics 가 더욱 적합한 방식으로 평가받고 있다 [3].

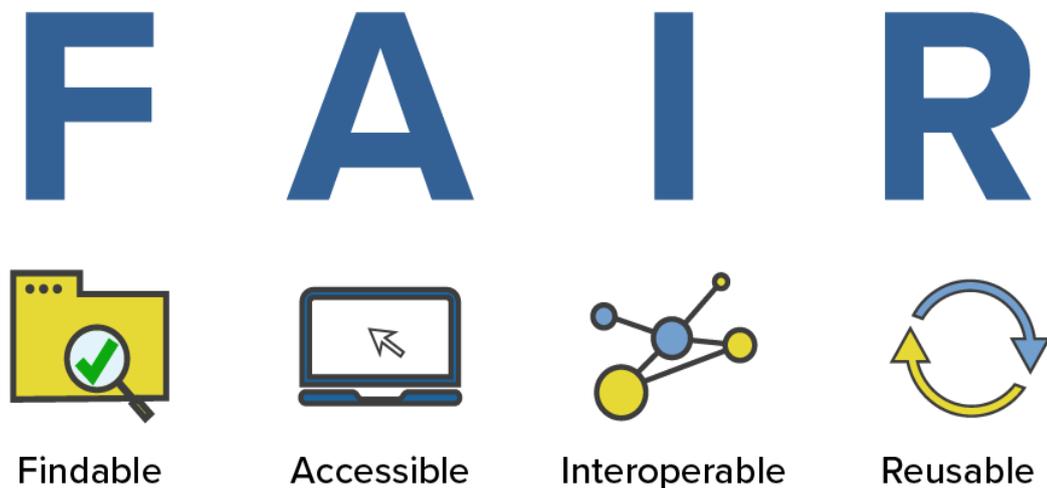


그림 3. Findability, Accessibility, Interoperability, Reusability, FAIR[11]

## 키트 기반 Targeted Metabolomics 적용 사례

본 연구는 키트 기반 Targeted Metabolomics 접근법이 실제 임상 연구에 어떻게 적용될 수 있는지를 보여주는 사례로, Biocrates 사의 AbsoluteIDQ® p180 키트를 사용하여 췌장 신경내분비 종양(pNET) 환자 76 명과 비암(non-cancerous) 대조군 38 명의 혈장 시료에서 총 188 개 대사체를 정량 분석한 것이다.

분석 결과, 두 집단간 23 개의 유의미한 대사체 차이가 확인되었으며, 이는 Glutathione 대사, BCAA 생합성(valine, leucine, isoleucine),  $\beta$ -alanine 대사 등 주요 경로와 관련되어 있었다. 전이 여부에 따라 27 개, MEN1 유전자 변이 유무에 따라 22 개의 유의한 대사체 차이가 추가로 확인되었으며, 각각 glutathione, sphingolipid, butanoate, arginine 및 proline 대사, alanine/aspartate/glutamate 대사 등 관련 대사 경로가 확인되었다. 일부 대사체는 수술 전후 변화나 Ki67 지수와의 연관성도 나타나, 향후 예후 예측 마커로서 가능성도 제시되었다.[12]

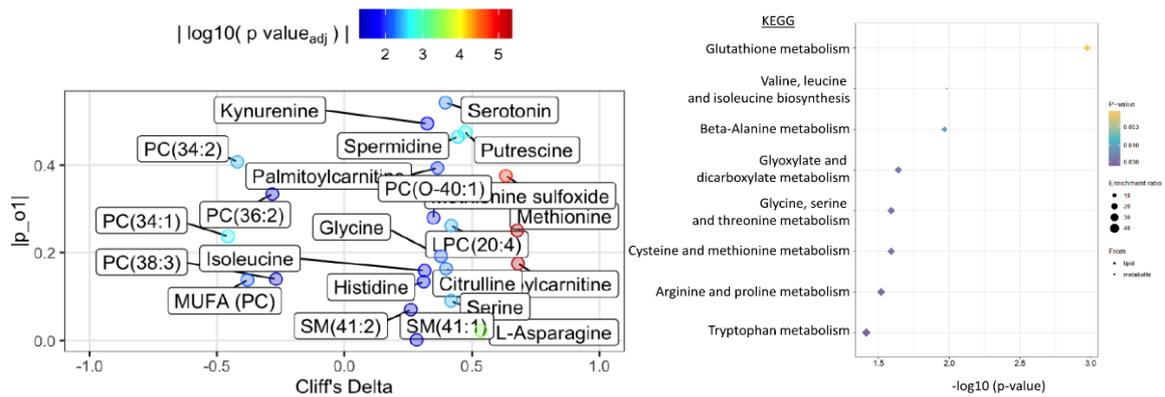


그림 4. Plasma metabolite signatures in patients with pNET vs non-cancer individuals[12]

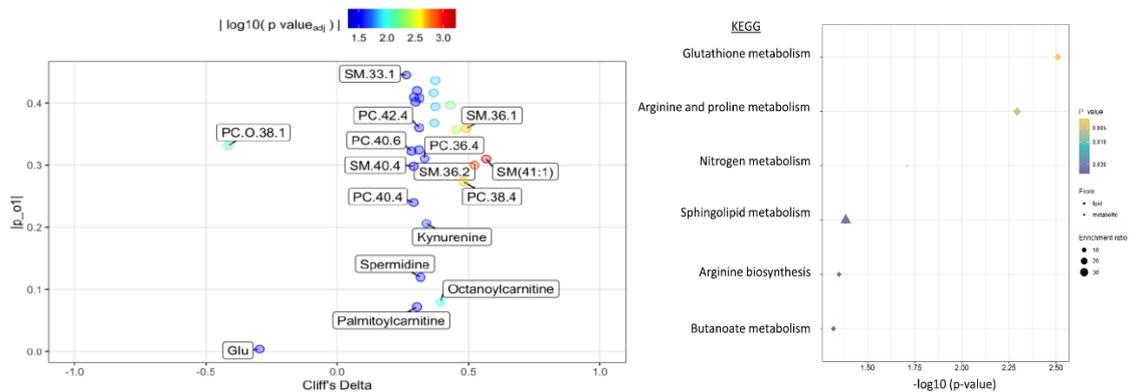


그림 5 Plasma metabolites dysregulations in patients with metastatic pNETs vs patients with non-metastatic pNETs[12]

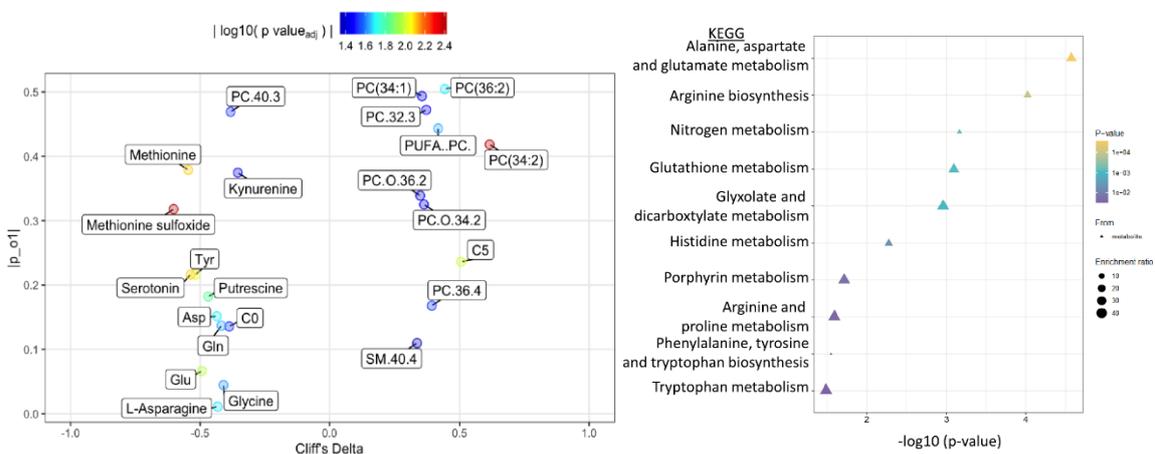


그림 6 Differential plasma metabolites in pNET patients with and without MEN1 mutation[12]

이 연구는 Targeted Metabolomics 키트가 다양한 임상적 변수를 반영한 대사체 차이를 효과적으로 검출할 수 있으며, 실제 임상 샘플에서도 높은 신뢰도와 재현성을 갖는 분석 도구로 활용될 수 있음을 보여준다.

## Biocrates Technology

Biocrates 는 약 20 년에 걸친 Targeted Metabolomics 기술을 바탕으로, 다양한 연구 환경에서도 일관된 품질의 데이터를 제공할 수 있는 키트 기반 분석 플랫폼을 개발해왔다. 이 키트는 분석 장비나 실험실, 시간에 관계없이 재현 가능한 데이터를 제공하며, 10µL 의 소량 시료로도 다양한 생물학적 매트릭스에 적용이 가능하다. 이러한 기술적 특성은 분석의 일관성과 데이터 확장성이 요구되는 대규모 코호트 연구에 적합하며, 실제로 전 세계 100 개 이상의 분석 기관에서 Biocrates 키트를 활용해 연구 간 데이터 통합과 공유 가능한 표준화된 분석 결과를 생성했다.[3]

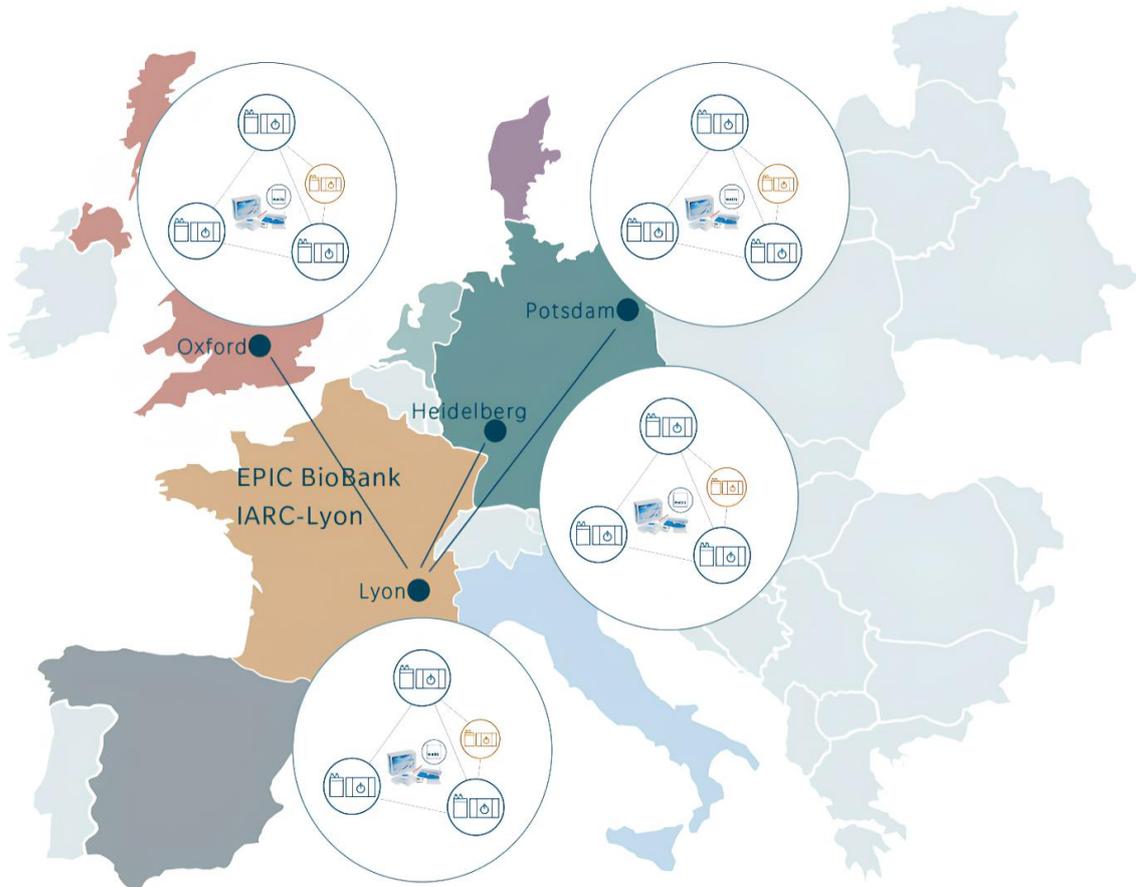


그림 7. EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) Consortium Network Overview[3]

Biocrates 는 FAIR 원칙의 실질적 구현을 위해 클라우드 기반 전용 소프트웨어인 WebIDQ 를 제공한다. 이를 통해 각 기관은 분석 결과를 표준화된 형식으로 통합·관리할 수 있으며, 데이터의 접근성과 상호운용성을 확보할 수 있다. 또한, 품질 관리를 위해 LC-MS 분석의 표준 규칙을 반영하여 설계되었으며, 이를 통해 분석 조건의 일관성을 유지할 수 있다. 키트 내부는 calibration standard, QC 샘플, blank 등으로 구성되어 있으며, QC 샘플은 농도별로 반복 배치되어 측정 간 정확도 및 정밀도를 평가하는 기준선으로 사용된다.[3] 분석 전 단계에서는 Instrument Suitability Test 를 통해 LC-MS 장비의 성능을 사전 검증하는 것도 가능하다. Biocrates 의 키트 기반 분석 기술은 정량성 및 재현성 측면에서도 국제적으로 검증되었으며, 대표적으로 Quant 500 XL 키트를 이용한 다기관 분석 결과가 이를 뒷받침한다. [13]

## Quant 500 XL 키트를 이용한 다기관 분석 검증 사례

Biocrates 의 MxP® Quant 500 XL 키트는 총 1,019 개의 대사체를 정량 분석할 수 있는 키트로, 다양한 질량분석기와 실험실 간의 일관된 성능을 검증하기 위해 다기관 분석이 수행되었다. 해당 연구에서는 총 80 개의 샘플이 분석에 사용되었으며, 사용된 샘플은 다음과 같다.

- 건강한 성인의 혈장 샘플 11 개 (여성 5 명, 남성 6 명, 연령 17-65 세, 의학적 진단 없음)
- 표준 혈장 시료 NIST SRM 1950
- 30 명의 대상자에게서 수집한 Feces pool

시료는 WebIDQ 소프트웨어에 등록된 후, 보정용 및 QC 시료와 함께 96-well 플레이트에 배열되었고, calibration standard 를 제외한 모든 시료는 3 반복으로 분석되었다. 실험은 전 세계 여러 연구기관에서 각기 다른 Triple Quadrupole(QqQ) 질량분석기를 활용하여 수행되었으며, 사용된 장비는 아래와 같다.

- Agilent 6495C
- SCIEX 5500, 5500+, 6500+
- Waters Xevo TQ-XS

데이터는 WebIDQ 소프트웨어를 통해 자동 정량화, 품질 검증, 정규화 되었으며, QC 시료는 정확도 평가 및 보정을 위한 기준선으로 활용되었다. 분석 결과, 실험에 사용된 시료 유형이나 장비에 상관없이 대부분의 실험실에서 전체 1,019 개 중 700 개 이상의 대사체가 검출한계(LOD)를 초과하는 일관성을 보였으며, Feces 샘플은 특히 높은 지질 검출률을 보였다. [13]

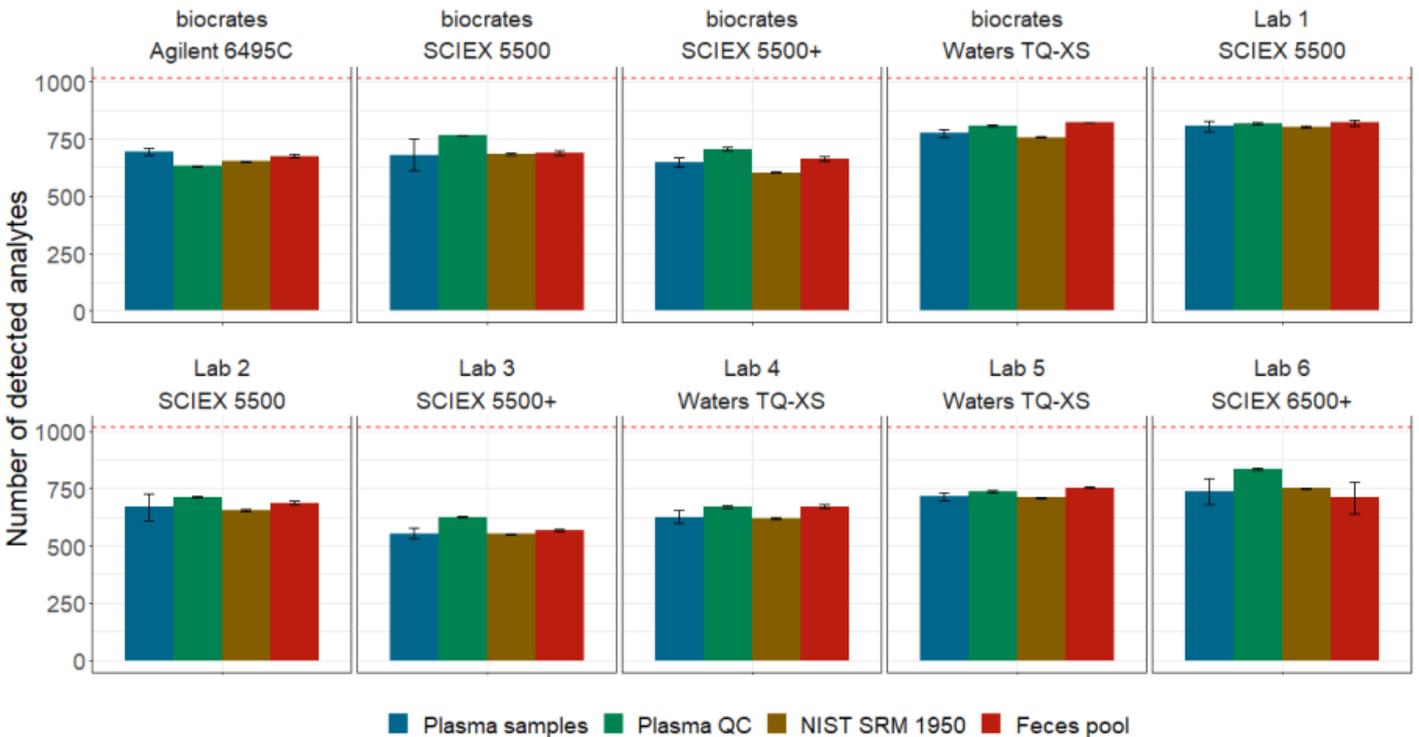


그림 8. Detectability – Number of metabolites above LOD out of 1,019 and CV<30%.[13]

반복적으로 측정된 모든 유형의 샘플에 대해 CV(coefficient of variation) 분포를 분석한 결과, 대부분 CV 25% 이하 구간에 집중되어 있었다. 이는 실험실과 기기에 관계없이 우수한 정밀도를 보여주는 것으로, 특히 혈장 샘플은 중앙값 기준 10% 미만, 대변 샘플도 12% 미만으로 매우 안정적인 분석 결과를 나타냈다. [13]

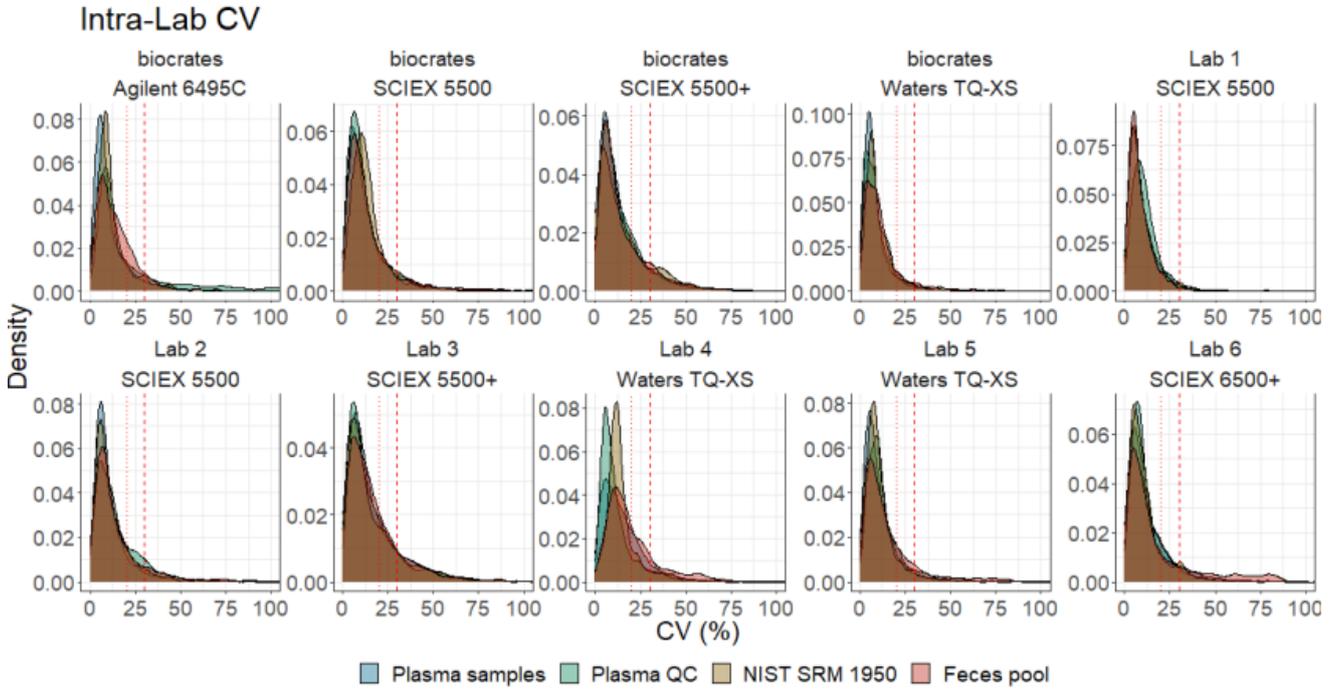


그림 9. Intra-laboratory CVs of all samples[13]

마지막으로, Lab 1 에서 측정된 대사체 농도를 기준으로 각 실험실 및 장비의 결과값과 비교한 상관관계 분석에서, 기기간 정량값의 높은 일치도를 확인할 수 있었다. [12]

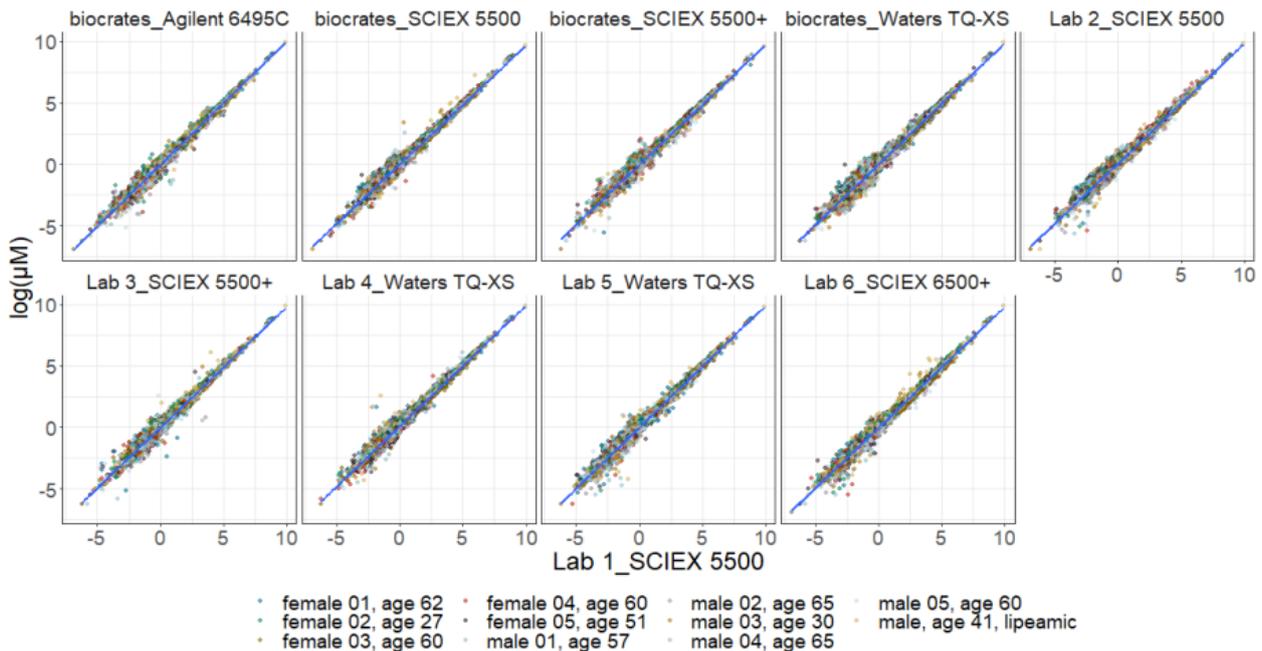


그림 10. Inter-laboratory correlation[13]

Biocrates 키트는 분석 처리 효율성과 확장성 측면에서도 유리한 구조를 갖추고 있다. 각 키트는 96-well 포맷을 기반으로 수십 개의 샘플을 한 번에 처리할 수 있으며, 단일 장비만으로도 연간 수천 건의 시료 분석이 가능하다. 분석 용량은 실험실 내 여러 장비를 병렬로 구성한 다중 장비 형태(instrument cluster)로 확장할 수 있으며, 이와 같은 클러스터를 여러 개 운영할 경우 연간 최대 15만 건 이상의 시료 분석도 수행할 수 있다.

이러한 구조는 서로 다른 실험실에서 독립적으로 운용될 수 있어 다기관 분석 체계로 확장 가능하며, 이를 통해 수십만 건 규모의 대규모 코호트 연구에도 대응할 수 있다. 실제로 Biocrates 기술은 ADNI(Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative), BLSA(Baltimore Longitudinal Study of Aging), FENLAND, KORA, EPIC, TMM(Tohoku Medical Megabank) 등 주요 국제 코호트 연구에 활용되고 있다.[3]

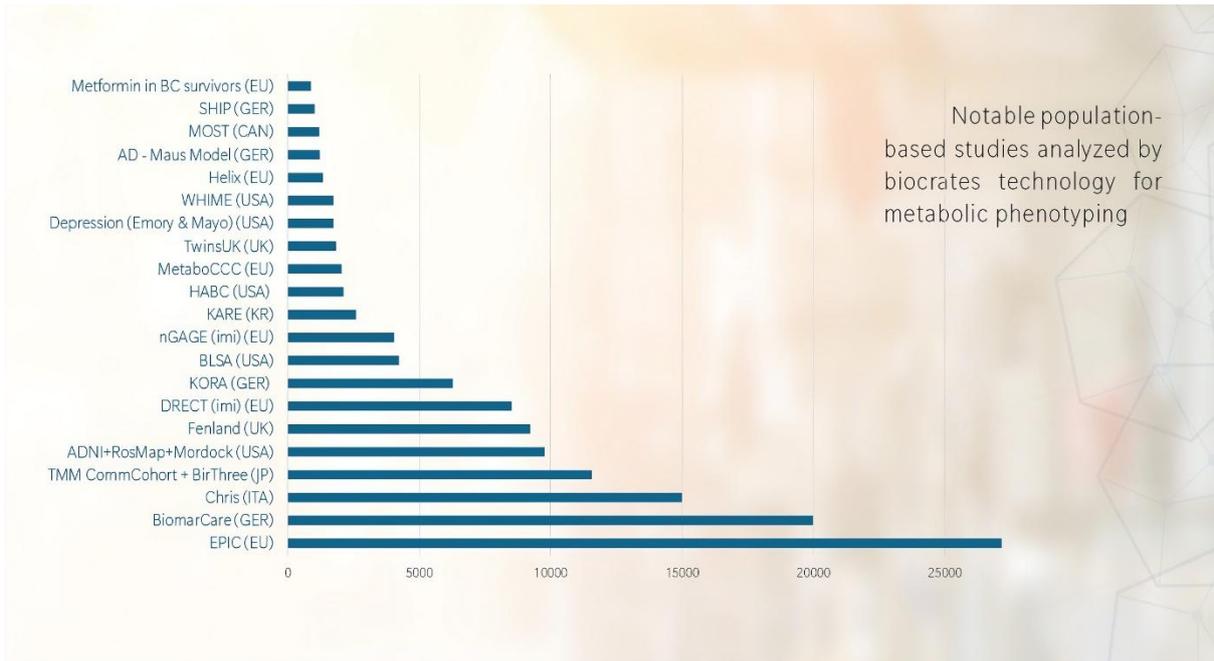


그림 11. Notable populationbased studies analyzed by biocrates technology for metabolic phenotyping[3]

## 주요 키트별 특징 및 Metabolite coverage

다음은 Biocrates 의 주요 키트에 대해 간략히 소개하고자 한다. Biocrates 는 다양한 연구 목적과 분석 환경에 맞춰 여러 종류의 Targeted Metabolomics 키트를 제공하고 있으며, 연구자의 필요에 따라 선택이 가능하다.

Choose the kit

MxP® Quant 500 kit or MxP® Quant 500 XL kit

- ▶ 질병, 영양, 마이크로바이옴 연구에 가장 포괄적인 키트
- ▶ 107개의 small molecules + 523개 lipids 분석 가능
- ▶ MxP® Quant 500 XL kit 의 경우 912개의 lipids 분석 가능

AbsoluteIDQ® p180 kit

- ▶ 1,000편 이상의 기초, 임상 및 역학 연구 논문에 활용된 키트
- ▶ 43개의 small molecules + 145개의 lipids 분석 가능

Absolute IDQ Bile Acids kit

- ▶ host-microbiota interaction 연구에 최적화된 키트
- ▶ 간에서 생성되는 1차 담즙산 1개와 장내미생물에 의해 전환되는 2차 담즙산 10개를 포함한 총 20개 담즙산 분석 가능

## Metabolite coverage

MxP® Quant 500 kit		
Alkaloids (1)	Hormones (4)	Hexosylceramides (19)
Amine oxides (1)	Indoles and derivatives (4)	Dihexosylceramides (9)
Amino acids (20)	Nucleobases and related (2)	Trihexosylceramides (6)
Amino acid related (30)	Vitamins and cofactors (1)	Cholesteryl esters (22)
Bile acids (14)	Acylcarnitines (40)	Diglycerides (44)
Biogenic amines (9)	Phosphatidylcholines (76)	Triglycerides (242)
Carbohydrates and related (1)	Lysophosphatidylcholines (14)	
Carboxylic acids (7)	Sphingomyelins (15)	
Cresols (1)	Ceramides (28)	
Fatty acids (12)	Dihydroceramides (8)	

<b>MxP® Quant 500 XL kit</b>		
Alkaloids (1)	Vitamins and cofactors (1)	Sphinganine and sphingosine (8)
Amine oxides (1)	Phosphatidic acids (41)	Sphinganine and sphingosine phosphates (8)
Amino acids (20)	Lysophosphatidic acids (8)	Sphingomyelins (15)
Amino acid related (30)	Phosphatidylcholines (76)	Ceramides (29)
Bile acids (14)	Lysophosphatidylcholines (14)	Dihydroceramides (8)
Biogenic amines (9)	Phosphatidylethanolamines (95)	Hexosylceramides (19)
Carbohydrates and related (1)	Lysophosphatidylethanolamines (43)	Dihexosylceramides (9)
Carboxylic acids (7)	Phosphatidylglycerols (64)	Trihexosylceramides (6)
Cresols (1)	Lysophosphatidylglycerols (10)	Acylcarnitines (40)
Fatty acids Free/non-covalently bound (12)	Phosphatidylinositols (53)	Cholesteryl esters (22)
Hormones and related (4)	Lysophosphatidylinositols (16)	Monoglycerides (12)
Indoles and derivatives (4)	Phosphatidylserines (18)	Diglycerides (44)
Nucleobases and related (2)	Lysophosphatidylserines (12)	Triglycerides (242)

<b>AbsoluteIDQ p180 kit</b>		
Amino acids (21)	Acylcarnitines (40)	Sphingolipids (15)
Biogenic amines (21)	Lysophosphatidylcholines (14)	
Hexose (1)	Phosphatidylcholines (76)	

<b>AbsoluteIDQ Bile Acids kit</b>	
10 primary bile acids	produced by the liver (CA, GCA, TCA, CDCA, GCDCA, TCDCA, $\alpha$ -MCA, $\beta$ -MCA, $\omega$ -MCA, TMCA( $\alpha$ + $\beta$ ))
10 secondary bile acids	produced by gut bacteria from primary bile acids (DCA, GDCA, TDCA, LCA, GLCA, TLCA, UDCA, GUDCA, TUDCA, HDCA)

## Ebiogen's Metabolomics Service

이바이오젠의 LC-MS/MS Metabolomics 서비스는 여러가지 샘플에서 존재하는 metabolite 의 동정(Identification) 및 정량(Quantification)을 목적으로 샘플에 포함되어 있는 대사산물을 검출할 수 있는 서비스이다. 샘플 전처리부터 LC-MS/MS 실험, 분석 및 데이터 분석까지 서비스 과정에 포함되어 있으며, 현재 Biocrates 키트를 기반으로 한 Targeted 와 Untargeted 방식 모두 지원하고 있다.

### Targeted Metabolomics Service

각 키트는 정량 정확도, 재현성, 분석 범위 등의 측면에서 특화된 기능을 갖추고 있어, 연구자의 필요에 따라 선택이 가능하며, 키트 단위로 의뢰가 가능하다. 키트는 Full, Half, Starter Kit 로 샘플 단위에 차이가 있다.

<b>Sample Type</b>	20µL of Cell lysate, Serum/Plasma, Media, Homogenate (tissue, fecal, etc.)
<b>Kit Types</b>	MxP® Quant 500 kit MxP® Quant 500 XL kit AbsoluteIDQ p180 kit AbsoluteIDQ Bile Acids kit
<b>Analysis Instrument</b>	Thermo Orbitrap Eclipse Tribrid
<b>Software</b>	WebIDQ
<b>Turnaround time</b>	~ 7 weeks after Sample Arrival

### Untargeted Metabolomics Service

기존의 untargeted profiling 방식의 LC-MS/MS 대사체 분석으로 3 반복이 권장되며, 샘플수의 제한이 없다.

<b>Sample Type</b>	Cell pellet, Tissue, Serum/Plasma, Exosome pellet, Bacteria pellet, Plant, Fecal, etc.
<b>Analysis Instrument (HPLC &amp; UPLC)</b>	Agilent 1290 LC Thermo Vanquish LC
<b>Analysis Instrument (Mass Spectrometry)</b>	Thermo Q-Exactive MS (High Resolution MS) Thermo TSQ Altis (MRM)
<b>Software</b>	Compound Discoverer, MetaboAnalyst
<b>Turnaround time</b>	~ 7 weeks after Sample Arrival

< 참고 문헌 >

1. Qiu S, Cai Y, Yao H, Lin C, Xie Y, et al. Small molecule metabolites: discovery of biomarkers and therapeutic targets. Signal Transduct Target Ther. 2023.
2. Metabolon. Your Guide to Metabolomics Chapter 1—Metabolomics, Metabolites, and the Metabolome.
3. Biocrates life sciences ag. Whitepaper. FAIR compliant metabolomics profiling of population-based studies.
4. biocrates life sciences ag. Why metabolomics? <https://biocrates.com/why-metabolomics/>
5. Ebiogen. Technical Note, Jul. 2023. 다양한 분야에서 응용가능한 LC-MS/MS Metabolomics 분석 기술
6. Metabolon. Blog. Targeted vs Untargeted Metabolomics
7. Thomas S, Targeted vs. Untargeted Metabolomics. Ometa labs.
8. Chen, Y., Wang, B., Zhao, Y., et al. Metabolomic machine learning predictor for diagnosis and prognosis of gastric cancer. nature communications. 2024.
9. López-Hernández, Y., Monárrez-Espino, J., Herrera-van Oostdam, A., et al. Targeted metabolomics identifies high performing diagnostic and prognostic biomarkers for COVID-19. scientific reports. 2021.
10. Saigusa D, Hishinuma E, Matsukawa N, et al. Comparison of Kit-Based Metabolomics with Other Methodologies in a Large Cohort, towards Establishing Reference Values. Metabolites. 2021.
11. National Library of Medicine. Definition of FAIR Data. <https://www.nlm.nih.gov/oet/ed/cde/tutorial/02-200.html>
12. Jannin A, Dabo-Niang S, Do Cao C, et al. Identification of metabolite biomarkers for pancreatic neuroendocrine tumours using a metabolomic approach. European Journal of Endocrinology. 2025
13. Langsdorf, M., Ömer, G., Dearth, S., et al. Standardized quantitative metabolomics using the biocrates MxP® Quant 500 XL kit across mass spectrometer platforms. Biocrates. Application Note v1-2023.